Kanser Tedavisi ve Araştırmaları
Seri Editörü: Steven T. Rosen

Vincenzo Zappia • Salvatore Panico
Gian Luigi Russo • Alfredo Budillon
Fulvio Della Ragione *Editörler*

Nütrisyon ve Kanser Tedavisindeki Gelişmeler

Çeviri Editörleri
Prof. Dr. Gül Başaran
Prof. Dr. Mert Başaran

nobel
tıp kitabevleri

TÜRKİYE
KANSERLE
SAVAŞ VAKFI

Kanser Tedavisi ve Araştırmaları

Cilt 159

Seri Editörü

Steven T. Rosen, Chicago, IL, USA

Türkiye Kanserle Savaş Vakfı'nın hekimlere armağanıdır.

Editörler

Vincenzo Zappia
Fulvio Della Ragione
Department of Biochemistry and Biophysics
Second University of Naples
Naples
Italy

Salvatore Panico
Clinical and Experimental Medicine
University of Naples "Federico II"
Naples
Italy

Gian Luigi Russo
Institute of Food Sciences
National Research Council
Avellino
Italy

Alfredo Budillon
Department of Experimental Oncology
National Cancer Institute
Naples
Italy

Diğer bölümler için:
http://www.springer.com/series/5808

Vincenzo Zappia · Salvatore Panico
Gian Luigi Russo · Alfredo Budillon
Fulvio Della Ragione
Editörler

Nütrisyon ve Kanser Tedavisindeki Gelişmeler

Çeviri Editörleri

Prof. Dr. Gül Başaran
Acıbadem Üniversitesi Tıp Fakültesi
Medikal Onkoloji

Prof. Dr. Mert Başaran
İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesi
Onkoloji Enstitüsü, Medikal Onkoloji

NOBEL TIP KİTABEVLERİ

© 2015

Türkiye Kanserle Savaş Vakfı adına sahibi:

Prof. Dr. Metin Ertem

Nütrisyon ve Kanser Tedavisindeki Gelişmeler

Çeviri Editörleri: Prof. Dr. Gül Başaran, Prof. Dr. Mert Başaran

ISBN: 978-975-96147-3-7

Advances in Nutrition and Cancer
Vincenzo Zappia • Salvatore Panico
Gian Luigi Russo • Alfredo Budillon
Fulvio Della Ragione

ISBN: 978-3-642-38006-8
© Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2014

Bu kitabın Türkçeye çeviri hakkı ©Springer-Verlag Berlin Heidelberg tarafından Nobel Tıp Kitabevleri Tic. Ltd. Şti.'ne verilmiştir. 5846 ve 2936 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri yasası hükümleri gereğince herhangi bir bölümü, resmi veya yazısı, yazarların ve yayınlayıcısının yazılı izni alınmadan tekrarlanamaz, basılamaz, kopyası çıkarılamaz, fotokopisi alınamaz veya kopya anlamı taşıyabilecek hiçbir işlem yapılamaz.

Yayımcı	:	Nobel Tıp Kitabevleri Tic. Ltd. Şti. Millet Cad. No:111 34104 Fatih-İstanbul
Yayımcı Sertifika No	:	15710
Baskı / Cilt	:	No-bel Matbaacılık San. Tic. Ltd. Şti. Kurtini Mevki, General Şükrü Kanatlı Cad. Ömerli - Hadımköy - İstanbul
Matbaa Sertifika No	:	12565
Sayfa Tasarımı - Düzenleme	:	Nobel Tıp Kitabevleri, Hakkı Çakır
Kapak Tasarım	:	Hakkı Çakır
Baskı Tarihi	:	Aralık 2014 - İstanbul

Önsöz

Bu kitap Mayıs 2012'de Napoli İtalya'da yapılan Üçüncü Uluslararası Nütrisyon ve Kanserde İlerlemeler Konferansında sunulan 26 makaleyi içermektedir.

Konferansın başlıca amacı bu alandaki en güncel ve yaratıcı projelerin sunulması ve hem kemoprevensiyon hem de moleküler epidemiyoloji ve diyet girişimi programları ile ilgili özgün stratejilerin sunulmasını sağlamaktı. Konferansta farklı alanlardaki uzmanlardan oluşan bir grup bilim adamı, insanda nütrisyon ve maligniteler arasındaki etkileşimlerle ilgili önemli ve güncel konuları tartışmıştır.

Bu konferansta tartışılan konular ile daha önce yapılan iki toplantının (1992, 1998) konuları karşılaştırıldığında, en önemli bilimsel ilerlemelerin moleküler biyoloji, moleküler epidemiyoloji ve nütrisyon araştırmalarındaki çeşitli epigenetik yaklaşımların yoğun biçimde kullanılmasından kaynaklandığı kesindir.

Günümüzde dünya çapında 24 milyon insanı etkileyen kanser, yılda altı milyonun üzerinde ölüme neden olmaktadır. Erken teşhis ile belirli faydalar sağlanmasına rağmen, birçok tümör vakasının hala ileri evrelerde tedavi edilmeleri ile elden edilen başarı düzeyi kısıtlıdır. Bundan dolayı bu ciddi pandemi ile savaşmanın başlıca yolu hastalığın önlenmesidir. Doll ve Peto'nun (1981) hala geçerli olan, tüm kanserlerin en az %30'unun diyet uygulamaları ile önlenebileceği yönündeki önemli çıkarımları farklı çalışmalardaki birçok sonuç ile konfirme edilmiştir: Diyet, nütrisyon ve kanser riski arasındaki ilişki şüpheye yer vermeyecek şekilde kesindir.

Kitabın ilk bölümü hayata tarzı, diyet ve kanser ile ilgili genel özelliklere odaklanmaktadır. Obezite, enerji dengesi, fiziksel aktivite ve kanser riski ile progresyonunun altında yatan moleküler mekanizmalar ile tuz kullanımı ile alkollü ve gazlı içeceklerin sindirim kanalı kanserleriyle ilgisi detaylı olarak incelenmektedir.

Özellikleri gayet iyi tanımlanmış olan çok çeşitli bitkisel kaynaklı kimyasallar ve doğal antioksidanlar potansiyel kemopreventif/kemoterapötik ajanlar olarak önerilmiştir. Resveratrol, kuersetin, sulforafanın etkileri ve etki mekanizmaları ile selenyum ve selenoproteinler hakkındaki çelişkili sonuçlar ikinci bölümde yer almaktadır.

Diyetin farklı dokulardaki hücrelerin metilasyonlarını etkileyebildiği iyi bilinmekte ve diyet tarafından etkilenen epigenetik faktörler kanserin önlenmesinde ve terapötik hedefler olarak ciddi anlamda ilgi çekmektedir. Üçüncü bölüm bu hayati ve en çok ümit

vadeden konulara atfedilmiştir. Yeni ve önemli bir başka alan da maternal diyetin intrauterin yaşam üzerindeki advers etkileri ile ilgilidir. Diyet DNA metilasyonunu etkileyerek bireyi erişkinlik dönemindeki hastalıklara predispozan hale getirmektedir.

Dördüncü bölümde fonksiyonel bir gıda olan zeytin yağının kanserin önlenmesindeki yararlı etkileri incelenmektedir. Akdeniz diyetindeki majör yağ kaynağı olan natürel sızma zeytin yağının kemopreventif etkilerinin, kardiyovasküler hastalığın ve meme kanseri gibi bazı tümörlerin düşük insidansı ile ilişkili olduğunu gösteren kanıtlar incelenmektedir. Antioksidanların insan hepatom hücreleri üzerindeki etkileri ve diğer gıda içerikleri ile kimyasal etkileşimlerinin nütrisyonel ve duyusal kalite üzerindeki etkileri özel olarak vurgulanmaktadır.

Son iki bölümde hayat tarzı değişimlerinin (diyeti de kapsayan) kanserin reküransını efektif olarak engelleyebildiğini gösteren epidemiyolojik kanıtları da içeren önemli sonuçlara odaklanılmıştır.

Antianjiogeneze de yer ayrılmıştır: Çeşitli preklinik, kimyasal ve epidemiyolojik veriler anjiogenez İnhibisyonunun kanserin önlenmesinde kullanılabileceğini göstermektedir. Diyet kaynaklı çeşitli kemopreventif komponentler de anjiogenezi genel olarak hedefleyebilmektedir. İnsan intestinal mikrobiyomu ile gastrointestinal maligniteler arasındaki ilişki de tartışılmıştır; intestinal mikrobiyom, immun sistem ve diyete maruziyet arasındaki dinamik etkileşimler gelecekteki kanser önleme stratejilerine katkı yapabilir.

Bu kitapta vurgulandığı üzere, kanser gelişimi ile ilgili temel bilgilerimize ciddi katkılar yapan disiplinler arası yaklaşım, gelecekte dönüm noktası olacak klinik gelişmelerin temelini atacaktır. Kitabımız bu çok önemli ve sağlam temelli araştırma alanındaki yüksek teknolojik uygulamalar hakkında, okuyuculara genel bir bakış açısı sağlamayı amaçlamaktadır. Bu toplantının multidisipliner yapısının katılımcıları olduğu kadar okuyucuyu da bilgilendirip stimüle etmesinden mutluluk duyacağız. Kitabın bu ilgi çekici ve kompleks alanın tüm yönlerini kapsayan daha ileri araştırmalara ilham kaynağı olması en büyük dileğimizdir.

Vincenzo Zappia

Sunuş

Türkiye Kanserle Savaş Vakfı olarak son iki yıldır eğitime ağırlık vermeyi kararlaştırdı. Vakıf olarak onkoloji alanında genç uzman hekim arkadaşlarımızın, geliştirdikleri projeler kapsamında verdiğimiz karşılıksız burs ile yurt dışında eğitimlerine katkı sağlamaktayız. Amacımız ülkemizde onkoloji alanında dünya standartlarında hizmet sağlayacak bilgi birikimini oluşturmaktır.

Yine onkoloji alanındaki çalışmaları teşvik etmek amacıyla gelenek haline gelen ve yıllardır sürdürdüğümüz, onkolojinin üç dalında, radyasyon onkolojisi, medikal onkoloji ve cerrahi onkoloji dallarında bilimsel çalışmalara vermekte olduğumuz ödüllere bir yenisini ilave ederek '2014 Bilim Ödülü' başlığında ülkemizde onkoloji alanına katkılarından dolayı bir bilim adamımıza ödül verdik. Bu saygın ödülü her yıl tekrarlayarak sürdürmeyi uygun gördük.

Türkiye Kanserla Savaş Vakfı olarak yılda dört sayı olarak 'Kanser Gündemi' isimli periyodik dergimizi çıkartmaya devam ediyoruz. Hekimlerimize yönelik her bir sayısında bir kanser konusunun işlendiği güncel bilgilerin aktarıldığı bu dergi arşivimize ve halkımızı bilinçlendirmeye yönelik sanat ve tıbbi bilgilerin yer aldığı 'Menekşe ve Yaşam' dergilerine www.kanservakfi.com'dan ulaşabilirsiniz.

Kanser konusunda öne çıkan güncel, yabancı dilde yazılmış bilimsel kitapları türkçeye kazandırmayı ve hekimlerimize ulaştırmayı kararlaştırdık. Bu amaçla ilkini 2013 yılında 'Kanser Evreleme Atlası' olarak gerçekleştirdik ve bin adet basılan bu kitabı ücretsiz olarak Ulusal Kanser Kongresi'nde hekimlerimize ulaştırdık.

Bu yıl, oldukça güncel olan kanser ve beslenme konusunda bir kitabın çevirisini tercih ettik. Kanser ve beslenme konusu bildiğiniz gibi her zaman suistimal edilmiştir. Bu konuda maalesef bilimsel temelleri olmayan değişik görüşler ileri sürülmüş ve sürülmektedir. Bu konuda hekimlerimize referans oluşturacak 'Nütrisyon ve Kanser tedavisindeki gelişmer' Başlıklı kitabı iki değerli hocamızı katkılar ile Türkçe'ye kazandırdık.

Kanser ve beslenme kitabımızın çeviri editörlüğünü gerçekleştiren sayın Prof. Dr. Gül Başaran ve sayın Prof. Dr. Mert Başaran'a ve kitabın baskı aşamalarını gerçekleştiren Nobel Tıp kitap evine teşekkür ederiz.

Bu kitabı bilgilerimize katkı oluşturacağını düşünerek hekimlerimize hediye ediyoruz.

Türkiye Kanserle Savaş Vakfı
Yönetim Kurulu Başkanı
Prof. Dr. Metin Ertem

Çeviri Editörlerinin Önsözü

Bu kitabın tercümesini yapmamızdaki en önemli neden, son yıllarda basılı ve sözlü medyada kanser tedavisi ve önleminde çok sayıda görüş ve tedavi yöntemlerinden bahsedilmesidir. Ne yazık ki, çoğu akademisyen, diyetisyen ve konu üzerine eğitim ve bilgisi olmayan kişi, ilgi çekmesi sebebi ile konu hakkında fikir verir ve toplumu yönlendirir olmuştur.

Kitabın bu konuda bir eksikliği gidereceği fikrini sayın Prof. Dr. Metin Erten vermiş ve kitabın seçiminde öncü olmuştur.

Kanserin etyolojisinde genetik, edinsel faktörler yanında çevresel faktörler de rol oynamaktadır. Kanserojen gazlar, kimyasal bileşimler, radyasyon gibi faktörlerin yanı sıra kanser gelişiminde insanın aklını karıştıran en önemli faktörlerden biri yediği içtiği olmuştur. Bazı gıdaların aşırı tüketilmesi, mineral eksikliği, ya da fazlalığı ile kanser arasında ilişkilendirme hep kurulmuştur. Ancak direk olarak bir gıdanın kesinlikle kanser yaptığını söylemek mümkün olmamaktadır. Bugün tüm kanser olgularının üçte birinin etyolojisinde beslenme alışkanlıklarının olduğu öngörülmektedir.

Doğum öncesi anne karnında başlayan ve hayatımızın sonuna kadar geçen süre sadece beslenme içeriği ile değil, bunun yanında obeziteye kadar giden aşırı beslemenin de kanser gelişiminde risk yarattığı bilinmektedir.

Daha sağlıklı bir hayat için fazla kilodan kaçınmak, düzenli egzersiz yapmak, doğal üretilen ve kontrolü yapılan gıdalarla beslenmek, tüm besinlerden yeterli ve dengeli şekilde almaya özen göstermek kanserle savaşmada en önemli yöntemlerdir.

Asbest, radon gazı, sigara gibi bilinen kanserojenler yanında bazı gıda ve çevresel faktörlerin kanser gelişiminde daha düşük de olsa risk yarattığı bilinmektedir. Farklı gıdalardan alınan vitamin, mineral veya moleküllerin de kanserden koruyabileceği düşünülmektedir. Bazen bir gıdayla ilgili, olduğundan daha fazla yarar sağlayacağına dair yanlış kanılar da oluşmaktadır.

Bu kitapta gıdaların içeriği ve toplumların beslenme alışkanlıklarına göre kanser gelişimi ve önlenmesi, bilimsel veriler ışığında irdelenmiştir.

Kitabın bütününde kişilerin kendi inandıklarını ifade etmekten öte; bilimsel veriler ışığında yapılan yayınların derlemesi ile yorumlar yapılmış, meta-analizler oluşturulmuştur.

Bir yayından veya bir gözlemden oluşan bilgiyi tüm topluma uyarlamaya çalışmak ve bunu medya önünde farklı bir alternatifi yokmuş gibi göstermek, toplumu yanlış bilinçlendirebilmektedir. Bu kitapta bu tarzda yorumlardan kaçınılmış olması güncel beslenme ve kanser arasındaki ilişkiyi bilimsel ortamda değerlendirmesi referans danışma kitabı olmasını sağlamaktadır.

Kanserde yeni yolakların ortaya konulması, gıdaların ve minerallerin bu yolaklar üzerindeki etkilerinin hızlanıp yavaşlaması üzerine etkilerinin bilinmesi ile belki ilerleyen yıllar içerisinde daha doğru beslenmenin detayları da ortaya çıkacaktır.

Tercümesinde bulunduğumuz bu kitabın beslenme ve kanser gelişimi hakkında doğru bilgiye daha hızlı ulaşmada herkes için faydalı ve yararlı olacağına inanıyoruz.

Prof. Dr. Gül Başaran
Acıbadem Üniversitesi Tıp Fakültesi
Medikal Onkoloji

Prof. Dr. Mert Başaran
İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesi
Onkoloji Enstitüsü, Medikal Onkoloji

Teşekkürler

Mayıs 2012'de düzenlenen Üçüncü Uluslararası Nütrisyon ve Kanserde İlerlemeler Konferansının sponsorları: Ulusal Kanser Araştırma Enstitüsü "Fondazione G. Pascale", Napoli; Kar amacı gütmeyen Arfacid Onlus, Napoli; Mercogliano Onkoloji Araştırma Merkezi; Napoli İkinci Üniversitesi Biyokimya ve Genel Patoloji Departmanları; Napoli Üniversitesi Klinik Tıp ve Moleküler Onkoloji Departmanları, Ulusal Araştırma Konseyi "Federico II" Gıda Bilim Enstitüsü, Avellino; İtalya Napoli'deki İtalyan Filozofik Çalışmalar Enstitüsü.

Toplantıya saygın destekleri ile katkıda bulunan kurumlar: Accademia Nazionale dei Lincei, Consiglio Nazionale delle Ricerche, Regione Campania, Comune di Napoli, Provincia di Napoli, Seconda Università degli Studi di Napoli, Università degli Studi di Napoli "Federico II," Lega Italiana per la Lotta contro i Tumori— Sezione di Napoli, Associazione Italiana di Oncologia Medica, Società Italiana di Biochimica, Società Italiana di Cancerologia, ve Ordine dei Medici di Napoli.

Konferansa destek olanlar diğer kurumlar: Banca di Credito Popolare, Roche, Acen, Biorad, DBA Italia, Delchimica, Diasorin, Euroclone, Farmacia Morrica, Istituto Varelli, Life Technologies, Microtech, Strategies Consulting, Vinci Biochem ve Carl Zeiss.

Editörler, yazarlar ve Springer Verlag arasındaki editoryal koordinasyon Janet Gates ve Paola Colonna ve Pina Carfora yönetimindeki organizasyon sekreterliği tarafından yürütülmüştür.

Editörler olarak Dr. Giuseppe Lacomino'ya konferansın organizasyonundaki değerli katkıları için teşekkür ediyoruz. Ayrıca yazarlara makaleleri için, Springer Verlag'a bu kitabın basımını mümkün kıldığı için teşekkürü borç biliriz.

İçindekiler

1. Bölüm Hayat Tarzı, Diyet ve Kanser

Kanserin Oluşumunda ve Önlenmesinde Metabolik Karsinogenezin Rolü: Prospektif Avrupa Çalışmasından Kanser ve Nütrisyonla İlgili Kanıtlar 3
Elio Riboli

Obezite, Enerji Dengesi ve Kanser: Mekanik Perspektif 21
Stephen D. Hursting

Meyve ve Sebzeler: WCFR/AICR Kanserin Önlenmesi İçin Hayat Tarzı Önerilerindeki Epidemiyolojik Kanıtların Güncellenmesi 35
Teresa Norat, Dagfinn Aune, Doris Chan ve Dora Romaguera

İnsanda Prostat Kanseri Nedeni Olarak Diyet 51
William G. Nelson, Angelo M. DeMarzo ve Srinivasan Yegnasubramanian

Akdeniz Diyet Paterni ve Kronik Hastalıklar 69
Salvatore Panico, Amalia Mattiello, Camilla Panico ve Paolo Chiodini

Diyetle Tuz Tüketimi ve Mide Kanseri Riski. 83
Lanfranco D'Elia, Ferruccio Galletti ve Pasquale Strazzullo

Alkollü İçkiler ve Gazlı İçecekler: Tüketim ve Gastrointestinal Kanser Riski 97
Rosario Cuomo, Paolo Andreozzi ve Francesco Paolo Zito

2. Bölüm Doğal Diyet Molekülleri

Doğal Antienflamatuar ve Antikanser İlaçlar 123
Barbora Orlikova, Noémie Legrand, Jana Panning, Mario Dicato ve Marc Diederich

Selenyum ve Kanser: Unutulmaması Gereken Bir Hikaye-Genom Biliminden Örnekler 145
Catherine Méplan ve John Hesketh

Resveratrol: Temel Çalışmalardan Yatak Başına 167
Adriana Borriello, Debora Bencivenga, Ilaria Caldarelli, Annunziata Tramontano, Alessia Borgia, Vincenzo Zappia ve Fulvio Della Ragione

Kuersetin: Kansere Karşı Pleiotropik Kinaz İnhibitörü 185
Gian Luigi Russo, Maria Russo, Carmela Spagnuolo, Idolo Tedesco, Stefania Bilotto, Roberta Iannitti ve Rosanna Palumbo

Sulforafan: Kanserle Savaşta Ümit Vadeden Bir Molekül 207
Monia Lenzi, Carmela Fimognari ve Patrizia Hrelia

3. Bölüm Genetik ve Epigenetik

Kanserde Kromatin Modülasyonunun Fonksiyonları, Anormallikleri ve Gelişmeler 227
Mariarosaria Conte ve Lucia Altucci

Epigenetik ve Epidemiyoloji: Çalışma Modelleri ve Örnekler 241
Karin van Veldhoven, Shati Rahman ve Paolo Vineis

Kanser ve Yaşlanmada Diyet Epigenetiği 257
Trygve O. Tollefsbol

Meme Kanseri ve Erken Yaşlardaki Beslenmenin Önemi 269
Karen A. Lillycrop ve Graham C. Burdge

4. Bölüm Zeytinyağı ve Kanserin Önlenmesi

Meme Kanserinde Zeytinyağı ve Diğer Diyet Lipidleri 289
Eduard Escrich, Montserrat Solanas ve Raquel Moral

Doğal Antioksidanların Enflamasyon ve Karaciğer Kanseri Üzerindeki Etkilerinin Araştırılmasına Holistik Bir Yaklaşım 311
Susan Costantini, Giovanni Colonna ve Giuseppe Castello

Natürel Sızma Zeytinyağı: Kompozisyondan Moleküler Gastronomiye . . . 325
Raffaele Sacchi, Antonello Paduano, Maria Savarese, Paola Vitaglione ve Vincenzo Fogliano

5. Bölüm Kanserin Hayat Tarzı Değişimleri ile Önlenmesi

Kanser Reküransının Hayat Tarzı Değişimleri ile Önlenmesi: Yin ve Yang 341
Franco Berrino

6. Bölüm Çığır Açan Yenilikler

Eski Bir Antidiyabetik İlaca Yeni Yaklaşım: Antikanser Ajan Olarak Metformin 355
Alessandra Leone, Elena Di Gennaro, Francesca Bruzzese, Antonio Avallone ve Alfredo Budillon

İntestinal Mikroplar, Diyet ve Kanser 377
Meredith A. J. Hullar, Andrea N. Burnett-Hartman ve Johanna W. Lampe

Kanserin Tedavisinde ve Önlenmesinde Enflamatuar Anjiogenez ve Tümör Mikroçevresinin Hedeflenmesi 401
Antonino Bruno, Arianna Pagani, Elena Magnani, Teresa Rossi, Douglas M. Noonan, Anna Rita Cantelmo ve Adriana Albini

DNA Hasarının Önlenmesinde, Telomer Bütünlüğünün Korunmasında ve Kanser Büyümesinin Kontrolünde Nutriomlar ve Bireyselleştirilmiş Beslenme 427
Michael F. Fenech

Melanomun Önlenmesi ve Tedavisinde Özgün Yaklaşımlar 443
Antonio M. Grimaldi, Pamela B. Cassidy, Sancy Leachmann ve Paolo A. Ascierto

Sonsöz 457
Rodolfo Saracci

Yazarlar

Adriana Albini, IRCCS Multimedica, Milan, Italy, e-mail: adriana.albini@multimedica.it

Lucia Altucci Department of Biochemistry, Biophysics and General Pathology, Second University of Naples, Naples, Italy, e-mail: lucia.altucci@unina2.il

Paolo A. Ascierto Unit of Medical Oncology and Innovative Therapies, National Cancer Institute "G. Pascale" Foundation, Naples, Italy, e-mail: paolo.ascierto@gmail.com

Franco Berrino Department of Preventive and Predictive Medicine, Istituto Nazionale Tumori Milano, Milan, Italy, e-mail: franco.berrino@istitutotumori.mi.it

Alfredo Budillon Experimental Pharmacology Unit, Department of Research, National Cancer Institute "G. Pascale" Foundation, Naples, Italy, e-mail: abudillon@yahoo.com

Susan Costantini, Cancer Research Center Mercogliano, CROM, Mercogliano, Italy, e-mail: susan.costantini@cro-m.eu

Rosario Cuomo Department of Clinical and Experimental, University of Naples "Federico II", Naples, Italy, e-mail: rcuomo@unina.it

Fulvio Della Ragione Department of Biochemistry, Biophysics and General Pathology, Second University of Naples, Naples, Italy, e-mail: fulvio.dellaragione@unina2.it

Marc Diederich Laboratoire de Biologie Moléculaire et Cellulaire du Cancer, "Fondation de Recherche Cancer et Sang", Hôpital Kirchberg, Kirchberg, Luxembourg, e-mail: marc.diederich@lbmcc.lu

Eduard Escrich Department of Cell Biology, Physiology and Immunology Medicine School, Universitat Autònoma de Barcelona, Barcelona, Spain, e-mail: Eduard.Escrich@uab.es

Michael F. Fenech, CSIRO Food and Nutritional Sciences, Adelaide, Australia, e-mail: Michael.Fenech@csiro.au

John E. Hesketh Institute for Cell and Molecular Biosciences, University of Newcastle Medical School, Newcastle Upon Tyne, UK, e-mail: j.e.hesketh@newcastle.ac.uk, j.e.hesketh@ncl.ac.uk

Patrizia Hrelia Department of Pharmacology, Alma Mater Studiorum-University of Bologna, Bologna, Italy, e-mail: patrizia.hrelia@unibo.it

Steven D. Hursting Department of Nutritional Sciences, Dell Pediatric Research Institute, University of Texas, Smithville, USA, e-mail: shursting@austin.utexas.edu

Johanna W. Lampe, Fred Hutchinson Cancer Research Center, Seattle, USA, e-mail: jlampe@fhcrc.org

Karen A. Lillycrop School of Biological Sciences, Institute of Developmental Sciences, University of Southampton, Southampton, UK, e-mail: K.A.Lillycrop@soton.ac.uk

William G. Nelson Environmental Health Sciences, The Sidney Kimmel Comprehensive Cancer Center, Johns Hopkins University, Baltimore, USA, e-mail: bnelson@jhmi.edu

Teresa Norat Department of Epidemiology and Biostatistics, School of Public Health, Imperial College, London, UK,

Salvatore Panico Department of Clinical and Experimental, University of Naples "Federico II", Naples, Italy, e-mail: spanico@unina.it

Elio Riboli School of Public Health, Imperial College, London, UK, e-mail: e.riboli@imperial.ac.uk

Gian Luigi Russo Institute of Food Sciences, National Research Council, Avellino, Italy, e-mail: gianluigi.russo@gmail.com

Raffaele Sacchi Department of Food Science, Faculty of Agriculture, Portici, Naples, Italy, e-mail: raffaele.sacchi@unina.it

Rodolfo Saracci, IFC-National Research Council, Pisa, Italy, e-mail: saracci@hotmail.com

Montserrat Solanas Department of Cell Biology, Physiology and Immunology Medicine School, Universitat Autònoma de Barcelona, Barcelona, Spain, e-mail: Montserrat.Solanas@uab.es

Pasquale Strazzullo Department of Clinical and Experimental, University of Naples "Federico II", Naples, Italy, e-mail: strazzul@unina.it

Trygve O. Tollefsbol Department of Biology, The University of Alabama, Birmingham, USA, e-mail: trygve@uab.edu

Paolo Vineis School of Public Health, MRC/HPA Centre for Environment and Health, Imperial College, London, UK, e-mail: p.vineis@imperial.ac.uk

1. Bölüm
Hayat Tarzı, Diyet ve Kanser

Kanserin Oluşumunda ve Önlenmesinde Metabolik Karsinogenezin Rolü: Prospektif Avrupa Çalışmasından Kanser ve Nütrisyonla İlgili Kanıtlar

Elio Riboli

Özet

Nütrisyonun kanserin oluşmasında ve kanserden korunmada rol oynayabileceği teorisi 100 yıldan uzun süre önce diyetin tümör büyümesindeki etkilerini inceleyen laboratuvar çalışmalarından doğmuştur. Yirminci yüzyılın ortalarında ise kanser epidemiyolojisinin ana odak noktası tütün ve alkolün rolüydü. Doll ve Peto 1980'lerin ilk yıllarında kanser nedenleri ile ilgili orijinal makaleyi yayınlayana kadar kanser ve beslenme ile ilgili majör araştırma programları başlatılmamıştı. Avrupa Prospektif Kanser ve Nütrisyon Araştırması (EPIC) IARC-WHO tarafından diyet, nütrisyonel faktörler, antropometri ve fiziksel aktivitenin kanser riskiyle ilişkisini araştırmak amacıyla özel olarak dizayn edilen büyük ölçekli, prospektif, kohort çalışmasıdır. EPIC bu faktörlerin kanser riski üzerindeki etkilerinin anlaşılmasında 1990'ların ilk yıllarından itibaren büyük katkılar yapmıştır. Bu bölümde nütrisyonel kanser epidemiyolojisinin gelişimi ile kanser ve nütrisyon ilişkisini araştıran EPIC çalışmasının dizaynı özetlenmektedir. EPIC Çalışmasının nütrisyonel ve metabolik faktörlerin kanserdeki rolü ile ilgili ana bulguları vurgulanmaktadır.

Anahtar Kelimeler

Nütrisyon • Diyet • Metabolik faktörler • Steroid hormonlar • Kanser • Epidemiyoloji • Büyük ölçekli prospektif kohort çalışması • Avrupa Prospektif Kanser ve Nütrisyon Araştırması

E. Riboli (✉)
School of Public Health, Imperial College, London, UK
e-mail: e.riboli@imperial.ac.uk

V. Zappia et al. (eds.), *Advances in Nutrition and Cancer,*
Cancer Treatment and Research 159, DOI: 10.1007/978-3-642-38007-5_1,
© Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2014

İçindekiler

1 Tarihsel Arkaplan 4
2 EPIC Projesinin Dizaynı ve Hayata Geçirilmesi 8
3 Nütrisyon, Metabolik Faktörler ve Kanser ile İlgili Araştırma Bulguları 10
3.1 Gıdalar ve Besin Öğeleri 10
3.2 Obezite 11
3.3 Boy 12
3.4 İnsülin Rezistansı 13
3.5 Seks Steroid Hormonları 14
4 Sonuçlar 14
Referanslar 16

1 Tarihsel Arkaplan

Nütrisyonun kanserin oluşumunda ve kanserden korunmada rol oynayabileceği teorisinin gelişimine, 1900'lü yılların başlarında farklı diyetlerin, tümörlerin gelişim ve büyümeleri üzerindeki etkilerini araştıran laboratuvar çalışmaları yol açmıştır. Bu ilk araştırmalarda kemirgenlerdeki spontan ya da transplante tümörlerin iyi beslenenlerde büyüdüğü, kısıtlı kalori alanlarda ise bu büyümenin inhibe olduğu gözlenmiştir. Tümör büyümesini inhibe etmek için, kalori alımının dilediği kadar kalori alan gruba göre ciddi oranda kısıtlanması gerekiyordu. Daha sonraki çalışmalarda kalori kısıtlamasının eksizyon sonrası transplante edilen spontan tümörlerin reküransını da önlediği gösterilmiştir [30, 36, 42].

Albert Tannenbaum ve çalışma arkadaşları kemirgen modellerinde yüksek kalorili, yüksek yağlı ve yüksek proteinli diyetlerin kanserle ilişkisini otuz yıl boyunca araştırdıkları laboratuar çalışmalarına 1930'larda başlamışladır [44, 46, 47]. Özellikle meme bezleri, karaciğer ve akciğerde görülenleri de içeren bazı tümör tiplerinin yüksek kalorili veya yüksek yağlı diyetlerden (ya da her ikisinden) daha fazla etkilendiğini tespit etmişlerdir. Bu veriler yüksek yağlı diyetin tümör gelişimine katkısının (en azından bir kısmının) yağ artışı ile yükselen kalori miktarına bağlı olduğunu gösteren Baumann tarafından bildirilmiştir [29].

İnsanlarda diyet ve kanser epidemiyolojisi ile ilgili bilinen ilk çalışma 1933 yılında yayınlanmıştır. 462 kanser hastası ve 435 kontrol deneği ile gerçekleştirilen çalışmada sebze tüketimindeki artışın kanser riskini azalttığı, fazla bira içenlerde ise üst gastrointestinal sistem kanserlerinin arttığı bulunmuştur [41].

Tannenbaum obezitenin kanser ve diğer hastalıklara bağlı mortalite ile ilişkisini araştıran ve muhtemelen ilk kez yapılan retrospektif kohort çalışmasını yönetmiştir. Çalışmada Kuzey Amerika hayat sigortası şirketlerinden alınan veriler kullanılmıştır. İlk kez hayat sigortası satın aldığı esnada obez olan bireylerdeki kansere bağlı mortalitenin %30-50 oranında arttığı bulunmuştur [45].

Bu sonuçlar kanser araştırmalarında kullanılan yaygın yaklaşımlar üzerinde önemli bir değişime yol açmamıştır. O dönemde kanserin hava, içme suyu, besinler (kontami-

nantlar veya kimyasal katkılar) veya iş ortamında mevcut olan kimyasal veya fiziksel bileşiklerin etkisi ile oluştuğu hipotezine yaygın olarak inanılıyordu. Bu nedenle kanser ile ilgili çalışmaların çoğu yeni karsinojenlerin tanımlanması ile kimyasal ve fiziksel karsinogenezin mekanizmasının anlaşılmasına yönelik olarak dizayn ediliyordu.

O dönemde araştırma konusu olan majör faktörler, yaşam tarzı ile ilişkili iki potansiyel karsinojen olan tütün ve alkol kullanımı idi. 1950'lerde İngiltere'de Richard Doll ve Bradford Hill [5–8], ABD'de ise Ernst Wynder [51] tarafından yapılan çalışmalarda tütünün rolü net olarak belirlenmişti. Bu çalışmalarda yaşamları boyunca sigara içenlerde çok yüksek oranda karsinojenik etki tespit edilmişti. Örneğin sigaraya 18-20 yaşında başlayan ve günde 20-30 sigara içen bir bireydeki akciğer kanseri riskinin 30 ile 40 kat arttığı bulunmuştu. Sigarada bulunan kimyasal bileşiklerin tanımlanarak laboratuar karsinogenez modellerinde test edilmeleri ile epidemiyolojik çalışmalar için hızlı ve güçlü destek sağlanmıştır.

Bu çerçevede ortaya çıkan bilimsel kanıtlar alkol tüketimi ile kanser arasında doğrusal ilişkinin çok daha az olduğunu ortaya koymuştur. Bu durum alkol tüketimi ile kanser arasındaki ilişkinin gücü gibi birçok nedenden kaynaklanır. Gerçekte alkol tüketimi rölatif kanser riskini önemli oranda artırmaktadır. Ancak bu artış sigara ile akciğer kanseri ilişkisindeki kadar güçlü değildir. Artan alkol tüketimi (örn. günde 70-80gr alkol, bir şişe şarap veya dört büyük şişe bira eşdeğeridir) üst sindirim ve solunum yolu kanserlerini (ağız, farenks, larenks ve özofagus) tipik olarak 5 ila 6 kat artırmaktadır. Aynı zamanda sigara kullanımı da mevcutsa bu artış birkaç kat daha yükselir. Ancak diğer birçok kanser türündeki rölatif risk artışı (örn. kolorektal, karaciğer ve meme kanserleri) 1.5 kat gibi çok daha düşük seviyelerdedir.

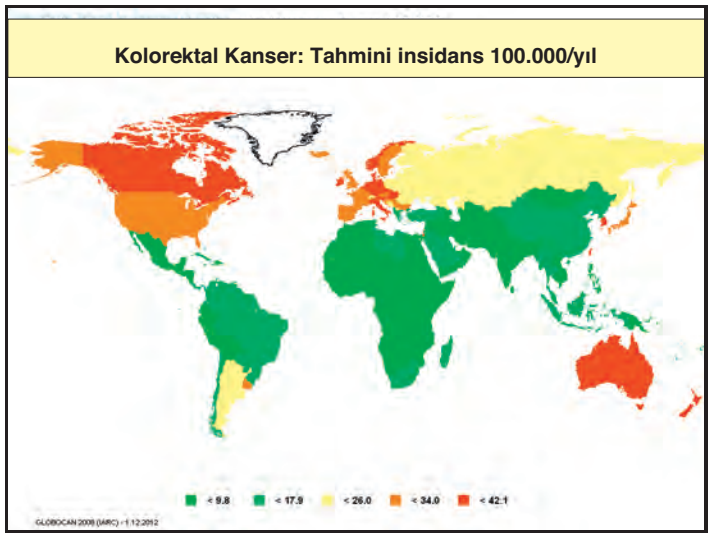
Deneysel hayvan modellerinden elde edilen ve alkolün kansere neden olduğunu gösteren kanıtların toplanabilmesi sigaradaki kimyasalların tespitinden çok daha uzun sürmüştür. Alkolün kanser riski üzerindeki etkisi ile ilgili olarak tanımlanabilen mekanizmalar arasında [19], özellikle üst gastrointestinal sistem ve karaciğerle ilişkili olarak asetaldehite bağlı DNA hasarı; meme kanseriyle ilişkili olarak östrojen sekresyon ve biyoyararlanımında artış; reaktif oksijen ve nitrojen türlerinin üretimi ve folat metabolizmasındaki değişimler sayılabilir.

Diyetin kanser gelişimindeki muhtemel rolünü araştırmak amacıyla modern epidemiyolojik yöntemlerle dizayn edilen ilk vaka kontrol çalışmaları ise 1960'lı ve 1970'li yıllara kadar yapılamamıştır. İlk çalışmalarda çoğunlukla gastrointestinal (mide, kolon, rektum) ve respiratuar (larenks, akciğer) sistemlerle ilgili kanserler araştırılmıştır [31]. Nütrisyona ilginin tekrar artmasını, farklı global popülasyonlardaki kanser insidanslarının yayınlanması tetiklemiştir [9, 10].

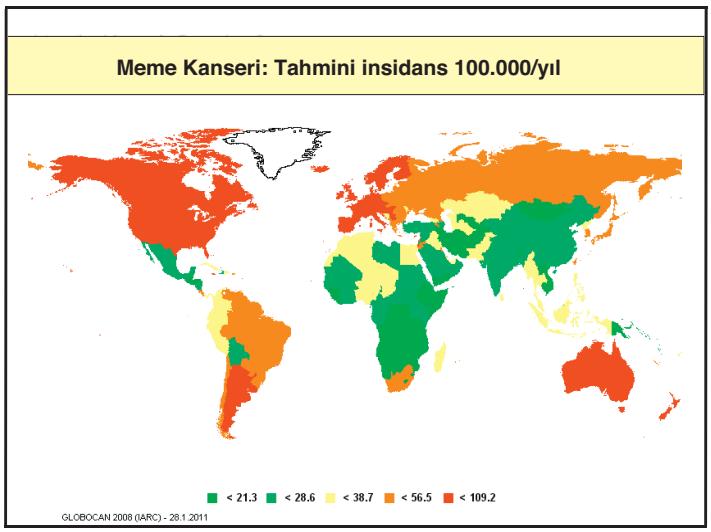
Popülasyon tabanlı kanser kayıt çalışmaları verileri birçok kanserin global insidanslarının ciddi anlamda farklı olduğunu ortaya koydu. Dünya'daki farklı popülasyonlardaki bazı kanserlerin insidansları arasında 15 ila 20 kata varan farklar mevcuttur (Şekil 1).

Tütün kullanım hikayesi ve prevalansındaki farklılıklar veya son zamanlarda gösterildiği üzere hepatit B ve C insidans ve prevalansı veya küf ile kontamine olmuş yiyecek veya alkollü içki kullanımı ile aflatoksinlere maruz kalınması akciğer ve karaciğer kanse-

(a)



(b)



Şekil 1 GLOBOCAN 2008 Dünya genelinde tahmini kanser insidansları 100.000/yıl (**a**) Kolorektal (**b**) Meme kanseri. [14] nolu referanstan uyarlanmıştır.

ri gibi bazı kanser türlerinde görülen varyasyonların ortaya çıkmasında rol oynayan en muhtemel nedenlerdir. Meme, kolon ve rektum, prostat ve mide kanserleri gibi birçok diğer kanser türündeki büyük varyasyonların nedenlerinin bilinmiyor oluşu etyolojilerinde diyetin rol oynayabileceği hipotezini doğurmuştur.

İlk yapılan epidemiyolojik çalışmalarda belirli bazı besinlerle kanser riski arasındaki ilişki araştırılmıştır. Zaman içinde özellikle meyve, sebze ve zengin lifli tahıllar gibi belirli bazı yiyeceklerin tüketilmesi ile kanser riskinin azalabileceğini gösteren bazı kanıtlar ortaya konulmuştur. Buna karşın çok tuz içeren (sebze turşuları, korum amaçlı tuzlanmış et), kırmızı et ve hayvan yağları (bitkisel yağların aksine) kanser riskini artırabilir.

Bu çalışma ile diyet ile kanser riski arasındaki ilişki daha iyi anlaşılmış da olsa, araştırma tüketilen gıdaların toplam tüketim miktarının, alınan besin ve enerji içeriğinin kesin bir ölçümüne değil gıdanın tipine odaklanmıştır. Ayrıca vücut ağırlığı ve fiziksel aktivitenin kanser riskindeki potansiyel önemini incelemeye yönelik bir girişim de yapılmamıştır. O dönemde yağ alımının toplam kalori alımını aşırı düzeyde artırabildiği için değil sadece kimyasal ve nütrisyonel özellikleri nedeniyle kanser riskini artırdığı düşünülüyordu. Obezite majör risk faktörü olarak görülmüyordu. Yapılan çalışmaların hiçbirinde kalori alımının etkileri ile tüketilen yağ miktarının etkisi birbirinden ayrılmamıştı.

1981 yılında Richard Doll ve Richard Peto tarafından kanser nedenleri hakkında yayınlanan dönüm noktası sayılan makalede ABD'deki kanser türlerinin tahmini olarak %35'inin beslenme kaynaklı olabileceği bilgisi mevcuttu. Ancak %10 ila %70 arasında çok geniş bir güven aralığı mevcuttu [11]. Bu makalenin ABD Ulusal Bilim Akademisi'nin (National Academy of Science 1982) diyet ve kanser hakkında yayınladığı başka bir makale ile kombinasyon halinde yayınlanması IARC-WHO'yu harekete geçirerek Dr. Rodolfo Saracci direktörlüğündeki Analitik Epidemiyoloji Ünitesi'nde nütrisyon ve kanser konulu yeni araştırma programının başlatılmasını sağlamıştır.

Diyet, nütrisyonel faktörler, antropometri ve fiziksel aktivitenin kanser riski ile ilişkisini araştırmak üzere özel dizayn edilmiş büyük ölçekli, prospektif, kohort çalışmaları kanser epidemiyolojisinde yeni bir dönemin başlamasına katkı sağlamıştır. Bu çalışmaların ilki Kuzey Amerika'da başlamıştır. Özellikle Harvard Üniversitesi'nden Walter Willett çok büyük kohort çalışmalarında kullanıma uygun anketlerin geliştirilmesinde, makrobesinlerin tüketim ve enerjilerinin hesaplanma ve ayarlanmalarında kullanılan yöntemlerin formülize edilmesinde çok önemli çalışmalar yapmıştır.

Avrupa'da İsveç Lund Üniversitesi IARC kolaborasyonu, Malmö'de prospektif kohort çalışması dizayn etmeye başlamıştır. Paralel olarak Danimarka Kanser Derneği de Kopenhag ve Aarhus'ta benzer bir projenin planlamasına başlamıştır.

Hollanda, İngiltere (Cambridge), İtalya (Milan) ve Fransa'daki (Paris) farklı araştırmacılar da nütrisyon ile ilgili prospektif çalışmaların dizaynlarını yapmaktadır.

Bu yeni ilgi alanında IARC bünyesinde geliştirilen nütrisyon ve kanser araştırma programı, çok merkezli Avrupa prospektif kohort çalışmasının planlamasının temelini oluşturmuş ve sonuç olarak Avrupa Prospektif Kanser ve Nütrisyon Araştırması (EPIC) ortaya çıkmıştır.

2 EPIC Projesinin Dizaynı ve Hayata Geçirilmesi

1989 yılında başlatılan EPIC projesi büyük ölçekli, çok merkezli ve çok dilli kohort çalışmalarında kullanılmak üzere dizayn edilen diyet ölçüm yöntemlerinin rölatif geçerlilik ve tekrarlanabilirliklerini test etmeyi amaçlayan bir dizi metodolojik çalışma ile birlikte başlatılmıştır.

Bu metodolojik çalışmalar bir yıllık periyodun başlangıcında ve bitiminde yeni geliştirilen diyet değerlendirme anketi kullanılarak iki ölçüm yapmayı hedefleyen basit bir dizayna sahiptir. Diyet anketlerinin sonuçları, çalışma süresince aylık olarak yapılan ve 12 kez tekrar edilen 24 saatlik hatırlama (hastaya sorarak görüşmeden önceki gün içindeki yiyecek alımını tanımlama ve oranını saptama) yöntemi ile diyetle ortalama enerji alımını tahmin eden referans yöntemle karşılaştırılmıştır.

Dörder kez tekrar edilen kan ve idrar örneklerinde ölçülen biyomarkerler ile diyetle alınan tahmini besin öğeleri ve gıdalar karşılaştırılmıştır.

Aynı zamanda çok sayıda çalışma deneğinden maliyet etkin bir yöntem ile toplanan yaşam tarzı ve medikal hikaye bilgileri ile alınan biyolojik örneklerin de fizibilitesi test edilmiştir. Bu metodolojik ve pilot fazın başarılı bir şekilde tamamlanması ile Avrupa Komisyonu'nun "Kansere Karşı Avrupa" programı ve birçok ulusal enstitüden sağlanan ve tam ölçekli projenin başlaması için gereken maddi desteğin de önü açılmış oldu.

EPIC kayıtları 7 ana EPIC ülkesindeki (Fransa, Almanya, Yunanistan, İtalya, Hollanda, İspanya ve İngiltere) 17 merkezde 1992 yılında başladı. Devamındaki 2-3 yıl içinde Danimarka, Norveç ve İsveç'te benzer çalışmalar yapan araştırma merkezleri de EPIC konsorsiyumuna katıldı.

Kayıtların büyük bölümü 1993-1999 yılları arasında gerçekleştirildi. Çalışmaya çoğu belirli coğrafi bölgelerde yaşayan genel popülasyondan, 35-70 yaşları arasındaki bireyler davet edildi. Bazı istisnalar da mevcuttu. Örneğin Utrecht kohortu meme kanseri taraması yapılan kadınlardan, Oxford kohortu hem genel popülasyon hem de vejeteryan ve veganlardan, Fransız kohortu da ulusal sağlık sigortası kapsamındaki okul çalışanlarından oluşuyordu.

EPIC, çalışmaya kayıt fazının sona erdiği 1999 yılında 10 Avrupa ülkesindeki 23 çalışma merkezinden 521.330 katılımcı ile kanser ve nütrisyon arasındaki ilişkiyi incelemek üzere dizayn edilen en büyük prospektif kohort çalışması olmuştur (Şekil 2).

Prospektif kohort yaklaşımı diyet ve hayat tarzı faktörleri ile ilgili başlangıç anketlerini, antropometrik karakteristiklerin standardize protokollere göre ölçümünü (vücut ağırlığı, boy, oturma yüksekliği, bel ve kalça çevresi), kan basıncı ve nabız değerlerinin toplanmasını kapsar. EPIC aynı zamanda çok fazla sayıda katılımcıdan kan örneklerinin toplanarak saklandığı ilk çalışmaydı: Her biri 30 ml olan 388.467 kan örneği alındıktan sonra her örnek sitratlı plazma ve serum içeren 28 plastik pipete bölünerek, sıvı nitrojen içinde saklandı. Örnekler güvenlik amacıyla bölünerek IARC'nin ana deposunda ve her ulusal merkezde depolandı.

Avrupa Prospektif Kanser ve Nütrisyon Araştırması (EPIC): Sorumlu Araştırmacılar ve Katılımcı Merkezler

Imperial College Londra (ICL)
• Elio Riboli (EPIC Koordinatörü), Gwyneth Davey†, Marc Gunter, Teresa Norat.

Uluslararası Kanser Araştırmaları Ajansı Dünya Sağlık Örgütü (IARC, Lyon)
• Isabelle Romieu, Paul Brennan, Pietro Ferrari, Mazda Jenab, Nadia Slimani, Rodolfo Saracci.

Danimarka
• Kim Overvad, Aarhus Üniversitesi
• Anne Tjønneland, Danimarka Kanser Derneği, Kopenhag.

Fransa
• Marie-Christine Boutron-Ruault, Françoise Clavel-Chapelon, Laure Dossus, INSERM U1018, Paris South Üniversitesi and Gustave Roussy Enstitüsü, Villejuif.

Almanya
• Heiner Boeing, Alman İnsan Nütrisyon Enstitüsü, Potsdam.
• Rudolf Kaaks, DKFZ, Heidelberg.

Yunanistan
• Antonia Trichopoulou, Hellenic Sağlık Vakfı; Atina Üniversitesi Tıp Fakültesi
• Dimitrios Trichopoulos, Harvard Halk Sağlığı Fakültesi Atina Akademisi
• Pagona Lagiou, Atina Üniversitesi Tıp Fakültesi

İtalya
• Franco Berrino and Vittorio Krogh, Ulusal Kanser Enstitüsü, Milan.
• Domenico Palli, Giovanna Masala, Kanser Araştırma ve Önleme Merkezi-CSPO, Floransa
• Salvatore Panico, Federico II Üniversitesi, Napoli.
• Rosario Tumino, Kanser Kayıt, Associazione Iblea Ricerca Epidemiologica - ONLUS and ASP, Ragusa.
• Paolo Vineis, Turin Üniversitesi ve HuGeF Vakfı.

Hollanda
• Bas Bueno-de-Mesquita, Ulusal Halk Sağlığı ve Çevre Enstitüsü, Bilthoven
• Petra Peeters, Julius Sağlık Bilimleri ve Birinci Basamak Merkezi, Üniversite Medikal Merkezi, Utrecht.

Norveç
• Eiliv Lund,Guri Skeie, Elisabete Weiderpass, Toplum Sağlığı Departmanı, Tromsø Üniversitesi



İspanya
• Carlos A. González, Antonio Agudo, Eric Duell, Katalan Onkoloji Enstitüsü, Barcelona
• Aurelio Barricarte, Navarre Halk Sağlığı Enstitüsü, Pamplona.
• Miren Dorronsoro, Guipuzcoa Halk Sağlığı Ofisi, San Sebastian.
• Carmen Navarro, Murcia Bölgesel Sağlık Konseyi, Murcia
• María José Sánchez Pérez, Andalusian Halk Sağlığı Okulu, Granada.
• J. Ramon Quirós Halk Sağlığı Direktörlüğü, Asturias.

İsveç
• Göran Berglund, Jonas Manjer, Malmö Diyet ve Kanser Çalışması, Lund Üniversitesi, Malmö.
• Göran Hallmans, Mattias Johannson, Malin Sund, Umeå Üniversitesi.

İngiltere
• Nicholas E Day, Kay-Tee Khaw, Sheila Bingham†, Nicolas Wareham, John Danesh, Cambridge Üniversitesi.
• Timothy J Key, Ruth C Travis, Oxford Üniversitesi.

Şekil 2 EPIC konsorsiyumunda yer alan Avrupa merkezleri ve sorumlu araştırmacıları.

EPIC Çalışmasının ana özelliklerinden birisi geniş coğrafi kapsama alanı sayesinde değişken diyet ve hayat tarzı alışkanlıkları ile farklı kanser insidanslarına sahip popülasyonlardan oluşmasıdır. Çalışma dizaynındaki maruziyet ve hastalık sonuçları ile ilgili heterojeniteler, diyet ile hastalıklar arasındaki ilişkilerin belirlenmesindeki genel istatistiksel gücü artırması yönünden önemlidir.

Ancak çalışma merkezleri arasındaki diyet ve dil farklılıkları, belirli gıda ve besin öğelerinin alım miktarlarının sistematik olarak gerçekte olandan daha az ya da daha çok tahmin edilmesine yol açabilir. Bu metodolojik zorluğun üstesinden gelebilmek amacıyla içerdiği kalibrasyon alt çalışması ile diyet ölçümünü iyileştirmeyi amaçlayan bir araştırma programı geliştirildi. Her EPIC ülkesinde tüm kohortun %7'sini (38.000 kişi) kapsayan

detaylı 24 saatlik diyet hatırlama değerlendirmeleri yapıldı. Bu veriler kullanılarak her merkezden alınan veriler kalibre edildi. Böylece çalışmanın başlangıcındaki diyet değerlendirmelerindeki olası sistematik tahmin hatalarının düzeltilmesi amaçlandı.

Katılımcılar başlangıç verilerinin toplanmasından sonra diyet ve hayat tarzlarında olabilecek majör değişiklikler ile sık görülen hastalıklar ve medikal problemler yönünden takip edildiler.

Takibin amacı EPIC kohortunda gelişen kanser vakalarının popülasyon kanser kayıt verilerinden faydalanarak belirlenmesiydi. Yaşadıkları bölge itibarı ile kayıt çalışmaları kapsamına girmeyen deneklerin mevcut olduğu bazı EPIC ülkelerinde (örn. Fransa, Almanya, Yunanistan) kanser insidans bilgilerine çalışma deneklerinin ve yakınlarının aktif takibi, sağlık sigortası kayıtları, klinik ve patolojik kayıtlar gibi yöntemler ile ulaşıldı.

IARC-WHO bünyesindeki güvenli merkezi veri tabanında saklanan bu veriler spesifik çalışmalar için EPIC araştırmacılarının hizmetine sunulmaktadır. Şu ana kadar 60.000'in üzerinde yeni kanser vakası bildirilmiştir. Bunlar arasında yaklaşık 14.000 meme, 3600 akciğer, 5200 kolorektal, 1180 pankreas ve 1400 endometrium kanseri vakası mevcuttur. Bu veriler kanser nedenlerini araştıracak yeterli güce sahip çalışmalar için altyapı oluşturmaktadır.

3 Nütrisyon, Metabolik Faktörler ve Kanser ile İlgili Araştırma Bulguları

EPIC kanser etyolojisi ile ilgili epidemiyolojik çalışmalar için gelişmiş ve büyük ölçekli bir kaynaktır. Diyet, fiziksel aktiviteler, antropometri ve biyomarker ölçümü ile ilgili çalışma verileri, nütrisyonun ve metabolik faktörlerin kanserde oynadığı rol ile ilgili büyük resmi oluşturabilmek amacıyla entegre edilebilir. Aşağıda EPIC kapsamındaki araştırmanın bazı önemli noktaları özetlenmiştir.

3.1 Gıdalar ve Besin Öğeleri

Belirli gıda ve besin öğelerinin kanser riski ile ilişkisi hakkında EPIC kapsamında gerçekleştirilen spesifik araştırma projelerinde spesifik kanser türlerinin gelişimi ile ilgili birçok ilişki belirlemiştir. Bunlar aşağıda kısaca özetlenmektedir.

Özellikle tahıl kaynaklı lif tüketiminin kolorektal kanser gelişim riskini istikrarlı ve yüksek oranda anlamlı olarak azalttığı bulunmuştur [2, 3]. Kırmızı et ve işlenmiş et ürünleri mide, kolon ve rektumu da kapsayan sindirim kanalı kanserlerinde artışla ilişkilidir [17, 32].

Bazı besin öğelerinin belirli kan düzeylerinde bulunmaları anlamlı olarak azalmış kanser riski ile ilişkili bulunmuştur. B vitaminlerinin kolorektal kanserler [12] ile akciğer kanserine [23], askorbik asit ve bazı karotenoidlerin mide kanserine [20], D vitamininin kolorektal kanserlere [22] karşı koruyucu etkileri ile ilgili kayda değer bağlantılar bulunmuştur.

Ancak bu makalenin ana odak noktası antropometrik ve metabolik faktörler ile kanser riski arasındaki ilişkiyle ilgili majör bulgulardır.

3.2 Obezite

Vücut kütle indeksi (VKİ) ile diğer antropometrik ölçütler ve kanser riski arasındaki ilişki EPIC popülasyonundaki birçok kanser tipi için araştırılmıştır. Vücut ağırlığı ve VKİ erkeklerdeki kolon kanseri riskiyle pozitif ilişkili bulunmuştur. Aynı ilişki kadınlarda zayıftır ya da mevcut değildir. Ancak abdominal obezitenin göstergesi olan bel çevresi ve bel-kalça oranı (BKO) analizlerinin hem kadın hem de erkeklerdeki kolon kanserini tahmin etmekte kullanılabilecekleri bulunmuştur. En yüksek BKO'ya sahip beşte birlik dilim ile en düşük BKO'ya sahip beşte birlik dilim arasındaki rölatif risk erkeklerde 1.51 (%95 CI = 1.06-2.15); kadınlarda ise 1.52 (%95 CI = 1.12-2.05) bulunmuştur [33].

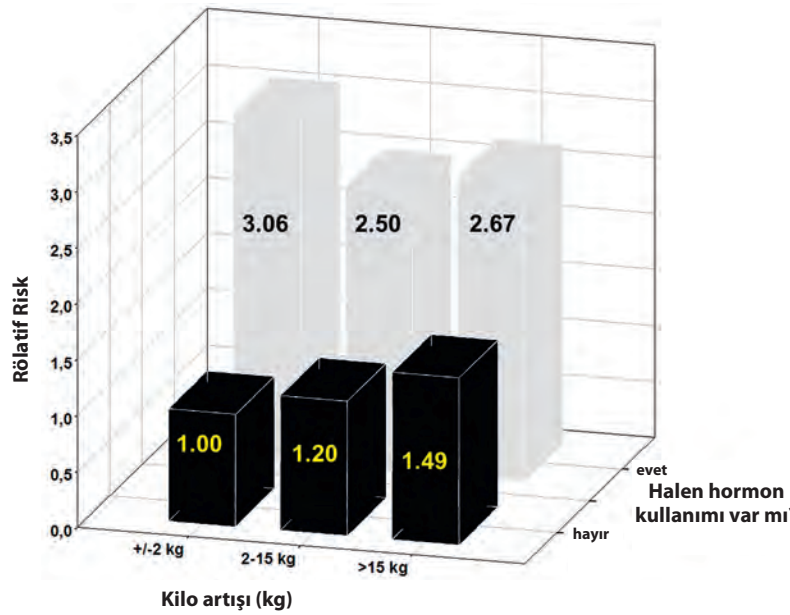
Postmenopozal kadınlardaki abdominal obezitenin kolon kanseri ile ilişkisi hormon replasman tedavisi (HRT) kullanımına bağlı olarak değişimler gösterir. Hiç HRT uygulanmamış kadınlarda daha sıklıkla ortaya çıkıyor görünmektedir. Bu konunun incelenmesi için ilave çalışmalara ihtiyaç vardır [33].

Bel çevresi ≥88 cm olan kadınlarda kolon kanserinin rölatif riski bel çevresi <80 cm olanlara göre 1.76'dır (%95 CI = 1.42-2.19); kilo, bel, kalça çevresi ve BKO ile artmış endometrial kanser riski arasında da güçlü bir ilişki mevcuttur [16].

Fazla kilolu olmanın (VKİ ile gösterilir) HRT uygulanmayan postmenopozal kadınlardaki meme kanseri riskinin anlamlı bir göstergesi olduğu bulunmuştur. Analiz başlangıçta veya başlangıçtan birkaç yıl önce HRT kullanan kadınlar ile sınırlandığında VKİ ile meme kanseri arasındaki ilişkinin gözle görülür şekilde zayıfladığı gözlenmiştir [27]. Diğer bazı kohort çalışmalarında da benzer sonuçlar bildirilmiştir [18]. Ancak bu sonuçlar yorumlanırken her iki risk faktörünün gerçek zamanlı sıralaması göz önüne alınmamıştır. Gerçekte bu kadınlar önce kilo almış, daha sonra da HRT tedavisi kullanmaya başlamışlardır (veya başlamamışlardır). Bu nedenle HRT ile normal kilolu kadınlardaki meme kanseri riski daha fazla artarken, fazla kilolu ve obez kadınlarda progresif olarak daha az artış görüldüğü yönünde yorumlanmalıdır (Şekil 3.).

Premenopozal kadınlarda meme kanseri ile vücut ağırlığı ve VKİ arasında zayıf bir ters orantı mevcuttur. EPIC çalışmasında bu ilişki anlamlı bulunmamıştır. Ancak bazı çalışmaların sonuçlarının da benzer yönde olması beklenmeyen bir araştırma sorusunun doğmasına neden olmuştur. Fazla kilolu ve obez kadınlardaki meme kanseri riskinin 45-50 yaşlarından önce niçin azaldığını açıklayabilecek bir mekanizma mevcut değildir.

Bu beklenmeyen bağlantı, EPIC çalışmasında bir insülin rezistansı markeri olan C-peptid düzeylerinin artmasının meme kanseri riski ile ters orantılı olduğunun bulunması ile desteklenmiştir. Bu markerin artışı menopoz öncesi meme kanserinde hafif azalmanın, menopoz sonrasındaki riskte de artışın göstergesidir.[49].



Şekil 3 EPIC çalışmasındaki postmenopozal kadınlarda çok değişkenli, düzeltilmiş, rölatif meme kanseri riskinin kilo alımı ve hormon kullanımı yönünden değerlendirilmesi.

Popülasyonun çeşitli segmentlerdeki etki farklılıkları göz önüne alındığında obezitenin hangi mekanizmalarla kanser riskini etkilediğinin anlaşılması önem kazanmaktadır. Meme kanseri etyolojisinde hormonal mekanizmaların rol oynadığı teorisini destekleyen çok önemli kanıtlar mevcuttur.

Orta ve yüksek düzeyde fiziksel aktivite ile eğlence ve ev aktivitelerinin kombinasyonunun fazla kilodan bağımsız olarak meme kanseri riskini azalttığı bulunmuştur. Meme kanseri ile hormon reseptör durumu arasındaki heterojen bağlantılar, hormonlarla ilgili mekanizmaların rol oynadığını göstermektedir [28, 40].

Benzer şekilde artan fiziksel aktivitenin kolorektal kanser riskini de azalttığı bulunmuştur. Fiziksel olarak aktif ve zayıf olan bireylerdeki bu risk fazla kilolu ve sedanter bireylere göre yarı yarıya azalmıştır [15].

Fiziksel aktivite ile lenfoid neoplazmaları da içeren diğer birçok kanser tipi arasında bir ilişki tespit edilememiştir [48].

3.3 Boy

Erken boy uzamasının hayatın ilerleyen dönemlerindeki kanser riskini artırabileceği teorisi ile uyumlu olarak, boyun bazı kanserlerin riskinde ve genel kanser insidansı ile kanser mortalitesinde artış ile ilişkili olduğu gösterilmiştir [50].

Bu ilişkinin özellikle kolorektal ve meme kanseri için geçerli olduğu EPIC çalışmasında gösterilmiştir. Uzun boylu erkek (≥180.5 cm) ve kadınlardaki (≥167.5 cm) kolorektal kanser rölatif riski (RR) kısa boylu erkek (<168 cm) ve kadınlara (<156 cm) göre sırasıyla 1.40 (95% CI = 0.99–1.98) ve 1.79 (%95 CI = 1.30–2.46)bulunmuştur. Boy farkları arasında lineer bir ilişki mevcuttur [33].

Uzun boylu kadınlarda kısa boylu kadınlara göre meme kanseri riski premenopozal kadınlarda 1.33 (%95 CI 0.96–1.84) postmenopozal kadınlarda ise 1.40 (%95 CI 1.16–1.69) bulunmuştur.

Burada da boy farkları arasında lineer ilişki mevcuttur. Her 5 cm daha uzun boy premenopozal kadınlarda 1.05 (%95 CI 1.00–1.16) postmenopozal kadınlarda ise 1.10 (%95 CI 1.05–1.16) risk artışına yol açmaktadır.

Boy uzunluğunun kanser üzerindeki etkilerinin mekanizması bilinmemekle birlikte, muhtemelen genetik, çevresel, hormonal ve nütrisyonel faktörlerin bir kombinasyonundan kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Burada ilgi çekici olan nokta metabolik faktörlerin erken yaşlarda, birey en uzun boyuna ulaşmadan önce etki ederek hayatın ilerleyen dönemlerinde etkisini gösterecek kalıcı bir "damga" bırakmasıdır. Hem büyümeyi hem de hayatın devamında ortaya çıkan bulaşıcı olmayan kanser, kardiyovasküler ve respiratuar hastalıkları etkileyen faktörlerin anlaşılması henüz bilinmeyen hastalık mekanizmalarının anlaşılması için gelecekte yapılacak araştırmalarda incelenecek önemli konular olmalıdır.

3.4 İnsülin Rezistansı

Kompleks bir metabolik durum olan insülin rezistansında hücrelere glukoz girişi için normalden daha yüksek insülin düzeyleri gerekmektedir. Pankreas bozukluğun hafif seviyelerinde insülin sentezini artırarak artan ihtiyaca cevap verebilir. İnsülin rezistansı ilerledikçe pankreas gereken insülin miktarını sağlayamaz hale gelir. Böylece yüksek insülin seviyeleri ile hiperglisemi birlikte görülür. Bu bozukluk yıllar içinde ilerleyerek belirgin tip 2 diyabet gelişimine yol açabilir ya da bireyin hayatı boyunca hafif düzeyde seyrederek diyabete yol açmaz.

İnsülin rezistansının tespiti için en yaygın kullanılan serum markerleri C-peptid ve glikolize hemoglobindir (HbA1c). Yükselen C-peptid düzeyleri insülin rezistansını HbA1c'ye göre daha erken gösteren bir markerdir. Glikolize hemoglobin ancak periferik insülin rezistansını kompanse etmek ve glisemiyi kontrol etmek için gereken yüksek insülin sekresyonu yeterli olmadığı zaman normal seviyelerin üzerine yükselir. Buna karşın insülin sekresyonunun bir markeri olan C-peptid ise glisemi ve HbA1c henüz normal değer aralığında iken bile yükselebilir. Bu nedenle EPIC çalışmasındaki insülin rezistansının kanser riski ile ilişkisini inceleyen birçok araştırmada C-peptid değerlerini kullanmayı tercih ettik.

İlk olarak New York Üniversitesi Kadın Sağlığı Çalışmasında serum C-peptid düzeyleri ile kolon ve rektum kanserinin rölatif riski arasında güçlü bir ilişki bildirdik. C-peptid değerleri yönünden en yüksek ve düşük beşte birlik dilimler arasındaki olasılık oranını 2.92 (%95 CI 1.26-6.75) olarak tespit ettik [24]. Aynı ilişki EPIC çalışmasındaki çok daha fazla sayıdaki kolon ve rektum kanser vakaları için de tespit edilmiş olsa da aradaki ilişkinin gücü daha düşük bulunmuştur [21].

Tüm yaşlardaki endometrium kanseri için de pozitif bir ilişki gözlenmiştir [4]. Meme kanseri için premenopozal ve postmenopozal kadınlarda ise birbirinin karşıtı etkiler tespit edilmiştir (aşağıda tanımlanmıştır, [49]). Meme kanseri tanısı sırasında 50 yaşından genç olan ve başlangıç C-peptid düzeyleri yüksek olan hastalardaki meme kanseri riskinin anlamlı olarak azaldığı tespit edilmiştir [49].

3.5 Seks Steroid Hormonları

Kanserin yukarıda tanımlanan antropometrik özellikleri ile ilgili altta yatan hormonal mekanizmalar mevcuttur. Bu durum EPIC çalışmasının meme kanseri araştırmaları gibi hormonal faktörler ile kanser riskini araştıran birçok detaylı çalışmanın doğmasına yol açmıştır.

VKİ ile meme kanseri riski arasında doğru orantı bulunan postmenopozal kadınlarda VKİ ile östron, serbest östradiol ve serbest testosteron düzeyleri arasında da doğru orantı mevcuttur [25]. Seks hormonu bağlayıcı globülin (SHBG) düzeyleri ile VKİ arasında ters orantı mevcuttur. Bu glikoprotein androjen ve östrojenleri tecrit ederek hücre reseptörlerine bağlanmalarına engel olur. Bu gözlemlere ek olarak, bir grup hormonun seviyelerindeki artmanın artan meme kanseri riski ile güçlü ilişkisi mevcuttur. SHBG meme kanseri riskinde azalma ile ilişkili olan tek faktördür (Şekil 4.) [25].

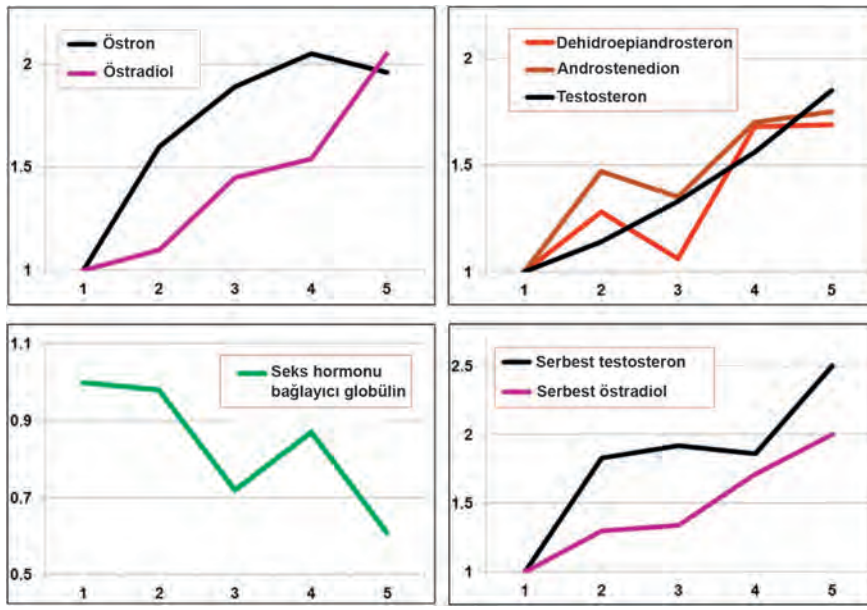
Buna karşın (VKİ ile meme kanseri arasında ters orantı mevcut olan) premenopozal kadınlardaki östrojen veya SHBG ilişkileri gözlenmemiştir. Ancak artmış androjen düzeyleri meme kanseri riskinde artış ile ilişkilidir [26].

4 Sonuçlar

Kanserin oluşumunda bir dizi kimyasal, fiziksel ve biyolojik karsinojenlerin rol oynadığı kesindir. Bu faktörler bazı durumlarda Dünya'daki kanser insidanslarındaki varyasyonların çoğundan da sorumludur. Ancak bu faktörler dünyadaki kanser yükünün önemli bir kısmını oluşturan birçok kanser türündeki global varyasyonları açıklayamamaktadırlar.

Geçmiş dekadlarda gerçekleştirilen özellikle EPIC gibi büyük ölçekli prospektif çalışmaları da içeren araştırmalarda diyet, nütrisyon, fiziksel aktivite ve antropometrinin popülasyonlardaki kanser riski üzerinde majör rol oynadıkları tespit edilmiştir.

Bilimsel bir bakış açısı ile Batı tipi diyet ve hayat tarzının bazı komponentleri ile ilişkili olan yüksek kanser riskinin altında yatan mekanik etkilerin anlaşılması oldukça zordur. Bu etki genel bir bozukluktan ziyade normal fizyolojik prosesin ince modülasyonu veya hafif bozukluğundan kaynaklanabilir. Bu durum bazı güçlü eksojen karsinojenler için geçerli olabilir.



Şekil 4 EPIC çalışmasında ortalama 8 yıl takip edilen 300.000 postmenopozal kadındaki serum seks steroid düzeylerine göre (beşte birlik dilimlere ayrılmış) rölatif meme kanseri riski Çalışma merkezinde koşullu lojistik regresyon ile hesaplanan olasılık oranı, kan alımı sırasındaki yaş, zaman ve açlık durumu, meme kanseri olan vakalar ile kontroller arasında eşleştirme faktörleri olarak kullanılarak tahmin edilmiştir. x ekseni: düşükten [45] yükseğe [10] beşte birlik hormon konsantrasyon dilimleri; y ekseni: rölatif risk

Bu metabolik hayat tarzı faktörleri halk sağlığı açısından bakıldığında bilinen majör kardiyovasküler ve diyabet risk faktörleri ile büyük oranda örtüştükleri için büyük ilgi çekmekte ve aynı halk sağlığı girişimlerinin kullanılarak birçok bulaşıcı olmayan hastalığın önlenebilmesine imkân sunmaktadırlar [13].

Claire Westwood'da metnin hazırlanmasındaki yardımları için teşekkür ederim. Aşağıdakilere EPIC çalışmasına yaptıkları finansal destekler için teşekkür ederim: European Commission (DG-SANCO); International Agency for Research on Cancer; Danish Cancer Society (Denmark); Ligue Contre le Cancer, Institut Gustave Roussy, Mutuelle Générale de l'Education Nationale, Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale (INSERM) (France); Deutsche Krebshilfe, Deutsches Krebsforschungszentrum and Federal Ministry of Education and Research (Germany); Ministry of Health and Social Solidarity, Stavros Niarchos Foundation and Hellenic Health Foundation (Greece); Italian Association for Research on Cancer (AIRC) and National Research Council (Italy); Dutch Ministry of Public Health, Welfare and Sports (VWS), Netherlands Cancer Registry (NKR), LK Research Funds, Dutch Prevention Funds, Dutch ZON (Zorg Onderzoek Nederland), World Cancer Research Fund (WCRF), Statistics Netherlands (The Netherlands); ERC-2009-AdG 232997 and Nordforsk, Nordic Centre of Excellence programme on Food, Nutrition and Health. (Norway); Health Research Fund (FIS), Regional Governments of Andalucía, Asturias, Basque Country, Murcia and Navarra, ISCIII RETIC (RD06/0020) (Spain); Swedish Cancer Society, Swedish Scientific Council and

Regional Government of Skåne and Västerbotten (Sweden); Cancer Research UK, Medical Research Council, Stroke Association, British Heart Foundation, Department of Health, Food Standards Agency, and Wellcome Trust (United Kingdom).

Referanslar

1. Belanger C, Speizer FE, Hennekens CH, Rosner B, Willett W, Bain C (1980) The nurses' health study: current findings. Am J Nurs 80:1333
2. Bingham SA, Day NE, Luben R, Ferrari P, Slimani N, Norat T, Clavel-Chapelon F, Kesse E, Nieters A, Boeing H, Tjonneland A, Overvad K, Martinez C, Dorronsoro M, Gonzalez CA, Key TJ, Trichopoulou A, Naska A, Vineis P, Tumino R, Krogh V, Bueno-De-Mesquita HB, Peeters PH, Berglund G, Hallmans G, Lund E, Skeie G, Kaaks R, Riboli E (2003) Dietary fibre in food and protection against colorectal cancer in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC): an observational study. Lancet 361:1496–1501
3. Bingham SA, Norat T, Moskal A, Ferrari P, Slimani N, Clavel-Chapelon F, Kesse E, Nieters A, Boeing H, Tjonneland A, Overvad K, Martinez C, Dorronsoro M, Gonzalez CA, Ardanaz E, Navarro C, Quiros JR, Key TJ, Day NE, Trichopoulou A, Naska A, Krogh V, Tumino R, Palli D, Panico S, Vineis P, Bueno-De-Mesquita HB, Ocke MC, Peeters PH, Berglund G, Hallmans G, Lund E, Skeie G, Kaaks R, Riboli E (2005) Is the association with fiber from foods in colorectal cancer confounded by folate intake? Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 14:1552–1556
4. Cust AE, Allen NE, Rinaldi S, Dossus L, Friedenreich C, Olsen A, Tjonneland A, Overvad K, Clavel-Chapelon F, Boutron-Ruault MC, Linseisen J, Chang-Claude J, Boeing H, Schulz M, Benetou V, Trichopoulou A, Trichopoulos D, Palli D, Berrino F, Tumino R, Mattiello A, Vineis P, Quiros JR, Agudo A, Sanchez MJ, Larranaga N, Navarro C, Ardanaz E, Bueno-De-Mesquita HB, Peeters PH, van Gils CH, Bingham S, Khaw KT, Key T, Slimani N, Riboli E, Kaaks R (2007) Serum levels of C-peptide, IGFBP-1 and IGFBP-2 and endometrial cancer risk; results from the European prospective investigation into cancer and nutrition. Int J Cancer 120:2656–2664
5. Doll R, Hill AB (1950) Smoking and carcinoma of the lung; preliminary report. Br Med J 2:739–748
6. Doll R, Hill AB (1952) A study of the aetiology of carcinoma of the lung. Br Med J 2:1271–1286
7. Doll R, Hill AB (1954) The mortality of doctors in relation to their smoking habits; a preliminary report. Br Med J 1:1451–1455
8. Doll R, Hill AB (1956) Lung cancer and other causes of death in relation to smoking; a second report on the mortality of British doctors. Br Med J 2:1071–1081
9. Doll R, Payne P, Waterhouse JAH (eds) (1966) Cancer Incidence in Five Continents: a Technical Report Union Internationale Contre le Cancer, Geneva
10. Doll R, Muir CS, Waterhouse JAH (eds) (1970) Cancer Incidence in Five Continents, vol II. Union Internationale Contre le Cancer, Geneva
11. Doll R, Peto R (1981) The causes of cancer: quantitative estimates of avoidable risks of cancer in the United States today. J Natl Cancer Inst 66:1191–1308
12. Eussen SJ, Vollset SE, Hustad S, Midttun O, Meyer K, Fredriksen A, Ueland PM, Jenab M, Slimani N, Boffetta P, Overvad K, Thorlacius-Ussing O, Tjonneland A, Olsen A, Clavel-Chapelon F, Boutron-Ruault MC, Morois S, Weikert C, Pischon T, Linseisen J, Kaaks R, Trichopoulou A, Zilis D, Katsoulis M, Palli D, Pala V, Vineis P, Tumino R, Panico S, Peeters PH, Bueno-de-Mesquita HB, van Duijnhoven FJ, Skeie G, Munoz X, Martinez C, Dorronsoro M, Ardanaz E, Navarro C, Rodriguez L, VanGuelpen B, Palmqvist R, Manjer J, Ericson U, Bingham S, Khaw KT, Norat T, Riboli E (2010) Plasma vitamins B2, B6, and B12, and

related genetic variants as predictors of colorectal cancer risk. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 19:2549–2561
13. Ezzati M, Riboli E (2012) Can noncommunicable diseases be prevented? Lessons from studies of populations and individuals. Science 337:1482–1487
14. Ferlay J, Shin HR, Bray F, Forman D, Mathers C and Parkin DM. GLOBOCAN 2008 v2.0, Cancer Incidence and Mortality Worldwide: IARC CancerBase No. 10 [Internet]. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer; 2010. Available from: http://globocan.iarc.fr. accessed on 01 Dec 12 (colorectum); 28 Jan 2011 (breast)
15. Friedenreich C, Norat T, Steindorf K, Boutron-Ruault MC, Pischon T, Mazuir M, Clavel-Chapelon F, Linseisen J, Boeing H, Bergman M, Johnsen NF, Tjonneland A, Overvad K, Mendez M, Quiros JR, Martinez C, Dorronsoro M, Navarro C, Gurrea AB, Bingham S, Khaw KT, Allen N, Key T, Trichopoulou A, Trichopoulos D, Orfanou N, Krogh V, Palli D, Tumino R, Panico S, Vineis P, Bueno-De-Mesquita HB, Peeters PH, Monninkhof E, Berglund G, Manjer J, Ferrari P, Slimani N, Kaaks R, Riboli E (2006) Physical activity and risk of colon and rectal cancers: the European prospective investigation into cancer and nutrition. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 15:2398–2407
16. Friedenreich C, Cust A, Lahmann PH, Steindorf K, Boutron-Ruault MC, Clavel-Chapelon F, Mesrine S, Linseisen J, Rohrmann S, Boeing H, Pischon T, Tjonneland A, Halkjaer J, Overvad K, Mendez M, Redondo ML, Garcia CM, Larranaga N, Tormo MJ, Gurrea AB, Bingham S, Khaw KT, Allen N, Key T, Trichopoulou A, Vasilopoulou E, Trichopoulos D, Pala V, Palli D, Tumino R, Mattiello A, Vineis P, Bueno-De-Mesquita HB, Peeters PH, Berglund G, Manjer J, Lundin E, Lukanova A, Slimani N, Jenab M, Kaaks R, Riboli E (2007) Anthropometric factors and risk of endometrial cancer: the European prospective investigation into cancer and nutrition. Cancer Causes Control 18:399–413
17. Gonzalez CA, Jakszyn P, Pera G, Agudo A, Bingham S, Palli D, Ferrari P, Boeing H, Del GG, Plebani M, Carneiro F, Nesi G, Berrino F, Sacerdote C, Tumino R, Panico S, Berglund G, Siman H, Nyren O, Hallmans G, Martinez C, Dorronsoro M, Barricarte A, Navarro C, Quiros JR, Allen N, Key TJ, Day NE, Linseisen J, Nagel G, Bergmann MM, Overvad K, Jensen MK, Tjonneland A, Olsen A, Bueno-De-Mesquita HB, Ocke M, Peeters PH, Numans ME, Clavel-Chapelon F, Boutron-Ruault MC, Trichopoulou A, Psaltopoulou T, Roukos D, Lund E, Hemon B, Kaaks R, Norat T, Riboli E (2006) Meat intake and risk of stomach and esophageal adenocarcinoma within the European Prospective Investigation Into Cancer and Nutrition (EPIC). J Natl Cancer Inst 98:345–354
18. Huang Z, Hankinson SE, Colditz GA, Stampfer MJ, Hunter DJ, Manson JE, Hennekens CH, Rosner B, Speizer FE, Willett WC (1997) Dual effects of weight and weight gain on breast cancer risk. JAMA 278:1407–1411
19. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans (2010) Alcohol Consumption and Ethyl Carbamate, vol 96. IARC, Lyon, France
20. Jenab M, Riboli E, Ferrari P, Sabate J, Slimani N, Norat T, Friesen M, Tjonneland A, Olsen A, Overvad K, Boutron-Ruault MC, Clavel-Chapelon F, Touvier M, Boeing H, Schulz M, Linseisen J, Nagel G, Trichopoulou A, Naska A, Oikonomou E, Krogh V, Panico S, Masala G, Sacerdote C, Tumino R, Peeters PH, Numans ME, Bueno-de-Mesquita HB, Buchner FL, Lund E, Pera G, Sanchez CN, Sanchez MJ, Arriola L, Barricarte A, Quiros JR, Hallmans G, Stenling R, Berglund G, Bingham S, Khaw KT, Key T, Allen N, Carneiro F, Mahlke U, Del GG, Palli D, Kaaks R, Gonzalez CA (2006) Plasma and dietary vitamin C levels and risk of gastric cancer in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC-EURGAST). Carcinogenesis 27:2250–2257
21. Jenab M, Riboli E, Cleveland RJ, Norat T, Rinaldi S, Nieters A, Biessy C, Tjonneland A, Olsen A, Overvad K, Gronbaek H, Clavel-Chapelon F, Boutron-Ruault MC, Linseisen J, Boeing H, Pischon T, Trichopoulos D, Oikonomou E, Trichopoulou A, Panico S, Vineis P, Berrino F, Tumino R, Masala G, Peters PH, van Gils CH, Bueno-De-Mesquita HB, Ocke MC, Lund E, Mendez MA, Tormo MJ, Barricarte A, Martinez-Garcia C, Dorronsoro M, Quiros JR, Hallmans G, Palmqvist R, Berglund G, Manjer J, Key T, Allen NE, Bingham S,

Khaw KT, Cust A, Kaaks R (2007) Serum C-peptide, IGFBP-1 and IGFBP-2 and risk of colon and rectal cancers in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition. Int J Cancer 121:368–376

22. Jenab M, Bueno-De-Mesquita HB, Ferrari P, van Duijnhoven FJ, Norat T, Pischon T, Jansen EH, Slimani N, Byrnes G, Rinaldi S, Tjonneland A, Olsen A, Overvad K, Boutron-Ruault MC, Clavel-Chapelon F, Morois S, Kaaks R, Linseisen J, Boeing H, Bergmann MM, Trichopoulou A, Misirli G, Trichopoulos D, Berrino F, Vineis P, Panico S, Palli D, Tumino R, Ros MM, van Gils CH, Peeters PH, Brustad M, Lund E, Tormo MJ, Ardanaz E, Rodriguez L, Sanchez MJ, Dorronsoro M, Gonzalez CA, Hallmans G, Palmqvist R, Roddam A, Key TJ, Khaw KT, Autier P, Hainaut P, Riboli E (2010) Association between pre-diagnostic circulating vitamin D concentration and risk of colorectal cancer in European populations:a nested case-control study. BMJ 340:b5500
23. Johansson M, Relton C, Ueland PM, Vollset SE, Midttun O, Nygard O, Slimani N, Boffetta P, Jenab M, Clavel-Chapelon F, Boutron-Ruault MC, Fagherazzi G, Kaaks R, Rohrmann S, Boeing H, Weikert C, Bueno-de-Mesquita HB, Ros MM, van Gils CH, Peeters PH, Agudo A, Barricarte A, Navarro C, Rodriguez L, Sanchez MJ, Larranaga N, Khaw KT, Wareham N, Allen NE, Crowe F, Gallo V, Norat T, Krogh V, Masala G, Panico S, Sacerdote C, Tumino R, Trichopoulou A, Lagiou P, Trichopoulos D, Rasmuson T, Hallmans G, Riboli E, Vineis P, Brennan P (2010) Serum B vitamin levels and risk of lung cancer. JAMA 303:2377–2385
24. Kaaks R, Toniolo P, Akhmedkhanov A, Lukanova A, Biessy C, Dechaud H, Rinaldi S, Zeleniuch-Jacquotte A, Shore RE, Riboli E (2000) Serum C-peptide, insulin-like growth factor (IGF)-I, IGF-binding proteins, and colorectal cancer risk in women. J Natl Cancer Inst 92:1592–1600
25. Kaaks R, Rinaldi S, Key TJ, Berrino F, Peeters PH, Biessy C, Dossus L, Lukanova A, Bingham S, Khaw KT, Allen NE, Bueno-De-Mesquita HB, van Gils CH, Grobbee D, Boeing H, Lahmann PH, Nagel G, Chang-Claude J, Clavel-Chapelon F, Fournier A, Thiebaut A, Gonzalez CA, Quiros JR, Tormo MJ, Ardanaz E, Amiano P, Krogh V, Palli D, Panico S, Tumino R, Vineis P, Trichopoulou A, Kalapothaki V, Trichopoulos D, Ferrari P, Norat T, Saracci R, Riboli E (2005) Postmenopausal serum androgens, oestrogens and breast cancer risk: the European prospective investigation into cancer and nutrition. Endocr Relat Cancer 12:1071–1082
26. Kaaks R, Berrino F, Key T, Rinaldi S, Dossus L, Biessy C, Secreto G, Amiano P, Bingham S, Boeing H, Bueno de Mesquita HB, Chang-Claude J, Clavel-Chapelon F, Fournier A, van Gils CH, Gonzalez CA, Gurrea AB, Critselis E, Khaw KT, Krogh V, Lahmann PH, Nagel G, Olsen A, Onland-Moret NC, Overvad K, Palli D, Panico S, Peeters P, Quiros JR, Roddam A, Thiebaut A, Tjonneland A, Chirlaque MD, Trichopoulou A, Trichopoulos D, Tumino R, Vineis P, Norat T, Ferrari P, Slimani N, Riboli E (2005) Serum sex steroids in premenopausal women and breast cancer risk within the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC). J Natl Cancer Inst 97:755–765
27. Lahmann PH, Hoffmann K, Allen N, van Gils CH, Khaw KT, Tehard B, Berrino F, Tjonneland A, Bigaard J, Olsen A, Overvad K, Clavel-Chapelon F, Nagel G, Boeing H, Trichopoulos D, Economou G, Bellos G, Palli D, Tumino R, Panico S, Sacerdote C, Krogh V, Peeters PH, Bueno-De-Mesquita HB, Lund E, Ardanaz E, Amiano P, Pera G, Quiros JR, Martinez C, Tormo MJ, Wirfalt E, Berglund G, Hallmans G, Key TJ, Reeves G, Bingham S, Norat T, Biessy C, Kaaks R, Riboli E (2004) Body size and breast cancer risk: findings from the European Prospective Investigation into Cancer And Nutrition (EPIC). Int J Cancer 111:762–771
28. Lahmann PH, Friedenreich C, Schuit AJ, Salvini S, Allen NE, Key TJ, Khaw KT, Bingham S, Peeters PH, Monninkhof E, Bueno-De-Mesquita HB, Wirfalt E, Manjer J, Gonzales CA, Ardanaz E, Amiano P, Quiros JR, Navarro C, Martinez C, Berrino F, Palli D, Tumino R, Panico S, Vineis P, Trichopoulou A, Bamia C, Trichopoulos D, Boeing H, Schulz M, Linseisen J, Chang-Claude J, Chapelon FC, Fournier A, Boutron-Ruault MC, Tjonneland A, Fons JN, Overvad K, Kaaks R, Riboli E (2007) Physical activity and breast cancer risk: the

European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 16:36–42
29. Lavik PS, Baumann CA (1943) Further studies on the tumor-promoting action of fat. Cancer Res 3:749–756
30. Moreschi C (1909) Beziehungen zwischen Ernahrung und Tumorwachstum. Z fur Immunitatsforsch. 2:661–675
31. National Academy of Sciences (1982) Diet nutrition and cancer. National Academy Press, Washington DC
32. Norat T, Bingham S, Ferrari P, Slimani N, Jenab M, Mazuir M, Overvad K, Olsen A, Tjonneland A, Clavel F, Boutron-Ruault MC, Kesse E, Boeing H, Bergmann MM, Nieters A, Linseisen J, Trichopoulou A, Trichopoulos D, Tountas Y, Berrino F, Palli D, Panico S, Tumino R, Vineis P, Bueno-De-Mesquita HB, Peeters PH, Engeset D, Lund E, Skeie G, Ardanaz E, Gonzalez C, Navarro C, Quiros JR, Sanchez MJ, Berglund G, Mattisson I, Hallmans G, Palmqvist R, Day NE, Khaw KT, Key TJ, San JM, Hemon B, Saracci R, Kaaks R, Riboli E (2005) Meat, fish, and colorectal cancer risk: the European Prospective Investigation into cancer and nutrition. J Natl Cancer Inst 97:906–916
33. Pischon T, Lahmann PH, Boeing H, Friedenreich C, Norat T, Tjonneland A, Halkjaer J, Overvad K, Clavel-Chapelon F, Boutron-Ruault MC, Guernec G, Bergmann MM, Linseisen J, Becker N, Trichopoulou A, Trichopoulos D, Sieri S, Palli D, Tumino R, Vineis P, Panico S, Peeters PH, Bueno-De-Mesquita HB, Boshuizen HC, Van GB, Palmqvist R, Berglund G, Gonzalez CA, Dorronsoro M, Barricarte A, Navarro C, Martinez C, Quiros JR, Roddam A, Allen N, Bingham S, Khaw KT, Ferrari P, Kaaks R, Slimani N, Riboli E (2006) Body size and risk of colon and rectal cancer in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC). J Natl Cancer Inst 98:920–931
34. Riboli E (1992) Nutrition and cancer: background and rationale of the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC). Ann Oncol 3:783–791
35. Riboli E, Kaaks R (1997) The EPIC Project: rationale and study design. European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition. Int J Epidemiol 26 Suppl 1:S6-14
36. Rous P (1914) The influence of diet on transplanted and spontaneous mouse tumors. J Exp Med 20:433–451
37. Slimani N, Deharveng G, Charrondiere RU, van Kappel AL, Ocke MC, Welch A, Lagiou A, van LM, Agudo A, Pala V, Brandstetter B, Andren C, Stripp C, van Staveren WA, Riboli E (1999) Structure of the standardized computerized 24-h diet recall interview used as reference method in the 22 centers participating in the EPIC project. European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition. Comput Methods Programs Biomed 58:251–266
38. Slimani N, Ferrari P, Ocke M, Welch A, Boeing H, Liere M, Pala V, Amiano P, Lagiou A, Mattisson I, Stripp C, Engeset D, Charrondiere R, Buzzard M, Staveren W, Riboli E (2000) Standardization of the 24-hour diet recall calibration method used in the european prospective investigation into cancer and nutrition (EPIC): general concepts and preliminary results. Eur J Clin Nutr 54:900–917
39. Slimani N, Kaaks R, Ferrari P, Casagrande C, Clavel-Chapelon F, Lotze G, Kroke A, Trichopoulos D, Trichopoulou A, Lauria C, Bellegotti M, Ocke MC, Peeters PH, Engeset D, Lund E, Agudo A, Larranaga N, Mattisson I, Andren C, Johansson I, Davey G, Welch AA, Overvad K, Tjonneland A, van Staveren WA, Saracci R, Riboli E (2002) European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC) calibration study: rationale, design and population characteristics. Public Health Nutr 5:1125–1145
40. Steindorf K, Ritte R, Eomois PP, Lukanova A, Tjonneland A, Johnsen NF, Overvad K, Ostergaard JN, Clavel-Chapelon F, Fournier A, Dossus L, Teucher B, Rohrmann S, Boeing H, Wientzek A, Trichopoulou A, Karapetyan T, Trichopoulos D, Masala G, Berrino F, Mattiello A, Tumino R, Ricceri F, Quiros JR, Travier N, Sanchez MJ, Navarro C, Ardanaz E, Amiano P, Bueno-De-Mesquita HB, van DF, Monninkhof E, May AM, Khaw KT, Wareham N, Key TJ, Travis RC, Borch KB, Sund M, Andersson A, Fedirko V, Rinaldi S, Romieu I, Wahrendorf J, Riboli E, Kaaks R (2012) Physical activity and risk of breast cancer overall

and by hormone receptor status: The European prospective investigation into cancer and nutrition. Int J Cancer
41. Stocks P, Karn MN (1933) A cooperative study of the habits, home life, dietary and family histories of 45 cancer patients and of an equal number of control patients. Ann Eugenics 5(3–4): 237–280
42. Sugiura K, Benedict SR (1926) The influence of insufficient diets upon tumor recurrence and growth in rats and mice. J Cancer Res 10(309–31):8
43. Supplement 1, 1997 Int. J. Epidemiol. Feb; 26(Suppl 1): S1-S189
44. Tannenbaum A (1940a) The initiation and growth of tumours—Introduction: effects of undernutrition. Am J Cancer 38:335–350
45. Tannenbaum A (1940b) Relationship of body weight to cancer incidence. Arch Pathol 30:509–517
46. Tannenbaum A (1942a) The genesis and growth of tumors II effects of caloric restriction per se. Canc Res 2:460–467
47. Tannenbaum A (1942b) The genesis and growth of tumors III effects of a high fat diet. Canc Res 2:468–475
48. van Veldhoven CM, Khan AE, Teucher B, Rohrmann S, Raaschou-Nielsen O, Tjonneland A, Overvad K, Vigl M, Boeing H, Benetou V, Trichopoulou A, Trichopoulos D, Masala G, Mattiello A, Krogh V, Tumino R, Vermeulen R, Monninkhof E, May AM, Bueno-de-Mesquita B, Lund E, Ardanaz E, Huerta JM, Jakszyn P, Dorronsoro M, Arguelles M, Sanchez MJ, Hallmans G, Manjer J, Borgquist S, Allen NE, Travis RC, Khaw KT, Wareham N, Boffetta P, Vineis P, Riboli E (2011) Physical activity and lymphoid neoplasms in the European Prospective Investigation into Cancer and nutrition (EPIC). Eur J Cancer 47:748–760
49. Verheus M, Peeters PH, Rinaldi S, Dossus L, Biessy C, Olsen A, Tjonneland A, Overvad K, Jeppesen M, Clavel-Chapelon F, Tehard B, Nagel G, Linseisen J, Boeing H, Lahmann PH, Arvaniti A, Psaltopoulou T, Trichopoulou A, Palli D, Tumino R, Panico S, Sacerdote C, Sieri S, van Gils CH, Bueno-de-Mesquita BH, Gonzalez CA, Ardanaz E, Larranaga N, Garcia CM, Navarro C, Quiros JR, Key T, Allen N, Bingham S, Khaw KT, Slimani N, Riboli E, Kaaks R (2006) Serum C-peptide levels and breast cancer risk: results from the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC). Int J Cancer 119:659–667
50. Wiseman M (2008) The second World Cancer Research Fund/American Institute for Cancer Research expert report. Food, nutrition, physical activity, and the prevention of cancer: a global perspective. Proc Nutr Soc 67:253–256
51. Wynder EL, Graham EA (1950) Tobacco smoking as a possible etiologic factor in bronchiogenic carcinoma; a study of 684 proved cases. J Am Med Assoc 143:329–336

Obezite, Enerji Dengesi ve Kanser: Mekanik Perspektif

Stephen D. Hursting

Özet

ABD'de yaşayan erişkinlerin yaklaşık %36'sı, çocukların ise %20'si obezdir. Obezite vücut kütle indeksinin (VKİ) ≥30 kg/m^2 olmasıdır. Metabolik regülasyon bozukluğu ile seyreden obezite sıklıkla birçok kanser türü için bilinen bir risk faktörü olan metabolik sendrom ile birlikte seyreder. Obezitenin büyümeyi uyaran, proenflamatuar ortamında kanser riskini ve/veya progresyonunu uyarabilen obezite ile ilgili hormonlar, sitokinler ve diğer medyatörlerin etkileri ile makrofajlar, adipozitler ve epitel hücreleri birbirleri ile etkileşime girerler. Bu bölümde obezite ile kanser arasındaki bağlantıda rol oynayan biyolojik mekanizmalarla ilgili kanıtları inceleyeceğiz. Özellikle obezitenin hızlandırdığı büyüme faktörü sinyali, enflamasyon, vasküler entegrasyon prosesleri gibi faktörlere ve obeziteye bağlı olarak epitelyal mezenkimal geçişi de içeren mikroçevre bozukluklarına odaklanacağız. Birbiri ile ilgili bu mekanizmalar obezite kanser bağlantısını kırmaya yardımcı olabilecek muhtemel mekanik hedefler olabilirler.

Anahtar Kelimeler

Obezite • Enflamasyon • Büyüme faktörü sinyali • Vasküler bozukluklar • İnsülin rezistansı

S. D. Hursting (✉)
Department of Nutritional Sciences, Dell Pediatric Research Institute, University of Texas at Austin, 1400 Barbara Jordan Blvd, Austin, TX 78723, United States
e-mail: shursting@austin.utexas.edu

V. Zappia et al. (eds.), *Advances in Nutrition and Cancer,*
Cancer Treatment and Research 159, DOI: 10.1007/978-3-642-38007-5_2,
© Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2014

Kısaltmalar

AMPK	AMP-aktive kinaz
COX-2	Siklooksijenaz-2
DIO	Diyetle indüklenen obezite
EMT	Epitelyal mezenkimal geçiş
FGF-2	Fibroblast büyüme faktörü-2
IGF-1	İnsüline benzer büyüme faktörü
JAK	Janus kinaz
mTOR	Rapamisin memeli hedefi
MCP-1	Monosit kemoatraktan protein-1
NF-κB	Aktive B hücrelerinde nükleer faktör kappa hafif zincir güçlendirici
PAI-1	Plazminojen aktivatör inhibitörü-1
PI3K	Fosfatidilinositol 3-kinaz
STAT	Sinyal ileticisi transkripsiyon aktivatörü
TNF-α	Tümör nekroz faktörü-α
tPA	Doku tipi plazminojen aktivatörleri
uPA	Ürokinaz tipi plazminojen aktivatörleri
VEGF	Vasküler endotelyal büyüme faktörü
VKİ	Vücut kütle indeksi
ZEB1	Zinc finger E-box-binding homeobox

İçindekiler

1 Giriş 23
2 Disregüle Büyüme Sinyalleri 24
2.1 İnsülin ve IGF-1 24
2.2 Aşağı Yönlü İnsülin Reseptörü ve IGF-1R Sinyal Yolakları 24
2.3 Leptin, Adiponektin ve Oranları 24
3 Kronik Enflamasyon 2
3.1 Sitokinler ve Adipositlerin, Makrofajların ve Epitel Hücrelerinin Etkileşimi (Cross Talk) 25
3.2 Enflamasyon ve Kanser 26
4 Mikroçevresel Faktörler 26
4.1 Vasküler Bozukluklar 26
4.2 Epitelyal Mezenkimal Geçiş 27
5 Özet ve Sonuçlar 29
Referanslar 30

1 Giriş

Vücut kütle endeksinin (VKİ, vücut ağrılığının [kg] boy uzunluğunun [metre] karesine bölümü) ≥30/m^2 olması ile ifade obezite son dekadlarda dramatik olarak artmıştır. ABD'deki yetişkinlerin yaklaşık %36'sı ile çocukların %20'sinde obezite mevcuttur [1]. Obez erişkinlerin yaklaşık %60'ı insülin rezistansı, hiperglisemi, dislipidemiler (özellikle hipertrigliseridemi) ve hipertansiyondan oluşan metabolik sendrom kriterlerine sahiptir [2]. Obezite ve/veya metabolik sendromda dolaşımdaki insülin, biyolojik olarak kullanılabilir insülin benzeri büyüme faktörü (IGF-1), adipokinler (örn. leptin ve adiponektin), enflamatuar faktörler (örn. sitokinler) ve vasküler entegrasyonla ilgili faktörler (örn. vasküler endotelyal büyüme faktörü [VEGF] ve plazminojen aktivatör inhibitörü [PAI]-1) düzeylerinde değişimler olur [3, 4]. Obezite ve metabolik sendrom bu medyatörler vasıtası ile kardiyovasküler hastalık, tip 2 diyabet ve bu incelemenin konusu olan kanser gibi çeşitli kronik hastalıklar [3, 5] ile bağlantılıdır.

Kanıta dayalı kanser önleme kılavuzlarında obezitenin önlenmesi gerektiği net olarak vurgulanmaktadır [6]. Erkeklerdeki kanser ölümlerinin %14'ü, kadınlardaki kanser ölümlerinin ise %20'si fazla kilo ve obezite ile ilişkilidir [7] Obezite erkeklerdeki prostat ve mide kanseri ölümlerini artırır. Kadınlarda ise meme (postmenopozal), endometrium, serviks, uterus ve ovaryum kanserlerinden ölümü artırır. Böbrek (renal hücreli), kolon, özofagus (adenokarsinom), pankreas, safra kesesi ve karaciğer kanseri ise her iki cinsiyette artar [7]. Metabolik sendrom ile spesifik kanser türleri arasındaki ilişki bu kadar net değildir. 580.000 erişkini kapsayan bir Avrupa kohortunda gerçekleştirilen Metabolik Sendrom ve Kanser Projesi metabolik sendromdaki obezite (veya VKİ) ile kolorektal, tiroid ve servikal kanser arasındaki ilişkiyi göstermiştir [8]. Obezite ve metabolik sendrom prevalanslarının sürekli arttığı bir ortamda bu bozukluklar ile kanser arasındaki ilişkiyi ortadan kaldıracak stratejilere acil olarak ihtiyaç vardır [3].

Bu bölümde obezite, metabolik sendrom ve kanser arasındaki ilişkinin mekanizmasını, obezitenin birçok kanser türündeki büyüme sinyalizasyonu, enflamasyon, anjiogenik prosesler ile makrofaj, adiposit, endotel hücreleri arasındaki etkileşimi (cross talk) artırıcı etkisine odaklanacağız. Özellikle obezite mevcudiyetinde kanser süreçlerine multifaktöryel katkı yapabilen büyüme sinyallerinin (insülin, IGF-1, aşağı yönlü sinyal yolakları ve adipokinler), sitokinlerin, hücresel etkileşimin ve vasküler entegrasyon faktörlerinin disregülasyonunu tanımlayacağız. Muhtemelen, birbirleriyle ilişkili olan bu yolakların komponentleri aşırı vücut ağırlığı veya metabolik sendrom nedeniyle oluşan (veya ilgili olan) kanserlerin önlenmelerini ve kontrol edilmelerini sağlayabilecek, mekanizmaya dayalı hedefler sunabilirler. Ancak obezite, metabolik sendrom ve kanser arasındaki ilişkiyi ve bu ilişkiyi ortadan kaldırma ihtimali olan varsayımsal stratejilerle ilgili henüz cevaplanamamış soruları da tartışacağız.

2 Disregüle Büyüme Sinyalleri

2.1 İnsülin ve IGF-1

İnsülin pankreasın beta hücrelerinde üretilen ve kan glukozundaki artışa cevap olarak salgılanan peptid hormondur. Metabolik sendromun önemli bir özelliği olan hiperglisemi, insülin rezistansı, anormal glukoz metabolizması, kronik enflamasyon ve IGF-1, leptin ve adiponektin gibi diğer metabolik hormonların salgılanması ile ilişkilidir [9]. İnsülin ile yaklaşık %50 homolog olan IGF-1 primer olarak büyüme hormonu tarafından stimüle edilen karaciğer tarafından salgılan bir peptid büyüme faktörüdür. IGF-1 özellikle prenatal dönemde birçok dokunun büyüme ve gelişimlerini regüle eder [10]. Dolaşımdaki IGF-1 tipik olarak IGF bağlayıcı proteinlere (IGFBP) bağlıdır. Bu protein biyolojik olarak kullanılabilir serbest IGF-1 miktarını regüle ederek IGF-1 reseptörüne (IGF-1R) bağlanmasını, büyümeyi ve sağkalım sinyalini sağlar [10]. Metabolik sendromda muhtemelen hiperglisemi tarafından indüklenen IGFBP sentezinin supresyonu ve/veya hiperinsülinemi tarafından indüklenen hepatik büyüme hormonu reseptör ekspresyonu ve IGF-1 sentezi ile dolaşımdaki IGF-1 miktarı artar [9]. Dolaşımdaki IGF-1 düzeylerinin artışı birçok kanser riski için bilinen risk faktörüdür [10, 11].

2.2 Aşağı Yönlü İnsülin Reseptörü ve IGF-1R Sinyal Yolakları

İnsülin reseptörünün ve IGF-1R'nin aşağı yönlü yolağı fosfatidilinositol 3-kinaz (PI3K)/Akt epitel kanserlerinde en çok değişime uğrayan yolaklardan biridir. Bu yolak hücresel sağkalımı, proliferasyonu, protein dönüşümünü ve metabolizmayı regüle edebilmek için büyüme faktörü konsantrasyonları ve besin öğeleri mevcudiyeti gibi intraselüler ve çevresel işaretleri entegre eder. İnsülin reseptörü veya IGF-1R gibi reseptör tirozin kinazların aktivasyonu Akt kaskadının aktivasyonunu kolaylaştıran lipid habercilerinin üretimi için PI3K'yı stimüle eder. Akt hücre büyümesini, hücre proliferasyonunu aşağı yönlü medyatörler ile regüle eden rapamisin memeli hedefini (mTOR) regüle eder[13]. mTOR aktivasyonu AMP aktive kinaz (AMPK) tarafından düşük derecede besin öğeleri mevcudiyetinde inhibe olur [13]. Artmış mTOR aktivasyonu tümörlerde ve obez ve/veya diyabetik farelerdeki birçok normal dokuda sıklıkla görülür [15]. Spesifik mTOR inhibitörleri obezitenin fare modellerindeki tümör geliştirici etkilerini inhibe eder.

2.3 Leptin, Adiponektin ve Oranları

Adipositler tarafından salgılanan bir peptid hormon olan leptin, adipöz depoları ve nutrisyonel durum ile pozitif korelasyona sahiptir. Beyine iştahı azaltma sinyali gönderen enerji sensörü olarak görev yapar. Obez durumda adipoz dokunun aşırı derecede leptin

sağlaması sonucu beyin sinyale cevap vermez hale gelir. İnsülin, glukokortikoidler, tümör nekroz faktörü alfa (TNF-α) ve östrojenler leptin salınımını stimüle ederler[18]. Leptin periferik dokuları direkt, hipotalamik yolakları indirekt olarak etkileyerek immun fonksiyonu, sitokin üretimini, anjiogenezi, karsinogenezi ve diğer biyolojik prosesleri modüle eder [18]. Leptin reseptörü, Janus kinaz ve sinyal ileticisi transkripsiyon aktivatörü (JAK/STAT) yoluyla sinyal veren klas 1 sitokinlere benzer homolojiye sahiptir. Bu yolak kanserde sıklıkla disregüle olur [19].

Adiponektin başlıca viseral adipoz dokudan salgılanan bir hormondur. Adiponektin düzeyleri, leptinin aksine adipozite ile negatif korelasyona sahiptir. Adiponektin obezite ve hiperleptinemi ile ilişkili metabolik programı engellemek için glukoz metabolizmasını modüle eder, yağ asidi oksidasyonunu ve insülin sensitivitesini artırır ve enflamatuar sitokinlerin üretimini azaltır [20]. Adiponektinin antikanser etkisinin muhtemel mekanizmaları arasında insülin sensitivitesini artırması ve AMPK aktivasyonu ile de insülin/IGF-1 ve mTOR sinyalizasyonunu azaltması mevcuttur. Adiponektin proenflamatuar sitokin ekspresyonunu aktive B hücrelerindeki nükleer faktör kappa hafif zincir güçlendiriciyi de (NF-κB) inhibe ederek azaltır [21-23].

Leptin [23-25] veya adiponektinin [21, 26-28] kanser riski ile ilişkisi hakkında farklılıklar gösteren in vitro, hayvan ve epidemiyolojik kanıtlar vardır. Adiponektinin leptine oranı ile metabolik sendrom [29-31] ve bazı kanser türleri [32--34] arasında ilişkiler bildirilmiştir. Bu ilişkilerin daha ileri araştırmalara ihtiyaç vardır

3 Kronik Enflamasyon

3.1 Sitokinler ve Adipositlerin, Makrofajların ve Epitel Hücrelerinin Etkileşimi (Cross Talk)

Obezite ve metabolik sendrom, dolaşımda serbest yağ asitlerinin artışı ve immun hücrelerin (örn. enflamatuar medyatörler salgılayan makrofajlar) lokal ortama kimyasal çekimleri ile karakterize düşük dereceli ve kronik enflamasyon ile ilişkilidir [35-37]. Bu etkiler interlökin (IL)-1β, IL-6, TNF-α ve monosit kemoatraktan protein (MCP)-1 gibi enflamatuar sitokinlerin salgılanması ile daha da güçlenir. Adipositler efektif oksijen difüzyonunu bozarak hipoksiye ve nihayetinde nekroza neden olabilirler. Serbest yağ asitleri tıkanmış/nekrotik adipositlerden kaçarak diğer dokularda birikirler ve insülin rezistansı, diyabet (insülin reseptörlerinin ve glukoz taşıyıcılarının aşağı regülasyonu ile), hipertansiyon ve yağlı karaciğer hastalığını artırırlar. Aynı zamanda NF-κB gibi epitel karsinogenezinde rol oynayan sinyalizasyon moleküllerini aktive ederler [38].

NF-κB bakteryel ve viral stimülasyon, büyüme faktörleri ve enflamatuar moleküller (örn. Tnf-α, IL-6 ve IL-1β) ile aktive olan bir transkripsiyon faktörüdür. Hücre proliferasyonu, apoptoz, enflamasyon, metastaz ve anjiogenez ile ilişkili gen ekspresyonu-

nu indüklerler. Birçok tümörün genel karakteristiği olan NF-κB aktivasyonu, insülin rezistansı, dolaşımdaki leptin, insülin ve/veya IGF-1 düzeylerinin artışı ile ilişkilidir [39, 40].

3.2 Enflamasyon ve Kanser

Kronik enflamasyon ile kanser arasındaki bağlantı ilk olarak yaklaşık 150 yıl önce neoplastik dokularda aşırı miktarda lökosit olduğunu gözleyen Rudolph Virchow tarafından fark edildi [41]. Günümüzde kanserin ana özelliklerinden biri olan enflamasyonun kanser riskinde artışa yol açtığını gösteren kanıtlar giderek artmaktadır [42-44]. Çeşitli dokuların spesifik enflamatuar lezyonlarının invazif kanserin neoplastik prekürsorları olduğu tespit edilmiştir. Gastrik kanser için gastrit, kolon kanseri için enflamatuar barsak hastalığı ve pankreatik kanser için pankreatit bu prekürsorlardan bazılarıdır [45-46].

Tümör mikroçevreleri epitel hücreleri, fibroblastlar, mast hücreleri ve immun sistemin kalıtsal ve adaptif hücreleri gibi birçok hücre tipinden oluşmaktadır [46, 47]. Yukarıda da anlatıldığı üzere, obezlerde aktive olan makrofajlar tümörlere infiltre olarak çoğunlukla NF-κB'ye bağımlı sitokin ve anjiogenik faktörlerin üretimi ile enflamatuar tümör mikroçevresini şiddetlendirirler [46]. Birçok tümör tipinde yukarı regüle olan kanserle ilişki başka bir önemli enflamatuar medyatör olan siklooksijenaz (COX)-2, potent enflamatuar lipid metaboliti prostoglandin E2 sentezini katalize eder. COX-2'nin aşırı ekspresyonu birçok kanser tipi için kötü prognoz göstergesidir [48].

Bazı kanserlerde enflamatuar şartlar malign değişikliklerin (yukarıda da bahsedildiği üzere) öncüsü iken diğer bazı kanser tiplerinde ise genetik değişimler ve premalign değişimler enflamatuar mikroçevre ve neoplaziden önce görülür [44]. Bundan dolayı enflamasyon maligniteleri başlatabilir veya şiddetlendirebilir. Enflamasyon markerlerinin artması kanserin nedeni ve/veya sonucu olabilir [43, 44]. Enflamatuar mikroçevre her iki senaryoda da, genetik instabilite ve kanserle ilgili hücre proliferasyonu ve sağkalımı, anjiogenez ve metastazla ilgili olan disregüle enflamasyon yolakları ile tümörlerin gelişimine katkı yapar [42, 43, 49].

4 Mikroçevresel Faktörler

4.1 Vasküler Bozukluklar

Adipositler ve tümör hücreleri tarafından üretilen bir heparin bağlayıcı protein olan VEGF endotel hücrelerine spesifik olarak anjiogenik, mitojenik ve vasküler permeabilite artıcı aktiviteye sahiptir [50]. Obezlerde VEGF'nin dolaşımdaki düzeyleri normal kilolu insanlar ve hayvanlara göre artmıştır. VEGF'nin tümöral ekspresyonunun artma-

sı, obezite ile ilişkili bazı kanser türlerindeki kötü prognoz ile ilişkilidir [51]. Besinler ve oksijen tümör hücrelerinin VEGF üretimini tetikleyerek hızlı büyüyen tümörü besleyen yeni kan damarlarının oluşumuna yol açarak tümör hücrelerinin metastatik yayılımını kolaylaştırabilirler [50].

Adipositler endotel hücreleri ile bir dizi proanjiogenik ve vasküler permeabilite artırıcı faktör üreterek iletişime geçerler. Bunlar arasında VEGF, IGF-1, PAI-1, leptin, hepatosit büyüme faktörü ve fibroblast büyüme faktörü-2 mevcuttur [52]. Bu faktörler tümör bulunmayan obezlerde artan yağ kütlesini destekleyebilmek için neovaskülarizasyonu stimüle edebilirler. Adipoz doku kaynaklı bu faktörler obezite ile bağlantılı tümör anjiogenezine de katkı yapabilirler. Konvansiyonel kemoterapi ile kombine edilen bevakizumab bazlı tedavi (örn. anti-VEGF tedavi) ileri kolorektal kanseri olan hastalarda birinci basamak tedavi opsiyonudur. Ancak tedavi etkisinin obez hastalarda azaldığı bildirilmiştir. Bu durumun viseral beyaz adipoz doku tarafından üretilen VEGF düzeylerinde (ve/veya proanjiogenik faktörlerde) artış ile ilişkili olduğu speküle edilmiştir [53, 54]. Tümör kaynaklı ve adiposit kaynaklı proanjiogenik faktörlerin tümör gelişimi, progresyonu ve metastazı üzerindeki rölatif katkı düzeyleri henüz netleşmemiştir.

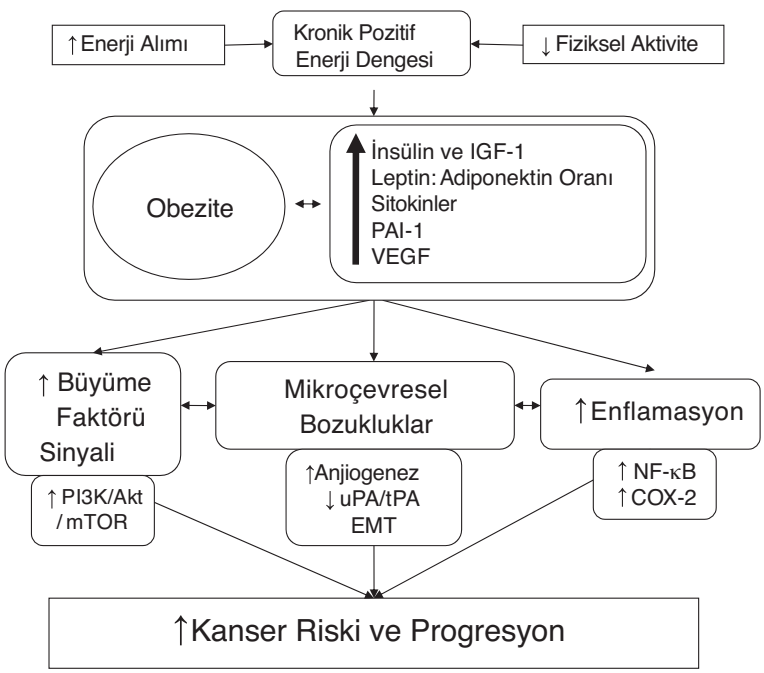
PAI-1 endotel hücreleri, stroma hücreleri ve viseral beyaz adipoz doku tarafından salgılanan serin proteaz inhibitörüdür [55]. Obez bireylerde sıklıkla görülen dolaşımdaki PAI-1 düzeylerinin yükselmesinin aterojenez, kardiyovasküler hastalık, diyabet ve çeşitli kanser risklerinde artış ile ilişkili olduğu bulunmuştur [4, 55]. PAI-1 ürokinaz tipi ve doku tipi plazminojen aktivatörlerini inhibe ederek fibrinolizi ve ekstraselüler matriksin entegrasyonunu regüle eder. PAI-1 aynı zamanda anjiogenez ile de ilgili olduğu için tümör hücrelerinin büyüme, invazyon ve metastazlarına katkı yapabilir [4]. Obez bireylerdeki PAI-1 düzeyleri kilo kaybı veya Tnf-α blokajı ile azaltılabiliyor da olsa [56, 57], tümör gelişimindeki rolü hala tartışmalıdır [55].

4.2 Epitelyal Mezenkimal Geçiş

Kanserle ilgili fare modeli çalışmaları tipik olarak insan tümör hücrelerinin immun yetmezlikli fareye ksenotransplantasyonu ile yapılır [58, 59]. Ancak ksenogreft modelleri normal tümör mikroçevresinden yoksun olmaları nedeniyle son derece kısıtlıdır. Meme bezi gelişimleri bozulmuş olan immun yetmezlikli fareler normal immun/enflamatuar cevap oluşturamazlar. Diyetle indüklenen obezite ve kalori kısıtlaması fenotiplerinin geliştirilmesine karşı dirençli olmaları, bu sistemdeki enerji dengesi ile kanser gelişimi ve progresyonu arasındaki ilişkinin aydınlatılmasına engel olmaktadır. Bu kısıtlamaları aşmanın bir yolu immunolojik yönden normal olan farelerde eş genetiğe sahip transplant modelleri oluşturarak enerji dengesi-kanser ilişkisinin incelenmesini sağlamaktır. Örneğin laboratuvarımızın güncel bir yayınında klaudin-düşük ve bazal hücreli benzeri meme kanserinde transplant modelinin geliştirilmesi ve karakteristikleri tanımlanmaktadır. Bu model ile mevcut ksenograft modellerinin kısıtlamaları aşılmıştır: (a) MMTV-Wnt-1 faresinin spontan meme tümöründen alınan hücreler kadınlardaki bazal hücreli benzeri meme kanserleri gibi kalori kısıtlamasına ve obeziteye cevap verir, ve (b) Doğal

türden üretilmiş eş genetiğe sahip farelerin immun fonksiyonları, meme bezi gelişimi ve enerji dengesi modülasyonuna verdikleri cevaplar normaldir [60].

Bu modeldeki bulgularımız enerji dengesi ile epitelyal mezenkimal geçiş (EMT) ve meme kanseri progresyonundaki tümör başlatıcı hücreler arasında mekanik bir link olduğunu göstermektedir [60]. Diyetle indüklenen obezitenin verimli toprağı (tümör mikroçevresi) EMT, intratümöral adipositler, lokal ve sistemik hormonlar, büyüme faktörleri ve sitokinlerdeki değişimleri de kapsayacak şekilde hazırlayabileceğini spekülе ettik. Hazırlanan bu ortamdaki büyümenin belirleyicileri arasında bitki çeşitliliği (intrinsik meme kanseri alt tipi) ve/veya tohum dansitesi (tümör başlatıcı hücrelerin kapsamı) mevcuttur. Buna karşın kalori kısıtlaması ile (diyetle indüklenen obezitenin aksine etki ile) epitel farklılaşmasının artışı, EMT'nin engellenmesi, intratümöral adiposit infiltrasyonunun engellenmesi, sistemik hormonların, büyüme faktörlerinin ve sitokinlerin azaltılması ile tümör gelişimi yavaşlatılabilir. Diyetle indüklenen obezitenin meme kanserinin farklı alt tipleri ile diğer epitel kanserlerindeki tümör geliştirici etkisinin, tümör başlatıcı hücrelerin kapsamına bağlı olup olmadığının anlaşılması ve kalori kısıtlamasının meme kanseri progresyonunda diyetle indüklenen obeziteye göre farklı bir yolağı (belki de tümör başlatıcı hücrelerden bağımsız olarak) hedefleyip hedeflemediğinin tespiti için yeni çalışmalara ihtiyaç vardır.



Şekil 1. Obezite ve kanser: Mekanizmalara genel bakış Metindeki oklar etkinin yönünü gösterir (örn. aktivite veya konsantrasyon). Kısaltmalar: *IGF-1* İnsülin benzeri büyüme faktörü-1; *uPA* ürokinaz tipi plazminojen aktivatörü; *VEGF* vasküler endotelyal büyüme faktörü; *EMT* epitelyal mezenkimal geçiş.

Bundan dolayı EMT komponentleri kanserin önlenmesinde ve kontrolünde yeni ve özgün bir hedef olabilir. Ayrıca özellikle obez kadınlarda enerji denge modülasyonu ve diğer girişimler için özgün bir yanıt biyomarkeri olabilir. Enerji modülasyonuna cevap veren büyüme sinyalizasyon yolaklarının tümör hücrelerinin farklılaşmalarını ve tümör başlatıcı hücrelerin proliferasyonunu, obezite ile ilişkili serum hormonları ve sitokinlerin (bu inceleme de sözü geçenler de dahil) yukarı regülasyonu ile kontrol etmeleri akla yakın bir varsayımdır. Örnek olarak dolaşımdaki IGF-1 düzeylerinin artmasının pre- ve postmenopozal kadınlarda meme kanseri riskinde artışla ilgili olması [61, 62] ve hayvan modellerinde tümör büyümesini hızlandırması verilebilir [16, 17, 63]. IGF-1 meme bezinin gelişimi sırasında normal meme kök hücrelerinin büyümelerinin stimüle edilmesinde de önemli rol oynamaktadır [64]. Ayrıca IGF-1 reseptör sinyali hepatositlerdeki SLUG-aracılığı ile gerçekleşen EMT'yi güçlendirir [65] ve prostat kanseri hücrelerinde ZEB1 aracılığı ile gerçekleşen EMT'yi artırır [66]. Ancak IGF-1 reseptörünün meme kanseri hücrelerindeki EMT ile ilişkisi hakkında bilgi yoktur. Diyabette kullanılan standart bir ilaç olan ve insülin sensitivitesini artıran metformin tümör başlatıcı hücrelerin proliferasyon ve sağkalımlarını efektif olarak inhibe etmektedir [67, 68]. Obezite ile ilişkili olarak serum leptin seviyelerinin artışının, meme kanseri riski ve prognoz ile ilişkili olduğu daha önce gösterilmiştir [69]. Leptin hücrelerin kaderine ve hepatik stellat hücrelerdeki EMT'ye katkı yapan Hedgedhog sinyalini aktive ederek gen ekspresyon programlarını değiştirir [70].

5 Özet ve Sonuçlar

Obezite sıklıkla aşırı enerji alımı ve/veya azalmış enerji harcaması sonucunda ortaya çıkan kronik pozitif enerji dengesinden kaynaklanır (Şekil 1). Metabolik sonuçları arasında, dolaşımdaki insülin ve biyolojik olarak kullanılabilir IGF-1 düzeylerini artırması ile adipokin, sitokin ve proanjiogenik/vasküler entegrasyon faktörlerinde değişimlere yol açması vardır. Bu kritik sistem regülatörlerinin yolaklarının aşağı yönlü aktivasyonu ile büyüme faktörü sinyallerinde artış, vasküler bozukluklar, enflamasyon, mikroçevrenin kanser lehine değişimi (örn. EMT) görülür. Bu nedenle kanser gelişimi ve/veya progresyonu hızlanabilir. **Birbiri ile ilişkili olan bu yolakların komponentleri, obez veya metabolik regülasyonu bozuk bireylerdeki kanserin önlenmesi veya kontrolünde uygulanabilecek hayat tarzı veya farmakolojik girişimler için mekanizmaya dayalı ümit verici hedefler ortaya koymaktadır.** Obeziteyle ilgili kanserlerin önlenmesi ve kontrolü amacıyla kullanılacak mekanizmaya dayalı yeni girişim hedeflerinin belirlenebilmesini hızlandırmak için obeziteye cevap veren büyüme sinyali, enflamasyon, mikroçevre regüle edici yolaklar ile kanserin spesifik komponentleri arasındaki ilişkiyi tespit edecek çalışmalara ihtiyaç vardır.

Teşekkürler: Dr. S. Hursting'e kısmi maddi destek sağlayanlar: the National Cancer Institute (R01CA129409 and R01CA135306), the Breast Cancer Research Foundation (UTA09-001068), ve the National Institute of Environmental Health Sciences (P30ES007784).

Referanslar

1. Flegal KM, Carroll MD, Ogden CL, Curtin LR (2010) Prevalence and trends in obesity among US adults, 1999–2008. JAMA 303:235–241
2. Ford ES, Li C, Zhao G (2010) Prevalence and correlates of metabolic syndrome based on a harmonious definition among adults in the US. J Diabetes 2:180–193
3. Hursting SD, Berger NA (2010) Energy balance, host-related factors, and cancer progression. J Clin Oncol 28:4058–4065
4. Carter JC, Church FC (2009) Obesity and breast cancer: the roles of peroxisome proliferator-activated receptor-gamma and plasminogen activator inhibitor-1. PPAR Res 345320:13
5. Poirier P, Giles TD, Bray GA, Hong Y, Stern JS, Pi-Sunyer FX, Eckel RH (2006) Obesity and cardiovascular disease: pathophysiology, evaluation, and effect of weight loss. Arterioscler Thromb Vasc Biol 26:968–976
6. World Cancer Research Fund/American Institute for Cancer Research (2007) Food, nutrition, physical activity and the prevention of cancer: a global perspective. AICR, Washington, DC
7. Calle EE, Rodriguez C, Walker-Thurmond K, Thun MJ (2003) Overweight, obesity, and mortality from cancer in a prospective studied cohort of U.S. adults. N Engl J Med 348:1625–1638
8. Stocks T, Borena W, Strohmaier S, Bjorge T, Manjer J, Engeland A, Johansen D, Selmer R, Hallmans G, Rapp K, Concin H, Jonsson H, Ulmer H, Stattin P (2010) Cohort profile: the metabolic syndrome and cancer project (Me-Can). Int J Epidemiol 39:660–667
9. Braun S, Bitton-Worms K, LeRoith D (2011) The link between the metabolic syndrome and cancer. Int J Biol Sci 7:1003–1015
10. Pollak M (2008) Insulin and insulin-like growth factor signalling in neoplasia. Nat Rev Cancer 8:915–928
11. Hursting SD, Smith SM, Lashinger LM, Harvey AE, Perkins SN (2010) Calories and carcinogenesis: lessons learned from 30 years of calorie restriction research. Carcinogenesis 31:83–89
12. Wong KK, Engelman JA, Cantley LC (2010) Targeting the PI3K signaling pathway in cancer. Curr Opin Genet Dev 20:87–90
13. Memmott RM, Dennis PA (2009) Akt-dependent and -independent mechanisms of mTOR regulation in cancer. Cell Signal 21:656–664
14. Lindsley JE, Rutter J (2004) Nutrient sensing and metabolic decisions. Comp Biochem Physiol B: Biochem Mol Biol 139:543–559
15. Moore T, Beltran LD, Carbajal S, Strom S, Traag J, Hursting SD, DiGiovanni J (2008) Dietary energy balance modulates signaling through the Akt/mammalian target of rapamycin pathway in multiple epithelial tissues. Cancer Prev Res 1:65–76
16. De Angel RE, Conti CJ, Wheatley KE, Brenner AJ, deGraffenried LA, Hursting SD. The enhancing effects of obesity on mammary tumor growth and Akt/mTOR pathway activation persist after weight loss and are reversed by Rad001. Mol Carcinog Jan 30 [epub ahead of print]
17. Nogueira LM, Dunlap SM, Ford NA, Hursting SD (2012) Calorie restriction and rapamycin inhibit MMTV-Wnt-1 mammary tumor growth in a mouse model of postmenopausal obesity. Endocr Relat Cancer 19:57–68
18. Gautron L, Elmquist JK (2011) Sixteen years and counting: an update on leptin in energy balance. J Clin Invest 121:2087–2093
19. Villanueva EC, Myers MG (2008) Leptin receptor signaling and the regulation of mammalian physiology. Int J Obes (Lond). 32(Suppl 7):S8–S12
20. Vaiopoulos AG, Marinou K, Christodoulides C, Koutsilieris M (2012) The role of adiponectin in human vascular physiology. Int J Cardiol 155:188–193
21. Barb D, Williams CJ, Neuwirth AK, Mantzoros CS (2007) Adiponectin in relation to malignancies: a review of existing basic research and clinical evidence. Am J Clin Nutr 86:s858–s866

22. Stofkova A (2009) Leptin and adiponectin: from energy and metabolic dysbalance to inflammation and autoimmunity. Endocr Regul 43:157–168
23. Stattin P, Lukanova A, Biessy C, Soderberg S, Palmqvist R, Kaaks R, Olsson T, Jellum E (2004) Obesity and colon cancer: does leptin provide a link? Int J Cancer 109:149–152
24. Wu MH, Chou YC, Chou WY, Hsu GC, Chu CH, Yu CP, Yu JC, Sun CA (2009) Circulating levels of leptin, adiposity and breast cancer risk. Br J Cancer 100:578–582
25. Fenton JI, Hord NG, Lavigne JA, Perkins SN, Hursting SD (2005) Leptin, insulin-like growth factor-1, and insulin-like growth factor-2 are mitogens in ApcMin/+ but not Apc+/+ colonic epithelial cells. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 14:1646–1652
26. Grossmann ME, Nkhata KJ, Mizuno NK, Ray A, Cleary MP (2008) Effects of adiponectin on breast cancer cell growth and signaling. Br J Cancer 98:370–379
27. Rzepka-Gorska I, Bedner R, Cymbaluk-Ploska A, Chudecka-Glaz A (2008) Serum adiponectin in relation to endometrial cancer and endometrial hyperplasia with atypia in obese women. Eur J Gynaecol Oncol 29:594–597
28. Tian YF, Chu CH, Wh MH, Chang CL, Yang T, Chou YC, Hsu GC, Yu CP, Yu JC, Sun CA (2007) Anthropometric measures, plasma adiponectin, and breast cancer risk. Endocr Relat Cancer 14:669–677
29. Jung CH, Rhee EJ, Choi JH, Bae JC, Yoo SH, Kim WJ, Park CY, Mok JO, Kim CH, Lee WY, Oh KW, Park SW, Kim SW (2010) The relationship of adiponectin/leptin ratio with homeostasis model assessment insulin resistance index and metabolic syndrome in apparently healthy Korean male adults. Korean Diabetes J 34:237–243
30. Mirza S, Qu HQ, Li Q, Martinez PJ, Rentfro AR, McCormick JB, Fisher-Hoch SP (2011) Adiponectin/leptin ratio and metabolic syndrome in a Mexican American population. Clin Invest Med 34:E290
31. Labruna G, Pasanisi F, Nardelli C, Caso R, Vitale DF, Contaldo F, Sacchetti L (2011) High leptin/adiponectin ratio and serum triglycerides are associated with an "at-risk" phenotype in young severely obese patients. Obesity 19:1492–1496
32. Cleary MP, Ray A, Rogozina OP, Dogan S, Grossman ME (2009) Targeting the adiponectin:leptin ratio for postmenopausal breast cancer prevention. Front Biosci 1:329–357
33. Ashizawa N, Yahata T, Quan J, Adachi S (2010) Yoshihara, Tanaka K. Serum leptin-adiponectin ratio and endometrial cancer risk in postmenopausal female subjects. Gynecol Oncol 119:65–69
34. Chen DC, Chung YF, Yeh YT, Chaung HC, Kuo FC, Fu OY, Chen HY, Hou ME, Yuan SS (2006) Serum adiponectin and leptin levels in Taiwanese breast cancer patients. Cancer Lett 237:109–114
35. Harvey AE, Lashinger LM, Hursting SD (2011) The growing challenge of obesity and cancer: an inflammatory subject. Ann NY Acad Sci 1229:45–52
36. Subbaramaiah K, Howe LR, Bhardway P, Du B, Gravaghi C, Yantiss RK, Zhou XK, Blaho VA, Hia T, Yang P, Kopelovich L, Hudis CA, Dannenberg AJ (2011) Obesity is associated with inflammation and elevated aromatase expression in the mouse mammary gland. Cancer Prev Res 4:329–346
37. Olefsky JM, Glass CK (2010) Macrophages, inflammation, and insulin resistance. Annu Rev Physiol 72:219–246
38. O'Rourke RW (2009) Inflammation in obesity-related diseases. Surgery 145:255–259
39. Renehan AG, Roberts DL, Dive C (2008) Obesity and cancer: pathophysiological and biological mechanisms. Arch Physiol Biochem 114:71–83
40. Karin M (2006) Nuclear factor-kappaB in cancer development and progression. Nature 441:431–436
41. Virchow R (1863) Die Krankenhasften Geschwulste. Verlag von August Hirchwald; Berlin, Germany. Aetologie der neoplastichen Geschwelste/Pathogenie der neoplastischen Geschwulste p 58
42. Aggarwal BB, Gehlot P (2009) Inflammation and cancer: how friendly is the relationship for patients? Curr Opin Pharmacol 9:351–369

43. Ono M (2008) Molecular links between tumor angiogenesis and inflammation: inflammatory stimuli of macrophages and cancer cells as targets for therapeutic strategy. Cancer Sci 99:1501–1506
44. Del Prete A, Allavena P, Santoro G, Fumarulo R, Corsi MM, Mantovani A (2011) Molecular pathways in cancer-related inflammation. Biochem Med 21:264–275
45. Foltz CJ, Fox JG, Cahill R, Murphy JC, Yan L, Shames B, Schauer DB (1998) Spontaneous inflammatory bowel disease in multiple mutant mouse lines: association with colonization by Helicobacter hepaticus. Helicobacter 3:69–78
46. Coussens LM, Werb Z (2002) Inflammation and cancer. Nature 420:860–867
47. Allavena P, Sica A, Garlanda C, Mantovani A (2008) The Yin-Yang of tumor-associated macrophages in neoplastic progression and immune surveillance. Immunol Rev 222:155–161
48. Koki A, Khan NK, Woerner BM, Dannenberg AJ, Olson L, Seibert K, Edwards D, Hardy M, Isakson P, Masterrer JL (2002) Cyclooxygenase-2 in human pathological disease. Adv Exp Med Biol 507:177–184
49. Kunku JK, Surh YJ (2008) Inflammation: gearing the journey to cancer. Mutat Res 659:15–30
50. Byrne AM, Bouchier-Hayes DJ, Harmey JH (2005) Angiogenic and cell survival functions of vascular endothelial growth factor (VEGF). J Cell Mol Med 9:777–794
51. Liu Y, Tamimi RM, Collins LC, Schnitt SJ, Gilmore HL, Connolly JL, Colditz GA (2011) The association between vascular endothelial growth factor expression in invasive breast cancer and survival varies with intrinsic subtypes and use of adjuvant systemic therapy: results from the Nurses' Health Study. Breast Cancer Res Treat 129:175–184
52. Cao Y (2007) Angiogeneis modulates adipogenesis and obesity. J Clin Invest 117:2362–2368
53. Renehan AG (2010) Body fatness and bevacizumab-based therapy in metastatic colorectal cancer. Gut 59:280–290
54. Simkens LH, Koopman M, Mol L, Veldhuis GJ, Ten Huinink Bokkel D, Muller EW, Derleyn VA, Teerenstra S, Punt CJ (2011) Influence of body mass index on outcome in advanced colorectal cancer patients receiving chemotherapy with or without targeted therapy. Eur J Cancer 47:2560–2567
55. Iwaki T, Urano T, Umemura K (2012) PAI-1, progress in understanding the clinical problem and its aetiology. Br J Haematol 157:291–298
56. Skurk T, Hauner H (2004) Obesity and impaired fibrinolysis: role of adipose production of plasminogen activator inhibitor-1. Int J Obes Relat Metab Disord 28:1357–1364
57. Muldowney JA, Chen Q, Blakemore DL, Vaughan DE (2012) Pentoxifylline lowers plasminogen activator inhibitor 1 levels in obese individuals: a pilot study. Angiology 21 Feb [epub ahead of print]
58. de Jong M, Maina T (2010) Of mice and humans: are they the same?–implications in cancer translational research. J Nucl Med 51:501–504
59. Charafe-Jauffret E, Monville F, Ginestier C, Dontu G, Birnbaum D, Wicha MS (2008) Cancer stem cells in breast: current opinion and future challenges. Pathobiology 75:75–84
60. Dunlap SM, Chiao LJ, Nogueira L, Usary J, Perou CM, Varticovski L, Hursting SD (2012) Obesity enhances epithelial-to-mesenchymal transition, cancer stem cell enrichment, and tumor progression in a novel Wnt-1 mammary cancer model. Cancer Prev Res 15 May (Epub ahead of print)
61. DeLellis K, Ingles S, Kolonel L, McKean-Cowdin R, Henderson B, Stanczyk F et al (2003) IGF1 genotype, mean plasma level and breast cancer risk in the Hawaii/Los Angeles multiethnic cohort. Br J Cancer 88:277–282
62. Baglietto L, English DR, Hopper JL, Morris HA, Tilley WD, Giles GG (2007) Circulating insulin-like growth factor-I and binding protein-3 and the risk of breast cancer. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 16:763–768
63. Nunez NP, Perkins SN, Smith NC, Berrigan D, Berendes DM, Varticovski L, Barrett JC, Hursting SD (2008) Obesity accelerates mouse mammary tumor growth in the absence of ovarian hormones. Nutr Cancer 60:534–541

64. Ruan W, Kleinberg DL (1999) Insulin-like growth factor I is essential for terminal end bud formation and ductal morphogenesis during mammary development. Endocrinology 140:5075–5081
65. Sivakumar R, Koga H, Selvendiran K, Maeyama M, Ueno T, Sata M (2009) Autocrine loop for IGF-I receptor signaling in SLUG-mediated epithelial-mesenchymal transition. Int J Oncol 34:329–338
66. Graham TR, Zhau HE, Odero-Marah VA, Osunkoya AO, Kimbro KS, Tighiouart M et al (2008) Insulin-like growth factor-I-dependent up-regulation of ZEB1 drives epithelial-to-mesenchymal transition in human prostate cancer cells. Cancer Res 68:2479–2488
67. Wysocki PJ, Wierusz-Wysocka B (2010) Obesity, hyperinsulinemia and breast cancer: novel targets and a novel role for metformin. Expert Rev Mol Diagn 10:509–519
68. Hirsch HA, Iliopoulos D, Tsichlis PN, Struhl K (2009) Metformin selectively targets cancer stem cells, and acts together with chemotherapy to block tumor growth and prolong remission. Cancer Res 69:7507–7511
69. Wu MH, Chou YC, Chou WY, Hsu GC, Chu CH, Yu CP et al (2009) Circulating levels of leptin, adiposity and breast cancer risk. Br J Cancer 100:578–582
70. Choi SS, Syn WK, Karaca GF, Omenetti A, Moylan CA, Witek RP et al (2010) Leptin promotes the myofibroblastic phenotype in hepatic stellate cells by activating the hedgehog pathway. J Biol Chem 285:36551–36560

Meyve ve Sebzeler: WCFR/AICR Kanserin Önlenmesi İçin Hayat Tarzı Önerilerindeki Epidemiyolojik Kanıtların Güncellenmesi

Teresa Norat, Dagfinn Aune, Doris Chan ve Dora Romaguera

Özet

Dünya Kanser Araştırma Fonu/Amerikan Kanser Araştırma Enstitüsü (WCRF/AICR) tarafından yayınlanan kanserden korunma amaçlı güncel diyet önerileri "günde en az 5 porsiyon çeşitli nişastasız sebze ve/veya meyve tüketilmesi gereklidir" cümlesini içermektedir. WCRF/AICR'nin en güncel yayınında (2007) meyve ve sebzelerin kanserden koruyucu etkileri ile ilgili ağız, farenks ve larenks, özofagus, mide, akciğer kanseri için "muhtemel", nasofarenks, akciğer, kolorektum, over, endometrium, pankreas, karaciğer kanserleri için de "sınırlı anlamlı" ifadeleri yer almaktadır. WCRF/AICR tarafından 1997 yılında yayınlanan daha önceki bir bildiride ise meyve ve sebzelerin kanser riskiyle ilişkileri hakkındaki kanıtların ikna edici olduğu belirtilmiştir. Bu yargı esas olarak vaka kontrol çalışmalarına dayanmaktaydı. Meyve ve sebze tüketiminin kolorektal, meme ve pankreas kanseri ile ilişkisi Sürekli Güncelleme Projesi (CUP) tarafından tekrar incelenmiştir. Elde edilen sonuçlar metaanalizlerde kantitatif olarak özetlenmiştir. CUP elindeki yeni verilerle WCRF/AICR'nin meyve ve sebzelerin kanser etyolojisindeki rolleri hakkında ikna edici kanıtlar olmadığını bildiren ikinci uzman raporunu konfirme etmiştir. Ancak diyet lif tüketiminin kolorektal kanserdeki rolü ile ilgili CUP tarafından toplanan veriler daha tutarlıdır. CUP uzman paneli diyet lifinin kolorektal kanser etyolojisindeki rolünü kısa süre önce "muhtemel" düzeyinden "ikna edici" düzeyine yükseltmiştir.

T. Norat (✉) · D. Aune · D. Chan · D. Romaguera
Department of Epidemiology and Biostatistics, School of Public Health, Imperial College London, St. Mary's Campus, Norfolk, Place, Paddington, UK W2 1PG, London
e-mail: t.norat@imperial.ac.uk

V. Zappia et al. (eds.), *Advances in Nutrition and Cancer,*
Cancer Treatment and Research 159, DOI: 10.1007/978-3-642-38007-5_3,
© Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2014

Anahtar Kelimeler
Hayat Tarzı Tavsiyeleri • Kanserin önlenmesi • Kanser riski

Kısaltmalar

WCRF/AICR	Dünya Kanser Araştırma Fonu/Amerikan Kanser Araştırma Enstitüsü
CUP	Sürekli Güncelleme Projesi
RR	Rölatif Risk
EPIC	Avrupa Kanser ve Nütrisyon Araştırması

İçindekiler

1 Giriş 36
2 Sürekli Güncelleme Projesi 39
3 Meyve, Sebze ve Kanser Riskinin ilişkisi ile İlgili Epidemiyolojik Kanıtlar 40
4 Sürekli Güncelleme Projesinden Bitkisel Gıdaların Meme, Kolorektal ve Pankreas Kanserleri ile İlişkisi Hakkında Güncel Kanıtlar 41
5 WCRF/AICR Önerilerine Uyum Bir Popülasyondaki Kanser Riskini Azaltır mı? 46
5 Sonuç Değerlendirmesi 48
Referanslar 49

1 Giriş

Dünya Kanser Araştırma Fonu (WCRF) ve Amerikan Kanser Araştırma Enstitüsü (AICR) 2007 yılında "Gıda, Nütrisyon, Fiziksel Aktivite ve Kanserin Önlenmesi: Global bir Perspektif" başlıklı İkinci Uzman Raporu'nu yayınladı [24]. İkinci Uzman Raporu kanserin önlenmesi için bu alandaki bilimsel kanıtların kapsamlı incelemesine dayanan on adet öneri içermektedir. Bu raporu "Kanser Önleme Politikası ve Faaliyetleri: Gıda, Nütrisyon ve Fiziksel Aktivite - Global bir Perspektif" başlıklı ikinci yayın [25] takip etti. Rapor politikalar ve politikacılar ile ilgili faaliyetler, politika yapıcılar, sağlık profesyonelleri ve diğer partiler ile ilgili öneriler içeriyordu. Öneriler gıda tüketimi ve fiziksel aktivite paternlerinin sosyal, kültürel, politik ve ekonomik faktörlerden etkilendiği prensibinden yola çıkarak hazırlanmıştı.

İkinci Uzman Raporu bu konuda yayınlamış en otoriter analiz olma özelliğini de taşıyordu. İkinci Uzman Raporunun yazılma süreci bir grup uzmanın (Çalışma Grubu) sistematik analizler, gözlemsel epidemiyolojik çalışmalar ve kanser etyolojisinin gıda, nütrisyon ve fiziksel aktivite ile ilişkisini araştıran girişimsel çalışmalarda kullanılan detaylı metodolojileri değerlendirilmesi ile başlamıştır [23, http://www.dietandcancerreport.org/cancer_resource_center /downloads/SLR_Manual.pdf]. Kullanılan spesifikasyon kılavuzunun fizibilitesi, kullanışlılığı ve çoğaltılabilirlik düzeyi endometrium kanserini test konusu olarak kullanan iki bağımsız akademik enstitü tarafından test edildi [22]. Gıda, nütrisyon ve fiziksel aktivitenin on yedi kanser türü ve kanser sağkalımı ile ilişkisi hakkındaki epidemiyolojik kanıtlar ve obezitenin belirleyici faktörleri Avrupa ve ABD'deki dokuz akademik araştırma kurumunda sistematik olarak incelendi.

Epidemiyolojik, deneysel ve laboratuvar araştırmalarının sistematik analizi WCRF/AICR tarafından atanan uluslararası uzman panelinin gıdaların, nütrisyonun, fiziksel aktivitenin ve şişmanlığın kanser etyolojisindeki rolüyle ilgili kanıtları değerlendirip kategorilendirerek kanserin önlenmesi ile ilgili öneriler ve halk sağlığı hedefleri belirlemelerinin temelini oluşturmuştur. Diğer hastalıkların önlenmesi ile ilgili önerilerde bulunan ulusal ve uluslararası raporlarda göz önüne alınarak kanserin önlenmesi ile ilgili önerilerin geniş bir halk sağlığı bakış açısıyla oluşturulması amaçlanmıştır. Panel kanıtları sunmadan önce her kategori için gerekli olan minimum kriterler üzerinde fikir birliğine varmıştır. Kategoriler ikna edici, muhtemel, sınırlı ve risk üzerinde anlamlı etki yapma olasılığı az olarak belirlenmiştir. Sınırlı kategorisi, nedensel ilişki düşünülen durumlar için "sınırlı anlamlı", çıkarım yapılamayan durumlar için de "sınırlı - çıkarım yok" olarak ikiye ayrılmıştır. Bunlara ek olarak esneklik sağlamak amacıyla, kanıtların belirli özellikleri çıkarımların derecesini yükseltmek veya düşürmek amacıyla kullanılmıştır. Önerilerin temelini çıkarımlar oluşturmuştur. Önerilerin oluşturulmasında sadece muhtemel veya ikna edici olarak sınıflandırılan çıkarımlar kullanılmıştır.

İkinci uzman raporu sekiz genel ve iki özel öneri içermektedir (Tablo 1). Öneriler halk sağlığına hitap edebilmek amacıyla geniş tabanlı bir yaklaşım kullanmıştır. Kanseri önlemeyi amaçlayan gıda ve diyet tavsiyeleri spesifik besin öğeleri ve kanser türlerine odaklanmak yerine genel bir yaklaşımla hazırlanmıştır.

Ancak bilimsel kanıtlar sürekli olarak artmaya devam etmektedir. Mevcut kanıtların ışığında yeni çalışmaların yapılması gerekmektedir. WCRF/AICR kanıtların sürekli olarak güncellenmesini sağlayabilmek için Londra Imperial College araştırmacıları ile işbirliği içinde Sürekli Güncelleme Projesini (CUP) yürütmektedir.

Tablo 1 2007 Dünya Kanser Araştırma Fonu/Amerikan Kanser Araştırma Enstitüsü Kanserin Önlenmesinde Bireysel Öneriler

Öneriler
ŞİŞMANLIK
Normal sınırlar içindeki vücut ağırlığına mümkün olduğu kadar yakın olunuz
Çocukluk ve adolesan dönemdeki vücut ağırlığından tahmin edilen 21 yaşındaki olası VKİ'nin normalin alt sınırına yakın olmasını sağlayınız
Vücut ağırlığının 21 yaşından itibaren normal sınırlar içinde kalmasını sağlayınız
Erişkin yaşam boyunca kilo alımını ve bel çevresi artışını engelleyiniz
FİZİKSEL AKTİVİTE
Fiziksel aktiviteyi günlük yaşamın bir parçası haline getirerek aktif kalınız
Günde en az 30 dakika tempolu yürüyebilecek şekilde orta derecede aktif kalınız
Egzersiz faydalı olduğu için hergün ≥ 60 dakika orta düzeyde veya ≥ 30 dakika hızlı tempolu egzersiz yapınız.
Televizyon seyretmek gibi sedanter alışkanlıkları azaltınız
KİLO ALIMINA YOL AÇAN YİYECEK VE İÇECEKLER
Enerji yoğun besinlerin tüketimini azaltınız Şekerli içeceklerden kaçınız
Enerji yoğun yiyecekleri az miktarda tüketiniz
Şekerli içeceklerden kaçınınız
"Fast food" ürünlerini az miktarda tüketiniz
BİTKİSEL BESİNLER
Çoğunlukla bitkisel kaynaklı gıdalar tüketiniz
Günde en az beş porsiyon (400 gr veya 14 oz) farklı çeşitlerde nişastasız sebze ve/veya meyve tüketiniz
Her öğünle görece olarak az işlenmiş tahil (taneli) ve/veya bakliyat tüketiniz
Rafine nişastalı besinleri azaltınız
Nişastalı kök ve yumru sebzeleri tüketenlerin nişastasız sebze, meyve ve baklagilleri de yemeleri gereklidir
HAYVANSAL GIDALAR
Kırmızı et tüketimini azaltınız ve işlenmiş et ürünlerinden kaçınınız
Kırmızı etin haftada 500 gr'dan (18oz) az tüketilmesi, işlenmiş et ürünlerinin de çok az miktarda yenilmesi uygundur
ALKOLLÜ İÇKİLER
Alkollü içecekleri azaltınız
Alkollü içkiler kullanılıyorsa, erkekler için günde iki kadeh, kadınlar için de günde bir kadeh ile sınırlayınız.
KORUMA, İŞLEME, HAZIRLAMA

*(*devam ediyor*)*

Tablo 1 (devam ediyor)

Öneriler
Tuz tüketimini azaltınız
Küflü tahıl (taneli) ve baklagillerden sakınınız
Koruma amaçlı tuz eklenen, tuzlanmış veya tuzlu gıdalardan sakınınız. Besinleri tuz kullanmadan koruyunuz
Tuz eklenerek işlenmiş gıdaları azaltınız. Günde 6 gr'dan (2.4 gr sodyum) tuz tüketiniz
Küflü tahıl (taneli) ve baklagilleri yemeyiniz
DİYET TAKVİYELERİ
Nütrisyonel hedefleri sadece diyet ile karşılamaya çalışınız
Diyet takviyeleri kanserin önlenmesinde tavsiye edilmemektedir
EMZİRME
Anneler emzirmeli; çocuklar emzirilmelidir
Bebek altı ay boyunca sadece anne sütü ile emzirilmelidir. Sonrasında ilave gıdalar ile devam edilir
KANSER HASTALARI
Kanser hastalığı ile ilişkili önerilere uyunuz
Her kanser hastası uygun eğitimli bir profesyonelden nütrisyon desteği almalıdır.
Yapılabiliyorsa farklı tavsiye edilmediği sürece diyet, sağlıklı kilo ve fiziksel aktivite ile ilgili önerilere uyulması hedeflenmelidir.

[24] nolu referanstan uyarlanmıştır

2 Sürekli Güncelleme Projesi

CUP gıda, nütrisyon, fiziksel aktivite, şişmanlık ve kanser riski ile ilgili literatürlerin sürekli olarak değerlendirildiği projedir [http://www.wcrf.org/cancer_ research/cup/index.php]. CUP yayınlanan kanıtlarla ilgili sistematik literatür analizini WCRF/AICR ikinci uzman raporunda kullanılan yönteme benzer şekilde gerçekleştirerek kanıtların incelenmesinde tutarlı bir yaklaşım sağlamayı hedeflemektedir. Ayrıca WCRF/AICR'nin atadığı diyet, fiziksel aktivite, obezite ve kanser konusunda lider bilim adamlarından oluşan bağımsız uzmanlar paneli de (CUP paneli) önerilerin yayınlanmasından önce CUP'ın ürettiği sistematik literatür analiz sonuçlarını mekanik çalışmaların kanıtları ile birlikte değerlendirerek gereken sonuçları çıkarmaktadır. Verileri toplayan ve özetleyenler ile bu verileri değerlendirenlerin farklı uzmanlar olmasının amacı, CUP'ın yaptığı veri analiz ve yorumlarının bağımsız bir şekilde gerçekleşmesini sağlayarak 2007 WCRF/ AICR kanser önleme önerilerinin gözden geçirilmesini ve gerektiğinde güncellenmesini sağlayacak temeli oluşturmaktır.

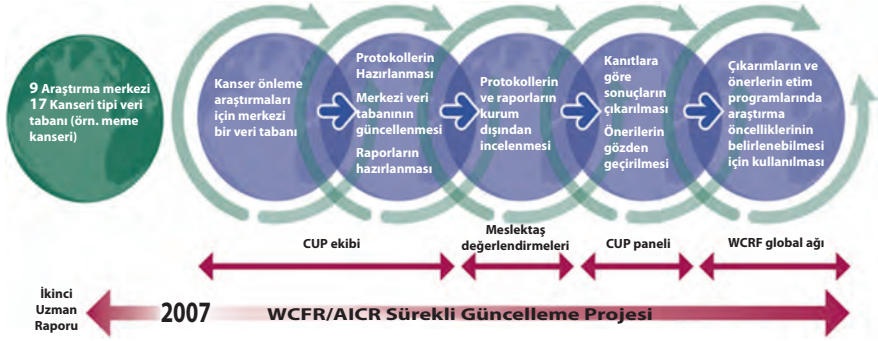
İkinci uzman raporundaki önerilerin çoğu prospektif ve randomize kontrollü çalışmaların sonuçları baz alınarak geliştirilmiştir. Bu süreçte yer alan iki çalışmanın dizaynları kanıt hiyerarşisinin üst basamağında yer almıştır [15]. Nütrisyon ve kanserle ilgili vaka kontrol ve kohort çalışmalarının birbirleri ile uyumlu sonuçlar vermediğini gösteren yaygın kanıtlar da mevcuttur [20]. Bu nedenle kohort ve randomize kontrollü çalışmalardan elde edilen kanıtlar CUP tarafından sürekli olarak incelenmektedir. Analizlerde vaka kontrol çalışmaları, kesitsel çalışmalar ve ekolojik çalışmalar yer almamaktadır.

CUP'ın bir özelliği de gıda, nütrisyon, fiziksel aktivite ve obezitenin kanser riski ile ilişkisini araştıran tüm kohort ve randomize kontrollü çalışmaların sonuçlarını içeren büyük veri tabanının sürekli olarak güncellenmesidir (Şekil 1). CUP veri tabanının sürekli güncellenmesinin ilk adımı sistematik kanser analizleri ile oluşturulan veri tabanlarının tek bir özgün veri tabanı içinde kombine edilerek toplanan tüm verilerin aynı formatla standardize edilmesidir. CUP nütrisyon ve kanser ile ilgili epidemiyolojik verileri içeren bilinen en büyük veri tabanına sahiptir. Bu veri tabanı uzman panelini bilgilendirmekte kullanılan CUP metaanalizlerinin kaynağıdır.

3 Meyve, Sebze ve Kanser Riskinin ilişkisi ile İlgili Epidemiyolojik Kanıtlar

2003 yılında meyve ve sebze tüketiminin kanser ile ilişkisini konu alan büyük ölçekli sistematik analizde vaka kontrol çalışmalarından alınan genel veriler meyve ve sebze tüketiminin özofagus, akciğer, mide ve kolorektal kanser riskini azalttığı görüşünü desteklemektedir. Meme kanseri riski sebze tüketimi ile ters orantılıdır. Ancak bu ilişki meyve tüketimi için geçerli değildir. Meyve tüketimi mesane kanseri ile ilişkili bulunurken bu ilişki sebze tüketimi için geçerli değildir. Ancak meyve ve sebze tüketiminin birçok kanser türünden koruyucu etkilerini araştıran kohort çalışmalarından elde edilen veriler, vaka kontrol çalışmaları verileri kadar ikna edici değildir. Kohort çalışmalarında sadece akciğer ve mesane kanserinin meyve tüketimi ile anlamlı bir bağlantısı tespit edilmiştir [20]. Vaka kontrol ve kohort çalışmalarının genel sonuçları arasındaki bu çelişkiler hatırlama veya seçim sapmalarından kaynaklanıyor olabilir. Diğer yandan bazı prospektif çalışmalarda da her kohorttaki diyet ölçümlerinin yanlış yapılmasından veya diyetle alınan gıda miktarlarındaki varyasyonların sınırlı olmasından kaynaklanan bazı ilişkilerin yeterince dikkate alınmamış olması mümkündür.

2007 yılında kohort çalışmalarından alınan daha kapsamlı kanıtlarla yayınlanan WCRF/AICR ikinci uzman raporunda meyve ve sebze kullanımının kanser riskini modifiye edebileceği yönündeki kanıtların tatminkar olmadığı sonucuna varılmıştır (Tablo 2). Raporda meyve ve sebze tüketiminin ağız, farenks, özofagus ve mide kanserleriyle muhtemelen ilişkili olduğu ifadesi de yer almıştır. Meyve tüketiminin akciğer kanseriyle,



Şekil 1 Sürekli Güncelleme Projesinin İşleyişi.

karoten içeren gıdaların prostat kanseriyle, folat içeren gıdaların da pankreas kanseriyle muhtemel ilişkisi olduğu bildirilmiştir.

Bu yargıların büyük bölümü vaka kontrol çalışmalarının sonuçlarına dayanmaktadır. Kanser riskinde azalmaya yol açan diyetlerin çoğunun bitkisel gıdalardan oluştuğu yönündeki entegre bir yaklaşımı [24] değerlendiren uzman paneli, farklı çeşitlerdeki nişastasız sebzelerin ve meyvelerin her gün tüketilmesini önermiştir. Ayrıca işlenmemiş tahıl ve baklagiller tüketimini önerirken nişastalı gıdaların tüketiminin de sınırlanmasını tavsiye etmiştir.

4 Sürekli Güncelleme Projesinden Bitkisel Gıdaların Meme Kolorektal ve Pankreas Kanserleri ile İlişkisi Hakkında Güncel Kanıtlar

CUP meme, kolorektal ve pankreas kanserleri ile ilgili sistematik literatür analizleri Londra Imperial College'deki araştırıcılar tarafından gerçekleştirilmektedir. WCRF/AICR ikinci uzman raporu için yapılan sistematik literatür analizinde (Haziran 2006'ya kadar) yayınlanmış makalelerin araştırılması ve verilerin toplanması işlemi Milan İtalya'daki İstituo Nazionale Tumori (meme kanseri), Hollanda'daki Wageningen Üniversitesi (kolorektal kanser) ve İngiltere'deki Leeds Üniversitesi (pankreas kanseri) araştırmacıları tarafından gerçekleştirilmiştir. Bu merkezlerde toplanan veriler güncel CUP analizlerinde kullanılmıştır.

CUP metaanalizlerinde kullanılan yöntemlerden bu bölümün farklı yerlerinde bahsedilmektedir [11]. En yüksek tüketim miktarları ile en düşük tüketim miktarları ve doz cevap analizinin risk oranlarının (RR) ve güven aralıklarının (%95 CI) hesaplanmasında kısa rastgele etki modelleri kullanılmıştır.[13]. Risk oranının doğal logaritması tahmin edilmiştir. Her çalışmanın risk oranı varyansının karşıtı ile dengelenmiştir. Greenland ve Longnecker [14] tarafından tanımlanan yöntem, tüketim kategorileri boyunca risk oranlarının ve güven aralıklarının doğal logaritmalarından lineer trendleri ve %95 güven aralıklarını hesaplamak amacıyla doz cevap analizlerinde kullanılmıştır. WCRF/

Tablo 2 WCRF/AICR ikinci uzman raporunda meyve, sebze ve kanser riski ilişkisindeki kanıtların uzman paneli tarafından sınıflandırılması

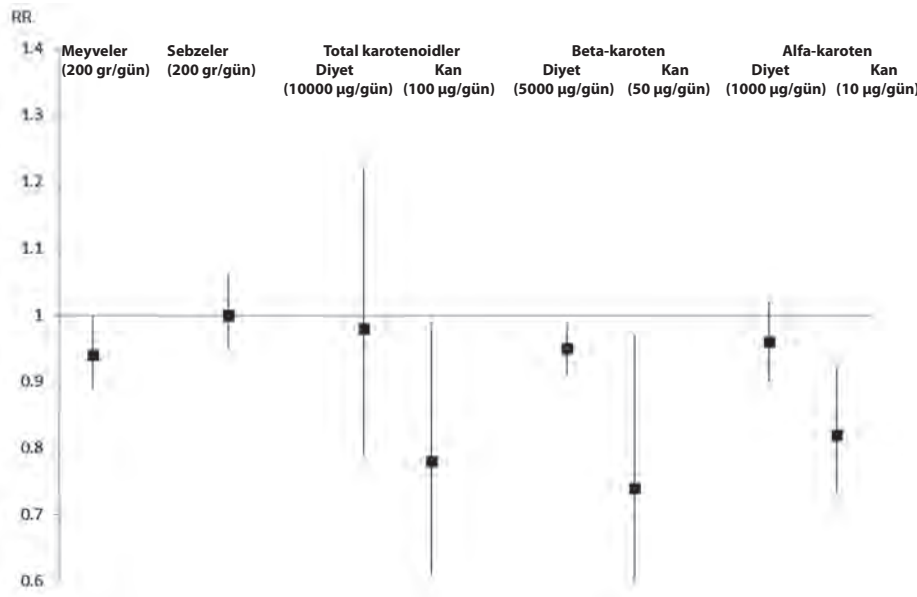
Kanıt Düzeyi	Risk azalması	
	Maruziyet	Kanser bölgesi
İkna edici	Meyve ve sebzelerin kanser riskini modifiye etmeleri ile ilgili ikna edici kanıt yoktur	
Muhtemel	Nişastasız sebzeler	Ağız, farenks, larenks
		Özofagus
		Mide
	Alyum bitkileri	Mide
	Sarımsak	Kolorektum
	Meyveler	Ağız, farenks, larenks
		Özofagus
		Akciğer
		Mide
	Folat içeren besinler	Pankreas
Sınırlı anlamlı	Nişastasız sebzeler	Nazofarenks
		Akciğer
		Kolorektum
		Over
		Endometrium
	Havuç	Serviks
	Meyveler	Nazofarenks
		Pankreas
		Karaciğer
		Kolorektum

[24] nolu referanstan adapte edilmiştir

AICR ikinci uzman raporu için yapılan literatür araştırmasında ortaya çıkan eksik veriler için eldeki verilerden doz cevap eğrilerinin ve güven aralığının tahmin edilmesinde birkaç farklı yaklaşım kullanılmıştır [8]. İkinci uzman raporu için meyve ve sebze tüketiminin kanser riskiyle ilişkisi hakkında daha önce yapılan literatür analizlerinde kullanıldığı üzere, tüketimi frekans olarak bildiren çalışmalardaki tüketimlerin ortak bir ölçek üzerinde [gram/gün] yeniden hesaplanabilmesi için porsiyon miktarı olarak 8 gr kullanılmıştır [7]. Çalışmalar arasındaki heterojenite Q ve I^2 istatistikleri ile değerlendirildi [17]. İstatistiksel analizler için STATA programı kullanıldı.

- Meme kanseri, meyve ve sebzelerle ilgili sürekli güncelleme

2007 WCRF/ AICR raporunda meyve ve sebze ile meme kanseri arasındaki ilişki ile ilgili kanıtların bir sonuç çıkarabilmek için çok kısıtlı veya tutarsız oldukları bildirilmiştir.



Şekil 2 Meme ve kolorektal kanserlerin diyetle total lif alımına ve gıda kaynağına göre lineer doz cevaplarını inceleyen metaanaliz sonuçlarının özeti. Rölatif riskler ve güven aralıkları 10 gr/gün artışa göre hesaplanmıştır (şekiller CUP verilerini baz almaktadır [1, 2]).

Nisan 2011'e kadar yayınlanan 15 prospektif çalışmanın sonuçlarını içeren güncel CUP analizinde meyve ve sebze tüketiminin meme kanserini azalttığı yönünde kanıt mevcut değildir [3, 4]. En yüksek meyve tüketim kategorisi ile en düşük meyve tüketim kategorisinin karşılaştırılmasında heterojenite kanıtı olmaksızın zayıf bir ters orantı gözlenmiştir (rölatif risk [RR] = 0.92; %95 CI=0.86-0.98). Lineer doz cevap eğrilerinde meyve tüketimindeki 200 gr artış ile meme kanserinde görülen %6'lık hafif azalma istatistiksel olarak (sınırda) anlamlıdır ([RR] = 0.94; %95 CI=0.89-1.00). Doz cevap modellerindeki sebze tüketimi (sebze tüketiminde 200 gr artış için [RR] = 1.00; %95 CI = 0.95-1.06) ile veya en yüksek tüketim kategorisi ile en düşük kategorinin karşılaştırılmasında (RR = 1.00; %95 CI = 0.95–1.06) bir ilişki gösterilememiştir [4].

Diyet biyomarkerlerinin kullanıldığı farklı gözlemsel çalışmalarda (diyet anket verileri ile tahmin edilen ilişkilere göre) diyet ve hastalık sonlanım noktaları arasında daha güçlü ilişkiler bildirilmiştir [9, 16, 18]. Bu sonuçlar bazı diyet hastalık ilişkilerinin diyet ölçüm hataları nedeniyle eksik değerlendirildiğini düşündürmektedir [12]. CUP kapsamındaki diyetle alınan karotenoidler ve kan karotenoid düzeyleri ile ilgili metaanalizler bu gözlemi desteklemektedir (Şekil 2). CUP metaanalizlerinde meme kanseri ile diyet karotenoidleri arasında bir ilişki bulunmamıştır (10,000 için RR = 0.98; %95 CI = 0.79–1.22). Ancak kan karotenoid düzeyleri ile meme kanseri anlamlı bir ilişki gözlenmiştir

(100 μg/dl için RR = 0.78; %95 CI = 0.61–0.99) [3]. Kandaki alfa ve beta-karoten seviyeleri ile gözlenen anlamlı ters orantılı ilişkiler, aynı makrobesinleri kullananlardaki anketlerin sonuçlarından daha güçlü bulunmuştur. Karotenoidlerin kan konsantrasyonları diyet ile orta derecede korele olduğu için, sıklıkla meyve ve sebze tüketimi ile ilgili biyomarkerler olarak kullanılmaktadırlar (korelasyon aralığı 0.2 değerinden 0.5 değerinin üstüne kadar değişmektedir). Karotenoidler yağda çözündükleri için biyoyararlanımları diyetin yağ içeriği veya diğer kişisel faktörler ve muhtemelen de genetik farklılıklardan etkilenebilir. Karoteinlerin kandaki düzeyleri, farklı popülasyonlardaki biyoyararlanımları veya vücudun tamamındaki maruziyet hakkında iyi bir tahmin aracı olabilir ([19] nolu referansta incelenmiştir).

Meme tümörlerinin karakteristik özelliklerine göre mevye ve sebze tüketimi ile ilişkisinin de farklılıklar gösterebilme ihtimali mevcuttur. CUP kapsamında meme kanserini tümör özelliklerine göre sınıflandıran metaanalizlerin yapılabilmesi için gerekli olan sayıda çalışma mevcut değildir. 18 prospektif kohort çalışmasındaki 33.380 hastayı içeren Kohort Çalışmaları Havuzu Projesi, alfakaroten, betakaroten ve lutein/zeaksantin tüketiminin östrojen reseptörü negatif meme kanseri ile ters orantılı olduğunu ancak östrojen reseptörü pozitif meme kanseri ile bu ilişkinin mevcut olmadığını bildirmiştir. Projede yer alan çalışmalardaki karoteinod tüketimi anket verileri kullanılarak tahmin edilmiştir [26].

Meyve, sebze ve tahıllar birçok toplumdaki diyet lifinin ana kaynağıdır. Güncel CUP meme kanseri analizinde diyetle lif tüketimi ile meme kanseri arasında ters orantı bulunmuştur (her 10 gr/gün için RR = 0.95 CI = %95 = 0.91–0.98). Meyve lifi (RR = 0.88; %95 CI = 0.75–1.03) veya tahıl lifi tüketimi (RR = 0.91; %95 CI = 0.79–1.04) ile ters orantılı ancak anlamlı olmayan ilişkiler bulunmuştur. Ancak sebzelerden alınan lifler ile ilgili bir ilişki tespit edilmemiştir (RR = 0.97; %95 CI = 0.55–1.12) [1].

- Kolorektal kanser, meyve ve sebzelerle ilgili sürekli güncelleme

2007 WCRF/AICR raporunda meyve ve sebzelerin kolorektal kansere karşı koruyuculukları hakkında sınırlı kanıt olduğu yönünde panel kararı vardır. Meyve, sebze ve kolorektal kanser ilişkisi hakkında birçok çalışma mevcut olsa da sonuçları tam olarak tutarlı değildir.

Kolorektal kanser hakkındaki güncel CUP analizi için 31 Aralık 2010'a kadar yayınlanmış 19 prospektif çalışma belirlemiştir. Bu kohort çalışmalarının genel sonuçları (en yüksek ve en düşük tüketimler karşılaştırıldığında) kolorektal kanser ile meyve tüketimi arasında zayıf bir ilişki göstermiştir (RR = 0.90; %95 CI = 0.83–0.98). Ancak doz cevap ilişkisi mevcut değildir (Her 100 gr/gün için RR = 0.98; %95 CI = 0.94–1.01). Sebze tüketimi ile ters orantılı doz cevap ilişkisi gözlenmiştir (Her 100 gr/gün için RR = 0.98; 95 %CI = 0.97–0.99). Aynı ilişki en yüksek ve en düşük tüketimlerin karşılaştırılmasında da mevcuttur (RR = 0.91; 95 %95 CI = 0.86–0.96). Meyve, sebze ve kolorektal kanser ilişkisi fraksiyonel polinominal modeller ile de incelenmiştir [6]. Nonlineer modeller doz cevap ilişkilerinin çok düşük tüketim düzeylerinde daha belirgin olduğunu göstermiştir. Bu bulgu çok az meyve ve sebze tüketen bireylerin orta derecede artmış kolorektal kanser riski altında olduğunu ve meyve, sebze tüketimini

Tablo 3 Sürekli güncelleme projesinin kolorektal kanserle ilgili "ikna edici" ve "muhtemel" sonuçları

Gıda, nütrisyon, fiziksel aktivite ile kolon ve rektum kanserlerinin ilişkisi		
	Risk azalması	Risk artışı
İkna edici	Fiziksel aktivite	Kırmızı et
	Diyet lifi içeren besinler İşlenmiş et	İşlenmiş et
		Alkollü içkiler (erkek)
		Obezite
		Abdominal obezite
		Erişkin boyu
Muhtemel	Sarımsak	Alkollü içkiler (kadın)
	Süt	
	Kalsiyum	

WCRF/AICR Sürekli Güncelleme Projesi 2011, http://www.wcrf.org/cancer_research/cup/colorectal_cancer.php

100gr/gün düzeyinin üzerine çıkarmanın da az miktarda fayda sağladığını düşündürmektedir [5].

Diyet lifiyle ilgili WCRF/AICR ikinci uzman raporunda lif içeren gıdaların yüksek miktarda tüketiminin kolorektal kansere karşı muhtemel koruyucu etkisi değerlendirilmiştir. Lif tüketimi ve kolorektal kanser ile ilgili çalışmalarda tutarsız sonuçlar görüldüğü ve lif tüketimi sağlıklı yaşam tarzı ile ilişkili olma eğilimi gösterdiği için, gözlenen ilişkilerin (en azından kısmen) sağlıklı hayat tarzının rezidüel etkisi ile ilişkili olabileceği panel tarafından bildirilmiştir.

16 prospektif çalışmanın güncel CUP metaanalize kolorektal kanser riskinin diyetle lif tüketimi ile ters orantılı olduğunu konfirme etmiştir (10 gr/gün için RR = 0.90; %95 CI = 0.86–0.94) [2]. Gıda kaynağı ile ilgili CUP metaanalizleri bu ters orantılı ilişkinin tahıllardan alınan lif ile sınırlı olduğunu göstermiştir (10 gr/gün için RR = 0.90; 95 %CI = 0.83–0.97); meyvelerden alınan lif miktarı ile de ters orantılı bir ilişki gözlense de anlamlılık düzeyine ulaşılamamıştır (10 gr/gün için RR = 0.93; 95 %CI = 0.82–1.05). Sebzelerden alınan lif ile ilgili bir ilişki tespit edilmemiştir (10 gr/gün için RR = 0.98; %95 CI = 0.91–1.06) (Şekil 2). Diyet lifi ve kolorektal kanser ile ilgili veriler genel olarak tutarlıdır; çalışma sonuçları içinde anlamlı bir heterojenite tespit edilmemiştir (I^2 = %0). CUP uzman paneli 2011 yılındaki CUP sonuçlarının ışığında 2007 yılındaki WCRF/AICR ikinci uzman raporu panelinin çıkarımlarını modifiye etmiştir. Diyet lifi içeren gıdaların kolorektal kanserden koruyuculuk statüsü muhtemelden ikna edici seviyesine çıkarılmıştır (Tablo 3).

- Pankreas kanseri, meyve ve sebzelerle ilgili sürekli güncelleme

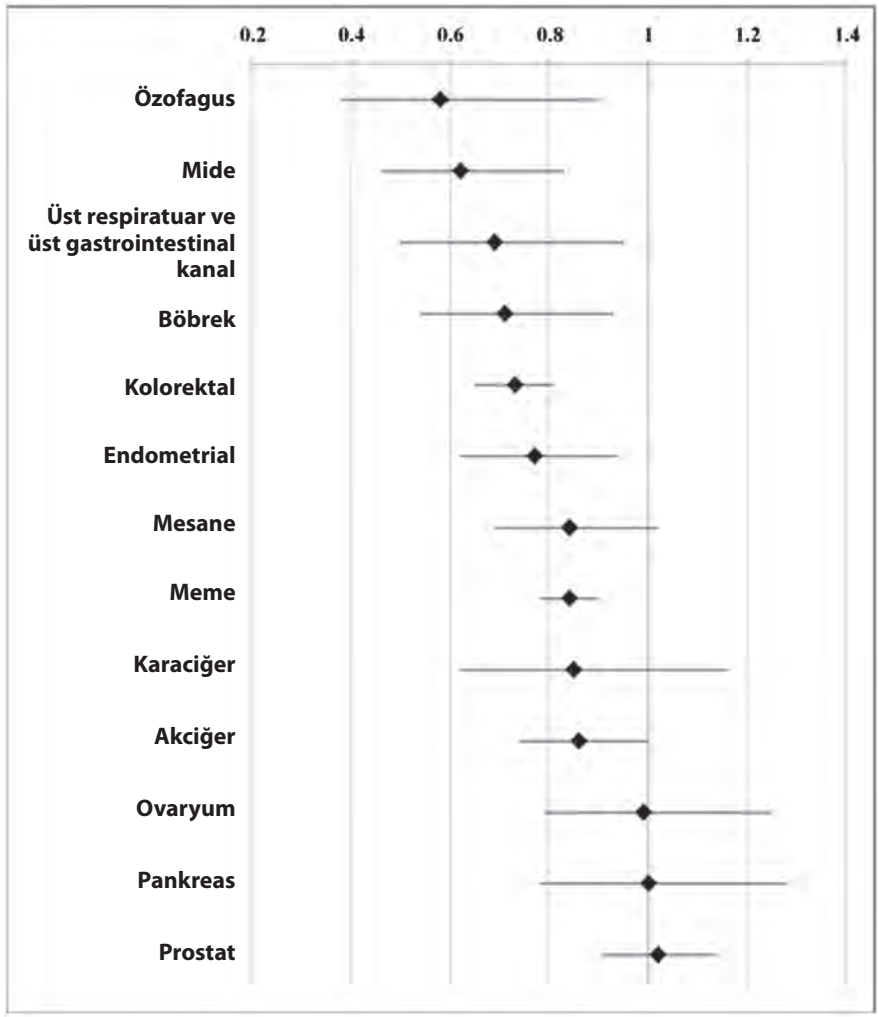
Pankreas kanseri ile ilişkili CUP analizi 31 Aralık 2011'e kadar yayınlanan çalışmaların sonuçları ile güncellenmiştir. İkinci uzman raporunun yayınlandığı 2007 yılından sonra pankreas kanseri hakkındaki prospektif çalışmalarla ilgili yayınların sayısında ciddi bir artış olmuştur. Pankreas kanseri insidansı ile mortalite ve sebzelerle ilgili 10, meyvelerle ilgili 12 çalışma belirlenmiştir. Bu çalışmaların 8 tanesi ikinci uzman raporundan sonra yayınlanmıştır.

CUP metaanalizleri meyve ve sebze tüketiminin pankreas kanseri ile ilişkisi hakkında herhangi bir kanıt içermemektedir. 100 gr'lık tüketim artışının rölatif riski sebzeler için 1.00 (%95 CI = 0.96–1.03), meyveler için de 1.00 (%95 CI = 0.95–1.05) bulunmuştur (yayınlanmamış veriler).

5 WCRF/AICR Önerilerine Uyum Bir Popülasyondaki Kanser Riskini Azaltır mı?

WCRF önerilerine uymanın bir popülasyondaki kanser riskini modifiye edebileceği varsayımındaki olası nedensel ilişkiye direkt kanıt sağlayabilecek araştırmalar randomize kontrollü çalışmalardır. Ancak bu tür çalışmalar sadece çalışma popülasyonu için gereken sayıdaki deneğin toplanmasında harcanacak zaman ve kaynak nedeniyle değil, aynı zamanda girişimin uygulanması ve sürdürülebilmesindeki metodolojik zorluklar, uyum ölçümü, girişim sırasında modifiye olabilen faktörlerin kontrolü ve etkilerin sapmalara meydan vermeksizin ölçümlerinin zorluğu gibi nedenler yüzünden her zaman uygulanabilir değildir. Bunun yerine gözlemsel prospektif çalışmalardan alınan indirekt kanıtlar kullanılarak WCRF/AICR önerilerine uygun hayat tarzı süren bireylerin daha düşük kanser riski taşıyıp taşımadıkları belirlenebilir. Bu görüş 1992-2000 yılları arasında kaydedilen 25-70 yaşları arasındaki, 521.330 kadın ve erkek ile gerçekleştirilen Avrupa Prospektif Kanser ve Nütrisyon Araştırması (EPIC) ile test edilmiştir. Çalışmaya 10 Avrupa ülkesi katılmıştır: Danimarka, Fransa, Almanya, Yunanistan, İtalya, Hollanda, Norveç, İspanya, İsveç ve İngiltere. Katılımcılar çalışmaya kayıt esnasında alkol kullanımı, sigara, fiziksel aktivite, eğitim, üreme geçmişi, emzirme, ekzojen hormon kullanımı ve geçirilmiş hastalık detaylarını da kapsayan medikal, diyet ve hayat tarzı anketleri doldurdular. Merkezlerin çoğunda vücut ağırlığı ve boy ölçümü ile ülkelere spesifik olarak valide edilmiş anketlerle rutin gıda tüketimleri belirlendi. EPIC çalışmasının detayları diğer bölümlerde anlatılmıştır [10].

WCRF/AICR önerileri ile uyum derecesinin değerlendirilmesi için önerilere uyum skorlaması geliştirilmiş ve çalışmaya kayıt esnasında toplanan veriler kullanılarak 386.355 EPIC katılımcısına uygulanmıştır. Başlangıçtaki skor ile devamında gelişebilecek kanser riski arasındaki ilişki araştırılmıştır. Medyan 11 yıllık takip süresi sonunda 36.994 EPIC katılımcısında kanser tespit edilmiştir. Sonuçlarda WCRF/AICR'nin kanseri önleme amaçlı diyet, nütrisyon, fiziksel aktivite ve kilo kontrolü ile ilgili öne-



Şekil 3 EPIC popülasyonundaki WCRF-AICR önerilerine en yüksek ve en düşük uyum skorları ile ilişkili spesifik kanser tiplerinin risk oranları (%95 CI). [21] nolu referanstan alınmıştır.

rilerine uymanın kanserin birçok türünün gelişme riskini azalttığı tespit edilmiştir. En yüksek WCRF/AICR uyum skoru grubunda (erkekler için ≥5 puan, kadınlar için ≥6 puan) alan katılımcıların herhangi bir kanser gelişme riski en düşük skor grubuna göre (erkekler için ≤2 puan, kadınlar için ≤3 puan) %18 daha az bulunmuştur. WCRF-AICR önerileri ile uyumun üst respiratuar sistem, üst gastrointestinal sistem, özofagus, mide, kolorektum, endometrium ve meme kanserini tahmin etmekte kullanılabileceği tespit edilmiştir (Şekil 3). WCRF-AICR skoru ile prostat, over, pankreas

ve mesane kanserleri tespit edilememektedir. Bu ilişkiler ikinci uzman raporundaki çıkarımlarla da uyumludur.

Skoru oluşturan komponentler arasında bitkisel gıdalarla ilgili önerilere uyum derecesinin kanser tahminindeki en güçlü gösterge olduğu bulunmuştur. Bitkisel gıda önerilerine en yüksek uyum skoru alan gruptaki (erkekler için ≥5 puan, kadınlar için ≥6 puan) herhangi bir kanser gelişme riski en düşük skor grubuna göre (erkekler için ≤2 puan, kadınlar için ≤3 puan) %11 (%95 CI = %6-16) daha az bulunmuştur [21]. Diğer komponentler ile ilişkili rölatif risk azalmaları %4 ile %6 arasında değişmektedir. Kilo artışına yol açan gıdalar ve emzirme ile ilgili önerilerin genel kanser riski ile ilişkili olmadığı (skorun diğer komponentlerine göre düzeltildikten sonra) bulunmuştur. Analizler sigara, eğitim durumu, kadınlarda (herhangi bir zamanda) oral kontraseptif kullanımı, hormon replasman tedavisi, ilk menarş yaşı, ilk hamilelik yaşı ve menopozal duruma göre düzeltilmiştir.

6 Sonuç Değerlendirmesi

2007 WCRF-AICR ikinci uzman raporu meyve ve sebzelerin kansere karşı koruyuculukları hakkındaki kanıtların ikna edici olmadığı sonucuna varmıştır. Daha fazla veriyi analiz eden CUP, WCRF-AICR ikinci uzman raporunun sonuçlarını konfirme etmiştir.

Buna karşın CUP öncesinde ve sırasına toplanan kanıtlar yüksek kan karotenoid düzeylerinin meme kanseri riskinde azalma ile ilişkili olduğunu göstermiştir. Ancak bu ilişki diyet karotenoidleri ile yapılan birçok çalışmada gözlenememiştir. Diyet ölçümündeki hatalardan kaynaklanma ihtimali olan bu çelişki diyet değerlendirme yöntemlerinin geliştirilebilmesi için daha fazla biyomarkera ihtiyaç olduğunu göstermektedir. Diğer taraftan diyetle az miktarda meyve ve sebze tüketen bireylerdeki kolorektal kanser ihtimalinin artabileceği CUP sonuçları tarafından desteklenmektedir. CUP lif tüketiminin kolorektal kanseri önlemedeki rolünü gösteren ikna edici veriler toplamış ve özetlemiştir.

EPIC çalışmasında yer alan bir popülasyonda WCRF/AICR önerilerine uyum skorunun belirlenmesi ile bu önerilere uymanın popülasyondaki kanser riskini azaltabileceği gösterilmiştir. Bitkisel gıdaların tüketimi ile ilgili önerilere uyum skorunun en önemli kanser tahmin öğesi olduğu bildirilmiştir.

Randomize kontrollü çalışmalar dizaynları gereği kanserin diyet modifikasyonları ile önlenip önlenemeyeceğini gösterebilmek için gereken neden sonuç ilişkisini inceleyen çalışmalardır. Ancak metodolojik problemler bu amaçla yapılabilecek randomize kontrollü çalışmaların yapılmasını sıklıkla uygulanabilir olmaktan çıkarmaktadır. Hayata geçirilebilmeleri için besin öğelerinin mevcudiyetini ölçecek biyomarkerlerin ve ara sonlanım noktalarının tanımlanması, spesifik besin öğeleri ile ilgili biyolojik yolakların ve mekanizmaların incelenmesinde önemli olabilir.

Diyet ve kanseri araştıran prospektif çalışmaların da diyet anketlerinin ölçüm hataları, valide biyomarkerlerin kısıtlı sayıları ve takip sürecinde tekrar değerlendirmelerin yapılmaması gibi kısıtlamaları mevcuttur. Ancak CUP tarafından gerçekleştirilen kapsamlı literatür analizleri ve daha önce yayınlanan makalelerde de görüldüğü gibi kanser riskinin gıda, nütrisyon, fiziksel aktivite ve obezite ile ilişkisi hakkındaki en önemli güncel veri kaynağı prospektif çalışmalardır.

Referanslar

1. Aune D, Chan DS, Greenwood DC, Vieira AR, Rosenblatt DA, Vieira R, Norat T (2012) Dietary fiber and breast cancer risk: a systematic review and meta-analysis of prospective studies. Ann Oncol 23:1394–1402
2. Aune D, Chan DS, Lau R, Vieira R, Greenwood DC, Kampman E, Norat T (2011) Dietary fibre, whole grains, and risk of colorectal cancer: systematic review and dose-response meta-analysis of prospective studies. BMJ 343:d6617. doi:10.1136/bmj.d6617.D6617
3. Aune D, Chan DS Vieira, AR, Navarro-Rosenblatt DA, Vieira R, Greenwood D, Norat T (2012) Dietary compared with blood concentrations of carotenoids and breast cancer risk: a systematic review and meta-analysis of prospective studies. Am J Clin Nutr 96:356
4. Aune D, Chan DS Vieira AR, Rosenblatt DA Vieira R, Greenwood DC, Norat T (2012) Fruits vegetables and breast cancer risk: a systematic review and meta-analysis of prospective studies. Breast Cancer Res Treat 134:479
5. Aune D, Lau R, Chan DS, Vieira R, Greenwood DC, Kampman E, Norat T (2011) Nonlinear reduction in risk for colorectal cancer by fruit and vegetable intake based on meta-analysis of prospective studies. Gastroenterology 141:106–118
6. Bagnardi V, Zambon A, Quatto P, Corrao G (2004) Flexible meta-regression functions for modeling aggregate dose-response data, with an application to alcohol and mortality. Am J Epidemiol 159:1077–1086
7. Bandera EV, Kushi LH, Moore DF, Gifkins DM, McCullough M (2007) Fruits and vegetables and endometrial cancer risk: a systematic literature review and meta-analysis. Nutr Cancer 58:6–21
8. Bekkering GE, Harris RJ, Thomas S, Mayer AM, Beynon R, Ness AR, Harbord RM, Bain C, Smith GD, Sterne JA (2008) How much of the data published in observational studies of the association between diet and prostate or bladder cancer is usable for meta-analysis? Am J Epidemiol 167:1017–1026
9. Bingham S, Luben R, Welch A, Low YL, Khaw KT, Wareham N, Day N (2008) Associations between dietary methods and biomarkers, and between fruits and vegetables and risk of ischaemic heart disease, in the EPIC Norfolk Cohort Study. Int J Epidemiol 37:978–987
10. Bingham S, Riboli E (2004) Diet and cancer—the European prospective investigation into cancer and nutrition. Nat Rev Cancer 4:206–215
11. Chan DS, Lau R, Aune D, Vieira R, Greenwood DC, Kampman E, Norat T (2011) Red and processed meat and colorectal cancer incidence: meta-analysis of prospective studies. PLoS ONE 6:e20456
12. Day NE, Wong MY, Bingham S, Khaw KT, Luben R, Michels KB, Welch A, Wareham NJ (2004) Correlated measurement error–implications for nutritional epidemiology. Int J Epidemiol 33:1373–1381
13. DerSimonian R, Laird N (1986) Meta-analysis in clinical trials. Control Clin Trials 7:177–188
14. Greenland S, Longnecker MP (1992) Methods for trend estimation from summarized dose-response data, with applications to meta-analysis. Am J Epidemiol 135:1301–1309

15. Guyatt GH, Sackett DL, Sinclair JC, Hayward R, Cook DJ, Cook RJ (1995) Users' guides to the medical literature. IX. A method for grading health care recommendations. Evidence-based medicine working group. JAMA 274:1800–1804
16. Harding AH, Wareham NJ, Bingham SA, Khaw K, Luben R, Welch A, Forouhi NG (2008) Plasma vitamin C level, fruit and vegetable consumption, and the risk of new-onset type 2 diabetes mellitus: the European prospective investigation of cancer–Norfolk prospective study. Arch Intern Med 168:1493–1499
17. Higgins JP, Thompson SG (2002) Quantifying heterogeneity in a meta-analysis. Stat Med 21:1539–1558
18. Jenab M, Riboli E, Ferrari P, Friesen M, Sabate J, Norat T, Slimani N, Tjonneland A, Olsen A, Overvad K, Boutron-Ruault MC, Clavel-Chapelon F, Boeing H, Schulz M, Linseisen J, Nagel G, Trichopoulou A, Naska A, Oikonomou E, Berrino F, Panico S, Palli D, Sacerdote C, Tumino R, Peeters PH, Numans ME, Bueno-de-Mesquita HB, Buchner FL, Lund E, Pera G, Chirlaque MD, Sanchez MJ, Arriola L, Barricarte A, Quiros JR, Johansson I, Johansson A, Berglund G, Bingham S, Khaw KT, Allen N, Key T, Carneiro F, Save V Del G.G, Plebani M, Kaaks R, Gonzalez CA (2006). Plasma and dietary carotenoid, retinol and tocopherol levels and the risk of gastric adenocarcinomas in the European prospective investigation into cancer and nutrition. Br J Cancer 95:406–415
19. Jenab M, Slimani N, Bictash M, Ferrari P, Bingham SA (2009) Biomarkers in nutritional epidemiology: applications, needs and new horizons. Hum Genet 125:507–525
20. Riboli E, Norat T (2003) Epidemiologic evidence of the protective effect of fruit and vegetables on cancer risk. Am J Clin Nutr 78:559S–569S
21. Romaguera D, Vergnaud AC, Peeters PH, Van Gils CH, Chan DS, Ferrari P, Romieu I, Jenab M, Slimani N, Clavel-Chapelon F, Fagherazzi G, Perquier F, Kaaks R, Teucher B, Boeing H, Von RA, Tjonneland A, Olsen A, Dahm CC, Overvad K, Quiros JR, Gonzalez CA, Sanchez MJ, Navarro C, Barricarte A, Dorronsoro M, Khaw KT, Wareham NJ, Crowe FL, Key TJ, Trichopoulou A, Lagiou P, Bamia C, Masala G, Vineis P, Tumino R, Sieri S, Panico S, May AM, Bueno-de-Mesquita HB, Buchner FL, Wirfalt E, Manjer J, Johansson I, Hallmans G, Skeie G, Benjaminsen BK, Parr CL, Riboli E, Norat T (2012) Is concordance with World Cancer Research Fund/American Institute for Cancer Research guidelines for cancer prevention related to subsequent risk of cancer? Results from the EPIC study. Am J Clin Nutr 96:150–163
22. Thompson R, Bandera E, Burley V, Cade J, Forman D, Freudenheim J, Greenwood D, Jacobs D, Kalliecharan R, Kushi L, McCullough M, Miles L, Moore D, Moreton J, Rastogi T, Wiseman M (2008) Reproducibility of systematic literature reviews on food, nutrition, physical activity and endometrial cancer. Public Health Nutr 11:1006–1014
23. Wiseman M (2008) The second World Cancer Research Fund/American Institute for Cancer Research expert report. Food, nutrition, physical activity, and the prevention of cancer: a global perspective. Proc Nutr Soc 67:253–256
24. World Cancer Research Fund/American Institute for Cancer Research (2007) Food, nutrition, physical activity and the prevention of cancer: a global perspective. AICR, Washington DC
25. World Cancer Research Fund/American Institute for Cancer Research (2009) Policy and action for cancer prevention food, nutrition and physical activity: a global perspective. AICR, Washington DC
26. Zhang X, Spiegelman D, Baglietto L, Bernstein L, Boggs DA, Van den Brandt PA, Buring JE, Gapstur SM, Giles GG, Giovannucci E, Goodman G, Hankinson SE, Helzlsouer KJ, Horn-Ross PL, Inoue M, Jung S, Khudyakov P, Larsson SC, Lof M, McCullough ML, Miller AB, Neuhouser ML, Palmer JR, Park Y, Robien K, Rohan TE, Ross JA, Schouten LJ, Shikany JM, Tsugane S, Visvanathan K, Weiderpass E, Wolk A, Willett WC, Zhang SM, Ziegler RG, Smith-Warner SA (2012) Carotenoid intakes and risk of breast cancer defined by estrogen receptor and progesterone receptor status: a pooled analysis of 18 prospective cohort studies. Am J Clin Nutr 95:713–725

İnsanda Prostat Kanseri Nedeni Olarak Diyet

William G. Nelson, Angelo M. DeMarzo ve Srinivasan Yegnasubramanian

Özet

Asemptomatik prostat enflamasyonu ve prostat kanseri gelişmiş dünyadaki erkeklerde epidemik boyutlara ulaşmıştır. Hayvan deneylerinde fazla pişirilmiş etlerdeki heterosiklik aminler gibi diyet kaynaklı karsinojenler, başta östrojen olmak üzere seks steroid hormonları prostat kanserine aday etyolojiler olarak gösterilmektedir. Herbiri kronik veya reküran bir hal alabilen enflamatuar cevabı tetikleyerek epitel hücre hasarına yol açmaktadır. Bu ortamda prostat kanserinin prekürsor lezyonlarının ilkini temsil eden bir tür fokal atrofi olan proliferatif enflamatuar atrofinin (PİA) gelişimi kolaylaşmaktadır. Yüksek c-Myc ekspresyonu, kısalmış telomer segmentleri, GSTP1 gibi bazı genlerin epigenetik olarak sessizleştirilmesi, π-sınıfı glutatyon S-transferazın kodlanması gibi prostatik intraepitelyal neoplazi (PİN) ve prostat kanserinin tüm özelliklerini taşıyan hücreler içeren PİA lezyonları nadir olarak görülür. Devamında görülen gen translokasyonları/silinmeleri gibi genetik değişimler androjenle regüle olan genlerle (örn. TMPRSS2) ETS ailesine ait transkripsiyon faktörlerini şifreleyen genler arasında (örn. ERG1) füzyon transkriptleri oluşturarak PİN lezyonlarının oluşumuna yol açarak prostatik adenokarsinom hücrelerinin invazif karakteristiğini artırabilirler. Letal prostat kanserleri belirgin olarak bozulmuş genomlar ve epigenomlar içerirler. Diyet karsinojenlerinin ve/veya östrojenlerin etkisiyle yüzlerce geni etkileyen ve klonal evrimleşmeyi metastatik yayılım yoluyla yöneten epigenetik "facianın" bir parçası olarak ortaya çıkan epigenetik sessizleştirme iltihaplı mikroçevreye bir cevap olarak ortaya çıkıyor görünmektedir. İlk epigene-

W. G. Nelson (✉) · A. M. DeMarzo · S. Yegnasubramanian
Departments of Oncology, Pathology, and Urology, Sidney Kimmel Comprehensive Cancer Center, Johns Hopkins University School of Medicine, Weinberg Bldg 1100, 1650 Orleans Street, Baltimore, MD 21231, USA
e-mail: bnelson@jhmi.edu

V. Zappia et al. (eds.), *Advances in Nutrition and Cancer,*
Cancer Treatment and Research 159, DOI: 10.1007/978-3-642-38007-5_4,
© Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2014

tik facianın nedeni belirlenememiş olmasına rağmen, muhtemelen aşırı DNA metilasyonu veya histon modifikasyonunun yol açtığı kromatin yapının korunmasında defektler içermektedir. Gelişmiş ülkelerdeki diyet karsinojenlerinin ve östrojenlerin indüklediği prokarsinojenik enflamasyon varlığında, diyetle ilgili komponentlerin prostat kanserini azaltabileceği ile ilgili spekülasyonlar caziptir. Özellikle domates ve turpgillerin kronik ve reküran enflamatuar prosesleri düzeltebilme potansiyellerini de içeren meyve ve sebze kullanımı bunlara örnek olarak verilebilir. Nütrisyonel ajanlar PIA lezyonlarının gelişimini önleyebilir veya PIA lezyonlarının epigenom bozulması ile oluşan genetik facia eğilimini azaltabilirler.

Anahtar Kelimeler

Prostat · Proliferatif enflamatuar atrofi · Heterosiklik aminler · Epigenetik · DNA metilasyonu

Kısaltmalar

PSA	Prostat spesifik antijen
BPH	Benign prostat hiperplazisi
PIA	Proliferatif enflamatuar atrofi
PIN	Prostatik intraepitelyal neoplazi
PhIP	Fenilimidazopiridin
GST	Glutatyon S-transferaz
TLRs	Toll benzeri reseptörler
COX	Siklooksijenaz
NSAİD	Nonsteroid antienflamatuar ilaç

İçindekiler

1 Proliferatif Enflamatuar Atrofi: Prostat Kanseri ile İlişkili Epitel Hasarı 53
2 Diyet: Prostat Epitel Hasarına ve PİA'ya yol Açabilen Karsinojen Kaynağı 55
3 Prostat Epitel Hasarına, Prostat Enflamasyonuna ve PİA'ya Yol Açabilen Diyet Dışı Faktörler 57
4 Enflamasyon, PİA ve Prostat Kanserinin Moleküler Patojenezi 59
5 Prostat Kanserini Önlemede Rasyonel Girişimler 61
6 Özet ve Sonuçlar 63
Referanslar 64

Prostat kanseri ABD ve Batı Avrupa'daki erkeklerde en sık teşhis edilen kanser türüdür. Geçmişte dünyanın geri kalan kısmında nadir görülen prostat kanseri, Asya ülkeleri ile diğer birçok gelişmekte olan ülkede artmaya başlamıştır. Diyet ve hayat tarzının yaş, aile

hikayesi, seks steroidleri gibi faktörlerle beraber prostatik karsinogenezisde rol oynadığı uzun süredir düşünülmektedir [57]. Ancak daha yakın zamanda yapılan moleküler patoloji çalışmaları, prostat kanseri gelişiminin erken basamaklarında kronik ve reküran epitel hücre hasarı ile birlikte seyreden kalıtsal ve adaptif enflamatuar cevapların sorumlu olduğunu düşündürmektedir [18]. Çok pişirilmiş etlerde oluşan heterosiklik aminler gibi bu tür bir hasara yol açabilen diyet komponentlerinin prostat kanseri karsinojeni olma ihtimalleri ağır basmaktadır. Bazı diyet komponentleri de hücre ve genom hasarını sınırlayarak ve/veya prostat enflamasyonunu azaltarak prostat kanserinden korunmaya yardımcı olabilirler. Diyet komponentleri, genetik yatkınlık ve seks steroidlerinin epitel hasarına yol açmaları ve/veya enflamatuar prosesleri yönlendirmelerinin altında yatan mekanizmaların daha iyi anlaşılması prostat kanserinden korunmada, kanser tarama stratejilerinin gelişmesinde ve belki de tedavi sonuçlarının iyileştirilmesinde yeni fırsatlar sunabilir.

1 Proliferatif Enflamatuar Atrofi: Prostat Kanseri ile İlişkili Epitel Hasarı

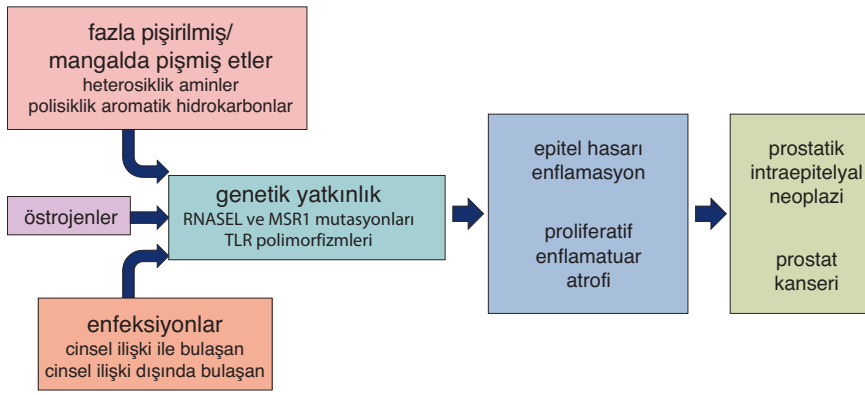
Dünyada prostat kanseri insidansının yüksek olduğu bölgelerde prostat enflamasyonu oldukça yaygın görülür [18]. Özellikle kanserin sık görüldüğü bölge olan periferik zonu etkileyen ve sıklıkla asemptomatik seyreden prostatitin serum prostatik antijeni (PSA) yükseltme özelliğinin olması nedeniyle prostat kanseri teşhisini yönlendirdiği (prostat kanserine yol açabilme eğiliminden bağımsız olarak) bilinmektedir. Enflamasyonlu prostatta, epitelin bariyer fonksiyonunun bozulması PSA gibi proteinleri de içeren prostat salgılarının geriye doğru akışına neden olur. Bu da salgıların prostat parankimine ve sonrasında da kan dolaşımına geçmesine yol açar. PSA'nın serumda tespiti prostat kanseri teşhisinde kullanılan prostat biyopsisini tetikler. Prostat enflamasyonu ABD'de her yıl gerçekleştirilen 30 milyon PSA testinden ve bir milyondan fazla biyopsiden sorumludur [36]. Bununla birlikte 40'lı yaşlar civarında serum PSA artışlarının görülmesi ilerleyen yaşlardaki prostat kanserinde artışla ilişkilidir [23, 24].

Prostat enflamasyonunun PSA düzeylerini artırma eğilimi popülasyon çalışmalarında prostatit ile prostat kanseri arasındaki ilişkinin test edilmesini büyük oranda zorlaştırmaktadır. Kanserle ilişkilendirme çalışmalarının sadece semptomatik prostatit ile sınırlandırılması da çok yardımcı olmamıştır. Semptomatik prostatit tipik olarak üretra yakınında benign prostat hiperplazisinin de (BPH) görüldüğü transizyon zonunda görülür. ABD'de her birinde PSA testi de uygulanan yıllık 2 milyon doktor başvurusuna yol açan irritatif idrar yapma problemleri yapar [50]. Sonuç olarak, epidemiyolojik çalışmalarda semptomatik prostatit ve prostat kanseri arasında tespit

edilen birçok korelasyonun, aslında prostatit hastalarına çok daha fazla biyopsi uygulanmasının yarattığı yanılgıdan (bias) kaynaklandığı düşünülmektedir [19]. Ayrıca semptomatik prostatit prostat kanserinin görüldüğü periferik zondaki enflamasyonu yansıtmadığı için, prostatitin prokarsinojenik enflamatuar prosesin zayıf bir göstergesi olduğu söylenebilir. Bu sınırlamaların üstesinden gelmek ve periferik zon enflamasyonunun prostat kanseri ile korele olup olmadığını anlayabilmek için serum PSA düzeyleri <3ng/ml olan asemptomatik hastalarda yapılan (finasterid ile) Prostat Kanseri Önleme Çalışmasının sonunda plasebo kullanan hastalardan alınan biyopsiler analiz edilmiştir [83]. Sonuçlarının yakın zamanda açıklanması beklenen çalışmanın prostattaki enflamasyonun kanser ile direkt olarak ilgili olup olmadığının kesin olarak anlaşılmasını sağlaması beklenmektedir.

Prostat enflamasyonunun en büyük nedeni diyet karsinojenleri, östrojenler ve enflamatuar oksidanların neden olduğu epitel hasarıdır [18]. Özellikle prostat kanseri olan prostat dokularının mikroskobik analizinde kronik olarak tekrarlanan doku hasarlarının ve yerleşik immün cevapların uzun süreli mevcudiyetleri ile ilgili kanıtlar bulunmuştur. Örneğin çok sayıda korpora amilasea, kalprotektin içeren mikroskobik lamine cisimler, miyeloperoksidaz ve nötrofil granüllerinden α-defensinler sıklıkla prostat bezi boyunca yaygın halde bulunurlar [71]. Bu cisimler akut enflamasyon sırasında nötrofil deşarjı ile oluşur ve enflamasyon hafifledikten sonra da kalırlar (kullanılmış mermi kovanları gibi). Sıçan prostat dokusunun prostat enflamasyonuna ve kanserine yatkın olması ve bol miktarda korpora amilasea içermesi de ilginçtir [32]. Prostat epiteli hasar gördüğünde dilate glandular lümenler ve immatür epitel hücreleri ile karakterize fokal atrofi lezyonları oluşur [16, 17]. Strese cevap olarak salgılanan α- ve π- sınıfı glutatyon S-transferazlar, siklooksijenaz-2 ve genom hasar savunması ve hücresel sağkalımla ilgili diğer medyatörlerin de indüklenmesi ile epitel hücreleri normal sekretuar hücre farklılaşma yolağı devre dışı kalmış gibi davranırlar [60, 86, 94]. Korpora amilasea ile çevrelenmiş fokal atrofik lezyonlar hücre ve organ hasarı olan prostat dokusunu işaretler ve prokarsinojenik bir ortam oluşur.

Prostattaki fokal atrofik tip hasar cevaplarından oluşan proliferatif enflamatuar atrofi (PİA) lezyonları (Şekil 1) enflamatuar hücrelerin çok yüksek epitel proliferasyonu ve infiltrasyon göstermeleri ile oluşur [67]. Epitel hasarına verilen cevabın tipi, diğer organlarda görülen atrofik gastrik, hepatit ve siroz gibi kanser oluşumuna yol açtığı bilinen bir dizi hastalıktaki cevapları andırır. PİA lezyonlarının prekürsor kanser lezyonları olarak prostatik intraepitelyal neoplaziye (PİN) ya da direkt olarak prostat kanserine yol açmaları şaşırtıcı değildir [64]. PİA gelişimine yol açan epitel hasarının prostat kanserini başlatabileceği yönündeki kanıtlar son dekadda artmıştır: (1) PİN ve prostat kanserinde görülenler ile tıpatıp aynı olan somatik genom ve epigenom defektlerinin bulunması, (2) PİA ve PİN ile PİA ve prostat kanseri arasında direkt morfolojik geçişlerin görülmesi, (3) PİN ve PİA lezyonlarındaki kanserde somatik genetik ve epigenetik değişimlerin sıklıkla gözlenmesi. Bunlar çoğunlukla normal ve neoplazi arasında bir derecededir, (4) prostat periferik zonundaki yüksek PİA lezyon prevalansının dünyada yüksek prostat kanseri



Şekil 1 Prostat kanserinin etyolojik faktörleri Prostat karsinogenezi, proliferatif enflamatuar atrofik lezyonlara yol açan prostat epitel hasarı, rejeneratif proliferasyon ve kronik/reküran enflamasyonu takip eder. c-Myc aktivasyonunun, telomer kısalmasının ve epigenetik aktivasyonun prostatik intraepitelyal neoplaziye ve prostat kanserine yol açabilme etkisi nedeniyle, bu lezyonlar, yeniden yapılanmış hedef genler, mutasyonlar ve ileri düzeyde bozulmuş epigenoma sahip hücrelerin oluşmasına neden olurlar.

riski olan bölgelerde görülmesi, (5) Diyet karsinojenlerini de içeren preklinik prostatik karsinogenez modellerinde kanserden önce PİA lezyonlarının ortaya çıktığının gösterilmiş olması [18].

Bozulmuş kalıtsal immün cevap ve doku hasarı cevabının takip ettiği prostat hasarı, diyetten prostat kanseri gelişimine kadar olan süreçleri de içeren ve çevresel maruziyetleri birbirine bağlayan bir yolak olabilir. Hem popüler çalışmalarda hem de moleküler patolojik analizlerde prostat enflamasyonu, PIA ve prostat kanseri arasındaki ilişki gayet nettir. Ancak diyet alışkanlıklarının ve diğer maruziyetlerin prostat kanseri oluşumuna yol açma mekanizmaları henüz tam olarak anlaşılamamıştır.

2 Diyet: Prostat Epitel Hasarına ve PİA'ya yol Açabilen Karsinojen Kaynağı

Prostat kanseri ile ilgili epidemiyoloji çalışmalarında diyetin prostat kanserini modüle eden majör bir faktör olduğu gösterilmiştir. Prostat kanseri insidansı ve mortalite çeşitli coğrafi bölgeler arasında farklılıklar gösterir. ABD ve Avrupa'da yüksek, Asya'da düşük prostat kanser riski mevcuttur. Ancak düşük riski bölgelerden yüksek riskli bölgelere göç edenlerdeki risk özellikler kültürel asimilasyonun etkisi ile tipik olarak artmaktadır [27, 73]. Bu durum muhtemelen diyet farklılıklarının yansımasıdır: Yüksek riskli bölgelerdeki diyet alışkanlıkları prostat kanseri riskini artırmakta ve/veya düşük riskli bölgelerdeki diyet alışkanlıkları bu riski azaltmaktadır. Detaylı incelemede prostat kanseri riskiyle kırmızı et ve/veya hayvan yağlarının tüketimi arasındaki ilişki, riski artıran

en tutarlı diyet faktörü olarak görünmektedir [26, 43]. Kırmızı etlerin yüksek ısılarda veya mangalda pişirilmesi ile aromatik amin ve polisiklik hidrokarbon yapısında karsinojenler oluşmaktadır [39, 44]. Bu pişirme alışkanlıkları prostat kanseri riskinde artış ile de ilişkili olup ABD'de yaşayan Afrika-Amerikalılardaki prostat kanseri gelişim riskinin beyazlara göre niçin daha fazla olduğunu da kısmen açıklayabilir [37, 82].

Bu karsinojenlerin en iyi araştırılmış olanı olan 2-amino-1-metil6-fenilimidazopiridin (PhIP), fazla pişirilen etlerde oluşabilen >20 heteroksiklik amin arasında en çok bulunanıdır [8, 85, 87]. Hayvan modellerinde PHIP alımının PİA ve prostat kanserine yol açtığı gösterilmiştir [74]. PhIP nontoksik ve nonmutajeniktir. Ancak aktivasyon sonrası ilk olarak karaciğerde veya diğer bölgelerde CYP1A1 veya CYP1A2 ile N-OH-PhIP'ye sonra da prostattaki epitel hücrelerinde sülfoniltransferaz veya kinaz fosfataz ile farklı reaktif türlere dönüşen PhIP, belirgin prostat epitel hasarı ve enflamatuar cevaplara yol açarak DNA ile promutajenik katım bileşikleri oluşturabilir [51]. Enflamatuar cevabın eşlik ettiği epitel hasarı sıçanlardaki PhIP prostat karsinogenezinin kritik bir özelliğidir. PhIP ile beslenen sıçanlardaki ventral, dorsolateral ve anterior prostat loblarında genom mutasyonları oluştuğu gösterilmiştir. Ancak epitel hücre hasarı, enflamasyon ve PİA sadece ventral loblarda oluşmaktadır [51]. Epidemiyolojik çalışmalarda kullanılan ve yemek hazırlama tercihleri ile ilgili sorular da içeren yemek yeme sıklığı anketleri ile kesin bir PhIP maruziyet tahmini yapmak zordur. Bu durum muhtemelen pişirme şekillerinin birçok heterosiklik amin oluşturmasından kaynaklanmaktadır. Ancak yine de sıklıkla et tüketen ve tam pişmiş, tavada kızartılmış veya ızgara olarak yemeyi tercih eden erkeklerdeki prostat kanseri riskinin artabileceği düşünülmektedir [15]. Daha güncel çalışmalarda ise P450 enzimleri, sülfoniltransferazlar ve UDP-glukuronid transferazları da içeren PhIP'leri metabolize eden enzimlerdeki germline varyantlarının çok pişirilmiş et tüketimine bağlı hasar ile ilişkili olabileceği gösterilmiştir. [40].

Et tüketiminin etkisi sadece prostat kanserinin başlangıç aşaması ile sınırlı olmayabilir. İnsandaki prostat kanserinin doğal gelişim süreci yıllar sürmektedir. ABD'de 20-30 yaşlarındaki bireylerde yapılan otopsi çalışmalarında bile küçük prostat kanserleri tespit edilebilmekte veya 60-70 yaşlarında lokalize kanser teşhisi koyulabilmektedir. Prostat kanserinden ölüm 70 yaş ve üstünde gerçekleşmektedir. Bu veri kronik PhIP alımının prostat kanseri patojenezini etkileyebilme potansiyeli için geniş bir fırsat penceresi sağlamaktadır. PhIP kullanılan sıçan modellerinde, karsinojen puberte esnasında kısa süreli uygulandıktan sonra aylar boyunca takip edilmiştir. PhIP'nin karsinogenezin sadece başlangıç ve erken evrelerinde etkili olduğu tespit edilmiştir [74]. Ancak insan prostat kanserinin patojenezinde en sık tespit edilen somatik gen defekti GSTP1'in epigenetik olarak sessizleştirilmesidir. Bu da π-sınıfı glutatyon S-transferaz (GST) ekspresyonunun kaybına yol açar. Bu fenotip PhIP'nin aracılığı ile gerçekleşen hücre ve genom hasarına belirgin olarak duyarlı olabilir [56]. İlk olarak PİA lezyonlarında görülen bu değişim prostat karsinom hücrelerinin metasatik diseminasyonu boyunca devam eder [52, 91]. Bu nedenle PhIP sadece PİA formasyonuna yol açan epitel hasarı yapmakla kalmayıp hücre ve genom hasarını birçok dekad boyunca destekleyerek malign prostat kanseri progresyonuna yol açabilir.

3 Prostat Epitel Hasarına, Prostat Enflamasyonuna ve PİA'ya Yol Açabilen Diyet Dışı Faktörler

Seks steroid hormonları, enfeksiyonlar ve kalıtsal faktörlerin prostat kanseri gelişiminde etkili oldukları düşünülmektedir. Testosteron ve dihidrotestosteron gibi android hormonlar ve androjen reseptörleri, prostat ve seminal vezikülleri de içeren aksesuar üreme glandlarının normal büyüme ve gelişimleri için gereklidir. Ancak androjenlerin tek başlarına prostat kanserine yol açtıklarını gösteren kanıtlar çok azdır. 21 yaşında en yüksek düzeye ulaşan androjen düzeyleri erişkin hayat boyunca düşmeye devam eder. Prostat kanseri de bu süreçte oluşur [66, 88]. ABD'deki Afrika-Amerikalı erkeklerde beyaz ırk ile benzer androjen düzeylerine karşın (yaşa göre düzeltilmiş) daha sık prostat kanseri görülür [66]. Ayrıca erişkin erkeklerde kolumnar epitelyal hücre fenotipinin terminal farklılaşması için androjen sinyali gerekir. Böylece PSA ve TMPRSS2 genlerinin transkripsiyon ve translasyonunun indüklenmesi ile ejakülattaki sekresyonların üretimi desteklenir. Androjenler bu etkileri ile epitel hücre proliferasyonunu baskılama eğilim gösterirler.

Androjen sinyalinin yerleşik prostat kanserlerinin progresyonunda önemli bir rol oynadığı kesindir. Bunun mekanizması androjenlerle regüle edilen TMPRSS2 gibi transkripsiyon genleri ve ETS transkripsiyon faktör ailesinden ERG ve ETV1 gibi onkojenlerden meydana gelen füzyon transkriptlerini oluşturan somatik genom translokasyonlarının ve silinmelerinin kazanımını kapsar [84]. Bu somatik gen defektlerine sahip olan prostat kanser hücreleri neoplastik fenotipin sürdürülebilmesi için gereken androjen sinyalini oluşturur. Bu durum ileri prostat kanserlerinin androjen deprivasyonuna veya antiandrojenlere sıklıkla verdiği cevapların mekanik temeli olabilir: Androjen sinyali ile etkileşim prostat kanser hücrelerindeki TMPRSS2-ERG veya diğer füzyon transkriplerinin düzeylerinde azalmaya yol açarak hücre büyümesini zayıflatır ve hücre sağkalımını sınırlar. Androjenlerin prostat kanserini başlatmaktan ziyade mevcut prostat kanserini etkiledikleri bilinmesine rağmen, yeni verilerde androjen hedef gen transkripsiyonunun başlatılmasının, DNA'daki düğümleri çözme yeteneği olan androjen reseptörü ile ilişkili TOP2B'nin TMPRSS2'deki sıklıkla translokasyonlar ve silinmeler ile ilişkili olan bölgelere yönlendirilmesi ile DNA çift sarmallarında kırılmalardan kaynaklanabileceğinin bildirilmesi dikkat çekicidir [28]. TMPRSS2-ERG füzyonlarına yol açan bu kırıkların PİA lezyonlarının oluşumundan sonra ortaya çıkmaları muhtemel olup, PİN hücrelerinin daha invazif karsinom hücreleri haline dönüşmelerini indükleme ihtimalleri mevcuttur. Topoizomerazlar sarmal geçişini sağlayabilmek amacıyla kırılma/tekrar birleşme reaksiyonlarını katalizleyerek DNA düğümlenmesini engellemektedirler. Bu enzimlerin tekrar birleşme reaksiyonlarını bozabilen ve rekombinojenik DNA çift sarmal kırıklarına yol açan birçok bileşiğe duyarlı oldukları bilinmektedir. Ancak diyet faktörlerinin, prostat kanseri patojenezinde TOP2B medyatörlüğünde oluşan DNA çift sarmal kırıklarından sorumlu olup olmadığı konusunda bilgi yoktur.

Östojenler androjenlerin aksine prostat epiteline hasar vererek prostat kanserinin erken evrelerinde rol oynayabilirler. Dünyadaki meme ve prostat kanserlerinin benzer dağılımı, östrojenlerin her iki hastalığa da neden olabileceği hipotezini doğurmuştur [14]. Kemirgen modelleri ile büyük oranda desteklenen bu hipotez östrojene maruziyetin hem prostat enflamasyonuna hem de prostat kanserine yol açabileceği öne sürülmektedir [59]. Erişkin erkek Wistar sıçanlarının 17ß-östradiole maruz bırakılmaları ile dihidrotestosteron uygulanıp uygulanmadığından bağımsız olarak prostat enflamasyonu gelişmesi örnek olarak verilebilir [55]. Neonatal dönemde östrojene maruz kalan erkek kemirgenler erişkinliğe ulaştıklarında prostatit görülmektedir [55, 75, 76]. Östrojenler kemirgen prostatında otoimmünite indüksiyonu ile enflamasyonu tetikleyebilirler. Çünkü 17ß-östradiol uygulanan erişkin erkek farelerden transer edilen adoptif T-hücreleri ile nonöstrojen uygulanan sıçanlarda prostatit indüklenebilir [69]. Östrojenlerin otoimmün prostat enflamasyonuna neden olma mekanizmaları henüz tam olarak anlaşılamamıştır. Ancak pitütier prolaktin sekresyonu, östrojenik hormonların prostattaki östrojen reseptör izoformları üzerinde farklı etkiler göstermeleri ve/veya östrojen redoks döngüsü ile reaktif oksijen türlerinin oluşumu gibi nedenleri kapsayabilir. Ayrıca erkeklerde büyük oranda yağ dokusundaki aromatazların androjenler üzerindeki etkisi sonucu oluşan östrojen düzeylerinin diyet alışkanlıkları ile ilişkisi henüz belirlenememiştir. Ancak, ABD'de daha yüksek prostat kanseri riski altındaki Afrika-Amerikalılardaki östrojen düzeylerinin beyaz ırka göre daha yüksek olma eğiliminde olduğu da dikkate alınmalıdır [66].

Prostat kanserine yol açan enfeksiyöz nedenlerin saptanması daha zordur. Prostat doku örneklerinde veya prostat sekresyonlarında birçok enfeksiyöz ajan tespit edilmiş olmasına rağmen, bunların hangilerinin gerçekten prostat hasarına yol açarak prostatın enflamatuar cevaplarını tetikledikleri henüz sistematik olarak tespit edilememiştir [70]. En iyi araştırılan enfeksiyonlar cinsel yolla bulaşanlardır. Gonore ve klamidya enfeksyonlarında prostattaki epitelyal bariyer fonksiyonunun bozulduğunu gösteren serum PSA düzeylerinin artışı vakaların en az %32'sinde mevcuttur [78]. Efektif antibiyotik tedavisi sonrasında, kronik epitel hasarı ve disfonksiyonunun göstergesi olan PSA düzeylerinin aylar boyunca yüksek seyretmesi dikkat çekicidir. Bu bulgu popülasyon çalışmalarında erken yaşta serum PSA yüksekliği ve/veya cinsel yolla bulaşan hastalık hikayesi olanlarda artan prostat kanseri riski ile uyumludur [23, 24, 79]. Bu durum kohort çalışmalarında prostat kanserinin enfeksiyöz etyolojilerinin araştırılmasını komplike hale getirmektedir. Prostat enfeksiyonu genç erkeklerde prostat epitel hasarı oluşturarak, yaşla birlikte kalıcı kolonizasyon olmaksızın PİA ve kronik prostat enflamasyonuna yol açabiliyorsa, hangi enfeksiyöz patojenin bu "vur ve kaç" fenomenine yol açtığını tespit etmek çok güçtür. Ancak kemirgen prostatlarına direkt bakteri veya virüs inokülasyonu ile belirgin enflamatuar cevaplar ve devamında prostat kanserinin prekürsor lezyonları tetiklenmektedir [21, 22].

Ayrıca prostat kanseri gelişimi ile ilgili kalıtsal yatkınlık yerleşik enflamatuar cevapların aktivasyonunu ve yoğunluğunu yönlendiren genlerin varlığı ile açıklanabilir. Bu genlerden ikisi olan RNASEL ve MSR1'in prostat kanseri ile ilişkili bazı ailesel kümelerden sorumlu olduğu düşünülmektedir [11, 90]. RNASEL viral enfeksiyon veya diğer hücre hasarına yol açan stresler ile aktive olan, interferon ile indüklenen RNA yıkım

yolağında rol alan bir ribonükleazı kodlar; MSR1 ise bakteryel liposakarid ve lipoteikoik asidi bağlayan makrofaj süpürücü bir reseptörün alt ünitelerini kodlar. Farelerde her iki proteinin fonksiyonlarının kaybı çeşitli enfeksiyonları tam olarak temizleyebilme yeteneğinin azalmasına yol açar [80, 86]. Popülasyon çalışmalarında prostat kanseri ile TLR ve TLR1-TLR6-TLR10 kümesi gibi toll benzeri reseptörleri kodlayan genlerin polimorfik varyantları arasında oldukça tutarlı ilişkiler tespit edilmiştir [77, 95]. Birçok patojen türünü ve/veya hasarlı hücre komponentlerini bağlayabilen TLR'ler, NF-jB sinyali ile etki göstererek güçlü kalıtsal immün cevapları desteklerler [12].

Diyet ile ilişkili etkilerin yokluğunda, östrojen ve enfeksiyonların PİA'ya yol açabilen prostat epitel hasarına neden oldukları gözlenmiş olsa da, bu süreçlerin her biri dünyada prostat kanseri riskinin yüksek olduğu bölgelerdeki diyet alışkanlıklarından etkilenmiş olabilir. Yağ dokusu fazla olan erkeklerdeki östrojen miktarının daha yüksek olma eğilimi vardır. Enfeksiyon veya enfeksiyonlara karşı kolonizasyon direnç kaynağı olan mikrobiyomlar, diyet alışkanlıklarına bağlı olarak büyük değişiklikler göstermektedirler. Diyet, östrojen ve enfeksiyonların prostat hasarına yol açma eğilimlerini etkileyerek prostat kanserini indirekt olarak destekleyebilir. Benzer şekilde diyetle alınan heterosiklik aminlerin yol açtıkları prostat hasarının derecesi de muhtemelen, konağın prostat enfeksiyonlarına verdiği cevabın yoğunluğunu regüle eden aynı genetik faktörler tarafından belirlenmektedir. RNASEL hem insan RNA'sını hem de viral RNA'yı degrade ederek apoptoza yol açabilir [89]. MSR1 serumdaki okside düşük dansiteli lipoproteinlerin temizlenmesine yardım eder [41]. TLR'ler hasarlı insan hücre komponentleri tarafından aktive edilir [12]. Bu nedenle, diyetin insandaki prostat kanserinin gelişimi üzerinde direkt ve indirekt etkilere sahip olması muhtemeldir.

4 Enflamasyon, PİA ve Prostat Kanserinin Moleküler Patojenezi

Hayatı tehdit eden prostat kanseri hücreleri 3866 mutasyon (20 sessiz olmayan gen kodlayan mutasyon), 108 yeniden yapılanma, 5408 DNA hipermetilasyon bölgesi, kısalmış telomer sekansları ve aktive olmuş c-Myc protein içerirler [7, 58, 92]. Somatik mutasyonların, prostatik karsinogenezi tetikleyen tek bir faktörü veya bir karsinojenin diğer bir karsinojene göre daha tutarlı bir genetik kod değişimine yol açtığını işaret etmemeleri ilginçtir. Bunun yerine gen tamir anormalliklerinden ve/veya promutajenik tedavilerin kullanımından etkilenen bireysel kanserlerdeki mutasyonların, zaman içinde akümüle oldukları düşünülmektedir. Daha tutarlı somatik defektler yukarıda tanımlanan translokasyonlardan kaynaklanır. Özellikle TMPRSS2-ERG gibi kanser genlerine tutunan androjen sinyal gen hedeflerini içeren ve androjen etkisine cevap olarak oluşan transkripsiyon hatalarının başlatılmasına yol açarak TOP2B ile ilişkili DNA çift sarmal kırıklarına yol açanlar önemlidir [28]. PİN lezyonlarında oluştuğu düşünülen somatik genom defektleri muhtemelen karsinomun invazif karakteristiğinden sorumludur. Prostat kanser hücrelerindeki tüm somatik değişimler arasında en tutarlısı ve en erken ortaya çıkanının epigenetik gen sessizleştirmesi, telomer kısalması ve c-Myc indüksiyonu olduğu düşünülmektedir [58].

Genleri regüle eden sekanslardaki DNA metilasyonunun artması ile ortaya çıkan gen sessizleştirilmesi insanda prostat kanserini başlatabilen bir olay olmaya adaydır. Örnek vermek gerekirse, p-sınıfı GST kodlayan ve oksidan ve karsinojenleri detoksifiye eden bir enzim olan GSTP1'in, PİA lezyonlarının %5-10'unda epigenetik olarak sessizleştirildiği bulunmuştur [9, 52, 58]. GSTP1'in sessizleştirilmesi, genin 50 regüle edici bölgesindeki yeni bir DNA hipermetilasyonuna atfedilmiştir [45]. DNA metilasyonu potansiyel olarak reversibl olduğu için DNA sekansı bozulmadan korunur; prostat kanserinin progresyonu sırasındaki GSTP1 inaktivasyonunun inatçı bir şekilde devam etmesi prostatik karsinogenezin selektif büyüme veya sağkalım avantajının öncül kanıtıdır. Bu selektif avantajın mekanizması henüz anlaşılmamıştır. GSTP1'in karsinogenez esnasındaki gen fonksiyonunun genel bir koruyucusu olduğu kesindir. GSTP1'siz insan prostat kanser hücreleri, hücre ve genom hasarına yol açan PhIP'yi daha kolay aktive ederken, bozulmuş Gstp 1/2 genleri taşıyan farelerde (normal farelere göre) topikal karsinojenlere yanıt olarak daha fazla cilt tümörü görüldüğü ve yoğun enflamasyon varlığında daha fazla intestinal tümör oluştuğu tespit edilmiştir [30, 65]. Pbc-Myc transgenlerini taşıyan ve prostat kanseri gelişen fareler seçilmiş fenotip için bir ipucu olabilir [33]. Ön veriler bu farelerdeki p-sınıfı GST fonksiyon kaybının hızlanmış prostat karsinogenezini tetiklediğini düşündürmektedir.

GSTP1 muhtemelen prostatik karsinogenez sırasında epigenetik olarak sessizleştirilen ve bazı proseslerle prostat enflamasyonu ve PİA ile ilişkilendirilen birçok genden birisidir [58]. Bu genlerin prostatın enflamasyonlu mikroortamındaki veya kanser gelişebilen diğer organlardaki epigenetik sessizleştirilmelerinin mekanizması şu ana kadar maalesef anlaşılamamıştır. Ancak yine de enflamasyon ve epigenetik sessizleştirmenin epitelyal karsinogenezin erken basamaklarına katkı yapan majör faktörler oldukları düşünülmektedir. Prostattaki PİA lezyonlarına ek olarak, enflamatuar barsak hastalığı, hepatit, gastrit ile ilgili net örnekler bu görüşü desteklemektedir [81]. Enflamasyonlu mikroçevre, epigenetik gen sessizleştirmeyi ve anormal DNA metilasyonunu desteklediği varsayılmaktadır. Bunu kromatin yapısının regülasyonunu etkileyerek, DNA metilasyon paterninin korunmasını bazı belirli gen bölgelerindeki aşırı metilasyonu desteklemek suretiyle engelleyerek veya hem kromatin yapısını hem de DNA metilasyonunun sürdürülmesini bozarak sağlamaktadır. İntestinal tümörijenezi araştıran bir fare modelinde enflamasyonlu dokulardaki 250 gen lokusunda yeni DNA metilasyon değişimleri tespit edilmiştir. Bu genlerin %70'inin represyona yol açan polikomb kompleksler tarafından hedef alındığı bilinmektedir [29]. Bu gözlem polikomb kompleks represyonunun, proneoplastik enflamasyon varlığında yeni DNA metilasyon değişimlerinde rol oynayan faktörlerden biri olduğunu düşündürmektedir. Bu tür bir mekanizmadaki DNA metilasyonu polikomb kompleks represyonunu, epigenetik gen sessizleştirmesini sürdürebilmek için bir şekilde sağlamlaştırır. Tamamlayıcı olduğu düşünülen bir mekanizmada rol oynayan enflamatuar sitokin interlökin 1b'nin DNA metiltransferazın aşırı aktivasyonuna yol açan nitrik oksit üretimini destekleyerek belirli bazı hücrelerde gen sessizleştirilmesini tetiklediği bulunmuştur [31]. Prostattaki PİA lezyonlarındaki epigenetik faciayı yöneten mekanizmalar net olarak anlaşılamamıştır. GSTP1'in ekspresyonu, stres yanıtı oluşturan diğer genlerle birlikte PİA lezyonlarında yüksek derecede indüklenme

eğilimindedir. Sadece az sayıda PİA hücresinde GSTP1 ekspresyonu ve yeni metilasyon görülmez [52]. Bu nedenle transkripsiyonal transaktivasyona rağmen epigenetik sessizleştirme ve DNA metilasyonu oluşmak zorundadır.

DNA metilasyonuna ek olarak ortaya çıkan telomer kısalması ve cMyc proteininin aşırı ekspresyonu, insan prostat karsinogenezine sıklıkla eşlik ederler [33, 49]. Telomeraz enzimindeki 50-TTAGGG-30 sekansının ~2000 tekrarını içeren özel yapılar olan kromozom telomerleri, replikasyon sırasında DNA sarmal sentezindeki gecikmelere bağlı DNA sekans kaybını ve uygun olmayan rekombinasyonları azaltma görevi yaparlar [48]. Telomeraz enziminin veya bir tür telomer sekans hasarının kritik bir göstergesi olan kısa telomerler PİN lezyonlarının ve prostat kanser hücrelerinin özelliğidir [49]. Kısa telomer sekanslarının aynı zamanda hepatit ve enflamatuar barsak hastalığı ile de ilgili olabileceği akılda tutulmalıdır [2, 38]. Enflamasyon bölgelerindeki oksidanların prostattaki telomerlere hasar verebilme ve kısaltabilmeleri de mümkündür. İnsan prostat kanser hücrelerinde de yaygın olarak rastlanan c-Myc ekspresyonu farelerdeki prostat tümörijenezini de yönlendirebilir: Fare prostatındaki forse cMyc ekspresyonu ile nükleer ve nükleolar boyutları artmış, farklılaşması bozulmuş ve prostata spesifik homeodomain transkripsiyon faktörü ve tümör supresörü olan Nkx3.1'in ekspresyonu azalmış neoplastik hücrelerin oluştuğu tespit edilmiştir [33]. c-Myc'nin aşırı ekspresyonunun, telomer kısalması gibi enflamatuar ortamdan etkilenme ihtimali vardır. Defektif Apc geni taşıyan fareler intestinal mikrofloradaki TLR ligandlarına maruz kaldıkları için c-Myc fosforilasyonu ve stabilizasyonu ile karakterize tümörijenezise eğilimlidirler [42].

Doku ve hücre hasarına cevap olarak oluşan PİA lezyonları, enflamatuar lezyonların indüklenmesi ve diyet karsinojenlerine ve östrojenlerine maruz kalma sonucu prostat kanserine dönüşebilir. PİA lezyonlarında en erken stereotipik moleküler olaylar olan epigenetik gen sessizleştirilmesi, telomer kısalması ve c-Myc aktivasyonu görülür. Ancak bu moleküler olaylara yol açan kesin mekanizmalar tam olarak açıklanamamıştır. Her biri farklı bir nedenden kaynaklanabilir ya da diyet karsinojenleri veya enflamatuar cevap gibi hasar verici olaylardan en azından kısmen etkilenebilirler. Prostat karsinogenezi bu yolla bir çok organdaki maruziyete bağlı kanser gelişimine benzer bir seyir gösterebilir.

5 Prostat Kanserini Önlemede Rasyonel Girişimler

Gelişmiş ülkelerdeki prostat kanseri epidemisi kronik prostat enflamasyonuna yol açabilen diyet karsinojenlerine ve/veya östrojenlere maruziyet ile açıklanabilir. Prostat kanserinin önlenmesindeki rasyonel yaklaşım şunları içermelidir: (1) Maruziyetlerin engellenmesi, (2) Karsinojenler tarafından oluşturulan prostat hücre ve doku hasarının hafifletilmesi, ve/veya (3) Prostattaki enflamasyonun yoğunluk ve süresinin azaltılması. Bu yaklaşımları destekleyen epidemiyolojik ve klinik çalışma verilerinin ortaya çıkıyor olması sürpriz değildir.

Diyette bulunan heterosiklik aminlere maruziyetin azaltılması sadece bireylerin aşırı pişmiş et tüketmeme yönünde eğitilmesinden değil, aynı zamanda yemek pişirme şe-

killerinin toplum bazında modifiye edilmesinden de geçmektedir. Buharda ve mikrodalgada pişirme ve marine etme yöntemlerinin, daha az heterosiklik amin oluşumunda yağda kızartma, mangal ve kızartma yağının tekrar kullanımı gibi yöntemlerden daha faydalı olduğu bilinmektedir [85]. Uygun önlemlerle birlikte, pişmiş olarak satılan gıdalardaki heterosiklik amin içeriğinin ölçülmesi restoran ve marketlerin daha güvenli pişirme şekillerine yönelmelerini sağlayabilir. Bu ortam sağlanana kadar, fazla pişirilmiş etlerin devam eden tüketimine rağmen, karsinojenlere bağlı prostat hasarının azaltılması mümkün olabilir. PhIP gibi heterosiklik amin yapısındaki karsinojenlerin hücre ve genom hasarını tetikleyebilmeleri için metabolizma tarafından aktive edilmeleri gerektiği için, karsinogenezin azaltımı için biyoaktivasyonun engellenmesi cazip bir strateji olabilir. Keap1-Nrf2 yolağını aktive eden faz 2 metabolik enzim ekspresyonu indükleyicilerinden zengin diyetler hayvan modellerindeki karsinojen hasarı genel olarak azaltırlar. Ayrıca epidemiyolojik çalışmalarda insan prostat kanseri riskini de azaltırlar [1, 13, 20]. İzotiosiyanat sulforafan gibi en fazla faz 2 metabolik enzim indükleyici içeren gıdalar turpgillerden brokoli, brüksel lahanası, karnıbahar ve diğerleridir. İnsan gönüllülerde yapılan bir çalışmada pişmiş et yemeği tüketimine cevap olarak oluşan PhIP'nin DNA'ya eklenmesinin turpgiller tarafından engellendiği bildirilmiştir [88]. Östrojene maruziyetin azaltılması daha zordur. Östrojenler yağ dokusunda aromataz ve androjenlerin etkisi ile üretilir. Bu ABD ve diğer gelişmiş ülkelerdeki artan obezite epidemisi göz önüne alındığında endişe verici bir gelişmedir. Afrika-Amerikalı erkeklerdeki östrojen düzeylerinin (androjen düzeyleri benzerdir) beyaz erkeklerden daha yüksek olması nedeniyle prostat kanseri riski daha yüksektir [66]. Obezitenin kontrol altına alınması muhtemelen prostat kanseri riskinde azalmaya yol açacaktır.

Prostat kanserini önlemede kullanılan antienflamatuar yaklaşımlardan farklı sonuçlar alınmıştır. Kronik ve reküran enflamasyon, hücre ve doku hasarına yol açabilen reaktif oksijen ve nitrojen türlerinin oluşmasına neden olabilir [3, 34]. Bu nedenle diyetle alınan antioksidan ve antienflamatuar ajanların (PİA lezyonları oluşmuş olsa bile) prostat hücrelerini süregelen hasardan koruyabilmesi mümkündür. Örneğin Asya'da daha sık ve bol miktarda tüketilen soya gibi diyet komponentlerinin prostatla ilgili antienflamatuar etkileri olması mümkündür; soyadan zengin diyetlerin sıçan modellerindeki prostat enflamasyonunu azalttığı gösterilmiştir [72]. Ayrıca gelişmiş ülkelerdeki kohortlara odaklanan prostat kanser epidemiyolojisi çalışmalarında, vitamin E, selenyum, domatesteki likopenler gibi bir dizi antioksidan mikrobesinin yetersiz alımının prostat kanseri riskinde artışa yol açmasının kuvvetle muhtemel olduğunu bildirilmektedir [10, 25, 93]. Ancak yakın zamanda yapılan SELECT çalışmasında (Selenyum ve Vitamin E Kanser Önleme Araştırması) sadece selenyumun (risk oranı (HR) 1.04; %99 güven aralığı; 0.87–1.24) veya sadece E vitamininin (risk oranı (HR) 1.13; %99 güven aralığı; 0.95–1.35) ya da her ikisinin kombinasyonunun (risk oranı (HR) 1.05; %99 güven aralığı; 0.88–1.25) prostat kanseri insidansını azaltmadığı gösterilmiştir [46]. Bu çalışmanın halen antioksidan tüketimi yetersiz (ya da yeterli) olan erkeklerde yapılıp yapılmadığı belirtilmemiştir.

Diyet ve antienflamatuar ilaçlar prostat kanseri riskini azaltmakta farklı bir strateji sunabilirler [6]. Aspirini de içeren siklooksijenaz (COX) inhibitörleri ve nonsteroid an-

tienflamatuar ilaçlar (NSAİD'ler) insanlardaki bir çok kanserin insidansında ve mortalitesinde azalma ile ilişkilidir [5]. Bu ilaçlar nadir de olsa gastrointestinal kanama ve kardiyovasküler olaylara yol açtıkları için kanserin önlenmesinde ne yazık ki yaygın olarak kullanılmazlar. Bu ilaçların prostat kanserine karşı koruma amaçlı kullanılmaları birçok probleme neden olmuştur. Selekoksib ve rofekoksibi de içeren selektif COX-2 inhibitörleri ile (kemirgen prostat kanseri modellerinde ümit verici olmakla beraber) şu ana kadar yapılan insan çalışmalarında özel bir etki tespit edilememiştir [4, 53, 54]. İnsan ve kemirgenler arasındaki farklardan birisi, insanlardaki COX-2'yi kodlayan PTGS2'nin hemen tüm prostat kanserlerinde genetik olarak sessizleştirilmiş olması olabilir. Bu durum kemirgenler için geçerli değildir [91, 94]. COX inhibitörlerinin prostat kanseri riskinin azaltılmasındaki etkinliği ile ilgili veriler zayıf olmasına rağmen, düzenli aspirin kullanımı ile prostat kanseri arasında tutarlı bir ters korelasyon tespit edilmiştir [35, 47, 61]. Bu potansiyel faydanın aspirinin nonselektif COX inhibisyonundan mı yoksa diğer antienflamatuar etkilerinden mi kaynaklandığı henüz çözülememiştir. Antienflamatuar etkilerde gösterebilen statinlerin prostat kanseri riskindeki azalma ile ilişkili bulunmuş olması da henüz tam olarak açıklanamamıştır [62, 63].

6 Özet ve Sonuçlar

Diyetteki karsinojenlere veya aşırı östrojen miktarına ya da her ikisine de cevap olarak ortaya çıkan prostat epitel hasarı gelişmiş ülkelerdeki prostat karsinogenezinin epidemik düzeye ulaşmasına katkı yapmaktadır. Bu patojenez mekanizmanın PİN ve prostat kanserinin öncü lezyonu olan PİA'nın oluşumunda devreye girdiği bulunmuştur. PİA lezyonlarındaki hücrelerin süregelen enflamatuar streslere rağmen prostat epitelini rejenere etmeye çalışırlar. Bu hücrelerin GSTP1'in sessizleştirilmesi, yeni DNA metilasyonu, telomer kısalması ve c-Myc aktivasyonunu ile tespit edilen epigenom hasarından muzdarip oldukları düşünülmektedir. Bu hücrelerdeki androjen sinyali, prostat kanseri farklılaşma genlerinin lokuslarındaki TOP2B bağlanma bölgelerinde androjen tutulumu ile aktive olur. Bu da malign prostat kanser progresyonunu indükleyen TMPRSS2-ERG gibi gen transkript füzyonlarının oluşumuna yol açar. Toplum bazındaki diyet alışkanlıklarına odaklanarak pişirme yöntemlerinin değiştirilmesi ile karsinojen üretimi kısıtlanabilir. Turpgillerin tüketimlerinin artırılması ile karsinojen biyoaktivasyonu, antienflamatuar ve antioksidan mikrobesinlerin tüketimlerinin artırılması ile de prostat enflamasyonu azaltılarak prostat kanserinin toplumsal yükünün azaltılmasına katkı yapılabilir.

Referanslar

1. Ahn YH, Hwang Y, Liu H et al (2010) Electrophilic tuning of the chemoprotective natural product sulforaphane. Proc Natl Acad Sci USA 107:9590–9595

2. Aikata H, Takaishi H, Kawakami Y et al (2000) Telomere reduction in human liver tissues with age and chronic inflammation. Exp Cell Res 256:578–582
3. Ames BN, Gold LS, Willett WC (1995) The causes and prevention of cancer. Proc Natl Acad Sci USA 92:5258–5265
4. Antonarakis ES, Heath EI, Walczak JR et al (2009) Phase II, randomized, placebo-controlled trial of neoadjuvant celecoxib in men with clinically localized prostate cancer: evaluation of drug-specific biomarkers. J Clin Oncol 27:4986–4993
5. Bardia A, Ebbert JO, Vierkant RA et al (2007) Association of aspirin and nonaspirin nonsteroidal anti-inflammatory drugs with cancer incidence and mortality. J Natl Cancer Inst 99:881–889
6. Bardia A, Platz EA, Yegnasubramanian S et al (2009) Anti-inflammatory drugs, antioxidants, and prostate cancer prevention. Curr Opin Pharmacol 9:419–426
7. Berger MF, Lawrence MS, Demichelis F et al (2011) The genomic complexity of primary human prostate cancer. Nature 470:214–220
8. Bordas M, Moyano E, Puignou L et al (2004) Formation and stability of heterocyclic amines in a meat flavour model system. Effect of temperature, time and precursors. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci 802:11–17
9. Brooks JD, Weinstein M, Lin X et al (1998) CG island methylation changes near the *GSTP1* gene in prostatic intraepithelial neoplasia (PIN). Cancer Epid Biom Prev 7:531–536
10. Brooks JD, Metter EJ, Chan DW et al (2001) Plasma selenium level before diagnosis and the risk of prostate cancer development. J Urol 166:2034–2038
11. Carpten J, Nupponen N, Isaacs S et al (2002) Germline mutations in the ribonuclease L gene in families showing linkage with HPC1. Nat Genet 30:181–184
12. Caruso C, Balistreri CR, Candore G et al (2009) Polymorphisms of pro-inflammatory genes and prostate cancer risk: a pharmacogenomic approach. Cancer Immunol Immunother 58:1919–1933
13. Cohen JH, Kristal AR, Stanford JL (2000) Fruit and vegetable intakes and prostate cancer risk. J Natl Cancer Inst 92:61–68
14. Coffey DS (2001) Similarities of prostate and breast cancer: evolution, diet, and estrogens. Urology 57:31–38
15. Cross AJ, Peters U, Kirsh VA et al (2005) A prospective study of meat and meat mutagens and prostate cancer risk. Cancer Res 65:11779–11784
16. De Marzo AM, Marchi VL, Epstein JI et al (1999) Proliferative inflammatory atrophy of the prostate: implications for prostatic carcinogenesis. Am J Pathol 155:1985–1992
17. De Marzo AM, Platz EA, Epstein JI et al (2006) A working group classification of focal prostate atrophy lesions. Am J Surg Pathol 30:1281–1291
18. De Marzo AM, Platz EA, Sutcliffe S et al (2007) Inflammation in prostate carcinogenesis. Nat Rev Cancer 7:256–269
19. Dennis LK, Lynch CF, Torner JC (2002) Epidemiologic association between prostatitis and prostate cancer. Urology 60:78–83
20. Dinkova-Kostova AT, Talalay P (2008) Direct and indirect antioxidant properties of inducers of cytoprotective proteins. Mol Nutr Food Res 52(Suppl 1):S128–S138
21. Elkahwaji JE, Zhong W, Hopkins WJ et al (2007) Chronic bacterial infection and inflammation incite reactive hyperplasia in a mouse model of chronic prostatitis. Prostate 67:14–21
22. Elkahwaji JE, Hauke RJ, Brawner CM (2009) Chronic bacterial inflammation induces prostatic intraepithelial neoplasia in mouse prostate. Br J Cancer 101:1740–1748
23. Fang J, Metter EJ, Landis P et al (2001) Low levels of prostate-specific antigen predict long-term risk of prostate cancer: results from the Baltimore longitudinal study of aging. Urology 58:411–416
24. Gann PH, Hennekens CH, Stampfer MJ (1995) A prospective evaluation of plasma prostate-specific antigen for detection of prostatic cancer. JAMA 273:289–294

25. Gann PH, Ma J, Giovannucci E et al (1999) Lower prostate cancer risk in men with elevated plasma lycopene levels: results of a prospective analysis. Cancer Res 59:1225–1230
26. Giovannucci E, Rimm EB, Colditz GA et al (1993) A prospective study of dietary fat and risk of prostate cancer [see comments]. J Natl Cancer Inst 85:1571–1579
27. Haenszel W, Kurihara M (1968) Studies of Japanese migrants. I. Mortality from cancer and other diseases among Japanese in the United States. J Natl Cancer Inst 40:43–68
28. Haffner MC, Aryee MJ, Toubaji A et al (2010) Androgen-induced TOP2B-mediated double-strand breaks and prostate cancer gene rearrangements. Nat Genet 42:668–675
29. Hahn MA, Hahn T, Lee DH et al (2008) Methylation of polycomb target genes in intestinal cancer is mediated by inflammation. Cancer Res 68:10280–10289
30. Henderson CJ, Smith AG, Ure J et al (1998) Increased skin tumorigenesis in mice lacking pi class glutathione S- transferases. Proc Natl Acad Sci USA 95:5275–5280
31. Hmadcha A, Bedoya FJ, Sobrino F et al (1999) Methylation-dependent gene silencing induced by interleukin 1beta via nitric oxide production. J Exp Med 190:1595–1604
32. Isaacs JT (1984) The aging ACI/Seg versus Copenhagen male rat as a model system for the study of prostatic carcinogenesis. Cancer Res 44:5785–5796
33. Iwata T, Schultz D, Hicks J et al (2010) MYC overexpression induces prostatic intraepithelial neoplasia and loss of Nkx3.1 in mouse luminal epithelial cells. PLoS ONE 5:e9427
34. Jackson AL, Loeb LA (2001) The contribution of endogenous sources of DNA damage to the multiple mutations in cancer. Mutat Res 477:7–21
35. Jacobs EJ, Rodriguez C, Mondul AM et al (2005) A large cohort study of aspirin and other nonsteroidal anti-inflammatory drugs and prostate cancer incidence. J Natl Cancer Inst 97:975–980
36. Jemal A, Siegel R, Ward E, Hao Y, Xu J, Thun MJ (2009) Cancer statistics, 2009. CA Cancer J Clin 59:225–249
37. Kidd LC, Stillwell WG, Yu MC et al (1999) Urinary excretion of 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine (PhIP) in White, African–American, and Asian–American men in Los Angeles county. Cancer Epidemiol Biomarkers Prevent 8:439–445
38. Kinouchi Y, Hiwatashi N, Chida M et al (1998) Telomere shortening in the colonic mucosa of patients with ulcerative colitis. J Gastroenterol 33:343–348
39. Knize MG, Salmon CP, Mehta SS et al (1997) Analysis of cooked muscle meats for heterocyclic aromatic amine carcinogens. Mutat Res 376:129–134
40. Koutros S, Berndt SI, Sinha R et al (2009) Xenobiotic metabolizing gene variants, dietary heterocyclic amine intake, and risk of prostate cancer. Cancer Res 69:1877–1884
41. Krieger M, Herz J (1994) Structures and functions of multiligand lipoprotein receptors: macrophage scavenger receptors and LDL receptor-related protein (LRP). Annu Rev Biochem 63:601–637
42. Lee SH, Hu LL, Gonzalez-Navajas J et al (2010) ERK activation drives intestinal tumorigenesis in Apc(min/+) mice. Nat Med 16:665–670
43. Le Marchand L, Kolonel LN, Wilkens LR et al (1994) Animal fat consumption and prostate cancer: a prospective study in Hawaii. Epidemiology 5:276–282
44. Lijinsky W, Shubik P (1964) Benzo(a)pyrene and other polynuclear hydrocarbons in charcoal-broiled meat. Science 145:53–55
45. Lin X, Tascilar M, Lee W-H et al (2001) *GSTP1* CpG island hypermethylation is responsible for the absence of GSTP1 expression in human prostate cancer cells. Am J Pathol 159:1815–1826
46. Lippman SM, Klein EA, Goodman PJ et al (2009) Effect of selenium and vitamin E on risk of prostate cancer and other cancers: the selenium and vitamin E cancer prevention trial (SELECT). JAMA 301:39–51
47. Mahmud S, Franco E, Aprikian A (2004) Prostate cancer and use of nonsteroidal anti-inflammatory drugs: systematic review and meta-analysis. Br J Cancer 90:93–99
48. Maser RS, DePinho RA (2002) Connecting chromosomes, crisis, and cancer. Science 297:565–569

49. Meeker AK, Hicks JL, Platz EA et al (2002) Telomere shortening is an early somatic DNA alteration in human prostate tumorigenesis. Cancer Res 62:6405–6409
50. Murphy AB, Macejko A, Taylor A et al (2009) Chronic prostatitis: management strategies. Drugs 69:71–84
51. Nakai Y, Nelson WG, De Marzo AM (2007) The dietary charred meat carcinogen 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine acts as both a tumor initiator and promoter in the rat ventral prostate. Cancer Res 67:1378–1384
52. Nakayama M, Bennett CJ, Hicks JL et al (2003) Hypermethylation of the human glutathione S-transferase-pi gene (GSTP1) CpG island is present in a subset of proliferative inflammatory atrophy lesions but not in normal or hyperplastic epithelium of the prostate: a detailed study using laser-capture microdissection. Am J Pathol 163:923–933
53. Narayanan BA, Condon MS, Bosland MC et al (2003) Suppression of N-methyl-N-nitrosourea/testosterone-induced rat prostate cancer growth by celecoxib: effects on cyclooxygenase-2, cell cycle regulation, and apoptosis mechanism(s). Clin Cancer Res 9:3503–3513
54. Narayanan BA, Narayanan NK, Pittman B et al (2004) Regression of mouse prostatic intraepithelial neoplasia by nonsteroidal anti-inflammatory drugs in the transgenic adenocarcinoma mouse prostate model. Clin Cancer Res 10:7727–7737
55. Naslund MJ, Strandberg JD, Coffey DS (1988) The role of androgens and estrogens in the pathogenesis of experimental nonbacterial prostatitis. J Urol 140:1049–1053
56. Nelson CP, Kidd LC, Sauvageot J et al (2001) Protection against 2-hydroxyamino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5- b]pyridine cytotoxicity and DNA adduct formation in human prostate by glutathione S-transferase P1. Cancer Res 61:103–109
57. Nelson WG, De Marzo AM, Isaacs WB (2003) Prostate cancer. N Engl J Med 349:366–381
58. Nelson WG, De Marzo AM, Yegnasubramanian S (2009) Epigenetic alterations in human prostate cancers. Endocrinology 150:3991–4002
59. Palapattu GS, Sutcliffe S, Bastian PJ et al (2005) Prostate carcinogenesis and inflammation: emerging insights. Carcinogenesis 26:1170–1181
60. Parsons JK, Nelson CP, Gage WR et al (2001) GSTA1 expression in normal, preneoplastic, and neoplastic human prostate tissue. Prostate 49:30–37
61. Platz EA, Rohrmann S, Pearson JD et al (2005) Nonsteroidal anti-inflammatory drugs and risk of prostate cancer in the Baltimore longitudinal study of aging. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 14:390–396
62. Platz EA, Leitzmann MF, Visvanathan K et al (2006) Statin drugs and risk of advanced prostate cancer. J Natl Cancer Inst 98:1819–1825
63. Platz EA, Till C, Goodman PJ et al (2009) Men with low serum cholesterol have a lower risk of high-grade prostate cancer in the placebo arm of the prostate cancer prevention trial. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 18:2807–2813
64. Putzi MJ, De Marzo AM (2000) Morphologic transitions between proliferative inflammatory atrophy and high-grade prostatic intraepithelial neoplasia. Urology 56:828–832
65. Ritchie KJ, Walsh S, Sansom OJ et al (2009) Markedly enhanced colon tumorigenesis in ApcMin mice lacking glutathione S-transferase Pi. Proc Natl Acad Sci USA 106:20859–20864
66. Rohrmann S, Nelson WG, Rifai N et al (2007) Serum estrogen, but not testosterone, levels differ between black and white men in a nationally representative sample of Americans. J Clin Endocrinol Metab 92:2519–2525
67. Ruska KM, Sauvageot J, Epstein JI (1998) Histology and cellular kinetics of prostatic atrophy. Am J Surg Pathol 22:1073–1077
68. Sakr WA, Grignon DJ, Crissman JD et al (1994) High grade prostatic intraepithelial neoplasia (HGPIN) and prostatic adenocarcinoma between the ages of 20–69: an autopsy study of 249 cases. In Vivo 8:439–443
69. Seethalakshmi L, Bala RS, Malhotra RK et al (1996) 17 beta-estradiol induced prostatitis in the rat is an autoimmune disease. J Urol 156:1838–1842

70. Sfanos KS, Sauvageot J, Fedor HL et al (2008) A molecular analysis of prokaryotic and viral DNA sequences in prostate tissue from patients with prostate cancer indicates the presence of multiple and diverse microorganisms. Prostate 68:306–320
71. Sfanos KS, Wilson BA, De Marzo AM et al (2009) Acute inflammatory proteins constitute the organic matrix of prostatic corpora amylacea and calculi in men with prostate cancer. Proc Natl Acad Sci USA 106:3443–3448
72. Sharma OP, Adlercreutz H, Strandberg JD et al (1992) Soy of dietary source plays a preventive role against the pathogenesis of prostatitis in rats. J Steroid Biochem Mol Biol 43:557–564
73. Shimizu H, Ross RK, Bernstein L et al (1991) Cancers of the prostate and breast among Japanese and white immigrants in Los Angeles County. Br J Cancer 63:963–966
74. Shirai T, Sano M, Tamano S et al (1997) The prostate: a target for carcinogenicity of 2-amino-1-methyl-6- phenylimidazo[4,5-b]pyridine (PhIP) derived from cooked foods. Cancer Res 57:195–198
75. Stoker TE, Robinette CL, Britt BH et al (1999) Prepubertal exposure to compounds that increase prolactin secretion in the male rat: effects on the adult prostate. Biol Reprod 61:1636–1643
76. Stoker TE, Robinette CL, Cooper RL (1999) Perinatal exposure to estrogenic compounds and the subsequent effects on the prostate of the adult rat: evaluation of inflammation in the ventral and lateral lobes. Reprod Toxicol 13:463–472
77. Sun J, Wiklund F, Zheng SL et al (2005) Sequence variants in Toll-like receptor gene cluster (TLR6-TLR1-TLR10) and prostate cancer risk. J Natl Cancer Inst 97:525–532
78. Sutcliffe S, Zenilman JM, Ghanem KG et al (2006) Sexually transmitted infections and prostatic inflammation/cell damage as measured by serum prostate specific antigen concentration. J Urol 175:1937–1942
79. Sutcliffe S, Platz EA (2008) Inflammation and prostate cancer: a focus on infections. Curr Urol Rep 9:243–249
80. Suzuki H, Kurihara Y, Takeya M et al (1997) A role for macrophage scavenger receptors in atherosclerosis and susceptibility to infection. Nature 386:292–296
81. Suzuki H, Toyota M, Kondo Y et al (2009) Inflammation-related aberrant patterns of DNA methylation: detection and role in epigenetic deregulation of cancer cell transcriptome. Methods Mol Biol 512:55–69
82. Tang D, Liu JJ, Bock CH et al (2007) Racial differences in clinical and pathological associations with PhIP-DNA adducts in prostate. Int J Cancer 121:1319–1324
83. Thompson IM, Goodman PJ, Tangen CM et al (2003) The influence of finasteride on the development of prostate cancer. N Engl J Med 349:215–224
84. Tomlins SA, Rhodes DR, Perner S et al (2005) Recurrent fusion of TMPRSS2 and ETS transcription factor genes in prostate cancer. Science 310:644–648
85. Turesky RJ (2007) Formation and biochemistry of carcinogenic heterocyclic aromatic amines in cooked meats. Toxicol Lett 168:219–227
86. van Leenders GJ, Gage WR, Hicks JL et al (2003) Intermediate cells in human prostate epithelium are enriched in proliferative inflammatory atrophy. Am J Pathol 162:1529–1537
87. Wakabayashi K, Ushiyama H, Takahashi M et al (1993) Exposure to heterocyclic amines. Environ Health Perspect 99:129–134
88. Walters DG, Young PJ, Agus C et al (2004) Cruciferous vegetable consumption alters the metabolism of the dietary carcinogen 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine (PhIP) in humans. Carcinogenesis 25:1659–1669
89. Xiang Y, Wang Z, Murakami J et al (2003) Effects of RNase L mutations associated with prostate cancer on apoptosis induced by 2′, 5′-oligoadenylates. Cancer Res 63:6795–6801
90. Xu J, Zheng SL, Komiya A et al (2002) Germline mutations and sequence variants of the macrophage scavenger receptor 1 gene are associated with prostate cancer risk. Nat Genet 32:321–325

91. Yegnasubramanian S, Kowalski J, Gonzalgo ML et al (2004) Hypermethylation of CpG islands in primary and metastatic human prostate cancer. Cancer Res 64:1975–1986
92. Yegnasubramanian S, Wu Z, Haffner MC et al (2011) Chromosome-wide mapping of DNA methylation patterns in normal and malignant prostate cells reveals pervasive methylation of gene-associated and conserved intergenic sequences. BMC Genomics 12:213
93. Yoshizawa K, Willett WC, Morris SJ et al (1998) Study of prediagnostic selenium level in toenails and the risk of advanced prostate cancer. J Natl Cancer Inst 90:1219–1224
94. Zha S, Gage WR, Sauvageot J et al (2001) Cyclooxygenase-2 is up-regulated in proliferative inflammatory atrophy of the prostate, but not in prostate carcinoma. Cancer Res 61:8617–8623
95. Zheng SL, Augustsson-Balter K, Chang B et al (2004) Sequence variants of toll-like receptor 4 are associated with prostate cancer risk: results from the cancer prostate in Sweden study. Cancer Res 64:2918–2922
96. Zhou A, Paranjape J, Brown TL et al (1997) Interferon action and apoptosis are defective in mice devoid of 2′,5′- oligoadenylate-dependent RNase L. EMBO J 16:6355–6363

Akdeniz Diyet Paterni ve Kronik Hastalıklar

Salvatore Panico, Amalia Mattiello, Camilla Panico ve Paolo Chiodini

Özet

Akdeniz tipi beslenme ile ekonomik olarak gelişmiş ülkelerde tipik olarak görülen hastalıkların ilişkisinin araştırılması nütrisyonel epidemiyolojinin başlangıç noktası olarak kabul edilir. 1950'lerde yapılan Yedi Ülke Çalışmasından günümüzdeki EPIC kolaborasyonuna kadar kardiyovasküler hastalık ve kanser gibi diyetten etkilenen hastalıkların komponentlerinin değerlendirilmesi esas olarak Akdeniz diyet alışkanlıklarını oluşturan gıda ve besin öğelerinin analizine dayanıyordu. Bu uzun araştırma geçmişi zaman içinde tek besin öğesi/gıda gruplarının veya daha kompleks diyet paternlerinin analizlerinin sonucunda tutarlı verilerin ortaya çıkmasına neden oldu: Akdeniz tipi beslenme kardiyovasküler hastalıklar ve birçok kanser türünden koruyucu özelliğe sahiptir. İtalya 1950'lerden başlamak üzere kardiyovasküler hastalıklarla başlayan ve majör kanserlerle devam eden araştırmaların doğal merkezi olmuştur. İtalyan toplumunun sağlıksız alışkanlıkların globalizasyonu nedeniyle (daha zengin diyet ve daha düşük fiziksel aktivite) hayat tarzında oluşan istenmeyen değişikliklere rağmen, Akdeniz diyet tarzını izleyenler hala anlamlı oranda koruma altındadırlar. EPIC çalışmasındaki İtalyan kohortlarında yer alan 50.000 kişiden elde edilen güncel veriler bu bulguları onaylar nitelikte olup diğer Avrupa toplumları ve bazı durumlarda da Kuzey Amerika toplumlarının verileri ile

S. Panico (✉) · A. Mattiello
Department of Clinical and Experimental Medicine, Federico II University, Naples, Italy
e-mail: spanico@unina.it

C. Panico
School of Medicine, Federico II University, Naples, Italy

P. Chiodini
Medical Statistics Unit, Department of Public, Clinical and Preventive Medicine,
Second University, Naples, Italy

V. Zappia et al. (eds.), *Advances in Nutrition and Cancer,*
Cancer Treatment and Research 159, DOI: 10.1007/978-3-642-38007-5_5,
© Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2014

de uyum içindedir. Ayrıca çeşitli çalışmalar bu tür bir diyetin kronik hastalıklardaki metabolik risk durumunu düzelttiğini hastalıkların ortaya çıkmasını engellediğini göstermiştir. Sonuç olarak Akdeniz diyet paternlerinden esinlenen beslenme şekilleri sadece kronik hastalık epidemilerine karşı koruyucu olmayıp aynı zamanda lezzetli seçeneklerdir.

Anahtar Kelimeler

Akdeniz diyeti • Kronik hastalık • Nütrisyonel epidemiyoloji

Kısaltmalar

EPIC Avrupa Kanser ve Nütrisyon Araştırması

İçindekiler

1 Avrupa'da Son Birkaç Dekaddaki Diyet Alışkanlıkları 71
2 Keys Diyet- Kalp Hipotezi 71
3 Sadece Basit Bir Diyet Yağ ve Lipid Problemi mi? 72
4 Diyet Göstergeleri: Gıda, Besin Öğeleri ve Kronik Hastalıkların Etyolojisini Araştıran Çalışmaların Paternleri 73
5 Akdeniz Skorları ve Kronik Hastalıklar 74
6 Akdeniz Diyet Paternleri ve İtalya'daki Güncel Popülasyon Çalışmalarındaki Kronik Hastalıklar 75
7 Son Yorumlar 77
Referanslar 78

Yemek kültürü her uygarlığın önemli bir özelliğidir; tarihsel kimliği çeşitli popülasyonların günlük yaşamlarından gelişmiştir. Avrasya insan gelişim konsepti çerçevesinde Akdeniz havzası içinde üç önemli gıda (şarap, zeytin yağı ve ekmek) kültürün temel unsurları olmuş ve bu miras Santral-Kuzey Avrupa yemek kültürleri (et, domuz yağı ve tereyağı) ile karışana kadar korunmuştur [40]. Yüzyıllar boyunca süregelen kültürel gıda değişimine rağmen Avrupa'daki farklılıklar ortadan kalkmamıştır. Globalize Avrupa'da bile tipik Akdeniz diyetini uygulayan bireyleri belirleyen spesifik gıda markerları mevcuttur.

Tablo 1 EPIC çalışmasında yer alan 4 ülkede en sık tüketilen diyet komponentleri

Almanya	Tereyağı, işlenmiş etler, meyve suları
İngiltere	Çay, kekler, alkolsüz içkiler, süt, tereyağı
Yunanistan	Bitkisel yağlar, baklagiller ve sebzeler, balık
İtalya	Bitkisel yağlar, tahıllar ve tahıl ürünleri, meyve

1 Avrupa'da Son Birkaç Dekaddaki Diyet Alışkanlıkları

Yirminci yüzyıl Avrupa istatistiklerinden 1950'ler ve 1960'larda dünyadaki en uzun yaşam beklentisine Yunanlıların (özellikle Girit halkı) sahip olduğunu biliyoruz. Yunanlıları Güney İtalya, İspanya ve Fransa halkları takip etmekteydi [61]. Ancel Keys ve çalışma arkadaşları 1950'lerden itibaren koroner kalp hastalığının Santral ve Kuzey Avrupa ile Kuzey Amerika'ya göre çok daha az görüldüğü Akdeniz havzasındaki toplumların diyetleri hakkında araştırma yapmaya başlamışlardır. O zaman tespit edilen Akdeniz diyeti yüksek miktarda tahıl, sebze, kuru fasulye, zeytin yağı, sarımsak, taze baharatlar, deniz ürünleri, meyve ile ölçülü miktarda şarap içeriyordu. Et ve kümes hayvanları tüketimi de ölçülüydü. Kümes hayvanları kırmızı ete göre daha fazla tüketiliyordu. Tereyağı, krema ve domuz yağını içeren hayvan yağları diyette yer almıyordu [10]. Akdeniz bölgesi ile diğer bölgeler arasındaki gıda tüketim farklarının çarpıcı bir şekilde azalmasına yol açan diyet alışkanlıklarının tüm Avrupa'da değişmiş olmasına rağmen, EPIC çalışması bazı spesifik özellikleri belirleyebilmiştir (Tablo 1). Bu özellikler belirli bazı Avrupa popülasyonlarının tipik gıda tüketim alışkanlıklarını göstermektedir [53].

Avrupa'da yürütülen nütrisyon ile kronik hastalıkları inceleyen majör çalışma olan EPIC, kanser ve kardiyovasküler hastalıklar ile ilgili özgün bir bilimsel kaynaktır. Çoğunluğu 35-69 yaşları arasında olan 370.000 kadın ve 150.000 erkekten oluşan EPIC kohortunun kayıtları 1992 ile 1998 yılları arasında 10 Avrupa ülkesindeki 23 merkezde yapılmıştır (Danimarka, Fransa, Almanya, Yunanistan, İtalya, Norveç, İspanya, İsveç, Hollanda ve İngiltere). Başlangıç anketleri mevcut diyet alışkanlıkları hakkında detaylı sorular içeriyordu. Ayrıca ölçüm hatalarına engel olabilmek amacıyla tüm kohortu temsil eden örnek bir grupta ek diyet araştırması da yapılmıştır [47, 48].

2 Keys Diyet-Kalp Hipotezi

Ancel Keys 2. Dünya Savaşı sırasında ABD ordusunda görev yaparken, ABD ile Akdeniz bölgesinde yaşayan İtalyan ve Yunanlılar arasındaki miyokard enfarktüsü oranlarında farklılıklar olduğunu gözlemlemişti. Popülasyon düzeyinde derinlemesine

araştırma yapma inisiyatifini alan Keys, "zengin" diyetin (Akdeniz dışındaki ülkelerin tipik diyeti), daha yüksek plazma kolesterol düzeylerine ve sinsi koroner kalp hastalığı eğilimine yol açabilme ihtimalini inceledi: Sonuç gerçek bir dönüm noktasıydı. Çalışmasını tartışmak amacıyla 1954 yılında İtalya'nın Napoli kentinde farklı ülkelerden seçkin araştırmacıların katıldığı bir toplantı düzenledi [34]. Amaç diyet-kalp konseptini farklı popülasyonlarda karşılaştıracak bir araştırmanın organize edilmesiydi. Bu toplantı Finlandiya, Yunanistan, İtalya, Japonya, Hollanda, ABD ve Yugoslavya'dan popülasyon örnekleri ile gerçekleştirilen "Yedi Ülke Çalışmasının" başlangıcı olmuştu. Çalışmanın amacı hastalığın gelecek yıllardaki gelişim sıklığını araştırmaktı. 50 yıldan uzun süren analizlerin yapıldığı çalışmadan elde edilen veriler hala değerlidir. Diyet-kalp konsepti Yedi Ülke Çalışmasının sonuçları ile net olarak konfirme edilmişti [32, 33]. Popülasyonlar arası analizlerde 10 yıllık koroner mortalitenin diyetle alınan ortalama doymuş yağ asidi miktarıyla anlamlı olarak ilişkili olduğu bulunmuştu. Serum kolesterol düzeyleri için de benzer sonuçlar bulunmuştu. Ortalama örnek kolesterol seviyesi arttıkça koroner mortalite oranı da artmaktaydı. Ayrıca diyetle alınan doymuş yağ asitlerinin serum kolesterol düzeyleri ile yakından ilişkili olduğu da bulunmuştu. Üç yönlü ilişkiye dayanan temel konsept şu gözlemler tarafından kuvvetle desteklenmiştir: Bulunan kanıtlar diyetle alınan lipid miktarının serum kolesterolünü, serum kolesterolünün ise kalp hastalığını belirlediğini göstermiştir. Keys ve çalışma arkadaşlarının yaptığı dönüm noktası oluşturan çeşitli (metabolik koğuş) besleme çalışmalarının sonuçları, geliştirdikleri kritik öneme sahip (izokalorik koşullarda diyet lipidlerindeki değişimlerin serum total kolesterolündeki değişim ile ilişkisi hakkındaki) denklemin alt yapısını oluşturan verileri sağlamıştır: ATC=1.35 (2 ΔSFA- ΔPFA) +1.5 ΔCHOL 1/2. ATC serum kolesterolündeki değişimi, ΔSFA ve ΔFPA sırasıyla satüre ve poliansatüre yağ asitlerinin total diyet kalorisi içindeki yüzdesinin değişimini, ΔCHOL de diyet kolesterolündeki değişimi (mg/1000 kcal) göstermektedir. Nütrisyon araştırmalarında sürekli olarak kullanılmakta olan bu denklem araştırmacılar arasında "Keys denklemi" olarak bilinmektedir [20, 31]. Keys grubunun yaptığı diğer tarihi (metabolik koğuş) çalışmalarında "Batı" diyetindeki kalori dengesinin kan kolesterolünü etkilediği, kilo alımının serum kolesterolünü artırdığı, obez hastalardaki kilo kaybının serum kolesterolünü azalttığı ve diyetteki suda çözünebilen liflerin serum kolesterolünü azalttığı gösterilmiştir [7, 30]. 1970 yılından önce yapılan tüm bu bilimsel katkılar zaman içinde dünya genelindeki araştırmacıların çalışmalarında tekrarlanmıştır. Bu katkılar toplum düzeyinde epidemik kardiyovasküler hastalıktan korunmanın temelini oluşturan majör koroner risk faktörlerinin tanımlanmasında kritik öneme sahiptir [25]. Bu önemli çalışma Akdeniz diyetinin kardiyovasküler hastalıklardan koruyan standart diyet haline gelmesine katkı yapmıştır.

3 Sadece Basit Bir Diyet Yağ ve Lipid Problemi mi?

Koroner kalp hastalığının az veya çok görüldüğü toplumlar arasındaki diyetle alınan lipid ve kan kolesterolü düzeylerinin farklılığı ile ilgili bariz kanıtlar, kardiyovasküler hastalıkların etyolojisi ile ilgili çalışmalar üzerinde tarihi bir etki yapmıştır: Yıllar boyunca diyet komponentlerinin bütünsel olarak değerlendirilmesi bir şekilde ihmal edilmiştir.

1980'lerde İtalya'da (tüm ülkeden seçilen randomize örneklerle) yapılan toplum tabanlı bir çalışmanın diyet ve kardiyometabolik risk faktörleri ile ilgili ilk sonuçları Akdeniz tipi diyetin koruyucu etkisini açıklamanın karmaşıklığını ortaya koymuştur. Daha fazla "aterojenik" gıda tüketimi ile serum kolesterol ve kan basıncı arasında bulunan ilişkiye ek olarak daha yüksek kan glukoz düzeyleri ile de ilişkili bulunmuştur [55]. Yaygın olarak zeytin yağı tüketen bireylerin yaygın olarak tereyağı tüketenlerle karşılaştırmasında da kan glukoz düzeyleri ile ilişkili sonuçlar bulunmuştur [56]. Akdeniz bölgesinde yaşayanlarla Kuzey Avrupa ve Avustralya'da yaşayan bireylerin karşılaştırıldığı kültürler arası bir çalışmada, diyetteki monoansatüre yağ asitlerinin satüre yağ asitleri ile değiştirilmesinin insülin sensitivitesini bozduğu tespit edilmiştir [60].

Bu çalışmaların sonuçları diyet ve kardiyovasküler hastalıkla ilişkili diğer metabolik yolakların önemini ortaya koymuştur; diyet komponentlerinin kardiyovasküler hastalıkları sadece lipid metabolizması yoluyla değil karbonhidratlar yoluyla da etkilediği ortaya koyulmuştur. Bir çok metabolik çalışma kardiyovasküler hastalık etyolojisi ile ilişkili bu gözlemleri konfirme etmiştir. Ayrıca karbonhidrat metabolizmasının birçok kanser türünün etyoloji ve patojenezindeki önemini gösteren bazı güncel çalışmalar, özellikle insülinin büyüme faktörleri üzerindeki proliferatif etkiyi regüle edici etkisine odaklanmaktadır. Bu gözlemler diyetin kardiyovasküler hastalılar ve kanser gibi kronik hastalıklardan koruyucu etkilerinin anlaşılabilmesi için daha kompleks bir yaklaşım gerektiğini ortaya koymaktadır.

4 Diyet Göstergeleri: Gıda, Besin Öğeleri ve Kronik Hastalıkların Etyolojisini Araştıran Çalışmaların Paternleri

Nütrisyonel epidemiyoloji ile ilgili geleneksel analizlerde bir veya az sayıda besin öğesi ve gıdanın hastalıklarla ilgileri araştırılmaktadır. Bu yaklaşımla elde edilen önemli miktarda kanıta rağmen bazı kavramsal ve metodolojik kısıtlamaları olduğu da göz önünde bulundurulmalıdır. İnsanlar izole besin öğeleri tüketmezler. Yemekler interaktif ve sinerjistik olabilen farklı besin öğelerinin kompleks kombinasyonlarından oluşurlar [41]. Bu nedenle tek besin öğesinin değerlendirilmesi doğru olmayabilir. Ancak çok sayıda besin öğesi veya gıda ile yapılan analizlerde istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunma ihtimali de şansa bağlı bir durumdur [15]. Aynı zamanda bazı besin öğelerinin birbirleri ile yüksek oranda ilişkili olması etkilerinin ayrı ayrı incelenmesini çok zorlaştırmakta-

dır; bu durum besin öğelerinin aynı modelde kullanılması ile bağımsız varyasyon oranlarının azalmasına bağlıdır [36].

Bir diyet paterninde yer alan multipl besin öğelerinin kümülatif etkileri yeterince büyük olduğu için muhtemelen tespit edilebilirken, tek bir besin öğesinin etkisi çok küçük olduğu için fark edilemeyebilir [50]. Bazı önemli diyet girişim çalışmaları ile ilgili literatürleri incelediğimizde, kan basıncı düşürme çalışmalarında görüldüğü gibi tek bir besin öğesi yerine diyet paternlerini değiştirmenin daha efektif olabileceğini gözlemledik [8].

Sonuç olarak belirli besin öğelerinin tüketimi genel olarak belirli diyet tipleri ile ilişkili oldukları için [27, 46], besin öğelerinin tek olarak analizleri diyet paternlerinden etkilenerek sonuçlarda karışıklık meydana gelebilir. Düşük diyet yağı; meyve, sebze, fiber, folat ve tam tahıl tüketimi ile ilişkili ise, bu durum her birinin bağımsız olarak koroner kalp hastalığı riskini azaltmasından kaynaklanıyor olabilir. Bu da diyet yağı ve koroner hastalık arasındaki ilişki değerlendirildiğinde potansiyel karışıklığa yol açabilecekleri anlamına gelir [59]. Diyet komponentleri arasındaki etkileşim nedeniyle oluşan karmaşanın ortadan kaldırılması zor olduğu için bu durumun istatistiksel analizle kontrol edilmeye çalışılması da başarısızlıkla sonuçlanabilir. Bu durumu çözmenin bir yolu gıda ve besin öğelerinin kombinasyonlar halinde nasıl tüketildiğini değerlendirmek amacıyla genel diyet paterninin kullanılmasıdır [2, 13, 21, 23, 24, 26, 28, 57]. Diyet paternleri kullanılarak yapılan analizlerde, paternler yemek yeme alışkanlıklarına göre belirlendiği için gıda ve besin öğeleri arasındaki eş bağlantıların kullanılması avantajlı olabilir [22].

5 Akdeniz Skorları ve Kronik Hastalıklar

Önceki paragrafta vurgulandığı üzere diyet paternlerinin belirlenebilmesi amacıyla kompleks bir indeksin kullanılması bireylerin yemek yeme kategorilerine göre gruplanabilmesini sağladığı için diyet alışkanlıkları daha iyi karakterize edilebilir. Bilimsel literatürde diyet patern göstergeleri ile ilgili farklı örnekler mevcuttur; bu makalede Akdeniz paterninin göstergeleri ve kronik hastalıklara odaklanacağız.

Yedi Ülke Çalışmasının araştırıcıları diyetlerin sağlığa uygunluk derecesini incelemek için geliştirdikleri Akdeniz Uygunluk İndeksini (MAİ) 1960 yılında pilot çalışma bölgesi olarak seçilen Güney İtalya'nın kırsal kesimindeki Nicotera'da test ettiler [4, 5, 17].

Yedi Ülke Çalışmasının 25 yıllık takibinde MAİ ile koroner kalp hastalığına bağlı mortalite arasında güçlü ters orantılı ilişki tespit edilmiştir [18]. Yedi Ülke Çalışmasındaki iki kırsal İtalyan kohortundaki sağlıklı Akdeniz diyet paterni 20. ve 40. yıllardaki kardiyovasküler olay gelişimini azaltmıştır [39].

MEDSCORE'u (Yunan diyetinin komponentlerini baz alan Akdeniz uygunluk indeksi) geliştiren araştırmacılar yaşlı bir Yunan kohortundaki sağkalımın Akdeniz-Yunan diyetine uyum sağlandığı oranda arttığını bulmuşlardır [57]. Yunan indeksinin modifiye bir versiyonu (m-MEDSCORE) EPIC çalışmasındaki çeşitli analizlerde kul-

lanılmaktadır. Modifikasyon Santral ve Kuzey Avrupa toplumlarının diyet özellikleri dikkate alınarak yapılmıştır. Ancak indeksin Akdeniz tipi diyete uyumun derecesini ölçebilme yeteneği korunmuştur. Yüksek m-MEDSCORE değerlerinin Avrupa ülkelerindeki yaşam sürelerine pozitif katkı yapmada tekli besin öğelerinden daha önemli olduğu bulunmuştur [58]. Skorun İspanyol EPIC kohortunda kullanımı ile başlangıçta sağlıklı olan orta yaşlı bireylerdeki fatal ve nonfatal kardiyovasküler hastalık insidansı ile Akdeniz diyetine uyum arasında ters orantılı ilişki tespit edilmiştir [37].

EPIC Çalışması m-MEDSCORE ile ölçülen Akdeniz diyetine uyum derecesi ile tüm kanser tipleri arasındaki ilişki ile ilgili önemli bir kanıt sağlamıştır: Skor ne kadar yükselirse kanser riski o kadar azalmıştır [11]. m-MEDSCORE'un Asya-Amerikalı kadınlardan oluşan kohorta uygulanması ile Akdeniz diyetine yüksek uyumun meme kanserine karşı koruyucu etkisi olduğu tespit edilmiştir [63]. Ayrıca m-MEDSCORE kullanılan popülasyonlarda diyet ve kognitif bozulma ilişkisi hakkında güncel kanıtlar mevcuttur: Yüksek indeks skorlarının manyetik rezonans kullanılarak ölçümlenen beyaz maddede görülen bozulmaları da azalttığı bulunmuştur [19].

EPIC çalışmasının Avrupa kohortlarında m-MEDSCORE skoru ile metabolik sendrom gibi yüksek insülin rezistansı ile karakterize rahatsızlıkları da kapsayan bazı metabolik özelliklerin ilişkisi analiz edilmiştir. Yüksek m-MEDSCORE düzeylerinin zaman içinde bel çevresinde daha az artış görülmesi ile ilişkili olduğunun bulunmuş olması [49], Akdeniz popülasyonlarında son yıllarda görülen kilo artışının [16, 42], yüksek enerji alımından (gıdanın kalitesinde değil miktarındaki artış) kaynaklandığının ve bazı diyet alışkanlıklarının değişerek Batı tarzı diyete yaklaştığının [35] ve Akdeniz avantajını azalttığının [45] göstergesidir. Ayrıca daha düşük metabolik sendrom prevalansı da azalmış endometrial [12], kolorektal [6] ve meme kanseri [1] riski ile ilişkili bulunmuştur. Bu bulgu Akdeniz diyetinin bu kanser türlerinin riskleri üzerindeki etkisini indirekt olarak konfirme edebilir. Güncel metaanalizlerde Akdeniz diyeti ile metabolik sendrom komponentlerinin düşük yağlı diyete göre [43], anlamlı olarak azaldığı ve Akdeniz diyeti ile beslenenlerde daha az metabolik sendrom görüldüğü yönünde ikna edici kanıtlar mevcuttur [29].

6 Akdeniz Diyet Paternleri ve İtalya'daki Güncel Popülasyon Çalışmalarındaki Kronik Hastalıklar

İtalya'daki en büyük ölçekli kronik hastalık etyoloji araştırması (başlıca kanser ve kardiyovasküler hastalıklar ile ilgili) EPIC çalışmasının İtalyan kohortunda sürdürülmektedir. İtalya'daki beş merkezde 1993-1998 yılları arasında 47.749 gönüllü (15.171 erkek; 32.578 kadın) kaydedilmiştir: Kuzey İtalya'da iki merkez (Varese, n=12.083; Turin, n=10.604), Orta İtalya'da bir merkez (Floransa, n=13.597), ve Güney İtalya'da iki merkez (Ragusa, n=6403; Napolis, n=5062) mevcuttur. Tüm maruziyet değişkenleri ile kanser insidansını ve mortaliteyi belirlemekte kullanılan tüm prosedürler Avrupa Araştırmasında olduğu

Tablo 2 İtalyan Akdeniz İndeksi: Skoru oluşturan komponentler

Yüksek oranda tüketim ile pozitif skor	Makarna
Yüksek oranda tüketim ile pozitif skor	Tipik Akdeniz sebzeleri (örn. çiğ ya da pişmiş yeşil yapraklı sebzeler, çiğ domates, soğan ve sarımsak, lahana ve kök bitkiler dışındaki diğer tüm sebzeler)
	Meyve
	Bakliyat
	Zeytin yağı
	Balık
Az miktarda tüketim ile pozitif skor	Alkolsüz
	Tereyağ
	Kırmızı et
	Patates

WCRF/AICR Sürekli Güncelleme Projesi 2011, http://www.wcrf.org/cancer_research/cup/colorectal_cancer.php

gibi belirlenmiştir [48]. Diyet lokal yeme alışkanlıklarını tespit etmeyi amaçlayan semi-kantitatif yeme sıklığı anketleri ile değerlendirilmiştir [44]. EPICOR, EPIC İtalya'nın kardiyovasküler hastalıklarla ilgili bölümüdür. Koroner ve serebrovasküler olayların insidanslarının belirlenmesinde spesifik olarak valide edilen prosedürler dizayn edilmiş ve uygulanmıştır [2, 9, 14, 51].

Diyet paternlerinin kronik hastalıklardaki rolünü değerlendirebilmek amacıyla İtalyan Akdeniz Diyet İndeksi geliştirilmiştir. Bu indeksin analizinde ortaya 11 gıdanın tüketimine dayanan bir skor çıkmıştır: 6 tipik Akdeniz gıdası yüksek miktarda tüketilmektedir (makarna, tipik Akdeniz sebzeleri olan çiğ ya da pişmiş yeşil yapraklı sebzeler, çiğ domates, soğan ve sarımsak ile lahana ve kök bitkiler dışındaki tüm diğer sebzeler, meyve, bakliyat, zeytin yağı ve balık); Akdeniz için tipik olmayan 4 gıda düşük miktarda tüketilmektedir (alkolsüz içkiler, tereyağı, kırmızı et ve patates) ve alkol. Tipik Akdeniz gıdalarının tüketim miktarı dağılımın üçüncü üçte birlik diliminde ise 1 puan, diğer tüm tüketimler için 0 puan verildi. Akdeniz için tipik olmayan gıdaların tüketimi dağılımın birinci üçte birlik diliminde ise 1 puan verildi. Etanole 12 $g \cdot d^{-1}$ dozuna kadar 1 puan, hiç kullanmayanlar ile >12 $g \cdot d^{-1}$ dozları için de 0 puan verildi.

İtalyan indeksi Yunan MEDSCORE indeksinden biraz farklıdır. Majör farklardan biri tipik İtalyan gıdası olan makarnanın komponentleri arasındadır [2]. Antropoloji bağlayıcıdır: İtalyanların yemek kültürü belirgin olarak makarna tarafından karakterize edilir. Bu durum ülkenin özellikle Akdeniz'deki kısmı için geçerlidir. İtalya'nın yeniden birleşmesi sırasında (1860-1861), Savoia Krallığı Başbakanı (Camillo Benso di Cavour, Kuzey

İtalya'daki Turin'de yaşıyordu) Güney İtalya'nın Giuseppe Garibaldi tarafından fethedilmesini beklerken Paris'teki elçisine şu şifreli sözleri yazmıştı: "Kısa süre sonra hepimiz makarna yiyeceğiz" [40]. EPIC'te yer alan yüksek kaliteli diyet verilerine paralel olarak diğer hayat tarzı değişkenleri ile ilgili veriler de yüksek kalitededir. Bu veriler analiz için önem arz etmektedir. Bu değişkenlerin bazıları göz önüne alındığında Akdeniz diyet paterninin kardiyovasküler hastalıklar ve kansere karşı potansiyel koruyucu rolü hakkında elde edilen sonuçlar oldukça etkileyicidir. İtalyan Akdeniz İndeksi kullanılarak yapılan analizler diğer gruplardaki tipik Akdeniz diyet komponentlerinin analizleri ile paralellik göstermektedir.

Yeşil yapraklı sebzelerin ve zeytin yağının yüksek oranda tüketiminin (düşük tüketime göre) kadınlardaki koroner kalp hastalığına karşı koruyucu olduğu bulunmuştur [9]. Bilimsel bir toplantıda sunulan preliminer veriler İtalyan Akdeniz İndeksinin koroner kalp hastalığı (fatal ve nonfatal) insidansı ile ters orantılı olduğunu göstermiştir. Kadınlardaki fark istatistiksel anlamlılığa yakındır. Ayrıca izokalorik Akdeniz diyeti için tipik olmayan şekilde glisemik indeksi yüksek olan karbonhidratlar yönünden zengin diyetin (yüksek glisemik yük) koroner kalp hastalığı riskinde %50'den daha fazla anlamlı risk artışına yol açtığı tespit edilmiştir [51].

İtalyan Akdeniz İndeksi yüksek olan bireylerdeki inme riskinin skoru düşük olanlara göre azaldığı bulunmuştur: Anlamlı rölatif risk tüm inme tipleri için 0.47, iskemik inme için 0.37 bulunmuştur [2]. Gıdaların total antioksidan kapasitelerinin koruyucu olduğu indirekt olarak konfirme edilmiştir: Üst ve alt üçte birlik dilimler karşılaştırıldığında bulunan 0.57'lik rölatif risk anlamlıdır [14].

İtalyan Akdeniz İndeksi yüksek olan bireylerdeki kolorektal kanser riski düşük skorlu bireylere göre anlamlı olarak azalmıştır: Erkeklerdeki rölatif risk 0.54; kadınlardaki rölatif risk 0.46 [3].

Meme kanseri için de bir dizi tutarlı sonuç açıklanmıştır. Kohortun bir bölümü (Milano kohortu) ile ilgili verilerin sunulduğu bilimsel toplantıda İtalyan Akdeniz indeksinin anlamlı derecede azalmış riskle ilişkili olduğu bildirilmiştir (üst ve alt üçte birlik dilimler arasındaki rölatif risk 0.64). Glisemik yük ile koroner kalp hastalığı arasında da anlamlı ilişki mevcuttur (yüksek glisemik yük ile düşük glisemik yük karşılaştırılmasındaki rölatif risk 1.46) [52]. Sebze tüketimi ile ilgili analizler de tüm sebze tiplerinin anlamlı koruma sağladığını göstermiştir (tüm sebzeler için 0.65; yeşil yapraklı sebzeler için 0.70) [38].

7 Son Yorumlar

Uzun bir tarihe sahip olan Akdeniz diyeti ile kardiyovasküler hastalık etyolojisi arasındaki ilişki güncel veriler tarafından da desteklenmektedir. Bu durum özellikler İtalya için geçerlidir. İtalyan popülasyonunun diyet alışkanlıklarındaki olumsuz değişimlere rağmen, hala Akdeniz tipi diyete yakın olan bireyler anlamlı düzeyde korunmaktadır.

Bir diğer iyi haber de aynı diyet paterninin sık görülen kanser türlerine karşı da koruyucu olmasıdır (örn. meme ve kolorektal kanserler). İtalyan verileri diğer Avrupa toplumlarından ve kısmen de Kuzey Amerika toplumlarından elde edilen verilerle uyumludur: Kapsamlı bir metaanaliz bu verileri desteklemektedir [54]. WHO bu kanıtların ışığında, kronik hastalıkların önlenebilmesi için uygulanan diyetlerin Akdeniz diyetine göre modifiye edilmesini kuvvetle desteklemektedir [62]. Sonuç olarak Akdeniz diyet paternlerinden esinlenen beslenme şekilleri kronik hastalık epidemilerine karşı koruyucu olan lezzetli seçeneklerdir.

Referanslar

1. Agnoli C, Berrino F, Abagnato CA, Muti P, Panico S, Crosignani P, Krogh V (2010) Metabolic syndrome and postmenopausal breast cancer in the ORDET cohort: a nested case-control study. Nutr Metab Cardiovasc Dis 20(1):41–48
2. Agnoli C, Krogh V, Grioni S, Sieri S, Palli D, Masala G, Sacerdote C, Vineis P, Tumino R, Frasca G, Pala V, Berrino F, Chiodini P, Mattiello A, Panico S (2011) A priori-defined dietary patterns are associated with reduced risk of stroke in a large Italian cohort. J Nutr 141(8):1552–1558
3. Agnoli C, Grioni S, Sieri S, Palli D, Masala G, Sacerdote C, Vineis P, Tumino R, Giurdanella MC, Pala V, Berrino F, Mattiello A, Panico S, Krogh V (2012) Italian mediterranean index and risk of colorectal cancer in the Italian section of the EPIC cohort. Int J Cancer. doi: 10.1002/ijc.27740
4. Alberti-Fidanza A, Fidanza F, Chiuchiu MP, Verducci G, Fruttini D (1999) Dietary studies on two Italian population groups of the seven countries study. 3. Trends in food and nutrient intake from 1960 and 1991. Eur J Clin Nutr 53:854–860
5. Alberti-Fidanza A, Fidanza F (2004) Mediterranean adequacy index of Italian diets. Public Health Nutr 7:937–941
6. Aleksandrova K, Boeing H, Jenab M, Bas Bueno-de-Mesquita H, Jansen E, van Duijnhoven FJ, Fedirko V, Rinaldi S, Romieu I, Riboli E, Romaguera D, Overvad K, Østergaard JN, Olsen A, Tjønneland A, Boutron-Ruault MC, Clavel-Chapelon F, Morois S, Masala G, Agnoli C, Panico S, Tumino R, Vineis P, Kaaks R, Lukanova A, Trichopoulou A, Naska A, Bamia C, Peeters PH, Rodríguez L, Buckland G, Sánchez MJ, Dorronsoro M, Huerta JM, Barricarte A, Hallmans G, Palmqvist R, Khaw KT, Wareham N, Allen NE, Tsilidis KK, Pischon T (2011) Metabolic syndrome and risks of colon and rectal cancer: the European prospective investigation into cancer and nutrition study. Cancer Prev Res (Phila) 4(11):1873–1883
7. Anderson JT, Lawer A, Keys A (1957) Weight gain from simple overeating. Serum lipids and blood volume. J Clin Invest 36:81–88
8. Appel L, Moore TJ, Obrazanek E, for the DASH collaborative research group (1997) A clinical trial of the effects of dietary patterns on blood pressure. N Engl J Med 336:1117–1124
9. Bendinelli B, Masala G, Saieva C, Salvini S, Calonico C, Sacerdote C, Agnoli C, Grioni S, Frasca G, Mattiello A, Chiodini P, Tumino R, Vineis P, Palli D, Panico S (2011) Fruit, vegetables, and olive oil and risk of coronary heart disease in Italian women: the EPICOR Study. Am J Clin Nutr 93(2):275–283
10. Contaldo F, Pasanisi F, Mancini M (2003) Beyond the traditional interpretation of mediterranean diet. Nutr Metab Cardiovasc Dis 13:117–119.)
11. Couto E, Boffetta P, Lagiou P, Ferrari P, Buckland G, Overvad K, Dahm CC, Tjønneland A, Olsen A, Clavel-Chapelon F, Boutron-Ruault M-C, Cottet V, Trichopoulos D, Naska A,

Benetou V, Kaaks R, Rohrmann S, Boeing H, von Ruesten A, Panico S, Pala V, Vineis P, Palli D, Tumino R, May A, Peeters PH, Bueno-de-Mesquita HB, Buchner FL, Lund E, Skeie G, Engeset D, Gonzalez CA, Navarro C, Rodrıguez L, Sanchez M-J, Amiano P, Barricarte A, Hallmans G, Johansson I, Manjer J, Wirfart E, Allen NE, Crowe F, Khaw K-T, Wareham N, Moskal A, Slimani N, Jenab M, Romaguera D, Mouw T, Norat T, Riboli E, Trichopoulou A (2001) Mediterranean dietary pattern and cancer risk in the EPIC cohort. Br J Cancer 104:1493–1499

12. Cust AE, Kaaks R, Friedenreich C, Bonnet F, Laville M, Tjønneland A, Olsen A, Overvad K, Uhre Jakobsen M, Chajes V, Clavel-Chapelon F, Boutron-Ruault M-C, Linseisen J, Lukanova A, Boeing H, PischonT Trichopoulou A, Bamia C, Trichopoulos D, Palli D, Berrino F, Panico S, Tumino R, Sacerdote C, Gram IT, Lund E, Quiros JR, Travier N, Martınez-Garcıa N, Larranaga N, Chirlaque MD, Ardanaz E, Berglund G, Lundin E, Bueno-de-Mesquita HB, van Duijnhoven FJB, Peeters PHM, Bingham S, Khaw K-T, Allen NE, Key T, Ferrari P, Rinaldi S, Slimani N, Riboli E (2007) Metabolic syndrome, plasma lipid, lipoprotein and glucose levels, and endometrial cancer risk in the European prospective investigation into cancer and nutrition (EPIC). Endocr Relat Cancer 14:755–767
13. Department of Health and Human Services and USDA (2005) Dietary guidelines for Americans. Government Printing Office, Washington, DC
14. Del Rio D, Agnoli C, Pellegrini N, Krogh V, Brighenti F, Mazzeo T, Masala G, Bendinelli B, Berrino F, Sieri S, Tumino R, Rollo PC, Gallo V, Sacerdote C, Mattiello A, Chiodini P, Panico S (2011) Total antioxidant capacity of the diet is associated with lower risk of ischemic stroke in a large italian cohort. J Nutr 141:118–123
15. Farchi G, Mariotti S, Menotti A et al (1989) Diet and 20-year mortality in two rural population groups of middle-aged men in Italy. Am J Clin Nutr 50:1095–1103
16. Ferro-Luzzi A, James WP, Kafatos A (2002) The high-fat Greek diet: a recipe for all? Eur J Clin Nutr 56:796–809
17. Fidanza F (1991) The mediterranean Italian diet; keys to contemporary thinking. Proc Nutr Soc 50:519–526
18. Fidanza F, Alberti A, Lanti M, Menotti A (2004) Mediterranean adequacy index: correlation with 25-year mortality from coronary heart disease in the seven countries study. Nutr Metab Cardiovasc Dis 14:254–258
19. Gardener H, Scarmeas N, Gu Y, Boden-Albala B, Elkind MS, Sacco RL, DeCarli C, Wright CB (2012) Mediterranean diet and white matter hyperintensity volume in the Northern Manhattan study. Arch Neurol 69(2):251–256
20. Grande F, Anderson JT, Chlouverakis C, Proja M, Keys A (1965) Effect of dietary cholesterol on man's serum lipids. J Nutr 87(1):52–62
21. Guenther PM, Reedy J, Krebs-Smith SM (2008) Development of the healthy eating index-2005. J Am Diet Assoc 108:1896–1901
22. Hu FB (2002) Dietary pattern analysis: a new direction in nutritional epidemiology. Curr Opin Lipidol 13:3–9
23. Huijbregts PPCW, Feskens EJM, Kromhout D (1995) Dietary patterns and cardiovascular risk factors in elderly men: the Zutphen Elderly study. Int J Epidemiol 24:313–320
24. Huijbregts P, Feskens E, Rasanen L et al (1997) Dietary pattern and 20 year mortality in elderly men in Finland, Italy, and the Netherlands: longitudinal cohort study. BMJ 315:13–17
25. Inter-Society Commission for Heart Disease Resources, Atherosclerosis Study Group and Epidemiology Study Group (1970) Primary prevention of the atherosclerotic diseases. Circulation 42:A55–A95
26. Jacobson HN, Stanton JL (1986) Pattern analysis in nutrition. Clin Nutr 5:249–253
27. Kant AK, Schatzkin A, Block G et al (1991) Food group intake patterns and associated nutrient profiles of the US population. J Am Diet Assoc 91:1532–1537
28. Kant AK (1996) Indexes of overall diet quality: a review. J Am Diet Assoc 96:785–791

29. Kastorini KM, Milionis HJ, Esposito K, Giugliano D, Goudevenos JA, Panagiotakos DB (2011) The effect of mediterranean diet on metabolic syndrome and its components: A meta-analysis of 50 Studies and 534,906 individuals. J Am Coll Cardiol 57:1299–1313
30. Keys A, Grande F, Anderson JT (1961) Fiber and pectin in the diet and serum cholesterol concentration in man. Proc Soc Exp Biol Med 106:555–562
31. Keys A, Anderson JT, Grande F (1965) Serum cholesterol response to changes in the diet (I-IV). Metabolism 14:776
32. Keys A (1970) Coronary heart disease in seven countries. Circulation 41(Suppl. 1):1–2
33. Keys A et al (1980) Seven countries. A multivariate analysis of death and coronary heart disease. A commonwealth fund book. Harvard University Press, Cambridge
34. Keys A (1993) The inception and pilot surveys. In: Kromhout D, Menotti A, Blackburn H (eds) The Seven Countries Study. Brower, Utrecht
35. Keys A (1995) Mediterranean diet and public health: personal reflections. Am J Clin Nutr 61(6 Suppl):1321S–1323S
36. Lee CN, Reed DM, MacLean CJ et al (1988) Dietary potassium and stroke. N Engl J Med 318:995–996
37. Martınez-Gonzalez MA, Garcıa-Lopez M, Bes-Rastrollo M, Toledo E, Martınez-Lapiscina EH, Delgado-Rodriguez M, Vazquez Z, Benito S, Beunza JJ (2011) Mediterranean diet and the incidence of cardiovascular disease: a Spanish cohort nutrition. Metab Cardiovasc Dis 21:237–244
38. Masala G, Assedi M, Bendinelli B, Ermini I, Sieri S, Grioni S, Sacerdote C, Ricceri F, Panico S, Mattiello A, Tumino R, Giurdanella MC, Berrino F, Saieva C, Palli D (2012) Fruit and vegetables consumption and breast cancer risk: the EPIC Italy study. Breast Cancer Res Treat 132(3):1127–1136
39. Menotti A, Alberti-Fidanza A, Fidanza F (2012) The association of the mediterranean adequacy index with fatal coronary events in an Italian middle-aged male population followed for 40 years. Nutr Metab Cardiovasc Dis 22:369–375
40. Montanari M (2010) L'identità italiana in cucina—Laterza Editore
41. National Research Council—Committee on Diet and Health. Diet and health (1989) Implications for reducing chronic disease risk. National Academy Press, Washington, DC
42. Newby PK, Muller D, Hallfrisch J, Qiao N, Andres R, Tucker KL (2003) Dietary patterns and changes in body mass index and waist circumference in adults. Am J Clin Nutr 77:1417–1425
43. Nordmann AJ, Suter-Zimmermann K, Bucher HC, Shai I, Tuttle KR, Estruch R, Briel M (2011) Meta-analysis comparing mediterranean to low-fat diets for modification of cardiovascular risk factors. Am J Med 124:841–851
44. Palli D, Berrino F, Vineis P, Tumino R, Panico S, Masala G et al (2003) A molecular epidemiology project on diet and cancer: the EPIC-Italy prospective study. Design and baseline characteristics of participants. Tumori 89:586–593
45. Panico S, Palmieri L, Donfrancesco C, Vanuzzo D, Chiodini P, Cesana G, Ferrario M, Mattiello A, Pilotto L, Sega R, Giampaoli S, Stamler J (2008) Preventive potential of body mass reduction to lower cardiovascular risk: the Italian progetto CUORE study. Prev Med 47(1):53–60
46. Randall E, Marshall JR, Graham S, Brasure J (1990) Patterns in food use and their associations with nutrient intakes. Am J Clin Nutr 52:739–745
47. Riboli E, Kaaks R. (1997) The EPIC project: rationale and study design. European prospective investigation into cancer and nutrition. Int. J. Epidemiol 26(suppl. 1):S6–S14
48. Riboli E, Hunt KJ, Slimani N et al (2002) European prospective investigation into cancer and nutrition (EPIC): study populations and data collection. Public Health Nutr 5:1113–1124
49. Romaguera D, Norat T, Mouw T, May AM, Bamia C, Slimani N, Travier N, Besson H, Luan J, Wareham N, Rinaldi S, Couto E, Clavel-Chapelon F, Boutron-Ruault MC, Cottet V, Palli P, Agnoli C, Panico S, Tumino R, Vineis P, Agudo A, Rodriguez L, Sanchez MJ, Amiano P, Barricarte A, Huerta JM, Key TJ, Spencer EA, Bueno-de-Mesquita HB, Buchner FL, Orfanos P, Naska A, Trichopoulou A, Rohrmann S, Kaaks R, Bergmann M, Boeing H, Johansson J,

Hellstrom V, Manjer J, Wirfalt E, Uhre Jacobsen M, Overvad K, Tjonneland A, Halkjaer J, Lund E, Braaten T, Engeset D, Odysseos A, Riboli E, Peeters PHM (2009) Adherence to the Mediterranean diet is associated with lower abdominal adiposity in European men and women. J Nutr 139:1728–1737

50. Sacks FM, Obarzanek E, Windhauser MM, for the DASH investigators (1994) Rational and design of the dietary approaches to stop hypertension trial (DASH): a multicenter controlled-feeding study of dietary patterns to lower blood pressure. Ann Epidemiol 5:108–118
51. Sieri S, Krogh V, Berrino F, Evangelista A, Agnoli C, Brighenti F, Pellegrini N, Palli D, Masala G, Sacerdote C, Veglia F, Tumino R, Frasca G, Grioni S, Pala V, Mattiello A, Chiodini P, Panico S (2010) Dietary glycemic load and index and risk of coronary heart disease in a large Italian cohort: the EPICOR study. Arch Intern Med 170(7):640–647
52. Sieri S, Pala V, Brighenti F, Agnoli C, Grioni S, Berrino F, Scazzina F, Palli D, Masala G, Vineis P, Sacerdote C, Tumino R, Giurdanella MC, Mattiello A, Panico S, Krogh V (2012) High glycemic diet and breast cancer occurrence in the Italian EPIC cohort. Nutr Metab Cardiovasc Dis 23(7):650–657 [Epub ahead of print]
53. Slimani N, Fahey M, Welch AA, Wirfält E, Stripp C, Bergström E, Linseisen J, Schulze MB, Bamia C, Chloptsios Y, Veglia F, Panico S, Bueno-de-Mesquita HB, Ocké MC, Brustad M, Lund E, González CA, Barcos A, Berglund G, Winkvist A, Mulligan A, Appleby P, Overvad K, Tjønneland A, Clavel-Chapelon F, Kesse E, Ferrari P, Van Staveren WA, Riboli E (2002) Diversity of dietary patterns observed in the European prospective investigation into cancer and nutrition (EPIC) project. Public Health Nutr 5(6B):1311–1328
54. Sofi F, Cesari F, Abbate R, Gensini GF, Casini A (2008) Adherence to mediterranean diet and health status: meta-analysis. BMJ 337:a1344
55. Trevisan M, Krogh V, Freudenheim JL, Blake A, Muti P, Panico S, Farinaro E, Mancini M, Menotti A, Ricci G (1990) Diet and coronary heart disease risk factors in a population with varied intake. The research group ATS-RF2 of The Italian National Research Council. Prev Med 19(3):231–241
56. Trevisan M, Krogh V, Freudenheim J, Blake A, Muti P, Panico S, Farinaro E, Mancini M, Menotti A, Ricci G (1990) Consumption of olive oil, butter, and vegetable oils and coronary heart disease risk factors. The Research Group ATS-RF2 of the Italian National Research Council. JAMA 263(5):688–692
57. Trichopoulou A, Kouris-Blazos A, Wahlqvist ML, Gnardellis C, Lagiou P, Polychronopoulos E et al (1995) Diet and overall survival in elderly people. BMJ 311:1457–1460
58. Trichopoulou A, Orfanos P, Norat T, Bueno-de-Mesquita B, Ocke MC, Peeters PH et al (2005) Modified Mediterranean diet and survival: EPIC-elderly prospective cohort study. BMJ 330:991
59. Ursin G, Ziegler RG, Subar AF et al (1993) Dietary patterns associated with a low-fat diet in the National Health Examination follow-up study: identification of potential confounders for epidemiologic analyses. Am J Epidemiol 137:916–927
60. Vessby B, Uusitupa M, Hermansen K, Riccardi G, Rivellese AA, Tapsell LC, Nälsén C, Berglund L, Louheranta A, Rasmussen BM, Calvert GD, Maffetone A, Pedersen E, Gustafsson IB, Storlien LH; KANWU Study (2001) Substituting dietary saturated for monounsaturated fat impairs insulin sensitivity in healthy men and women: The KANWU Study. Diabetologia 44(3):312–319
61. Willett WC, Sacks F, Trichopoulou A, Drescher G, Ferro-Luzzi A, Helsing E et al (1995) Mediterranean diet pyramid: a cultural model of healthy eating. Am J Clin Nutr 61:1402S–1406S
62. World Health Organization Study Group (2003) Diet, nutrition, and the prevention of chronic disease. WHO Tech Rep Ser, p 9166
63. Wu AH, Yu MC, Tseng CC, Stanczyk FZ, Pike MC (2009) Dietary patterns and breast cancer risk in Asian American women. Am J Clin Nutr 89(4):1145–1154

Diyetle Tuz Tüketimi ve Mide Kanseri Riski

Lanfranco D'Elia, Ferruccio Galletti ve Pasquale Strazzullo

Özet

İnsanlar yaklaşık 5000 yıl önce gıdaların korunması amacıyla büyük miktarda tuz kullanmaya başladılar. Günümüzde gelişen teknolojiler gıdaların saklaması için gereken tuz miktarının büyük oranda azaltılabilmesine olanak verdiği halde diyetle aşırı tuz tüketimi hala yaygındır. Sık görülen bir neoplazi olan mide kanserinin oluşumunda tuz tüketimini de içeren diyetle ilgili faktörlerin rol oynadığı düşünülmektedir. Bir dizi deneysel çalışmanın sonuçları tuzun Helicobacter pylori enfeksiyonu ile sinerjistik etki göstererek kokarsinojen etki yaptığı görüşünü desteklemektedir. Tuz ayrıca hücre proliferasyonu ve endojen mutasyonları artırıcı bağımsız etkiye de sahiptir. Birçok epidemiyolojik çalışmada aşırı tuz tüketimi ile mide kanseri arasındaki ilişki incelenmiştir. Hem kesitsel hem de prospektif çalışmalarda doza bağlı bir ilişki olabileceği gösterilmiştir. Özellikle longitudinal çalışmaları inceleyen kapsamlı bir metaanalizde toplam tuz tüketimi ve tuzdan zengin yiyeceklerin genel popülasyondaki gastrik kanser riski üzerinde olumsuz etkileri olduğu gösterilmiştir. Epidemiyolojik, klinik ve deneysel kanıtlar bir araya geldiğinde popülasyondaki tuz tüketiminin progresif olarak azaltımının gastrik kanser oranlarını da önemli oranda azaltabileceği ihtimalini desteklemektedir.

L. D'Elia · F. Galletti · P. Strazzullo
Department of Clinical and Experimental Medicine, "Federico II" University of Naples, Naples, Italy

P. Strazzullo (✉)
Department of Clinical and Experimental Medicine ESH—Excellence Center of Hypertension, "Federico II" University Medical School, via S. Pansini, 5, 80131, Naples, Italy
e-mail: strazzul@unina.it

V. Zappia et al. (eds.), *Advances in Nutrition and Cancer,*
Cancer Treatment and Research 159, DOI: 10.1007/978-3-642-38007-5_6,
© Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2014

Anahtar Kelimeler

Tuz tüketimi · Gastrik kanser · Risk · Gıda depolama · Helicopbacter pylori · Risk faktörü

Kısaltmalar

HP	*Helicobacter pylori*
COX-2	Siklooksijenaz-2
iNOS	İndüklenebilir nitrik oksit sentetaz
CagA	Sitotoksin ile ilişkili A geni
MNNG	Metilnitronitrozo guanidin
MNU	N-nitrozo-N-metilüre

İçindekiler

1 Giriş 84
2 Tuz Tüketimi ve Gastrik Kanser: Epidemiyolojik Kanıtlar 85
3 Tuz Tüketimi ve Helicobacter Pylori Enfeksiyonu 88
4 Diğer Biyolojik Mekanizmalar ve Deneysel Kanıtlar 91
5 Perspektifler 92
Referanslar 92

1 Giriş

Ekstraselüler sıvıda en fazla bulunan elektrolit olan sodyum vücut sıvı hacmi, plazma ozmolaritesi ve hücre membran potansiyelinin regülasyonunda majör rol oynamaktadır. İnsan vücudu evrim esnasında sodyum ve klorür miktarlarını korumak ve ekstraselüler sıvıdaki sodyum konsantrasyonunu rölatif olarak dar bir aralıkta tutabilmek için güçlü mekanizmalar geliştirmiştir [1]. Yaklaşık 5000 yıl önce doğal gıdalardaki sodyum miktarları oldukça düşük olduğu için insanların diyetindeki sodyum oranları son derece düşüktü [2]. Yüksek tuz tüketimine geçiş birçok gıdaya tuz eklenmesi ile çabuk bozulmalarının engellenebileceğinin keşfedilmesi ile başlamıştı [3]; bu yüksek tuz tüketimi yiyeceklerin korunmasında kullanılan modern teknolojilerin yaygın olarak mevcudiyetine rağmen hala devam etmektedir. Günümüzdeki tuz tüketiminin kabul edilemeyecek biçimde artmış olması ile tüm dünyada majör bir sağlık problemi olduğu anlaşılan tuz tüketimi hipertansiyon [4, 5], kardiyovasküler olaylar [6],renal disfonksiyon [8] ve osteoporoz [9] gibi epidemik rahatsızlıkların gelişimi ile ilişkilidir.

Yaygın bir neoplazi olan gastrik kanser tüm dünyadaki kanser ölümlerinin üçüncü en sık nedenidir [10, 11, 12]. Mide kanseri insidansının büyük coğrafi ve etnik farklılıklar göstermesine ve son dekadlardaki görülme oranı yavaşça azalmasına rağmen hala önemli bir halk sağlığı yüküdür. Tüm dünyada en azından kısmen engellenebilir bir halk sağlığı problemidir [10, 11, 12]. Kanıtlar diyetteki tuz miktarı ve çok tuzlu gıdaların tüketilme alışkanlıklarını da içeren bir dizi diyet faktörü ile gastrik kanser arasında az ya da çok ilişki olduğunu ortaya koymaktadır. Bu bağlamda yüksek tuz tüketiminin gastrik kanser riski üzerindeki advers etkileri birçok vaka kontrol çalışması tarafından ortaya konulmuştur [13]. Ayrıca tuz ve tuzlu gıdaların tüketimi ile mide kanseri riski arasındaki ilişkiyi araştırmak amacıyla birkaç prospektif çalışma da gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmaların güncel bir metaanalizinde diyetle alınan tuzun gastrik kanser riski ile direkt olarak ilişkili olduğu ve habitüel tüketim miktarı arttıkça riskin de progresif olarak arttığı gösterilmiştir [14]. Epidemiyolojik kanıtlar yüksek tuz tüketiminin koruyucu gastrik mukus bariyerinin viskozitesini değiştirdiğini [15] ve gastrik kanseri için risk faktörü olduğu kabul edilen Helicobacter pylori (HP) kolonizasyonunu artırdığını [16] gösteren klinik ve deneysel çalışmalar tarafından desteklenmektedir. Yüksek intragastrik sodyum konsantrasyonlarının mukoza hasarı ve enflamasyonu yaptığı gösterilmiştir. Bu durumun da hücre proliferasyonunu ve endojen mutasyonları artırdığı bildirilmiştir [17, 18].

Esas olarak aşırı tuz tüketimi ile gastrik kanser riski arasındaki ilişkiyle ilgili güncel epidemiyolojik gelişmelere odaklanan bu bölümde, aşırı tuz tüketiminin gastrik kanser gelişimine yol açma ihtimali olan mekanizmaları ile ilgili bilgiler de mevcuttur.

2 Tuz Tüketimi ve Gastrik Kanser: Epidemiyolojik Kanıtlar

Gastrik kanserin insidans oranları coğrafi bölgelere göre farklılıklar göstermektedir. Bu farklılıklar genetik faktörlere ek olarak hayat tarzı ve/veya çevresel faktörlere bağlı olarak ortaya çıkıyor olabilir. Göçmen çalışmaları tuz ve gastrik kanser arasındaki ilişkiye odaklanmaktadır. Japon göçmenlerin analizinde Hawaii'de yaşayan Japonlardaki gastrik kanserin azalma oranlarının Brezilya'ya yerleşen Japonlardan daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Analizin devamında Brezilya'daki Japonlardaki gastrik kanser oranlarının Japonya'da kalanlarla benzer düzeyde olduğu da bulunmuştur [19]. Bu farklılıklar yüksek tuz tüketme alışkanlığının göç edilen ülkelerde sürdürülme düzeyleri ile açıklanabilir.

Daha eski ekolojik araştırmalarda da yüksek tuz tüketiminin gastrik kanser riski üzerindeki olumsuz etkileri gösterilmiştir: 24 ülkede gerçekleştirilen INTERSALT çalışmasında 24 saatlik üriner sodyum atılımı (diyet tuz tüketiminin geçerli bir göstergesi) ile gastrik kansere bağlı mortalite arasında anlamlı bir direkt ilişki gösterilmiştir [20]. Çin'in 65 kırsal eyaletinde yapılan bir analizde de tuz kullanılarak muhafaza edilen sebzelerin tüketimi ile mide kanserine bağlı mortalite arasında pozitif ilişki gösterilmiştir

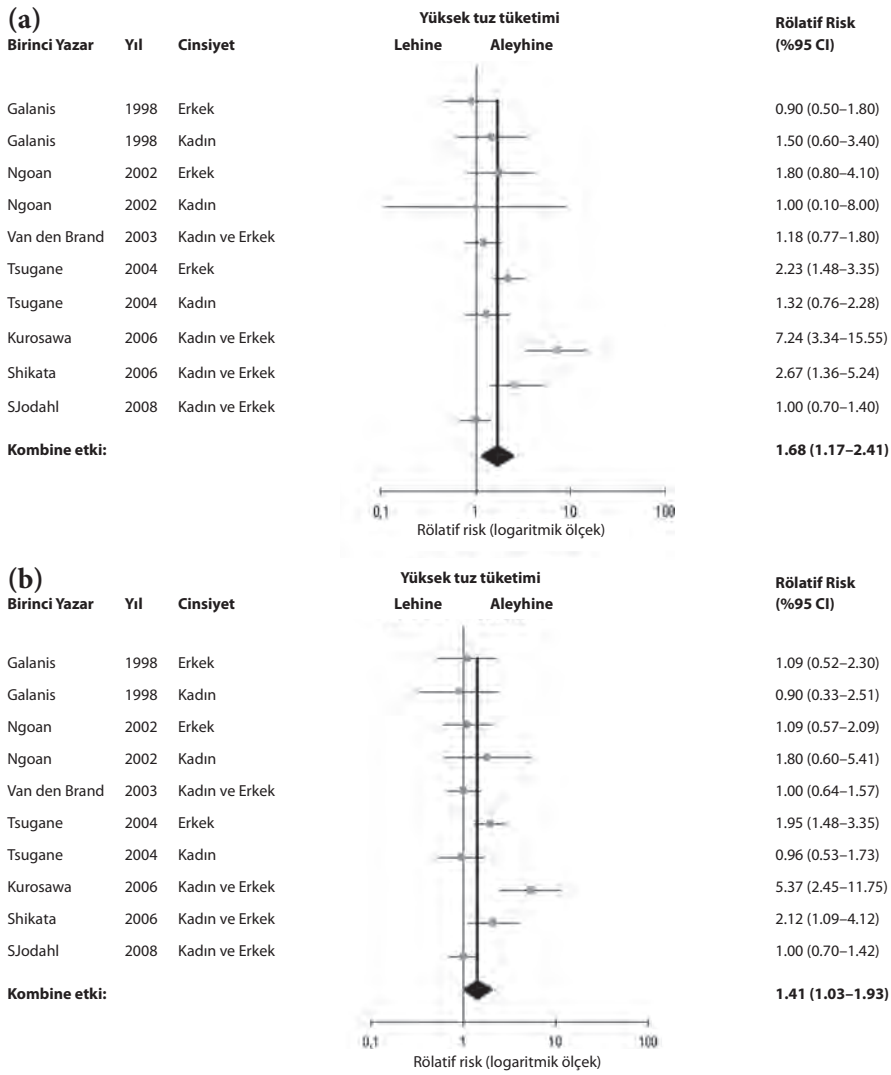
[21]. Benzer sonuçlar araştırmacıların 24 saatlik üriner sodyum atılımı ile gastrik kanser mortalitesi arasındaki pozitif ilişki tespit ettiği Japonya'nın 5 bölgesinde elde edilmiştir [22, 23].

Farklı ülkelerdeki gastrik kanser prevalansı büyük farklılıklar göstermektedir. Ancak çok sayıda vaka kontrol çalışmasında diyetle yüksek miktarda tuz alımının veya tuzlu gıdaların fazla tüketiminin sadece Asya ülkelerinde [24, 25] değil, Amerika [26, 27] ve Avrupa [28, 29, 30] ülkelerindeki gastrik kanser riskini de olumsuz etkilediği gösterilmiştir. En güncel Avrupa vaka kontrol çalışması da yüksek tuz tüketiminin, HP enfeksiyonu, tümörün bölgesi ve histolojik tipinden bağımsız olarak gastrik kanser riskini artıran önemli bir faktör olduğu sonucunu desteklemektedir [31]. Dünya Kanser Araştırma Fonunun 2007 yılında yayınladığı konsensus da tuz tüketimi ile gastrik kanser riski arasındaki ilişkiyi desteklemekte olup o esnada mevcut olan vaka kontrol çalışmalarının metaanaliz sonuçlarını da yayınlamıştır [13]. Bu analizde özellikle tuzlu gıdaların tüketim alışkanlığının gastrik kanser ile doğru orantılı ilişkiye sahip olduğu ve günlük tüketilen her porsiyon ile riskin beş kat arttığı gösterilmiştir.

Sonuç olarak, daha önce de bahsedildiği üzere çok sayıda prospektif çalışmada diyetle tuz alımının gastrik kanser riskini tahmin etmede önemli rol oynadığı bildirilmiştir. Bu çalışmaların çoğu Japonya'da gerçekleştirilmiştir. Ortalama 11 yıl boyunca takip edilen 39.065 kadın ve erkek Japon katılımcıdan oluşan büyük kohort çalışmasında anket soruları ile tespit edilen toplam tuz tüketimi ile gastrik kanser arasındaki ilişki erkeklerde anlamlı olarak yüksek bulunmuştur (RR=2.23). Kadınlarda da pozitif bir ilişki bulunmuş olsa da anlamlılık seviyesine ulaşılamamıştır (RR=1.32) [32]. Ayrıca yine Japonya'da yapılan ve 11 ve 14 yıllık takip sürelerine sahip iki farklı araştırmada da yüksek tuz tüketimi ile gastrik kanser arasında benzer bir ilişki bulunmuştur [33, 34]. Bu sonuçların aksine 12.000 kadın ve erkeğin 15 yıl süreyle takip edildiği Hawai kohortunda ise sadece kadınlarda pozitif bir ilişki tespit edilmiştir [35]. Hollanda'da gerçekleştirilen büyük bir popülasyon çalışmasında da bildirilen tuz tüketimi ile gastrik kanser arasında anlamlı bir ilişki tespit edilememiştir (RR=1.18) [36].

Çok tuzlu gıdaların tüketimine odaklanan prospektif çalışmalarda genel olarak tuz tüketiminin artmasının mide kanseri riskini olumsuz yönde etkilediği gösterilmiştir. 520.000 kadın ve erkeği içeren bir Avrupa kohortunda ise işlenmiş et tüketimi ile gastrik kanser arasında güçlü bir pozitif ilişki tespit edilmiştir. Çalışmada daha yüksek oranda işlenmiş et tüketenlerdeki risk (daha az tüketenlere göre %68 daha fazla bulunmuştur [37]. Yüksek oranda işlenmiş et tüketimi ile görülen benzer bir etki 970.000 Amerikalının ortalama 14 yıl süreyle takip edildiği büyük ölçekli prospektif araştırmada da tespit edilmiştir [38].

Tuzlu balık tüketimi ile de benzer sonuçlar elde edilmiştir. 17.600 Amerikalı erkeği içeren bir çalışmada daha fazla tuzlu balık tüketiminin daha yüksek gastrik kanser mortalitesi ile korele olduğu gösterilmiştir (RR=1.90) [39]. Bir Japon kohortunda yapılan araştırmada erkeklerdeki daha yüksek tuzlu balık tüketiminin gastrik kanser insidansını anlamlı olarak artırdığı bulunmuştur (RR=1.77). Kadınlardaki artış ise anlamlılık düzeyine ulaşamamıştır (RR = 1.17) [32].



Şekil 1 *Diyet Tuz Tüketimi ve Mide Kanseri Riski* **a** "*Yüksek" tuz tüketimi*: "Yüksek" veya "düşük" tuz tüketimi ile ilişkili gastrik kanser riskinin karşılaştırıldığı 7 yayınlanmış prospektif çalışmadaki 10 popülasyon kohortunun meta analiz diyagramı **b** *"Orta-yüksek" tuz tüketimi*: "Orta-yüksek" veya "düşük" tuz tüketimi ile ilişkili gastrik kanser riskinin karşılaştırıldığı 7 yayınlanmış prospektif çalışmadaki 10 popülasyon kohortunun meta analiz diyagramı Total popülasyon n=268.718; olay sayısı n=1474; Sonuçlar rölatif risk (RR) ve %95 güven aralığı (%95 CI) ile gösterilmektedir. ([14] nolu referanstan adapte edilmiştir).

Ancak yazarlar yüksek salamura gıda tüketiminin de hem kadın hem de erkeklerde daha yüksek gastrik kanser ile ilişkili olduğunu da bildirmiştir [32]. Atom bombası sonrası sağ kalan 55.000 Japon'dan oluşan bir kohorttaki 20 yıllık takipte yüksek sa-

lamura gıda tüketiminin gastrik kanser riskini artırma eğilimine sahip olduğu gösterilmiştir. Ancak bu farklılık istatistiksel anlamlılık düzeyine ulaşmamıştır (RR = 1.11) [40].

Ayrıca yine Asya diyetinde sık tüketilen çok tuzlu bir gıda olan miso çorbasının analizinde de artmış tüketimin hem küçük bir Amerikan kohortunda [35] hem de büyük bir Japon popülasyonunda [41] görülen gastrik kanser olaylarında anlamlı olmayan bir yükselişe neden olduğu tespit edilmiştir.

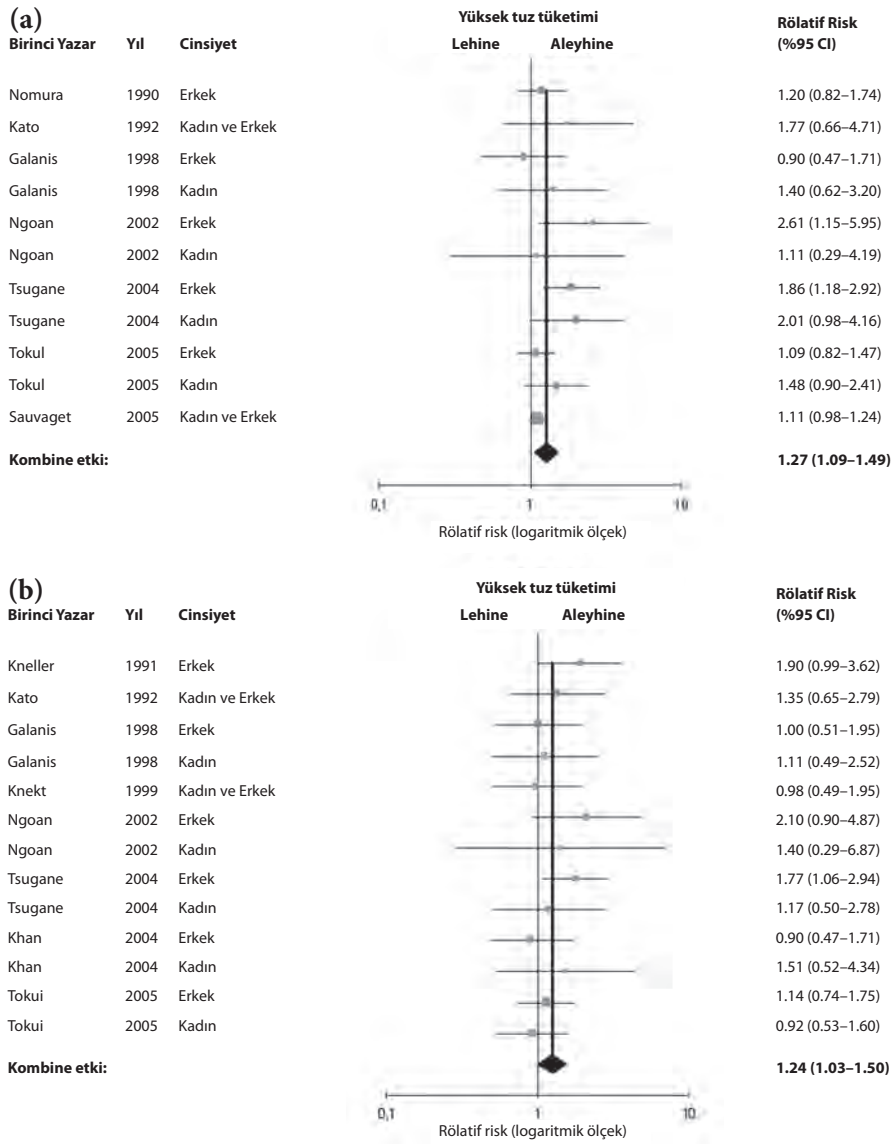
Tüm prospektif çalışmaları içeren güncel bir sistematik analizde de yüksek tuz tüketimi ile gastrik kanser arasında tartışmasız direkt ve anlamlı bir ilişki olduğunu gösterilmiştir [14]. Bu metaanaliz 1998 ile 2008 yılları arasında 270.000 hasta ile yapılan (1474 olay görülen), çalışmaların sonuçlarını kapsamaktadır. 6-15 yıl süre ile takip edilen hastalardan elde edilen verilerin ortak analizinde tuz tüketim alışkanlıkları ile gastrik kanser insidansı arasında kademeli pozitif ilişki olduğu gösterilmiştir. "Yüksek" ve "orta-yüksek" tuz tüketimin "düşük" tuz tüketimine göre sırasıyla %68 ve %41 daha fazla kanser riski ile ilişkili olduğu bulunmuştur (Şekil 1). Bu ilişki kadın ve erkekler arasında anlamlı farklılık göstermediği gibi takibin süresi, yayın yılı ve kayıt esnasındaki yaş gibi faktörlerden de etkilenmemiştir. Özellikle Japon popülasyonlarda gerçekleştirilen çalışmalardaki tuz tüketiminin gastrik kanser için güçlü bir gösterge olduğu tespit edilmiştir. Farklı analizlerde zengin tuz içeren gıdaları tüketme alışkanlığı olanlardaki gastrik kanser riskinin daha yüksek olduğu gösterilmiştir: Özellikle salamura gıdalar, tuzlu balık ve işlenmiş et tüketiminin gastrik kanser riskinde sırasıyla %27, %24 ve %24 artış ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Ancak miso çorbası ile görülen artış anlamlılık düzeyine ulaşamamıştır (RR = 1.05) (Şekil 2).

Son olarak Dias-Neto ve ark. [42] tarafından yapılan analizde de tuzlu gıda tüketimi ve tuzlu gıda tercihi (veya tuzluk kullanımı) ile gastrik intestinal metaplazi arasındaki ilişki incelenmiştir. Kohort, vaka kontrol ve kesitsel analizleri içeren çalışmada yüksek tuz tüketimi ile görülen artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır.

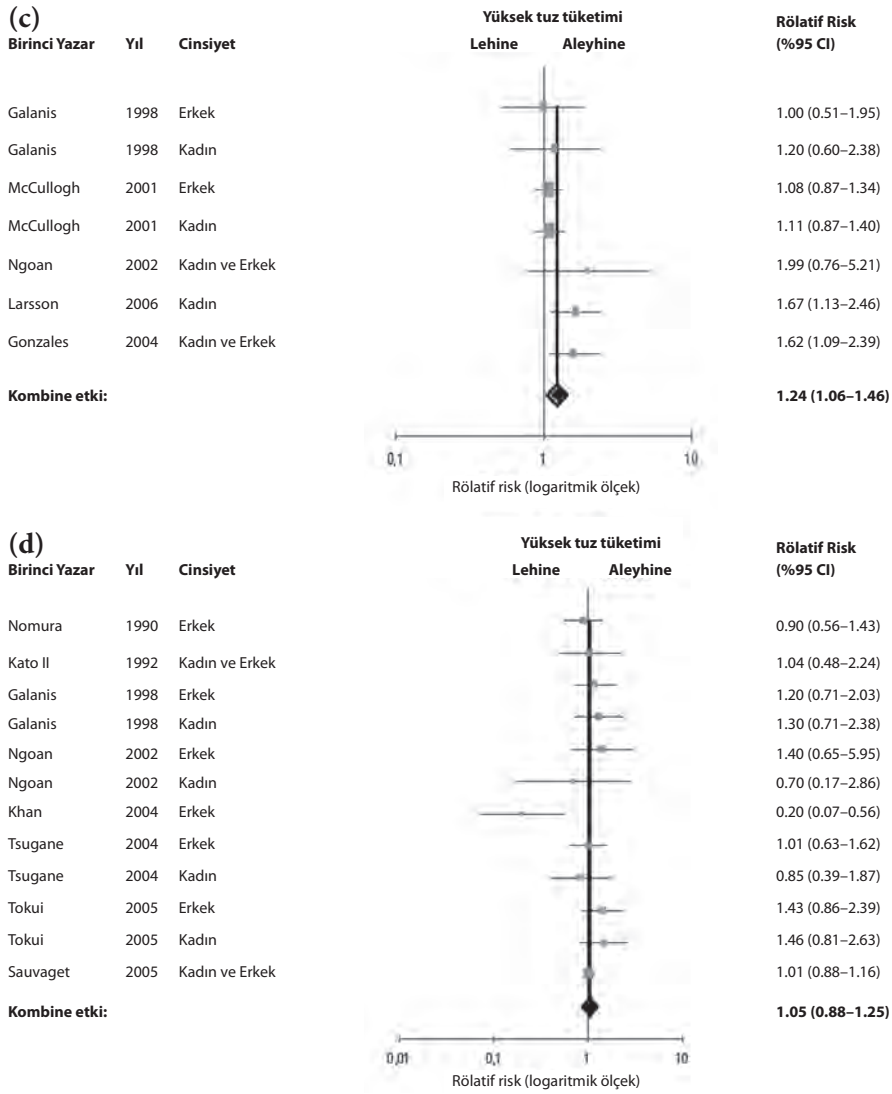
3 Tuz Tüketimi ve Helicobacter Pylori Enfeksiyonu

Helicobakter pylori (HP) enfeksiyonu gastrik kanser gelişiminin ana göstergelerinden birisidir. Yüksek tuz tüketimi HP kolonizasyonunu artırırken [16], inatçı HP enfeksiyonu da mukoza hasarını indüklemiştir [16]. Birkaç çalışmada da aşırı tuz tüketimi, HP enfeksiyonu ve karsinogenez arasında muhtemel bir ilişki olabileceği bildirilmiştir [34, 43, 44].

40-49 yaşları arasındaki 634 Japon erkekle gerçekleştirilen kesitsel çalışmada yüksek oranda tuz içeren gıdaların (özellikle miso çorbası ve salamura sebzeler) tüketim alışkanlıklarının yüksek HP enfeksiyonu prevalansı ile ilişkili olduğu bulunmuştur [45]. 24 saatlik üriner sodyum atılımını ulusal HP oranları ile ilişkilendiren uluslararası INTERSALT projesinde tespit edilen benzer bir ilişki EUROGAST tarafından



Şekil 2 *Yüksek oranda tuz içeren gıdalar ve gastrik kanser riski* **a** *Salamura gıdalar*: "Yüksek" veya "düşük" salamura gıda tüketimi ile ilişkili gastrik kanser riskinin karşılaştırıldığı 7 yayınlanmış prospektif çalışmadaki 11 popülasyon kohortunun meta analiz diyagramı. Total popülasyon, n=242.568; olay sayısı, n=2858 **b** *Tuzlanmış balık*: "Yüksek" veya "düşük" tuzlanmış balık tüketimi ile ilişkili gastrik kanser riskinin karşılaştırıldığı 8 yayınlanmış prospektif çalışmadaki 13 popülasyon kohortunun meta analiz diyagramı. Total popülasyon, n=209.704; olay sayısı, n=1447 **c** İşlenmiş et: "Yüksek" veya "düşük" işlenmiş tüketimi ile ilişkili gastrik kanser riskinin karşılaştırıldığı 5 yayınlanmış prospektif çalışmadaki 7 popülasyon kohortunun meta analiz diyagramı. Total popülasyon, n=1.578.092; olay sayısı, n=2002 Salamura gıdalar: "Yüksek" salamura gıda tüketimi ve "düşük" salamura gıda tüketimi ile ilişkili gastrik kanser riskinin karşılaştırıldığı 7 yayınlanmış prospektif çalışmadaki 11 popülasyon kohortunun meta analiz diyagramı. Total popülasyon, n=242.568; olay sayısı, n=2858 **d** *Miso çorbası*: "Yüksek" veya "düşük" miso çorbası tüketimi ile ilişkili gastrik kanser riskinin karşılaştırıldığı 8 yayınlanmış prospektif çalışmadaki 12 popülasyon kohortunun meta analiz diyagramı. Total popülasyon, n=249.931; olay sayısı, n=3022. Sonuçlar rölatif risk (RR) ve %95 güven aralığı (%95 CI) ile gösterilmektedir. ([14] nolu referanstan adapte edilmiştir).



Şekil 2 (Devamı)

da bildirilmiştir. HP enfeksiyonu oranları ile üriner sodyum atılımı arasında hemen hemen tüm yaş ve cinsiyet kategorilerini kapsayan pozitif bir ilişki tespit edilmiştir [46].

Japon [44] ve Korelilerde [34] gerçekleştirilen iki küçük vaka kontrol çalışmasında gastrik kanser gelişenlerde HP enfeksiyonu ve tuz tüketiminin ilişkisi incelenmiştir. Yazarlar yüksek tuz tüketimi ile HP enfeksiyonunun kombinasyonunun düşük tuz tüketi-

mi ve negatif HP enfeksiyonuna göre daha yüksek gastrik kanser riski taşıdığını tespit etmişlerdir. Ayrıca Japonlardaki yüksek tuz tüketimi ve HP enfeksiyonu varlığının, düşük tuz tüketimi ve HP enfeksiyonu pozitif olanlara göre daha yüksek gastrik kanser riski ile ilişkili olduğu gösterilmiştir [44].

İnsanlardaki tuz tüketimi ile HP enfeksiyonu arasındaki potansiyel ilişkiyi inceleyen Japon prospektif çalışmasında sadece HP enfeksiyonu pozitif olan gruptaki yüksek tuz tüketimi ile gastrik kanser arasında bir ilişki bulunmuştur [34]. Sonuçlarda hem atrofik gastrit hem de HP enfeksiyonu olan bireylerdeki yüksek tuz tüketiminin gastrik karsinogenez üzerinde güçlü bir etki yaptığı da gösterilmiştir.

Diyetle yüksek tuz tüketimi ve HP enfeksiyonunun gastrik karsinogenez üzerindeki sinerjistik etkileri hayvan deneylerinde de tespit edilmiştir. Helicobacter pylori (HP) enfeksiyonu tuzlu diyet uygulanan farelerdeki gastrik mukoza hasarını artırmaktadır [47]. Ayrıca HP enfeksiyonu olan Moğol çöl farelerinde yapılan bir çalışmada yüksek tuz tüketiminin kokarsinojenik etkisi teyit edilmiştir. Yüksek tuz tüketiminin anti HP antikorların titresinde artış, hipergastrinemi ve enflamatuar hücre infiltrasyonu ile de ilişkili olduğu gösterilmiştir [43].

4 Diğer Biyolojik Mekanizmalar ve Deneysel Kanıtlar

Bir dizi deneysel çalışmada aşırı tuz tüketiminin gastrik kanser eğilimi üzerindeki olumsuz etkisinin muhtemel mekanizmaları araştırılmıştır. Daha önce de bahsettiğimiz gibi, aşırı tuz tüketimi ile HP enfeksiyonu arasında güçlü bir etkileşim mevcuttur. Yüksek tuz tüketimi gastrik mukozadaki HP kolonizasyonunu artırır [16], yüzeydeki mukus hücrelerini çoğaltır ve mukus bez hücrelerinden salgılanan müsini azaltır [43]. Sıçanlarda yapılan bir çalışmada yüksek tuz tüketiminin hücre salgısını azalttığı ve mutajeneze duyarlı S faz hücrelerinin sayısını artırdığı gösterilmiştir [17]. Aynı türde tuz uygulanması ile yüzey mukus hücre katmanında doza bağlı hasar ve replikatif DNA sentezinde artış olmaktadır [18]. Ayrıca HP enfeksiyonu olan çöl farelerinde yüksek tuz tüketiminin etkisi ile COX-2 ve İNOS yukarı regüle olurken [48], HP enfeksiyonunun etkileri güçlenerek gastrik kanser progresyonuna neden olmuştur [49]. Yüksek tuz tüketimi CagA ekspresyonunu (HP geni) güçlendirirerek bu genin gastrik epitel hücrelerinin için doğru yer değiştirme kapasitesini artırır. HP enfeksiyonunun epitel hücrelerinin fonksiyonlarını değiştirme kapasiteleri de artar [50].

Ek olarak HP enfeksiyonu varlığında yüksek tuz tüketimi ile indüklenen hipergastrinemi [43] ile kronik hipergastrinemi ve HP enfeksiyonunun sinerjistik etkisi parietal hücre kaybına ve gastrik kanser progresyonuna katkıda bulunabilir [51].

Birçok çalışmada tuz tüketimindeki artışın gıda kaynaklı karsinojenlerin etkilerini desteklediği veya artırdığı gösterilmiştir. Örneğin farklı bölgelerde tümör oluşumuna

yol açabilen [53] potent karsinojen olan N-nitrozo bileşikleri [1, 15, 52] koruyucu mukus bariyerinin [43] viskozitesini etkileyerek gastrik epitel hasarına yol açar.

Sonuç olarak hayvan modellerinde yapılan bazı deneysel araştırmalardaki yüksek tuz tüketiminin kimyasal karsinojenlerle (MNNG ve MNU) sinerjistik etki göstererek gastrik kanser gelişiminde rol oynadığı gösterilmiştir [54, 55].

5 Perspektifler

Dünya çapında en yaygın görülen kanser türlerinden olan gastrik kanser yılda yaklaşık 870.000 yeni vaka [56, 57] ile tüm yeni kanser vakalarının %9.9'unu oluşturmaktadır [58]. Gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde (benzer oranlarda görülen) 628.000'den fazla ölüm vakası (%12.1) ile seyreden mortalite oranları da yüksek seyretmeye devam etmektedir [59]. Mide kanserinin dünya çapındaki insidansı son dekadlar içinde hızla azalmaktadır. Bu azalma Batı ülkeleri, Çin ve diğer Doğu Asya ülkelerinde diğer ülkeler kadar yüksek değildir. İnsidans artışı en yaşlı ve en genç yaş gruplarında gözlenmiştir [60]. Gastrik kanser Çin toplumunda Batı'ya göre daha erken yaşlarda başlamaktadır. Bu da yeni çevresel faktörlerin bir göstergesi olabilir.

Dünyadaki erişkin popülasyonların çoğundaki tuz tüketimi günde 6 gr'dan daha fazladır [1, 61, 62]. Birçok Doğu Avrupa ve Asya ülkesindeki tüketim de günde 12 gr'ın üstündedir [63]. WHO ortalama popülasyon tuz tüketim oranlarının günde 5 gr'ın altında olmasını tavsiye etmektedir [64]. Hem gelişmiş hem de gelişmekte olan ülkelerdeki tuz tüketiminin azaltılması yüksek maliyetli kardiyovasküler hastalık epidemilerinin engellenebilmesi için global öncelik olarak kabul edilmiştir [1, 65, 66, 67, 68, 69]. Bu politikanın kardiyovasküler hastalıklar üzerindeki olumlu etkilerine ek olarak farklı faydalar sunduğu yönünde de çok sayıda kanıt mevcuttur [70].

Referanslar

1. Antunes-Rodrigues J, de Castro M, Elias LL et al (2004) Neuroendocrine control of body fluid metabolism. Physiol Rev 84(1):169–208
2. Cordain L, Eaton SB, Miller JB et al (2002) The paradoxical nature of huntergatherer diets: meat-based, yet non-atherogenic. Eur J Clin Nutr 56 Suppl1:S42–S52
3. Eaton SB, Konner M (1985) Paleolithic nutrition. A consideration of its nature and current implications. N Engl J Med 312:283–289
4. Elliott P, Stamler J, Nichols R et al (1996) Intersalt revisited: further analysis of 24 hour sodium excretion and blood pressure within and across populations. Intersalt Coop Res Group. BMJ 312:1249–1253
5. Kupari M, Koskinen P, Virolainen J (1994) Correlates of left ventricular mass in a population sample aged 36 to 37 years. Focus on lifestyle and salt intake. Circulation 89:1041–1050
6. Strazzullo P, D'Elia L, Kandala NB et al (2009) Salt intake, stroke, and cardiovascular disease: meta-analysis of prospective studies. BMJ. doi:10.1136/bmj.b4567
7. Cianciaruso B, Bellizzi V, Minutolo R et al (1998) Salt intake and renal outcome in patients with progressive renal disease. Miner Electrolyte Metab 24(4):296–301

8. Cappuccio FP, Kalaitzidis R, Duneclift S et al (2000) Unravelling the links between calcium excretion, salt intake, hypertension, kidney stones and bone metabolism. J Nephrol 13:169–177
9. Devine A, Criddle RA, Dick IM et al (1995) A longitudinal study of the effect of sodium and calcium intakes on regional bone density in postmenopausal women. Am J Clin Nutr 62:740–745
10. Stewart BW, Kleihues P (2003) World cancer report. IARC Press, Lyon
11. Kamangar F, Dores GM, Anderson WF (2006) Patterns of cancer incidence, mortality, and prevalence across five continents: defining priorities to reduce cancer disparities in different geographic regions of the world. J Clin Oncol 24:2137–2150
12. Parkin DM (2006) The global health burden of infection associated cancers in the year 2002. Int J Cancer 118:3030–3044
13. World Cancer Research Fund/American Institute for Cancer Research (2007) Food, nutrition, physical activity, and the prevention of cancer: a global perspective. AICR, Washington DC
14. D'Elia L, Rossi G, Ippolito R et al (2012) Habitual salt intake and risk of gastric cancer: a meta-analysis of prospective studies. Clin Nutr. doi:10.1016/j.clnu.2012.01.003
15. Tatematsu M, Takahashi M, Fukushima S et al (1975) Effects in rats of sodium chloride on experimental gastric cancers induced by N-methyl-N-nitro-N-nitrosoguanidine or 4-nitroquinoline-1-oxide. J Natl Cancer Inst 55:101–106
16. Fox JG, Dangler CA, Taylor NS et al (1999) High-salt diet induces gastric epithelial hyperplasia and parietal cell loss, and enhances Helicobacter pylori colonization in C57BL/6 mice. Cancer Res 59:4823–4828
17. Charnley G, Tannenbaum SR (1985) Flow cytometric analysis of the effect of sodium chloride on gastric cancer risk in the rat. Cancer Res 45:5608–5616
18. Furihata C, Ohta H, Katsuyama T (1996) Cause and effect between concentration-dependent tissue damage and temporary cell proliferation in rat stomach mucosa by NaCl, a stomach tumor promoter. Carcinogenesis 17:401–406
19. Tsugane S, de Souza JM, Costa ML Jr et al (1990) Cancer incidence rates among Japanese immigrants in the city of Sao Paulo, Brazil, 1969–78. Cancer Causes Control 1:189–193
20. Joossens JV, Hill MJ, Elliott P et al (1996) Dietary salt, nitrate and stomach cancer mortality in 24 countries. European cancer prevention (ECP) and the INTERSALT cooperative research group. Int J Epidemiol 25:494–504
21. Kneller RW, Guo WD, Hsing AW et al (1992) Risk factors for stomach cancer in sixty-five Chinese counties. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 1:113–118
22. Tsugane S, Gey F, Ichinowatari Y et al (1992) Cross-sectional epidemiologic study for assessing cancer risks at the population level. I. Study design and participation rate. J Epidemiol 2:75–81
23. Tsugane S, Gey F, Ichinowatari Y et al (1992) Cross-sectional epidemiologic study for assessing cancer risks at the population level. II. Baseline data and correlation analysis. J Epidemiol 2:83–89
24. Ji BT, Chow WH, Yang G et al (1998) Dietary habits and stomach cancer in Shanghai, China. Int J Cancer 76:659–664
25. Lee JK, Park BJ, Yoo KY et al (1995) Dietary factors and stomach cancer: a case-control study in Korea. Int J Epidemiol 24:33–41
26. Graham S, Haughey B, Marshall J et al (1990) Diet in the epidemiology of gastric cancer. Nutr Cancer 13:19–34
27. López-Carrillo L, López-Cervantes M, Ward MH et al (1999) Nutrient intake and gastric cancer in Mexico. Int J Cancer 83:601–605
28. Coggon D, Barker DJ, Cole RB et al (1989) Stomach cancer and food storage. J Natl Cancer Inst 81:1178–1182
29. La Vecchia C, Negri E, Franceschi S et al (1997) Case-control study on influence of methionine, nitrite, and salt on gastric carcinogenesis in northern Italy. Nutr Cancer 27:65–68

30. Ramón JM, Serra-Majem L, Cerdó C et al (1993) Nutrient intake and gastric cancer risk: a case-control study in Spain. Int J Epidemiol 22:983–988
31. Peleteiro B, Lopes C, Figueiredo C et al (2011) Salt intake and gastric cancer risk according to Helicobacter pylori infection, smoking, tumour site and histological type. Brit J Cancer. doi:10.1038/sj.bjc.6605993
32. Tsugane S, Sasazuki S, Kobayashi M et al (2004) Salt and salted food intake and subsequent risk of gastric cancer among middle-aged Japanese men and women. Br J Cancer 90:128–134
33. Kurosawa M, Kikuchi S, Xu J et al (2006) Highly salted food and mountain herbs elevate the risk for stomach cancer death in a rural area of Japan. J Gastroenterol Hepatol 21:1681–1686
34. Shikata K, Kiyohara Y, Kubo M et al (2006) A prospective study of dietary salt intake and gastric cancer incidence in a defined Japanese population: the Hisayama study. Int J Cancer 119:196–201
35. Galanis DJ, Kolonel LN, Lee J et al (1998) Intakes of selected foods and beverages and the incidence of gastric cancer among the Japanese residents of Hawaii: a prospective study. Int J Epidemiol 27:173–180
36. Van den Brandt PA, Botterweck AA, Goldbohm RA (2003) Salt intake, cured meat consumption, refrigerator use and stomach cancer incidence: a prospective cohort study (Netherlands). Cancer Causes Control 14:427–438
37. González CA, Jakszyn P, Pera G et al (2006) Meat intake and risk of stomach and esophageal adenocarcinoma within the European prospective investigation into cancer and nutrition (EPIC). J Natl Cancer Inst 98(5):345–354
38. McCullough ML, Robertson AS, Jacobs EJ et al (2001) A prospective study of diet and stomach cancer mortality in United States men and women. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 10(11):1201–1205
39. Kneller RW, McLaughlin JK, Bjelke E et al (1991) A cohort study of stomach cancer in a high-risk American population. Cancer 68(3):672–678
40. Sauvaget C, Lagarde F, Nagano J et al (2005) Lifestyle factors, radiation and gastric cancer in atomic-bomb survivors (Japan). Cancer Causes Control 16(7):773–780
41. Tokui N, Yoshimura T, Fujino Y et al (2005) Dietary habits and stomach cancer risk in the JACC study. J Epidemiol 15(Suppl. 2):S98–108
42. Dias-Neto M, Pintalhao M, Ferreira M et al (2010) Salt intake and risk of gastric intestinal metaplasia: systematic review and meta-analysis. Nutr Cancer 62:133–147
43. Kato S, Tsukamoto T, Mizoshita T et al (2006) High salt diets dose-dependently promote gastric chemical carcinogenesis in Helicobacter pylori-infected Mongolian gerbils associated with a shift in mucin production from glandular to surface mucous cells. Int J Cancer 119:1558–1566
44. Machida-Montani A, Sasazuki S, Inoue M et al (2004) Association of Helicobacter pylori infection and environmental factors in non-cardia gastric cancer in Japan. Gastric Cancer 7:46–53
45. Tsugane S, Tei Y, Takahashi T et al (1994) Salty food intake and risk of Helicobacter pylori infection. Jpn J Cancer Res 85:474–478
46. Beevers DG, Lip GY, Blann AD (2004) Salt intake and Helicobacter pylori infection. J Hypertens 22:1475–1477
47. Shimizu N, Kaminishi M, Tatematsu M et al (1998) Helicobacter pylori promotes development of pepsinogen-altered pyloric glands, a preneoplastic lesion of glandular stomach of BALB/c mice pretreated with N-methyl-N-nitrosourea. Cancer Lett 123:63–69
48. Toyoda T, Tsukamoto T, Hirano N et al (2008) Synergistic upregulation of inducible nitric oxide synthase and cyclooxygenase-2 in gastric mucosa of Mongolian gerbils by a high-salt diet and Helicobacter pylori infection. Histol Histopathol 23:593–599
49. Nozaki K, Shimizu N, Inada K et al (2002) Synergistic promoting effects of Helicobacter pylori infection and high-salt diet on gastric carcinogenesis in Mongolian gerbils. Jpn J Cancer Res 93:1083–1089

50 Loh JT, Torres VJ, Cover TL (2007) Regulation of Helicobacter pylori cagA expression in response to salt. Cancer Res 67:4709–4715
51. Wang TC, Dangler CA, Chen D et al (2000) Synergistic interaction between hypergastrinemia and Helicobacter infection in a mouse model of gastric cancer. Gastroenterology 118:36–47
52. Takahashi M, Nishikawa A, Furukawa F et al (1994) Dose-dependent promoting effects of sodium chloride (NaCl) on rat glandular stomach carcinogenesis initiated with N -methyl-N'-nitro- N -nitrosoguanidine. Carcinogenesis 15:1429–1432
53. Tricker AR, Preussmann R (1991) Carcinogenic N-nitrosamines in the diet: occurrence, formation, mechanisms and carcinogenic potential. Mutat Res 259:277–289
54. Takahashi M, Hasegawa R (1985) Enhancing effects of dietary salt on both initiation and promotion stages of rat gastric carcinogenesis. Princess Takamatsu Symp 16:169–182
55. Leung WK, Wu KC, Wong CY et al (2008) Transgenic cyclooxygenase-2 expression and high salt enhanced susceptibility to chemical-induced gastric cancer development in mice. Carcinogenesis 29:1648–1654
56. Ferlay J, Bray F, Parkin DM, Pisani P (eds) (2001) Gobocan 2000: cancer incidence and mortality worldwide (IARC cancer bases no. 5). IARC Press, Lyon
57. Lau M, Le A, El-Serag HB (2006) Noncardia gastric adenocarcinoma remains an important and deadly cancer in the United States: secular trends in incidence and survival. Am J Gastroenterol 101:2485–2492
58. Parkin DM (1998) Epidemiology of cancer: global patterns and trends. Toxicol Lett 102–103:227–234
59. Parkin DM, Pisani P, Ferlay J (1999) Global cancer statistics. CA Cancer J Clin 49:33–64
60. Jemal A, Siegel R, Ward E et al (2006) Cancer statistics. CA Cancer J Clin 56(2):106–130
61. Donfrancesco C, Ippolito R, Lo Noce C et al (2012) Excess dietary sodium and inadequate potassium intake in Italy: results of the MINISAL study. Nutr Metab Cardiovasc Dis. doi: 10.1016/j.numecd.2012.04.004
62. MRC, Human Nutrition Research, National Centre for Social Research (2008) An assessment of dietary sodium levels among adults (aged 19–64) in the UK general population in 2008, based on analysis of dietary sodium in 24 hour urine samples. 2008/0730 http://www.food.gov.uk/news/pressreleases/2008/jul/sodiumrep08. Accessed 22 July 2008
63. Brown IJ, Tzoulaki I, Candeias V et al (2009) Salt intakes around the world: implications for public health. Int J Epidemiol 38:791–813
64. World Health Organization (2003) Diet, nutrition and the prevention of chronic diseases: report of a joint WHO/FAO expert consultation
65. Campbell N, Correa-Rotter R, Neal B et al (2011) New evidence relating to the health impact of reducing salt intake. Nutr Metab Cardiovasc Dis 21(9):617–619
66. Cappuccio FP, Capewell S, Lincoln P et al (2011) Policy options to reduce population salt intake. BMJ 343:d4995
67. Geneau R, Stuckler D, Stachenko S et al (2010) Raising the priority of preventing chronic diseases: a political process. Lancet 376(9753):1689–1698
68. Strazzullo P, Cairella G, Campanozzi A et al (2012) Population based strategy for dietary salt intake reduction: Italian initiatives in the European framework. Nutr Metab Cardiovasc Dis 22(3):161–166
69. World Health Organization (2007) Reducing salt intake in populations. Report of a WHO Forum and Technical Meeting, Geneva
70. Capewell S, O'Flaherty M (2011) Rapid mortality falls after risk-factor changes in populations. Lancet. doi:10.1016/S0140-6736(10)62302-1

Alkollü İçkiler ve Gazlı İçecekler: Tüketim ve Gastrointestinal Kanser Riski

Rosario Cuomo, Paolo Andreozzi ve Francesco Paolo Zito

Özet

Alkollü içkiler (Aİ) ve gazlı içecekler (Gİ) Dünya çapında yaygın olarak tüketilmektedir. Bu içeceklerin yüksek tüketimi bilim camiasının dikkatini sağlık üzerindeki etkilerine çekmiştir. Alkollü içkilerin tüketimi ile sindirim sistemi kanserleri arasındaki nedensel ilişki ile ilgili epidemiyolojik veriler mevcuttur. Ancak alkolün kanserdeki rolü tam olarak belirlenmemiştir. Deneysel çalışmalarda karsinogenezde rol alan çeşitli mekanizmalar belirlenmiştir; etanol karsinojenik olmamasına rağmen her ikisi de etanol metabolizmasının ürünü olan asetaldehit (AA) ve reaktif oksijen türleri karsinogenezi indükleyen genotoksik etkiye sahiptir. Diğer karsinogenetik mekanizmalar arasında nutrisyonel defisitler, DNA metilasyonunda değişimler ve bozulmuş immun gözetim mevcuttur. Alkollü içkilerin sıklıkla belirli gastrointestinal bozuklara yol açtığından şüphelenildiği için bazı araştırıcılar gastrointestinal kanserlerde rol oynadıkları hipotezini ortaya atmıştır. Karbondioksit gastrointestinal fizyolojiyi direkt mukozal etki ile değiştirmesi ve gaz olmasının yarattığı mekanik basınç ile oluşan indirekt etkisi ile diğer tüm bileşenler arasında ön plana çıkmaktadır. Şeker ve yapay tatlandırıcıların da karsinojenik proseste rol oynayabileceği yönünde tartışmalar mevcuttur. Ancak yapılan çeşitli araştırmalarda gazlı içecekler ile özofagus, gastrik ve kolon kanserleri arasında herhangi bir ilişki gösterilememiştir. Diğer yandan gazlı içeceklerin tüketimi ile pankreas kanseri arasında hafif bir korelasyon bulunmuştur.

R. Cuomo (✉) · P. Andreozzi · F. P. Zito
Department of Clinical & Experimental Medicine, Hospital School of Medicine, Federico II University, Via S. Pansini 5, Building no. 6, 80131, Naples, Italy
e-mail: rcuomo@unina.it

P. Andreozzi
e-mail: paoloandre.85@gmail.com

V. Zappia et al. (eds.), *Advances in Nutrition and Cancer,*
Cancer Treatment and Research 159, DOI: 10.1007/978-3-642-38007-5_7,
© Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2014

Anahtar Kelimeler

Etanol • Gazlı içecekler • Gastrointestinal kanser

Kısaltmalar

AA	Asetaldehit
Aİ	Alkollü İçkiler
ADH	Alkol dehidrogenaz
ALDH	Aldehit dehidrogenaz
CI	Güven aralığı
Gİ	Gazlı içecekler
CYP2E1	Sitokrom P450 2E1
EGJAC	Özofagogastrik bileşimin adenokarsinomu
GCA	Gastrik kardiya adenokarsinomu
Gİ	Gastrointestinal
HCC	Hepatoselüler karsinom
MNNG	N-metil-N0-nitro-N-nitrozoguanidin
NCGA	Kardiya dışı gastrik adenokarsinom
NIH-AARP	Ulusal Sağlık Enstitüleri-Amerikan Emekliler Birliği
RR	Rölatif risk
SAMe	S-adenozil metionin

İçindekiler

1 Giriş 99
2 Alkollü İçkiler ve Gastrointestinal Kanser 100
2.1 İnsan Çalışmaları 101
2.2 Alkol Hasarı: Hayvan Deneyleri 103
2.3 Alkollü İçkiler ve Gastrointestinal Kanserler: Muhtemel Mekanizmalar 104
3 Gazlı içecekler ve Gastrointestinal Kanser 106
3.1 Gazlı içecekler ve Gastrointestinal Kanser: İnsan Çalışmaları 108
3.2 Gazlı içecekler ve Gastrointestinal Kanser: Hayvan Deneyleri 113
3.3 Muhtemel Mekanizmalar 113
4 Sonuçlar Referanslar 115
Referanslar 116

1 Giriş

Alkollü içkiler (Aİ) ve gazlı içecekler (Gİ) Dünya çapında yaygın olarak tüketilmektedir. Dünya Sağlık Örgütü'nün son raporunda 2005 yılındaki yetişkin başına yıllık alkol tüketimi 6.13 litredir. Bu rakam batı uygarlıklarında ve ekonomisi büyüyen ülkelerde daha yüksektir. Etanol tüketimi 1990 yılında beri sabit kalmış olsa da gençler arasında tüketim artışı görülmektedir [26]. Gazlı içecekler son birkaç dekadda hızla yaygınlaşarak Aİ tüketimini geçmiştir. Gazlı içecekler günümüzdeki en popüler meşrubat tipidir. Birçok insanın bunları günlük olarak tüketmeleri enerji alımının majör komponentlerinden birisi haline gelmelerini sağlamıştır [67]. 2006 yılındaki kişi başına yıllık Gİ tüketimi 30.2 litredir. Tüketimleri gelişmekte olan ülkelerde artarken Kuzey Amerika ve Avrupa'da sabit seyretmekte veya azalmaktadır [74]. Alkollü içkiler ve gazlı içeceklerin insan sağlığı üzerindeki etkilerini araştıran çeşitli çalışmalarda ortaya farklı sonuçlar çıkmıştır. Alkol nedeniyle oluşan sağlık yükü çok yüksektir: Önemli kronik hastalıklara yol açmakta ve dünyadaki ölüm nedenleri arasında üçüncü sırada yer almaktadır (global ölümlerin %3-8'i). Alkollü İçecekler nöropsikiyatrik, kardiyovasküler, gastrointestinal ve karaciğer hastalığı ile ilişkilidir. Aynı zamanda intihar, şiddet ve yaralanmalara da yol açarlar [58]. Ayrıca başta gastrointestinal kanal kanserleri olmak üzere çeşitli kanser tiplerinin etanol tüketimi ile ilişkisi alkol tüketimi ile ilişkili global ve spesifik kanser riskini araştıran çok sayıda insan çalışması ile konfirme edilmiştir.

Gazlı içeceklerin kompleks içerikleri nedeniyle insan sağlığı üzerindeki etkilerini tespit etmek çok zordur. Şeker veya yapay tatlandırıcılar içeren hem düşük hem yüksek kalorili gazlı içecekler mevcuttur. Gazlı içeceklerde farklı yapay tatlandırıcılar kullanılmaktadır: aspartam, sakarin, sukraloz, sorbitol, mannitol ve diğer birçok çeşit. Uluslararası bilim camiası bu içeceklerin metabolik etkileri ile ilgili olarak alarm halindedir. Ana endişe yüksek kalorili gazlı içeceklerin çocuk ve adolesanlar tarafından tüketilmesidir. Çünkü çeşitli çalışmalarda gazlı içeceklerin sıklıkla daha besleyici olan süt ve meyve suyunun yerini aldığını göstermektedir [39]. Gazlı içecekler ile obezite ve metabolik sendrom arasındaki ilişki olduğu hipotezi mevcuttur. Ayrıca dental, pulmoner ve kardiyovasküler hastalıklar da bu içeceklerin tüketimi ile ilişkilidir. Gazlı içeceklerin bazı bileşenlerinin direkt ve indirekt etkisi olduğu varsayılmış olsa da tüketimleri ile çeşitli kanser türleri arasındaki ilişki hala net değildir. Bu makalede etanol ve Gİ tüketiminin neoplastik hastalıklarla ilişkilerini incelerken esas olarak gastrointestinal kanserlere odaklanacağız. Bu ilişkinin doğru bir şekilde değerlendirilebilmesi için Aİ ve gazlı içecekleri ayrı ayrı değerlendireceğiz. Amacımız bu içeceklerin tüketimiyle ilişkili kanser riski ile ilgili epidemiyolojik verilere ve olası karsinojenik mekanizmalara odaklanmaktır. Gazlı içecekler çok sayıda bileşen içerdikleri için başlıca karbondioksit, şeker, tatlandırıcı ve katkı maddelerinin insan sağlığı üzerindeki etkilerini değerlendireceğiz.

2 Alkollü İçkiler ve Gastrointestinal Kanser

Alkol ve kanser ilişkisine ilginin giderek artması bu içeceklerin tüm dünyada yaygın olarak kullanılmasından kaynaklanmaktadır. Alkollü İçeceklerin çeşitli kanserler için risk faktörü olduğunu gösteren çok miktarda kanıt mevcuttur. Orta derecede tüketilse bile, alkolün sindirim sistemi, oral kavite, larenks ve meme kanseri ile ilişkisi vardır [10]. Bu korelasyon etanolün (veya metabolitlerinin) insanda karsinogenezise katkı yapan bir faktör olduğunu gösteren çok sayıda epidemiyolojik ve hayvan çalışmasıyla desteklenmektedir.

Güncel bir makalede tüm kanser vakalarının %3.6'sının alkol ile ilişkili olduğu tespit edilmiştir. Bu oran dünyanın farklı coğrafi bölgelerindeki tüketim farklılıkları nedeniyle büyük değişkenlikler göstermektedir [10]. Bu veriler alkol tüketimi ile ilişkili büyük sağlık yükünü konfirme etmektedir. Alkolün karsinojenik etkileri ilgili artan kanıtlar Uluslararası Kanser Araştırma Ajansının alkollü içkilerde bulunan etanol ve asetaldehiti (AA) insanlar için kesinlikle karsinojen olarak sınıflamasına neden olmuştur [79]. Ancak alkol karsinogenezinin mekanizması henüz kesin olarak belirlenememiştir. Bu süreçte rol oynayan mekanizmalar muhtemelen çeşitli hedef organlara göre farklılıklar göstermektedir [10].

Tablo 1 Alkollü içki tüketimi ile ilişkili rölatif gastrointestinal kanser riski

Organ	Alkol tüketimi	RR	CI	Sinerji
Özofagus				
Skuamoz hücreli karsinom	210-420 gr/hafta	1.93	1.08–3.45	Sigara
Pandeya ve ark.[71]	>420 gr/hafta	4.67	2.28–9.55	
Adenokarsinom	210-420 gr/hafta	0.67	0.37–1.21	
Pandeya ve ark.[71]	>420gr/hafta	0.89	0.42–1.89	
Mide	>25gr/gün	1.07	1.04–1.10	Sigara
Bagnardi ve ark.[3]	>100gr/gün	1.32	1.18–1.49	
	1-4 kez/14 gün	1.30	0.78–2.16	
Sjodahl ve ark.[81]	>4 kez/14 gün	1.49	0.78–2.83	
Kolon ve rektum	30-45 gr/gün	1.16	0.99–1.36	Folat eksikliği
Cho ve ark.[14]	>45gr/gün	1.41	1.16–1.72	
Karaciğer	>0 gr/gün	2.4	1.3–4.4	Viral hepatit
Hassan ve ark.[40]	>80 g/gün	4.5	1.4–14.8	
Pankreas	>60 g/gün	1.38	0.86–2.23	Sigara-alkol-kadın cinsiyet
Michaud ve ark.[62]				

2.1 İnsan Çalışmaları

Çeşitli epidemiyolojik çalışmalarda kanser ve alkol tüketimi arasındaki korelasyon incelenmiştir. Kanada'da yapılan popülasyon tabanlı, vaka kontrol çalışmasında alkol tüketenlerdeki çeşitli kanser türlerinin (özofagus, mide, kolon, karaciğer, pankreas, akciğer, prostat) rölatif riskinin (RR) alkol kullanmayanlara veya ara sıra kullananlara göre daha yüksek olduğu gösterilmiştir [7].

Ancak mevcut veriler, özellikle bazı kanser türleri için (mide, pankreas ve kolon) çelişkilidir. Bu farklılıklar kısmen güvenli alkol kullanımı ile ilgili kabul edilen bir eşik değer olmamasından kaynaklanmaktadır [97]. Bu eşik değerin yokluğu bireylerin kanser riskine maruz kalıp kalmadığını anlamamıza engel olmaktadır. Bir başka neden de bir bireyin alkol tüketiminin tahmin edilmesindeki güçlüktür. Diğer taraftan birçok çalışmada kanser gelişiminde etkili olma ihtimali olan çeşitli tiplerdeki içecekler (şarap, sert içkiler, bira vs.) ve sigara gibi diğer risk faktörleri göz önüne alınmamaktadır. Ayrıca çalışmalara kaydedilen denek sayılarının farklı olması alkol kullanımına bağlı kanser riski ile ilgili çelişkili sonuçların bir başka nedeni olabilir.

Bu makalede sadece alkollü içecekler ile gastrointestinal kanal kanserleri arasındaki ilişkiyi araştıran epidemiyolojik çalışmalara odaklanacağız (bkz. Tablo 1).

2.1.1 Özofagus Kanseri

Çeşitli epidemiyolojik çalışmalarda kronik alkol tüketimi ile skuamoz hücreli özofagus karsinomu (ESCC) arasında nedensel bir ilişki gösterilmiştir; tüketim dozuna bağlı olan bu ilişki sigara kullanımı ile de sinerjistik etkiye sahiptir. Büyük bir vaka kontrol çalışmasında özofagus kanseri ile alkol kullanımı arasındaki ilişki değerlendirilmiştir; veriler ESCC'nin rölatif riskinin 210-419.9 gr/hafta alkol tüketenlerde 1.93 (CI 1.08-3.45), 420 gr/hafta'dan daha fazla tüketenlerde de 4.67 (CI 2.28-9.55) seviyesine yükseldiğini göstermiştir. 420 gr/hafta'dan daha fazla alkol tüketen ve sigara kullananlardaki rölatif risk 21.87 (CI 3.90-122.49) bulunmuştur [71]. Çeşitli çalışmalar da bulunan bu ilişkiyi konfirme etmektedir: Boffetta ve ark. [9] günde 12 gr (RR=1.37) alkol tüketenlerde tespit ettikleri risk artışının günde 72 gr alkol tüketenlerde (RR=5.8) daha da arttığını tespit etmişlerdir.

Eski çalışmalarda da özofagus adenokarsinomu riskinin alkol tüketimi ile anlamlı olarak arttığı ortaya koyulmuştur [98]. Ancak popülasyon tabanlı çalışmalara alkol tüketimi ile Barrett özofagusu ve özofagus adenokarsinomu arasında bir ilişki gösterilememiştir [2, 47, 71].

2.1.2 Mide Kanseri

Alkol tüketiminin mide kanserini etkilediği yönünde tutarlı veriler mevcut değildir. Epidemiyolojik çalışmaların verileri alkolün mide kanseri gelişimindeki zararlı etkilerini kesin olarak desteklememektedir.

Vaka kontrol ve kohort çalışmalarının bir metaanalizinde 25 gr/gün ve 100 gr/gün alkol tüketimi ile rölatif riskin hafifçe arttığı bulunmuştur. 25 gr/gün tüketim için RR=1.07

(CI 1.04-1.10); 100 gr/gün tüketim için RR=1.32 (CI 1.18-1.49) [3]. Devamında yapılan büyük ölçekli kohort çalışmasında bira, şarap ve sert içki tüketimi ile gastrik kanser arasında bir ilişki gösterilememişken, orta-sert/sert bira tüketiminin rölatif riski 2.09 (CI 1.11-3.93) bulunmuştur [50]. Çalışmanın yazarları alkolden ziyade biranın içindeki bileşenlerin mide kanseri riskinde artış ile ilişkili olabileceğini bildirmişlerdir.

Ek olarak Norveç'te yapılan güncel bir kohort çalışmasında tek başına alkol tüketiminin kanser risk ile anlamlı ilişkisi olmadığı, ancak yüksek sigara (>20 adet/gün) ve alkol (>5 kez/ 14 gün) kullanımı ile görülen gastrik kanser riskinin sigara içmeyen veya alkol kullanmayan bireylere göre yükseldiği bildirilmiştir (RR = 4.38 CI 1.72–11.17) [81].

2.1.3 Kolorektal Kanser

Alkolün kolon ve rektum üzerindeki karsinojenik etkileri tartışmalıdır. Kronik alkoliklerde bozulan metabolizma ve diyetle yetersiz alım sonucu oluşan düşük folat seviyeleri kolorektal kanserde artışa yol açabilmektedir. Breslow ve Enstrom 1974 yılında bira tüketimi ile rektal kanser ilişkisini ilk kez araştıran bilim adamlarıdır [13]. Devamında gerçekleştirilen bazı çalışmalar ve metaanalizler alkol tüketiminin kolorektal kanser riskini hafifçe artırdığı hipotezini desteklemiştir [17, 27]. Kohort çalışmalarının güncel bir toplu analizi de alkol ve kolorektal kanser arasındaki ilişkiyi desteklemektedir. 30-45 gr/gün ve 45 gr/gün'den daha yüksek etanol tüketenlerdeki rölatif riskler içki içmeyenler ile kıyaslandığında sırasıyla 1.16 (CI 0.99-1.36) ve 1.41 (CI 1.16-1.72) şeklindedir. Farkı alkollü içeceklerin kolon ve rektum kanseri riskini etkileme dereceleri arasında bir fark gözlenmemiştir [14].

2.1.4 Hepatoselüler Karsinom

Alkol ve karaciğer kanseri arasındaki ilişki özellikle hepatoselüler kanser (HCC) bazında iyi bilinmektedir [72]. Alkol tüketiminin ABD ve Kuzey Avrupa gibi hepatit A ve B virüs enfeksiyonlarının prevalanslarının düşük olduğu popülasyonlarda HCC gelişimi için en önemli risk faktörü olduğu kabul edilmektedir. Alkole bağlı HCC gelişiminde rol oynayan ana karsinojenik mekanizmanın karaciğer sirozu gelişimine bağlı olması muhtemeldir. Ancak reaktif oksijen türleri veya AA ve karsinojenlerin hepatik metabolizmalarının artışı ile indüklenen DNA hasarının da bir rolü olabilir. Ayrıca tütün ve hepatit B veya C virüsü gibi eşlik eden diğer faktörler de HCC riskini artırabilir. Global alkol tüketimi için rölatif risk 2.4 (CI 1.3-4.4) seviyesinde iken, bu oran aşırı alkol tüketenlerde (>80 gr/gün) 4.5 (CI 1.4-14.8) bulunmuştur. Kronik viral hepatit ve ağır alkol tüketimi birlikteliğindeki rölatif risk ise 53.9 (CI 7.0-415.7) bulunmuştur [40].

2.1.5 Pankreas Kanseri

Alkol tüketimine bağlı olarak gelişen kronik pankreatit, alkollü içkilerin pankreatik karsinogenezde de rol oynayabileceği düşüncesini doğurmuştur. Bazı çalışmalarda alkol

tüketiminin pankreatik adenokarsinom için muhtemel bir risk faktörü olduğu belirlenmiştir. Ancak bu ilişkinin geçerliliği hala tartışılmaktadır.

14 kohort çalışmasını değerlendiren güncel bir metaanalizde >30 gr/gün alkol tüketen kadınlardaki pankreas kanseri riskinin alkol kullanmayanlara göre arttığı (RR 1.41, CI 1.07–1.85) bulunurken erkeklerde bir ilişki tespit edilememiştir ve çeşitli alkollü içkilerin kanser riski üzerinde farklı etkileri bulunmamıştır. Bu veriler maruz kalınan yıl sayısı, yaş, sigara, vücut kütle indeksi ve diyabete göre düzeltilmiştir [32]. İkinci bir metaanalizde de karıştırıcı faktörlere göre düzeltilen veriler alkol tüketimi ile kanser arasında anlamlı bir ilişki göstermemiştir (RR 1.38, CI 0.86–2.23). Ancak ciddi içki tüketen erkeklerdeki risk artmıştır (>45 gr/gün) (RR 2.23, CI 1.02–4.87) [62].

Pankreas kanseri ile alkol tüketimi arasındaki muhtemel ilişkinin netleştirilebilmesi için yeni çalışmalara ihtiyaç vardır.

2.2 Alkol Hasarı: Hayvan Deneyleri

Deneysel hayvan çalışmalarında alkol karsinogenezinde rol oynayan bazı mekanizmaların rolü gösterilebilmiştir. Alkolün hayvanlardaki karsinojenik etkisi kullanılan deney yöntemine bağlıdır. Alkolün lokal uygulanması ile oluşan tümör irritan etkiye bağlıdır. Ancak sistemik uygulamada kimyasal yolla indüklenen karsinogenezi stimüle edici etki göstermektedir [72]. Alkolün tek başına bir karsinojen olmadığı ile ilgili kanıtlar uzun süredir mevcuttur: Alkol farelere transplante edilen tümörlerdeki DNA mutasyonlarını, tümör büyümesini veya metastatik yayılımı stimüle edemez [46]. Alkol tek başına kanser gelişimine yol açamıyor da olsa direkt karsinojenlerin etkilerini artırdığı için kokarsinojen olarak değerlendirilir. Ayrıca deneysel çalışma verileri alkolün karsinojenik etkilerinin kendisinden değil, yol açtığı AA üretiminden kaynaklandığı görüşünü desteklemektedir [80].

Sıçanlara AA uygulanması ile üst gastrointestinal kanal epitelinde hiperplastik ve hiperproliferatif değişimlerin indüklenebildiği gösterilmiştir [42]. Çeşitli bakterilerin alkolü AA'ya metabolize edebilmesini değerlendiren bazı araştırmacılar alkolle ilişkili üst gastrointestinal sistem kanserlerinde oral bakterilerin olası rolü ile ilgili bir hipotez geliştirmişlerdir [80].

Alkolün gastrik kanserdeki rolü ile ilgili hayvan deneyi verileri çelişkilidir. Alkolün bilinen gastrik karsinojenlerin etkisini artırıcı özelliği ile ilgilenen bazı araştırmacılar birlikte uygulama yaparak olası sinerjistik etkileri araştırmışlardır. Ancak N-metil-N0-nitro-N-nitrozoguanidin (MNNG) uygulanan sıçanlara içme suyu içinde verilen %10'luk kronik etanol ile görülen gastrik tümör gelişimi kontrol grubundan bir farklılık göstermemiştir [94].

Ayrıca deney hayvanlarından elde edilen veriler alkolün karaciğer kanserini tek başına indükleyemediğini göstermektedir. Tümör indükleyici bileşik olarak nitrozamin uygulaması yapılan hayvan deneylerinde tek başına etanolün hepatokarsinogenezi inhibe edebildiği gösterilmiştir [72]. Sadece, alkol ile hepatektomi [86] veya düşük metil donör

diyeti [92] gibi diğer karsinojenik faktörlerin kombinasyonunun hayvan modellerindeki karaciğer tümörlerinin gelişimi ile ilişkili olduğu gösterilmiştir.

2.3 Alkollü İçkiler ve Gastrointestinal Kanserler: Muhtemel Mekanizmalar

Alkol karsinogenezisinin altında yatan faktörler tam olarak anlaşılamamıştır. Muhtemelen birçok farklı bölgede etki yapabilen diğer karsinojenlere bağlı olarak hedef organ bazında farklılıklar gösterebilir. Eldeki kanıtlar etanolün tek başına karsinojen olmadığını göstermektedir [46]. Ancak mukozanın karsinojenlere maruziyetini artıran lokal bir etkiye sahip olabilir. Ancak etanol metabolizması (AA üretimi veya sitokrom P450 2E1'in indüksiyonu), nutrisyonel defisitler ve bozulmuş gen ekspresyonu ya da immun gözetim sistemi, alkol ile ilişkili karsinogenezde rol oynadığı düşünülen ana mekanizmalardır [72] (bkz. Tablo 2).

Ayrıca alkol ve folat metabolizması ile ilişkili genlerdeki varyantlar alkol kullananlardaki kanser gelişimini etkileyebilmektedir. Etanole maruziyet sonucunda oluşan hücresel toksik etkiler ile kişisel duyarlılık derecesi arasındaki ilişkinin sonucunda kanser gelişiminin etkilendiğini gösteren kanıtlar mevcuttur [22].

2.3.1 Lokal Etkiler

Akut etanol uygulamasının solvent etkisi göstererek biyolojik membranların geçirgenliğini artırdığını ve karsinojenik moleküllerin hücre içine girişini kolaylaştırdığını gösteren güçlü kanıtlar mevcuttur [96].

Tablo 2 Alkollü içkilere bağlı karsinogenezin olası mekanizmaları

	Etanol etkisi	Karsinojenik mekanizma
Lokal etkiler	Etanolün solvent etkisi	Karsinojenlerin epitel hücrelerine girişlerinin kolaylaşması
	Tükürük bezlerinin morfolojik ve fonksiyonel değişimleri	
	Reaktif oksijen ve nitrojen türlerinin üretimi	Oksidatif stres, lipid peroksidasyonu ve DNA hasarı
Etanol metabolizması	Asetaldehit üretimi	Stabil katım ürünlerinin DNA ile üretimi
	Sitokrom CYP2E1 indüksiyonu	Prokarsinojen metabolizmanın bozulması
Gen ekspresyon değişimleri	Folat eksikliği, metioninsentetaz ve DNA metilaz inhibisyonu	Tümör yapıcı genlerin azalmış metilasyonu
İmmun gözetim	Doğal katil hücrelerin bazı aktivitelerinin inhibisyonu	Kanser büyümesinin kolaylaşması
Nutrisyonel bozukluklar	Folat, vitamin A ve beta karoten eksiklikleri	DNA metilasyonunun bozulması ve oksidatif stres artışı

Bu etkiler alkol ve sigaranın baş ve boyun kanserlerindeki sinerjistik etkisini açıklayabilir. Aynı etki sigara içmeyenlerde mevcut değildir. Diğer yandan oral kavitenin kronik alkole maruz kalması ile spesifik bir savunma mekanizmasında bir dizi morfolojik ve fonksiyonel değişimler oluşabilmektedir: Parotis ve submaksiller bezlerin alkole bağlı atrofileri sonucunda tükürük miktarının azalması ve vizkozitesinin artışı oral kavitedeki karsinojenlerin temizlenmelerinin azalmasına yol açar. Böylece epitel hücreleri daha yüksek konsantrasyonda karsinojene maruz kalmış olur [55].

2.3.2 Etanol Metabolizması

Etanol metabolizması alkol karsinogenezinde önemli bir rol oynar: Etanol primer olarak karaciğer hücrelerinde alkol dehidrogenaz (ADH) veya sitokrom P450 2E1 (CYP2E1) etkisiyle etanol metabolizmasının ana ürünü olan AA'ya okside olur. AA devamında aldehit dehidrogenaz (ALDH) tarafından asetata dönüştürülür. AA ve reaktif oksijen türleri DNA hasarı yaparak karsinogenezi indükleyebilirler.

Etanolün ana metaboliti olan AA'nın direkt mutajenik ve karsinojenik etkileri çok sayıda deney tarafından gösterilmiştir. AA özellikle DNA'ya bağlanarak ve stabil katım ürünleri üreterek replikasyon hatalarını ve onkojen veya onkolojik baskılayıcılardaki mutasyonları tetikleyebilir [24]. AA üretimi multipl genler tarafından kodlanan ADH ve ALDH aktivitesine bağlıdır. Bazı polimorfizmler, bu genlerin sahip oldukları çeşitli varyantlar nedeniyle AA düzeylerini artırarak alkolle ilişkili kanserlere karşı predispozisyonu indükleyebilirler. Giderek artan sayıda çalışmada insanlardaki genetik duyarlılık ile alkol tüketiminin kanser riski ile ilişkili olduğu bildirilmektedir. Mevcut verilerin çoğu alkol karsinogenezinde ADH1B ve ALDH2 polimorfizmlerinin güçlü, CYP2E1 polimorfizminin ise daha az güçlü rol oynadığını desteklemektedir [22].

Ayrıca reaktif oksijen ve nitrojen türlerinin üretimleri de alkol ile ilişkili karsinogenez de rol oynayan bir mekanizmayı harekete geçiriyor olabilir: Etanol metabolizması oksidatif stresi artırırken lipid peroksidasyonunu indükler. Lipid peroksidasyon ürünlerinin ekzosiklik DNA katım ürünleri oluşturmak amacıyla DNA ile etkileştiği bilinmektedir. Bu karaciğer karsinogenezinde özel rol oynayan mekanizmalardan birisidir [23, 41, 64].

Sonuç olarak alkollü içkilerin kronik tüketimi ile sitokrom CYP2E1 indüklenir. CYP2E1 nitrozaminler, aflatoksin ve vinil klorid gibi düşük alkol tüketimiyle (40 gr/gün) bile oluşabilen prokarsinojen özelliğe sahip çeşitli ksenobiyotiklerin metabolizmalarında rol oynamaktadır [70]. Etanol ve prokarsinojen metabolizma arasındaki ilişki karmaşık olup CYP2E1 indüksiyonunun derecesine, prokarsinojenin kimyasal yapısına ve prokarsinojen metabolizması sırasında vücutta alkol bulunup bulunmamasına bağlı olabilir [80].

2.3.3 Nütrisyonel Bozukluklar

Alkolizm dünyadaki malnütrisyonun ana nedenlerinden birini oluşturur. Kronik tüketime bağlı olarak oluşabilen çeşitli vitamin ve mikrobesin eksiklikleri kanser gelişimine katkı yapabilir. Ancak bu süreçteki rolleri henüz net olarak anlaşılamamıştır. Ağır alkol tüketiminin folat metabolizmasını hem az tüketim hem de AA tarafından parçalanması

nedeniyle etkilediği düşünülmektedir. Folat eksikliği transmetilasyonun inhibisyonunu etkileyerek karsinogenezde potansiyel rol oynayabilen gen ekspresyon değişimine yol açabilir [85]. Ayrıca kronik alkoliklerde görülen B12 ve B6 vitaminlerinin alım ve metabolizmalarındaki bozukluklar DNA metilasyonunun bozulmasına katkı yapabilir [10]. Çeşitli çalışmalarda A vitamini ve beta-karoten eksikliğinin alkol karsinogenezinde önemli olabileceği vurgulanmıştır [93]. Uzun süreli alkol kullanımının retinoid ve karotenoid alımında azalmaya neden olduğu ve reaktif oksijen türlerinin üretimi ile de retinolun yıkılmasına katkı yaptığı gösterilmiştir [53].

2.3.4 Gen Ekspresyon Değişimleri

DNA metilasyonu gen ekspresyonunu engeller. Metilasyon azaldığında ise gen ekspresyonu artar. Tümör indükleyici genlerin metilasyonlarının azalmasının alkol ile ilişkili kanser gelişiminde rol oynayan bir mekanizma olduğu hipotezi geliştirilmiştir. Bu mekanizmanin karaciğer kanseri gelişiminde kritik bir rol oynadığı düşünülmektedir. Bazı kanıtlar kronik alkol tüketiminin DNA metilasyon düzeyinde önemli değişiklikleri indüklediğini doğrulamaktadır [15].

Deneysel çalışmalarda alkol tüketiminin DNA metilasyonunu farklı şekillerde etkilediği gösterilmiştir: Folat eksikliği, metil gruplarını DNA'ya transfer eden metionin sentetazın (homosisteini metionine remetile eden ve DNA metilazı inhibe eden enzim) aktivitesinin azalması [72]. Kronik alkol kullananlarda DNA metiltransferaz enzimlerinin inhibisyonuyla ilgili homosistein artışı ve metiladenoziltransferaz aktivitesinin azalması sonucunda S-adenozil metioninin (SAMe: DNA metilasyon reaksiyonlarının metil donörü) azaldığını gösteren kanıtlar mevcuttur. SAMe eksikliği DNA hipometilasyonunu indükleyip, DNA instabilitesini artırdığı için kanser riskinde artış ile ilişkilidir [65].

2.3.5 Alkol ve İmmun Gözetim

Alkolün kötüye kullanımının immun yetmezlikle ilişkisi ve kronik alkoliklerin enfeksiyonlara karşı daha duyarlı oldukları iyi bilinmektedir. Alkol tüketiminin hem doğal hem de spesifik immun cevabı bozabildiğini ve kanser hücre gelişimini kolaylaştırabildiğini gösteren kanıtlar mevcuttur [16]. Hayvan deneylerinde tek bir etanol dozu sonrasında doğal katil hücrelerin sayı ve litik aktivitelerinin azalarak immun gözetimin bozulduğu gösterilmiştir [99]. Kronik alkol tüketiminde görülen malnütrisyon ve vitamin eksikliği gibi faktörlerin de immun gözetimi bozabildiği ve kanser gelişimini indükleyebildiği bilinmektedir.

3 Gazlı içecekler ve Gastrointestinal Kanser

Gazlı içecekler dünyadaki en popüler meşrubatlardır. Tüm gazlı içecekler arasında en sık tüketileni normal Cola'dır. 1886 yılında Atlanta'da yaşayan bir eczacı tarafından karbonatlı su, şeker şurubu, fosforik asit, kafein ve diğer doğal bazı aromaların tesadüf eseri karıştırılması ile dünyadaki en popüler alkolsüz içecek ortaya çıkmıştır. Gazlı içeceklerin

Tablo 3 Gazlı içecek tüketimi ile ilişkili gastrointestinal kanserlerin rölatif riskleri

Organ	Gazlı içecek tüketimi	RR	CI
Özofagus			
Skuamöz hücreli karsinom	1 kutu/hafta	0.70	0.41–1.18
	2-6 kutu/hafta	0.66	0.39–1.11
Ren ve ark.[75]	>6 kutu/hafta	0.85	0.46–1.56
	1-6 içecek/hafta	0.68	0.45–1.03
	7-20 içecek/hafta	0.67	0.45–1.01
Ibiebele ve ark.[44]	>20 içecek/hafta	0.40	0.20–0.78
Adenokarsinom	1 kutu/hafta	1.52	0.97–2.38
	2-6 kutu/hafta	1.36	0.88–2.12
Ren ve ark. [75]	>6 kutu/hafta	1.11	0.66–1.85
	1-6 içecek/hafta	1.12	0.74–1.70
	7-20 içecek/hafta	1.01	0.65–1.58
Ibiebele ve ark.[44]	>20 içecek/hafta	0.94	0.53–1.66
Mide			
Kardiya adenokarsinomu	12-103 içecek/yıl toplam gazlı içecek	0.86	0.52–0.40
	104-364 içecek/yıl toplam gazlı içecek	0.97	0.62–1.51
Mayne ve ark.[59]	>365 içecek/yıl toplam gazlı içecek	0.74	0.46–1.16
Kardiya dışı adenokarsinom	12-103 içecek/yıl toplam gazlı içecek	0.79	0.52–1.21
	104-364 içecek/yıl toplam gazlı içecek	0.78	0.52–1.16
Mayne ve ark.[59]	>365 içecek/yıl toplam gazlı içecek	0.65	0.43–0.98
Kolon ve rektum	0-250 gr/gün	0.96	0.90–1.02
	250-550 gr/gün	1.08	0.87–1.34
Zhang ve ark.[100]	>550 gr/gün	0.94	0.66–1.32
Pankreas	≤3/hafta	1.05	0.84–1.31
Schernhammer ve ark.[77]	>3/hafta	1.13	0.81–1.58
	≤2/hafta	0.73	0.40–1.33
Muelleretal.[66][a]	>2/hafta	1.87	1.10–3.15

[a] Çin populasyonu

bileşenleri çok çeşitli olduğu için sağlık üzerindeki etkilerini analiz etmek güçtür. Bu nedenle birçok çalışmada tek bir bileşenin değil içeceğin tamamının hastalık riski üzerindeki etkileri tanımlanmaktadır.

Gazlı içeceklerin gastrointestinal sistem üzerindeki etkisi ile ilişkili farklı görüşler mevcuttur. Bazı görüşler zararlı olduğunu savunurken bazıları da belirli bazı durumlarda tüketildiğinde faydalı olabileceklerini savunmaktadırlar. Bu eğilimin tüketimlerindeki artışa paralel olarak arttığı gözlenmektedir. Gazlı içeceklerin reflü veya özofagus adenokarsinomu riskini artırdıkları hipotezi mevcuttur. Ancak bazı vaka kontrol çalışmalarında larenks ve özofagus kanserleri ile gazlı içecek tüketimi ters orantılı ya da ilişkisiz bulunmuştur [44, 48, 59, 101].

Alkolsüz içecekler ABD halkının diyetindeki en önemli ilave şeker kaynağıdır [37]. Bu durum hiperglisemi ve hiperinsülinemiye büyük oranda katkı yapar [12]. Bazı çalışmalarda yüksek oranda alkolsüz meşrubat tüketenlerde obezite [33, 56, 78], tip 2 diyabet [20, 21] ve pankreas kanserine yol açabilme ihtimali olan bozuklukların [43, 51, 97] görülme riskinin artmış olduğu gösterilmiştir (bkz. Tablo 3).

3.1 Gazlı içecekler ve Gastrointestinal Kanser: İnsan Çalışmaları

3.1.1 Özofagus Kanseri

Gazlı içecekler özofagus adenokarsinomu gelişimi için bilinen bir risk faktörü olan gastroözofageal reflü ile ilişkilidir. ABD'nin üç coğrafi bölgesinde gerçekleştirilen çok merkezli, popülasyon tabanlı, vaka kontrol çalışmasında gazlı içecek tüketimi ile özofagus karsinomu arasındaki ilişki incelenmiştir [59]. Çalışmaya katılan hastalara teşhisten önceki 3-5 yıl içindeki "diyet meşrubat veya diyet kola" ve "normal meşrubat veya normal kola" tüketimlerinin sıklığı (her gün, hafta, ay, yıl) sorulmuştur. Aynı bilgi içecekler kontrol deneklerinden de alınmıştır. Bu içeceklerin sıklığı toplam tüketimi tahmin etmekte kullanılmıştır. Elde edilen sonuçlar dörtte birlik dilimlere bölünmüştür. Analizde 687 kontrol ile 282 özofagus adenokarsinom, 255 gastrik kardiya adenokarsinom, 352 de kardiya dışı gastrik adenokarsinom hastası yer almıştır. Öne sürülen hipoteze aykırı olarak gazlı içecek tüketiminin (primer olarak düşük kalorili gazlı içeceklerin) özofagus adenokarsinomu ile ters orantılı olduğu tespit edilmiştir. Yüksek gazlı içecek tüketimi kadın ve erkeklerdeki herhangi bir özofagus kanseri alt tipinin artışına neden olmamıştır. Bu bulgular gazlı içeceklerin (özellikle düşük kalorili olanların) özofagus kanseri riski ile ters orantılı oldukları için insidans oranlarının artmasına katkı yapmalarının küçük bir ihtimal olduğunu göstermiştir.

Mayne ve ark. tarafından bu çalışma için yapılan yorumda kontrol deneklerinin özofagus kanseri hastalarına göre daha genç oldukları ifade edilmiştir [57]. Ayrıca kontrol hastalarının özofagus adenokarsinomu olan hastalara göre anlamlı olarak daha yüksek gelire sahip oldukları da yorumda yer almıştır. Devam etmekte olan gıda tüketim araştırmasında gazlı içecek tüketiminin gelir düzeylerine göre önemli farklılıklar gösterdiği bildirilmiştir [89]. Mayne çalışmasını hedef alan bir başka eleştiri de gazlı içecek tüketim sürelerinin çalışmada yer almamasıdır. Gerçekten de çalışmadaki gazlı içecek tüketimi kanser teşhisinden 3-5 yıl öncesine kadar soruşturulmuş olmasına rağmen gazlı içecek-

lerin oluşturdukları gastroözofageal reflünün birkaç dekad sürerek özofagus adenokarsinomuna etki yaptığı hipotezi geliştirilmiştir.

Ulusal Sağlık Enstitüleri ve Amerikan Emekliler Birliği (NIH-AARP) Diyet ve Sağlık Çalışmasından alınan verileri inceleyen bazı araştırmacılar sıcak çay, buzlu çay, kahve ve gazlı içecek tüketimi ile üst gastrointestinal kanser riski arasındaki ilişkiyi incelemiştir [75]. Sekiz ABD eyaletinde oturan (Kaliforniya, Florida, Louisiana, New Jersey, Kuzey Carolina, Pennsylvania, Georgia ve Michigan) 50-71 yaşlarındaki AARP üyelerine diyet ve sağlıkla ilgili davranışları içeren anketler postalanmıştır. Veri tabanından elde edilen bilgiler araştırıcıların 428 kanser vakasındaki alkolsüz içecek tüketimi ile kanser gelişimi arasındaki ilişkiyi tanımlamalarına olanak vermiştir (özofagus skuamöz hücreli karsinomu ve özofagus adenokarsinomu). Çalışma kutu sayısına göre tespit edilen tüketim miktarları göz önüne alınarak yapılmıştır (hiç, >1 kutu/hafta, 2–6 kutu/hafta, ≥1 kutu/gün). ≤ 1 kutu/hafta tüketenlerde özofagus adenokarsinomu ile (sınırda) anlamlı olmayan bir ilişki bulunmuştur (RR 1.52, CI o.97-1.58). Ancak ≥ 1 kutu/gün (en yüksek grup) tüketenlerdeki RR 1.11'dir (CI 0.66-1.85).

Bir başka çalışmada gazlı içecekler ile özofagus adenokarsinomu (EA), özofagogastrik bileşimin adenokarsinomu (EGJAC) ve ESCC arasındaki ilişki AE insidansının hızla arttığı bir ülke olan Avustralya'da araştırılmıştır [44]. Bu çalışmada gazlı içeceklerin tüketimi ile ilgili veriler gıda sıklığı anketi ile toplanmıştır; demografik, sosyoekonomik ve hayat tarzını ilgilendiren faktörlerle ilgili anket 1484 kontrol, 294 EA, 325 EGJAC ve 238 ESCC hastası tarafından doldurulmuştur. Çalışmanın sonuçları yüksek gazlı içecek tüketiminin EA (RR 0.94, CI 0.53–1.66, trend için p = 0.85) veya EGJAC (RR 1.07, CI 0.67–1.73, trend için p = 0.89) riski ile bir ilişkisi olmadığını, ESCC (RR 0.40, CI 0.20–0.78, trend için p= 0.04) riski ile de ters orantılı bir ilişkisi olduğunu göstermiştir. Araştırıcılar çalışmaya katılan Avustralyalı popülasyondaki ESCC ve diğer özofagus kanseri vakalarının kontrollere göre daha az gazlı içecek tüketme eğiliminde olduklarını gözlemişlerdir. ESCC hastaları aynı zamanda daha yaşlı, daha az obez ve daha nadir reflü görülen grubu oluşturuyordu. Araştırıcılar bu faktörleri düzelterek analizlerinde kullanmış olmalarına rağmen bulgularda bir miktar yanıltıcı verinin kalmış olma ihtimali dışlanamamıştır. Her durumda, gazlı içecek tüketimi ile hiçbir özofagus kanseri tipi arasında bir ilişki bulunmamıştır.

ESCC riski ile gazlı içecek tüketimi arasındaki ters orantılı ilişkiyi gösteren bir başka çalışma da 1992-1997 yılları arasında Kuzey İtalya'daki hastane tabanlı vaka kontrol çalışması verilerini analiz eden Gallus ve ark [29] tarafından yapılmıştır. Çalışmaya histolojik olarak konfirme edilmiş ESCC tanısı olan 304 hasta alınmıştır. Kontrol hastaları ise aynı hastanelere neoplastik, sigara, alkol tüketimi ve uzun süreli diyet modifikasyonu dışındaki çeşitli akut rahatsızlıklarla başvuran 743 hastadan oluşuyordu. Kontrol hastaları ile kanser hastaları yaş, cinsiyet, görüşme yılı ve oturulan bölge yönünden eşleştirilmiştir. Bu çalışmada da gazlı içecek tüketiminin özofagus kanseri riskini artırmadığı ve ESCC riski ile gazlı içecek tüketimi arasında orta derecede ters orantı olduğu bulunmuştur.

İsveç'te yapılan popülasyon tabanlı, vaka kontrol çalışmasında gazlı içecek tüketimi ile EA veya gastrik kardiya adenokarsinomu (GCA) arasındaki ilişki analiz edilmiştir [48]. 1995-1997 yılları arasında EA olan 189, GCA olan 262 hasta ve 820 kontrol hastası ile kişisel görüşme yapılmıştır. Tüm kanserler histolojik olarak sınıflandırılmıştır. Bu çalışmada da gazlı içecek tüketimi ile EA riski ilişkili bulunmamıştır; yüksek oranda tüketenlerdeki (haftada altı kezden fazla) risk hiç gazlı içecek tüketmeyenlere göre anlamlı olmayan düzeyde daha düşük bulunmuştur (RR 0.89, CI 0.49–1.64; p = 0.77). Ayrıca gazlı düşük alkollü bira ve gazlı içeceklerin birlikte tüketiminin de EA ile ilişkili olmadığı ifade edilmiştir.

Farklı popülasyonlardan elde edilen bu tutarlı bulgular [29, 44, 48, 75] gazlı içecek tüketimi ile EA arasındaki riski dışlamaktadır. ESCC ile ilgili veriler, bu kanserin riskinin gazlı içecek tüketimi ile ters orantılı olduğu sonucunu doğrulamaktadır. Ancak bu ilişkinin mekanizmasının tanımlanması güçtür.

3.1.2 Gastrik Kanser

Gastrik kanser ile gazlı içecek tüketimi arasındaki ilişkinin analizi Ulusal Sağlık Enstitüleri ve Amerikan Emekliler Birliği (NIH-AARP) Diyet ve Sağlık Çalışmasından alınan verilerle yapılmıştır [75]. Çalışma kohortu 286.402'si erkek, 195.161'i kadın olan 481.563 katılımcıdan oluşuyordu. Araştırmacılar 455 gastrik kanser hastasında (231 gastrik kardiya; 224 gastrik kardiya dışı) gazlı içecek tüketimi ile gastrik kanser arasında doza bağlı bir ilişki gözlemlememişlerdir.

Mayne ve ark. 255 gastrik kardiya ve 352 kardiya dışı gastrik adenokarsinomu olan hasta ile görüşmüştür [59]. Hastalara diyet veya normal gazlı içecekleri teşhisten önceki (kanser hastaları) veya görüşmeden önceki (kontroller) 3-5 yıl içindeki rutin tüketme sıklıkları sorulmuştur. Bu çalışmada da gastrik kanser ile gazlı içecek tüketimi arasında bir ilişki bulunmamıştır.

Benzer veriler gastrik kardiya adenokarsinomu olan 262 hastayı inceleyen Lagergren ve ark. tarafından da bildirilmiştir [48]. Yüksek gazlı içecek tüketimi ile (haftada >6 kez) gastrik kanserin bu tipi arasında bir ilişki bulamamışlardır (RR 1.09, CI 0.64–1.85; p = 0.64).

3.1.3 Pankreas Kanseri

Şekerli meşrubatlar hızla absorbe edilen şekerlerin çok sık kullanılan bir kaynağıdır. Aynı zamanda yüksek obezite ve diyabet riski ile de ilişkileri vardır. Diabetes mellitus ve glisemik yükü yüksek diyetler pankreas kanseri gelişimi için risk faktörüdür. Bazı çalışmalarda gazlı içecek tüketimi ile pankreas kanseri arasındaki ilişki araştırılmıştır.

Hemşire Sağlık Çalışması ve Sağlık Profesyonelleri Takip Çalışmasının veri tabanının analizinde başlangıçta kanser olmayan 88.794 kadın ve 49.364 erkek arasından pankreas kanseri gelişen 392 hasta seçilmiştir [77]. Çalışma başlangıcında tespit edilen alkolsüz meşrubat tüketimi 1980-1988 yılları arasında periyodik olarak güncellenmiştir. Haftada

üç adetten fazla şekerli meşrubat tüketen hastalardaki pankreas kanserinde anlamlı olmayan bir rölatif risk artışı gözlenmiştir. En fazla şekerli meşrubat tüketen kadınlardaki (3 içecek/hafta) risk anlamlı olarak artmıştır (RR 1.57; CI 1.02–2.41; trend için p = 0.05); ancak şekerli meşrubat tüketen erkeklerdeki pankreas kanserinde bir artış olmamıştır. Yüksek oranda şekerli meşrubat tüketen kadınlarda gözlenen sınırda risk artışı vücut kütle endeksi yüksek olanlarla (>25 kg/m^2; RR 1.89, CI 0.96–3.72; p = 0.10) ve düşük fiziksel aktiviteye sahip (RR 2.02, CI 1.06–3.85; p = 0.05) olanlarla sınırlıydı. Buna karşın diyet meşrubatların tüketimi her iki kohorttaki pankreas kanserinde bir artış bulunmamıştır.

Başka bir ankette meşrubat tüketimi ile pankreas kanseri arasında sınırda pozitif ilişki bulunmuştur [49]. 131 pankreas kanseri vakasındaki en yüksek ile en düşük tüketim kategorilerinin karşılaştırılmasında elden edilen çok değişkenli RR 1.69'dur (CI 0.97–2.36, trend için p= 0.05).

Çinlilerde yapılan prospektif kohort çalışmasında 14 yıl süre ile takip edilen 60.254 bireyde pankreas kanseri riski takip edilmiştir. Pankreas kanseri vakaları kohort veritabanı kayıtlarının Singapur Kanser Kayıt ve Singapur Doğum ve Ölüm Kayıt veritabanları verileri ile karşılaştırılması ile tespit edilmiştir [66]. Analizde 142 pankreas kanseri vakası tespit edilmiştir. Tüketimi ≥2 içecek/hafta olan bireylerdeki pankreas kanseri kanseri riski meşrubat kullanmayanlara göre anlamlı olarak daha yüksek bulunmuştur (RR 1.87, CI 1.10–3.15; p = 0.02).

Ayrıca, güncel bir analizde de gazlı içecek tüketimi ile pankreas kanseri arasındaki risk incelenmiştir. Dünya'daki çeşitli ülkelerde büyük ölçekli uluslararası konsorsiyum tarafından gerçekleştirilen Diyet ve Kanserle İlgili Prospektif Çalışmaların Toplu Analizi Projesinde 14 kohort çalışmasının toplu analizi gerçekleştirilmiştir [31]. Çalışmada 7 ila 20 yıl süre ile takip edilen 853.894 bireyde gelişen 2185 kanser vakası tespit edilmiştir. Pankreas kanseri riski ile gazlı içecek tüketimi arasında anlamlı bir ilişki bulunmamıştır (RR 1.19, CI 0.98–1.46 vs. >250–0 gr/gün). Ancak gazlı içecek tüketimi sürekli bir değişken olarak modellendiğinde, ortaya pankreas kanseri riski ile pozitif bir ilişki çıkmıştır (RR 1.06, CI 1.02–1.12).

Gazlı içecek tüketimi ile pankreas kanseri riski arasındaki ilişki 1991-2008 yılları arasında 328 pankreas kanseri hastası ve 652 eşleştirilmiş kontrol hastası ile gerçekleştirilen İtalyan vaka kontrol çalışmasında da araştırılmıştır [30]. Çalışmada gazlı içecek tüketiminin pankreas kanseri riski ile ilişkili olmadığı sonucuna varılmıştır.

Farklı iki çalışmada da meşrubat tüketimi ile pankreas kanseri arasında herhangi bir ilişki bulunamamıştır [4, 68].

3.1.4 Kolon Kanseri

Şekerli meşrubat tüketiminin kolon kanseri riskini artırdığını gösteren tek çalışma mevcuttur [100]. Bu çalışma uluslararası kohort çalışmaları konsorsiyumu tarafından Diyet ve Kanserle İlgili Prospektif Çalışmaların Toplu Analizi Projesi kapsamında yapılmıştır. Bu toplu analizde yer alan 13 çalışmada 6-20 yıl süreyle takip edilen 239.193

erkek ve 492.248 kadın arasından 5604 invazif kolon kanseri (1858 erkek ve 3746 kadın) vakası tespit edilmiştir. Şekerli meşrubat tüketimi kolon kanseri riski ile ilişkili bulunmamıştır (toplu çok değişkenli RR 0.94, CI 0.66-1.32, >550 gr/gün tüketim ile meşrubat tüketmeyenler karşılaştırılmıştır) Diyet meşrubatların incelenmesinde her 375 gr/gün tüketim artışı için bulunan toplu çok değişkenli RR değeri 1.01'dir (CI = 0.94-1.08; dört çalışmada ölçülmüştür, n=1928 kanser hastası). Gazlı içecekler Cola ve Cola dışı olarak kategorize edildiklerinde de kolon kanseri riski ile herhangi bir ilişki tespit edilememiştir.

3.1.5 Diğer Gastrointestinal Kanserler

Gazlı içecekler ile gastrointestinal kanser riski hakkında yukarıda bahsedilenler dışında literatür verisi mevcut değildir.

3.1.6 Aspartam ve Gastrointestinal Kanser

Endüstri ülkelerinde kısmen fast food ve meşrubat tüketimine bağlı olarak artan obezite oranları düşük kalorili gıdalara talebin artmasına neden olmuştur. Diyet ya da hafif (light) olarak adlandırılan ürünlerin pazarındaki büyümeye paralel olarak aspartamı da içeren yeni jenerasyon tatlandırıcılar geliştirilmiştir. Aspartamın insanlardaki rolü ile ilgili epidemiyolojik veriler yetersizdir [95]. Aspartamın potansiyel karsinojen etkisi ile ilgili uyarılar, beyin kanseri insidansında görülen artışların yapay tatlandırıcıların piyasaya sürülmesi ile ilişkili olduğunu bildiren bir çalışmadan kaynaklanmaktadır [69]. Bu çalışma sonrasında, beyin kanseri trendlerindeki belirsizlikler yüzünden eleştirilmiştir [90]. Ayrıca bu çalışmadan sonra yapılan vaka kontrol çalışmalarında aspartamın beyin kanserinde artışa yol açtığını gösteren tutarlı kanıtlar bulunamamıştır [36].

İtalya'da entegre vaka kontrol çalışmaları ağını kullanarak gerçekleştirilen bir çalışmada sakarin ve diğer tatlandırıcılar ile oral kavite, farenks, özofagus, kolorektal ve vücudun diğer bölgelerinde görülen kanser riskleri arasında ilişki bulunmamıştır [28]. Bu çalışmanın temeli olan entegre vaka kontrol çalışmaları ağı 1991-2004 yılları arasında İtalya'da gerçekleştirilmiştir. Histolojik olarak konfirme edilen üst gastrointestinal kanser vakaları 598 oral kavite ve farenks, 304 özofagus, 1225 kolon, 728 rektum kanseri hastasından oluşuyordu. 7028 kontrol hastası (3301 erkek ve 3727 kadın) ise aynı hastaneye akut, kanser dışı rahatsızlıklarla kabul edilmişti. Aspartam tüketimine bağlı rölatif risk oral kavite ve farenks kanserleri için 0.77 (CI 0.39–1.53), özofagus kanseri için 0.77 (CI 0.34–1.75), kolon kanseri için 0.90 (CI 0.70–1.16), rektal kanser için de 0.71 (CI 0.50–1.02) bulunmuştur. Bu sonuçlar aspartam ile sık görülen gastrointestinal kanserler arasında bir ilişki olmadığını göstermiştir.

İki yıl sonra bu çalışmanın güncel versiyonu yayınlanmıştır [11]. Çalışmada histolojik olarak konfirme mide kanseri olan 230 hasta ve 547 eşleştirilmiş kontrol hastası ile 326 pankreas kanseri hastası ve 652 eşleştirilmiş kontrol hastası yer almıştır. Tüm kontroller aynı hastaneye akut, kanser dışı nedenlerden dolayı kabul edilen bireylerden

oluşmaktaydı. Tatlandırıcı kullananlarla hiç tatlandırıcı kullanmayanların karşılaştırılmasının rölatif riski, gastrik kanser için 0.80 (CI 0.45–1.43), pankreas kanseri için ise 0.62 (CI 0.37–1.04) bulunmuştur.

3.2 Gazlı içecekler ve Gastrointestinal Kanserler: Hayvan Deneyleri

Belpoggi ve ark. [6] en iyi bilinen gazlı içecek olan Coca Cola'nın uzun süreli etkilerini içme suyu yerine Coca Cola verilen Sprague Dawley sıçanları üzerinde test etmiştir. Projenin amacı Coca Cola'nın test hayvanlarındaki tümör gelişimini (tümorigram) etkileyip etkilemediğinin tespit edilmesiydi. Embriyonik hayattan veya 7 haftalıktan itibaren veya 30, 39, 55 haftalıktan itibaren içeceğe maruz kalan çeşitli yaşlardaki dişi ve erkek sıçanlara biyoanalizler uygulanmıştır Hayvanlar spontan ölüme kadar gözlenmiş, sonrasında da otopsiye alınmışlardır. Sonuçlara bakıldığında (a) tüm hayvanların vücut ağırlıklarında artış; (b) hem damızlık hem de yavru dişilerde malign meme tümörü insidansında istatistiksel olarak anlamlı artış, (c) hem damızlık hem de yavru erkek ve dişilerde pankreas ekzokrin adenomlarının insidanslarında istatistiksel olarak anlamlı artış görülürken, (d) gastrointestinal sistem de dahil olmak üzere tüm vücut bölgelerindeki diğer tümörlerde artış görülmemiştir. İnsanlar bu içeceği deneysel ortamdaki gibi son derece paradoksal şekilde tüketmemektedir. Ancak normal meşrubatlar gibi yüksek kalorili içeceklerin aşırı kullanımının kilo artımında anlamlı artışa yol açmasının, kanser riskini de artırabileceği çalışma tarafından konfirme edilmiştir.

Hayvan çalışmalarında aspartam ve diğer tatlandırıcılar ile ilgili karsinojenik aktivite gösterilememiştir [35, 95]. Sadece üç hayvan çalışmasında (Sprague Dawley sıçanları ve İsviçre fareleri) farklı aspartam dozları uygulanan hayvanların ölene kadar takiplerinde, dişi sıçanlarda başlıca lenfomalar ve lösemilerde, erkek farelerde ise hepatoselüler karsinomlarda artış görülmüştür [82–84]. Ancak bu bariz artışlar aspartam uygulanan hayvanların daha uzun süre yaşamaları ve çalışma hayvanlarında görülen daha yüksek enfeksiyon oranları ile açıklanabilir [87]. Hiçbir hayvan çalışmasında gastrointestinal kanser riskinde bir artış gösterilememiştir [54].

3.3 Muhtemel Mekanizmalar

Gazlı içeceklerin özellikleri incelenirken şu üç önemli nokta göz önünde bulundurulmalıdır: (a) içeceklerde bulunan karbondioksit; (b) şeker veya tatlandırıcı; (c) hazırlanmalarında kullanılan diğer maddeler. Bunlar arasında en ilginç ve muhtemelen de en değerli olanı karbondioksittir. Gazlı içeceklerin gastrointestinal sistem hasarına yol açarak potansiyel karsinojenik etki gösterebilmeleri ile ilgili çeşitli mekanizmalar önerilmiştir

Tablo 4 Gazlı içeceklerle ilgili karsinogenezin olası mekanizmaları

	Meşrubatların etkileri	Olası karsinojenik mekanizma
CO_2 içeriği	Gastrik basınç artışı	Özofageal reflünün kolaylaşması ve intestinal metaplazinin indüksiyonu (Barrett özofagusu)
	HCl sekresyonunda artış	
Şeker	Yüksek insülin düzeyleri insülin benzeri büyüme faktörünü artırır	Pankreatik kanser hücrelerinin proliferasyonu
Aspartam	Formaldehit gibi direkt karsinojenlerin üretimi	DNA hasarı (formaldehit katım ürünlerinin üretimi) ve kromozomal aberasyon artışı

[18] (bkz. Tablo 4). Gazlı içecekler ile gastrointestinal hasar arasındaki ilişki hakkındaki bilgilerin çoğu gastroözofageal reflü hastalığı (GERD) ile ilişkilidir. Reflünün ana semptomu özofagus gastrik içeriğe maruz kalınca oluşan mide yanmasıdır. Hekim tavsiyeleri kilo kaybı, gerektiğinde hayat tarzı değişiklikleri, vücut postürü, diyet alışkanlıkları ile ilgilidir. Gazlı içeceklerini tüketimlerinin genel olarak azaltılması önerilmektedir. Çok az sayıda çalışmada gazlı içeceklerin GERD nedeni olduğu kabul edilmektedir [25, 38, 61]. Fass ve ark. [25] çok değişkenli bir analizde gazlı içecek tüketiminin GERD semptomları ile ilişkili olduğunu tespit etmişlerdir. Sağlıklı bireylerde yapılan bir başka çalışmada ise gazlı (karbonatlı) su içilmesinden hemen sonra manometrik değerlendirme ile ölçülen alt özofagus sfinkter basıncı normal su içilmesi ile oluşandan daha düşük bulunmuştur [38]. Ancak sağlıklı bireylerde yapılan daha güncel bir çalışmada şekerli (sukroz %10) suya giderek artan konsantrasyonlarda karbondioksit eklenmesi ile yapılan ölçümlerde gazlı (karbonatlı) su ile normal su arasında gastroözofageal reflü yönünden bir fark olmadığı gösterilmiştir [19].

Gazlı içeceklerin mide fonksiyonunu hem mekanik hem de kimyasal yolla etkilediği düşünülmektedir. Farklı çalışmalardan alınan veriler gaz ve sıvı tarafından mide duvarına uygulanan basınç üzerine yoğunlaşmaktadır [19, 73]. Bu çalışmalarda gastrik distresin sadece 300 ml'nin üzerinde gazlı içecek alımı ile oluştuğu gösterilmiştir [1]. Diğer yandan karbondioksit kimyasal etki ile hidroklorik asitte hafif bir artışa yol açarak sindirim prosesini etkiler ve asitle ilişkili hastalıkları kötüleştirebilir [60]. Karbondioksitin hem mekanik hem de kimyasal etkiyle karsinojeniteyi etkilediğini gösteren herhangi bir çalışma mevcut değildir.

İnsülin ve glukoz seviyelerini artırarak obeziteye ve diyabete yol açabilen şekerli gazlı içecekler [78] gibi faktörler pankreas kanseri riski ile ilişkili olabilirler. Yüksek insülin konsantrasyonları IGF-bağlayıcı proteinleri azaltarak insülin benzeri büyüme faktörü (IGF) düzeylerini artırır [34]. Eldeki veriler IGF'ye maruz kalmanın pankreatik kanser hücre dizilerinin proliferasyonuna neden olduğunu göstermektedir [8]. Yüksek insülin konsantrasyonlarının IGF reseptörlerini aktive ederek kanser hücrelerinin proliferasyonuna yol açabileceği düşünülmektedir [52]. Yükleme sonrası ve açlık plazma glukozu-

nun [5, 45] ve tokluk plazma C-peptid düzeylerinin [63] artışı pankreas kanseri riskinde artış ile ilişkilidir. Bu mekanizma yüksek glisemik yüke sahip şekerli meşrubatların pankreas kanseri riskini artırabileceği hipotezini doğrulamaktadır [66].

İncelenecek son konu son yıllarda gazlı içeceklerde giderek daha fazla kullanılmaya başlanan aspartam gibi tatlandırıcılardır. Bunların güvenlikleri ile ilgili bazı uyarılar mevcuttur. Son yıllarda aspartamın hayvanlardaki neoplaziyi indükleyici etkisi hakkında aynı araştırıcılar tarafından üç farklı makale yayınlanmıştır [82–84]. Araştırmacıların aspartamın potansiyel karsinojen etkisi üzerindeki ilgisi genotoksisite ile ilgili in vitro testlerden doğmuştur. İn vitro kromozomal aberasyon testi ile değerlendirilen aspartam anormal (aberant) hücrelerin yüzdesinde veya hücre başına düşen kromozom anormalliklerinin sayısında test edilen tüm dozlarda anlamlı artışa yol açmış (kontrol değerlerine göre 2.5-4.2 kat), ancak mutajenik özellik göstermemiştir [76]. Yazarlar İsviçre farelerindeki karaciğer karsinojenitesi ile ilgili olarak aspartamın gastrointestinal kanalda fenilalanin, aspartik asit ve metanole tamamen metabolize olması nedeniyle, karsinojen etkinin aspartamdan değil daha ziyade metabolitlerinden kaynaklanabileceği hipotezini geliştirmiştir [83]. Özellikle metanolün karaciğerde formaldehite dönüşmesi ile formaldehit katım ürünleri oluşabilir [91]. Bu mekanizma erkek faredeki hepatokarsinojenik etkiyi açıklayan makul bir neden olabilir. Diğer yandan Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi bilimsel camiada ciddi kanıtlarla desteklenen genel bir konsensusa göre farelerde nongenotoksik bileşikler ile indüklenen hepatik tümörlerin, insandaki riskin değerlendirilmesinde kullanılamayacağını bildirmiştir [88].

4 Sonuçlar

Alkollü içkilerin ve gazlı içeceklerin yüksek oranda tüketilmeleri, son birkaç yıl içindeki dikkatlerin insan sağlığı ve gastrointestinal kanserler üzerindeki etkilerine odaklanmasına neden olmuştur. Ancak bu alandaki çalışmaların çoğu klinik, epidemiyolojik ve deneysel anlamda yeterli değildir. Mevcut veriler alkol tüketimi ile bazı kanser tipleri arasında pozitif korelasyon olduğunu göstermektedir. Doza bağımlı olan bu bağlantı sigaranın sinerjistik etkisi ile güçlenmektedir. Bu doğrultuda alkolle ilgili kanserlerin önlenmesindeki ana hedef ağır alkol ve sigara tüketiminin engellenmesidir.

Diğer yandan gazlı içeceklerin heterojen yapıları nedeniyle gastrointestinal karsinogenez üzerindeki etkilerini araştırmak oldukça zordur. Çeşitli çalışmalarda gazlı içecek tüketimi ile özofageal ve gastrik kanser arasında bir ilişki gösterilememişken, az sayıda bazı çalışmada da gazlı içecekler ile pankreas kanseri arasındaki pozitif ilişki vurgulanmıştır. Bu bulgular tek başına gazlı içecek tüketiminden ziyade muhtemelen kalori alımı ve glukoz metabolizmasındaki hasara bağlıdır. Ancak gazlı içeceklerin gastrointestinal karsinogenezisteki rolünü tamamen dışlamak için yeni çalışmalara ihtiyaç vardır.

Referanslar

1. Almiron-Roig E, Drewnowski A (2003) Hunger, thirst, and energy intakes following consumption of caloric beverages. Physiol Behav 79(4–5):767–773
2. Anderson LA, Cantwell MM, Watson RG et al (2009) The association between alcohol and reflux esophagitis, Barrett's esophagus, and esophageal adenocarcinoma. Gastroenterology 136(3):799–805
3. Bagnardi V, Blangiardo M, La Vecchia C et al (2001) Alcohol consumption and the risk of cancer: a meta-analysis. Alcohol Res Health 25:263–270
4. Bao Y, Stolzenberg-Solomon R, Jiao L et al (2008) Added sugar and sugar-sweetened foods and beverages and the risk of pancreatic cancer in the National Institutes of Health-AARP diet and health study. Am J Clin Nutr 88:431–440
5. Batty GD, Shipley MJ, Marmot M et al (2004) Diabetes status and post-load plasma glucose concentration in relation to site-specific cancer mortality: findings from the original Whitehall Study. Cancer Causes Control 15:873–881
6. Belpoggi F, Soffritti M, Tibaldi E et al (2006) Results of long-term carcinogenicity bioassays on Coca-Cola administered to Sprague-Dawley rats. Ann NY Acad Sci 1076:736–752
7. Benedetti A, Parent ME, Siemiatycki J (2009) Lifetime consumption of alcoholic beverages and risk of 13 types of cancer in men: results from a case-control study in Montreal. Cancer Detect Prev 32(5–6):352–362
8. Bergmann U, Funatomi H, Yokoyama M et al (1995) Insulin-like growth factor I overexpression in human pancreatic cancer: evidence for autocrine and paracrine roles. Cancer Res 55:2007–2011
9. Boffetta P, Garfinkel L (1990) Alcohol drinking and mortality among men enrolled in an American Cancer Society prospective study. Epidemiology 1:342–348
10. Boffetta P, Hashibe M (2006) Alcohol and cancer. Lancet Onco l7(2):149–156
11. Bosetti C, Gallus S, Talamini R et al (2009) Artificial sweeteners and the risk of gastric, pancreatic, and endometrial cancers in Italy. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 18(8):2235–2238
12. Bray GA, Nielsen SJ, Popkin BM (2004) Consumption of high-fructose corn syrup in beverages may play a role in the epidemic of obesity. Am J Clin Nutr 79:537–543
13. Breslow NE, Enstrom JE (1974) Geographic correlations between mortality rates and alcohol, tobacco consumption in the US. J Natl Cancer Inst 53:631–639
14. Cho E, Smith-Warner SA, Ritz J et al (2004) Alcohol intake and colorectal cancer: a pooled analysis of 8 cohort studies. Ann Intern Med 140:603–613
15. Choi SW, Stickel F, Baik HW et al (1999) Chronic alcohol consumption induces genomic but not p53-specific DNA hypomethylation in rat colon. J Nutr 129:1945–1950
16. Cook RT (1998) Alcohol abuse, alcoholism, and damage to the immune system—a review. Alcohol Clin Exp Res 22:1927–1942
17. Corrao G, Bagnardi V, Zambon A et al (1999) Exploring the dose-response relationship between alcohol consumption and the risk of several alcohol-related conditions: a meta-analysis. Addiction 94:551–573
18. Cuomo R, Sarnelli G, Savarese MF et al (2009) Carbonated beverages and gastrointestinal system: between myth and reality. Nutr Metab Cardiovasc Dis 19(10):683–689
19. Cuomo R, Savarese MF, Sarnelli G et al (2008) Sweetened carbonated drinks do not alter upper digestive tract physiology in healthy subjects. Neurogastroenterol Motil 20(7):780–789
20. Daly M (2003) Sugars, insulin sensitivity, and the postprandial state. Am J Clin Nutr 78:865S–872S
21. Dhingra R, Sullivan L, Jacques PF et al (2007) Soft drink consumption and risk of developing cardiometabolic risk factors and the metabolic syndrome in middle-aged adults in the community. Circulation 116:480–488

22. Druesne-Pecollo N, Tehard B, Mallet Y et al (2009) Alcohol and genetic polymorphisms: effect on risk of alcohol-related cancer. Lancet Oncol 10(2):173–180
23. el Ghissassi F, Barbin A, Nair J et al (1995) Formation of 1, N6- ethenoadenine and 3, N4-ethenocytosine by lipid peroxidation products and nucleic acid bases. Chem Res Toxicol 8:278–283
24. Fang JL, Vaca CE (1997) Detection of DNA adducts of acetaldehyde in peripheral white blood cells of alcohol abusers. Carcinogenesis 18:627–632
25. Fass R, Quan SF, O'Connor GT et al (2005) Predictors of heartburn during sleep in a large prospective cohort study. Chest 127:1658–1666
26. Fleischmann A, Fuhr D, Poznyak V et al (2011) Global status report on alcohol and health. WHO Press, Geneva (www.who.int)
27. Franceschi S, La Vecchia C (1994) Alcohol and the risk of cancers of the stomach and colon-rectum. Dig Dis 12:276–289
28. Gallus S, Scotti L, Negri E et al (2007) Artificial sweeteners and cancer risk in a network of case-control studies. Ann Oncol 18:40–244
29. Gallus S, Talamini R, Fernandez E Et al (2006) Re: carbonated soft drink consumption and risk of esophageal adenocarcinoma. J Natl Cancer Inst 98(9):645–646
30. Gallus S, Turati F, Tavani A et al(2011) Soft drinks, sweetened beverages and risk of pancreatic cancer. Cancer Causes Control 22(1):33–39
31. Genkinger JM, Li R, Spiegelman D, Anderson KE et al (2012) Coffee, tea, and sugar-sweetened carbonated soft drink intake and pancreatic cancer risk: a pooled analysis of 14 cohort studies. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 21(2):305–318
32. Genkinger JM, Spiegelman D, Anderson KE et al (2009) Alcohol intake and pancreatic cancer risk: a pooled analysis of fourteen cohort studies. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 18:765–776
33. Gibson S (2008) Sugar-sweetened soft drinks and obesity: a systematic review of the evidence from observational studies and interventions. Nutr Res Rev 21:134–147
34. Giovannucci E (2003) Nutrition, insulin, insulin-like growth factors and cancer. Horm Metab Res 35:694–704
35. Gunnels SR, Carver PH, Coker KK et al(2003) National toxicology program USDoHaHS. Toxicity studies of aspartame (CAS No. 22839-47-0) in FVB/N-TgN (v-Ha-ras) Led(Tg.AC) hemizygous mice and carcinogenicity studies of aspartame in B6.129-Trp53tm1Brd (N5) haploinsufficient mice. NTP Technical Report (NIH Publication No. 03-4459 http://ntp.niehs.nih.gov/ntp/htdocs/GMM_rpts/GMM1.pdf
36. Gurney JG, Pogoda JM, Holly EA et al (1997) Aspartame consumption in relation to childhood brain tumor risk: results from a case-control study. J Natl Cancer Inst 89:1072–1074
37. Guthrie JF, Morton JF (2000) Food sources of added sweeteners in the diets of Americans. J Am Diet Assoc 100:43–51
38. Hamoui N, Lord RV, Hagen JA et al (2006). Response of the lower esophageal sphincter to gastric distention by carbonated beverages. J Gastrointest Surg 10(6):870–877
39. Harnack L, Stang J, Story M (1999) Soft drink consumption among US children and adolescents: nutritional consequences. J Am Diet Assoc 99(4):436–441
40. Hassan MM, Hwang LY, Hatten CJ et al (2002) Risk factors for hepatocellular carcinoma: synergism of alcohol with viral hepatitis and diabetes mellitus. Hepatology 36(5):1206–1213
41. Hoek JB, Pastorino JG (2002) Ethanol, oxidative stress, and cytokine-induced liver cell injury. Alcohol 27:63–68
42. Homann N, Kärkkäinen P, Koivisto T, Nosova T, Jokelainen K, Salaspuro M (1997) Effects of acetaldehyde on cell regeneration and differentiation of the upper gastrointestinal tract mucosa. J Natl Cancer Inst 89(22):1692–1697
43. Huxley R, Ansary-Moghaddam A, Berrington de Gonzalez A et al (2005) Type-II diabetes and pancreatic cancer: a meta-analysis of 36 studies. Br J Cancer 92:2076–2083

44. Ibiebele TI, Hughes MC, O'Rourke P et al (2008) Australian cancer study. Cancers of the esophagus and carbonated beverage consumption: a population-based case-control study. Cancer Causes Control 19(6):577–584
45. Jee SH, Ohrr H, Sull JW et al (2005) Fasting serum glucose level and cancer risk in Korean men and women. JAMA 293:194–202
46. Ketcham AS, Wexler H, Mantel N (1963) Affects of alcohol in mouse neoplasia. Cancer Res 23:667–670
47. Kubo A, Levin TR, Block G et al (2009) Alcohol types and sociodemographic characteristics as risk factors for Barrett's esophagus. Gastroenterology 136(3):806–815
48. Lagergren J, Viklund P, Jansson C (2006). Carbonated soft drinks and risk of esophageal adenocarcinoma: a population-based case-control study. J Natl Cancer Inst 16 98(16):1158–1161
49. Larsson SC, Bergkvist L, Wolk A (2006) Consumption of sugar and sugar sweetened foods and the risk of pancreatic cancer in a prospective study. Am J Clin Nutr 84:1171–1176
50. Larsson SC, Giovannucci E, Wolk A et al (2007) Alcoholic beverage consumption and gastric cancer risk: a prospective population-based study in women. Int J Cancer 120:373–377
51. Larsson SC, Orsini N, Wolk A (2007) Body mass index and pancreatic cancer risk: a meta-analysis of prospective studies. Int J Cancer 120:1993–1998
52. Le Roith D (1997) Seminars in medicine of the Beth Israel Deaconess Medical Center: insulin-like growth factors. N Engl J Med 336:633–640
53. Leo MA, Lieber CS (1999) Alcohol, vitamin A, and beta-carotene: adverse interactions, including hepatotoxicity and carcinogenicity. Am J Clin Nutr 69:1071–1085
54. Magnuson BA, Burdock GA, Doull J et al (2007) Aspartame: a safety evaluation based on current use levels, regulations, and toxicological and epidemiological studies. Crit Rev Toxicol 37:629–727
55. Maier H, Born IA, Veith S, Adler D, Seitz HK (1986) The effect of chronic ethanol consumption on salivary gland morphology and function in the rat. Alcohol Clin Exp Res 10:425–427
56. Malik VS, Schulze MB, Hu FB (2006) Intake of sugar-sweetened beverages and weight gain: a systematic review. Am J Clin Nutr 84:274–288
57. Mallath MK (2006) Re: carbonated soft drink consumption and risk of esophageal adenocarcinoma. J Natl Cancer Inst 3 98(9):644–645
58. Mathers C, Stevens G, Mascarenhas M (2009) Global health risks: mortality and burden of disease attributable to selected major risks. WHO Press, Geneva (www.who.int)
59. Mayne ST, Risch HA, Dubrow R et al (2006) Carbonated soft drink consumption and risk of esophageal adenocarcinoma. J Natl Cancer Inst 4 98(1):72–75
60. McCloy RF, Greenberg GR, Baron JH (1984) Duodenal pH in health and duodenal ulcer disease: effect of a meal, Coca-Cola, smoking, and cimetidine. Gut 25(4):386–392
61. Meining A, Classen M (2000) The role of diet and lifestyle measures in the pathogenesis and treatment of gastroesophageal reflux disease. Am J Gastroenterol 95:2692–2697
62. Michaud DS, Vrieling A, Jiao L et al (2010) Alcohol intake and pancreatic cancer: a pooled analysis from the pancreatic cancer cohort consortium (PanScan). Cancer Causes Control 21:1213–1225
63. Michaud DS, Wolpin B, Giovannucci E et al (2007) Prediagnostic plasma C-peptide and pancreatic cancer risk in men and women. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 16:2101–2109
64. Molina PE, Hoek JB, Nelson S et al (2003) Mechanisms of alcohol induced tissue injury. Alcohol ClinExp Res 27:563–575
65. Morgan TR, Mandayam S, Jamal MM (2004) Alcohol and hepatocellular carcinoma. Gastroenterology 127:S87–S96

66. Mueller NT, Odegaard A, Anderson K et al (2010) Soft drink and juice consumption and risk of pancreatic cancer: the Singapore Chinese Health Study. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 19(2):447–455
67. Nielsen SJ, Siega-Riz AM, Popkin BM (2002) Trends in energy intake in U.S. between 1977 and 1996: similar shifts seen across age groups. Obes Res 10(5):370–378
68. Nothlings U, Murphy SP, Wilkens LR et al (2007) Dietary glycemic load, added sugars, and carbohydrates as risk factors for pancreatic cancer: the Multiethnic Cohort Study. Am J Clin Nutr 86:1495–1501
69. Olney JW, Farber NB, Spitznagel E et al (1996) In creasing brain tumor rates: is there a link to aspartame? J Neuropathol Exp Neurol 55:1115–1123
70. Oneta CM, Lieber CS, Li JJ et al (2002) Dynamics of cytochrome P4502E1 activity in man: induction by ethanol and disappearance during withdrawal phase. J Hepatol 36:47–52
71. Pandeya N, Williams G, Green AC et al (2009) Australian cancer study. Alcohol consumption and the risks of adenocarcinoma and squamous cell carcinoma of the esophagus. Gastroenterology 136(4):1215–1224
72. Pöschl G, Seitz HK (2004) Alcohol and cancer. Alcohol Alcohol 39:155–165
73. Pouderoux P, Friedman N, Shirazi P et al (1997) Effect of carbonated water on gastric emptying and intragastric meal distribution. Dig Dis Sci 42:34–39
74. Reda A, Pattison J (2007) The global carbonates report. Canadean Ltd, England (www.candean.com)
75. Ren JS, Freedman ND, Kamangar F et al (2010) Tea, coffee, carbonated soft drinks and upper gastrointestinal tract cancer risk in a large United States prospective cohort study. Eur J Cancer 46(10):1873–1881
76. Rencüzoğullari E, Tüylü BA, Topaktaş M et al (2004) Genotoxicity of aspartame. Drug Chem Toxicol 27(3):257–268
77. Schernhammer ES, Hu FB, Giovannucci E et al (2005) Sugar-sweetened soft drink consumption and risk of pancreatic cancer in two prospective cohorts. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 14(9):2098–2105
78. Schulze MB, Manson JE, Ludwig DS et al (2004) Sugar-sweetened beverages, weight gain, and incidence of type 2 diabetes in young and middle-aged women. JAMA 292:3455–3457
79. Secretan B, Straif K, Baan R et al (2009) A review of human carcinogens—part E: tobacco, areca nut, alcohol, coal smoke, and salted fish. Lancet Oncol 10(11):1033–1034
80. Seitz HK, Meier P (2007) The role of acetaldehyde in upper digestive tract cancer in alcoholics. Transl Res 149(6):293–297
81. Sjodahl K, Lu Y, Nilsen TI et al (2007) Smoking and alcohol drinking in relation to risk of gastric cancer: a population-based, prospective cohort study. Int J Cancer 120:128–132
82. Soffritti M, Belpoggi F, Degli Esposti D et al (2006) First experimental demonstration of the multipotential carcinogenic effects of aspartame administered in the feed to Sprague-Dawley rats. Envir Health Perspect 114:379–385
83. Soffritti M, Belpoggi F, Manservigi M et al (2010) Aspartame administered in feed, beginning prenatally through life span, induces cancers of the liver and lung in male Swiss mice. Am J Ind Med 53(12):1197–1206
84. Soffritti M, Belpoggi F, Tibaldi E et al (2007) Life-span exposure to low doses of aspartame beginning during prenatal life increases cancer effects in rats. Environ Health Perspect 115:1293–1297
85. Stickel F, Seitz HK (2004) Ethanol and methytransfer: its role in liver disease and hepatocarcinogenesis. In: Watson RR, Preedy VR (eds) Nutrition and alcohol: linking nutrient interactions and dietary intake. CRC Press, London
86. Takada A, Nei J, Takase S, Matsuda Y (1986) Effects of ethanol on experimental hepatocarcinogenesis. Hepatology 6:65–72
87. The European Food Safety Authority (2006) Opinion of the scientific panel AFC related to new long-term carcinogenicity study on aspartame. EFSA J 356:1–44

88. The European Food Safety Authority (2011) EFSA statement on the scientific evaluation of two studies related to the safety of artificial sweeteners. EFSA J 9(2):2089
89. Tippett KS, Cypel YS (1998) Food and nutrient intakes by income. In: Design and operation: the continuing survey of food intakes by individuals and the diet and health knowledge survey, 1994–1996. United States Department of Agriculture, Agricultural Research Service, Washington, D.C. Data Table available at: www.ars.usda.gov/SP2UserFiles/Place/12355000/pdf/Income.pdf
90. Trichopoulos D (1999) Response to Schwartz GR. Aspartame and breast and other cancers. West J Med 171:301
91. Trocho C, Pardo R, Rafecas I (1998) Formaldehyde derived from dietary aspartame binds to tissue components in vivo. Life Sci 63:337–349
92. Wainfan E, Dizik M, Stender M, Christman JK (1989) Rapid appearance of hypomethylated DNA in livers of rats fed cancerpromoting, methyl-deficient diets. Cancer Res 49(4094–4097):164
93. Wang XD (2003) Retinoids and alcohol-related carcinogenesis. J Nutr 133:287S–290S
94. Watanabe H, Takahashi T, Okamoto T, Ogundigie PO, Ito A (1992) Effects of sodium chloride and ethanol on stomach tumorigenesis in ACI rats treated with N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine: a quantitative morphometric approach. Jpn J Cancer Res 83:588–593
95. Weihrauch MR, Diehl V (2004) Artificial sweeteners—do they bear a carcinogenic risk? Ann Oncol 15:1460–1465
96. Wight AJ, Ogden GR (1998) Possible mechanisms by which alcohol may influence the development of oral cancer—a review. Oral Oncol 34:441–447
97. Wiseman M (2008) the second world cancer research fund/American Institute for Cancer Research expert report. Food, nutrition, physical activity, and the prevention of cancer: a global perspective. Proc Nutr Soc 67:270–271
98. Wu AH, Wan P, Bernstein L (2001) A multiethnic population-based study of smoking, alcohol and body size and risk of adenocarcinomas of the stomach and esophagus (United States). Cancer Causes Control 12(8):721–732
99. Wu WJ, Wolcott RM, Pruett SB (1994) Ethanol decreases the number and activity of splenic natural killer cells in a mouse model for binge drinking. J Pharmacol Exp Ther 271:722–729
100. Zhang X, Albanes D, Beeson WL et al (2010) Risk of colon cancer and coffee, tea, and sugar-sweetened soft drink intake: pooled analysis of prospective cohort studies. J Natl Cancer Inst 2 102(11):771–783
101. Zvrko E, Gledovic Z, Ljaljevic A (2008) Risk factors for laryngeal cancer in Montenegro. Arh Hig Rada Toksikol 59(11–8):9

2. Bölüm
Doğal Diyet Molekülleri

Doğal Antienflamatuar ve Antikanser İlaçlar

Barbora Orlikova, Noémie Legrand, Jana Panning, Mario Dicato ve Marc Diederich

Özet

Bitki ekstreleri çeşitli hastalıkların tedavisinde yüzyıllar boyunca kullanılmıştır. Bugüne kadar toprak ve deniz bitkilerinden veya mikroorganizmalarından elde edilen ve antioksidan, antiproliferatif ve antianjiogenik özelliklere sahip oldukları için tümör büyümesini azaltabilen beşyüzden fazla bileşik kanser tedavisinde önemli bir rol oynamıştır. Günümüzde bitki, hayvan, deniz organizmaları ve mikroorganizmaların verimli ve hızlı bir biçimde incelenebilmesine olanak veren özgün teknolojiler ile yeni doğal ürünlerin keşif süreçleri hızlanmıştır. Bitkilerden elde edilen bileşikler olan vinkristin, irinotekan, etopozid ve paklitaksel kanser tedavisinde kullanılan örneklerdir. Aktinomisin D, mitomisin C, bleomisin, doksorubisin ve lasparaginaz da mikroorganizmalardan benzer şekilde elde edilen ilaçlardır. Bu incelemede antienflamatuar ve antikanser aktiviteye sahip doğal bileşiklerin moleküler mekanizmalarını tanımlayacağız.

Anahtar Kelimeler

Doğal bileşikler · Kanser · Enflamasyon · Siklooksijenaz · Nükleer faktör kappa B · Kemoterapi · Kemoprevensiyon

B. Orlikova · N. Legrand · J. Panning · M. Dicato · M. Diederich (✉)
Laboratoire de Biologie Moléculaire et Cellulaire du Cancer, Fondation de Recherche Cancer et Sang, Hôpital Kirchberg, 9, rue Edward Steichen, L-2540, Luxembourg, Luxembourg
e-mail: marc.diederich@lbmcc.lu

M. Diederich
College of Pharmacy, Seoul National University, Seoul, 151-742, South Korea

V. Zappia et al. (eds.), *Advances in Nutrition and Cancer,*
Cancer Treatment and Research 159, DOI: 10.1007/978-3-642-38007-5_8,
© Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2014

Kısaltmalar

VEGF	Vasküler endotelyal büyüme faktörü
ROS	Reaktif oksijen türleri
NF-κB	Transkripsiyon faktörü nükleer faktör κB
N-pirazinekarbonil-L-fenil-alanin-L-lösin boronik asit	Bortezomib
BAFF	B-hücresi aktive edici faktör
NIK	NF-κB-indükleyici kinaz
STAT	Sinyal dönüştürücü ve transkripsiyon aktivatörü
COX-2	Siklooksijenaz-2
CDK	Sikline bağımlı kinaz
EEF2	Ökaryotik uzama faktörü 2
PKC	Protein kinaz C
PI3K	Fosfoinositid 3-kinaz
MAPK	Mitojen aktive protein kinaz
MLCK	Miyozin hafif zincirli kinaz
ATM	Ataksi telanjiektazi mutasyonu
PAL	Fenilalanin amonyak-liyaz
EGCG	Epigallokateşin gallat
IKK	IκB kinazı inhibe eder
DHA	Dokosaheksaenoik asit
EPA	Eikosapentaenoik asit
ETA	11, 14, 17-eikosatrienoik asit

İçindekiler

1 Giriş 125
2 Kanser ve Lösemi 126
2.1 Giriş 126
2.2 Kanserin Özellikleri 127
3 Etkinleştirici Özellikler: Enflamasyon 129
3.1 Giriş 129
3.2 Nükleer Faktör Kappa B Hücresi Sinyal Yolakları 129
3.3 Siklooksijenaz-2: Enflamasyonun Önemli bir Medyatörü 132
4 Antikanser Ajanı Olarak Doğal Bileşikler 132
4.1 Kara Bitkilerinden Elde Edilen Antikanser Bileşikler 132
4.2 Deniz Organizmalarından Elde Edilen Bileşikler 133
4.3 Mikroorganizmalardan Elde Edilen Bileşikler 133
4.4 Diyet Bileşikleri 134

4.5 Kalkonlar 134
5 Siklooksijenaz-2'nin Doğal Ürünlerle Modülasyonu 135
5.1 Transkripsiyonel Düzeyde Regülasyon 135
5.2 Posttranskripsiyonel Düzeyde Regülasyon 136
5.3 Posttranslasyonel Regülasyon 137
6 Sonuçlar 138
Referanslar 138

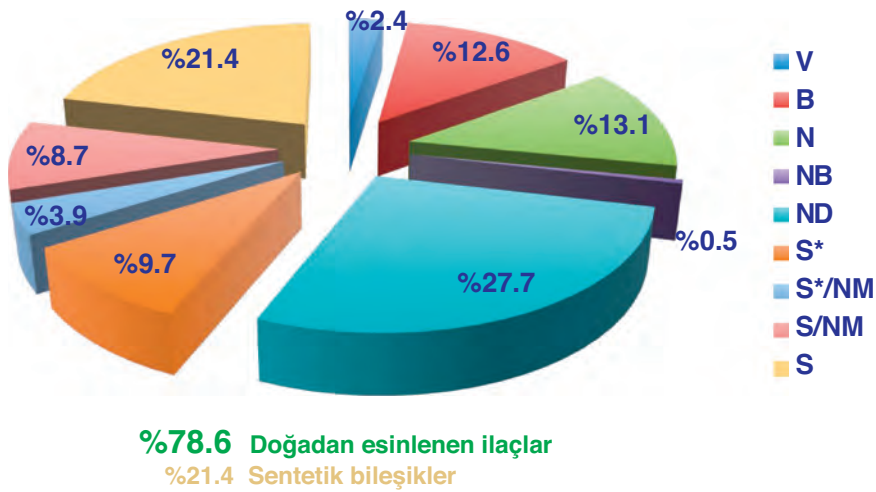
1 Giriş

Doğal bir bileşiğin tanımlanması çok karmaşıktır. Doğal ürünler geleneksel olarak yaşayan organizmalar tarafından üretilen ve biyolojik veya farmakolojik aktiviteye sahip kimyasal bileşikler olarak tanımlanırlar. Doğal bir ürün kimyasal olarak doğal ürünle özdeş olarak sentezlenebilir. Newman ve Cragg tarafından doğal ürünlerin kemoterapötik ilaç keşfi ve gelişimine katkılarını açıklamak amacıyla 1940-2010 yılları arasında onaylanan tüm antikanser ilaçların değerlendirilmesi sonucunda bir ilaç sınıflandırması geliştirilmiştir. Analizlerinde onaylı 206 antikanser ajanını net olarak tanımlayıp gruplara sınıflamışlardır [1].

İlk 8 kategorideki bileşikler doğal olarak üretilen veya doğadan esinlenen ürünlerden oluşurken, son kategorideki ürünler ise herhangi bir doğal yöntem kullanılmadığı için tamamen sentetik olan tek grubu oluşturmaktadırlar. Onaylı antikanser ajanlarının %78.6'sı ya doğal ya da doğal ürünlerden kaynaklanan ya da doğal ürünleri farklı şekillerde taklit eden ajanlardır (Şekil 1). Bu ajanların sadece %24.1'i doğada prototipi veya konsepti mevcut olmayan tamamen sentetik ürünlerdir. Bu veriler göz önüne alındığında Tabiat Ana'nın modern tedavilerdeki predominant rolü net olarak anlaşılmaktadır. Bu sınıflandırma doğal kaynaklar kullanılarak üretilen ilaçların önemini de vurgulamaktadır.

Ancak canlı organizmaların aslında dikkat çekici olan biyoaktif bileşikleri bazı durumlarda çok az miktarlarda sentezleyebilmeleri ve natürel ürünlerin sınırlı biyoaktiviteleri nedeniyle kullanımlarına yönelik kısıtlamalar mevcuttur. Molekülün polaritesi hücre içine alımını sıklıkla komplike hale getirerek aktivitesini azalmaktadır.

Buna karşın aktif ürün yapısına fonksiyonel grupların eklenmesi, çıkartılması veya modifiye edilmeleri ile natürel ürünlerin optimize edilebilmeleri mümkündür. Diğer taraftan, natürel ürünlerden esinlenen kombine sentezler kısa zamanda çok sayıda bileşiğin ortaya çıkmasına neden olmuştur. Gelecekte kuvvetli ilaç geliştirilebilmesi adına ümit vadeden stratejiler mevcuttur.



Şekil 1 Newman ve Cragg'e göre kanser ilaçlarının sınıflandırılması [1]. Bu sınıflandırma 9 kategori içermektedir. *N* modifiye edilmemiş doğal ürünler *ND* doğal bir üründen elde edilen (genellikle natürel bir ürünün yarı sentetik modifikasyonu ile) ürünler *NB* Amerikan Gıda ve İlaç idaresi (FDA) veya benzer bir organizasyon tarafından onaylı, tanımlı natürel-botanik karışım *V* Aşılar *B* Genel olarak büyük bir peptid veya proteinden oluşan biyolojik ajanlar *S** Doğal bir üründen esinlenen farmakora sahip, sentetik bileşikler *S*/NM* Doğal bir üründen esinlenen farmakora sahip, doğal ürün substratını yarışmalı olarak inhibe eden (doğal ürünü taklit eden) sentetik bileşikler *S/NM* Doğal ürün substratını yarışmalı olarak inhibe eden sentetik bileşikler *S* Doğal ürünler ile ilişkisi olmayan bileşikler.

2 Kanser ve Lösemi

2.1 Giriş

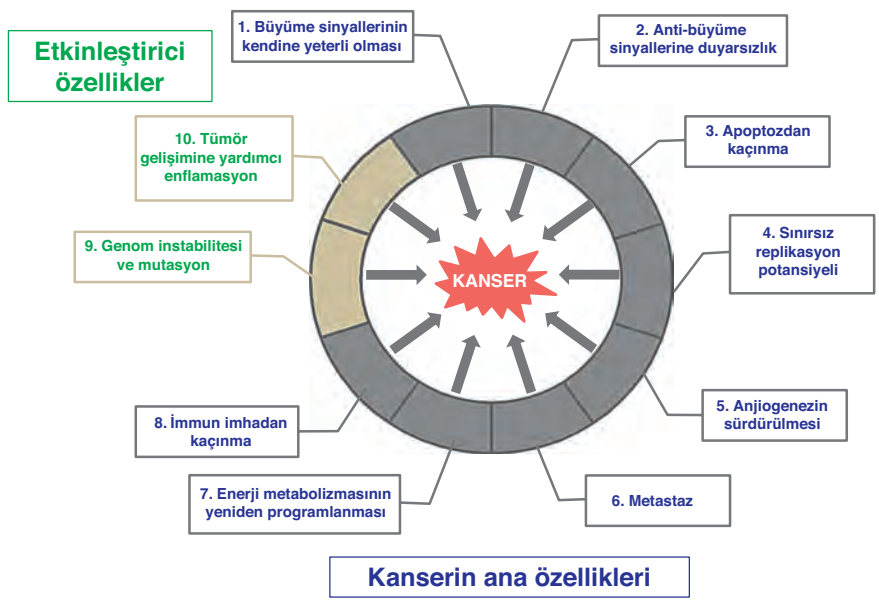
2008 yılında Avrupa'da yaşayan 2.46 milyon kişi kansere yakalanmıştır. Ortalama morbidite yaşı hem erkek hem de kadınlar için 69'dur. Kadınlarda en sık meme kanseri görülürken, erkeklerde prostat kanseri birinci sıradadır. Kanserle ilgili bilinen risk faktörleri sigara, obezite, diyet ve fiziksel inaktivitedir. Ayrıca UV ışınlarının ve viral enfeksiyonların da zararlı oldukları kabul edilir. Kanser yaşla artan ve kontrolsüz hücre üremesi ve yayılımı ile karakterize bir hastalıktır. Günümüzde genetik bir hastalık olarak kabul edilen kanserin gelişimi komplike ve çok aşamalı bir prosestir. Kanser gelişimine yol açan birkaç tane önemli neden vardır. Birincisi kanserin onkogenlerin aktivasyonu ile oluşabilmesidir. Sigara, iyonize radyasyon ve UV ışınları ile ortaya çıkabilen DNA mutasyonları onkogenlerin aktivasyonuna yol açarak büyüme faktörleri ve sekonder haberciler gibi anormal hücre büyümesinin promotörlerini kodlarlar. Onkogenlerin aktivasyonu kromozomal translokasyonlar ile de gerçekleşebilir. Bu durumda bir genin son kısmı diğer bir genin başlangıç kısmına transloke olarak bir onkogen olabilen füzyon geninin gelişimine yol açar. Son olarak viral RNA, revers trankriptazın etkisi ile insan hücre

DNA'sına entegre olabilen cDNA'ya kopyalanabilir. Bu entegrasyon bir onkogenin içinde gerçekleşirse onkogen aktive olabilir. Ayrıca hücre siklusunu, hücre farklılaşmasını ve apoptozisi kontrol eden tümör baskılayıcı genlerin deaktivasyonu da kanser başlangıcına neden olabilir. İnaktivasyonları kontrolsüz büyümeye yol açabilir. Tümör baskılayıcı genlerin fonksiyonlarının baskılanması sıklıkla kopyalanan proteinin deaktivasyonu ile gerçekleşir. Örneğin viral proteinlerin tümör baskılayıcı proteinlere bağlanmaları bu inhibisyonu aktive edebilir.

2.2 Kanserin Ana Özellikleri

Düzenleyici devrelerin etkisizleşmesi kanser hücrelerini karakterize eden özelliktir. Normal hücrelerden farklı olarak kanser hücrelerindeki proliferasyon ve homeostaz artık kontrol altında değildir [2]. Hanahan ve Weinberg yakın zamanda güncelledikleri kanserin özellikleri ile ilgili öncü makalelerinde sekiz ana özellik ve iki etkinleştirici özellikten oluşan on tane moleküler değişimin malign hücre büyümesine katkı yaptığını belirtmişlerdir (Şekil 2) [3].

Büyüme sinyallerinin kendine yeterli olması Kanser hücreleri kronik proliferasyonu sürdürebilirler. Diğer taraftan kanser hücreleri otokrin stimülasyona yol açan kendi büyüme faktörlerini de sentezlerler. Ayrıca büyüme faktörlerinden faydalanabilmek için çevrelerindeki normal hücreleri de stimüle edebilirler. Hücre yüzeyindeki reseptörlerin artan ekspresyonu veya mutasyonu ile kanser hücrelerinin büyüme faktörlerinin sinyallerine aşırı duyarlı hale gelmesine de neden olabilirler.



Şekil 2 Karsinogenez on farklı moleküler değişime dayanır; [3] nolu referanstan modifiye edilmiştir.

Tümör baskılayıcı genlerin büyümeyi inhibe edici sinyallerine duyarsızlık Hücre büyümesi ve proliferasyonun sınırlı olmasını sağlar. Yukarıda da anlatıldığı üzere kanser hücrelerindeki tümör baskılayıcı genlerin sıklıkla deaktive olmaları sürekli hücre proliferasyonuna yol açmaktadır.

Apoptozdan kaçınma Apoptoz kanser gelişiminin önünde doğal bir bariyerdir. Ancak kanser hücreleri tarafından inhibe edilebilir veya hücreler apoptozun etkisinden kaçınabilirler. Bu durum tümör baskılayıcı genlerdeki mutasyonlara, antiapoptotik Bcl-2 ve Bcl-xL genlerinin aşırı ekspresyonuna veya Bax gibi proapoptotik faktörlerin aşağı regülasyonuna bağlı olarak oluşur.

Sınırsız replikasyon potansiyeli Kromozom uçlarındaki tandem heksanükleotid kopyaları olan telomerler sınırlı sayıda hücre döngüsüne izin verirler. Proliferasyonun ilerlemesi ile kromozomların uçlarına kadar kısalan telomerler artık korunamazlar. Kromozomlar uçtan uca füzyonlar ile kararsız hale gelirler. Hücre apoptoz döngüsüne girer. Telomeraz ekspresyonu özelleşmiş bir DNA polimerazın telomer kopya segmentlerini telomerik DNA'ya eklemesini sağlar. Kanser hücreleri bu kısıtlamanın üstesinden gelerek ölümsüzlük özelliği kazanırlar.

Anjiogenezin korunması Vasküler endotelyal büyüme faktörü (VEGF) gibi proanjiogenik faktörlerin aşırı ekspresyonu veya trombospondin-1 gibi inhibitörlerin aşağı regülasyonu sonucu tümörün beslenmesi ve oksijen kullanımı düzelirken, metabolik atık ve karbondioksiti atması da kolaylaşır.

Metastaz Bu tehlikeli özellik E-kaderin gibi hücreler arası adezyon moleküllerinin kaybı ile ortaya çıkar. Metastaz, invazyon-metastaz kaskadı adı verilen bir dizi aşama ile ilerler. Birinci aşama invazyonu hücrelerin kan damarlarına intravazasyonunun takip etmesidir. Hücreler daha sonra lenfatik ve hematojen sistemler ile taşınmaya başlarlar. Kanser hücreleri bir sonraki ekstravazasyon aşamasında parenkime taşınarak mikrometastazları oluştururlar. Son olarak mikrometastazlar büyüyerek kolonizasyon adı verilen bir proses ile makroskopik tümörleri oluştururlar.

Son zamanlarda iki yeni özellik daha tanımlanmıştır:

Enerji metabolizmasının yeniden programlanması Kanser hücreleri kontrolsüz hücre proliferasyonunu sağlayabilmek için metabolizmalarını yeterli enerji kazanacak şekilde ayarlamak zorundadırlar. Onkogenlerin ve hipoksinin etkisi altındaki hücre metabolizmasının bazı durumlarda glikolitik ara ürünlerin akümülasyonuna yol açan anaerobik glikolize değiştiği bulunmuştur. Bu enerji yolağı için gereken glukoz ihtiyacı arttığı için, kanser hücreleri glukoz taşıyıcılarını sıklıkla aşırı miktarda eksprese ederek hücre içine glukoz girişini artırırlar.

İmmun imhadan kaçınma immun sistem tümör gelişimine karşı doğal bir bariyer oluşturur. Ancak kanser hücreleri tespit ve imha edilmekten immun hücreleri engelleyerek kaçınırlar. Örneğin immunosupresif faktörler salgılayarak veya immunosupresif enflamatuar hücrelerin başka yöne konsantre olmalarını sağlayarak bunu gerçekleştirirler.

Hanahan ve Weinberg'e göre bu özelliklerin kazanılmasını iki etkinleştirici özellik kolaylaştırmaktadır (Şekil 2).

Genomik instabilite ve mutasyon Kanser hücrelerinin mutasyon kapasiteleri, mutajenik bileşiklere daha yüksek duyarlı olmaları, doğal genomik tamir sisteminin ve genomun bütünlüğünü kontrol eden takip sistemlerinin bozulması nedeniyle artmıştır. Yukarıda açıklanan bu özelliklerin gelişimi büyük oranda genomdaki değişimlere bağlıdır [3].

Kronik enflamasyon Tümöre biyoaktif büyüme faktörleri, sağkalım faktörleri ve proanjiogenik faktörler gibi biyoaktif moleküller ile reaktif oksijen türleri sağlayan enflamasyon kanser, özelliklerinin gelişim sürecine katkı yapmaktadır [3].

Bu özellikler ve etkinleştirici karakteristikler modern antikanser tedavinin hedefi olarak değerlendirilebilir. Doğal bileşikler bu moleküler hedeflerin incelenmesinde kullanılabilecek mükemmel araçlardır. Biyomedikal uygulamalarda kullanılabilen özgün terapötik ve kemopreventif bileşikleri de sağlayabilirler [4–8].

3 Etkinleştirici Özellikler: Enflamasyon

3.1 Giriş

Kanserin özelliklerinden ve etkinleştirici karakteristiklerinden birisi olan enflamasyon ve ilgili hücre sinyal mekanizmaları son yıllarda ciddi anlamda ilgi çekmektedir. Enflamatuar bir ortamın kanser gelişimine yol açabileceği Mantovani ve ark. tarafından gayet iyi dökümante edilmiştir (Şekil 3) [9]. DNA hasarı nedeniyle etkinleşen proliferasyon özelliği ile prolifere olmaya devam eden hücrelerin büyümeleri, salgılanan sitokinler, kemokinler ile değişime uğrayan enflamatuar hücreler tarafından üretilen büyüme faktörleri tarafından desteklenir [9, 10]. Doğal bileşikler bu özelliği etkin bir şekilde inhibe edebilirler [11].

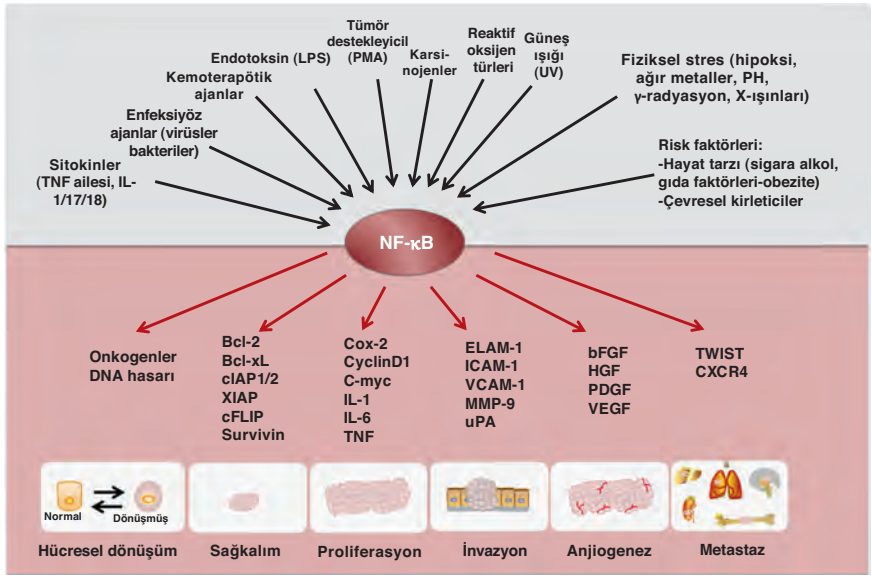
3.2 Nükleer Faktör Kappa B Hücresi Sinyal Yolakları

Enflamatuar ve yerleşik immun cevapta rol oynayan santral bir moleküler mekanizma transkripsiyon faktörü nükleer faktör κB'dir (NF-κB) [12]. NF-κB'nin yukarıda bahsedilen değişimlerin hepsini değilse bile çoğunu kontrol eden 550'den fazla geni transaktive ettiği gösterilmiştir [13, 14]. Bu nedenle bortezomib (N-pirazinkarbonil-L-alanin-L-lösin boronik asit) gibi proteazomu inhibe eden NF-κB inhibitörlerinin kanser tedavisinde ümit vadeden yeni bir yaklaşım getirdiği düşünülmektedir [14, 15].

NF-κB ailesi beş üyeden oluşur: relA (p65), relB, cRel, NF-κB1 (p50), ve NF-κB2 (p52) [14]. Bu proteinler homodimer ve heterodimerleri oluşturur [10, 14].

NF-κB aktivasyonuna yol açan dört yolak mevcuttur (Şekil 4).

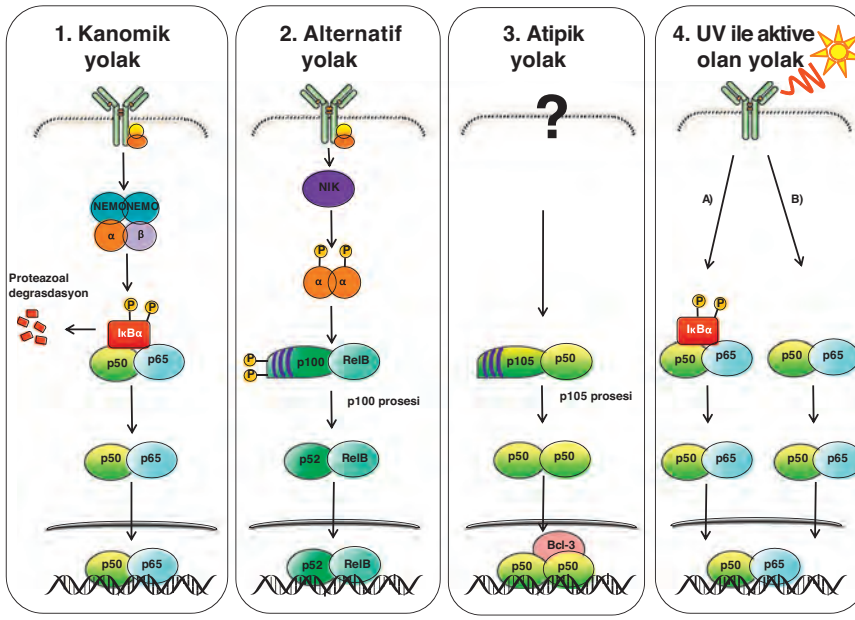
1. Birincisine kanonik NF-κB aktivasyon yolağı adı verilir. ReIA-p50 dimerleri nonstimüle şartlarda κB İnhbitörü (IκB) adı verilen inhibitör protein ile ilişkili oldukları için sitoplazmada inaktif formda kalırlar. Hücre yüzey reseptörlerinin TNF-α stres



Şekil 3 Enflamasyon, NF-κB ve kanser arasındaki ilişki; [10] nolu referanstan modifiye edilmiştir.

sinyalleri gibi proenflamatuar sitokinlerle veya lipopolisakaridler gibi patojenle ilişkili moleküler paternler (PAMP'ler) ile stimülasyonu sonrası IκB kinaz (IKK) aktive olarak IκB'yi fosforlar. Devamında IκB'ye ubikutin eklendikten sonra proteazom tarafından degrade edilir. Serbest bırakılan NF-κB transkripsiyon faktörü çekirdeği transloke ederek kanserin başlamasında, desteklenmesinde ve progresyonunda rol oynayan birçok hedef genin transkripsiyonunu aktive eder [14, 16, 17].

2. Nonkanonik ve alternatif NF-κB sinyal yolağı adı verilen ikinci yolak p100-ReIB kompleksini aktive eder. Bu durumda B-hücresi aktive edici faktör (BAFF) gibi TNF-üst ailesinin üyeleri veya CD40 ligandı, NF-κB indükleyici kinazı (NIK) reseptörlerine bağlanarak aktive eder. NIK devamında IKKα'yı aktive eder. IKKα p100'ün IκB benzeri bölgesinin iki serin kalıntısını fosforlar. Sonuçta p100 proteazom tarafından kısmen degrade edilir ve p52-ReIB kompleksi serbest kalır [10, 14, 17].
3. Üçüncü NF-κB aktivasyon yolağı (atipik yolak) IκB degradasyonunda bağımsızdır. Bu aktivasyonu regüle eden uyarıcılar hala net olarak bilinmemektedir. p105 stimülasyon sonrası p50 ile birlikte komplekste bulunur ve bir IκB benzeri bölgedeki serin kalıntılarındaki IKK'lar tarafından fosforillenir. Daha sonra ubikutin eklenen ve kısmen proteazom tarafından degrade edilen p105, p50 formasyonuna yol açar. Bcl-3 devamında p50 homodimere bağlanarak trimerik bir kompleks oluşturur. Kompleks daha sonra Bcl-3'ün CBP/p300 ile etkileşerek bir transkripsiyon aktivatörü görevi yaptığı ortamda çekirdeğe transloke olur [17, 18].



Şekil 4 NF-κB aktivasyonunun dört yolağı **a** Toll benzeri, TNF veya T hücre reseptörü tarafından aktive edilen klasik veya kanonik NF-κB aktivasyon yolağı. **b** BAFF reseptörü ve CD40 tarafından aktive edilen alternatif veya nonkanonik NF-κB sinyal yolağı. **c** Atipik yolak. **d** UV ile indüklenen yolak A erken faz yolağı ile B geç faz yolağı ile ([17] nolu referanstan uyarlanmıştır).

4. Dördüncü yolak UV tarafından indüklenen NF-κB aktivasyon yolağıdır. UV ışınları NF-κB'yi iki farklı mekanizma ile aktive eder: (a) erken faz IκB'ye bağımlı yolak, IκBa fosforilasyonuna ve proteazomal degradasyona yol açar (b) geç faz IκB'den bağımsız yolakta NF-κB bilinmeyen bir mekanizma ile serbest kalır [19, 20].

Sağlıklı hücrelerdeki NF-κB aktivasyonu regüle bir prosestir. Doğal NF-κB inhibitörü olan IκB de bu transkripsiyon faktörünün kontrolü altındadır [10]. Bu otoregüle döngüdeki NF-κB aktivasyonunun zaman ve yoğunluğu sınırlanmıştır [15]. Tümör hücrelerindeki moleküler değişimler NF-κB aktivasyonunun patolojik ve anlamlı yukarı regülasyonuna yol açarak kanser gelişiminde rol oynayan genlerin ekspresyonunu sağlar [10, 13]. Birçok tümörde NF-κB aktivasyonu tanımlanmıştır [10].

Ancak çeşitli kaynaklardan elde edilen doğal bileşikler NF-κB aktivasyonu ve ilgili hücre sinyal mekanizmaları ile etkili bir biçimde savaşabilir. Yakın zamanda, doğanın sunduğu mükemmel NF-κB inhibitörler ile ilişkili kanıtları sunmuş bulunuyoruz: kurkumin [21–23]; β-lapakon ve emodin, sanguinarin, ve kapsaisin [24]; kawainler [25]; naftopironlar [26]; kardenolidler [27, 28]; heteronemin [29]; poliketid türevleri [30]; kalkonlar [31, 32]; ve maun yaprağı ekstresinin [33] NF-κB hücre sinyal yolaklarını etkili olarak inhibe ettiklerini gösterdik. Güncel makalelerde bu konunun dünya çapında çok

aktif bir araştırma konusu olduğundan bahsedilmektedir [6, 22, 34–39]. Dikkate değer bir nokta da NF-κB'nın çok sık olarak sinyal dönüştürücü ve transkripsiyon aktivatörü (STAT) sinyal kaskadlarıyla ko-regüle olduğu ve doğal bileşiklerin bu yolakları etkili bir şekilde inhibe ettikleridir [40, 41].

3.3 Siklooksijenaz-2: Enflamasyonun Önemli bir Medyatörü

NF-κB yolağına ek olarak, siklooksijenaz ailesinin indüklenebilir bir formu olan siklooksijenaz-2'nin (COX-2) meme, kolon ve prostatı da içeren birçok kanser türünde ciddi oranda eksprese olduğu bulunmuştur [42]. Birçok çalışmada COX-2'nin erken preneoplastik evrelerden itibaren sabit bir şekilde eksprese olduğu gösterilmiştir. Bu bulgu birçok araştırıcının COX-2'yi kemoprevensiyon ve kanser tedavisinde potansiyel hedef olarak belirlemeye teşvik etmiştir. Enzimatik aktiviteyi hedefleyen sentetik COX-2 inhibitörleri COX-2'yi etkisizleştirebilen tek klinik stratejidir. Ancak bu bileşiklerin ciddi yan etkileri kemoprevensiyon veya kanser tedavisi için gerekli olan uzun süreli kullanımlarını kısıtlamaktadır. Doğal COX-2 inhibitörlerinin keşfi yan etkilerin önlenmesini sağlayabileceği için, günümüzde aktif araştırmalar yapılan bir alan haline gelmiştir [43].

4 Antikanser Ajanı Olarak Doğal Bileşikler

4.1 Kara Bitkilerinden Elde Edilen Antikanser Bileşikler

Bitkiler hayatta kalabilmek ve kendilerini savunabilmek için alkaloidler gibi bileşiklere dayanan ve diğer bitkilerin büyümelerine engel olan multipl mekanizmalar geliştirmişlerdir. Örnek olarak Catharantus roseus'dan (Cezayir Menekşesi) elde edilen bir Vinca alkaloidi olan vinkristin verilebilir. Serbest tubulin dimerlerini bağlayıp mikrotubul polimerizasyonuna engel olarak metafazı durdurur. Bir diğer iyi bilinen bileşik ise Mayıs Elmasının (Podophyllum peltatum) doğal bir podofilotoksini olan etopoziddir. Etopozid mitozdaki tümör hücrelerinin girişini topoizomeraz II aktivitesini inhibe edip çift sarmalı DNA'nın kırılmasını sağlayarak engeller. Ayrıca taksan ailesine ait moleküller olan paklitaksel ve dosetaksel de meme ve ovaryum kanserlerine karşı antitümör aktivite gösterirler. Paklitaksel Pasifik Okyanusu bölgesindeki Porsuk Ağacının (Taxus brevifolia) kabuğundan, dosetaksel ise aynı ağacın iğne yapraklarından elde edilir. Tubulin dimerlerindeki mikrotubullerin birleşimini stimüle ederek, mikrotubulleri depolimerizasyonu önleyerek stabilize ederler. Bu stabilite mikrotubuler ağın dinamik reorganizasyonunu engelleyrek mitozun durmasına yol açar. Flavopiridol ise ilk bulunan sikline bağımlı kinaz (CDK) inhibitörüdür [44]. Semisentetik bir flavono-

iddir. CDK'ların fosforilasyonuna müdahil olup G1 ve G2 fazlarındaki progresyonu engelleyerek hücre bölünmesini inhibe eder ve tümör hücrelerinin apoptozunu indükler. Flavopiridol ayrıca meme kanseri hücrelerinde aşırı eksprese olan siklin D1'in [45] ekspresyonunu azaltır. Bu bileşik diğer CDK'ların fosforilasyonunda rol oynayan kompleks cdk7/siklin H'nın da aktivitesini engeller. Bu bileşik ile yapılan klinik çalışmalar ve paklitaksel ve sisplatin gibi diğer doğal bileşiklerle yapılan kombinasyon testleri halen sürmektedir [46, 47].

4.2 Deniz Organizmalarından Elde Edilen Bileşikler

Deniz bitkileri büyük kimyasal çeşitlilik gösterirler. Deniz kaynaklarından elde edilen ürünler birçok kanser türüne karşı sitotoksik aktiviteye sahiptir [5, 29, 34, 35, 38, 48–51].

Didemnin B 1981'de Karayip Zarlısından (Tridemnum solidum) izole edilen ilk deniz kaynaklı bileşiktir. Ökaryotik uzama faktörü 2'nin (EEF2) translokasyonunu engelleyerek protein sentezini inhibe eder [52]. Didemnin B kaspazları aktive ederek hücre apoptozuna yol açar [53].

Dolastatinler Hint Okyanusu yumuşakçası Dollabella auriculariadan elde edilen peptidlerdir. Antineoplastik özellik taşırlar. Örneğin dolastatin 15 mikrotübül formasyonuna müdahil olup, metafazdaki hücre bölünmesini bloke ederek mitozu engeller [54].

Bryostatinler yosun türü olan Bugula neritinadan izole edilmiştir. Bu tür, aktif bir biyomolekül olan bryostatin salgılayan bir bakteri ile simbiyoz halinde yaşarlar. Bileşik bryozoaların larvalarını yırtıcı balıkları kaçırarak korur. Makrolid olan bryostatinler 15 farklı türevi olan bir ailedir. Bryostatin 1 en iyi bilinen antikanser ajandır. Bu bileşikler lenfoblastik lösemide Bcl-2'ye ubikutin eklenmesini ve proteazom degradasyonunu indükler ve kemik iliği hücrelerinde progenitör hücrelerin üremesine izin verir [55]. Bryostatinler protein kinaz C'nin (PKC) potent aktivatörleridir. Hücrelerin aktivasyon, büyüme ve farklılaşmalarını regüle ederler [46, 47].

4.3 Mikroorganizmalardan Elde Edilen Bileşikler

Mikroorganizmalar tehlikeli ortamlarda ve doku/organlarda sağ kalabilmek çok gelişmiş immun sistemlerini de içeren sofistike mekanizmalar geliştirmişlerdir. Bu nedenle bir dokuyu istila ederken farklı stratejiler kullanırlar. İmmun sistem hücrelerini yok eden toksinlerin salgılanması ve savunma sistemleri tarafından tanınmalarına engel olan kamuflaj özelliği örnek olarak verilebilir. Mikroorganizmalar elde edilen bileşikler bu multipl özellikleri nedeniyle kanser tedavisi için ilgi çekici bir konu oluşturmaktadır.

Streptomyces hygroscopicusdan izole edilen rapamisinin antifungal ve antiproliferatif özellikleri vardır. Rapamisin hücre büyüme ve proliferasyonunu kontrol eden mTOR

yolağını inhibe eder [56]. mTOR aktivasyonu hücrelerin hücre döngüsü içine girmelerine izin verir. Rapamisin transplantasyon sonrası allogreft reddini engeller. İn vivo ve in vitro ortamda çok sayıda tümör üzerinde antiproliferatif etki gösterir [56]. T ve B hücrelerindeki G1, osteosarkom ve diğer tümör hücrelerinin hücre döngüsündeki progresyonlarını bloke eder.

Wortmannin, Penicillium fumiculosumdan izole edilen fosfoinositid 3-kinaz (PI3K), mitojen aktive protein kinaz (MAPK) ve düz kas hücre kontraksiyonunda rol oynayan hafif miyozin zincirlerini fosforlayan bir serin treonin kinaz olan miyozin hafif zincirli kinazı (MLCK) inhibe eder [57]. Wortmannin DNA hasarı ile oluşan kinaz ataksi telenjiektazi mutasyonunu (ATM) bloke eder. Ayrıca sitokinlerin antiapoptotik etkilerini ve p53 stabilizasyonunu da inhibe eder [46, 47].

4.4 Diyet Bileşikleri

Sinnamik asit 1834 yılında Peligot ve Dumas tarafından keşfedilen ve saflaştırılan bir fenolik asittir. Cinnamomum cassiadan izole edilir ve antiseptik ve antifungal özellikleri ile tanınır. Sinnamik asit, şikimik asit ve tüm fenilpropanoidlerin biyosentetik yolağının aracısıdır. Fenilalanin amonyak-liyaz (PAL) enzimi ile fenilalaninden elde edildikten sonra sinnamat 4-hidroksilaz tarafından parakumarik aside dönüştürülür. Sinnamik asit, hidroksisinnamik asitler (kafeik asit, ferulik asit ve sinapik asit), dahili siklizasyon ile kumarinler (p-kumarik asit), flavonoidler (kuersetin) ve ligninler (koniferil alkol) gibi bileşiklere de dönüşebilir. Sinnamik asit ayrıca benzoik asit, salisilik asit ve gallik asitinde prekürsorudur. Sinnamik asitin melanom, glioblastom ile akciğer ve karaciğer adenokarsinomuna karşı antitümör etkisi olduğu gösterilmiştir [58]. Sinnamik asit kolorektal kanser hücreleri (Caco-2) üzerinde de antiproliferatif etki ve doza bağımlı DNA sentezi inhibisyonu yapar [59].

4.5 Kalkonlar

Polifenoller her molekülde birden fazla fenol içeren önemli besin bileşiklerindendir [60]. Bu aile bitki, meyve ve sebzelerde bulunan ve ultraviyole radyasyonuna ve patojen agresyonuna karşı koruyan mekanizmalarda rol alan binlerce molekülden oluşur. Hücreleri serbest radikallerin ve kanser, enflamasyon ve kardiyovasküler hastalık gibi patolojilerin hasarlarına karşı korurlar [61]. Kalkonlar antioksidan, antibakteryel, antienflamatuar, antikanser, sitotoksik ve immunosupresif potansiyeli olan önemli bir polifenolik alt gruptur. Kalkonlar özellike turunçgiller, elma gibi meyvelerde ve bitkisel tıpta geleneksel olarak kullanılan sebzelerde bol miktarda bulunurlar [62]. Kalkonların (spesifik olmamalarına rağmen) aşağı yönlü sinyal yolaklarını modüle eden belirgin regülatuar proteinleri hedefledikleri bildirilmiştir. Spesifik yapı gereksinimleri önemli rol

oynamakta olup, gözlenen biyoaktiviteleri ile korele olabilir [63-67]. Doğal kalkonların nütrasötik veya özgün terapötik ajanlar olarak tanımlanmaları ve karakterize edilmeleri enflamasyon ve kanser tedavisinde ümit verici bir yaklaşım olabilir [31, 32, 39].

5 Siklooksijenaz-2'nin Doğal Ürünlerle Modülasyonu

COX-2'yi transkripsiyon, posttranskripsiyon ve posttranslasyon düzeyinde modüle edebilen birçok doğal ürün mevcuttur (Şekil 5) [43].

5.1 Transkripsiyonel Düzeyde Regülasyon

Polifenoller kemoterapi ve kemoprevensiyonda kullanılan çok sayıda bileşiğin kaynağıdır. Bu bileşikler ilginç antienflamatuar ve antikanser özelliklere sahiptir. Bu bileşiklerin hedeflerinin bir tanesi faktör NFκB'dir. Birçok çalışmada bu bileşiklerin COX'un transkripsiyon düzeyindeki ekspresyonunu regüle ederek fonksiyonunu azaltma yetenekleri araştırılmıştır (Şekil 5).

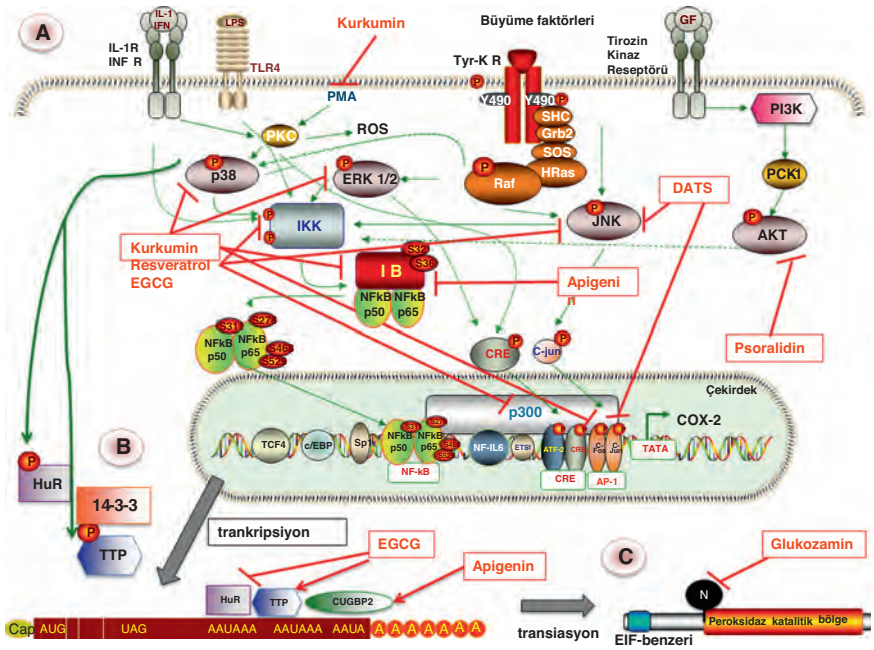
Birçok bileşik COX-2'nin ekspresyonunu MAPK sinyal yolaklarını etkileyerek modüle eder. Gerçekten de Curcuma longa kökünden ekstrakte edilen ve antienflamatuar ve antikanser etkileri olan kurkumin p38 ve ERK'nın fosforilasyonunu engelleyebilir [68]. Aynı etkiyi yapan resveratrol esas olarak kırmızı şarap ve üzümde bulunurken [69], epigallokateşin gallat (EGCC) ise yeşil çaydan elde edilen bir polifenoldür [70].

JNK'nın aktivasyonu ile transkripsiyon faktörü AP-1 aktive olur. Bu aktivasyon sarımsak ve soğandan elde edilen dialil polisülfidler tarafından inhibe edilir [71]. Ek olarak Psoralea corylifolia tohumlarından elde edilen bir bileşik olan psoralidin, PI3K/Akt yolağını inhibe eder [72].

MAPK'lerin aktivasyonlarının inhibe edilmesi COX-2 promotörünün spesifik bölgelerine bağlanan transkripsiyon faktörlerinin aktivasyon ve nükleer translokasyonlarını engelleyerek COX-2 ekspresyonunu inhibe eder.

Doğal ürünler transkripsiyon faktörlerinin direkt aktivasyonunda da rol oynayabilirler. Örneğin papatyada bulunan bir flavon olan apigenin, IκBa'yı fosforlayan ve inhibe eden IκB kinazı (IKK) inhibe eder. IκBa NF-κB'yi tecrit ederek çekirdeğe transportuna ve alt ünitelerinin (p65, p50) promotör ile iletişimine engel olur.

Diğer transkripsiyon faktörleri de doğal ürünlerin hedefleri arasındadır. c-jun ve c-FOS alt ünitelerinden oluşan AP-1 endometrium karsinomunda kurkumin tarafından inhibe edilir. Bu faktör nonkarsinojenik LDC'ler [73], dialil trisülfitleri [71] ve flavonoid kuersetin [74] ile stimüle edilen memeli epitel hücrelerindeki resveratrol ile inhibe edilir. AP-1 aktivasyonu enflamasyon, hücre transformasyonu ve immun cevaba yol açar. AP-1 metastaz formasyonunun erken bir evresi olan epitelyal mezenkimal transisyona izin



Şekil 5 COX-2 ekspresyonunun doğal bileşiklerle modülasyonu **a** Transkripsiyonal regülasyon: Kurkumin, resveratrol ve EGCG, p38, ERK ve JNK aktivasyonunu ve IκBa degradasyonunu ve IKK aktivasyonunu inhibe eder. Kurkumin, PMA ve ETS-1 nükleer translokasyonunun etkilerini inhibe eder. Dialil trisülfitler JNK aktivasyonunu ve c-Fos ve c-Jun'un nükleer translokasyonunu engellerler. Apigenin IκBa degradasyonunu engeller. Psoralidin AKT aktivasyonunu engeller. **b** Posttranskripsiyonel regülasyon: EGCG ARE'lere HuR bağlanmasını inhibe eder ve TTP ekspresyonunu destekler. Apigenin ARE'lere CUGBP2 bağlanmasına ve HuR ile iletişimine izin verir. **c** Posttranslasyonel regülasyon: Glukozamin COX-2 proteininin transformasyonunun N-glikozilasyonunu ve immün cevabı engeller.

verir [75]. Transkripsiyon faktörü Ets-1, anjiogenezde rol oynayan VEGF gibi faktörlerin ekspresyonlarını regüle eder. İnsandaki endometrium karsinomlarındaki ekspresyonu kurkumin ile inhibe edilebilir [68]. PMA COX-2 ekspresyonunun indükleyicisidir. PKC'nin diasilgliserol bölgesine (DAG) bağlanarak aktive olmasını sağlar. PKC reaktif oksijen türlerinin formasyonunu destekler. Kurkumin PMA etkinliğini bloke eden antioksidan özelliklere sahiptir [75].

5.2 Posttranskripsiyonel Düzeyde Regülasyon

mRNA stabilite ve translasyon etkinliğinin modülasyonu immun hastalıklar ve kanserde COX-2 stabilitesi için çok önemlidir. Kolorektal kanserdeki COX-2 mRNA yüksek oranda stabildir. Birkaç çalışmada doğal ürünlerin posttranskripsiyonel seviyedeki COX-2 ekspresyonu üzerindeki etkileri araştırılmıştır (Şekil 5).

HuR ve TTP'yi de içeren çeşitli moleküller COX-2'nin stabilitesini modüle eder. Ayrıca 30 translasyona uğramayan bölgede (UTR) miR-199 ve miR-16 gibi AUUUUA yönünden zengin elemanları (ARE) bağlayan mikro RNA'lar, mRNA kodlayan COX-2'yi regüle ederler. Bazı doğal ürünler mRNA'yı stabilize veya destabilize etmek amacıyla regüle ederler. Örneğin EGCG, mRNA stabilizasyonunda rol oynayan HuR proteinini inhibe ederken, mRNA COX-2'yi destabilize eden TTP proteinini indükler [70]. Kurkumin çeşitli miRNA'ların ekspresyonlarını aşağı veya yukarı regüle edebilir. Gerçekten de kurkumin miR-199'u aşağı regüle ederken miR-22'yi ise yukarı regüle eder [76].

P38 MAPK, mRNA stabilitesinin regülasyonunda önemlidir. p38, HuR ve TTP'yi fosforilleme yeteneğine sahiptir. HuR fosforilasyonunun aktivasyonu sitoplazmaya transportuna ve ARE sekanslarına bağlanmasına izin verir [77]. Buna karşın TTP fosforilasyonu proteine bağlanan 14-3-3 kompleksi tarafından tanınarak ARE'lere bağlanması engellenir [78]. Kurkumin [79] ve resveratrol [69], p38 aktivasyonunu engeller.

Diğer bileşikler, ARE'lerdeki TIA-1, TIAR gibi bazı proteinlerin bağlanmalarını modüle ederek COX-2'nin mRNA'sının translasyon etkinliğinde rol oynarlar. Örneğin apigenin COX-2 transkriptini stabilize ederken translasyonu inhibe eden HuR ve CUGBP2 ile etkileşimi nedeniyle de proteine translasyonunu engeller [80]. Tarçın, glukokortikoidler ve yeşil çayın TTP transkripsiyonunu desteklediği gösterilmiştir [81].

p38'in aktivasyonu COX-2'nin transkripsiyonel ve posttranskripsiyonel seviyelerdeki ekspresyonunun regülasyonunda önemlidir. Transkripsiyon düzeyinde NF-κB veya AP-1 gibi transkripsiyon faktörlerini aktive ederek COX-2'nin transkripsiyonunu sağlar. Posttranskripsiyonel seviyede HuR fosforilasyonunu destekleyerek ve nükleositoplazmik transportuna izin vererek COX-2 mRNA'yı stabilize eder.

Bazı bileşikler COX-2'yi sadece posttranskripsiyonel düzeyde etkilemektedir. Bu durum COX-2'nin mRNA stabilitesini, mikroglial hücrelerde liposakaridler ile stimüle edilen COX-2'nin transkripsiyon etkinliğini etkilemeden azaltan mango ağacından (Mangifera indica) elde edilen glukozilksanton ekstresi mangiferin için geçerlidir [82].

5.3 Posttranslasyonel Regülasyon

COX-2'nin posttranslasyonel modifikasyonları güncel bir araştırma alanının konusudur. İlk sonuçlar kemopreventif ajanların COX-2'nin bu seviyedeki ekspresyonunda rol oynadığını düşündürmektedir (Şekil 5).

Balıktan veya keten tohumundan elde edilen omega-3 gibi poliansatüre yağ asitlerinin kardiyovasküler hastalıklardan koruyucu ajanlar olduğu düşünülmektedir. Başlıca iki omega-3 yağ asidi türü olan dokosaheksaenoik asit (DHA) ve eikosapentaenoik asit (EPA) kolon kanseri [83], prostat kanseri [84] ve hepatoselüler karsinomda [85] antiproliferatif etki gösterirler. Prostat kanserinin agresif formlarının gelişme olasılığı ile düzenli omega-3 yağ asidi tüketimi arasında ters bir korelasyon olduğu gösterilmiştir [84]. Ek olarak DHA, EPA veya 11, 14, 17-eikostrienoik asit (ETA) ve diğer omega-3 yağ asitlerinin uygulaması in vivo cilt kanseri modellerinde proenflamatuar medyatörlerin eks-

presyonunu engellemektedir [86]. Omega 3, COX-2 ekspresyonunu azatır ve aktivitesini inhibe eder [87]. Kabukluların iskeletlerinde doğal olarak bulunan bir diğer omega-3 yağ asidi olan glukozamin çoğunlukla osteoartrit tedavisinde kullanılmaktadır. Güncel veriler glukozaminin akciğer kanseri hücrelerindeki COX-2'nin N-glikolizasyonunu azaltarak [88] COX-2 aktivitesini azalttığını göstermektedir. Bu molekülün COX-2'nin aktivitesini ve stabilitesini bloke etme özelliği kanser tedavisindeki ilginç bir antienflamatuar etkiyi ortaya koymaktadır.

6 Sonuçlar

En büyük medikal tedavi kaynağı olan doğa, sofistike geleneksel tedavilerin temeli haline gelmiştir. Mısır Tıbbı, Çin İlaç Bilimi, Hindistan Ayurveda Tıbbı ile birlikte antik Batı dünyasındaki Yunan ve Roma Tıpları genel olarak bitki kaynaklı tedavilere dayanmaktadır. Modern kanser ilaç keşfinde doğal ürünlerin önemi günümüzde de sürmektedir. Organizmalar tarafından üretilen sekonder metabolitler başlıca koruma, predasyon ve komünikasyon işlevine sahip aktif bileşikler içermektedirler. Bu nedenle, biyolojik olarak yüksek oranda aktif olan bu bileşikler modern tıp tarafından doğal olarak adapte edilmektedir. Bu bileşiklerin enflamasyon ve kanserde rol oynayan moleküler mekanizmalara karşı olan aktiviteleri günümüzde aktif bir araştırma alanı haline gelmiştir. Bu nedenle doğal kaynaklardan elde edilen bileşiklerin, hem koruma hem de tedavide kullanılabilen değerli ajanlar olduğunu düşünüyoruz.

Teşekkürler: BO and NL Télévie-Luxembourg doktora bursunu kullanmıştır. Laboratoire de Biologie Moléculaire et Cellulaire du Cancer'de yapılan araştırma "Recherche Cancer et Sang" vakfı, "Recherches Scientifiques Luxembourg" birliği, "Een Haerz fir kriibskrank Kanner" birliği, the Action Lions "Vaincre le Cancer" birliği and Télévie Luxembourg tarafından desteklenmiştir. Diğer destekler Avrupa Birliği'nden alınmıştır (ITN "RedCat" 215009, Interreg IVa project "Corena").

Referanslar

1. Newman DJ, Cragg GM (2012) Natural products as sources of new drugs over the 30 years from 1981 to 2010. J Nat Prod 75(3):311–335
2. Hanahan D, Weinberg RA (2000) The hallmarks of cancer. Cell 100:57–70
3. Hanahan D, Weinberg RA (2011) Hallmarks of cancer: the next generation. Cell 144:646–674
4. Trecul A, Morceau F, Dicato M, Diederich M (2012) Dietary compounds as potent inhibitors of the signal transducers and activators of transcription (STAT) 3 regulatory network. Genes Nutr 7:111–125

5. Schumacher M, Kelkel M, Dicato M, Diederich M (2011) Gold from the sea: marine compounds as inhibitors of the hallmarks of cancer. Biotechnol Adv 29:531–547
6. Schumacher M, Juncker T, Schnekenburger M, Gaascht F, Diederich M (2011) Natural compounds as inflammation inhibitors. Genes Nutr 6:89–92
7. Orlikova B, Diederich M (2012) Power from the garden: plant compounds as inhibitors of the hallmarks of cancer. Curr Med Chem 19:2061–2087
8. Kelkel M, Jacob C, Dicato M, Diederich M (2010) Potential of the dietary antioxidants resveratrol and curcumin in prevention and treatment of hematologic malignancies. Molecules 15:7035–7074
9. Balkwill F, Mantovani A (2001) Inflammation and cancer: back to Virchow? Lancet 357:539–545
10. Prasad S, Ravindran J, Aggarwal BB (2010) NF-kappaB and cancer: how intimate is this relationship. Mol Cell Biochem 336:25–37
11. Folmer F, Dicato M, Diederich M (2012) From the deepest sea shelf to the uppermost kitchen cabinet shelf: the quest for novel TNF-alpha inhibitors. Curr Top Med Chem 12(3):1392–1407
12. Delhalle S, Blasius R, Dicato M, Diederich M (2004) A beginner's guide to NF-kappaB signaling pathways. Ann NY Acad Sci 1030:1–13
13. Meteoglu I, Erdogdu IH, Meydan N, Erkus M, Barutca S (2008) NF-KappaB expression correlates with apoptosis and angiogenesis in clear cell renal cell carcinoma tissues. J Exp Clin Cancer Res 27:53
14. Baud V, Karin M (2009) Is NF-kappaB a good target for cancer therapy? Hopes and pitfalls. Nat Rev Drug Discov 8:33–40
15. Nishikori M (2005) Classical and alternative NF-kB activation pathways and their roles in lymphoid malignancies. J Clin Exp Hematopathol 45:15–24
16. Li Q, Verma IM (2002) NF-kappaB regulation in the immune system. Nat Rev Immunol 2:725–734
17. Gilmore TD (2006) Introduction to NF-kappaB: players, pathways, perspectives. Oncogene 25:6680–6684
18. Heissmeyer V, Krappmann D, Wulczyn FG, Scheidereit C (1999) NF-kappaB p105 is a target of IkappaB kinases and controls signal induction of Bcl-3-p50 complexes. EMBO J 18:4766–4778
19. Wu S, Tong L (2010) Differential signaling circuits in regulation of ultraviolet C light-induced early- and late-phase activation of NF-kappaB. Photochem Photobiol 86:995–999
20. Muthusamy V, Piva TJ (2010) The UV response of the skin: a review of the MAPK, NFkappaB and TNFalpha signal transduction pathways. Arch Dermatol Res 302:5–17
21. Duvoix A, Blasius R, Delhalle S, Schnekenburger M, Morceau F, Henry E, Dicato M, Diederich M (2005) Chemopreventive and therapeutic effects of curcumin. Cancer Lett 223:181–190
22. Duvoix A, Morceau F, Delhalle S, Schmitz M, Schnekenburger M, Galteau MM, Dicato M, Diederich M (2003) Induction of apoptosis by curcumin: mediation by glutathione S-transferase P1–1 inhibition. Biochem Pharmacol 66:1475–1483
23. Reuter S, Schnekenburger M, Cristofanon S, Buck I, Teiten MH, Daubeuf S, Eifes S, Dicato M, Aggarwal BB, Visvikis A, Diederich M (2009) Tumor necrosis factor alpha induces gamma-glutamyltransferase expression via nuclear factor-kappaB in cooperation with Sp1. Biochem Pharmacol 77:397–411
24. Duvoix A, Delhalle S, Blasius R, Schnekenburger M, Morceau F, Fougere M, Henry E, Galteau MM, Dicato M, Diederich M (2004) Effect of chemopreventive agents on glutathione S-transferase P1–1 gene expression mechanisms via activating protein 1 and nuclear factor kappaB inhibition. Biochem Pharmacol 68:1101–1111
25. Folmer F, Blasius R, Morceau F, Tabudravu J, Dicato M, Jaspars M, Diederich M (2006) Inhibition of TNFalpha-induced activation of nuclear factor kappaB by kava (Piper methysticum) derivatives. Biochem Pharmacol 71:1206–1218

26. Folmer F, Harrison WT, Tabudravu JN, Jaspars M, Aalbersberg W, Feussner K, Wright AD, Dicato M, Diederich M (2008) NF-kappaB-inhibiting naphthopyrones from the Fijian echinoderm Comanthus parvicirrus. J Nat Prod 71:106–111
27. Juncker T, Schumacher M, Dicato M, Diederich M (2009) UNBS1450 from Calotropis procera as a regulator of signaling pathways involved in proliferation and cell death. Biochem Pharmacol 78:1–10
28. Juncker T, Cerella C, Teiten MH, Morceau F, Schumacher M, Ghelfi J, Gaascht F, Schnekenburger M, Henry E, Dicato M, Diederich M (2011) UNBS1450, a steroid cardiac glycoside inducing apoptotic cell death in human leukemia cells. Biochem Pharmacol 81:13–23
29. Schumacher M, Cerella C, Eifes S, Chateauvieux S, Morceau F, Jaspars M, Dicato M, Diederich M (2010) Heteronemin, a spongean sesterterpene, inhibits TNF alpha-induced NF-kappa B activation through proteasome inhibition and induces apoptotic cell death. Biochem Pharmacol 79:610–622
30. Aly AH, Debbab A, Clements C, Edrada-Ebel R, Orlikova B, Diederich M, Wray V, Lin W, Proksch P (2011) NF kappa B inhibitors and antitrypanosomal metabolites from endophytic fungus Penicillium sp. isolated from Limonium tubiflorum. Bioorg Med Chem 19:414–421
31. Orlikova B, Tasdemir D, Golais F, Dicato M, Diederich M (2011) The aromatic ketone 4′-hydroxychalcone inhibits TNFalpha-induced NF-kappaB activation via proteasome inhibition. Biochem Pharmacol 82:620–631
32. Orlikova B, Schnekenburger M, Zloh M, Golais F, Diederich M, Tasdemir D (2012) Natural chalcones as dual inhibitors of HDACs and NF-kappaB. Oncol Rep 28(3):797
33. Schumacher M, Cerella C, Reuter S, Dicato M, Diederich M (2011) Anti-inflammatory, pro-apoptotic, and anti-proliferative effects of a methanolic neem (Azadirachta indica) leaf extract are mediated via modulation of the nuclear factor-kappaB pathway. Genes Nutr 6:149–160
34. Folmer F, Jaspars M, Dicato M, Diederich M (2008) Marine natural products as targeted modulators of the transcription factor NF-kappaB. Biochem Pharmacol 75:603–617
35. Folmer F, Jaspars M, Solano G, Cristofanon S, Henry E, Tabudravu J, Black K, Green DH, Kupper FC, Aalbersberg W, Feussner K, Dicato M, Diederich M (2009) The inhibition of TNF-alpha-induced NF-kappaB activation by marine natural products. Biochem Pharmacol 78:592–606
36. Teiten MH, Eifes S, Dicato M, Diederich M (2010) Curcumin-the paradigm of a multi-target natural compound with applications in cancer prevention and treatment. Toxins (Basel) 2:128–162
37. Teiten MH, Gaascht F, Eifes S, Dicato M, Diederich M (2010) Chemopreventive potential of curcumin in prostate cancer. Genes Nutr 5:61–74
38. Schumacher M, Kelkel M, Dicato M, Diederich M (2011) A survey of marine natural compounds and their derivatives with anti-cancer activity reported in 2010. Molecules 16:5629–5646
39. Orlikova B, Tasdemir D, Golais F, Dicato M, Diederich M (2011) Dietary chalcones with chemopreventive and chemotherapeutic potential. Genes Nutr 6:125–147
40. Blasius R, Reuter S, Henry E, Dicato M, Diederich M (2006) Curcumin regulates signal transducer and activator of transcription (STAT) expression in K562 cells. Biochem Pharmacol 72:1547–1554
41. Aggarwal BB, Kunnumakkara AB, Harikumar KB, Gupta SR, Tharakan ST, Koca C, Dey S, Sung B (2009) Signal transducer and activator of transcription-3, inflammation, and cancer: how intimate is the relationship? Ann NY Acad Sci 1171:59–76
42. Sobolewski C, Cerella C, Dicato M, Ghibelli L, Diederich M (2010) The role of cyclooxygenase-2 in cell proliferation and cell death in human malignancies. Int J Cell Biol 2010:215158

43. Cerella C, Sobolewski C, Dicato M, Diederich M (2010) Targeting COX-2 expression by natural compounds: a promising alternative strategy to synthetic COX-2 inhibitors for cancer chemoprevention and therapy. Biochem Pharmacol 80:1801–1815
44. Zhai S, Senderowicz AM, Sausville EA, Figg WD (2002) Flavopiridol, a novel cyclin-dependent kinase inhibitor, in clinical development. Ann Pharmacother 36:905–911
45. Carlson BA, Dubay MM, Sausville EA, Brizuela L, Worland PJ (1996) Flavopiridol induces G1 arrest with inhibition of cyclin-dependent kinase (CDK) 2 and CDK4 in human breast carcinoma cells. Cancer Res 56:2973–2978
46. da Rocha AB, Lopes RM, Schwartsmann G (2001) Natural products in anticancer therapy. Curr Opin Pharmacol 1:364–369
47. Nobili S, Lippi D, Witort E, Donnini M, Bausi L, Mini E, Capaccioli S (2009) Natural compounds for cancer treatment and prevention. Pharmacol Res 59:365–378
48. Abdel-Mageed WM, Milne BF, Wagner M, Schumacher M, Sandor P, Pathom-aree W, Goodfellow M, Bull AT, Horikoshi K, Ebel R, Diederich M, Fiedler HP, Jaspars M (2010) Dermacozines, a new phenazine family from deep-sea dermacocci isolated from a Mariana trench sediment. Org Biomol Chem 8:2352–2362
49. Folmer F, Jaspars M, Schumacher M, Dicato M, Diederich M (2010) Marine natural products targeting phospholipases A2. Biochem Pharmacol 80:1793–1800
50. Rateb ME, Houssen WE, Schumacher M, Harrison WT, Diederich M, Ebel R, Jaspars M (2009) Bioactive diterpene derivatives from the marine sponge Spongionella sp. J Nat Prod 72:1471–1476
51. Teiten MH, Gaascht F, Dicato M, Diederich M (2012) Targeting the wingless signaling pathway with natural compounds as chemopreventive or chemotherapeutic agents. Curr Pharm Biotechnol 13:245–254
52. Ahuja D, Vera MD, SirDeshpande BV, Morimoto H, Williams PG, Joullie MM, Toogood PL (2000) Inhibition of protein synthesis by didemnin B: how EF-1 alpha mediates inhibition of translocation. Biochemistry 39:4339–4346
53. Grubb DR, Wolvetang EJ, Lawen A (1995) Didemnin B induces cell death by apoptosis: the fastest induction of apoptosis ever described. Biochem Biophys Res Commun 215:1130–1136
54. Bai R, Friedman SJ, Pettit GR, Hamel E (1992) Dolastatin 15, a potent antimitotic depsipeptide derived from Dolabella auricularia. Interaction with tubulin and effects of cellular microtubules. Biochem Pharmacol 43:2637–2645
55. Wall NR, Mohammad RM, Reddy KB, Al-Katib AM (2000) Bryostatin 1 induces ubiquitination and proteasome degradation of Bcl-2 in the human acute lymphoblastic leukemia cell line, Reh. Int J Mol Med 5:165–171
56. Geerts AM, Vanheule E, Van Vlierberghe H, Leybaert L, Van Steenkiste C, De Vos M, Colle I (2008) Rapamycin prevents mesenteric neo-angiogenesis and reduces splanchnic blood flow in portal hypertensive mice. Hepatology Res Official J Jpn Soc Hepatology 38:1130–1139
57. Nakanishi S, Kakita S, Takahashi I, Kawahara K, Tsukuda E, Sano T, Yamada K, Yoshida M, Kase H, Matsuda Y et al (1992) Wortmannin, a microbial product inhibitor of myosin light chain kinase. J Biol Chem 267:2157–2163
58. Liu L, Hudgins WR, Shack S, Yin MQ, Samid D (1995) Cinnamic acid: a natural product with potential use in cancer intervention. Int J Cancer 62:345–350
59. Ekmekcioglu C, Feyertag J, Marktl W (1998) Cinnamic acid inhibits proliferation and modulates brush border membrane enzyme activities in Caco-2 cells. Cancer Lett 128:137–144
60. Ullah MF, Khan MW (2008) Food as medicine: potential therapeutic tendencies of plant derived polyphenolic compounds. Asian Pac J Cancer Prev 9:187–195
61. Tapiero H, Tew KD, Ba GN, Mathe G (2002) Polyphenols: do they play a role in the prevention of human pathologies? Biomed Pharmacother 56:200–207
62. Di Carlo G, Mascolo N, Izzo AA, Capasso F (1999) Flavonoids: old and new aspects of a class of natural therapeutic drugs. Life Sci 65:337–353

63. Cabrera M, Simoens M, Falchi G, Lavaggi ML, Piro OE, Castellano EE, Vidal A, Azqueta A, Monge A, de Cerain AL, Sagrera G, Seoane G, Cerecetto H, Gonzalez M (2007) Synthetic chalcones, flavanones, and flavones as antitumoral agents: biological evaluation and structure-activity relationships. Bioorg Med Chem 15:3356–3367
64. De Vincenzo R, Scambia G, Benedetti Panici P, Ranelletti FO, Bonanno G, Ercoli A, Delle Monache F, Ferrari F, Piantelli M, Mancuso S (1995) Effect of synthetic and naturally occurring chalcones on ovarian cancer cell growth: structure-activity relationships. Anticancer Drug Des 10:481–490
65. Jin YL, Jin XY, Jin F, Sohn DH, Kim HS (2008) Structure activity relationship studies of anti-inflammatory TMMC derivatives: 4-dimethylamino group on the B ring responsible for lowering the potency. Arch Pharm Res 31:1145–1152
66. Loa J, Chow P, Zhang K (2009) Studies of structure-activity relationship on plant polyphenol-induced suppression of human liver cancer cells. Cancer Chemother Pharmacol 63:1007–1016
67. Srinivasan B, Johnson TE, Lad R, Xing C (2009) Structure-activity relationship studies of chalcone leading to 3-hydroxy-4,3′,4′,5′-tetramethoxychalcone and its analogues as potent nuclear factor kappaB inhibitors and their anticancer activities. J Med Chem 52:7228–7235
68. Yu Z, Shah DM (2007) Curcumin down-regulates Ets-1 and Bcl-2 expression in human endometrial carcinoma HEC-1-A cells. Gynecol Oncol 106:541–548
69. Kundu JK, Chun KS, Kim SO, Surh YJ (2004) Resveratrol inhibits phorbol ester-induced cyclooxygenase-2 expression in mouse skin: MAPKs and AP-1 as potential molecular targets. BioFactors 21:33–39
70. Peng G, Dixon DA, Muga SJ, Smith TJ, Wargovich MJ (2006) Green tea polyphenol (-)-epigallocatechin-3-gallate inhibits cyclooxygenase-2 expression in colon carcinogenesis. Mol Carcinog 45:309–319
71. Shrotriya S, Kundu JK, Na HK, Surh YJ (2010) Diallyl trisulfide inhibits phorbol ester-induced tumor promotion, activation of AP-1, and expression of COX-2 in mouse skin by blocking JNK and Akt signaling. Cancer Res 70:1932–1940
72. Chiou WF, Don MJ, Liao JF, Wei BL (2011) Psoralidin inhibits LPS-induced iNOS expression via repressing Syk-mediated activation of PI3K-IKK-IκB signaling pathways. Eur J Pharmacol 650(1):102–109
73. Kundu JK, Shin YK, Surh YJ (2006) Resveratrol modulates phorbol ester-induced pro-inflammatory signal transduction pathways in mouse skin in vivo: NF-kappaB and AP-1 as prime targets. Biochem Pharmacol 72:1506–1515
74. Crespo I, Garcia-Mediavilla MV, Gutierrez B, Sanchez-Campos S, Tunon MJ, Gonzalez-Gallego J (2008) A comparison of the effects of kaempferol and quercetin on cytokine-induced pro-inflammatory status of cultured human endothelial cells. Br J Nutr 100:968–976
75. Aggarwal BB, Shishodia S (2006) Molecular targets of dietary agents for prevention and therapy of cancer. Biochem Pharmacol 71:1397–1421
76. Sun M, Estrov Z, Ji Y, Coombes KR, Harris DH, Kurzrock R (2008) Curcumin (diferuloylmethane) alters the expression profiles of microRNAs in human pancreatic cancer cells. Mol Cancer Ther 7:464–473
77. Fernau NS, Fugmann D, Leyendecker M, Reimann K, Grether-Beck S, Galban S, Ale-Agha N, Krutmann J, Klotz LO (2010) Role of HuR and p38MAPK in ultraviolet B-induced post-transcriptional regulation of COX-2 expression in the human keratinocyte cell line HaCaT. J Biol Chem 285:3896–3904
78. Sandler H, Stoecklin G (2008) Control of mRNA decay by phosphorylation of tristetraprolin. Biochem Soc Trans 36:491–496
79. Cho JW, Park K, Kweon GR, Jang BC, Baek WK, Suh MH, et al. (2005) Curcumin inhibits the expression of COX-2 in UVB-irradiated human keratinocyte (HaCaT) by inhibiting activation of AP-1: p38 MAP kinase and JNK a potential upstream targets. Exp Mol Med 37:186–192

80. Tong X, Van Dross RT, Abu-Yousif A, Morrison AR, Pelling JC (2007) Apigenin prevents UVB-induced cyclooxygenase 2 expression: coupled mRNA stabilization and translational inhibition. Mol Cell Biol 27:283–296
81. Sanduja S, Blanco FF, Dixon DA (2011) The roles of TTP and BRF proteins in regulated mRNA decay. Wiley Interdisciplinary Rev RNA 2:42–57
82. Bhatia HS, Candelario-Jalil E, de Oliveira AC, Olajide OA, Martinez-Sanchez G, Fiebich BL (2008) Mangiferin inhibits cyclooxygenase-2 expression and prostaglandin E2 production in activated rat microglial cells. Arch Biochem Biophys 477:253–258
83. Bommareddy A, Zhang X, Schrader D, Kaushik RS, Zeman D, Matthees DP, Dwivedi C (2009) Effects of dietary flaxseed on intestinal tumorigenesis in Apc(Min) mouse. Nutr Cancer 61:276–283
84. Fradet V, Cheng I, Casey G, Witte JS (2009) Dietary omega-3 fatty acids, cyclooxygenase-2 genetic variation, and aggressive prostate cancer risk. Clin Cancer Res Official J Am Assoc Cancer Res 15:2559–2566
85. Lee CY, Sit WH, Fan ST, Man K, Jor IW,Wong LL, et al. (2010) The cell cycle effects of docosahexaenoic acid on human metastatic hepatocellular carcinoma proliferation. Int J Oncol 36:991–998
86. Jin XJ, Kim EJ, Oh IK, Kim YK, Park CH, Chung JH (2010) Prevention of UV-induced skin damages by 11,14,17-eicosatrienoic acid in hairless mice in vivo. J Korean Med Sci 25:930–937
87. Gluszko P, Bielinska A (2009) Non-steroidal anti-inflammatory drugs and the risk of cardiovascular diseases: are we going to see the revival of cyclooxygenase-2 selective inhibitors? Pol Arch Med Wewn 119:231–235
88. Jang BC, Sung SH, Park JG, Park JW, Bae JH, Shin DH, Park GY, Han SB, Suh SI (2007) Glucosamine hydrochloride specifically inhibits COX-2 by preventing COX-2 N-glycosylation and by increasing COX-2 protein turnover in a proteasome-dependent manner. J Biol Chem 282:27622–27632

Selenyum ve Kanser: Unutulmaması Gereken Bir Hikaye-Genom Biliminden Örnekler

Catherine Méplan ve John Hesketh

Özet

Selenyum (Se) selenoproteinlerde bulunan önemli bir mikrobesindir. Epidemiyolojik çalışmalarda düşük Se tüketiminin çeşitli kanser türleri ile ilişkili olduğu gösterilmiş olsa da, Se takviyesi uygulanan çalışmaların sonuçları kafa karıştırıcıdır. Bu çelişkili sonuçlar başlangıçtaki Se düzeyine ve/veya genetik faktörlere bağlı olabilir. Ayrıca Se alımı, selenoproteinler ve karsinogenez arasındaki mekanik bağlantılar da net değildir. Bu bölümde selenoprotein genlerindeki tek nükleotid polimorfizmlerinin (SNP) fonksiyonel önemini ve kolorektal, prostat, akciğer ve meme kanseri riskini etkileyip etkilemediklerini tartışacağız. Hem in vitro hem de in vivo çalışmalarda glutatyon peroksidaz 1 ve 4, selenoprotein S ve 15-kDa selenoprotein kodlayan genlerdeki SNP sayısının az olmasının fonksiyonel sonuçları olduğu bildirilmiştir. Vaka kontrol çalışmalarında elde edilen veriler glutatyon peroksidaz 1'de bulun kodon 198'deki bir varyantın selenyumun kanser riski üzerindeki statüsünü değiştirdiğini göstermiştir. Bu varyant ayrıca meme ve akciğer kanseri riski ile de ilişkilidir. Glutatyon peroksidaz 4, selenoprotein P ve selenoprotein S de kolorektal kanseri riskini etkileyebilir. Ayrıca mikrodizi (transkriptomik) çalışmalarının sonuçlarında Se statüsünü gösteren özgün biyomarkerler ve özgün aşağı yönlü Se hedefli yolaklar tanımlanmıştır. Bu çalışma gelecekteki girişim çalışmalarında başlangıç Se statüsünün ve genetik faktörlerin göz önüne alınması gerektiğini vurgulamaktadır.

C. Méplan · J. Hesketh (✉)
Institute for Cell and Molecular Biosciences and Human Nutrition Research Centre,
Newcastle University, Newcastle-upon-Tyne, NE2 4HH, UK
e-mail: j.e.hesketh@ncl.ac.uk

C. Méplan
e-mail: Catherine.Meplan@newcastle.ac.uk

V. Zappia et al. (eds.), *Advances in Nutrition and Cancer,*
Cancer Treatment and Research 159, DOI: 10.1007/978-3-642-38007-5_9,
© Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2014

Anahtar Kelimeler

SNP • Transkriptomikler • Selenoproteinler • Mikrobesin • Kolorektal Kanser • Prostat Kanseri

Kısaltmalar

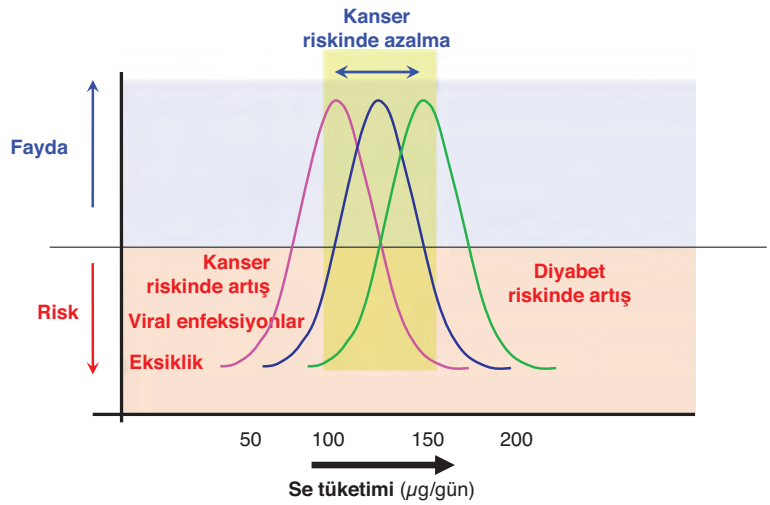
SNP	Tek nükleotid polimorfizmleri
GPX	Glutatyon peroksidaz
TR	Tioredoksin redüktaz
Sec	Selenosistein
SECIS	Selenosistein eklenme sekansı
Sel	Selenoprotein
SePP	Selenoprotein P
CRC	Kolorektal kanser
GWAS	Genomun tamamında ilişkilendirme çalışmaları
mTOR	Memeli rapamisin hedefi

İçindekiler

1 Giriş ... 146
2 Selenoproteinler ... 149
2.1 Selenoprotein Hiyerarşisi ve Etkileri ... 151
3 Selenoprotein Gen Varyantları ... 151
4 Selenoproteinlerin ve Kanserin Genetik Epidemiyolojisi ... 153
4.1 Kolon Kanseri ... 153
4.2 Prostat Kanseri ... 155
4.3 Meme Kanseri ... 155
4.4 Akciğer Kanseri ... 156
4.5 Etkileri ... 156
5 Genom Çalışmaları ... 158
5.1 Diyetle Alınan Selenyumun Transkriptom Üzerindeki Etkisi ... 158
5.2 Kolonda Selenoprotein Fonksiyonu ... 160
6 Sonuç ve Gelecekteki Çalışmalar ... 161
Referanslar ... 162

1 Giriş

Selenyum (Se) insan ve hayvan sağlığı için gerekli önemli bir mikrobesindir [1, 2]. Diyet Se alımı ekinlerin büyüdükleri topraktaki Se konsantrasyonuna ve hayvanların beslenme şekli ile yüksek oranda ilişkilidir. Sonuç olarak diyetle Se tüketimi sonucu oluşan Se



Şekil 1 Selenyum tüketimi ile ilişkili fayda ve riskler. Bu grafik Se alımı ile kanser riskinin artması veya azalması arasında bir ilişkinin varlığını önermektedir. Sarı renk ile vurgulanan pencere daha düşük kanser riski ile ilişkili Se alım düzeylerini göstermektedir. Se alımı ile kanser riski arasındaki potansiyel varyasyonlar üç eğri ile gösterilmektedir. Risk genetik faktörler, yaş ve risk faktörlerinden (örn. alkol alımını da içeren çevresel strese maruziyet) etkilenir.

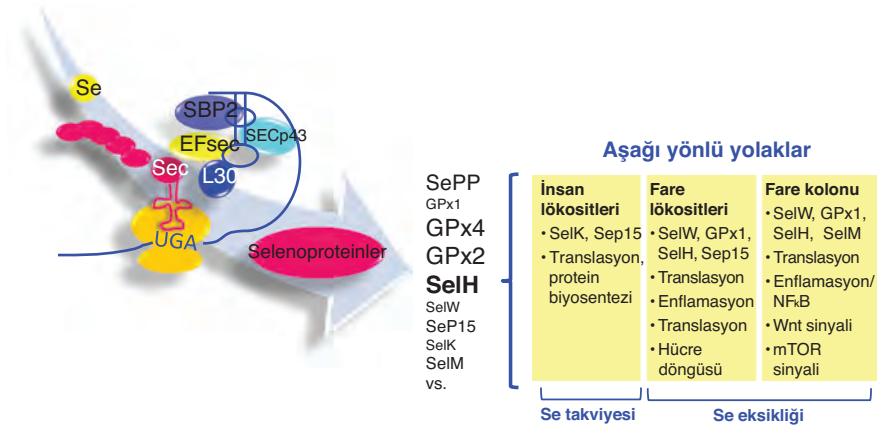
statüsü dünya genelinde büyük farklılıklar göstermektedir. Selenyum eksikliği toprak Se içeriğinin düşük olduğu bölgelerde lokal gıdalarla beslenen toplumlarda görülebilir. Örneğin Çin'in bazı bölgelerinde görülen çok düşük Se alımı (<10 μg/gün) Keshan hastalığı adı verilen viral miyokarditin oluşumuna katkı yapan ana faktörlerdendir. Ancak bu tür ağır eksiklikler nadir görülür. Ancak suboptimal Se alımı daha sık görülür. Örneğin Avrupa'nın bazı bölgelerindeki Se alımının 30-50 μg/gün olduğu tahmin edilmektedir. Kadın ve erkeklerdeki günlük alımın referans değeri ise sırasıyla 75 ve 60 μg/gün'dür. Yeni Zelanda ve Avustralya'nın bazı bölgelerinde de benzer suboptimal alımlar söz konusudur. Bu nedenle Se alımı insanların çoğunda bir hastalığa neden olacak kadar düşük düzeyde olmasa da optimal sağlık için gereken düzeyde olmayabilir [1–3].

Se statüsünün bazı kanser riskleri ile ilişkili olabileceğini ve ABD'deki kanser mortalitesinin ekinlerdeki Se düzeyi yüksek olan yerlerde düşük, düşük olan yerlerde yüksek olduğunu gösteren ilk epidemiyolojik çalışmanın üzerinden yaklaşık 40 yıldan fazla süre geçmiştir [4]. Çin'de ve dünya genelinde de benzer sonuçlar bildirilmiş olmasına ve düşük serum Se düzeylerinin artan kanser riskinin (özellikle gastrointestinal ve prostat kanserleri için) teşhis öncesi göstergesi olduğu bildirilmiş olmasına rağmen (bkz. [3]), daha sonra yapılan çalışmalarda Se statüsü ile kanser riski arasındaki ilişki hakkında çelişkili ve tutarsız bulgulara ulaşılmıştır (incelemeler için bkz. [2, 3]). Bu tutarsızlıklara rağmen düşük ve suboptimal Se alımının kansere karşı olan duyarlılığı artırıp artırmadığı hala büyük ilgi çeken bir konudur. Se ve kanser riski ile ilgili yapılan çeşitli Se takviye çalışmalarının ilk sonuçları bu konudaki araştırmalara ciddi anlamda hız kazandırmıştır. ABD'de yapılan

bir Se takviye çalışmasında 200 µg/gün dozunda selenize maya şeklinde Se kullanımının, çalışma öncesindeki plazma Se düzeyleri en düşük üçte birlik dilimde olanlardaki prostat ve kolorektal kanserleri azalttığı bulunmuştur [5]. Çin'de yapılan bir başka çalışmada 50 µg/gün selenize maya ilavesinin özofagus kanserinin mortalitesini azalttığı bulunmuştur [6]. Se tüketim artışının kanser riski üzerindeki bu belirgin faydalarına rağmen bir dizi vaka kontrol çalışmasında Se statüsü ile kanser riski arasında farklı ilişkiler tespit edilmesi yeniden değerlendirme ihtiyacı doğurmuştur [3]. Güncel SELECT [7, 8] çalışmasında Se ilavesi ile prostat kanserinde azalma görülmemesi ve rölatif olarak yüksek Se tüketimi ile diyabet riskinde artış ihtimali bu sonuçlardan bazılarıdır [9]. Şekil 1'de görüldüğü üzere faydalı olabilen plazma Se düzeyleri ile hastalık riskini artıran daha yüksek veya düşük Se düzeyleri arasında dar bir pencere olduğu aşikardır. Bu nedenle Se tüketimindeki artışın kanser riskini azaltmada etkili olup olmadığı halen tartışılmaktadır.

Artan Se alımının antikanser etkileri ile ilave Se uygulanan çalışmalardan elde edilen çelişkili sonuçların doğurduğu tartışmada üç faktör önemlidir. Birincisi farklı çalışmaların sonuçlarının başlangıçtaki Se düzeylerine göre farklılıklar gösterebilmesidir; bu bağlamda dikkat çekici olan ABD'de gerçekleştirilen iki çalışmanın farklı sonuçlarıdır. SELECT çalışmasındaki başlangıç Se düzeyleri popülasyondaki en düşük üçte birlik dilimdeki Se düzeylerinden daha yüksekti. Daha önce yapılan bir çalışmada ise Se kullanımının kanser riskini azalttığı bulunmuştu [5, 7, 8]. Bu nedenle SELECT çalışmasında (NPC çalışmasının aksine) başlangıç Se düzeylerinin prostat kanserinden korunmak için gereken düzeylere zaten yakın olması da mümkündür. İkinci nokta da insan genetik varyasyonları hakkındaki bilgilerin artışının bireysel arasındaki farklılıkların nasıl oluştuğunun anlaşılmasına yol açmasıdır. Bireylerin besin öğelerini metabolize etmelerinde rol oynayan genetik varyasyonlar diyet-hastalık riski arasındaki ilişkiyi birçok durumda etkileyerek hastalıklara karşı duyarlılıkların farklı olmasına yol açmaktadır; Se metabolizması ile ilişkili genlerde tek nükleotid polimorfizmleri (SNP) mevcuttur [10, 11]. Şekil 1'de bu tür varyasyonların diyetle alınan Se'ye verilen cevabı ve Se alımının faydalı olduğu düzeyleri etkileyebileceği şematik olarak görülmektedir. Üçüncüsü de prostat ve kolon gibi hedef dokularda farklı selenoproteinlerin mekanik etkilerinin bilinmemesidir. Bu nedenle düşük diyet Se alımının fizyolojik etkileri ile ilgili bilgiler kısıtlıdır. Şekil 1 kişisel risk-fayda pencelerinin tanımlanmasının önemini vurgulamaktadır [12]. Se alımı, Se metabolizmasını değiştiren genetik faktörler, selenoprotein fonksiyonu/ekspresyonu, hastalık riskinin derecesi (örn. çevresel karsinojenlere maruziyetin göstergesidir) ve yaşlanan popülasyondaki Se ihtiyacında gözlenen değişimlerin [13] bir popülasyonda Se alımının risk-fayda penceresi tanımlanmadan önce dikkate alınmalıdır.

Genom bilimindeki ilerlemeler yukarıdaki üç maddeden son ikisinin hedeflenmesini sağlayan yöntemler ve yaklaşımlar sunmaktadır: Genotipleme teknikleri genetik faktörlerin Se metabolizması üzerindeki etkilerini ve hastalık riski ile ilişkisini inceleme fırsatı verirken, mikrodizi ve proteomik yaklaşımlar da selenoprotein fonksiyonunun detaylı olarak araştırılmasına olanak tanımaktadır. Bu bölümde bu tür genomik yaklaşımların Se, selenoproteinler ve kanser riski arasındaki ilişkinin tanımlanmasına nasıl katkı yaptığını tartışacağız.



Şekil 2 Selenoproteinlerin sentezi ve hiyerarşisi ile Se tüketimindeki değişimlerin aşağı yönlü yolaklar üzerindeki etkilerini illüstre eden şematik diyagram. Şema Se'nin bazı selenoproteinlere, spesifik proteinlerin selenoproteinlerin 3′ translasyona uğramamış selenoprotein mRNA'sına bağlanmasını sağlayan bir mekanizma ile nasıl entegre olduğunun illüstrasyonudur. Listelenen selenoproteinlerin boyut be fontları selenoprotein sentez hiyerarşisindeki pozisyonlarını illüstre etmektedir (font büyüdükçe veya koyulaştıkça hiyerarşideki yeri yükselir). Selenoprotein aktivitesindeki değişimler aşağı yönlü yolakları etkiler. Deneysel olarak etkilendiği bulunan yolakları gölgeli kutucuklar sembolize etmektedir.

2 Selenoproteinler

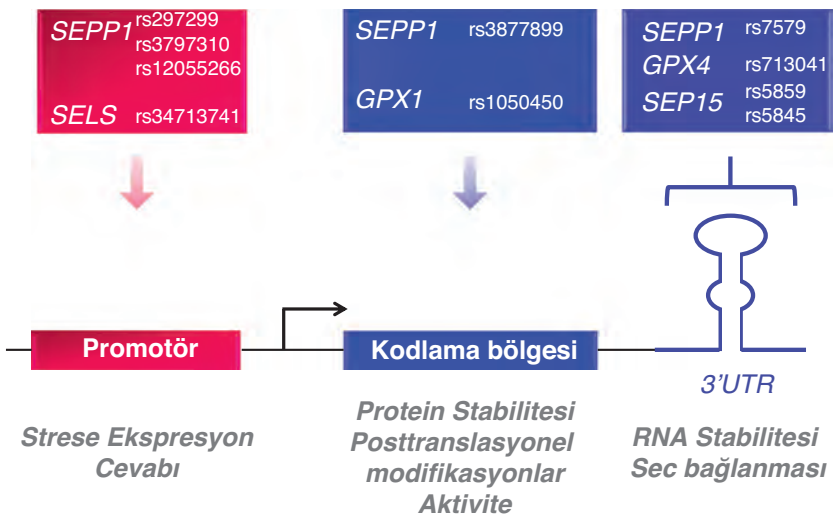
İnsandan bakterilere kadar birçok organizmaların gıdalar ile aldığı Se, selenoproteinler adı verilen bir dizi Se içeren proteinler ile birleşir. Se'nin fizyolojik fonksiyonlarının bu selenoproteinler yoluyla gerçekleştiği düşünülmektedir [1, 14, 15]. SE insanlardaki 25 selenoproteinin tümünün içinde amino asit selenosistein (SEC) halinde bulunur [14]. SEC uygun mRNA'ların translasyonu sırasında bu proteinlerin UGA kodonlarına bağlanır. Bu süreç UGA kodonlarının normal fonksiyonları olan translasyonu sona erdirici STOP kodon sinyali üretmeleri yerine, SEC bağlantısını sağlamak amacıyla yeniden kodlamalarını içerir. Şekil 2 yeniden kodlamaya izin veren özgün biyomekanik mekanizmanın şematik illüstrasyonudur: İçerdiği selenosisteil-tRNA (tRNA-Sec), 3′ translasyona uğramamış bölgedeki (3′ UTR) kök-sap yapısı (SEC eklenme sekansı: SECIS) ve SECIS yapısına bağlanan spesifik proteinler, UGA kodonunun tRNA-Sec'i tanımasına izin verirler. tRNA selenid, ATP ve seril-tRNA'dan sentezlenir.

Sec 5.47'lik bir pKa değerine sahiptir (sisteinden daha düşüktür). Aktif bölgede bulunan Selenoproteinlerin bir çoğunun oksiredüktaz aktivitesine katkı yaptığı düşünülmektedir. Birçok selenoproteinin antioksidan veya redoks fonksiyonları vardır. Glutation peroksidazlar (GPx), GPx1 ve GPx2'nin hücreleri reaktif oksijen türlerin koruduğu gösterilmiştir. GPx3'ün ekstraselüler antioksidan etkiye, GPx4'ün de hücreleri lipid peroksidin etkilerinden korumayı da içeren kompleks bir dizi fonksiyona sahip olduğu öne sürülmüştür. Üç farklı tioredoksin redüktazın (TR1-3) oksidoredüktaz etkileri vardır.

Ancak bu konudaki fonksiyonları sadece redoks durumunun sürdürülmesini değil, aynı zamanda ribonükleotidlerin deoksiribonükleotidlere de dönüştürülmesini kapsamaktadır. İodotironin deiodinazlar tiroid hormon metabolizmasındaki oksiredüktaz reaksiyonlarını gerçekleştirir.

Daha az tanımlanmış selenoproteinlerin aktivitelerinin oksidoredüktaz özelliğe sahip oldukları son zamanlarda anlaşılmıştır. Örneğin selenoproteinler H,L ve W'nun (SelH, SelL, SelT ve SelW) ve 15-kDa selenoproteinin tioredoksin benzeri redoks kıvrımı içerdikleri yapısal çalışmalarda gösterilmiştir [16, 17]. Ek olarak endoplazmik retikulum komponentleri olan SelS, SelN, 15-kDa selenoprotein, SelK ve SelM'nin redoks balansı ve katlanmamış protein cevabında rol oynadıkları düşünülmektedir [13, 16–18]. Selenoproteinlerin fonksiyonları ile ilgili bu ipuçlarına rağmen biyokimyasal rolleri hakkındaki detaylar hala sınırlıdır.

Selenoprotein P (SePP) çok sayıda Sec (insanda 10 adet) içeren özgün bir selenoproteindir. Salgılanan bir proteindir ve total plazma Se içeriğinin %50'ye kadar olan kısmını oluşturur. İki tanesi yaklaşık 50 ve 60 kDa moleküler ağırlığı olan multipl izoformlara sahiptir [19, 20]. SePP faredeki beyin ve testis gibi ekstrahepatik dokulardaki Se içeriğinin korunabilmesi için çok önemlidir [21, 22]. Bu özellik SePP'nin majör fonksiyonunun karaciğerden diğer dokulara Se sağlanması olduğunun öne sürülmesine neden olmuştur. Ancak, SePP'nin aynı zamanda antioksidan olduğu da gösterilmiştir. Bu özellik SePP'nin karaciğerden yüksek oranda salgılanıyor olmasına rağmen aynı zamanda kolonu de içeren farklı hücre tiplerinden de salgılanmasının göstergesi olabilir [19, 23].



Şekil 3 Selenoprotein genlerindeki fonksiyonel SNP'ler Çeşitli selenoprotein genlerinde fonksiyonel tek nükleotid polimorfizmleri bulunmuştur. Şekilde rs numaraları ve gen adları ile tanımlanmışlardır. SNP'lerin farklı bölgelerdeki ilgili mRNA ve selenoprotein ekspresyonu üzerindeki potansiyel etkileri gösterilmiştir.

2.1 Selenoprotein Hiyerarşisi ve Etkileri

Selenoprotein biyosentezi için diyetle Se alımı şarttır ve selenoproteine bağlı olarak sentezlerini farklı bir boyuta regüle eder. Gerçekten de farklı selenoproteinlerin sentezlerinin düşük Se alımından farklı derecede etkilendiğini gösteren çok güçlü kanıtlar mevcuttur [14, 24, 25]. Bu bulgu "selenoprotein hiyerarşisi" konseptini doğurmuştur. Se alımının bazı selenoproteinlerin sentezini diğerlerinden daha fazla etkilediğini öneren bir konsepttir: Örneğin GPx1 proteini ve mRNA seviyeleri birçok dokudaki Se eksikliğine GPx4'den daha fazla duyarlıdır. Ayrıca bu hiyerarşideki selenoproteinlerin rölatif pozisyonları dokular arasında farklılık gösterir. Bu durum Se tedarikine cevap veren selenoproteinlerin çeşitli dokulardaki cevap paternlerlerinde farklılıklara yol açar. Örneğin sıçandaki GPx4 karaciğerdeki Se azalmasına kalpteki azalmadan daha fazla duyarlıdır. Tiroiddeki deiodinaz aktivitesi de Se eksikliğine karaciğerdekine göre daha az duyarlıdır [24]. mRNA düzeylerine göre GPx1, SelW, SelH ve SelM kolon hücrelerindeki Se tedarik miktarına, GPx1 ve SeIK'nın da lenfositlerdeki Se miktarına en fazla duyarlı olduğu görülmektedir [26, 27]. Se proteinlerinin bağlanma mekaniği ile farklı selenoprotein 3′ UTR'si arasındaki iletişimlerin hiyerarşide önemli olduğunu gösteren kanıtlar mevcuttur (örn. [28, 29]). Doku spesifik selenoprotein hiyerarşisine göre düşük Se tedarik miktarının etkileri dokular arasında farklılıklar göstermektedir. Bu durumun farklı selenoproteinlerin tümörijenik proses ve çeşitli dokulardaki koruma mekanizmaları ile ilgisi olabilir.

Her selenoproteinin aktivitelerindeki değişimlerin her protein için spesifik olan aşağı yönlü metabolik etkilere yol açması beklenebilir. Düşük Se alımının çeşitli selenoproteinlerin alımını etkilemesi nedeniyle Se azalmasının bir dizi aşağı yönlü hedefi etkilemesi beklenebilir. Bu mekanizma şekil 2'de şematize edilmiştir. Genomik teknolojilerin ilerlemesi (özellikle mikrodizi) Se alımının aşağı yönlü moleküler yolakların paternleri üzerinde yol açtığı değişimlerin sonuçlarının entegrasyonuna izin vermektedir. Bu selenoprotein sentez paterninin (devamında ilgili proteinin net aktivitesini etkiler) Se tedarik miktarına göre dokuya spesifik hiyerarşik değişim göstermesi nedeniyle Se ile özel olarak ilişkilidir. Bu nedenle aşağı yönlü metabolik etkilerin dokulara göre farklılık göstermesine de yol açar.

3 Selenoprotein Gen Varyantları

SNP gen ekspresyonunda ve devamında proteindeki amino asitleri değiştirerek veya ekspresyonun regülasyonunu etkileyerek protein aktivitesinde fonksiyonel etkilere yol açabilir Ekspresyonun regülasyonunun etkilenmesi SNP gen promotör bölgelerinde meydana gelir. Selenoprotein genlerindeki 3′ UTR bölgelerindeki gen varyantlarının SECIS ve 3′UTR protein etkileşimlerinin Sec bağlanmasındaki anahtar rolleri nedeniyle ekspresyonu etkileme potansiyeli vardır. Gerçekten de selenoprotein genlerindeki, 3'UTR, promotör ve protein kodlayan bölgelerdeki gen alanlarında bulunan SNP'lerin

Se metabolizmasını etkiledikleri bildirilmiştir [10, 13]. Bu mekanizma Şekil 3'de illüstre edilmektedir.

TNF-α, interlökinler, SELS geninin (rs34713741) promotöründeki -105 pozisyonundaki SNP'nin enflamatuar markerler düzeyindeki etkilerinden kaynaklanan fonksiyonel sonuçları olduğu gösterilmiştir [30]. Ayrıca plazma glutatyon peroksidaz (GPX3) aktivitesinin de çeşitli varyantlardan etkilendiği bildirilmiştir [31]. SEPP1 geninin promotöründe, bir varyantında 3 TC tekrarı, diğerinde de 5 TC tekrarı içeren kompleks tekrarlanan sekans (TC)n-T17 bölgesinde bir polimorfizm (SNP değil) belirlenmiştir [23]. Bu motif aktive transkripsiyon faktörünün farzedilen bağlanma bölgesi olan aktive T hücrelerinin nükleer faktörünü (NFAT) değiştirebilir. Ancak bu gözlem henüz konfirme edilmemiş olup bir hastalık riski ile bağlantısı da tespit edilmemiştir.

Selenoprotein genlerinin protein kodlama bölgelerindeki varyantların amino asit değişimlerine ve protein fonksiyonunda potansiyel değişimlere yol açtığı bulunmuştur. Örneğin GPx1 genindeki (rs1050450) kodon 198'in tek nükleotidindeki değişimin prolinden lösine kadar değişime yol açarak Leu varyant proteinindeki enzim aktivitesini azalttığı bulunmuştur [32]. Bu varyantın plazma Se ve eritrosit GPx1 aktivitesi arasındaki ilişkiyi etkilediği [33] ve beyaz kan hücrelerindeki GPx1 aktivitesi ile de ilişkili olduğu bildirilmiştir [34]. Bu SNP farklı etnik gruplarda sıklıkla mevcuttur. Ancak lösin varyanti rölatif olarak daha nadirdir (%7-15). Ayrıca bir G/A SNP'nin (rs3877899) kodon 234'de alaninden treoinine kadar amino asit değişimine yol açarak farklı kan hücrelerinin ve plazma selenoprotein aktivitelerinin Se takviyesine verdikleri cevabı etkilediği bildirilmiştir [35]. Ayrıca plazmadaki SePP izoformlarının oranlarını ve GPx4 düzeyinde lenfositle ilişkilerini etkiler [20].

3′ utr'deki selenoprotein gen bölgelerinde fonksiyonel olarak anlamlı çeşitli SNP'ler tanımlanmıştır. GPx4'teki rs713041 C/T alelik varyantlara sahiptir. Her iki varyantta farklı etnik gruplarda rölatif olarak sık miktarda bulunur [29, 36, 37]. Bu SNP ile yapılan ilk çalışmada iki varyantı taşıyan bireylerin lenfosit lökotrin düzeylerinde farklılıklar gözlenmiştir [36]. Sonrasında, SNP'nin fonksiyonel aktivitesi olduğunu göstermeyi amaçlayan in vitro ve in vivo deneyler ile güçlü kanıtlardan oluşan bir veri tabanı oluşmuştur. Örneğin Caco-2 hücre ekstreleri kullanılan RNA-protein bağlama deneylerinde, C varyantı T varyantından daha güçlü bağlanmıştır [29]. Ayrıca iki varyantlı 3'UTR sekanslarının haberci gene bağlanarak Caco-2 hücrelerine transfekte edilmesi sonrasında T ve C-varyantlarının haberci genin ekspresyonunu yönlendirme oranlarında farklılıklar tespit edilmiştir [37]. Bu transfekte hücrelerin klonları T- ve C-varyant transgenlerindeki ekspresyon düzeylerinin benzer olması amacıyla seçildiğinde, GPx1 ve SeIH gibi diğer selenoproteinlerin ekspresyonunu etkileyebilecek iki 3′ utr varyantının aşırı ekspresyonu tespit edilmiştir [38]. SNP'nin insan gönüllülerdeki kan selenoprotein konsantrasyonlarının Se takviyesine olan cevabını etkilediği gösterilmiştir. Bu etki özellikle lenfosit GPx1 protein düzeylerinde ve çalışmanın arınma dönemindeki GPx1:GPx4 protein konsantrasyon oranlarında farklılıklar gösteren T ve C taşıyıcılarında gözlenmiştir [29]. Bu veriler rs713041'nin selenoprotein sentezini, Se bağlanmasında rolü olan bir veya daha fazla protein için T varyantından daha güçlü

yarışan GPX4'teki C-varyant 3′ utr ile birlikte etkilediğini göstermektedir. Mfold kullanılarak yapılan bilgisayar tahminleri SNP'nin SECIS civarındaki 3'UTR'nin sekonder yapısını etkilediğini göstermiştir. Bu nedenle rs713041'nin Sec'in GPx4 3′ utr'deki 3′ utr'ye bağlanma mekanizmasını değiştirerek selenoprotein sentezinin paternini etkilediği hipotezini geliştirdik [29, 37].

Ayrıca SEPP1 genindeki 3′ utr'deki bir SNP'nin (rs7579) anlamlı fonksiyonu olduğu da gösterilmiştir. Bu G/A varyantının insan lenfosit GPx4 ve GPx1, plazma GPx3, tioredoksin redüktaz 1 (TR1) ve eritrosit TR1'in Se takviyesine verdikleri cevabı etkilediği bulunmuştur [35]. SNP, plazma SePP protein düzeylerinin ve izoform paternlerinin Se takviyesine verdiği yanıtı değiştirir [20, 35]. Ayrıca SEP15'de bulunan ve 3'UTR kodlayan gen bölgesinde, pozisyon 811'de (rs5845) bir C/T yedeği ve pozisyon 1125'de (rs5859) bir G/A olmak üzere iki varyantı mevcuttur. Haberci gen deneylerine dayanılarak bu SNP'lerin fonksiyonel olduğu düşünülmektedir [39].

4 Selenoproteinlerin ve Kanserin Genetik Epidemiyolojisi

Bazı selenoproteinlerin meme, prostat, kolorektal ve akciğer kanserlerindeki azalan aktivite/ekspresyonlarını ve bazı selenoprotein lokuslarındaki heterozigositenin sıklıkla kaybını da içeren (LOH) çeşitli kanıtlar selenoproteinlerin kanserin başlangıcı ve progresyonunda bir rolü olduğunu düşündürmektedir.(örn. [40–43]). Bu çalışmalarda selenoprotein aktivite veya konsantrasyonunu azaltan faktörlerin kanser gelişim ve progresyonuna katkı yapabileceği vurgulanmaktadır. Yukarıda da tanımlandığı gibi fonksiyonel polimorfizmlerin, selenoproteinlerin ekspresyon düzeylerini, stabilite ve aktivitelerini modüle ettikleri gösterilmiştir. Bu polimorfizmler ile kanser arasında ilişkiler gözlenmiştir.

4.1 Kolon Kanseri

Bazı rölatif olarak küçük ölçekli çalışmalarda seçilmiş selenoprotein SNP'ler ile kolorektal kanser arasındaki ilişki araştırılmıştır. İskoç popülasyonunda yapılan bir araştırmada (~300 vaka, 189 kontrol) GPx4 genindeki rs713041'in C varyantının taşıyıcısının kolorektal kanser riski ile ilişkili olduğu ancak adenomatöz poliplerde artışa yol açmadığı bulunmuştur [37]. Ancak daha yakın zamanda, bu ilişkinin Kore popülasyonunda replike olmadığı tespit edilmiştir [44]. Buna karşın Çek popülasyonundaki (832 vaka, 705 kontrol) T varyantının kolorektal kanser riskinde artış ile ilişkili olduğu bulunmuştur [45]. Çek ve Kore popülasyonlarında Se statüsü ölçülemediği için Se düzeylerinin bu SNP'nin hastalık riskindeki etkisini değiştirip değiştirmediği değerlendirilememiştir. Ancak kolorektal kanseri olan hastalarda yapılan bir İngiltere çalışmasının [37] ön verilerinde plazma Se düzeyleri ve eritrosit GPx1 aktivitesi ile değerlendirilen Se statüsünün

CC genotipli bireylerde CT veya TT genotipli bireylerden anlamlı olarak daha düşük olduğu bulunmuştur.

Ek olarak yukarıda bahsedilen çalışmalardaki Çek ve Kore'li hastalarda (827 vaka, 727 kontrol) selenoprotein genlerindeki fonksiyonel SNP'lerin genotiplenmesi sonucunda diğer genetik varyantların da kolorektal kanser riskini etkileyebileceği sonucuna varılmıştır [44, 45]. Her iki popülasyondaki SELS'lerin promotör bölgelerindeki SNP'lerin hastalık riskini modüle edebileceği bulgusu kritiktir. rs34713741'in T aleli Çeklerde kolorektal kanser riskinde artış ile (olasılık oranı 1.68) ilişkili bulunurken Koreli kadınlarda ise çok yakındaki ikinci bir varyantın risk artışına yol açtığı tespit edilmiştir (olasılık oranı 2.25). Bu ilişkinin iki farklı popülasyonda replike olması SELS promotöründeki SNP'nin genetik, hayat tarzı ve diyet faktörlerinden bağımsız olarak kolorektal kanser riskini etkilediğini göstermektedir. rs34713741 ilginç biçimde gastrik kanser riski ile de ilişkilidir [46]. Ayrıca Çek popülasyonunda rs4880 (SOD2), rs713041 (GPX4) ve rs960531 (TXNRD2) arasında ve SEPP1 ile SEP15 veya GPx4 [45] arasında gözlenen anlamlı genetik etkileşimler kolon kanserinde multipl selenoproteinlerin rol oynadığını düşündürmektedir. Bu etkileşimler biyolojik olarak GPx4, TR2 ve MnSOD'nin oksidatif strese ve SePP'nin selenoprotein sentezine Se sağlamasına cevap olarak oluşan kombine metabolik etkileşimlerin yansımasıdır. SEPP1 varyantlarının potansiyel önemi Prostat, Akciğer, Kolorektal ve Ovaryum Kanseri Taraması Çalışmasına [47] alınan bireylerin genotiplemeleri ile elde edilen sonuçlarda vurgulanmaktadır. Çalışmada GPx1, GPx2, GPx4;SEPP1 ve tioredoksin redüktaz 1'de (TXNRD1) bulunan 44 işaretli SNP incelenmiştir. SEPP1'deki 4 varyant ve TXNRD1'deki 1 varyantın ileri distal kolorektal karsinom ile anlamlı olarak ilişkili olduğu bulunmuştur: SEPP1'nin -4166 pozisyonundaki 50 gen bölgesindeki bir C/G varyantı; SEPP1'in 3′ gen bölgesindeki üç varyant; TXNRD'nin -181 pozisyonundaki bir varyant. Çalışmada ayrıca SEPP1 ve TXNRD1'in tüm varyantları ile adenom riski arasında genel olarak anlamlı ilişki tespit edilmiştir.

İşaretli SNP yaklaşımı kullanılarak incelenen GPX1-4 varyantlarının kolorektal kanser riski ile ilişkisi üç tane ABD merkezli kolorektal adenom, rektal veya kolon kanseri çalışmasının kombinasyonu ile değerlendirilmiştir [48]. Veriler yaş ve boya göre düzeltildikten sonra, GPX3 (rs8177447, rs3828599 ve rs736775) ve bir GPX2'deki (rs4902347) SNP'lerin rektal kanser ile anlamlı olarak ilişkili olduğu tespit edilmiştir. Ancak kolon kanseri ve adenom riskleri ile ilgili anlamlı ilişki tespit edilmemiştir. Benzer bir yaklaşım kullanılarak GPX1-4 ve SEPP1'deki varyasyonları içeren SNP'ler ve işaretli SNP'ler Kadın Sağlık İnisiyatif Çalışmasına alınan 804 vaka ve 805 benzer özelliklere sahip kontrolde analiz edilmiştir [49]. Analizde sadece bir SNP'nin (GPX4'deki rs8178974) kolorektal kanser riski ile ilişkili olduğu bulunmuştur. Ancak GPx4'deki genel genetik varyasyon ile bir ilişki tespit edilmemiştir. Ancak çalışmaya katılan bireylerdeki ortalama Se statüsünün yüksek olması (serum Se 135.6 μg/l) genotipin hastalık riskindeki olası etkilerinin tespitini engellemiş olabilir. Gerçekten de selenoprotein sentezinin yüksek Se alımına yüksek oranda bağımlı olması nedeniyle burada tanımlanan SNP'lerin etkilerinin Se alımı ile modifiye olması beklenebilir. Bu nedenle gelecekteki çalışmalarda selenoprotein SNP'lerinin genotiplemelerinin Se statü ölçütleri ile kombine edilerek, Se statüsünün rölatif olarak düşük olduğu popülasyonlarda gerçekleştirilmesi çok önemlidir.

4.2 Prostat Kanseri

Son zamanlarda prostat kanseri riskinde genotip etkisini inceleyen çalışmalarda SEPP1 GPx1 ve SEP15'deki SNP'lerin prostat kanserine karşı olan duyarlılığı modifiye ettiğini bildirilmiştir [50–52]. SEPP1'deki rs7579'un bir Avrupa popülasyonundaki prostat kanseri riskini etkilediği, rs1050450'nin de hastalık riski ile serum Se konsantrasyonu arasındaki ilişkiyi etkilediği gösterilmiştir. Buna karşın Avrupalı popülasyonda yapılan ikinci bir çalışmada ise prostat kanseri riskinin düşük Se statüsü ile birlikte SOD2 genindeki rs4880 ve SEPP1 genindeki rs3877899 genotipleri tarafından modüle edildiği bildirilmiştir [52]. ABD'de yapılan bir çalışmada hem prostat kanseri riskinin hem de sağkalımın SEP15 genindeki genetik bir varyasyonun ve düşük Se statüsünün kombinasyonu ile modifiye edildiğini göstermiştir. Ancak hastalık riski üzerinde bir etki bulunmamıştır [51]. Son zamanlarda tüm selenoprotein genlerindeki SNP'lerin yolakları boyunca analizi prostat kanseri hastalarından oluşan yuvalandırılmış (nested) vaka kontrol kohortunda ve kontrol hastalarında yapılmıştır. Başlangıç taramasından sonra, ikinci faz genotiplemede ileri kanser riskinin Se statüsü ile SELK, TR1 ve TR2'deki SNP'ler tarafından anlamlı olarak modifiye edildiği gösterilmiştir [53].

4.3 Meme Kanseri

Epidemiyolojik çalışmalarda çelişkili sonuçlar alınmış olmasına ve Se alımı/statüsü ile meme kanseri arasındaki ilişki hakkında çok az kanıt bulunmuş olmasına rağmen, seçilmiş selenoprotein SNP'lerinin genotipleri ve hastalık riskini araştıran bazı genotipleme çalışmaları yapılmıştır. Analiz edilen meme tümörlerinin %36'sında GPx1 lokusunda LOH [41] tespit edilirken, GPx1'deki rs1050450 ile meme kanseri riski arasında da ilişki olduğu gözlenmiştir. Devamında bir Danimarka kohortundaki meme kanseri ile bu SNP arasında bir ilişki konfirme edilmiş ve T alelinin kanser riskinde artış ile ilişkili olduğu gösterilmiştir [54]. Buna karşın ABD ve Kanada'da yapılan çalışmalarda [55-57] herhangi bir ilişki tespit edilmemiştir. Bir metaanalizde de Afrikalı kadınlarda görülen risk artışına rağmen, genel bir ilişki bulunamadığı bildirilmiştir [58]. Ancak ilişki bulunamamış olması Se statüsü ile rs1050450 genotipi arasındaki kompleks etkileşimin bir yansıması olabilir. Avrupalı (örn. Danimarka) popülasyonlardaki meme kanseri riski ile rs1050450 genotipi arasında bir ilişki olabileceği görülmektedir. Ancak bu ilişki yüksek Se tüketimi olan kadınlarda mevcut değildir (örn. ABD ve Kanada popülasyonları).

GPX1 genindeki değişken GCG tekrarlarına denk gelen bir başka polimorfizm de değişken sayıda alanin içeren bir protein oluşumuna yol açar. Bir başka çalışmada da ilginç şekilde bu varyantın genotipinin premenopozal kadınlardaki meme kanseri riskinde anlamlı artış ile ilişkili olduğu bildirilmiştir [57].

Hu ve ark [39] Afrikalı kadınlardaki SEP15'deki rs5859 ve meme kanseri arasında bir ilişki bulurken aynı ilişkiyi beyaz ırk için tespit edememiştir. Ayrıca tümör dokusundaki SEP15 lokusunda da LOH gözlemişlerdir. İkinci bir çalışmada da SEP15 alel kaybının

Afrikalı kadınlardaki meme kanseri tümörü ile ilişkili olduğu gösterilmiştir [59]. GPX1 ve SEP15 lokuslarındaki LOH varlığı iki selenoproteinin meme kanseri etyolojisindeki potansiyel tümör baskılayıcı rolü olabileceğini önermektedir.

4.4 Akciğer Kanseri

GPX1'deki rs1050450 de akciğer kanseri riski ile ilişkili bulunmuştur [60-65]. Meme kanseri hakkında yukarıda tanımlananlara ek olarak, akciğer kanserinde de GPX1 lokusunda LOH tespit edilmiştir [66]. Polonyalılardaki akciğer kanseri ile rs5859 genotipi ve selenyum statüsü arasında ilginç ve kompleks bir ilişki gözlenmiştir [33]. Se statüsüne bağlı olarak, sigara içenler arasındaki akciğer kanseri riskinin rs5859 genotipinde farklılıklar gösterdiği bulunmuştur. AA genotipli bireylerdeki plazma Se konsantrasyonunun artması akciğer kanseri riskinde azalmaya yol açmaktadır. Ancak GG ve GA genotiplerinin sadece daha düşük Se statüsü olanlardaki akciğer kanserinde azalma ile ilişkili bulunmuş olması, Se takviyesinin sadece AA genotiplerinde faydalı olduğunu, GG ve GA genotiplerindeki akciğer kanseri riskini ise artırabileceğini önermektedir.

4.5 Etkileri

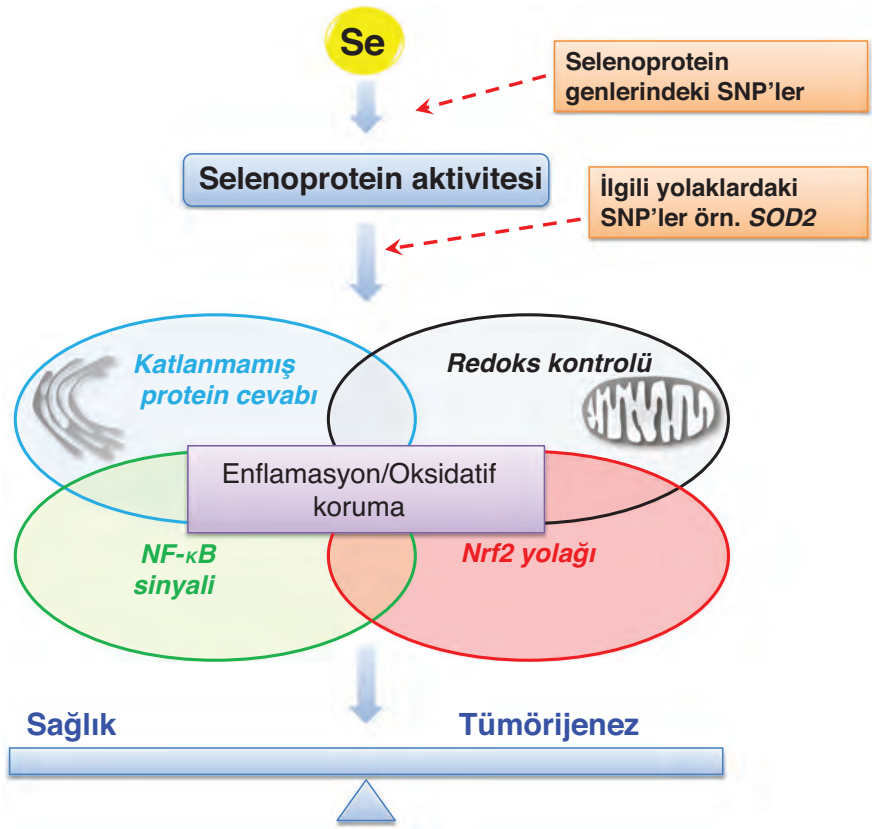
Önceki bölümlerden de anlaşılacağı üzere selenoprotein SNP'leri ve kanser riski ile ilgili çalışmaların görece küçük boyutlara sahip olmaları ve sonuçlarının çoğunlukla replike edilememeleri, üç konuyu karşımıza çıkarmıştır. Birincisi SELS'in promotör bölgesindeki SNP'lerin iki farklı özelliklere sahip kohortta kolorektal veya rektal kanser riskini etkilemesi [67] ve GPX1'deki rs1050450'nin akciğer kanseri riskini etkilemesidir (bkz. Bölüm 4.4).

İkincisi farklı çalışmalarda selenoprotein SNP'lerinin diğer genetik faktörlerle (ikinci bir SNP) veya hayat tarzı faktörleri ile kombinasyon halinde kanser riskini etkilemesidir. Bu nedenle prostat kanseri riski ve serum Se arasındaki ilişki SEP15 [51], GPX1'deki rs1050450 veya SEPP1'deki rs7579 varyantları için modifiye edildiği bildirilmiştir [50]. Farklı bir prostat kanseri çalışmasında SEPP1 (rs3877899) ve SOD2 (rs4880) varyantlarının hastalık riskini etkilediği bildirilmiştir [52]. Benzer şekilde SELS promotörü SNPS'in bir Çek kohortundaki kolorektal kanser riskindeki etkisine ek olarak, rs713041 (GPX4) ve rs4880 (SOD2) veya SEPP1'deki rs7579 arasında kolorektal kanser riskini etkileyen SNP-SNP etkileşimleri tespit edilmiştir [45]. Bir başka örnek te GPX1'deki rs1050450 ve SOD2'deki rs4880 kombinasyonunun meme kanseri riskini modüle ettiğinin gözlenmiş olmasıdır.

Üçüncüsü de farklı selenoprotein genlerindeki SNP'lerin farklı kanser risklerini etkileme trendidir. Örnekler yukarıdaki 4.1-4.4 nolu bölümlerde tartışıldığı üzere,. GPX1'deki rs1050450 meme, mesane, akciğer ve prostat kanserlerinin risklerini etkilerken, kolorektal kanser riskini etkilemediği bildirilmemiştir. GPX4'deki rs713041 kolorektal kanser riski ile ilişkilendirilmiş olsa da farklı çalışmalarda kafa karıştırıcı

sonuçlar bildirilmiştir. Bir çalışmada meme kanseri reküransını etkilediği bildirilirken, prostat kanseri ile ilgili bir ilişki bildirilmemiştir. Ek olarak SELS'lerin promotör bölgelerindeki SNP'ler gastrointestinal kanser riskini etkilemektedir. Ancak bu varyantların diğer kanser risklerini etkilediğini gösteren kanıt yoktur. Bunun aksine SEP15 ve SeIS'in ER stres yolağında fonksiyonları olduğu düşünülürken, SEP15'deki SNP'lerin birçok kanser türünün (prostat, meme, akciğer ve rektum) riski ile ilgili olması şaşırtıcıdır. SEPP'nin Se metabolizmasındaki önemli rolü nedeniyle SEPP1'deki SNP'lerin prostat, kolorektal [45] ve meme kanseri riskleri ile ilgili bulunması şaşırtıcı değildir (Méplan, Hesketh, Vogel yayınlanmamış veriler). Ancak SEPP1 SNP'lerinin etkileri başka varyantlar tarafından modüle edilirler. Bu modülasyonun prostat ve kolorektal kanserler için farklı olduklarının bildirilmiş olması ([44, 49,52] nolu referansları karşılaştırınız), tümörijenezde mekanik farklılıklar olduğunu düşündürmektedir.

SNP'lerin farklı selenoprotein genlerinde gözlenmiş olması farklı dokulardaki kanser riskini etkilediklerini düşündürmektedir. Bu durum selenoproteinlerin farklı dokulardaki spesifik rollerinin ya da farklı tipte karsinojenlere yanıtlarının veya selenoproteinlerin dokuya özgü hiyerarşilerinin bir göstergesi olabilir. Ek olarak selenoprotein SNP'leri arasındaki kanser riskinin genetik etkileşimlerle modülasyonu muhtemelen Se metabolizmasının iki özelliğinin yansımasıdır. Birincisi kısıtlı sayıda selenoproteinlere benzer bir mekanizma ile bağlanmaları, ikincisi ise bir selenoproteinin ekspresyonundaki değişimin bir başkasının ekspresyonunu değiştirebilmesi sonucu ortaya çıkan selenoprotein hiyerarşisidir. Bununla ilgili bir örnek vaka/kontrollü kolorektal kanser çalışmasında illüstre edilen ve ilgili proteinlerin bilinen fonksiyonları ile örtüşen farklı selenoproteinlerdeki SNP'ler arasında gözlediğimiz genetik interaksiyonlardır [44]. Özellikle Se'ye, SePP plazma izoformlarını ve potansiyel olarak Se dağıtımına [19, 34] verilen cevabı modüle eden SEPP1 SNP'leri, SEP15 ve GPX4'teki 3′ utr'de bulunan iki SNP ile etkileşime girmektedir. Bu genetik etkileşimler suboptimal Se düzeyleri ve "zayıf" Se dağıtımı varyantı (SEPP'de) için kombine genotipi ve "zayıf" selenosistein eklenme varyantı olan bir bireydeki GPX4 veya SEP15 sentezi azalarak kolonik hücreleri oksidatif hasara daha duyarlı hale getirerek bireyi kolorektal kansere daha yatkın hale getirebilir. Bu nedenle Se alımı ve Se metabolizmasını etkileyen muhtemel faktörler ve ilgili aşağı yönlü yolaklar göz önüne alındığında ortaya kompleks bir resim çıkmaktadır (Şekil 4'de illüstre edildiği gibi). Bu yüzden gelecekteki epidemiyolojik çalışmalarda fonksiyonel SNP'lerin tüm Se yolaklarının kombinasyon halinde incelenmesi gerekmektedir. Bu inceleme varyantların yolaklar boyunca, Se statü ölçütleri ile kombine halde değerlendirilmelerini kapsar. Gen-diyet etkileşiminin önemi ve sigara gibi potansiyel hayat tarzı ve çevresel etkilerin rolü ve SNP'ler arasındaki kompleks ilişkiler, genom boyunca ilişkilendirme çalışmalarının (GWAS) selenoprotein SNP'lerinin kanser riskindeki rolünü niçin tanımlayamadıklarının muhtemel nedenidir.



Şekil 4 Se alımı ve SNP'ler arasındaki multipl entegre metabolik cevapları etkileyen etkileşimler. Şema hem Se alımını hem de SNP'lerin selenoprotein aktivitelerindeki etkisi ile, devamındaki selenoprotein aktivitesinin metabolik olarak ilişkili aşağı yönlü yolaklar üzerindeki etkilerini illüstre etmektedir. Bu yolakların entegre cevabı Se'nin tümörijenezdeki rolünün altında yatan potansiyel nedendir.

5 Genom Çalışmaları

5.1 Diyetle Alınan Selenyumun Transkriptom Üzerindeki Etkisi

Se kanser ilişkisi hakkındaki tartışmada, selenoproteinlerin biyokimyasal fonksiyonları ve hücresel biyokimyasal fonksiyonun değişen Se alımı ile nasıl değiştiği hakkındaki bilgilerimizin artması hayati rol oynamaktadır. Bölüm 2.1'de anlatıldığı üzere, Se mevcudiyeti tüm selenoproteinlerin seviye ve aktivitelerini aynı düzeyde değiştirmez. Her selenoproteinin aktivitesindeki değişimler devamında aşağı yönlü hedeflerin aktivitesini etkilediği için, selenoprotein ekspresyon paterninde rol oynayan bir başka kompleks mekanizma mevcuttur. Genomik tekniklerin ilerlemesi ile, mikrodizi yöntemi kullanıla-

rak sadece selenoprotein mRNA ekspresyon paternlerindeki değişimler aydınlatılmakla kalmamış, aynı zamanda bu paternin aşağı yönlü hedefler ve yolaklarla olan kompleks ilişkisi de anlaşılmıştır. Bu nedenle değişen Se alımına ve biyokimyasal fonksiyonuna verilen doku ve hücre cevaplarının anlaşılması ile selenoproteinleri entegre bir sistemin bakış açısıyla inceleme fırsatı doğmuştur. Gen mikrodizi kullanarak yaptığımız bu çalışmada Se tedarikindeki değişimlerin fare kolonundaki ve hem insan, hem fare lökositlerindeki global transkriptom paterninin ekspresyonunu nasıl etkilediğini araştırdık. Ana bulgular Şekil 2'de şematik olarak illüstre edilmiştir.

6 hafta boyunca 100 μg/gün sodyum selenit [68] uygulanan bireylerden çalışmanın başında ve sonunda izole edilen insan lenfosit RNA mikrodizi analizleri yapılmıştır. SEP15 ve SELK mRNA ekspresyonlarının Se takviyesinden anlamlı olarak etkilenmeleri nedeniyle insan lenfositlerindeki Se tedarikine en duyarlı selenoproteinler oldukları tespit edilmiştir. Sonrasında yapılan bir çalışmada suboptimal ve marjinal düzeyde Se eksikliği olan diyetle beslenen farelerin transkriptomik kolon analizlerinde, marjinal Se eksikliğinin GPX1, SeIH, SeIW ve SeIM'nin daha düşük ekspresyonuna neden olduğu bulunmuştur. Fare kolonundaki bu selenoproteinlerin en azından mRNA düzeyindeki ekspresyonlarının diyette Se azalmasına duyarlı olduğu gösterilmiştir [27]. GPX1 ve SeIW'nin Se azalmasına duyarlı olduğunun bulunması daha önce kolon epitel hücrelerinde gözlenen selenoprotein hiyerarşisi hakkındaki bulgularla uyumludur [68]. Ancak SeIH ve SeIM'nin kolondaki duyarlılığı daha önce tanımlanmamıştır. İlginç biçimde, aynı farelerde yapılan splenik lökosit RNA çalışmasında da SelW, GPx1, SelH ve SEP15'in Se azalmasına duyarlı olduğunun gösterilmiş olması [69], SeIH ve SeIW ekspresyonunun çeşitli dokudaki Se azalmasına özellikle duyarlı olduğunu düşündürmektedir. İnsan ve hayvan çalışması verilerinin karşılaştırmasında lenfositlerdeki değişimlerin spesifik olabileceği ve insan kolon biyopsilerinden elde edilen RNA'yı kullanarak sürdürmekte olduğumuz deneylerde Se statüsü ile selenoprotein arasındaki ilişkiyi tanımlamada önemli olabileceği ortaya çıkmıştır.

Se alımına duyarlı aşağı yönlü hedeflerin özelliklerini incelemek amacıyla, bu çalışmalardan elde edilen mikrodizi verilerinin yolak analizleri yapılmıştır. Se takviyesi sonrası insan lenfosit ekspresyonunu inceleyen çalışmanın verileri, Se takviyesine en duyarlı bölgenin protein biyosentetik yolakları olduğu tespit edilmiştir [68]. Fare kolonunun benzer bir analizinde de marjinal Se eksikliği ile en fazla değişen yolağın protein translasyonu olduğu gösterilmiştir. Ek olarak protein sentezi ile ilgili yolakların (eiF4e ve p70S6 kinaz, ribozomal proteinler ve mTOR sinyal yolağı), enflamatuar sinyallerin (TNF-α-NF-κB), hücre siklus regülasyonunun (WNT sinyali) ve proteazom degradasyonunun da Se alımı ile modüle edildiği bulunmuştur. Üç NF-κB bağlama bölgesi tarafından yönlendirilen lusiferaz habercisinin Caco-2 bağırsak epitel hücrelerine transfekte edilmesi ile yapılan deneyde, Se tedariğinin NF-κB'nin TNF-α'ya olan cevabını modüle ettiğinin bulunmuş olması [70], Se tedarikinin kolon epitelindeki enflamatuar yolakları modifiye ettiği hipotezine ilave destek sağlamıştır. İlginç biçimde fare splenik lökositlerindeki enflamasyon ile ilişkili yolakların da Se azalmasından etkilendiği bulunmuştur. Gerçek zamanlı PCR analizi ile orta düzeyde Se eksikliğinin 30'dan fazla NF-κB hedefin-

de aşağı regülasyona yol açtığının bulunması, Se azalmasının NF-κB sinyalini etkilediğini konfirme etmiştir [69].

Tüm bu transkriptomik analizler Se tedariğinin kolon ve muhtemelen diğer dokulardaki protein sentezini, katlanmamış protein cevabını, Wnt, Nrf2 ve enflamatuar yolakları modüle ettiğini önermektedir [27, 68, 69]. Bu yolakların çoğu eksternal ve internal sorunlara karşı ortaya çıkan hücresel cevapların regülasyonunda rol oynamaktadır: Örneğin ksenobiyotik ve antioksidanlara verilen cevaplarda Nrf2, viral ve enflamatuar problemlere karşı oluşan cevaplarda katlanmamış cevap yolakları rol oynar. Ek olarak glutatyon peroksidazlar ve tioredoksin redüktazlar gibi çeşitli selenoproteinler de antioksidan koruyucu mekanizmalarda anahtar role sahiptir. Bu nedenle selenoproteinlerin hücrelerin bu proseslerde rol oynayan aşağı yönlü yolakları etkileyen bir dizi probleme cevap verilmesi ve problemin çözülmesinde önemli rol oynadığı hipotezini geliştirdik.

5.2 Kolonda Selenoprotein Fonksiyonu

Kolon ile ilgili mikrodizi ve genotipleme deneylerinde özel öneme sahip çeşitli selenoproteinler vurgulanmıştır; SeIH, SeIM ve SeIW, Se alımına karşı özellikle hassastır. SeIS'in genetik varyasyonlarının da hem kolon sağlığı hem de enflamatuar cevapları etkilediği düşünülmektedir.

Mevcut bilgilerimiz: (1) Bu selenoproteinler endoplazmik retikulumun (ER) katlanmamış protein cevabında, antioksidan korumada ve enflamatuar sinyallerde rol oynar. (2) Endoplazmik retikulum stresi, Nrf2 sinyali, memeli rapamisin hedefi (mTOR) sinyali ve enflamatuar sinyaller arasında biyokimyasal etkileşim (cross talk) mevcuttur. Örneğin mTOR sinyali hücre büyümesi ve protein sentezini kontrol eden yolakları regüle eder; anahtar uzatma ve başlatma faktörleri ve bunların kinazları gibi translasyonda rol oynayan çeşitli faktörleri modüle eder. Ayrıca c-myc'nin (Wnt yolağındaki hedef bir gen) transkripsiyonel regülasyonu ve mTOR besin öğesi algılama özelliği de mTOR'un translasyon, başlatma ve uzatmayı regüle etmesi ile bağlantılıdır. Selenyumun protein sentezi ve translasyon yolaklarında gözlenen etkilerinin Wnt ve/veya mTOR sinyalindeki değişimlerle ilişkili olduğunu düşünüyoruz. Bu da Se alımı ve SNP'ler tarafından değiştirilen bağlantılı biyokimyasal ağın bir yönünü temsil etmektedir.

Selenoprotein sentezinde rol oynayan ikinci bir nodal yolak da ER stres yolağıdır. Bu yolak besin öğesi yoksunluğu ve oksidatif stress gibi problemler ile ER'nin protein katlama kapasitesini bozarak yanlış katlanmış protein birikimine yol açabilir. Bölüm 2.1'de tanımlandığı üzere ER'de bulunan SEP15, SeIM ve SeIS selenoproteinlerin yanlış katlanmış proteinlerin uzaklaştırılmasında ve enflamatuar sinyallerde rol oynadıkları kabul edilmektedir. Ayrıca SeIS ekspresyonu da ER stresi [71] ve enflamatuar yolaklar [72] gibi bir dizi metabolik olaylarla modüle edilmektedir. Bu yolaklar kolorektal karsinogenezde disregüle olduğu için, SeIH, SeIS ve SeIM'nin ekspresyon/aktivitelerinin, Se alımı ve/veya genetik faktörler ile değişime uğraması ER stresini modüle edebilir [13]. Bu da birbiriyle ilişkili bir dizi biyokimyasal yolağı ve devamında tümörijenezi etkileyebilir. Hipotezimiz (bakınız Şekil 4) diyetle Se alımı ve selenoprotein genlerindeki SNP'lerin

oksidatif, endoplazmik retikulum ve enflamatuar streslere verilen hücre cevabında rol alan bir dizi birbiriyle bağlantılı yolağı modüle ettiğini önermektedir [11]. Selenoproteinlerin hücre koruma mekanizmalarındaki rolü ve Se statüsündeki değişimlerden etkilenen aşağı yönlü hedefli metabolik yolaklarla ilgili bilinen ve varsayılan bilgilerin ışığında, kolonik selenoproteinlerin ekspresyonlarındaki değişimlerin kolon epitel hücrelerini hasar verici metabolik problemlerle mücadele edecek şekilde modüle etmesi mümkündür. Bu da bir bireyde kanser gelişme riskini etkileyen bir faktördür. Kolondaki bu selenoproteinlerin rollerinin tanımlanması öncelikli olmalıdır.

siRNA'nın gen ekspresyonunun baskılanması (knock down) için kullanımının selenoproteinlerin fonksiyonlarının incelenmesinde kullanışlı olduğu gösterilmiştir. Kolonik epitel hücre dizisindeki GPX4'in baskılanmasını takip eden transkriptomik analizde, gerçek zamanlı PCR ve Westernblot analizinde mitokondrial respiratuar komplekslerin (I, IV ve V) kodlayıcı komponentlerini kontrol eden genlerde majör etkiler gözlenmiştir [73]. GPX4 baskılanması aynı zamanda mitokondrial reaktif oksijen türlerinin ve okside lipidlerin seviyelerini artırıp, apoptoz indükleyici faktörün (AIF) ekspresyonunu değiştirir. Düşük GPX4 ekspresyonunun lipooksijenaz kaynaklı lipid hidroksiperoksitleri ve AIF tarafından indüklenen apoptozi artırması geçmiş çalışmaların bulguları ile uyumludur. GPX4 ekspresyonu farklılaşmış enterositlerde [75] arttığı için, GPX4'ün AIF ile ilişkili koruyucu rolü farklılaşmış enterositler için özel öneme sahip olabilir. Ayrıca değişen GPX4 aktivitesinin bir sonucu olarak ortaya çıkan mitokondriyal oksidatif fonksiyon ve apoptoz, kolonik hücre proliferasyonunu etkileyebilir [72]. Bu etkiler ile kolorektal kanser riski arasındaki ilişki bilinmemektedir. Ancak mitokondrial fonksiyonun, düşük Se alımı ve selenoprotein genetik varyasyonlarına karşı oluşan hücre cevaplarını belirleyen biyokimyasal ağlarda önemli bir rol oynadığı speküle edilebilir. Bu bağlamda hem baskılama hem de aşırı ekspresyon deneylerinde GPX1'in mitokondri fonksiyonu üzerindeki etkilerinin redoks ile regüle edilen yolakların kontrolünde önemli rol oynadığının [76] ve ER stresinin mitokondrial redoks reaksiyonları ve enflamatuar yolaklarla ilgili olduğunun belirtilmiş olması ilginçtir [77, 78].

6 Sonuçlar ve Gelecekteki Çalışmalar

Se insanda 25 selenoproteinde bulunur. Se düzeylerindeki değişimler selenoprotein sentezini, protein ve dokuya bağlı olarak farklı şekillerde etkiler. Farklı dokulardaki çeşitli selenoproteinlerin rolleri tam olarak anlaşılamamıştır. Bu durum özellikle daha az tanınan proteinler için geçerlidir. Se alımı ve kanser arasındaki ilişkinin daha iyi anlaşılabilmesi için, gelecekteki çalışmalar kanser görülen çeşitli dokulardaki farklı selenoproteinlerin rollerinin tanımlanmasına odaklanmalıdır. Ancak bu entegre bir yaklaşım gerektirir. Se tedariğinin multipl selenoproteinler üzerindeki etkilerinin aşağı yönlü yolaklar ve çevresel stresin göze alınarak incelenmesi ile mümkün olabilir. Böylece Se'nin genel hücre cevapları üzerindeki etkilerini ve kardiyojenik prosesi önleme mekanizmasını anlamamız mümkün olabilir (Şekil 4'de şematik olarak illüstre edilmiştir). Genetik epidemiyolojik çalışmalardan elde edilen veriler farklı varyantların farklı dokulardaki

kanser riskini etkileme ihtimalinin yüksek olduğunu göstermektedir. Bu selenoproteinlerin farklı rollerinin teorik göstergesi olup bu dokularda Se fonksiyonlarını araştıracak mekanik çalışmaların önemini vurgulamayan bir durumdur. Selenyumun hedef dokulardaki rolü ile Se ve selenoproteinlerin hücre büyümesinin kontrolündeki olası etkilerinin anlaşılmasında fonksiyonel genomik yaklaşım esastır.

Günümüzde selenoproteinler içindeki bazı SNP'lerin proteinlerin ekspresyonunda fonksiyonel etkileri olduğunu gösteren güçlü kanıtlar mevcuttur. Ancak bu varyantların veya diğer selenoprotein SNP'lerinin kanser riskini etkileyip etkilemediğinin kesin olarak gösterilmesi gerekmektedir. Bu eksiğe rağmen, hastalıklarla ilişkileri araştıran çalışmalardan elde edilen ön bilgiler selenoprotein genlerindeki SNP'lerin kanser riski ile ilişkili olduğunu düşündürmektedir. Örneğin mevcut bilgilerimiz akciğer kanseri riskinin GPX1'deki rs1050450 genotipi, kolorektal kanser riskinin SELS'deki fonksiyonel bir varyantın genotipi ve muhtemelen GPX4 ile SEPP1 varyantları ile ilişkili olduğunu ancak GPX1'deki rs1050450 ile ilişkisi bulunmadığını göstermektedir. Buna karşın meme kanseri riski ise GPX1'deki rs1050450 ve sigara gibi hayat tarzı faktörlerinin kombinasyonundan etkilenmektedir. Ayrıca GPX1 ve SEPP1'deki SNP'lerin de prostat kanseri riskini etkilediği bildirilmiştir. Çeşitli çalışmalarda kanser riskinin SNP'ler ve/veya SNP'ler ile Se statüsü arasındaki etkileşimlerle modüle edebildiğinin gösterilmiş olması önemlidir. Kanser riskiyle ilişkili selenoprotein genotipleme verileri ümit verici ve motive edicidir. Ancak genotiplemenin selenoprotein yolağında rol oynayan (mümkün olabildiği kadar çok sayıda) SNP'ler ile konfirmasyonu ve replikasyonunun Se statü ölçütleri ile kombinasyon halinde gösterilmesi gerekmektedir. Bu amaç selenoprotein yolağındaki farklı SNP'lerin tek başlarına ve kombine haldeki etkilerinin, etkileşimlerinin ve Se statüsün kanser riskindeki etkisinin sayısal olarak tanımlanmasını gerektirmektedir.

Genotipleme ve mekanik çalışmalarda, Se ve selenoproteinlerin kanser biyolojisi ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. SELECT takviye çalışmasındaki negatif sonuca rağmen "Se ve kanser" çalışmalarının devam etmesi önemlidir. SELECT Çalışmasının sonuçlarında da Se-gen etkileşiminin, potansiyel kanser riski ile ilişkisinin altı çizilmektedir. Rölatif olarak düşük Se statüsü olan bir popülasyonlarda (örn. Avrupa) yapılacak Se takviye çalışmasına ihtiyaç vardır. Yanıltıcı faktörlerin elimine edilmesi adına selenoprotein SNP'lerinin genotiplemelerinin de entegre edilmesi uygun olacaktır.

CM Biotechnology and Biological Sciences Research Council tarafından desteklenmiştir (burs BB/H011471/1). JEH'in laboratuar çalışmaları Biotechnology and Biological Sciences Research Council, Food Standards Agency, Wellcome Trust, European Union, World Cancer Research Fund and Newcastle Healthcare Charity tarafından desteklenmiştir.

Referanslar

1. Fairweather-Tait SJ, BaoY Broadley MR et al (2011) Selenium in human health and disease. Antiox Red Sig 14:1337–1383
2. Rayman MP (2012) Selenium and human health. Lancet 379:1256–1268

3. Whanger PD (2004) Selenium and its relationship to cancer: an update dagger. Br J Nutr 91:11–28
4. Shamberger RJ, Frost DV (1969) Possible protective effect of selenium against human cancer. Can Med Assoc J 104:82–84
5. Duffield-Lillico AJ, Reid ME, Turnbull BW et al (2002) Baseline characteristics and the effect of selenium supplementation on cancer incidence in a randomized clinical trial: a summary report of the nutritional prevention of cancer trial. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 11:630–639
6. Qiao YL, Dawsey SM, Kamangar F et al (2009) Total and cancer mortality after supplementation with vitamins and minerals: follow-up of the Linxian general population nutrition intervention trial. J Natl Cancer Inst 101:507–518
7. Lippman SM, Klein EA, Goodman PJ et al (2009) Effect of selenium and vitamin E on risk of prostate cancer and other cancers: the selenium and vitamin E cancer prevention trial (SELECT). JAMA 301:39–51
8. Dunn BK, Taylor PR (2012) Prostate cancer prevention and the selenium and vitamin E cancer prevention trial (SELECT): a selenium perspective. In: Hatfield D, Berry MJ, Gladyshev VN (eds) Selenium: its molecular biology and role in human health, 3rd edn. Springer, New York
9. Laclaustra M, Navas-Acien A, Stranges S et al (2009) Serum selenium concentrations and diabetes in U.S. adults: national health and nutrition examination survey (NHANES) 2003–2004. Environ Health Perspect 117:1409–1413
10. Hesketh J (2008) Nutrigenomics and selenium: gene expression patterns, physiological targets, and genetics. Annu Rev Nutr 28:157–177
11. Hesketh J, Méplan C (2011) Transcriptomics and functional genetic polymorphisms as biomarkers of micronutrient function: focus on selenium as an exemplar. Proc Nutr Soc epub ahead of print
12. Hesketh J, Wybranska I, Dommels Y, King M, Elliott R, Pico C, Keijer J (2006) Nutrient-gene interactions in benefit-risk analysis. Br J Nutr 95(6):1232–1236
13. Méplan C (2011) Trace elements and ageing, a genomic perspective using selenium as an example. J Trace Elem Med Biol 25:S11–S16
14. Bellinger FP, Raman AV, Reeves MA et al (2009) Regulation and function of selenoproteins in human disease. Biochem J 422:11–22
15. Papp LV, Holmgren A, Khanna KK (2010) Selenium and selenoproteins in health and disease. Antioxid Redox Signal 12:793–795
16. Aachmann FL, Fomenko DE, Soragni A et al (2007) Solution structure of selenoprotein W and NMR analysis of its interaction with 14–3-3 proteins. J Biol Chem 282:37036–37044
17. Dikiy A, Novoselov SV, Fomenko DE et al (2007) SelT, SelW, SelH, and Rdx12: genomics and molecular insights into the functions of selenoproteins of a novel thioredoxin-like family. Biochemistry 46:6871–6882
18. Reeves MA, Bellinger FP, Berry MJ (2010) The neuroprotective functions of selenoprotein M and its role in cytosolic calcium regulation. Antioxid Redox Signal 12:809–818
19. Burk RF, Hill KE (2009) Selenoprotein P-expression, functions, and roles in mammals. Biochim Biophys Acta 1790:1441–1447
20. Méplan C, Nicol F, Burtle BT et al (2009) Relative abundance of selenoprotein P isoforms in human plasma depends on genotype, se intake, and cancer status. Antioxid Redox Signal 11:2631–2640
21. Hill KE, Zhou J, McMahan WJ et al (2003) Deletion of selenoprotein P alters distribution of selenium in the mouse. J Biol Chem 278:13640–13646
22. Schomburg L, Schweizer U, Holtmann B et al (2003) Gene disruption discloses role of selenoprotein P in selenium delivery to target tissues. Biochem J 370:397–402
23. Al-Taie OH, Seufert J, Mork H et al (2002) A complex DNA-repeat structure within the Selenoprotein P promoter contains a functionally relevant polymorphism and is genetically unstable under conditions of mismatch repair deficiency. Eur J Hum Genet 10:499–504

24. Bermano G, Nicol F, Dyer JA et al (1995) Tissue-specific regulation of selenoenzyme gene expression during selenium deficiency in rats. Biochem J 311:425–430
25. Wingler K, Bocher M, Flohe L et al (1999) mRNA stability and selenocysteine insertion sequence efficiency rank gastrointestinal glutathione peroxidase high in the hierarchy of selenoproteins. Eur J Biochem 259:149–157
26. Pagmantidis V, Bermano G, Villette S et al (2005) Effects of Se-depletion on glutathione peroxidase and selenoprotein W gene expression in the colon. FEBS Lett 579:792–796
27. Kipp A, Banning A, van Schothorst EM et al (2009) Four selenoproteins, protein biosynthesis, and Wnt signalling are particularly sensitive to limited selenium intake in mouse colon. Mol Nutr Food Res 53:1561–1572
28. Bermano G, Arthur JR, Hesketh JE (1996) Role of the 3′ untranslated region in the regulation of cytosolic glutathione peroxidase and phospholipid-hydroperoxide glutathione peroxidase gene expression by selenium supply. Biochem J 320:891–895
29. Méplan C, Crosley LK, Nicol F et al (2008) Functional effects of a common single-nucleotide polymorphism (GPX4c718t) in the glutathione peroxidase 4 gene: interaction with sex. Am J Clin Nut 87:1019–1027
30. Curran JE, Jowett JB, Elliott KS et al (2005) Genetic variation in selenoprotein S influences inflammatory response. Nat Genet 37:1234–1241
31. Voetsch B, Jin RC, Bierl C et al (2007) Promoter polymorphisms in the plasma glutathione peroxidase (GPx-3) gene: a novel risk factor for arterial ischemic stroke among young adults and children. Stroke 38:41–49
32. Forsberg L, de Faire U, Marklund SL et al (2000) Phenotype determination of a common Pro-Leu polymorphism in human glutathione peroxidase 1. Blood Cells Mol Dis 26:423–426
33. Jablonska E, Gromadzinska J, Reszka E et al (2009) Association between GPx1 Pro198Leu polymorphism, GPx1 activity and plasma selenium concentration in humans. Eur J Nut 48:383–386
34. Takata Y, King IB, Lampe JW et al (2012) Genetic variation in GPX1 is associated with GPX1 activity in a comprehensive analysis of genetic variations in selenoenzyme genes and their activity and oxidative stress in humans. J Nutr 142:419–426
35. Méplan C, Crosley LK, Nicol F et al (2007) Genetic polymorphisms in the human selenoprotein P gene determine the response of selenoprotein markers to selenium supplementation in a gender-specific manner (the SELGEN study). FASEB J 21:3063–3074
36. Villette S, Kyle JA, Brown KM et al (2002) A novel single nucleotide polymorphism in the 3' untranslated region of human glutathione peroxidase 4 influences lipoxygenase metabolism. Blood Cells Mol Dis 29:174–178
37. Bermano G, Pagmantidis V, Holloway N et al (2007) Evidence that a polymorphism within the 3′ UTR of glutathione peroxidase 4 is functional and is associated with susceptibility to colorectal cancer. Genes Nutr 2:225–232
38. Gautrey H, Nicol F, Sneddon AA et al (2011) A T/C polymorphism in the GPX4 3′ UTR affects the selenoprotein expression pattern and cell viability in transfected Caco-2 cells. Biochim Biophys Acta 1810:584–591
39. Hu YJ, Korotkov KV, Mehta R et al (2001) Distribution and functional consequences of nucleotide polymorphisms in the 3′-untranslated region of the human Sep 15 gene. Cancer Res 61:2307–2310
40. Pawlowicz Z, Zachara BA, Trafikowska U et al (1991) Blood selenium concentrations and glutathione peroxidase activities in patients with breast cancer and with advanced gastrointestinal cancer. J Trace Elem Electrolytes Health Dis 5:275–277
41. Hu YJ, Diamond AM (2003) Role of glutathione peroxidase 1 in breast cancer: loss of heterozygosity and allelic differences in the response to selenium. Cancer Res 63:3347–3351
42. Gresner P, Gromadzinska J, Jablonska E et al (2009) Expression of selenoprotein-coding genes SEPP1, SEP15 and hGPX1 in non-small cell lung cancer. Lung Cancer 65:34–40

43. Reszka E, Gromadzinska J, Jablonska E et al (2009) Level of selenoprotein transcripts in peripheral leukocytes of patients with bladder cancer and healthy individuals. Clin Chem Lab Med 47:1125–1132
44. Sutherland A, Kim DH, Relton C et al (2010) Polymorphisms in the selenoprotein S and 15-kDa selenoprotein genes are associated with altered susceptibility to colorectal cancer. Genes Nutr 5:215–223
45. Méplan C, Hughes DJ, Pardini B et al (2010) Genetic variants in selenoprotein genes increase risk of colorectal cancer. Carcinogenesis 31:1074–1079
46. Shibata T, Arisawa T, Tahara T et al (2009) Selenoprotein S (SEPS1) gene -105G>A promoter polymorphism influences the susceptibility to gastric cancer in the Japanese population. BMC Gastroenterol 9:2
47. Peters U, Chatterjee N, Hayes RB et al (2008) Variation in the selenoenzyme genes and risk of advanced distal colorectal adenoma. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 17:1144–1154
48. Haug U, Poole EM, Xiao L et al (2012) Glutathione peroxidase tagSNPs: associations with rectal cancer but not with colon cancer. Genes Chromosomes Cancer 51:598–605
49. Takata Y, Kristal AR, King IB et al (2011) Serum selenium, genetic variation in selenoenzymes, and risk of colorectal cancer: primary analysis from the women's health initiative observational study and meta-analysis. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 20:1822–1830
50. Steinbrecher A, Méplan C, Hesketh J et al (2010) Effects of selenium status and polymorphisms in selenoprotein genes on prostate cancer risk in a prospective study of European men. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 19:2958–2968
51. Penney KL, Schumacher FR, Li H et al (2010) A large prospective study of SEP15 genetic variation, interaction with plasma selenium levels, and prostate cancer risk and survival. Cancer Prev Res 3:604–610
52. Cooper ML, Adami HO, Grönberg H et al (2008) Interaction between single nucleotide polymorphisms in selenoprotein P and mitochondrial superoxide dismutase determines prostate cancer risk. Cancer Res 68:10171–10177
53. Méplan C, Rohrmann S, Steinbrecker A et al (2012) Polymorphisms in thioredoxin reductase and selenoprotein K genes and selenium status moderate risk of prostate cancer. PLOS One 7:e48709
54. Ravn-Haren G, Olsen A, Tjønneland A et al (2006) Associations between GPX1 Pro198Leu polymorphism, erythrocyte GPX activity, alcohol consumption and breast cancer risk in a prospective cohort study. Carcinogenesis 27:820–825
55. Cox DG, Hankinson SE, Kraft P et al (2004) No association between GPX1 Pro198Leu and breast cancer risk. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 13:1821–1822
56. Ahn J, Gammon MD, Santella RM et al (2005) No association between glutathione peroxidase Pro198Leu polymorphism and breast cancer risk. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 14:2459–2461
57. Knight JA, Onay UV, Wells S et al (2004) Genetic variants of GPX1 and SOD2 and breast cancer risk at the ontario site of the breast cancer family registry. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 13:146–149
58. Hu J, Zhou GW, Wang N et al (2010) GPX1 Pro198Leu polymorphism and breast cancer risk: a meta-analysis. Breast Cancer Res Treat 124:425–431
59. Nasr MA, Jun Y, Hu J et al (2003) Allelic loss at the SEP15 locus in breast cancer. Cancer Ther 1:293–298
60. Ratnasinghe D, Tangrea JA, Andersen MR et al (2000) Glutathione peroxidase codon 198 polymorphism variant increases lung cancer risk. Cancer Res 60:6381–6383
61. Yang P, Bamlet WR, Ebbert JO et al (2004) Glutathione pathway genes and lung cancer risk in young and old populations. Carcinogenesis 25:1935–1944
62. Skuladottir H, Autrup H, Autrup J et al (2005) Polymorphisms in genes involved in xenobiotic metabolism and lung cancer risk under the age of 60 years. A pooled study of lung cancer patients in Denmark and Norway. Lung Cancer 48:187–199

63. Lee CH, Lee KY, Choe KH et al (2006) Effects of oxidative DNA damage and genetic polymorphism of the glutathione peroxidase 1 (GPX1) and 8-oxoguanine glycosylase 1 (hOGG1) on lung cancer. J Prev Med Public Health 39:130–134
64. Raaschou-Nielsen O, Sørensen M, Hansen RD et al (2007) GPX1 Pro198Leu polymorphism, interactions with smoking and alcohol consumption, and risk for lung cancer. Cancer Lett 247:293–300
65. Rosenberger A, Illig T, Korb K et al (2008) Do genetic factors protect for early onset lung cancer? A case control study before the age of 50 years. BMC 8:60
66. Moscow JA, Schmidt L, Ingram DT et al (1994) Loss of heterozygosity of the human cytosolic glutathione peroxidase I gene in lung cancer. Carcinogenesis 15:2769–2773
67. Méplan C, Hesketh J (2012) The influence of selenium and selenoprotein gene variants on colorectal cancer risk. Mutagenesis 27:177–186
68. Pagmantidis V, Méplan C, Van Schothorst EM et al (2008) Supplementation of healthy volunteers with nutritionally-relevant levels of selenium increases expression of lymphocyte protein biosynthesis genes. Amer J Clin Nutr 87:181–189
69. Kipp AP, Banning A, van Schothorst EM et al (2011) Marginal selenium deficiency down-regulates inflammation-related genes in splenic leukocytes of the mouse. J Nutr Biochem [Epub ahead of print]
70. Gong G, Méplan C, Gautrey H et al (2012) Differential effects of selenium and knock-down of glutathione peroxidases on TNFα and flagellin inflammatory responses in gut epithelial cells. Genes Nutr 7:167–178
71. Gao Y, Feng HC, Walder K et al (2004) Regulation of the selenoprotein SelS by glucose deprivation and endoplasmic reticulum stress—SelS is a novel glucose-regulated protein. FEBS Lett 563:185–190
72. Zhang K, Kaufman RJ (2008) From endoplasmic-reticulum stress to the inflammatory response. Nature 454:455–462
73. Cole-Ezea P, Swan D, Shanley D et al (2012) Glutathione Peroxidase 4 has a major role in protecting mitochondria from oxidative damage and maintaining oxidative phosphorylation complexes in gut epithelial cells. Free Rad Biol Med 53:488–497
74. Seiler A, Schneider M, Forster H et al (2008) Glutathione peroxidase 4 senses and translates oxidative stress into 12/15-lipoxygenase dependent- and AIF-mediated cell death. Cell Metab 8:237–248
75. Speckmann B, Bidmon HJ, Pinto A et al (2011) Induction of glutathione peroxidase 4 expression during enterocytic cell differentiation. J Biol Chem 286:10764–10772
76. Handy DE, Lubos E, Yang Y et al (2009) Glutathione peroxidase-1 regulates mitochondrial function to modulate redox-dependent cellular responses. J Biol Chem 284:11913–11921
77. Malhotra JD, Kaufman RJ (2007) Endoplasmic reticulum stress and oxidative stress: a vicious cycle or a double-edged sword? Antioxid Redox Signal 9:2277–2293
78. Kitamura M (2011) Control of NF-κB and inflammation by the unfolded protein response. Int Rev Immunol 30:4–15

Resveratrol: Temel Çalışmalardan Yatak Başına

Adriana Borriello, Debora Bencivenga, Ilaria Caldarelli, Annunziata Tramontano, Alessia Borgia, Vincenzo Zappia ve Fulvio Della Ragione

Özet

Bitkilerden elde edilen çok sayıda düşük molekül ağırlıklı doğal ürünlerin birçok önemli biyolojik aktivitesi vardır. Bu moleküller arasında bulunan ve hücre fenotipinin önemli bir modülatörü olan resveratrol (3,5,4'-trihidroksistilben) kompleks ve pleiotropik bir etki mekanizmasına sahiptir. Aktivitesi ile ilgili olarak genel olarak hücresel modellere yapılan birçok çalışmada, bu polifenolün hücre proliferasyonunu kontrol ettiği, farklılaşmayı indüklediği, apoptoz ve otofajiyi aktive ettiği belirtilmektedir. Bileşik aynı zamanda anjiogenez ve enflamasyonu da kontrol eder. Benzer şekilde, implante kanserler ve kimyasal yolla indüklenen tümörlerde yapılan çalışmalarda da bileşiğin potansiyel kemoterapötik etkisi konfirme edilmiştir. Bileşiğin hayvan modellerindeki tip 2 diyabet, obezite, koroner kalp hastalığı, metabolik sendrom ve nörodejeneratif patolojileri de kapsayan birçok kronik hastalığın gelişim ve evrimini pozitif etkileyebileceği de farklı makalelerde net olarak gösterilmiştir. Ayrıca molekülün toksisitesinin de son derece düşük olduğu farklı incelemelerde bildirilmiştir. Bu ümit vadeden gözlemlere karşın, molekülün insanlardaki kronik hastalıkların önlenme ve tedavisindeki etkinliğini inceleyen az sayıda klinik çalışma mevcuttur. Öncül veriler daha geniş kapsamlı klinik araştırmalara ihtiyaç olduğu göstermektedir.

Anahtar Kelimeler

Resveratrol • AMPK • PGC-1α • Sirtuin • Kanser tedavisi

A. Borriello · D. Bencivenga · I. Caldarelli · A. Tramontano · A. Borgia · V. Zappia · F. Della Ragione (✉)
Department of Biochemistry, Biophysics and General Pathology, Second University of Naples, Via De Crecchio 7, 80138, Naples, Italy
e-mail: fulvio.dellaragione@unina2.it

V. Zappia et al. (eds.), *Advances in Nutrition and Cancer,* Cancer Treatment and Research 159, DOI: 10.1007/978-3-642-38007-5_10,
© Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2014

Kısaltmalar

AKT	Transforme olan v-Akt proteininin hücresel homoloğu
AMP	Adenozin monofosfat
AMPK	AMP-aktive protein kinaz
VYA	Vücut yüzey alanı
CD95	Farklılaşma kümesi 95
cdc2 kinaz	Hücre büyümesini kontrol eden protein 2 kinaz
Egr-1	Erken büyüme cevap proteini 1
FOXO	Forkhead box class O
HIF	Hipoksi ile indüklenebilir faktör
IGF-1	İnsülin benzeri büyüme faktörü 1
MAP kinaz	Mitojen aktive protein kinaz
NAD	Nikotinamid adenin dinükleotid
NF-κB	Aktive B hücrelerinin, nükleer faktör kappa hafif zincir güçlendiricisi
$p21^{Cip1}$	21 kDA protein sikline bağımlı kinaz inhibitörü protein 1
PDE	Fosfodiesteraz
PGC-1α	Peroksizom proliferatör-aktive reseptör gamma koaktivatör 1 alfa
PI3K	Fosfatidilinositol 3-kinazlar
PKC	Protein kinaz C
Sirt-1	Sirtuin 1
TRAIL	TNF-ile ilişkili apoptoz indükleyici ligand

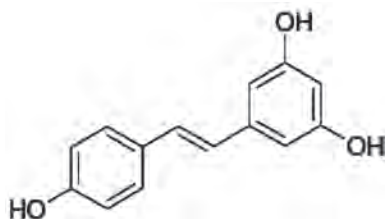
İçindekiler

1 Giriş 168
2 Yerleşik Hücre Dizilerinde Resveratrol Etkisi 170
3 Resveratrol Aktivitesinin Moleküler Temeli 171
4 Resveratrolun Farmakokinetiği 173
5 Resveratrol ile İlgili Klinik Çalışmalar 175
6 Sonuçlar ve Perspektifler 177
Referanslar 178

1 Giriş

Resveratroldan (Şekil 1) ilk kez 1939 yılında molekülü *Veratram album'dan* izole eden Takaoka bahsetmiştir [89]. Bu polifenolün adı muhtemelen Veratrum türlerinin reçinesinde bulunmasından kaynaklanmaktadır. Pezzuto ve çalışma arkadaşları1997 yılında

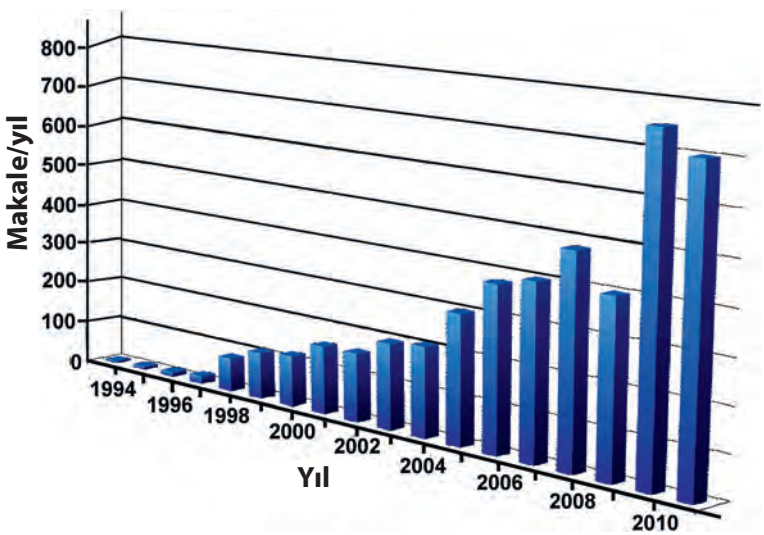
Resveratrol (3, 5, 4´-trihidroksi-
trans-stilben)



Şekil 1 Trans-resveratrolun kimyasal yapıları Resveratrol (3,5,40-trihidroksistilben) bir stilben (stilbenoid) türevidir. İki diastereomer şeklinde bulunur: cis- (Z) ve trans- (E). Trans formu tercih edilen doğal sterik formudur ve rölatif olarak stabildir. Ultraviyole radyasyonuna maruz kaldığında cis- formuna izomerize olabilir.

Peru baklasının (*"Cassia quinquangulata Rich"*; Baklagiller ailesinden yenilmeyen bir tür) potent siklooksijenaz 2 inhibitör aktivitesi olduğunu bildiren bir çalışma yayınlanmıştır [45]. Ekstrenin aktif maddesinin resveratrol olduğunu da tespit etmişlerdir [45].

Pezzuto'nun yayınladığı makalede adeta gelecekte olacakların bir müjdecisi olarak, resveratrolun karsinogenezin her aşamasını kapsayan (başlangıç, gelişim ve progresyon) çok sayıda antikanser aktivitesine sahip olduğu bildirilmiştir. Sonrasında resveratrol hakkında çok sayıda çalışma yapılmıştır. Şu ana kadar yayınlanan çalışmaların sayısı 5000'den fazladır (Şekil 2). Resveratrolun bir insan promiyelositik hücre dizisi olan HL-



Şekil 2 Yıllara göre resveratrolu konu alan yayınların sayıları Grafik 1994-2011 yılları arasında yayınlanan çalışmaların sayılarını göstermektedir. Veriler www.Pub.Med.gov adresinden elde edilmiştir.

60 hücre dizisinin büyüme ve farklılaşması üzerindeki etkileri 1998 yılında yayınlanmıştır. Bu çalışmada molekülün G2'den M'ye spesifik hücre döngüsü geçişini engelleyerek myeloid etki yaptığı ilk kez gösterilmiştir29] Biyokimyasal analizlerde siklin A'nın akümülasyonu ve cdc2 kinazın hiperfosforilasyonundan oluşan hücre bölünme mekanizmasındaki kesin değişimlerin gösterilmiş olması önemlidir [29].

Resveratrol doğada çok yaygın olmasına rağmen, yenilebilen kısıtlı sayıda gıdada mevcuttur. Bunlardan en önemlisi üzümdür. Resveratrol sıradışı işleme tekniği nedeniyle en sık olarak kırmızı şarapta bulunur. Resveratrol bu nedenle yoğun ilgiye maruz kalmıştır. Çok çekici bir kavram olan kırmızı şarabın kanseri önleyebilme ihtimali ile, Fransız Paradoksu adı verilen kavram arasında net bir korelasyon vardır. Bu korelasyon günümüzde fazlasıyla sorgulanmaktadır. En ilginç tarafı da Fransız Paradoksunun gerçekten var olup olmadığı tartışmasıdır.

Özetle, resveratrol 1997 yılından beri kanser, kalp hastalığı, nörodejeneratif patolojiler, yaşlanma, enflamasyon, obezite ve diyabeti de kapsayan birçok hastalıkla ilgili olarak sağlığa faydalı etkileri nedeniyle tavsiye edilen bir moleküldür. Bu hastalıkların birbirleri ile kesin olarak ilişkili oldukları nettir. Bu nedenle obezite, enflamasyon ve yaşlanma üzerindeki pozitif etkileri malign transformasyonu önlemekte de etkili olabilir. Bu bölümde resveratrol ve kanser arasındaki ilişkiyi, tedavide kullanılabilme ihtimalini de göz önünde tutarak değerlendireceğiz.

2 Yerleşik Hücre Dizilerinde Resveratrol Etkisi

Resveratrolun hücrelerdeki aktiviteleri yoğun olarak araştırılmış ve konuyla ilgili yüzlerce çalışma yayınlanmıştır. Çalışmalarda kullanılan hücresel modellerin çoğu malign dokulardan elde edilmiştir. Bu nedenle yapılan bu araştırmaların başlıca eksikleri hem yapay in vitro büyüme ortamlarında gerçekleştirilmeleri hem de kanserin türüne bağlı olarak görülen genetik ve moleküler değişimler nedeniyle spesifik güçlü fenotipik farklılıklar görülmesidir. Buna karşın normal dokulardan elde edilen hücrelerle yapılmış az sayıda analiz mevcuttur.

Majör fenotipik etkileri arasında büyümenin durdurulması (hücre siklusunun farklı fazlarında) [12, 13, 23, 29, 33, 52, 69]; farklılaşmanın indüksiyonu [5, 14, 27, 29, 46, 47, 53, 104]; apoptoz, nekroz ve otofajinin indüksiyonu [1, 35, 55–57, 61, 63, 72, 73, 76, 92, 102]; antienflamatuar aktivite [54, 107]; tümör anjiogeneziyle etkileşim [2, 16, 19, 85] mevcuttur. Bu aktiviteler insandaki malign transformasyonun majör özelliklerini etkiledikleri için kanser tedavisi alanında özel olarak ilgi çekmektedirler [40]. Bazı çalışmalarda resveratrolun etkisini artıran veya engelleyen bazı diğer bileşiklerle (sıklıkla kemoterapötikler) ilişkili olduğu bulunmuştur. Mükemmel bazı incelemelerde resveratrol hakkındaki çok sayıda ex vivo literatür eksikleri nedeniyle eleştirilmiştir. Bu bölümdeki incelemenin amacı bu değildir (96 nolu referans ve aynı makalenin içindeki referanslar). İlginç biçimde molekülün farklı konsantrasyonlardaki etkinliğinin farklı olduğu bazı ça-

lışmalarda bildirilmiştir. Düşük konsantrasyonlarda proliferasyonu indüklerken, daha yüksek konsantrasyonlarda ise antikanser etki göstermiştir [18].

Hücre dizileri ile yapılan çalışmalardan bazı genel sonuçlar çıkarılabilmektedir. Birincisi resveratrolun sahip olduğu çok çeşitli biyolojik aktivitelerin, antioksidan etkileri ile genel olarak bir ilişkisi olmadığıdır. İkincisi etkili konsantrasyonları genel olarak 10-50 μM arasında değişir. Üçüncüsü ise molekülün bu etkileri mevcut konsantrasyonuna göre sıklıkla değişimler gösterir. Resveratrol bundan dolayı, aktivitesinde kullanılan miktarının kritik önem arzettiği hormetik bir bileşik olarak değerlendirilebilir [18]. Bu değişkenlikler in vitro deneyler, klinik ortama uyarlanırken dikkate alınmalıdır.

3 Resveratrol Aktivitesinin Moleküler Temeli

Antikanser bir ajanın etkili dozlarının değerlendirilebilmesi için etki mekanizması hakkındaki bilgimiz tam olmalıdır. Resveratrolun moleküler aktivitesi, son iki dekadda çok fazla sayıda araştırmanın konusu olmuştur.

Resveratrolun pleiotropik doğasına bağlı olarak birçok karmaşık yolakta rol oynadığını belirten çok sayıda veri mevcuttur.

Molekül şunları da içeren çok sayıda transdüksiyon yolağını modüle eder: MAP kinaz [8, 12, 31, 105]; JNK [73, 79, 100], NF-κB [13, 14, 33, 42, 48, 55], AKT/PI3K [38, 39, 69, 98], PKC [7, 60, 75, 80, 86], CD95/TRAIL [26, 35, 56, 77, 78], ve FOXO [23, 85].

Resveratrol, p53 [36, 90, 108]; kaspazlar [3, 21, 64]; sürvivin [6, 41]; Bax, Bcl-2, ve Bcl-xL [68, 70, 92] düzeylerini değiştirerek apoptozu kontrol eder. Bileşik siklooksijenaz [87, 88, 110] ve sitokrom p450'yi [22] inhibe eder; faz II ilaç metabolize edici enzimleri indükler [24, 25, 51]; glutatyon peroksidaz [84], katalaz [34] ve kuinon redüktazı [74] yukarı regüle eder; ornitin dekarboksilazı inhibe eder [95]. Resveratrolun ilginç biçimde katepsin D'yi regüle ettiği [94] ve HIF-α'nın (hipoksi ile indüklenebilir faktör) fonksiyonunu inhibe ettiği de gösterilmiştir [20, 101]. Hif-α faktörleri üzerindeki etkisi (Hif-1α ve Hif-2α) üzerindeki etkisi, bu proteinlerin glukozun internalizasyonunu ve glikolitik metabolizmayı artırarak glukoz metabolizmasını kontrol ediyor olmaları nedeniyle özel olarak önemlidir [81].

Resveratrol ile yaptığımız çalışmalarda, molekülün K562 hücrelerindeki (eritrolökemik hücre dizisi) Egr-1 (erken büyüme cevabı) transkripsiyon faktörünün hücresel miktarını MAP kinaz yolağını aktive edere yukarı regüle ettiğini göstermiştik [30]. Bu da Egr-1'in, sikline bağımlı kinazların bir inhibitörü olan $p21^{Cip1}$'in gen transkripsiyonunu artırmasına neden olmuştur. $p21^{Cip1}$ akümülasyonu resveratrolun antiproliferatif etkisinden ve en azından kısmen de eritroid farklılaşmasının indüksiyonundan sorumludur [30]. Resveratrolun indüklediği $p21^{Cip1}$ akümülasyonu hem bizim tarafımızdan hem de farklı hücre dizisi modellerinde çalışan araştırma grupları tarafından gözlenmiştir. Bu bulgu resveratrolun gen ekspresyonunu ve hücre bölünme döngüsü mekanizmasını spesifik olarak etkilediğini göstermektedir.

Resveratrolun bir diğer mekanizması olan sirtuin üzerindeki etkisi de özel ilgi ve tartışma gerektiren bir konudur. Sirtuinler, proteinleri deasetile eden (NAD'i feda etme pahasına) bir enzim ailesidir. Bu nedenle ya protein deasetilaz ya da mono-riboziltransferaz aktivitesine sahiptirler [37, 109] Sirtuinler bazı türlerdeki yaşam uzamasının desteklenmesinde ve gen transkripsiyonunun, apoptozun, stres rezistansının ve düşük kalori şartlarında enerji harcama kontrolünün modülasyonunda etki gösterirler [58, 103, 109].

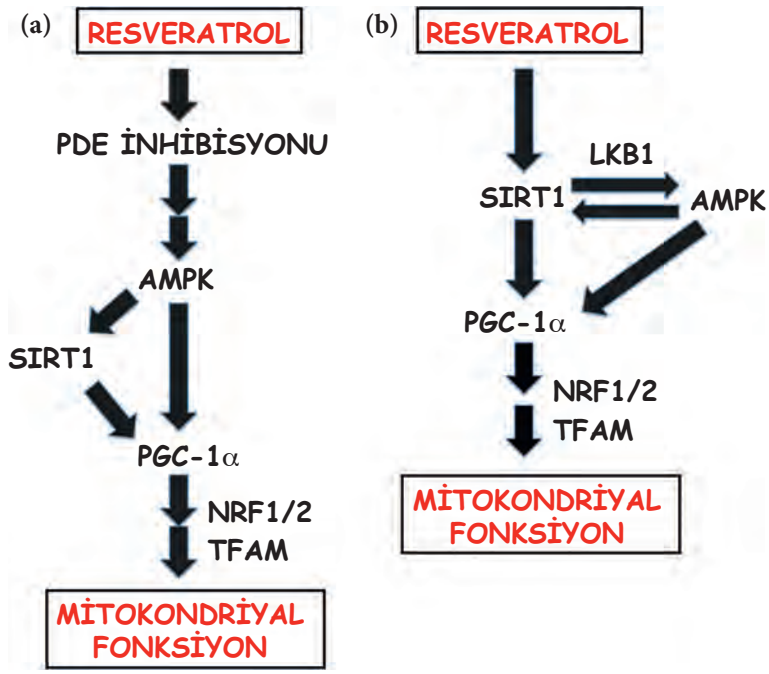
Howitz ve ark. 2003 yılında Sir2 mayasının (memelilerdeki Sirt-1'in homoloğu) doğal ve güçlü bir aktivatörü olan resveratrolun *Saccaromyces cerevisiae*'nin ömrünü uzatabildiğini gösterilmiştir [44]. Resveratrolun yaşam süresini uzatabilme özelliği bir kurtçuk (*Caenorhabditis elegans*) ve meyve sineği (*Drosophila melanogaster*) üzerinde de gösterilmiştir [9].

Sonrasında bu sonuçlardan bazıları sorgulanmış ve resveratrolun yaşlanmayı geciktirici etkisinin muhtemelen var olmadığı sonucuna varılmıştır [59, 67]. Benzer şekilde resveratrolun Sirt-1 üzerindeki in vitro etkisinin, in vivo ortamda mevcut olup olmadığı da bir tartışma konusu olmuştur. [11, 28]. Bu konuda kesin bir sonuca varılamamıştır.

Nütrisyondaki değişimin insan fizyoloji ve patolojisindeki etkilerini ilgilendiren bakış açısıyla bakıldığında, resveratrolun yüksek yağlı diyetle beslenen farelerin performansını kuvvetle düzelttiği bildirilmiştir. Resveratrolun pozitif etkileri Sirt1'e bağımlı deasetilasyon ve PGC-1α'nın aktivasyonu (respiratuar zincir komponentlerini ve mitokondrilerin sayı ve aktivitelerini artırarak oksidatif mekanizmayı aktive eden bir master gen) ile korelasyon göstermektedir [50, 67]. Bu konuyla ilgili çok yakın zamanda yapılan çalışmalar da mevcuttur. Birincisi, resveratrolun primer moleküler aktivitesinin siklik AMP artışına yol açan fosfodiesteraz inhibisyonundan kaynaklandığının gösterilmesidir [65]. Siklik mononükleotidin yukarı regülasyonu, kalori sınırlamasının kontrolünde önemli yeri olan AMP kinazın (AMPK) aktive olmasına yol açan bir dizi reaksiyonu tetiklemektedir. AMPK sonrasında Sirt1 ve PGC-1α'yı regüle eder (Şekil 3a). Bir başka çalışmada da resveratrolun birincil hedeflerinin, (mevcut resveratrol miktarına göre) Sirt1 veya AMPK olduğu bildirilmiştir [71]. Her iki durumda da sonuç olarak PGC-1α aktive olmaktadır (Şekil 3b).

İki çalışmada farklı primer resveratrol hedefleri önerilmiş olmasına rağmen nihai efektörler AMPK ve PGC-1α'dır [65, 71]. Knockout farelerle yapılan çalışmalar mekanizmalarda gözlenen farklılıkların ortamdaki resveratrol miktarına bağlı olup olmadığını netleştirmekte faydalı olabilir. Her iki durumda da, resveratrolun "in vivo" enerji metabolizmasını etkilediğini net olarak gösteren iki çalışma mevcuttur.

2011 yılı sonuna kadar yapılan 50'den fazla çalışmada resveratrolun hayvan modellerinde antikanser bir bileşik olarak farklı kanser türlerindeki etkinliği araştırılmıştır: Cilt kanseri (nonmelanom ve melanom); meme, gastrik, kolorektal, özofagus, prostat ve pankreatik kanserler; hepatom, nöroblastom, fibrosarkom ve lösemi (96 nolu referansta incelenmektedir). Bu preklinik çalışmalarda molekülün kanserin progresyonunu azaltmada, boyutunu küçültmede ve metastazların sayısını azaltmada genel bir pozitif etkiye sahip olduğu bildirilmiştir.



Şekil 3 Resveratrolun enerji metabolizmasındaki etkisi ile ilgili olarak önerilen moleküler mekanizmalar: *Panel a.* Resveratrolun primer hedefi siklik AMP artışına yol açan fosfodiesteraz aktivitesidir. cAMP'nin yukarı regülasyonu AMPK aktivitesini stimüle eder. Bu kinaz SIRT-1 ve PGC-1α'yı bağımsız olarak aktive eder. Ayrıca SIRT-1, PGC-1α'yı da aktive eder. Sonuçta, PGC-1α ilave transkripsiyon faktörleriyle beraber (NRF1/2 ve TFAM) mitokondrial aktiviteyi pozitif yönde modüle eder. *Panel b.* Resveratrolun bu mekanizmadaki primer hedefi SIRT-1'dir. Bu enzimin yukarı regülasyonu hem AMPK hem de PGC-1α'nın aktive olmasına yol açar. AMPK ayrıca PGA-1a'yı da aktive eder. Sonuç olarak PGC-1α ve NRF1/2 ve TFAM mitokondrial aktiviteyi artırırlar.

Preklinik çalışmalarda elde edilen bulgular, resveratrolun kanser tedavisinde kullanımı ile ilgili klinik çalışma ihtiyacı doğurmuştur. Ancak hayvan modellerinde çok sayıda doğal bileşiğin antikanser aktivitesi olmasına rağmen, klinik çalışmalarda elde edilen veriler etkinlik ve toksisite yönünde sıklıkla tatmin edici olmamaktadır.

4 Resveratrolun Farmakokinetiği

Resveratrolun hem in vivo hem de in vitro ortamdaki çok sayıda intraselüler moleküler mekanizmayı ve kompleks biyolojik olayı modüle ettiği tartışmasızdır. Bu doğal polifenolun çok sayıda deneysel kanser modelinde pozitif etkileri görülmüştür. Ancak resveratrolun in vitro ortamdaki konsantrasyonlarına eşdeğer serum seviyelerine ulaşmak

için gereken dozları molekülün potansiyel kullanım alanlarından özellikle diyetle koruma amacıyla alımı hakkında şüpheler doğurmuştur.

Resveratrol insanlarda yapılan deneylerde, en azında kısa süreli ve akut maruziyetlerde iyi tolere edilmiştir. Sekiz gün boyunca günde iki kez 2 gram resveratrol uygulanan sekiz deneğin altısında hafif epizodik diyare/dışkı yumuşaması görülmüştür. Bu semptomlar tipik olarak tedavi periyodunun başlangıcında görülmektedir. Deneklerden birinde döküntü ve baş ağrısı oluşmuştur [49].

Çift kör, randomize, plasebo kontrollü bir çalışmada sağlıklı gönüllülere 975 mg/gün'e kadar resveratrol uygulanmıştır. Her iki gruptan ikişer erişkin deneğe (erkek ve kadın) günde 6 kez 25, 50, 100 ve 150mg resveratrol iki gün süreyle uygulanmıştır. Her iki gruptaki advers olaylar hafif ve benzer düzeyde bulunmuştur [4]. Başka bir çalışmada 19 gönüllüye bir hafta süreyle 270mg resveratrol uygulanması ile herhangi bir rahatsızlık tespit edilmemiştir [99]. Bir başka yayında da sağlık gönüllüler bir hafta süreyle uygulanan resveratrolu iyi tolere etmişlerdir. Ancak deneyin detayları verilmediği için sonuçların analizini yapmak güçtür [32]. Aynı makalede 28 gün süreyle 2.5-5mg arası resveratrol uygulanan bir çalışma daha tanımlanmıştır. Yazarlar advers olayların genel olarak hafif ve reversibl olduğunu belirtmişlerdir. Ancak deneyin detayları yetersizdir [32].

Diğer yandan malignitelerin (ve diğer kronik hastalıkların) önlenmeleri ve/veya tedavileri aylar veya yıllar boyu sürebildiği için resveratrolun uzun süreli tedavisindeki toksisitesi ile ilgili veriler hayati önem taşımaktadır. Maalesef bu tür bir veri şu an için mevcut değildir. Bu nedenle resveratrol gıda takviyesi olarak kullanıldığında rölatif olarak güvenli olan doğal bir ürün olmasına rağmen, uzun süreli etkilerinin belirlenmesi için kesinlikle yeni araştırmalara ihtiyaç vardır.

Açıklığa kavuşturulması gereken önemli konulardan bir tanesi biyoyararlanımı ile terapötik etkinliği arasındaki orandır. Bu kompleks konuya farklı yaklaşımlar getirilebilir. Bir önceki bölümde de anlatıldığı üzere, resveratrolun in vitro etkileri (örn. kök hücreleri üzerindeki) genel olarak 10-50 μM konsantrasyonlarında gözlenmektedir. Ancak bu değerler resveratrolun kültür ortamındaki komponentlerle (örn. proteinler, lipoproteinler ve diğerleri) olan etkileşimini dikkate almadığı için gerçek serbest resveratrolun etkili konsantrasyonları anlamlı olarak az olabilir. Resveratrol insanlara tek doz olarak yaklaşık 25 mg dozunda uygulandığında [4, 82, 83, 97], elde edilen serbest molekül konsantrasyonları 1-5 ng/ml (4-20 nM) bulunmuştur. Daha yüksek doz (5 gr) ile serum resveratrol konsantrasyonları 2.3 μM bulunmuştur [4, 82, 83, 97]. Maksimum plasma tepe konsantrasyonlarına uygulamadan sonraki 30-90 dakika içinde ulaşılmıştır. Bu şartlar altındaki üç ana resveratrol metabolitinin (resveratrol-3-O-sülfat, resveratrol-3-O-glukuronid ve resveratrol-4-O-glukuronid) konsantrasyonları serbest bileşiğin yaklaşık 20 katı seviyesine ulaşmıştır [4, 82, 83, 97]. Resveratrol ve majör metabolitlerinin plazma yarı ömürleri benzer bulunmuştur (2.9-11.5 saat). Doz sonrası 24 saat içinde, idrardaki en yüksek ekskresyon oranları ilk 4 saatlik numunelerde tespit edilmiştir. Resveratrol enterohepatik sirkülasyon ile uyumlu olarak feçeste de eser miktarda tespit edilmiştir [4, 82, 83, 97]. Biyoyararlanım çalışmalarında yüksek doz resveratrol uygulamasından

sonra bile plazmada küçük miktarda serbest moleküle rastlanmıştır. Bu nedenle in vitro biyolojik aktivitelere denk gelen serum değerlerine ulaşabilmek için yüksek resveratrol miktarları gerekmektedir.

Ancak bu metodolojik yaklaşım tedavi stratejisi ve serum seviyelerinin biyolojik etkileri ile direkt olarak korele olmadığı için doğal olarak yetersizdir.

Alternatif bir metodoloji net in vivo etkilerin elde edildiği çalışmalardaki resveratrol dozunun dikkate alınmasıdır. Bu bağlamda Baur ve arkadaşlarının yaptıkları çalışma faydalı olabilir [10]. Araştırmacılar farelere uyguladıkları 22.4 ± 0.4 mg kg^{-1} $gün^{-1}$ dozundaki resveratrol tedavisi ile yaklaşık 110 hafta sonunda anlamlı fenotipik etkiler elde etmişlerdir. Bu değer 70kg'lık bir erkek için yaklaşık 1568 mg'a karşılık gelmektedir. Baur ve Sinclair [9] bazı kırmızı şarapların litresindeki resveratrol konsantrasyonunun 5 mg olduğunu bildirmişlerdir. Bu da yukarıdaki değeri yakalamak için hergün 300 litre şarap tüketimini gerektiren bir konsantrasyondur.

Ancak bu yaklaşım dozun farelerden insanlara uyarlanması sırasında gerekli olan bir parametre olan vücut yüzey alanını (VYA) göz önüne almamıştır. Bu parametrenin eklenmesi ile farelerdeki 22.4 mg kg^{-1} dozu insanlarda 1.82 mg kg^{-1} dozuna denk gelmektedir. Bu da 1568mg'ın 128mg'a düşmesi anlamına gelmektedir. Ancak farelerdeki 5.9 mg kg^{-1} $gün^{-1}$dozunun [50], 70 kg'lık bir erkekteki eşdeğeri olan 33 mg'lık daha düşük dozlar (VYA kullanılarak hesaplanmıştır) ile de koruyucu etkiler gözlenmiştir. 33 mg resveratrolun 6 litre şarapta bulunuyor olması diyette bulunan fitoaleksinin öneminin hala sorgulanmasına neden olmaktadır.

Ancak resveratrolun etkilerinin (en azından bir kısmının) normal diyet şartlarında bile (yaklaşık 0.4 litre şarap $gün^{-1}$, yaklaşık 1.5mg $gün^{-1}$) görülebildiğini düşündüren iki özelliğin daha göz önünde bulundurulması gerekmektedir.

Birincisi diyetteki resveratrolun etkinliğinin saflaştırılmış preparat içeren tablet formuna göre tablet formuna göre daha yüksek olma ihtimali vardır. Gerçekten de gıdalarda bulunan ve resveratrolun ayrıştırılması sürecinde etkileşime giren diğer bileşiklerin (örn. diğer polifenoller) fitoaleksinin katabolizmasını azaltarak serum düzeylerini yükseltebileceği önerilmiştir (gösterilmemiştir) [50]. İkincisi, uzun süreli resveratrol tedavisi (biyoyararlanım özelliklerinden dolayı) serum resveratrol içeriğinde artışa yol açtığı gibi, aynı zamanda molekülün lipofilik olması nedeniyle spesifik bazı hücre kompartmanlarında (örn. hücresel membranlar) veya dokularda birikmesini sağlayabilir.

5 Resveratrol İle Yapılan Klinik Çalışmalar

İnsanlarda yapılan az sayıda çalışmada resveratrolun klinik etkileri değerlendirilmiş olmasına rağmen, mevcut veriler daha ileri çalışmaların planlanabilmesi adına ümit vericidir.

Bin kişilik bir kohort ile yapılan çok güncel bir çalışmada diyetle resveratrol tüketimi ile çeşitli kardiyak risk parametrelerde düzelme arasında direkt bir korelasyon

gösterilmiştir. Resveratrol alımı resveratrolun kendisinin ve metabolitlerinin idrardaki düzeylerinin tespit edilmesi ile değerlendirilmiştir [106]. 75 kişi ile yapılan bir başka çalışmada da denekler plasebo, üzüm ekstresi ve düşük miktarda resveratrol ile zenginleştirilmiş üzüm ekstresi uygulanan 3 gruba ayrılmıştır. Yazarlar 1 yıllık tedavi sonucunda, sadece resveratrol kullanan gruptaki birçok kardiyak risk faktörlerinin (C-reaktif protein, tümör nekroz faktörü-α, gök plazminojen aktivatör inhibitörü tip 1, interlökin-6 / interlökin-10 oranı) anlamlı olarak azaldığını öne sürmüşlerdir [93]. Cell Metabolism'de (Hücre Metabolizması) yayınlanan pivot çalışmada 30 gün süre ile 150 mg/gün resveratrol ile tedavi edilen 11 obez hastadaki çeşitli parametrelerin (örn. intramiyoselüler lipid düzeylerinde artma, intrahepatik lipid, dolaşımdaki glukoz, trigliserid, alaninaminotransferaz ve enflamasyon markerlerinde azalma) pozitif anlamda güçlü bir şekilde etkilendiği ve kaslardaki AMPK, SIRT-1 ve PGC-1alfa'nın biyokimyasal yukarı regülasyonlarını indüklendiği belirtilmiştir. Bulgular hayvan modellerinde bildirilen gözlemler ile benzer bulunmuştur [91]. Yazarlar insanlardaki tedavide kullanılan resveratrol konsantrasyonunun farelerde kullanılandan 400 kat daha az olduğunu vurgulamışlardır.

Bu üç çalışmada [91, 93, 106] resveratrolun karsinogenez için de önemli olan metabolik parametreleri etkilediği önerilmiştir (kesinlikle ispat edilememiştir).

Diğer iki ilginç çalışmada Cancer Research'de (Kanser Araştırmaları) 2010 yılında yayınlanmıştır. Bu araştırmalarda resveratrolun toksisite ve metabolizması ile hem normal hem de malign kolon dokusundaki akümülasyonu değerlendirilmiştir [17, 66]. Çalışmalarda yüksek resveratrol dozları kısa süreler ile uygulanmıştır. Çalışmalardan birinin sonuçlarında resveratrolun çok düşük toksisiteye sahip olduğu ve IGF-1 düzeylerini negatif etkileyebilen konsantrasyonlara ulaşabileceği gösterilmiştir [17]. IGF-1 düzeylerinin azaltılmasının antikanser aktivitenin önemli bir parametresi olduğu düşünülmektedir. İkinci araştırmada ise kolon kanseri olan hastalara, tümörün çıkarılmasından 7 gün önce resveratrol uygulanmıştır. Sonuçlarda malign hücrelerin proliferasyonlarında kısıtlı da olsa net bir azalma görülmüştür. Ayrıca resveratrol kolon dokusunda 20-200 μM arasındaki konsantrasyonlarda akümüle olmuştur [66].

Yukarıda belirtilen çalışmalara ek olarak, diyet veya takviye olarak uygulanan resveratrolun değerlendirildiği çeşitli klinik araştırmalar henüz (farklı aşamalarda) sürmektedir. www.clinicaltrials.gov adresinde anahtar kelime olarak "resveratrol" kullanılarak yapılan bir aramada farklı aşamalarda 53 çalışma bulunmuştur (4 Ekim 2012). Daha spesifik olmak gerekirse, aktif olan ancak henüz hasta kaydetmeyen 7 çalışma, aktif olan ve hasta kaydeden 18 çalışma, tamamlanan 21 çalışma, erken sonlandırılan 2 çalışma, statüsü bilinmeyen 2 çalışma (örn. bilgilerin son zamanlarda güncellenmediği çalışmalar) ve geri çekilen 1 çalışma mevcuttur. Bu araştırmaların çoğunda, molekülün tip 2 diyabet, obezite ve kardiyovasküler hastalıklar üzerindeki etkileri incelenmektedir.

Resveratrolun kanser gelişimi üzerindeki etkisini direkt olarak araştıran 8 çalışma mevcuttur. Tamamlanan altı çalışmadan, dört tanesinin sonuçları yayınlanmıştır [15, 43, 62, 66]. Bir çalışmaya hala hasta kaydı yapılmaktadır. Sonuncusunun statüsü ise bilinmemektedir.

Çalışmaların çoğu (dört) resveratrolun kolon kanserindeki etkisini araştırmaya odaklanmıştır. Bir tanesi de molekülün kanserlerin gelişimindeki aktivitesini analiz etmektedir. Kalan 3 çalışma resveratrolun gastrointestinal kanser, foliküler lenfoma ve multipl myelom (resveratrol ile bortezomib arasında bir ilişkiyi kullanarak) üzerindeki etkilerini araştırmaya odaklanmıştır. Ancak bu çalışmaların sonuçları henüz açıklanmamıştır. Yayınlanmış çalışmalara [15, 43, 62, 66] bakılarak yapılabilecek genel çıkarım resveratrolun kanserin önlenmesindeki pozitif özelliklerinin netleşebilmesi için daha ileri çalışmalara ihtiyaç olduğudur. Bu çalışmaların dizaynlarında büyük farklılıklar mevcuttur (örn. resveratrolun dozaj ve formülasyonu, çalışmanın uzunluğu gibi). Çalışmalarda sağlıklı erişkinlerde 5 grama varan dozlar kullanılmıştır.

Resveratrol ile yapılan araştırmalar ile ilgili başlıca kısıtlama ve eleştiri konusu olan nokta resveratrolun sağlık üzerindeki uzun süreli etkilerini araştıran çalışmaların mevcut olmamasıdır. Danimarka Stratejik Araştırma Konseyinin metabolik sendrom, osteoporoz ve kronik enflamasyon tedavisinde resveratrolun etkilerini araştıracak dört yıllık bir çalışma için 3.4 milyon $ sağlayacak olması son zamanlarda açıklanan önemli bir gelişmedir. Dönüm noktası olacak bu çalışmanın ana amacı aşırı vücut ağırlığının (özellikle obezitenin) sağlığa zararlı etkilerinin, resveratrolun diyet takviyesi olarak kullanımı ile nötralize edilebileceğinin gösterilmesidir. Test edilecek etkiler arasında sıklıkla tip 2 diyabet, nonalkolik yağlı karaciğer hastalığı, osteoporoz ve kanser ile sıklıkla ilişkili olan düşük dereceli enflamasyon vardır.

Özet olarak resveratrolun diyetin bir parçası veya diyet takviyesi olarak kullanımı ile ortaya çıkan önleyici ve terapötik etkilerinin ispat edilebilmesi için yeni kontrollü klinik çalışmalara ihtiyaç vardır.

6 Sonuçlar ve Perspektifler

Resveratrol ile insanlarda yapılan klinik çalışmalardan elde edilmeye başlanan veriler, in vitro ve hayvan modellerinde tespit edilen pozitif etkilerin, potansiyel koruyucu veya tedavi edici etkiler yönünden ciddiyetle ele alınmasını gerektirmektedir. Aslında molekülün hücre büyüme ortamında fenotipik etkiler gösterebilmesi için gereken miktarlarının, gerçekte ulaşılabilen serum düzeyleri ile karşılaştırılması oldukça basit görünmektedir.

Gerçekten de son zamanlarda elde edilen veriler, bir yıl süre ile kullanılan çok düşük resveratrol dozlarının (günde iki kez 8 mg) bile birçok kardiyak risk faktörünü azalttığını göstermektedir [93]. 8 mg resveratrol sadece şarap tüketimi (kullanılan şaraba göre 1-3 litreye denk gelmektedir) ile ulaşmak için hala çok yüksek bir doz olabilir. Ancak resveratrolun çeşitli gıdalarda da mevcut olduğu göz önüne alındığında aşırı yüksek bir değer olmadığı görülecektir. Diğer taraftan molekülün çok düşük toksisitesi, kronik hastalıkların önlenmesinde veya tedavisinde kullanılması konusunun ciddi olarak değerlendirilmesi gereksinimini doğurmaktadır.

Ancak resveratrol takviyesi ile elde edilen faydaların uzun süreli kullanımda da devam ederek kronik hastalıkların ortaya çıkmasını engelleyip engelleyemeyeceği bilinmemektedir. Ayrıca az sayıda klinik araştırma var olan binlerce basit bilimsel deneyle karşılaştırıldığında çok yetersiz kalmaktadır.

Sonuç olarak resveratrolun insanlardaki geniş kullanım potansiyelini değerlendirebilmek için insanlarda her tür olası yanıtı araştıran çalışmaların devam etmesi gerektiği aşikardır. Gelecekte yapılacak çalışmalar şunları hedeflemelidir:

1. Hem biyoyararlanım hem de etkinlik yönünden farklı resveratrol dozlarının ve/veya formülasyonlarının araştırılması.
2. Resveratrolun olası bir tedavi alternatifi olarak etkinliğinin belirli tedaviler ve sonuçları ile karşılaştırılması. Resveratrol bazı kronik hastalıkların (tip 2 diyabet, obezite, metabolik sendrom, kardiyovasküler hastalıklar ve nörodejeneratif patolojiler) önlenmesi ve tedavisinde ciddi bir alternatif olarak değerlendirilebilir. Bu amaçla sadece çok sayıdaki bağımsız çalışmaların sonuçlar dikkate alınmalıdır.
3. Uzun süreli resveratrol takviyesinin etkilerinin araştırılması.
4. Resveratrolun metabolitlerinin aktivitelerinin tespit edilmesi.
5. Resveratrolun diğer terapilerle aditif veya sinerjistik etkisi olup olmadığının belirlenmesi.
6. Genetik faktörlerin, biyoyararlanım ve bireylerin resveratrola verdikleri farklı yanıtlar ile ilişkisinin tespit edilmesi.
7. Resveratrol takviyesi için yeni stratejilerin geliştirilmesi.

Referanslar

1. Ahmad KA, Clement MV, Hanif IM et al (2004) Resveratrol inhibits drug-induced apoptosis in human leukemia cells by creating an intracellular milieu nonpermissive for death execution. Cancer Res 64:1452–1459
2. Alex D, Leong EC, Zhang ZJ et al (2010) Resveratrol derivative, trans-3,5,49-trimethoxystilbene, exerts antiangiogenic and vascular disrupting effects in zebrafish through the downregulation of VEGFR2 and cell cycle modulation. J Cell Biochem 109:339–346
3. Alkhalaf M, El-Mowafy A, Renno W et al (2008) Resveratrol-induced apoptosis in human breast cancer cells is mediated primarily through the caspase-3-dependent pathway. Arch Med Res 39:162–168
4. Almeida L, Vaz-da-Silva M, Falcao A et al (2009) Pharmacokinetic and safety profile of trans-resveratrol in a rising multiple-dose study in healthy volunteers. Mol Nutr Food Res 53:7–15
5. Asou H, Koshizuka K, Kyo T et al (2002) Resveratrol a natural product derived from grapes, is a new inducer of differentiation in human myeloid leukemias. Int J Hematol 75:528–533
6. Aziz MH, Afaq F, Ahmad N (2005) Prevention of ultraviolet-B radiation damage by resveratrol in mouse skin is mediated via modulation in survivin. Photochem Photobiol 81:25–31
7. Aziz MH, Nihal M, Fu VX et al (2006) Resveratrol-caused apoptosis of human prostate carcinoma LNCaP cells is mediated via modulation of phosphatidylinositol 3'-kinase/Akt pathway and Bcl-2 family proteins. Mol Cancer Ther 5:1335–1341
8. Banerjee Mustafi S, Chakraborty PK, Raha S (2010) Modulation of Akt and ERK1/2 pathways by resveratrol in chronic myelogenous leukemia (CML) cells results in the downregulation of Hsp70. PLoS ONE 5:e8719
9. Baur JA, Sinclair DA (2006) Therapeutic potential of resveratrol: the in vivo evidence. Nat Rev Drug Discov 5:493–506

10. Baur JA, Pearson KJ, Price NL et al (2006) Resveratrol improves health and survival of mice on a high-calorie diet. Nature 444:337–342
11. Beher D, Wu J, Cumine S et al (2009) Resveratrol is not a direct activator of SIRT1 enzyme activity. Chem Biol Drug Des 74:619–624
12. Bhardwaj A, Sethi G, Vadhan-Raj S et al (2004) Isorhapontigenin and resveratrol suppress oxLDL-induced proliferation and activation of ERK1/2 mitogen-activated protein kinases of bovine aortic smooth muscle cells. Biochem Pharmacol 67:777–785
13. Bhardwaj A, Sethi G, Vadhan-Raj S et al (2007) Resveratrol inhibits proliferation, induces apoptosis, and overcomes chemoresistance through down-regulation of STAT3 and nuclear factor-kappaB regulated antiapoptotic and cell survival gene products in human multiple myeloma cells. Blood 109:2293–2302
14. Boissy P, Andersen TL, Abdallah BM et al (2005) Resveratrol inhibits myeloma cell growth, prevents osteoclast formation, and promotes osteoblast differentiation. Cancer Res 65:9943–9952
15. Boocock DJ, Faust GE, Patel KR (2007) Phase I dose escalation pharmacokinetic study in healthy volunteers of resveratrol, a potential cancer chemopreventive agent. Canc Epidemiol Biomarkers Prev 16:1246–1252
16. Bråkenhielm E, Cao R, Cao Y (2001) Suppression of angiogenesis, tumor growth, and wound healing by resveratrol, a natural compound in red wine and grapes. FASEB J 15:1798–1800
17. Brown VA, Patel KR, Viskaduraki M et al (2010) Repeat dose study of the cancer chemopreventive agent resveratrol in healthy volunteers: safety, pharmacokinetics, and effect on the insulin-like growth factor axis. Cancer Res 70:9003–9011
18. Calabrese EJ, Mattson MP, Calabrese V (2010) Resveratrol commonly displays hormesis: occurrence and biomedical significance. Hum Exp Toxicol 29:980–1015
19. Cao Y, Fu ZD, Wang F et al (2005) Anti-angiogenic activity of resveratrol, a natural compound from medicinal plants. J Asian Nat Prod Res 7:205–213
20. Cao Z, Fang J, Xia C et al (2004) trans-3,4,5'-Trihydroxystilbene inhibits hypoxia-inducible factor 1alpha and vascular endothelial growth factor expression in human ovarian cancer cells. Clin Cancer Res 10:5253–5263
21. Chan JY, Phoo MS, Clement MV et al (2008) Resveratrol displays converse dose-related effects on 5-fluorouracil-evoked colon cancer cell apoptosis: the roles of caspase-6 and p53. Cancer Biol Ther 7:1305–1312
22. Chan WK, Delucchi AB (2000) Resveratrol, a red wine constituent, is a mechanism-based inactivator of cytochrome P450 3A4. Life Sci 67:3103–3012
23. Chen Q, Ganapathy S, Singh KP et al (2010) Resveratrol induces growth arrest and apoptosis through activation of FOXO transcription factors in prostate cancer cells. PLoS ONE 5:e15288
24. Chen ZH, Hurh YJ, Na HK et al (2004) Resveratrol inhibits TCDD-induced expression of CYP1A1 and CYP1B1 and catechol estrogen-mediated oxidative DNA damage in cultured human mammary epithelial cells. Carcinogenesis 25:2005–2013
25. Ciolino HP, Daschner PJ, Yeh GC (1998) Resveratrol inhibits transcription of CYP1A1 in vitro by preventing activation of the aryl hydrocarbon receptor. Cancer Res 58:5707–5712
26. Clément MV, Hirpara JL, Chawdhury SH et al (1998) Chemopreventive agent resveratrol, a natural product derived from grapes, triggers CD95 signaling-dependent apoptosis in human tumor cells. Blood 92:996–1002
27. Cucciolla V, Borriello A, Oliva A et al (2007) Resveratrol: from basic science to the clinic. Cell Cycle 6:2495–2510
28. Dai H, Kustigian L, Carney D et al (2010) SIRT1 activation by small molecules: kinetic and biophysical evidence for direct interaction of enzyme and activator. J Biol Chem 285:32695–32703

29. Della Ragione F, Cucciolla V, Borriello A et al (1998) Resveratrol arrests the cell division cycle at S/G2 phase transition. Biochem Biophys Res Commun 250:53–58
30. Della Ragione F, Cucciolla V, Criniti V et al (2003) p21Cip1 gene expression is modulated by Egr1: a novel regulatory mechanism involved in the resveratrol antiproliferative effect. J Biol Chem 278:23360–23368
31. El-Mowafy AM, White RE (1999) Resveratrol inhibits MAPK activity and nuclear translocation in coronary artery smooth muscle: reversal of endothelin-1 stimulatory effects. FEBS Lett 451:63–67
32. Elliott PJ, Walpole S, Morelli L et al (2009) Resveratrol/SRT501. Sirtuin SIRT1 activator, Treatment of type 2 diabetes. Drugs Fut 34:291–295
33. Estrov Z, Shishodia S, Faderl S et al (2003) Resveratrol blocks interleukin-1beta-induced activation of the nuclear transcription factor NF-kappaB, inhibits proliferation, causes S-phase arrest, and induces apoptosis of acute myeloid leukemia cells. Blood 102:987–995
34. Floreani M, Napoli E, Quintieri L et al (2003) Oral administration of trans-resveratrol to guinea pigs increases cardiac DT-diaphorase and catalase activities, and protects isolated atria from menadione toxicity. Life Sci 72:2741–2750
35. Fulda S, Debatin KM (2005) Resveratrol-mediated sensitisation to TRAIL-induced apoptosis depends on death receptor and mitochondrial signalling. Eur J Cancer 41:786–798
36. George J, Singh M, Srivastava AK et al (2011) Resveratrol and black tea polyphenol combination synergistically suppress mouse skin tumors growth by inhibition of activated MAPKs and p53. PLoS ONE 6:e23395
37. Guarente L (1999) Diverse and dynamic functions of the Sir silencing complex. Nat Genet 23:281–285
38. Haider UG, Roos TU, Kontaridis MI et al (2005) Resveratrol inhibits angiotensin II- and epidermal growth factor-mediated Akt activation: role of Gab1 and Shp2. Mol Pharmacol 68:41–48
39. Haider UG, Sorescu D, Griendling KK et al (2002) Resveratrol suppresses angiotensin II-induced Akt/protein kinase B and p70 S6 kinase phosphorylation and subsequent hypertrophy in rat aortic smooth muscle cells. Mol Pharmacol 62:772–777
40. Hanahan D, Weinberg RA (2011) Hallmarks of cancer: the next generation. Cell 144:646–674
41. Hayashibara T, Yamada Y, Nakayama S et al (2002) Resveratrol induces downregulation in survivin expression and apoptosis in HTLV-1-infected cell lines: a prospective agent for adult T cell leukemia chemotherapy. Nutr Cancer 44:193–201
42. Holmes-McNary M, Baldwin AS Jr (2000) Chemopreventive properties of trans-resveratrol are associated with inhibition of activation of the IkappaB kinase. Cancer Res 60:3477–3483
43. Howells LM, Berry DP, Elliott PJ et al (2011) Phase I randomised double-blind pilot study of micronized resveratrol (SRT501) in patients with hepatic metastases—safety, pharmacokinetics and pharmacodynamics. Cancer Prev Res (Phila) 4:1419–1425
44. Howitz KT, Bitterman KJ, Cohen HY et al (2003) Small molecule activators of sirtuins extend Saccharomyces cerevisiae lifespan. Nature 425:191–196
45. Jang M, Cai L, Udeani GO et al (1997) Cancer chemopreventive activity of resveratrol, a natural product derived from grapes. Science 275:218–222
46. Kaminski J, Lançon A, Aires V et al (2012) Resveratrol initiates differentiation of mouse skeletal muscle-derived C2C12 myoblasts. Biochem Pharmacol pii S0006–2952(12):00579–5. doi:10.1016/j.bcp.2012.08.023
47. Ko YC, Chang CL, Chien HF et al (2011) Resveratrol enhances the expression of death receptor Fas/CD95 and induces differentiation and apoptosis in anaplastic large-cell lymphoma cells. Cancer Lett 309:46–53
48. Kundu JK, Shin YK, Kim SH et al (2006) Resveratrol inhibits phorbol ester-induced expression of COX-2 and activation of NF-kappaB in mouse skin by blocking IkappaB kinase activity. Carcinogenesis 27:1465–1474

49. la Porte C, Voduc N, Zhang G et al (2010) Steady-State pharmacokinetics and tolerability of trans-resveratrol 2000 mg twice daily with food, quercetin and alcohol (ethanol) in healthy human subjects. Clin Pharmacokinet 49:449–454
50. Lagouge M, Argmann C, Gerhart-Hines Z et al (2006) Resveratrol improves mitochondrial function and protects against metabolic disease by activating SIRT1 and PGC-1alpha. Cell 127:1109–1122
51. Lee JE, Safe S (2001) Involvement of a post-transcriptional mechanism in the inhibition of CYP1A1 expression by resveratrol in breast cancer cells. Biochem Pharmacol 62:1113–1124
52. Lee MH, Choi BY, Kundu JK et al (2009) Resveratrol suppresses growth of human ovarian cancer cells in culture and in a murine xenograft model: eukaryotic elongation factor 1A2 as a potential target. Cancer Res 69:7449–7458
53. Leong CW, Wong CH, Lao SC et al (2007) Effect of resveratrol on proliferation and differentiation of embryonic cardiomyoblasts. Biochem Biophys Res Commun 360:173–180
54. Li F, Gong Q, Dong H et al (2012) Resveratrol, a neuroprotective supplement for Alzheimer's disease. Curr Pharm Des 18:27–33
55. Lin HY, Tang HY, Keating T et al (2008) Resveratrol is pro-apoptotic and thyroid hormone is anti-apoptotic in glioma cells: both actions are integrin and ERK mediated. Carcinogenesis 29:62–69
56. Mader I, Wabitsch M, Debatin KM et al (2010) Identification of a novel proapoptotic function of resveratrol in fat cells: SIRT1—independent sensitization to TRAIL-induced apoptosis. FASEB J 24:1997–2009
57. Manna SK, Mukhopadhyay A, Aggarwal BB (2000) Resveratrol suppresses TNF-induced activation of nuclear transcription factors NF-kappa B, activator protein-1, and apoptosis: potential role of reactive oxygen intermediates and lipid peroxidation. J Immunol 164:6509–6519
58. Michan S, Sinclair D (2007) Sirtuins in mammals: insights into their biological function. Biochem J 404:1–13
59. Miller RA, Harrison DE, Astle CM et al (2011) Rapamycin, but not resveratrol or simvastatin, extends life span of genetically heterogeneous mice. J Gerontol A Biol Sci Med Sci 66:191–201
60. Mohan J, Gandhi AA, Bhavya BC et al (2006) Caspase-2 triggers Bax-Bak-dependent and -independent cell death in colon cancer cells treated with resveratrol. J Biol Chem 281:17599–17611
61. Morselli E, Mariño G, Bennetzen MV et al (2011) Spermidine and resveratrol induce autophagy by distinct pathways converging on the acetylproteome. J Cell Biol 192:615–629
62. Nguyen AV, Martinez M, Stamos MJ et al (2009) Results of a phase I pilot clinical trial examining the effect of plant-derived resveratrol and grape powder on Wnt pathway target gene expression in colonic mucosa and colon cancer. Canc Manag Res 1:25–37
63. Opipari AW Jr, Tan L, Boitano AE et al (2004) Resveratrol-induced autophagocytosis in ovarian cancer cells. Cancer Res 64:696–703
64. Park JW, Choi YJ, Suh SI et al (2001) Bcl-2 overexpression attenuates resveratrol-induced apoptosis in U937 cells by inhibition of caspase-3 activity. Carcinogenesis 22:1633–1639
65. Park SJ, Ahmad F, Philp A et al (2012) Resveratrol ameliorates aging-related metabolic phenotypes by inhibiting cAMP Phosphodiesterases. Cell 148:421–433
66. Patel KR, Brown VA, Jones DJ et al (2010) Clinical pharmacology of resveratrol and its metabolites in colorectal cancer patients. Cancer Res 70:7392–7399
67. Pearson KJ, Baur JA, Lewis KN et al (2008) Resveratrol delays age-related deterioration and mimics transcriptional aspects of dietary restriction without extending life span. Cell Metab 8:157–168
68. Pöhland T, Wagner S, Mahyar-Roemer M et al (2006) Bax and Bak are the critical complementary effectors of colorectal cancer cell apoptosis by chemopreventive resveratrol. Anticancer Drugs 17:471–478

69. Pozo-Guisado E, Lorenzo-Benayas MJ, Fernández-Salguero PM (2004) Resveratrol modulates the phosphoinositide 3-kinase pathway through an estrogen receptor alpha-dependent mechanism: relevance in cell proliferation. Int J Cancer 109:167–173
70. Pozo-Guisado E, Merino JM, Mulero-Navarro S et al (2005) Resveratrol-induced apoptosis in MCF-7 human breast cancer cells involves a caspase-independent mechanism with downregulation of Bcl-2 and NF-kappaB. Int J Cancer 115:74–84
71. Price NL, Gomes AP, Ling AJ et al (2012) SIRT1 is required for AMPK activation and the beneficial effects of resveratrol on mitochondrial function. Cell Metab 15:675–690
72. Puissant A, Auberger P (2010) AMPK- and p62/SQSTM1-dependent autophagy mediate Resveratrol-induced cell death in chronic myelogenous leukemia. Autophagy 6:655–657
73. Puissant A, Robert G, Fenouille N et al (2010) Resveratrol promotes autophagic cell death in chronic myelogenous leukemia cells via JNK-mediated p62/SQSTM1 expression and AMPK activation. Cancer Res 70:1042–1052
74. Reybier K, Perio P, Ferry G et al (2011) Insights into the redox cycle of human quinone reductase 2. Free Radic Res 45:1184–1195
75. Roy P, Kalra N, Prasad S et al (2009) Chemopreventive potential of resveratrol in mouse skin tumors through regulation of mitochondrial and PI3 K/AKT signaling pathways. Pharm Res 26:211–217
76. Scarlatti F, Maffei R, Beau I et al (2008) Role of non-canonical Beclin 1-independent autophagy in cell death induced by resveratrol in human breast cancer cells. Cell Death Differ 8:1318–1329
77. Shankar S, Chen Q, Siddiqui I et al (2007) Sensitization of TRAIL-resistant LNCaP cells by resveratrol (3, 49, 5 tri-hydroxystilbene): molecular mechanisms and therapeutic potential. J Mol Signal 2:7
78. Shankar S, Siddiqui I, Srivastava RK (2007) Molecular mechanisms of resveratrol (3,4,5-trihydroxy-trans-stilbene) and its interaction with TNF-related apoptosis inducing ligand (TRAIL) in androgen-insensitive prostate cancer cells. Mol Cell Biochem 304:273–285
79. She QB, Huang C, Zhang Y et al (2002) Involvement of c-jun NH(2)-terminal kinases in resveratrol-induced activation of p53 and apoptosis. Mol Carcinog 33:244–250
80. Shih A, Zhang S, Cao HJ et al (2004) Inhibitory effect of epidermal growth factor on resveratrol-induced apoptosis in prostate cancer cells is mediated by protein kinase C-alpha. Mol Cancer Ther 3:1355–1364
81. Smith TG, Robbins PA, Ratcliffe PJ (2008) The human side of hypoxia-inducible factor. Br J Haematol 141:325–334
82. Soleas GJ, Yan J, Goldberg DM (2001) Measurement of trans-resveratrol, (1)-catechin, and quercetin in rat and human blood and urine by gas chromatography with mass selective detection. Methods Enzymol 335:130–145
83. Soleas GJ, Yan J, Goldberg DM (2001) Ultrasensitive assay for three polyphenols (catechin, quercetin and resveratrol) and their conjugates in biological fluids utilizing gas chromatography with mass selective detection. J Chromatogr B Biomed Sci Appl 757:161–172
84. Spanier G, Xu H, Xia N et al (2009) Resveratrol reduces endothelial oxidative stress by modulating the gene expression of superoxide dismutase 1 (SOD1), glutathione peroxidase 1 (GPx1) and NADPH oxidase subunit (Nox4). J Physiol Pharmacol 60:111–116
85. Srivastava RK, Unterman TG, Shankar S (2010) FOXO transcription factors and VEGF neutralizing antibody enhance antiangiogenic effects of resveratrol. Mol Cell Biochem 337:201–212
86. Stewart JR, Christman KL, O'Brian CA (2000) Effects of resveratrol on the autophosphorylation of phorbol ester-responsive protein kinases: inhibition of protein kinase D but not protein kinase C isozyme autophosphorylation. Biochem Pharmacol 60:1355–1359

87. Subbaramaiah K, Chung WJ, Michaluart P et al (1998) Resveratrol inhibits cyclooxygenase-2 transcription and activity in phorbol ester-treated human mammary epithelial cells. J Biol Chem 273:21875–21882
88. Szewczuk LM, Forti L, Stivala LA et al (2004) Resveratrol is a peroxidase-mediated inactivator of COX-1 but not COX-2: a mechanistic approach to the design of COX-1 selective agents. J Biol Chem 279:22727–22737
89. Takaoka M (1939) Resveratrol, a new phenolic compound, from Veratrum grandiflorum. Nippon Kagaku Kaishi 60:1090–1100
90. Tang HY, Shih A, Cao HJ et al (2006) Resveratrol-induced cyclooxygenase-2 facilitates p53-dependent apoptosis in human breast cancer cells. Mol Cancer Ther 5:2034–2042
91. Timmers S, Konings E, Bilet L et al (2011) Calorie restriction-like effects of 30 days of resveratrol supplementation on energy metabolism and metabolic profile in obese humans. Cell Metab 14:612–622
92. Tinhofer I, Bernhard D, Senfter M et al (2001) Resveratrol, a tumor-suppressive compound from grapes, induces apoptosis via a novel mitochondrial pathway controlled by Bcl-2. FASEB J 15:1613–1615
93. Tomé-Carneiro J, Gonzálvez M, Larrosa M et al (2012) One-year consumption of a grape nutraceutical containing resveratrol improves the inflammatory and fibrinolytic status of patients in primary prevention of cardiovascular disease. Am J Cardiol 110:356–363
94. Trincheri NF, Nicotra G, Follo C et al (2007) Resveratrol induces cell death in colorectal cancer cells by a novel pathway involving lysosomal cathepsin D. Carcinogenesis 28:922–931
95. Ulrich S, Huwiler A, Loitsch S et al (2007) De novo ceramide biosynthesis is associated with resveratrol-induced inhibition of ornithine decarboxylase activity. Biochem Pharmacol 74:281–289
96. Vang O, Ahmad N, Baile CA et al (2011) What is new for an old molecule? Systematic review and recommendations on the use of resveratrol. PLoS ONE 6:e19881
97. Walle T, Hsieh F, DeLegge MH et al (2004) High absorption but very low bioavailability of oral resveratrol in humans. Drug Metab Dispos 32:1377–1382
98. Wang Y, Romigh T, He X et al (2010) Resveratrol regulates the PTEN/AKT pathway through androgen receptor dependent and -independent mechanisms in prostate cancer cell lines. Hum Mol Genet 19:4319–4329
99. Wong RH, Howe PR, Buckley JD et al (2011) Acute resveratrol supplementation improves flow-mediated dilatation in overweight/obese individuals with mildly elevated blood pressure. Nutr Metab Cardiovasc Dis 21:851–856
100. Woo JH, Lim JH, Kim YH et al (2004) Resveratrol inhibits phorbol myristate acetate-induced matrix metalloproteinase-9 expression by inhibiting JNK and PKC delta signal transduction. Oncogene 23:1845–1853
101. Wu H, Liang X, Fang Y et al (2008) Resveratrol inhibits hypoxia-induced metastasis potential enhancement by restricting hypoxia-induced factor-1 alpha expression in colon carcinoma cells. Biomed Pharmacother 62:613–621
102. Wu Y, Li X, Zhu JX et al (2011) Resveratrol-activated AMPK/SIRT1/autophagy in cellular models of Parkinson's disease. Neurosignals 19:163–174
103. Yamamoto H, Schoonjans K, Auwerx J (2007) Sirtuin functions in health and disease. Mol Endocrinol 21:1745–1755
104. Yu LJ, Wu ML, Li H et al (2008) Inhibition of STAT3 expression and signaling in resveratrol-differentiated medulloblastoma cells. Neoplasia 10:736–744
105. Yu R, Hebbar V, Kim DW et al (2001) Resveratrol inhibits phorbol ester and UV-induced activator protein 1 activation by interfering with mitogen-activated protein kinase pathways. Mol Pharmacol 60:217–224
106. Zamora-Ros R, Urpi-Sarda M, Lamuela-Raventós RM et al (2012) High urinary levels of resveratrol metabolites are associated with a reduction in the prevalence of cardiovascular risk factors in high-risk patients. Pharmacol Res 65:615–620

107. Zhang F, Liu J, Shi JS (2010) Anti-inflammatory activities of resveratrol in the brain: role of resveratrol in microglial activation. Eur J Pharmacol 636:1–7
108. Zhang S, Cao HJ, Davis FB et al (2004) Oestrogen inhibits resveratrol-induced post-translational modification of p53 and apoptosis in breast cancer cells. Br J Cancer 91:178–185
109. Zhao K, Harshaw R, Chai X et al (2004) Structural basis for nicotinamide cleavage and ADP-ribose transfer by NAD + -dependent Sir2 histone/protein deacetylases. Proc Natl Acad Sci USA 101:8563–8568
110. Zykova TA, Zhu F, Zhai X et al (2008) Resveratrol directly targets COX-2 to inhibit carcinogenesis. Mol Carcinog 47:797–805

Kuersetin: Kansere Karşı Pleiotropik Kinaz İnhibitörü

Gian Luigi Russo, Maria Russo, Carmela Spagnuolo, Idolo Tedesco, Stefania Bilotto, Roberta Iannitti ve Rosanna Palumbo

Özet

Kanser riskinin anlamlı olarak azaltılması için meyve ve sebze tüketiminin artırılması kolay bir strateji olabilir. Çoğunlukla epidemiyolojik verilerden kaynaklanan bu gözlemden yola çıkan yeni kemoprevensiyon alanı kansere karşı primer ve sekonder korumayı amaçlamaktadır. Kemoprevensiyon tümörijenezi erken evrelerinde durdurabilen, geriye çevirebilen veya geciktirebilen doğal veya sentetik bileşiklerin kullanılması olarak tanımlanmaktadır. Çok sayıda fitokimyasalın kanser hücrelerinin proliferasyonunu regüle eden birçok önemli faktörü eş zamanlı olarak inhibe veya modüle etme potansiyelleri vardır. Kuersetin potansiyel kemopreventif özelliği olan bir flavonoiddir. Multipl intraselüler hedefleri olan fonksiyonel pleiotropik bir moleküldür. Kanser hücrelerinde genel olarak değişmiş olan farklı hücre sinyal proseslerini (normal hücreler üzerinde minimum toksik etki ile) etkiler. Multipl yolakların aynı anda hedeflenmesi malign hücrelerin öldürülmesine ve ilaç rezistansının başlamasının geciktirilmesine yardımcı olabilir. Kuersetinin tetikleyebildiği farklı substratlar mevcuttur. Biz molekülün kanser hücrelerinde denetimsiz hücre büyümesinde rol oynayan protein kinazları inhibe edebilme yeteneğini inceleyeceğiz.

G. L. Russo (✉) · M. Russo · C. Spagnuolo · I. Tedesco · S. Bilotto · R. Iannitti
Istituto Scienzedell'Alimentazione, Consiglio Nazionale delle Ricerche,
83100, Avellino, Italy
e-mail: glrusso@isa.cnr.it

R. Iannitti · R. Palumbo
Istituto Biostrutture e Bioimmagini, Consiglio Nazionale delle Ricerche, 83100, Naples,
Italy

V. Zappia et al. (eds.), *Advances in Nutrition and Cancer,*
Cancer Treatment and Research 159, DOI: 10.1007/978-3-642-38007-5_11,
© Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2014

Anahtar Kelimeler

Kuersetin · Kinaz inhibitörü · Antioksidanlar · Kemoprevensiyon · Flavonoidler · Polifenoller

Kısaltmalar

Akt/PKB	v-akt mürin timoma viral onkogen homoloğu 1/protein kinaz B
PI_3K	Fosfatidilinositol-4,5-bisfosfonat 3-kinaz
Hck	Hematopoetik hücre kinaz
GSK-3β	Glikojen sentaz kinaz-3β
Nrf2	Nükleer faktör (eritroid-kaynaklı 2)-benzeri 2
NF-κB	B hücrelerinde nükleer faktör kappa hafif polipeptid gen güçlendirici
HO-1	Heme oksijenaz-1
ROS	Reaktif oksijen türleri
CK2	Kazein kinaz 2
Raf-1	V-raf-1 mürin lösemi viral onkogen homolog 1
ERK1/2	Ekstraselüler sinyal-regüle kinaz 1/2
MEK-1 veya MAP2K1	Mitojen-aktive protein kinaz kinaz 1
PTEN	Kromozomda tespit edilen fosfataz ve tensin homoloğu 10
IKKα/β	B hücrelerinde kappa hafif polipeptid gen güçlendirici inhibitörü, kinaz α/β
IκBα	B hücre inhibitöründe nükleer faktör kappa hafif polipeptid gen güçlendirici, α/β
S6K1	Ribozomal protein S6 kinaz
$p90^{RSK}$	90kDA polipeptid
AMPK	AMP-aktive protein kinaz

İçindekiler

1 Giriş 187
2 Kuersetinin Antioksidan Özellikleri 187
3 Kuersetinin Biyoyararlanımı ve Metabolizması 189
4 Kuersetinin Güvenliği 192
5 Kuersetin ve Kanser 193
5.1 Kuersetinin Protein Kinaz İnhibitör Etkisi 194
6 Sonuçlar: Pleiotropi ile Sinerji Karşılaştırması 196
Referanslar 200

1 Giriş

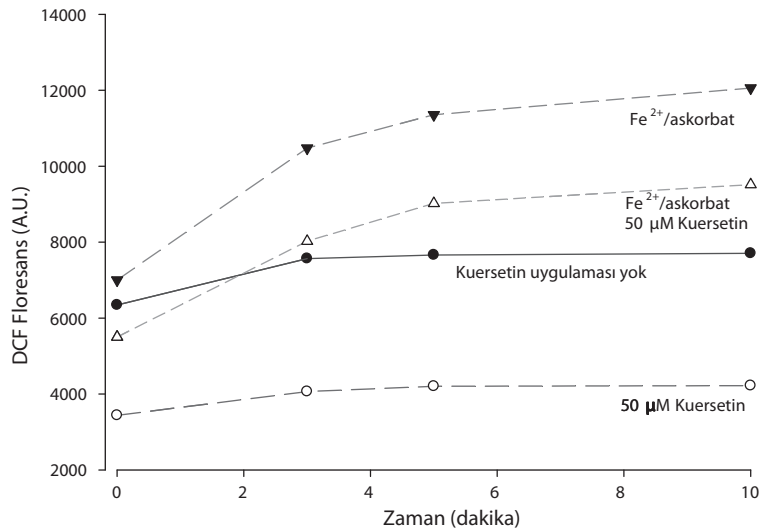
Yüzlerce bilimsel çalışmada insan diyetinde mevcut olan non-nütrisyonel bileşiklerin kanser gibi dejeneratif hastalıkları önleyebildikleri gösterilmiştir [82, 98, 100]. Genel olarak fitokimyasallar olarak bilinen bu heterojen molekül sınıfı, flavonlar, kalkonlar, flavonollar, flavononlar, flavan-3-ollar, izoflavonlar, antosinidinler, flavanonollar alt gruplarına ayrılan 6000'den fazla flavonoid sınıfına ait polifenolu içermektedir [38]. Bunlar, bitkisel kaynaklı gıdalar olan meyve ve sebzeler ile çay, bira, meyve suları gibi içeceklerde ve birçok gıda takviyesinde veya bitkisel kaynaklı tedavilerin içinde bulunurlar. Bitkisel dokulardaki hücre metabolizmasında rol oynayan enzimlerin regüle edilmesinde ve yabancı ajanlara (radyasyon, virüsler, parazitler) karşı kullanılan defans mekanizmalarında çok çeşitli görevleri olan fitokimyasallar hayvan hücrelerinde de pleiotropik etkilerle ilişkilidir.

Bilim adamlarının fitokimyasallara ilgilerinin artması, memeli hücrelerindeki biyolojik hedeflerinin, hücre döngüsü kontrolü, apoptozdan sakınma, anjiogenez ve metastazlar gibi enflamatuar prosesler ve onkojenik transformasyonlar olduğunun gösterilmesi ile başlamıştır. Bu sonuçlar çok sayıda epidemiyolojik kanıtla desteklenen ve fitokimyasalların günlük tüketimlerinin çeşitli kanser tiplerini azaltabileceğini gösteren preklinik çalışmalardan elde edilmiştir [18, 86, 98, 100]. Bu konu tespit edilen pozitif ilişkiye rağmen hala tartışma ve eleştirilere hedef olmaktadır. Bu durum meyve ve sebzelerden zengin bir diyetin dejeneratif hastalıklardan koruma mekanizmaları ile ilgili açıklamaların yetersiz kalmaları ve fitokimyasaların etki mekanizmalarının tanımlanabilmesini sağlayacak hücre ve hayvan modellerinde yapılması gereken daha ileri biyokimyasal ve genetik çalışmalara ihtiyaç olmasından kaynaklanmaktadır [5, 16].

Biz son dekad içindeki konsantrasyonumuzu çok çeşitli meyve, sebze ve içeceklerde bulunabilen (örn. çay ve şarapta bulunan kuersetin diyet alışkanlıklarına bağlı olarak günde 10-100 mg tüketilir) majör bir diyet flavonoid kaynağı olan kuersetinin (3, 30, 40,5, 7-pentahidroksiflavon) aktivitesine yönlendirmiş bulunuyoruz [4, 43]. Molekülün antioksidan, antienflamatuar, antianjiogenik, antiproliferatif ve proapoptotik özelliklerini göstermeyi amaçlayan farklı çalışmalar yapılmıştır [55, 85]. Bu bölümde molekülün denetimsiz olarak büyüyen kanser hücrelerindeki protein kinazları inhibe edebilme yeteneği üzerine odaklanacağız.

2 Kuersetinin Antioksidan Özellikleri

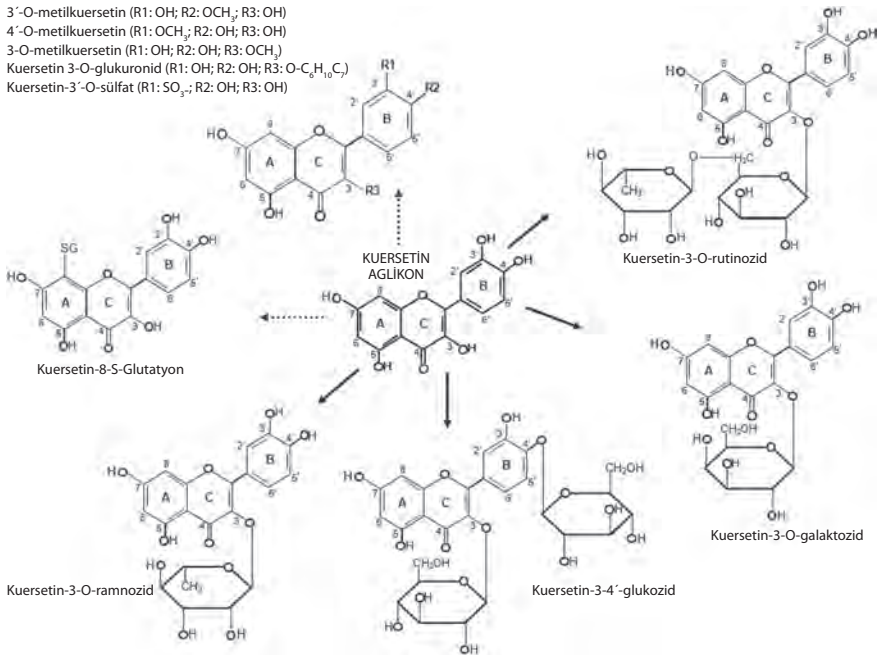
Çeşitli in vitro [10] ve in vivo [79] çalışmalarda da gösterildiği üzere polifenoller arasındaki en güçlü antioksidanlardan bir tanesi kuersetindir. Flavonoidler genel olarak reaktif oksijen türlerinin temizlenmesi ile oluşan radikalleri stabilize edebildikleri için güçlü antioksidanlardır. Bu özelliklerini flavonoidlerin aroksil radikal türlerinde bulunan multipl mezomerik yapıların geniş kapsamlı elektron delokalizasyonuna borçludurlar [10]. Kuersetin ve kaemferol yüksek oranda etkili radikal temizleyicilerdir. Ancak sadece ku-



Şekil 1 Kuersetinin U2OS hücre dizisindeki antioksidan etkinliği DMSO (%0.1, vehikül) veya %10 FBS'li DMEM ortamında 50 μg kuersetin uygulanan U2OS hücrelerinde bazal ve Fe^{2+} askorbat ile indüklenen reaktif oksijen türlerinin (ROS) üretiminin zaman içindeki değişimi. 0'dan 10. dakikaya kadar olan ROS üretimi oksidasyona duyarlı 5,6-karboksi-2′7′-diklorofluoresein diasetat DCHF-DA (10 μM) probu kullanılarak DCF floresan olarak ölçülmüştür [88].

ersetin aroksil radikal bu flavonolu potent bir antioksidan yapmaya yetecek kadar yavaş bozulmaktadır [10]. Kuersetin farklı hücre dizilerindeki intraselüler radikal oksijen türlerini etkili bir biçimde temizleyebilme özelliğine sahiptir. Kuersetin şekil 1'de bahsi geçen örnekte oksidatif etkinin olup olmamasından bağımsız olarak ve hücre sağkalımına etki yapmaksızın (burada gösterilmemiştir) radikal oksijen türlerini temizleyebilme özelliğini korumuştur. Ancak diğer bölümlerde de tartışıldığı üzere molekülün biyolojik özellikleri ile antioksidan kapasitesi her zaman örtüşmemektedir [82]. Bu nedenle kuersetinin sadece antioksidan etkisine dayanan antikanser ve proapoptotik fonksiyonlarının dikkatle yorumlanması gerekmektedir. Antioksidan kapasitesi ile biyolojik etkileri arasındaki fonksiyonel linkin varlığının önemli bir göstergesi kuersetine yapısal ve fonksiyonel özellikleri benzer bileşiklerin paralel kullanımında (örn. mirisetin ve/veya (+) kateşin) kuersetin gibi radikal oksijen türlerini azalttıkları ancak aynı antikanser etkilere sahip olmadıklarının bulunmuş olması olabilir [82, 83].

Kuersetinin antioksidan potansiyelinin diğer polifenoller ile karşılaştırılması bir paradoksa neden olmaktadır: Molekülün radikal oksijen türlerini temizleme aktivitesi, hızlıca tiyollere karşı yüksek reaktivitesi olan ve protein fonksiyonlarının bozulmasına yol açabilen oksidatif ürünlere dönüşmesine neden olmaktadır. Bu nedenle kuersetinin sahip olduğu koruma gücünün net sonucu, toksik ürünlerinin neden olduğu hasar lehine paradoksik olarak bozulabilir. Kuersetin akciğer hücrelerin-



Şekil 2 İnsanda kuersetinin ve en önemli glikozidlerinin ve metabolitlerinin yapısı.

deki H_20_2 ile indüklenen DNA hasarına karşı etkili koruma sağlamaktadır. Ancak bu pozitif etki GSH düzeyinde azalma, LDH sızıntısında artma ve sistosolik içermeyen kalsiyum konsantrasyonları nedeniyle dengelenmektedir [9]. İlginç olan bir başka nokta da kuersetinin in vivo ortamda pratik olarak ulaşılması imkansız olan 100 μM konsantrasyonunda kullanımının birçok hücre dizisinde toksik etki göstermesidir. Aynı grup molekülün antioksidan olarak kullanımında kuersetin-kuinon (QQ) türlerinin oluştuğu da gösterilmiştir. QQ diğer semikuinon radikallere ve kuinonlara benzer şekilde akril protein tiyollerin oluşumuna yol açtığı için toksiktir. QQ'ya karşı korunma uygun konsantrasyonlarda bulunduğunda QQ'yu hızlıca tecrit eden GSH ile sağlanabilir [8]. Ancak QQ türlerinin potansiyel toksik etkileri henüz in vivo ortamda ispatlanmamıştır.

3 Kuersetinin Biyoyararlanımı ve Metabolizması

Kuersetinin in vivo antioksidan özellikleri absorpsiyon, metabolizma ve biyoyararlanımından etkilenir. Kuersetin gıdalarda farklı şekilde glikolize olmuş formlarda bulunur. Aglikon olarak bulunmaz (örn. şeker grupları yoktur; Şekil 2). Bu nedenle biyoyararlanımı çeşitli gıdalardaki glikozidlerin tipine bağlı olarak değişmektedir. Kuersetin absorpsiyondan sonra ince bağırsak, kolon, karaciğer ve böbrek gibi farklı organlarda metabolize olur. Molekül bu ortamda metil ve sulfat grupları ve glukuronik asit ile konjuge olarak

insanlardaki majör konjugatları oluşturur: 3O-metilkuersetin (izohamnetin), kuersetin-3-O-glukuronid, 3-O-metilkuersetin-3-O-glukronid, kuersetin-30-O-sulfat ve kuersetin glutatyon konjugat [42, 57, 104] (Şekil 2). Burada dikkate değer olan nokta farklı kuersetin glikozidlerinde bulunan şeker moleküllerinin antioksidan aktivitesini ciddi anlamda azaltabilmesidir. Bu nedenle gıdalarda hemen hiç bulunmayan aglikon genel olarak şeker molekülünün bağlandığı noktaya bağlı olarak glikozid formundan daha yüksek antioksidan etkiye sahiptir [68]. Ancak en azından sıçanlarda kuersetin uygulanmasından sonra alınan plazmanın bakır sulfat tarafından indüklenen lipid peroksidasyonuna daha dayanıklı olması, kuersetinin bazı konjuge metabolitlerinin plazma, metal iyon ile indüklenen lipid peroksidasyonuna maruz kaldığında efektif antioksidan etki gösterdiğinin güçlü bir göstergesidir [19]. Konjuge metabolitlerin antioksidan aktiviteleri in vitro ortamda da gözlenmiştir [79, 92]. Bunlardan bazıları tüm aglikona benzer şekilde ancak daha düşük seviyede proapoptotik fonksiyona sahiptir ([85] nolu referansta incelenmiştir). Kuersetinin absorpsiyonu insanlardaki kuersetin-3-rutinozidin muhtemelen yarısını fenil-C2-asitlerine metabolize eden bağırsak mikroflorasından da etkilenmektedir [75]. Örnek vermek gerekirse kuersetin-3-O-ramnoglukozid ve kuersetin-3-O-ramnozid insan enzimleri tarafından tanınmazlar. Bunlar farklı bakteri suşları tarafından kuersetine hidrolize edilirler [6, 90]. Ku-3-O-glukozidi metabolize edebilme gücüne sahip bakterilerin sayısının 10-109/g kuru kütle olduğu tahmin edilmektedir [91].

Diyetle alınan kuersetinin absorpsiyonunun ve metabolizmasının net sonucu olarak ulaşılan plazma konsantrasyonları nanomolar aralıktadır (<100 nM). Bu düzey takviye ile mikromolar konsantrasyonlara yükseltilebilir. Örnek olarak 1 g/gün kuersetin takviyesinin 28 gün boyunca kullanımı ile plazma konsantrasyonlarının 1.5 μM düzeyine yükselmesi verilebilir [15, 65]. Ancak serum total LDL düzeyleri, platelet agregasyonu, platelet tromboksan B2 üretimi, kan basıncı ve istirahat kalp atım sayısını da içeren trombojenik risk faktörleri üzerinde bir etki görülmemiştir [15]. Sağlıklı gönüllülerde yapılan daha güncel uluslararası bir çalışmada da benzer sonuçlar elde edilmiştir [26]. Bu bulgular, kuersetinin güçlü antioksidan etkisini tespit edildiği in vitro deneylerde ve hayvan çalışmalarında bulunan sonuçlar ile kontrast teşkil etmektedir [24, 29, 30, 64]. Bu da gıdalarda bulunan kuersetinin koruyucu etkilerinin molekülün sahip olduğu özelliklerin dışındaki faktörler ile kontrol edildiğini ya da yukarıda da bahsedildiği üzere kuersetinin antioksidan etkileri dışında farklı etkilere de sahip olabileceğini düşündürmektedir.

İki mükemmel analizde insanlarda kuersetin, kuersetin glikozidleri veya kuersetin ile zenginleştirilmiş gıda takviyeleri yapılan çalışmaların sonuçları incelenmiştir [65, 90]. 0.008-4 gr arası kuersetin alımı ile 0.14-7 μM maksimum plazma konsantrasyonları elde edilmiştir (Tablo 1). Basit bir şekilde izah etmek gerekirse, kızarmış soğanla birlikte verilen kuersetin takviyesi (64 mg aglikona eşit kuersetin glikozidleri) ile 0.8 μM tepe plazma konsantrasyonları elde edilir [46, 47]. Ayrıca 1500 mg günlük doz ile de 10 μM civarında konsantrasyonların elde edilebilir (molekülün in vitro ortamda görülen biyolojik etkilerinin ortaya çıkması için gereken konsantrasyon) [55]. Ancak Tablo 1'deki veriler maalesef bunun doğru olmadığını düşündürmektedir. Bireyler arasındaki farklılıklar sağlıklı gönüllülere uygulanan kuersetin takviyesi hakkındaki yayınlardaki tespit edilen sonuçların

Tablo 1 Kuersetin, kuersetin glikozidleri ve kuersetin içeren gıdaların insandaki biyoyararlanımları

Flavonol	Kaynak	Doz	Plazma konsantrasyonu (μM)	Referans
Kuersetin	Saf bileşik	4g	<0.33	[36]
Kuersetin	Saf bileşik	0.14 mg/kg (vücut ağırlığına göre)	0.15–0.42	[32]
Kuersetin	Saf bileşik	8–20–50mg	0.14–0.22–0.29	[27]
Kuersetin	Saf bileşik	50-100-150 mg günde iki kez	0.189–0.295–0.431	[26]
Kuersetin	Tam öğün	87 mg kuersetin eşdeğeri	0.37	[64]
Kuersetin	Soğan	186 mg kuersetin eşdeğeri	2.18	[3]
Kuersetin	Soğan	50 mg kuersetin eşdeğeri	0.83	[66]
Kuersetin	Soğan	64 mg kuersetin eşdeğeri	0.65	[48]
Kuersetin	Soğan	68 mg kuersetin eşdeğeri	0.74	[46,47]
Kuersetin	Soğan	100 mg kuersetin eşdeğeri	7.6	[33]
Kuersetin	Elma	107 mg kuersetin eşdeğeri	0.3	[46,47]
Kuersetin	Elma suyu	1.6 mg kuersetin eşdeğeri	0.14	[25]
Kuersetin	Karışık üzüm ve elma suyu	6.4mg	1.1	[108]
Kuersetin	Kara buğday çayı	200 mg kuersetin eşdeğeri	2.1	[33]
Kuersetin	Soğan, elma, karışık	100 mg kuersetin eşdeğeri	0.8–0.18–0.4	[57]
Kuersetin 3′ glukozid	Saf bileşik	156mg	5	[76]
Kuersetin 4′ glukozid	Saf bileşik	150mg	3.5	[45]
Kuersetin 4′ glukozid	Saf bileşik	160mg	4.5	[76]
Kuersetin 4′ glukozid	Saf bileşik	100 mg kuersetin eşdeğeri	7.0	[33]
Rutin	Saf bileşik	100 mg kuersetin eşdeğeri	0.3	[46,47]
Rutin	Saf bileşik	190mg	0.18	[45]
Rutin	Saf bileşik	500mg	0.13–0.73	[11]
Rutin	Saf bileşik	8-20-50 mg kuersetin eşdeğeri	6.5–7.4–7.5	[27]
Rutin	Saf bileşik	200 mg kuersetin eşdeğeri	1.1	[33]

[65,90] nolu referanslardan modifiye edilmiştir.

geniş bir aralığa yayılmış olmasının nedeni olabilir. Bu varyasyonlar kuersetin glikozidlerinin çeşitli gıdalardaki farklı biyoyararlanımlarından ve insan ve hayvan modellerindeki intestinal enzimlerdeki polimorfizmlerden kaynaklanıyor olabilir [65,90].

Kuersetin biyoyararlanımının artırılabilmesi amacıyla, nanopartikül alanındaki gelişmelerden yararlanarak hücre ve hayvan modellerindeki alımı artıran özgün stratejiler tanımlanmıştır. Nanotaşıyıcılar modern ilaçları, etkinlik, stabilite ve çözünürlüklerini artıracak şekilde modifiye ederken salınım düzeylerini de korumaktadır. Lipozomlara ve biyolojik olarak ayrışabilen polimerler kullanılarak geliştirilen nanoteknolojik ilaç salınım sistemleri, son yıllarda bilim adamlarının dikkatlerini giderek daha fazla çekmektedir. Kuersetinin sıçanlara solid lipid nanopartiküller halinde uygulanması ile kontrollere göre 5.71 kez artmış gastrointestinal absorpsiyon tespit edilmiştir [61]. Kuersetinin nanopartikül formunun etkinliğini "nanokemoprevensiyon" ve "nanokemoterapi" düzeyinde değerlendiren farklı yaklaşımlar son zamanlarda incelemelere konu olmuştur [59, 70, 85].

Sonuç olarak 150 mg/gün düzeyindeki düşük dozların plazma kuersetin konsantrasyonlarını anlamlı düzeyde artırdığı tespit edilmiştir. Çalışmalarda en sık kullanılan doz genel olarak ikiye bölünmüş 1000 mg/gün'dür [53, 104].

4 Kuersetinin Güvenliği

Son yıllarda kuersetinin güvenliği ile ilgili birkaç tane mükemmel inceleme yayınlanmıştır [42, 74]. Çalışmalar molekülün muhtemel in vivo toksisitesinin mevcut olmadığı veya belirsiz olduğu yönünde fikir birliği içindedir. Kuersetinin güvenli kullanımı ile ilgili uyarılar, molekülün Ames testinde çeşitli bakteri suşlarının in vitro mutajenezine pozitif reaksiyon verdiğinin gözlenmesi ile ortaya çıkmıştır. Ancak farklı hidroksil gruplarındaki metilasyon mutajenik aktiviteyi anlamlı olarak azaltmış veya sonlandırmıştır ([42] nolu referansta incelenmiştir). İn vivo genotoksisite çalışmalarında in vitro çalışmalarda gösterilen mutajenisite konfirme edilmemiştir. Fare veya sıçanlara oral uygulama ile mikroçekirdek formasyonu, kromozomal anormallikler, kardeş kromatid değişimleri veya DNA hasarında anlamlı değişimler oluşmamıştır ([42] nolu referansta incelenmiştir). Akut toksisite testlerinde intravenoz olarak 100-150 mg/kg uygulama yapılan tavşanlarda toksisite semptomlarına rastlanmamıştır [2]. Kuersetin ile yapılan subkronik ve kronik toksisite çalışmaları daha tartışmalıdır. Uluslararası Kanser Araştırma Ajansı (IARC) kuersetinin insanlarda karsinojenik olarak sınıflanamayacağı kararına 1999 yılında varmıştır [74]. Ulusal Toksikoloji Programı (NTP) tarafından gerçekleştirilen 2 yıl süreli çalışmada 2 g/kg ile beslenen erkek F344/N sıçanlarında (70 kg'lik bir insanın 728 gün boyunca 140 gr kuersetin kullanmasına eşdeğer) ciddi kronik nefropati, hiperplazi ve renal tübüler epitelde neoplazi tespit edilmiştir [73]. Bu çalışma metodolojik eleştirilere maruz kalmış ve bulgularının anlamlılık düzeyi netliğini kaybetmiştir [44, 51]. Aynı sıçan modelinde yapılan paralel çalışmalarda ise kuersetinin renal histopatolojik etkisi bulunamamıştır ([42] nolu referanstaki tablo 2). Ancak daha sonra yapılan bir çalışmada NTP çalışmasının orijinal bulguları konfirme edilmiştir [41]. 50 ila 500 mg/kg/gün dozlarında anlamlı advers olaylar bildirilmemiştir.

Çeşitli 2 evre (başlama-gelişme) karsinojenite çalışmalarında kuersetinin kimyasal yoldan indüklenen karsinojenez üzerindeki potansiyel etkisinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Geniş bir inceleme sonucunda elde edilen kanıtlar Harwood ve ark. tarafından yayınlanmıştır [42]. Kuersetinin kimyasal yoldan indüklenen organ spesifik karsinogenezi destekleyici etkisi ile ilgili verilerin kısmen istikrarlı olmadığı bildirilmiştir. Kuersetin birkaç vakada tümör büyütücü etki göstermiştir. Ancak çalışmaların büyük çoğunluğunda ise molekülün antikarsinogenik ve kemoprotektif etkileri desteklenmiştir.

Kuersetinin memeli üreme hücreleri ile ilişkili herhangi bir toksisitesinin bulunmamış olması molekülün üreme ve gelişme üzerinde herhangi bir negatif etkisi olma ihtimalini dışlamıştır. Bu bulgu çeşitli çalışmalar tarafından konfirme edilmiştir [42]. Molekülün erkek üreme ve doğurganlığında potansiyel antioksidan olarak kullanılıp kullanılamayacağı güncel bir tartışmanın konusudur. Yukarıda da tartışıldığı üzere, kuersetin testis bölgesinde kromozom aberasyonlarına yol açan serbest radikallerin temizlenmesinde gerçekten etkilidir. Diğer taraftan, kuersetin bu proses esnasında okside olmasını takip eden glutatyon tüketimi, sistosolik kalsiyum konsantrasyonlarında artış ve laktat dehidrogenaz (LDH) sızıntısı ile sperm mortalitesinde azalmaya yol açmaktadır. Güncel bir incelemede reproprodüktif disfonksiyonun oksidatif stres artışı ile birlikte mevcut olduğu vakalarda kuersetinin dikkatle kullanılması (kuersetinin hücresel toksisitesi uygun hücre ve hayvan modellerinde daha iyi araştırılana kadar) önerilmektedir [80].

İnsanlarda yapılan özgün faz I çalışması, 70 kg'lık bir bireyde yaklaşık 2.5 gr'a eşdeğer olan 1400 mg/m^2 dozunu (3 haftada veya haftada bir uygulanan intravenöz infüzyonlar) önermektedir [28]. 50 mg/kg'a kadar olan daha yüksek dozlarda (70 kg için yaklaşık 3.5 gr) nefrit veya obstrüktif üropati semptomları bulunmayan nefropati tespit edilmiştir. İnsanlarda advers olay görülen vakaların yokluğu, güvenlik sınırları içinde kalmak ve meyve, sebzeden zengin diyetlerdeki tüketim miktarı (200-500 mg/gün) ile benzer olmak kaydıyla kuersetinin gıdalara takviye olarak eklenmesini teşvik etmektedir.

5 Kuersetin ve Kanser

PubMed (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed) taraması ile kuersetinin kanser tedavisinde etkili olabileceğini destekleyen oldukça çok sayıda güncel incelemeye ulaşmak mümkündür. İncelemelerde kuersetinin belirli onkogenlerin aşağı regülasyonu veya tümör baskılayıcı genlerin yukarı regülasyonu ile kanser hücrelerinin eliminasyonunu sağlayan belirli yolakların güçlenmesini sağlayarak kanser hücrelerinin ölümünü veya tecridini indüklediği (normal hücrelerde böyle bir etki görülmez) tanımlanmaktadır. Güncel bir çalışmada kuersetinin farklı biyolojik aktivitelerinin (antioksidan, antienflamatuar, antiproliferatif, proapoptotik ve antianjiogenik) karsinogenezin başlangıcından, invazyon ve metastaza kadar olan tüm evrelerinde nasıl etki gösterdiğini inceledik. Molekülün Hanahan ve Weinberg tarafından yayınlanan "kanserin ana özellikleri" [39, 40] adlı önemli

çalışmada tanımlanan farklı hedefler ile etkileşime girebilme yeteneği, kanser hücrelerine karşı sinerjistik etki sağlayan hücre büyümesindeki pleiotropik etkisini desteklemektedir. Kuersetinin antiproliferatif ve büyüme baskılayıcı etkileri, senesans ve telomeraz inhibisyonunu indüklemesi, hücre ölümü ve otofajiyi indüklemesi, antianjiogenik aktivitesi, immun imhayı aktive etmesi ve kanserin diğer önemli özellikleri üzerindeki etkileri ile ilgili literatürler farklı çalışmalarda incelenmiştir [85]. Biz bu bölümde molekülün, kanser hücrelerinde regülasyonu ve ekspresyonu sıklıkla değişime uğrayan hücre büyüme kontrolünde rol oynayan çeşitli kinazları bağlama ve inhibe etme yeteneğin odaklanacağız.

5.1 Kuersetinin Protein Kinaz İnhibitör Etkisi

1980'lerin ilk yıllarında kuersetinin hem tirozin [17, 31] hem de serin-tireonin [14] kinazı inhibe ettiğinin gösterilmesinden sonra, molekül nonspesifik protein kinaz inhibitörü olarak kabul edilmektedir. Zaman içinde biriken veriler molekülün inhibe ettiği hedeflerin çoğunun hücre büyümesinde rol oynayan kinazlar olduğunu göstermiştir. Bu bulgu kuersetinin multipl hedefler üzerinde pleiotropik etki göstererek kanser hücrelerinin proliferasyonunu inhibe ettiği konseptini doğurmuştur. Ancak kuersetinin inhibe ettiği kinazlara direkt olarak bağlandığı, sadece büyüme supresyonundan sorumlu mekanizma üzerindeki neden-sonuç ilişkisi ile bağlantılı birkaç çalışma tarafından gösterilebilmiştir. Kuersetinin Akt/PKB'yi direkt olarak hedeflemeden, çeşitli kanser dizilerindeki proliferasyonu inhibe ederek ve apoptozu indükleyerek Akt/PKB'ye bağımlı yolakları etkilemesi örnek olarak verilebilir [34, 37, 54, 96, 97, 99]. PI_3K-Akt/ PKB yolaklarının memelilerdeki hücre sağkalım sinyallerinde kritik rol oynadığı ve çeşitli kanserlerde aktive oldukları gösterilmiştir [1, 21]. Bu bağlamda kuersetinin moleküler hedefi Akt/PKB'nin yukarı yönünde lokalize olmuştur. PI_3Kγ'nın X-ışını kristalografik yapısının kuersetine bağlı olması, molekülün 0.28 μM'lik bir Kd değeri ile ATP-bağlanma bölgesine bağlandığını göstermektedir. Bu değer mirisetinden hafifçe yüksektir (0.17 μM) [49, 105]. Bu yapısal bulgunun biyolojik verilerle konfirme edilmiş olması, kuersetinin PI3K'ye direkt bağlanmasının tüm PI3K-Akt yolak sinyallerini, AP-1 ve NF-κB aktivasyonunu da içerecek şekilde inhibe ettiğinin göstergesidir [37, 49, 50]. Kuersetin ilginç biçimde protein kinaz CK2'nin de direkt inhibitörüdür. Yüksek oranda korunan bir serin/treonin kinaz olan bu enzim araştırılan tüm ökaryotlara yaygın olarak dağılmış olup, hücre siklusu, proliferasyon, apoptoz ve transformasyonu kontrol eden çeşitli intraselüler yolaklarda rol oynamaktadır [67, 87]. Güncel bulgular CK2'nin antiapoptotik etkisinin kısmen, Akt/PKB yolağına direkt bağlanan CK2 alt üniteleri ile Akt/PKB'nin yukarı regüle olması ve/veya Akt/PKB'deki Ser129'u hiperfosforile etmesinden kaynaklandığını göstermektedir [22, 78]. Ayrıca CK2, Akt/PKB'yi fosforilasyon ve tümör baskılayıcı PTEN'in, PTEN C terminalinde bulunan Ser/Thr kalıntıları tarafından inaktivasyonu ile indirekt olarak aktive eder [103]. Kuersetin tarafından inhibe edilen doğal ve rekombine CK2'nin IC_{50} aralığı 0.50 ila 1 μM arasındadır [60, 61, 63, 89]. İki bağımsız kinaz olan ve Akt/PKB aracılığı ile yönlendirilen proliferatif sinyal ile birleşen CK2 ve PI3K'nın, kuersetin tarafından molekülün büyüme kontrolündeki pleiotropik aktivitesini destekler biçimde inhibe edilmesi de dikkat çekicidir.

Yapısal çalışmalarda kuersetinin Raf-1 ve MEK-1'e direkt olarak bağlanabildiği gösterilmiştir. MEK-1 kinaz aktivitesini Raf-1'e göre daha güçlü inhibe eder [56, 58]. Kuersetinin MEK-1'in ATP-bağlanma bölgesine bitişik farklı bir cebe bağlandığı düşünülmektedir [49]. Bu etkileşim TPA ile indüklenen ERK ve $p90^{RSK}$ fosforilasyonunun inhibisyonuna ve AP-1 ve NF-κB aktivasyonuna yol açar. Kuersetinin iyi bilinen farmakolojik MEK-1 inhibitörü olan PD098059 göre daha güçlü inhibitör etki göstermesi ilginçtir. Resveratrol ne MEK-1 ne de Raf-1 kinaz aktivitesini etkilemez [49, 56, 58].

Kuersetin Hck tirozin kinazın yüksek kaliteli kırılma spektrumlarının elde edilmesinde kullanılmaktadır. Bu enzim büyük Src tirozin kinaz ailesine aittir. Bu nonreseptör tirozin kinazlar tümör hücre proliferasyonu, sağkalım ve metastazında rol oynamaktadırlar [109]. Src ailesinin hücresel ekspresyon, lokalizasyon ve fonksiyonlarında farklılıklar olan dokuz üyesi vardır. Hck stimüle olmamış B hücre reseptörüne bağlanır. Miyeloid lösemi hücre dizilerindeki preklinik çalışmalarda BCR-ABL ile etkileşimi transformasyon sinyali için önemli bulunmuştur [62]. Hem BCR-ABL hem de Src ailesinin kinazları, imatinibe dirençli veya imatinibi tolere edemeyen kronik myeloid löseminin tedavisinde onaylı tek ilaç olan dasatinib tarafından hedeflenirler [56, 58]. Kuersetin Hck aktive bölgesine bağlanır [93]. Ancak bu bağlantının biyolojik sonuçları bilinmemektedir.

IKKβ ve IKKβb NF-κB aktivasyonunda rol oynayan iki kinazdır. Proliferatif stimülasyonu takiben N-terminal bölgesindeki serin kalıntılarında bulunan IκB proteinlerini (IκBα ve IκBβ) fosforillerler. Fosforile IκBα ve IκBβ devamında NF-κB'nin salınımı ile ubikutin eklenerek degrade olurlar. NF-κB daha sonra çekirdeğe transloke olarak hedef genlerin transkripsiyonlarını regüle eder [23]. NF-κB kanser gelişiminde rol oynadığı için IKKα ve IKKβ gibi pozitif regülatörlerinin inhibisyonu antikanser aktiviteye yol açabilir. Kuersetinin TNF ile indüklenen NF-κB aktivasyonunu baskıladığı bildirilmiştir; ancak sinyal kaskadındaki moleküler hedefi tanımlanamamıştır [71]. Kuersetinin IKKα ve IKKβ'yi sırasıyla 11 ve 4 μM'lik belirgin IC_{50} değerleri ile inhibe ettiği daha sonra bildirilmiştir [77]. Kuersetinin ATP'nin yarışmali inhibitörü gibi davrandığı kesindir. Ancak molekülün, hem IKKα hem de IKKβ'nin Vmax değerlerini anlamlı olarak azaltıp, belirgin K_m'yi de azaltması karma bir mekanizmanın varlığına işarettir. Aslında IKKα ve IKKβ'nin kuersetin tarafından inhibe edilmesi IκBα substratının miktarının artması ile korunur. Bu durum kuersetinin bağlanma yerlerinin hem ATP hem de IκBα bağlanma bölgeleri ile çakışabileceğini düşündürmektedir [77].

Daha yakın zamanda, kuersetinin ve luteolin ve apigenin gibi flavonoidlerin GSK-3β'yi inhibe ettiği bildirilmiştir. Metabolizma, hücre siklusu, gen ekspresyonu, gelişim, onkojenez, nöroproteksiyon gibi farklı fizyolojik yolaklarda önemli rol oynayan bu enzim multifonksiyonel bir serin treonin kinazdır [81]. GSK-3β pankreas kanseri hücrelerinin çekirdeklerinde aşırı eksprese olarak NF-κB aktivitesini stimüle eder ve enflamatuar cevap kaskadını aktive eder. Rekombinan enzim kullanılarak yapılan in vitro deneylerde kuersetin için yaklaşık 2 μM'lik IC_{50} değeri tespit edilmiş ve molekülün GSK-3β'nin ATP bağlanma bölgesine bağlandığı (moleküler bağdaştırma bilgisayar programı ile) tahmin edilmiştir [52].

Güncel ve ilginç bir taramada kuersetinin çeşitli kinaz gruplarında spesifik inhibitör etkileri olduğu tespit edilmiştir [7]. Geniş bir insan kinomu içeren 256 farklı rekombinan kinaz panelinin kullanıldığı bu çalışmada kuersetinin bu enzimlerin aktivitesini in vitro deneylerde direkt olarak inhibe edebilme yeteneği test edilmiştir. Kuersetin yaklaşık 100 kinazın aktivitesini 30 μM konsantrasyonunda %95 azaltmıştır. Bu birçok hücre dizisi için hesaplanan ortalama IC_{50} değerine çok yakındır [7, 55]. Kuersetinin 2 μM'de ~15 kinazın aktivitesini %95'den fazla, setteki diğer ~ 50 kinazın aktivitesini de %80-95 arasında azaltığının bulunmuş olması, bu kinazların kuersetinin spesifik hedefleri olabileceğini göstermiştir. 2 μM kuersetine maruz bırakıldıktan sonra hemen hiç aktivitesi kalmayan kinazlar Cdc2-benzeri kinaz 1 (CLK1), insülin reseptörleri (INSR-R) ve kas spesifik kinazdır (MUSK) [7]. İnsanda dendrogram ile ilişkili kinomda kuersetin tarafından hedeflenen kinazlar arasında şunların bulunması dikkate değer bir konudur: Tirozin kinaz (TK), tirozin kinaz benzeri kinazlar (TKL), serin/treonin tirozin kinazlar (STE), kazein kinazlar (CK1), cAMP'a bağımlı protein kinazlar (AGC), kalsiyum/kalmodulin protein kinaz II kinazlar (CAMK), ile sikline bağımlı kinaz (CDK), mitojen aktive protein kinaz (MAPK), glikojen sentaz kinaz (GSK), ve CDK benzeri kinaz gruplarını da içeren CMGC alt sınıfı [7]. Bu ilginç sonuçlara rağmen, güncel araştırmalar bazı soruları hala cevaplayamamıştır: (1) Test edilen kinaz paneli içinde yer aldıkları halde, kuersetinin düşük konsantrasyonları ile (2 μM) inhibe edilen 15 protein kinaz arasında PI_3K, Hck, CK2 ve MEK-1 olmaması düşük bir ihtimaldir; (2) Ölçülen inhibitör etkiler doğal kinazlarla yapılan hücresel modeller ile konfirme edilmeli ve hücre büyümesinin denetiminin bozulması veya diğer biyolojik etkilerle olan ilişkileri tespit edilmelidir.

Cohen grubu da 2000 yılında benzer bir yaklaşımı kullanmıştır [20]. Çalışmalarında doku saflaştırılması ile elde edilen veya prokaryotik ya da ökaryotik sistemlerde eksprese edilen 34 kinazdan oluşan bir paneli kullanarak yaptıkları çalışmada, in vitro 20 μM konsantrasyondaki kuersetinin şu kinazların enzimatik aktivitesini %30'dan daha az inhibe ettiklerini tespit etmişlerdir: MAPKAP-K1b ($p90^{RSK}$ olarak da bilinir < %20); S6K1 (< %25); GSK-3β (< %30); AMPK (< %16); CK2 (< %19); PI_3K (< %18).

Cohen grubu tarafından gösterilen kuersetinin GSK-3β, CK2 ve PI_3K'yı inhibe edici aktivitesi daha sonra yukarıda bahsedilen bağımsız çalışmaların sonuçları ile de konfirme edilmiştir.

6 Sonuçlar: Pleiotropi ile Sinerji Karşılaştırması

"Pleiotropik" ve "sinerjistik" sözcükleri biyolojik olarak aktif moleküllerle ilgili kullanıldığında çelişkili yorumlara yol açabilir. Bu bölümde optimal intraselüler konsantrasyonlardaki kuersetinin, kanser hücrelerinin büyümelerini transkripsiyonel ve/veya posttranslasyonel olaylar sonucunda hiperaktive olarak desteklediği bilinen multipl kinazları tetikleyebilmesi ile ilgili kanıtları inceledik. Pleiotropinin anlamı kuersetinin hedef hücrelere ulaştıktan sonra bir veya daha fazla yolakta rol oynayan faktörlere bağlanabilme ve etkileşime girebilme yeteneği ile aynı hücresel proseslerde (örn. apoptoz,

Tablo 2 Kuersetin tarafından direkt olarak hedeflenen hücresel kinazlar

Hedefler	Bağlanma Bölgesi	Konsantrasyon	Hücresel etkiler	Referans
MEK-1	Aktivasyon döngüsü	1–2 μM	Apoptoz	[49,56,58]
			Hücre döngüsü	
			Büyüme durması	
PI_3Ky	ATP-bağlanma bölgesi	3.8 μM	Apoptoz	[105]
			Hücre döngüsü	
			Büyüme durması	
IKK α/β	ATP- ve İκBα-bağlanma bölgeleri	IC_{50} 11 μM (α) IC_{50} 11 μM (β)	Apoptoz	[77]
Hck (Src tyr kinaz ailesi)	ATP-bağlanma bölgesi	2 μM	Apoptoz	[93]
			Hücre döngösü	
			Büyüme durması	
CK2	ATP-bağlanma bölgesi	IC_{50} = 0.92 μM	Apoptoz	[89]
	Yarışmalı inhibitör	Ki = 1.18 μM		
GSK-3β	ATP-bağlanma bölgesi	IC_{50} = 0.92 μM		

[85] nolu referanstan uyarlanmıştır.

hücre döngüsü durması, otofaji) rol oynamasıdır. Kuersetinin etkileri için güzel bir örnek olarak PI_3K-Akt/PKB-NF-κB sinyal dönüştürücü yolağı ile olan etkileşimi verilebilir. Her ikisi de Akt/PKB ile birleşen CK2 ve PI_3K'nın paralel ve eş zamanlı inhibisyonu, Akt/PKB'nin CK2/PI_3K fosforilasyonu ile hiperaktivasyonu inhibe olduğu için yolağın devre dışı kalmasına neden olabilir. IKKα/IKKβ kinazlarının eş zamanlı olarak kuersetin tarafından inhibe edilmesi, NF-κB'nin nükleer translokasyonu ve aktivasyonu bloke olduğu için yolağın inhibisyonunu güçlendirir. Bu durum pleiotropik ve sinerjistik etkilerin eşleşerek kuersetinin antiproliferatif etkilerini güçlendirmelerine bir örnektir. Ancak pozitif etkinin oluşabilmesi için belirli şartlar gerekmektedir; (1) Kuersetinin intraselüler konsantrasyonu hedef yolaklarda rol oynayan tüm kinazları inhibe etmeye yetecek kadar yüksek olmalıdır. Çünkü Tablo 2'de gösterildiği üzere farklı enzimlerin Ki ve IC_{50} değerleri birbirinden anlamlı düzeyde farklıdır; (2) Kanser hücrelerindeki hedef yolaklar aşırı aktive olmalı, ancak normal hücrelerdeki yolaklar da normal kalmalıdır; (3) Hedef kinaz hücre proliferasyonu veya hücre ölümü gibi antagonist süreçleri regüle etmemelidir. Birinci şartı yerine getirebilmek için aglikon kuersetinin belirli intraselüler mikromolar konsantrasyonlarda olması gerekmektedir. Bu hedefe flavonoidin diyetle alımı ile ulaşmak iki nedenden dolayı neredeyse imkansızdır: Aglikonun serumdaki biyoyararlanımının sınırlı olması ya da hiç olmaması. Gerçekten de oral uygulamadan sonra kanda ölçülen "total" kuersetinin hemen hemen tamamı metabolitlerinden oluşmaktadır [57, 65, 90]. Ancak fibroblastları inceleyen bir çalışmada kuersetinin O-metile

konjugatlarının hücrelerde serbest aglikona dönüşebileceğinin bulunmuş olması ilginçtir [96, 97, 102]. Bundan dolayı düşük biyoyararlanım engelinin doz artırımı ile aşılabileceği aşikardır. Gerçekten de hayvan modellerinde 2 hafta süre ile 45-47 mg/gün kuersetin uygulanması ile 60 μM düzeyinde plazma konsantrasyonları elde edilmiştir [94]. Ancak hayvan modellerindeki kuersetin takviyesi insanlardaki takviye ile kıyaslanırken dikkatli olunmalıdır. Farklı doku ekspresyonları ve genetik polimorfizmler nedeniyle metabolize edici enzimlerin aktiviteleri memeli türleri arasında büyük farklılıklar gösterebilir [90]. Alternatif olarak, dolaşımdaki serbest kuersetin konsantrasyonları (kanser hastalarının 200-400 μM gibi akut serum düzeylerini iyi tolere ettikleri göz önüne alındığında) intravenöz uygulama ile de yükseltilebilir [28]. Bu ihtimal, diğer kemopreventif uygulamalardan farklı olarak molekülün terapötik kullanımını sağlayabilir.

Kuersetinin kanser hücrelerinin büyümelerinin inhibisyonunda rol oynayan pleiotropik inhibitör olarak kullanılabilmesi için gereken diğer şart molekülün malign fenotipe spesifik (normal hücrelerin aksine) olması gerekliliğidir (yukarıda listelenen B maddesi). Bu konuyla ilgili olarak farklı yazarların ilginç yorumları olmuştur. Kuersetini hormetik doğasından dolayı molekülü iki ucu keskin kılıç olarak tanımlamışlardır. Bu durum normal hücre ve dokularda düşük konsantrasyonlarda bulunduğunda hücreleri reaktif oksijen türlerinden koruyan bir antioksidan etkisi yaparken, 30-50 μM'den daha yüksek konsantrasyonlarda ise bir prooksidan haline dönüşüp apoptoz ve diğer savunma süreçlerini aktive ederek kanser hücrelerini öldüren reaktif oksijen türlerinin üretimine yol açmasından kaynaklanmaktadır [9, 104]. Kulağa hoş gelen bu hipotezin geniş çaplı deneysel değerlendirmelere ihtiyacı vardır ve çeşitli eleştirilere açık bir konudur. Kuersetinin intraselüler konsantrasyonlarını artırmanın belirgin bir dezavantajı sadece kanser hücrelerindeki değil, normal dokulardaki prooksidan reaksiyonunda da artışa yol açma ve yan etkiler oluşturma ihtimalidir. Bu yan etkiler dikkatle takip edilmeli ve kemoprevensiyon uygulamalarından farklı olarak molekülün faydaları ile toksik yan etkilerinin dengelendiği terapötik protokoller oluşturulmalıdır Molekülün hormetik özelliği ile ilgili olarak da toksikolojiden alınan ve kullanıldığı bilimsel platforma göre farklı anlamlar taşıyabilen bu terimin dikkatle kullanılmasını öneriyoruz [12, 13, 101]. Kısa süre önce kuersetinin HeLa hücrelerindeki hormetik klasik U şekilli eğrisini yayınladık. Eğride molekül düşük konsantrasyonlarda (0.5 μM) uygulandığında hücre büyümesinde görülen anlamlı artış, in vivo ortamda kuersetin ile zenginleştirilmiş gıdaların verilmesi ile görülen artış ile benzer düzeydedir [95]. Bu nedenlerden dolayı kuersetinin takviye veya fonksiyonel gıda olarak kullanımının, potansiyel faydalarının zarara dönüşebilme ihtimali (prekanseröz hücrelerin molekülün hormetik etkilerine duyarlı olması durumunda) nedeniyle dikkatle değerlendirilmesi gerekir. Ayrıca bizim ve diğer bazı yazarların da bildirildiği üzere (Şekil 1 ve [83, 84]) mikromolar kuersetin konsantrasyonları (hücre sağkalımı etkilenmeden) reaktif oksijen türlerinin düzeylerini azaltarak antioksidan etkiyi devam ettirmektedir. Bu bulgu molekülün kanser hücrelerinde spesifik prooksidan etki gösterebileceği hipotezi ile çelişiyor görünmektedir.

Son olarak da kuersetin tarafından hedeflenen kinazların, sinerjistik etkilerini destekleyen antagonist prosesleri regüle etmemeleri gerekmektedir (yukarıda listelenen

madde 3). MAP kinaz bu konu ile ilişkili iyi bir örnektir. RAS-RAFMEK-MAPK yolağı insanlarda görülen kanserlerde sıklıkla deregüle olur. Bunun nedeni yolağın komponentlerindeki genetik değişimler ya da hücre yüzey reseptörlerinin yukarı yönlü aktivasyonudur. Bu da bu sinyal kaskadlarının komponentlerini terapötik girişimler için ilginç hedefler haline getirmektedir [1, 21]. Yukarıda da bahsedildiği üzere, kuersetin MEK-1 ile etkileşime girerek bağlanır. Bu bağlantı her ikisi de MEK/ERK sinyalinin aktivasyonunda rol oynayan epidermal büyüme faktörü veya H-Ras ile indüklenen JB66 P+ hücre transformasyonunun doza bağlı supresyonuna yol açar [56, 58]. Lösemik hücre dizilerinde ve kronik lenfositik lösemi hastalarından izole edilen B hücrelerindeki antiapoptotik faktör Mcl-1'in kuersetin tarafından Mcl-1 instabilitesine yol açan MEK/MAPK sinyal yolaklarının inhibisyonu ile aşağı regüle edildiğini de göstermiştik. Bu veriler kuersetinin apoptopik etkisinin beklendiği üzere MEK/MAPK yolağının inaktivasyonuna bağlı olduğunu göstermektedir. Diğer bazı araştırmacılar karşıt etkiler bildirmişlerdir: (1) A549 akciğer kanseri hücrelerinde kuersetin ile indüklenen apoptoz için MEK/MAPK aktivasyonu gereklidir ;(2) Kuersetin sıcak şoku uygulanan hepatom H4 hücrelerinde MAPK'yı anlamlı olarak stimüle ederek hücre sağkalımını azaltmış ve DNA fragmantasyonunu indüklemiştir; (3) Kuersetinin oksidatif strese karşı hepatoprotektif etkisi için gereken metalotionein ekspresyonunu indüklemesi, MAPK'nin aktivite edilmesi ve Nrf2 DNA bağlayıcı aktivitenin güçlendirilmesi ile ortaya çıkmaktadır; (4) İnsan hepatositlerinin etanole bağlı oksidatif strese karşı korunması MAPK/Nrf2 yolaklarına bağlı olarak HO-1 indüksiyonu ile gerçekleşmektedir [107]. Özet olarak kuersetinin MEK/MAPK yolağını aktive edip etmediği konusu bir paradoks haline dönüşmüştür. Bu olayların yanlış hücre dizisinde veya hücre fizyolojisinin uygun olmayan zaman-mekan penceresinde gerçekleşmesi ile elde edilen sonuçlar beklenen sonuçlardan farklı olabilir. Örnek olarak kuersetinin prekanseröz bir hücredeki MAPK aktivitesini stress hasarına karşı korumak amacıyla artırması proliferatif stimülasyonun güçlenmesine neden olması verilebilir. Kuersetinin etkileri ile ilişkili bir başka kompleks problem de kuersetinin tek başına veya diğer ilaçlarla veya ölüm ligandları (DL; anti-CD95; rekombinan TRAIL) ile birlikte uygulanması ile kanser kinazlarının spesifik izoformları üzerinde ortaya çıkabilecek etkileri ile ilgilidir. Aslında kuersetinin PKCα aktivitesini hafifçe azalttığını demonstre etmiştik. Ancak anti-CD95 ile birlikte uygulamada tespit edilen PKCα aktivitesi kuersetinin tek başına uygulanmasına göre 12 kat artmıştır [83]. Bu örnek kuersetinin aynı hücre dizisindeki aynı kinazı hem aktive hem de inhibe edebileceğini (direkt ve/veya indirekt olarak) göstermektedir. Etkinin türü uygulanan stimülasyona ve/veya malign hücrenin fizyolojik durumuna bağlıdır.

Bu bölümde kanser gibi dejeneratif hastalıklarla ilgili patolojileri düzeltebilme ile ilgili multipl özelliklere sahip olan kuersetinin avantaj ve dezavantajlarını inceledik. Bu bölümde tartışılan kuersetin ile ilgili birçok paradoksun kolaylıkla potansiyel antikanser aktivitesi olan birçok doğal bileşik için de geçerli olabileceği söylenebilir. Molekülün antioksidan veya kinaz inhibitörü olarak in vivo ortamdaki etkisi ile ilgili hala çok fazla bilinmeyen mevcuttur. Bu durum kuersetinin (ve diğer fitokimyasalların) fonksiyonel olarak pleiotropik olabileceği ihtimalini kabul etmenin önünde bir engeldir. Çünkü bu

ihtimal klinik veriler ile korelasyon içinde olmalıdır. Maalesef kanser tedavisinde kuersetinin monoterapide veya diğer kemoterapötik ajanlar ile kombinasyon halinde kullanıldığı klinik çalışmalar henüz mevcut değildir ([85] nolu referanstaki Tablo 3). Bu tür bilgilerin olmaması birçok biyoaktif fitokimyasalın klinikteki potansiyel kullanımlarının önünde bir engel olarak durmaktadır. Bu nedenle kuersetinin adjuvan kanser tedavisindeki olası kullanımı ile ilgili çalışmalara acil olarak ihtiyaç vardır.

Referanslar

1. Aksamitiene E, Kiyatkin A, Kholodenko BN (2012) Cross-talk between mitogenic Ras/MAPK and survival PI3K/Akt pathways: a fine balance. Biochem Soc Trans 40:139–146
2. Ambrose AM, Robbins DJ, Deeds F (1952) Comparative toxicities of quercetin and quercitrin. J Am Pharm Assoc 41:119–122
3. Aziz AA, Edwards CA, Lean ME, Crozier A (1998) Absorption and excretion of conjugated flavonols, including quercetin-4′-O-beta-glucoside and isorhamnetin-4′-O-beta-glucoside by human volunteers after the consumption of onions. Free Radic Res 29:257–269
4. Bischoff SC (2008) Quercetin: potentials in the prevention and therapy of disease. Curr Opin Clin Nutr Metab Care 11:733–740
5. Boffetta P, Couto E, Wichmann J, Ferrari P, Trichopoulos D, Bueno-de-Mesquita HB, van Duijnhoven FJ, Buchner FL, Key T, Boeing H, Nothlings U, Linseisen J, Gonzalez CA, Overvad K, Nielsen MR, Tjonneland A, Olsen A, Clavel-Chapelon F, Boutron-Ruault MC, Morois S, Lagiou P, Naska A, Benetou V, Kaaks R, Rohrmann S, Panico S, Sieri S, Vineis P, Palli D, van Gils CH, Peeters PH, Lund E, Brustad M, Engeset D, Huerta JM, Rodriguez L, Sanchez MJ, Dorronsoro M, Barricarte A, Hallmans G, Johansson I, Manjer J, Sonestedt E, Allen NE, Bingham S, Khaw KT, Slimani N, Jenab M, Mouw T, Norat T, Riboli E, Trichopoulou A (2010) Fruit and vegetable intake and overall cancer risk in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC). J Natl Cancer Inst 102:529–537
6. Bokkenheuser VD, Shackleton CH, Winter J (1987) Hydrolysis of dietary flavonoid glycosides by strains of intestinal Bacteroides from humans. Biochem J 248:953–956
7. Boly R, Gras T, Lamkami T, Guissou P, Serteyn D, Kiss R, Dubois J (2011) Quercetin inhibits a large panel of kinases implicated in cancer cell biology. Int J Oncol 38:833–842
8. Boots AW, Haenen GR, Bast A (2008) Health effects of quercetin: from antioxidant to nutraceutical. Eur J Pharmacol 585:325–337
9. Boots AW, Li H, Schins RP, Duffin R, Heemskerk JW, Bast A, Haenen GR (2007) The quercetin paradox. Toxicol Appl Pharmacol 222:89–96
10. Bors W, Heller W, Michel C, Saran M (1990) Flavonoids as antioxidants: determination of radical-scavenging efficiencies. Methods Enzymol 186:343–355
11. Boyle SP, Dobson VL, Duthie SJ, Hinselwood DC, Kyle JA, Collins AR (2000) Bioavailability and efficiency of rutin as an antioxidant: a human supplementation study. Eur J Clin Nutr 54:774–782
12. Calabrese EJ (2010) Hormesis is central to toxicology, pharmacology and risk assessment. Hum Exp Toxicol 29:249–261
13. Calabrese EJ, Blain RB (2011) The hormesis database: the occurrence of hormetic dose responses in the toxicological literature. Regul Toxicol Pharmacol 61:73–81
14. Cochet C, Feige JJ, Pirollet F, Keramidas M, Chambaz EM (1982) Selective inhibition of a cyclic nucleotide independent protein kinase (G type casein kinase) by quercetin and related polyphenols. Biochem Pharmacol 31:1357–1361
15. Conquer JA, Maiani G, Azzini E, Raguzzini A, Holub BJ (1998) Supplementation with quercetin markedly increases plasma quercetin concentration without effect on selected risk factors for heart disease in healthy subjects. J Nutr 128:593–597

16. Crowe FL, Roddam AW, Key TJ, Appleby PN, Overvad K, Jakobsen MU, Tjonneland A, Hansen L, Boeing H, Weikert C, Linseisen J, Kaaks R, Trichopoulou A, Misirli G, Lagiou P, Sacerdote C, Pala V, Palli D, Tumino R, Panico S, Bueno-de-Mesquita HB, Boer J, van Gils CH, Beulens JW, Barricarte A, Rodriguez L, Larranaga N, Sanchez MJ, Tormo MJ, Buckland G, Lund E, Hedblad B, Melander O, Jansson JH, Wennberg P, Wareham NJ, Slimani N, Romieu I, Jenab M, Danesh J, Gallo V, Norat T, Riboli E (2011) Fruit and vegetable intake and mortality from ischaemic heart disease: results from the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC)-Heart study. Eur Heart J 32:1235–1243
17. Cunningham BD, Threadgill MD, Groundwater PW, Dale IL, Hickman JA (1992) Synthesis and biological evaluation of a series of flavones designed as inhibitors of protein tyrosine kinases. Anticancer Drug Des 7:365–384
18. D'Incalci M, Steward WP, Gescher AJ (2005) Use of cancer chemopreventive phytochemicals as antineoplastic agents. Lancet Oncol 6:899–904
19. da Silva EL, Piskula MK, Yamamoto N, Moon JH, Terao J (1998) Quercetin metabolites inhibit copper ion-induced lipid peroxidation in rat plasma. FEBS Lett 430:405–408
20. Davies SP, Reddy H, Caivano M, Cohen P (2000) Specificity and mechanism of action of some commonly used protein kinase inhibitors. Biochem J 351:95–105
21. De Luca A, Maiello MR, D'Alessio A, Pergameno M, Normanno N (2012) The RAS/RAF/MEK/ERK and the PI3K/AKT signalling pathways: role in cancer pathogenesis and implications for therapeutic approaches. Expert Opin Ther Targets 16(Suppl 2):S17–S27
22. Di Maira G, Salvi M, Arrigoni G, Marin O, Sarno S, Brustolon F, Pinna LA, Ruzzene M (2005) Protein kinase CK2 phosphorylates and upregulates Akt/PKB. Cell Death Differ 12:668–677
23. DiDonato JA, Mercurio F, Karin M (2012) NF-kappaB and the link between inflammation and cancer. Immunol Rev 246:379–400
24. Duarte J, Perez-Palencia R, Vargas F, Ocete MA, Perez-Vizcaino F, Zarzuelo A, Tamargo J (2001) Antihypertensive effects of the flavonoid quercetin in spontaneously hypertensive rats. Br J Pharmacol 133:117–124
25. DuPont MS, Bennett RN, Mellon FA, Williamson G (2002) Polyphenols from alcoholic apple cider are absorbed, metabolized and excreted by humans. J Nutr 132:172–175
26. Egert S, Wolffram S, Bosy-Westphal A, Boesch-Saadatmandi C, Wagner AE, Frank J, Rimbach G, Mueller MJ (2008) Daily quercetin supplementation dose-dependently increases plasma quercetin concentrations in healthy humans. J Nutr 138:1615–1621
27. Erlund I, Kosonen T, Alfthan G, Maenpaa J, Perttunen K, Kenraali J, Parantainen J, Aro A (2000) Pharmacokinetics of quercetin from quercetin aglycone and rutin in healthy volunteers. Eur J Clin Pharmacol 56:545–553
28. Ferry DR, Smith A, Malkhandi J, Fyfe DW, deTakats PG, Anderson D, Baker J, Kerr DJ (1996) Phase I clinical trial of the flavonoid quercetin: pharmacokinetics and evidence for in vivo tyrosine kinase inhibition. Clin Cancer Res 2:659–668
29. Filipe P, Haigle J, Silva JN, Freitas J, Fernandes A, Maziere JC, Maziere C, Santus R, Morliere P (2004) Anti- and pro-oxidant effects of quercetin in copper-induced low density lipoprotein oxidation. Quercetin as an effective antioxidant against pro-oxidant effects of urate. Eur J Biochem 271:1991–1999
30. Garcia-Saura MF, Galisteo M, Villar IC, Bermejo A, Zarzuelo A, Vargas F, Duarte J (2005) Effects of chronic quercetin treatment in experimental renovascular hypertension. Mol Cell Biochem 270:147–155
31. Glossmann H, Presek P, Eigenbrodt E (1981) Quercetin inhibits tyrosine phosphorylation by the cyclic nucleotide-independent, transforming protein kinase, pp60src. Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol 317:100–102
32. Goldberg DM, Yan J, Soleas GJ (2003) Absorption of three wine-related polyphenols in three different matrices by healthy subjects. Clin Biochem 36:79–87

33. Graefe EU, Wittig J, Mueller S, Riethling AK, Uehleke B, Drewelow B, Pforte H, Jacobasch G, Derendorf H, Veit M (2001) Pharmacokinetics and bioavailability of quercetin glycosides in humans. J Clin Pharmacol 41:492–499
34. Granado-Serrano AB, Martin MA, Bravo L, Goya L, Ramos S (2006) Quercetin induces apoptosis via caspase activation, regulation of Bcl-2, and inhibition of PI-3-kinase/Akt and ERK pathways in a human hepatoma cell line (HepG2). J Nutr 136:2715–2721
35. Guerra B (2006) Protein kinase CK2 subunits are positive regulators of AKT kinase. Int J Oncol 28:685–693
36. Gugler R, Leschik M, Dengler HJ (1975) Disposition of quercetin in man after single oral and intravenous doses. Eur J Clin Pharmacol 9:229–234
37. Gulati N, Laudet B, Zohrabian VM, Murali R, Jhanwar-Uniyal M (2006) The antiproliferative effect of quercetin in cancer cells is mediated via inhibition of the PI3 K-Akt/PKB pathway. Anticancer Res 26:1177–1181
38. Hairborne JB (1993) The flavonoids advances in research since 1986. Chapman & Hall, London
39. Hanahan D, Weinberg RA (2000) The hallmarks of cancer. Cell 100:57–70
40. Hanahan D, Weinberg RA (2011) Hallmarks of cancer: the next generation. Cell 144:646–674
41. Hard GC, Seely JC, Betz LJ, Hayashi SM (2007) Re-evaluation of the kidney tumors and renal histopathology occurring in a 2-year rat carcinogenicity bioassay of quercetin. Food Chem Toxicol 45:600–608
42. Harwood M, Danielewska-Nikiel B, Borzelleca JF, Flamm GW, Williams GM, Lines TC (2007) A critical review of the data related to the safety of quercetin and lack of evidence of in vivo toxicity, including lack of genotoxic/carcinogenic properties. Food Chem Toxicol 45:2179–2205
43. Hertog MG, Feskens EJ, Hollman PC, Katan MB, Kromhout D (1993) Dietary antioxidant flavonoids and risk of coronary heart disease: the Zutphen Elderly Study. Lancet 342:1007–1011
44. Hirono I (1992) Is quercetin carcinogenic? Jpn J Cancer Res 83:313–314
45. Hollman PC, Katan MB (1999) Dietary flavonoids: intake, health effects and bioavailability. Food Chem Toxicol 37:937–942
46. Hollman PC, van Trijp JM, Buysman MN, van der Gaag MS, Mengelers MJ, de Vries JH, Katan MB (1997) Relative bioavailability of the antioxidant flavonoid quercetin from various foods in man. FEBS Lett 418:152–156
47. Hollman PC, van Trijp JM, Mengelers MJ, de Vries JH, Katan MB (1997) Bioavailability of the dietary antioxidant flavonol quercetin in man. Cancer Lett 114:139–140
48. Hollman PC, vd Gaag M, Mengelers MJ, van Trijp JM, de Vries JH, Katan MB (1996) Absorption and disposition kinetics of the dietary antioxidant quercetin in man. Free Radic Biol Med 21:703–707
49. Hou DX, Kumamoto T (2010) Flavonoids as protein kinase inhibitors for cancer chemoprevention: direct binding and molecular modeling. Antioxid Redox Signal 13:691–719
50. Hwang MK, Song NR, Kang NJ, Lee KW, Lee HJ (2009) Activation of phosphatidylinositol 3-kinase is required for tumor necrosis factor-alpha-induced upregulation of matrix metalloproteinase-9: its direct inhibition by quercetin. Int J Biochem Cell Biol 41:1592–1600
51. Ito N (1992) Is quercetin carcinogenic? Jpn J Cancer Res 83:312–313
52. Johnson JL, Rupasinghe SG, Stefani F, Schuler MA, Gonzalez de Mejia E (2011) Citrus flavonoids luteolin, apigenin, and quercetin inhibit glycogen synthase kinase-3beta enzymatic activity by lowering the interaction energy within the binding cavity. J Med Food 14:325–333
53. Kelly GS (2011) Quercetin. Monograph. Altern Med Rev 16:172–194

54. Kim YH, Lee YJ (2007) TRAIL apoptosis is enhanced by quercetin through Akt dephosphorylation. J Cell Biochem 100:998–1009
55. Lamson DW, Brignall MS (2000) Antioxidants and cancer, part 3: quercetin. Altern Med Rev 5:196–208
56. Lee F, Fandi A, Voi M (2008) Overcoming kinase resistance in chronic myeloid leukemia. Int J Biochem Cell Biol 40:334–343
57. Lee J, Ebeler SE, Zweigenbaum JA, Mitchell AE (2012) UHPLC-(ESI)QTOF MS/MS profiling of quercetin metabolites in human plasma postconsumption of applesauce enriched with apple peel and onion. J Agric Food Chem 60:8510–8520
58. Lee KW, Kang NJ, Heo YS, Rogozin EA, Pugliese A, Hwang MK, Bowden GT, Bode AM, Lee HJ, Dong Z (2008) Raf and MEK protein kinases are direct molecular targets for the chemopreventive effect of quercetin, a major flavonol in red wine. Cancer Res 68:946–955
59. Leonarduzzi G, Testa G, Sottero B, Gamba P, Poli G (2010) Design and development of nanovehicle-based delivery systems for preventive or therapeutic supplementation with flavonoids. Curr Med Chem 17:74–95
60. Li C, Liu X, Lin X, Chen X (2009) Structure-activity relationship of 7 flavonoids on recombinant human protein kinase CK2 holoenzyme. Zhong Nan Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban 34:20–26
61. Li H, Zhao X, Ma Y, Zhai G, Li L, Lou H (2009) Enhancement of gastrointestinal absorption of quercetin by solid lipid nanoparticles. J Control Release 133:238–244
62. Lionberger JM, Wilson MB, Smithgall TE (2000) Transformation of myeloid leukemia cells to cytokine independence by Bcr-Abl is suppressed by kinase-defective Hck. J Biol Chem 275:18581–18585
63. Lolli G, Cozza G, Mazzorana M, Tibaldi E, Cesaro L, Donella-Deana A, Meggio F, Venerando A, Franchin C, Sarno S, Battistutta R, Pinna LA (2012) Inhibition of protein kinase CK2 by flavonoids and tyrphostins. A structural insight. Biochemistry 51:6097–6107
64. Manach C, Morand C, Crespy V, Demigne C, Texier O, Regerat F, Remesy C (1998) Quercetin is recovered in human plasma as conjugated derivatives which retain antioxidant properties. FEBS Lett 426:331–336
65. Manach C, Williamson G, Morand C, Scalbert A, Remesy C (2005) Bioavailability and bioefficacy of polyphenols in humans. I. Review of 97 bioavailability studies. Am J Clin Nutr 81:230S–242S
66. McAnlis GT, McEneny J, Pearce J, Young IS (1999) Absorption and antioxidant effects of quercetin from onions, in man. Eur J Clin Nutr 53:92–96
67. Meggio F, Pinna LA (2003) One-thousand-and-one substrates of protein kinase CK2? FASEB J 17:349–368
68. Murota K, Terao J (2003) Antioxidative flavonoid quercetin: implication of its intestinal absorption and metabolism. Arch Biochem Biophys 417:12–17
69. Nagasaka Y, Nakamura K (1998) Modulation of the heat-induced activation of mitogen-activated protein (MAP) kinase by quercetin. Biochem Pharmacol 56:1151–1155
70. Nair HB, Sung B, Yadav VR, Kannappan R, Chaturvedi MM, Aggarwal BB (2010) Delivery of antiinflammatory nutraceuticals by nanoparticles for the prevention and treatment of cancer. Biochem Pharmacol 80:1833–1843
71. Natarajan K, Manna SK, Chaturvedi MM, Aggarwal BB (1998) Protein tyrosine kinase inhibitors block tumor necrosis factor-induced activation of nuclear factor-kappaB, degradation of IkappaBalpha, nuclear translocation of p65, and subsequent gene expression. Arch Biochem Biophys 352:59–70
72. Nguyen TT, Tran E, Nguyen TH, Do PT, Huynh TH, Huynh H (2004) The role of activated MEK-ERK pathway in quercetin-induced growth inhibition and apoptosis in A549 lung cancer cells. Carcinogenesis 25:647–659
73. NTP (1992) Toxicology and carcinogenesis studies of quercetin (CAS No., 117-39-5) in F344/N rats (feed study). NTP technical report. National Toxicology Program (NTP), Research Triangle Park, North Carolina

74. Okamoto T (2005) Safety of quercetin for clinical application (review). Int J Mol Med 16:275–278
75. Olthof MR, Hollman PC, Buijsman MN, van Amelsvoort JM, Katan MB (2003) Chlorogenic acid, quercetin-3-rutinoside and black tea phenols are extensively metabolized in humans. J Nutr 133:1806–1814
76. Olthof MR, Hollman PC, Vree TB, Katan MB (2000) Bioavailabilities of quercetin-3-glucoside and quercetin-4′-glucoside do not differ in humans. J Nutr 130:1200–1203
77. Peet GW, Li J (1999) IkappaB kinases alpha and beta show a random sequential kinetic mechanism and are inhibited by staurosporine and quercetin. J Biol Chem 274:32655–32661
78. Ponce DP, Maturana JL, Cabello P, Yefi R, Niechi I, Silva E, Armisen R, Galindo M, Antonelli M, Tapia JC (2011) Phosphorylation of AKT/PKB by CK2 is necessary for the AKT-dependent up-regulation of beta-catenin transcriptional activity. J Cell Physiol 226:1953–1959
79. Prior RL (2003) Fruits and vegetables in the prevention of cellular oxidative damage. Am J Clin Nutr 78:570S–578S
80. Ranawat P, Pathak CM, Khanduja KL (2012) A new perspective on the quercetin paradox in male reproductive dysfunction. Phytother Res
81. Rayasam GV, Tulasi VK, Sodhi R, Davis JA, Ray A (2009) Glycogen synthase kinase 3: more than a namesake. Br J Pharmacol 156:885–898
82. Russo GL (2007) Ins and outs of dietary phytochemicals in cancer chemoprevention. Biochem Pharmacol 74:533–544
83. Russo M, Palumbo R, Mupo A, Tosto M, Iacomino G, Scognamiglio A, Tedesco I, Galano G, Russo GL (2003) Flavonoid quercetin sensitizes a CD95-resistant cell line to apoptosis by activating protein kinase Calpha. Oncogene 22:3330–3342
84. Russo M, Palumbo R, Tedesco I, Mazzarella G, Russo P, Iacomino G, Russo GL (1999) Quercetin and anti-CD95(Fas/Apo1) enhance apoptosis in HPB-ALL cell line. FEBS Lett 462:322–328
85. Russo M, Spagnuolo C, Tedesco I, Bilotto S, Russo GL (2012) The flavonoid quercetin in disease prevention and therapy: facts and fancies. Biochem Pharmacol 83:6–15
86. Russo M, Spagnuolo C, Tedesco I, Russo GL (2010) Phytochemicals in cancer prevention and therapy: truth or dare? Toxins (Basel) 2:517–551
87. Ruzzene M, Pinna LA (2010) Addiction to protein kinase CK2: a common denominator of diverse cancer cells? Biochim Biophys Acta 1804:499–504
88. Santillo M, Mondola P, Seru R, Annella T, Cassano S, Ciullo I, Tecce MF, Iacomino G, Damiano S, Cuda G, Paterno R, Martignetti V, Mele E, Feliciello A, Avvedimento EV (2001) Opposing functions of Ki- and Ha-Ras genes in the regulation of redox signals. Curr Biol 11:614–619
89. Sarno S, de Moliner E, Ruzzene M, Pagano MA, Battistutta R, Bain J, Fabbro D, Schoepfer J, Elliott M, Furet P, Meggio F, Zanotti G, Pinna LA (2003) Biochemical and three-dimensional-structural study of the specific inhibition of protein kinase CK2 by [5-oxo-5,6-dihydroindolo-(1,2-a)quinazolin-7-yl]acetic acid (IQA). Biochem J 374:639–646
90. Scalbert A, Williamson G (2000) Dietary intake and bioavailability of polyphenols. J Nutr 130:2073S–2085S
91. Schneider H, Schwiertz A, Collins MD, Blaut M (1999) Anaerobic transformation of quercetin-3-glucoside by bacteria from the human intestinal tract. Arch Microbiol 171:81–91
92. Shirai M, Moon JH, Tsushida T, Terao J (2001) Inhibitory effect of a quercetin metabolite, quercetin 3-O-beta-D-glucuronide, on lipid peroxidation in liposomal membranes. J Agric Food Chem 49:5602–5608
93. Sicheri F, Moarefi I, Kuriyan J (1997) Crystal structure of the Src family tyrosine kinase Hck. Nature 385:602–609

94. Silberberg M, Morand C, Manach C, Scalbert A, Remesy C (2005) Co-administration of quercetin and catechin in rats alters their absorption but not their metabolism. Life Sci 77:3156–3167
95. Spagnuolo C, Russo M, Bilotto S, Tedesco I, Laratta B, Russo GL (2012) Dietary polyphenols in cancer prevention: the example of the flavonoid quercetin in leukemia. Ann N Y Acad Sci 1259:95–103
96. Spencer JP, Kuhnle GG, Williams RJ, Rice-Evans C (2003) Intracellular metabolism and bioactivity of quercetin and its in vivo metabolites. Biochem J 372:173–181
97. Spencer JP, Rice-Evans C, Williams RJ (2003) Modulation of pro-survival Akt/protein kinase B and ERK1/2 signaling cascades by quercetin and its in vivo metabolites underlie their action on neuronal viability. J Biol Chem 278:34783–34793
98. Sporn MB, Suh N (2002) Chemoprevention: an essential approach to controlling cancer. Nat Rev Cancer 2:537–543
99. Sun ZJ, Chen G, Hu X, Zhang W, Liu Y, Zhu LX, Zhou Q, Zhao YF (2010) Activation of PI3K/Akt/IKK-alpha/NF-kappaB signaling pathway is required for the apoptosis-evasion in human salivary adenoid cystic carcinoma: its inhibition by quercetin. Apoptosis 15:850–863
100. Surh YJ (2003) Cancer chemoprevention with dietary phytochemicals. Nat Rev Cancer 3:768–780
101. Tedesco I, Russo M, Russo GL (2010) Commentary on 'resveratrol commonly displays hormesis: occurrence and biomedical significance'. Hum Exp Toxicol 29:1029–1031
102. Terao J, Murota K, Kawai Y (2011) Conjugated quercetin glucuronides as bioactive metabolites and precursors of aglycone in vivo. Food Funct 2:11–17
103. Torres J, Pulido R (2001) The tumor suppressor PTEN is phosphorylated by the protein kinase CK2 at its C terminus. Implications for PTEN stability to proteasome-mediated degradation. J Biol Chem 276:993–998
104. Vargas AJ, Burd R (2010) Hormesis and synergy: pathways and mechanisms of quercetin in cancer prevention and management. Nutr Rev 68:418–428
105. Walker EH, Pacold ME, Perisic O, Stephens L, Hawkins PT, Wymann MP, Williams RL (2000) Structural determinants of phosphoinositide 3-kinase inhibition by wortmannin, LY294002, quercetin, myricetin, and staurosporine. Mol Cell 6:909–919
106. Weng CJ, Chen MJ, Yeh CT, Yen GC (2011) Hepatoprotection of quercetin against oxidative stress by induction of metallothionein expression through activating MAPK and PI3K pathways and enhancing Nrf2 DNA-binding activity. N Biotechnol 28:767–777
107. Yao P, Nussler A, Liu L, Hao L, Song F, Schirmeier A, Nussler N (2007) Quercetin protects human hepatocytes from ethanol-derived oxidative stress by inducing heme oxygenase-1 via the MAPK/Nrf2 pathways. J Hepatol 47:253–261
108. Young JF, Nielsen SE, Haraldsdottir J, Daneshvar B, Lauridsen ST, Knuthsen P, Crozier A, Sandstrom B, Dragsted LO (1999) Effect of fruit juice intake on urinary quercetin excretion and biomarkers of antioxidative status. Am J Clin Nutr 69:87–94
109. Zhang S, Yu D (2012) Targeting Src family kinases in anti-cancer therapies: turning promise into triumph. Trends Pharmacol Sci 33:122–128

Sulforafan: Kanserle Savaşta Ümit Vadeden Bir Molekül

Monia Lenzi, Carmela Fimognari ve Patrizia Hrelia

Özet

Kanser apoptoz, proliferasyon, invazyon, anjiogenez ve metastazın transforme ve deregüle olduğu genetik ve moleküler değişimlerle seyreden kompleks bir hastalıktır. Tümör büyümek ve metastaz yapabilmek için konağa ihtiyaç duyar. Hücre disfonksiyonuna ilave olarak, tümör mikroçevresinin primer disfonksiyonu da karsinogenez için hayati önem taşıyabilir. Çok sayıda fitokimyasalın birçok önemli hedefi (nonspesifik olarak) eş zamanlı olarak inhibe ve modüle etme potansiyelleri vardır. Kanserde çok büyük biyolojik farklılıklar görülmesi nedeniyle pleiotropizm avantajlı hale getirebilir. Bu nedenle özellikle diyet kaynaklı bileşiklerde bulunan fitokimyasallar klinik çalışmalarda kemopreventif ve ya kemoterapötik ajanlar olarak önerilmekte ve araştırılmaktadır. Sulforafan (SFN) turpgiller ailesine ait sebzelerde bulunan bir izotiyosiyanattır. Hücre kültüründe, karsinojenle indüklenen genetik hayvan kanser modellerinde ve ksenogreft kanser modellerinde kullanılan SFN'nin etkili bir kemoprotektif ajan olduğu ispatlanmıştır. SFN farklı moleküler hedeflerin modülasyonu ile yönetilen potent sitostatik ve sitotoksik etkileri güçlendirmektedir. Hücrelerin SFN medyatörlüğündeki apoptoza duyarlılığı hücre döngüsüne bağımlı mekanizmaların regülasyonuna bağlıdır. Ancak p53 statüsünün mutasyonundan bağımsızdır. Ayrıca SFN'nin in vitro ortamda sitotoksik tedavi ile kombinasyonunun

C. Fimognari
Dipartimento di Scienze per la Qualità della Vita, University of Bologna, Via Corso dAugusto 237, 47921, Rimini, Italy

M. Lenzi · P. Hrelia (✉)
Dipartimento di Farmacia e Biotecnologie, University of Bologna, Via Belmeloro 6, 40126, Bologna, Italy
e-mail: patrizia.hrelia@unibo.it

V. Zappia et al. (eds.), *Advances in Nutrition and Cancer,*
Cancer Treatment and Research 159, DOI: 10.1007/978-3-642-38007-5_12,
© Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2014

kemoterapi medyatörlüğündeki sitotoksik etkiyi de güçlendirmesi, klinikteki potansiyel terapötik faydalarının göstergesidir. Güvenli ve etkili bir molekül olan SFN kanserle savaşta ümit vadeden bir kemopreventif araç olabilir.

Anahtar Kelimeler

Sulforafan • İzotiyosiyanatlar • Faz I ve II enzimleri • Anjiogenez • Metastatik süreç

Kısaltmalar

SFN	Sulforafan
ITC'ler	İzotiyosiyanatlar
CYP	Sitokrom P450
GST	Glutatyon-S-transferaz
UGT	UDP-glukuronoziltransferaz
NQO1	NAD(P)H: kuinon oksiredüktaz 1
Keap 1	Kelch benzeri ECH ile ilişkili protein 1
GSH	Glutatyon
HCA	Heterosiklik aminler
PhIP	2-amino-1-metil-6-fenilimidazol [4, 5-b] piridin
CDK	Sikline bağımlı kinaz
HDAC	Histon deasetilaz
VEGF	Vasküler endotelyal büyüme faktörü
MMP	Metaloproteaz
Nrf2	Nükleer faktör (eritroid-kaynaklı 2)-benzeri 2
Hif-1 α	Hipoksi ile indüklenebilir faktör-1 α
HO-1	Heme oksijenaz-1
ARE	Antioksidan cevap elementi

İçindekiler

1 Giriş 209
2 Karsinogenetik Prosesin Modülasyonu 210
2.1 Başlangıç Fazının Modülasyonu 210
2.2 Gelişim Fazının Modülasyonu 213
2.3 Progresyon Fazının Modülasyonu 216
3 Sonuçlar 217
Referanslar 218

1 Giriş

Geleneksel olarak çoğunlukla Batı ülkelerini etkilediği düşünülen bir hastalık olan kanser, günümüzde gelişmekte olan ülkelerde yaşayan toplumlarda da yayılmaktadır. Daha yüksek refah seviyesine sahip Batı ülkelerinin çoğunlukla daha fazla kanserojen maruziyetine yol açan diyet ve hayat tarzları ile tarihsel geçmişe dayanan yaygın sigara kullanımı bu ülkelerdeki kanserin yüksek insidansının altında yatan nedendir. Ancak artan endüstrileşme ve zenginleşmenin gelişmekte olan ülkelerdeki sosyal alışkanlıkların hızla değişmeye başlamasını sağlayarak kanser insidans oranlarının endüstrileşmiş ülkelerdeki oranlara ulaşmasına neden olması kanseri dünya çapında bir problem haline getirmiştir [72].

Genetik veya epigenetik birçok nedenden kaynaklanan hücresel bir hastalık olan kanser, hücre homeostazında değişimlere yol açarak hücre büyüme ve proliferasyonunun kontrolünün kaybına yol açar.

Son derece kompleks bir proses olan tümör gelişiminin ilk aşaması normal hücrelerdeki kritik genlerdeki mutasyonların akümülasyonudur. Deneysel olarak çok basamaklı proses olarak tanımlanan birçok olaydan oluşur. Bunlardan en az üç fazın tanımlanması mümkündür: Başlangıç, gelişim ve progresyon.

Başlangıç fazı hücresel genomun hasarı ile karakterize akut bir olaya işaret eder. Hasar uygun bir biçimde tamir edilmez ise hücre replikasyonu sonrası stabil ve irreversibl bir mutasyon haline dönüşür. Kanseri başlatan hücre organizmanın kontrol sistemlerinden bağımsızlaşarak kendi başına büyüme potansiyeline sahip olur.

Gelişim fazındaki hücreler epigenetik mekanizmalardan kaynaklanan yoğun bir proliferatif stimulus ile karakterizedir. Kimyasalların tümör gelişimini destekleyen aktivitelerinin oksidatif stresin indüksiyonu, hücre proliferasyonunun stimulasyonu, preneoplastik lezyonların gelişimi ve spontan hücre ölümünün inhibisyonu yoluyla gerçekleştiği varsayılmaktadır. Bu evrede prolifere olan hücre klonları benign bir tümör görünümündedirler. Hücre kütlesi grup halinde bulunur ve düzenlidir.

Progresyon, malign fenotipin ortaya çıkması ile karakterize olan üçüncü evredir. Bu evrede bazı hücreler tümör kütlesinden ayrılabilir, yakındaki dokuları istila edebilir, kan dolaşımına veya lenf damarlarına infiltre olabilir ve kanserin başlangıç yerinin uzağında sekonder kanserlerin gelişimine neden olabilirler [87].

Kansere karşı savaşı kazanmanın tek yolu tüm evreleri ile mücadele etmektir. Bu nedenle iyi bir kemopreventif ajanın başlangıç, gelişim ve progresyonu kapsayacak şekilde, karsinogenezin tüm evrelerini modüle edebilme yeteneğine sahip olması gerekmektedir. Bu bağlamda, izotiyosiyanatlar (ITC) gibi turpgillerden elde edilen (Brüksel lahanası, brokoli, karnıbahar ve lahana) gibi doğal ürünler karsinogenetik süreçte rol oynayan birçok hedefi modüle edebilme yetenekleri nedeniyle büyük ilgi çekmektedirler. ITC'ler gıdalardaki glukozinolatların prosesleri ve çiğnenmeleri ile oluşur. Bu bitki ailesinin sekonder metabolitlerinin herhangi bir biyolojik aktivitesi yoktur. Glukorafaninin hidrolizi ile elde edilen bir ITC olan SFN brokolide bol miktarda bulunur. SFN karsinogenetik prosesin farklı düzeylerinde etkili olabilme yeteneğinden dolayı özel ilgi çekmektedir [62].

2 Karsinogenetik Prosesin Modülasyonu

SFN'nin günümüzde ispat edilmiş olan kemopreventif aktivitesi karsinogenezin tüm farklı evrelerini inhibe edebilme, geriye çevirebilme veya geciktirebilme yeteneğinden kaynaklanmaktadır: Başlangıç, gelişim ve progresyon (Şekil 1). SFN başlangıç fazını, hem prokarsinojenlerin karsinojenlere metabolik aktivasyonunu faz I metabolizmasını engelleyerek hem de faz II metabolizmasını indükleyerek karsinojenlerin detoksifikasyonunu destekleyerek modüle etmektedir. Böylece DNA'yı mutajenik bileşiklerin saldırılarından korur. SFN ayrıca hücre döngüsünü geciktirerek ve/veya durdurarak veya apoptozu indükleyerek ortaya çıkan sitostatik ve sitotoksik etkileri ile transforme olan hücrelerin klonal yayılımını engelleyerek gelişim fazını modüle edebilir.

SFN son olarak, anjiogenezi, benign tümörün malign hale dönüşümünü ve metastatik prosesi de inhibe ederek progresyon fazını modüle edebilir.

2.1 Başlangıç Fazının Modülasyonu

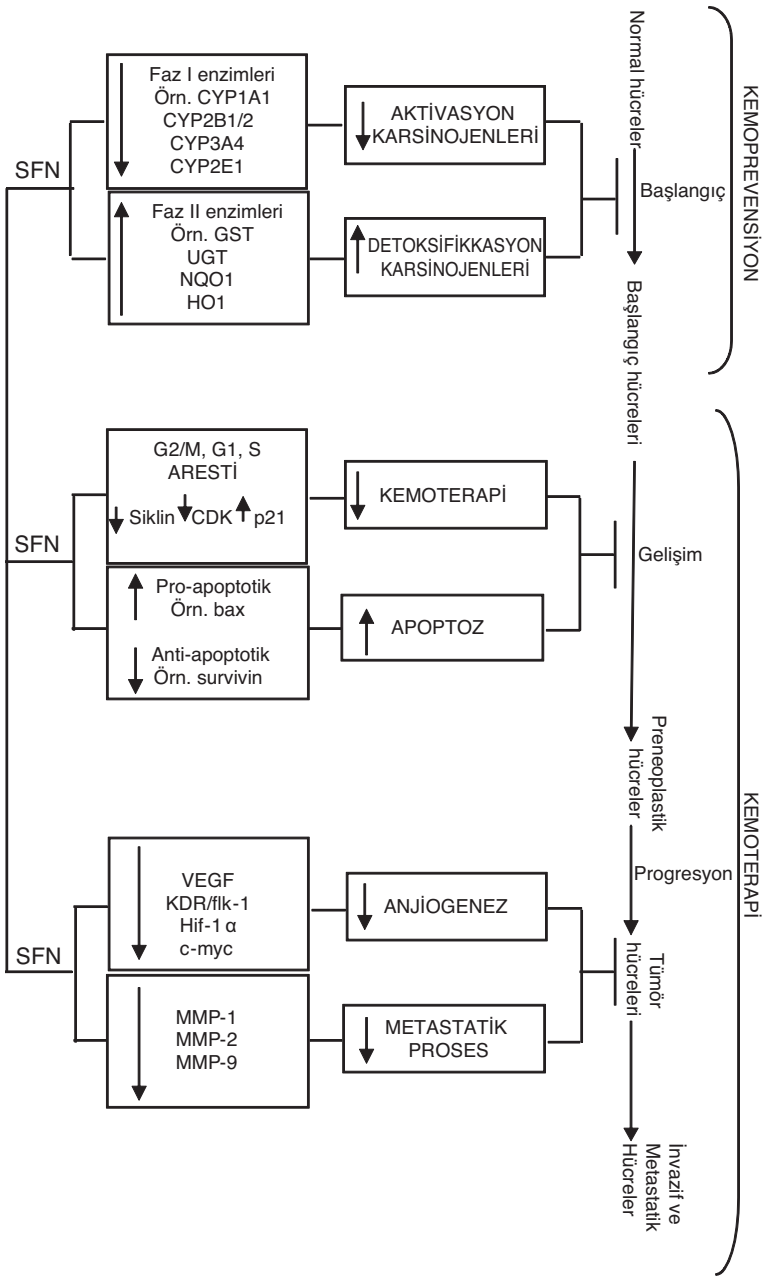
2.1.1 Faz I Enzimlerinin İnhibisyonu

Kimyasal yoldan indüklenen karsinogenezi bloke etmenin temel basamaklarından birisi faz I enzimlerinin inhibe edilmesidir. Bu enzimlerin rol oynadığı kimyasal reaksiyonlar (oksidasyon, redüksiyon ve hidroliz) genel olarak detoksifikasyona yol açsalar da, karsinojenlerin biyoaktivasyonunda da rol oynarlar. Diyette bulunan ve çevresel karsinojenlerin hemen hepsi gerçekte prokarsinojenlerdir. Bunlar ilaçları metabolize eden enzimler tarafından yüksek oranda aktif olan ve makromolekülleri (DNA, RNA ve protein) bağlayabilen aracılara biyoaktive olabilirler. Bu olaylar primer olarak sitokrom P450 (CYP) enzimleri tarafından katalize edilir. Bu nedenle ekspresyonlarını ve fonksiyonlarını modüle edebilen bileşikler, karsinogenetik prosesin engellenmesinde önemli olabilir. Faz I metabolizması SFN tarafından modüle edilebilir. Birçok çalışmada CYP aktivitesini direkt etkileşim ya da mRNA düzeylerinin regülasyonu ile regüle edebildiği gösterilmiştir. Örneğin, SFN sıçan hepatositlerindeki CYP'ler olan 1A1 ve 2b1/2'yi doza bağlı olarak inhibe eder. İnsan hepatositlerindeki CYP3A4 aktivitesini de CYP3A4 mRNA düzeylerini regüle ederek belirgin biçimde azaltır [59]. SFN aseton uygulanan sıçan karaciğerinin mikrozomlarındaki CYP2E1'in de yarışmalı inhibitörüdür. SFN heterosiklik aminlerin metabolik aktivasyonunda rol oynayan CYP1A2'yi etkilemez [4, 19].

Genel olarak, SFN'nin çeşitli CYP'leri inhibe edebilen ve buna bağlı olarak prokarsinojenlerin aktivasyonunu azaltabilen bir ajan olduğu söylenebilir.

2.1.2 Faz II Enzimlerinin İndüksiyonu

SFN, çok sayıda literatürde de bildirildiği üzere, epoksit hidrolaz, ferritin, glutatyon peroksidaz, glutatyon redüktaz, glutamat-sistein sentetaz [94], glutatyon-S-transferaz (GST) [93], heme oksijenaz-1 (HO-1) [18], tieordoksin redüktaz [3], ve UDP-glukuronoziltransferaz (UGT) 1A [6] gibi faz II enzimlerinin hem in vivo hem de in



Şekil 1 SFN karsinogenetik sürecin üç farklı fazını farklı moleküler hedefleri modüle ederek hem kemopreventif hem de kemoterapötik ajan olarak etki göstererek etkiler.

vitro ortamdaki en güçlü indükleyicilerinden biridir. Örneğin, SFN insan hepatom hücrelerindeki HepG2'deki NAD(P)H:kuinon oksidoredüktaz 1'in (NQO1) [46] aktivitesini ve bilirübin glukuronidasyonunu artırır [6]. SFN ayrıca mürin Hepa1c1c7'deki GST ve NQO1 aktivitesini artırıp [46, 60], sıçan hepatositlerindeki GSTA1/2 ve GSTP1 mRNA düzeylerini yukarı regüle ederken, insan primer hepatositlerindeki GSTA1/2 ve GSTM1'in mRNA düzeylerini indükler [59]. SFN ayrıca kolon ve prostat kanser hücre dizilerindeki faz II metabolizmasını da artırma yeteneğine sahiptir. Özellikle, hem farklılaşmış HT29'da [6] hem de farklılaşmamış CaCo-2 hücrelerindeki [88] GSTA1 ve UGT1A1 aktivitesini doz ve zamana bağlı olarak artırır. SFN insan prostat hücrelerindeki GSTA1 ve NQO1 mRNA düzeylerini ve GST ve NQO1 aktivitesini artırmaktadır [9]. SFN insan hepatom hücrelerindeki ve hepatositlerindeki HepG2'deki 2-amino-1-metil-6-fenilimidazol[4,5-b]piridin (PhIP)-DNA eklentilerini doza bağlı olarak ve muhtemelen UGT1A1 ve GSTA1 mRNA ekspresyonunun indüksiyonu ile anlamlı olarak azaltır [2].

İn vivo çalışmalarda SFN'nin faz II enzimlerinin potent bir indükleyicisi olduğu konfirme edilmiştir. Oral SFN uygulanan sıçan dokularındaki GST ve NQO1 aktiviteleri artmaktadır. SFN uygulanan sıçanların mide, duodenum, mesane [64], karaciğer, kolon ve pankreasındaki [60] NQO1 ve GST aktiviteleri de artar.

SFN NQO1'in enzimatik aktivitesinde ve prostat, karaciğer ve en fazla da mesanedeki total GST düzeylerinde anlamlı artışa yol açar [47]. Faz II enzimlerinin indüksiyonu, SFN uygulanan ve deneysel olarak akciğer karsinogenezi indüklenen dişi İsviçre albino farelerinde pre- ve post- başlangıç fazı çalışmalarında yakın zamanda gösterilmiştir [48].

SFN'nin faz II enzimlerinin indüksiyonunu, antioksidan cevap elementleri (ARE) adı verilen spesifik DNA sekansları içeren genlerinin transkripsiyonunun stimüle ederek sağladığı düşünülmektedir [20, 63]. Bu güçlendirici sekansı içeren genler, sitoskeletal protein Kelch-benzeri ECH-ilişkili protein 1'e (Keap 1) bağlı sitoplazmada bulunan nükleer faktör (eritroid-kaynaklı 2)-benzeri 2'nin (Nrf2)transkripsiyonu ile regüle olurlar. Sitosolik redoks durumundaki değişime cevap olarak Keap 1 ve Nrf2 arasındaki bağı kırar. Buna bağlı olarak Nrf2 aktive olur ve protein ile bağlanır. Nrf2 çekirdeğe translokе olarak, ARE içeren genlerin transkripsiyonunu indükleyebilir. Nrf2 inaktif iken SFN tarafından indüklenen herhangi bir gen ekspresyonu gözlenmemiştir [21, 37, 38, 51, 68, 92].

Birçok çalışmada bu yolağın oksidatif strese karşı korunmada rol oynadığı ve kanser ve nörodejeneratif hastalıklar gibi kronik durumlar için etkili bir terapötik hedef olabileceği bildirilmiştir [55]. SFN indirekt bir antioksidan olarak kabul edilir. Çünkü hücreleri aşırı serbest radikal üretiminden donör veya elektron akseptörü olarak değil, faz II enzimlerinin ekspresyonunu ve glutatyonun (GSH) intraselüler düzeylerini modüle ederek korur. SFN'nin glutamilsistein sentetazın hafif zincirinin sentezini artırabilme yeteneği olduğu da ispatlanmıştır. Bu etki enzimin ağır zinciri için geçerli değildir. Bu enzim GSH sentezinin sınırlandırıcı bir basamağını katalizlemektedir [94].

Tüm kanıtlar bir arada değerlendirildiğinde SFN'nin karsinojen detoksifikasyonunu ve mutajenik olaylara karşı hücre savunmasını artırdığı görülmektedir.

2.1.3 DNA'nın Mutajenik Bileşiklerin Saldırısından Korunması

SFN farklı etki mekanizmaları kullanarak birçok karsinojenik bileşikle savaşabilme gücüne sahiptir. Örneğin, heterosiklik aminlere (HCA) maruziyet meme, kolon ve prostat kanseri gibi kanser türlerinin gelişimi ile ilişkilidir. İn vivo çalışmalarda SFN'nin HCA tarafından indüklenen mutajenezin potent bir inhibitörü olduğu gösterilmiştir [80].

İnsan hepatom hücrelerindeki HepG2'deki PhIP-DNA eklentileri, tedavide SFN ve PhIP'nin eş zamanlı kullanımı ile anlamlı olarak azalmıştır. Ancak önce PhIP uygulanan hücrelere sonrasında SFN uygulanması ile PhIP-DNA eklentilerinde bir azalma tespit edilmemiştir. Bu bulgu SFN'nin DNA tamirindeki enzimleri indüklemek yerine koruyucu etki yaptığını göstermektedir [46].

İnsan meme epitel hücrelerindeki MCD-10F'de, benzo(a)piren ve 1.6-dinitropiren maruziyeti sonrası oluşan DNA eklentilerinin oluşumu SNF tarafından inhibe edilmektedir [84]. SFN insan kolorektal hücrelerini benzo(a)piren tarafından indüklenen tek zincir DNA kırıklarına karşı korumaktadır [8]. SFN CYP2E1 ve CYP1A2 salgılayan insan karaciğer hücrelerini ise N-nitrozodimetilamin ve 2-amino-3-metilimidazo [4,5-f] kinolon tarafından indüklenen çift zincir kırıklarına karşı korur [5].

İnsan lenfositleri ile yapılan bir çalışmada SFN'nin dört farklı bileşiğin genotoksisitesini engellediği gösterilmiştir: Alkilleyici etil metanesulfonat, aneugen vinkristin, oksitleyici H_2O_2, alkilleyici ve oksitleyici mitomisin C. Etil metanesulfonat ve mitomisin C üzerindeki antigenotoksik aktivitesi apoptoz indükleyici etkisinden kaynaklanmaktadır. Kontrast olarak, vinkristin ve H_2O_2 uygulanan kültürlere SFN eklenmesi apoptotik hücre fraksiyonlarında bir artışa yol açmamıştır. Bu sonuç SFN'nin koruyucu etkisinin hücre proliferasyonunun inhibisyonu veya spesifik enzimlerin indüksiyonu gibi farklı bir mekanizmadan kaynaklanabileceğini düşündürmektedir [26].

İn vivo çalışmaların sonuçları net değildir. Gills ve ark. [34] klasik bir iki basamaklı karsinogenez protokolünde (başlangıç ve gelişim aşamalarındaki etkilerin birbirinden ayrıldığı) 7,12-dimetilbenz(a)antrasen'in öncesinde ve sonrasında topikal olarak SFN uygulanması ile tümör taşıyan farelerin yüzdesinin azalmadığını bildirmiştir. Ancak, Kuroiwa ve ark. [54] ise SFN'nin pankreatik kanallardaki atipik hiperplazinin insidansını ve hamster pankreatik karsinogenez modelindeki adenokarsinomların insidansını azalttığını bildirmişlerdir.

Bu sonuçlar SFN'nin ilginç bir antigenotoksik etkiye sahip olduğunu önermektedir. Ancak bu aktivite henüz tam olarak aydınlatılamamıştır.

2.2 Gelişim Fazının Modülasyonu

2.2.1 Sitostatik Etkiler

SFN çeşitli hücresel modellerindeki (prostat, kolon, meme, mesane ve T hücreleri) hücre döngüsü progresyonunu modüle edebilme ve çalışılan hücre dizisine, kullanılan teda-

vinin dozuna, maruziyetin süresine bağlı olarak hücreleri G1 [14, 77, 91], S [89] veya G2/M [40, 73, 74] fazında durdurabilme yeteneğine sahiptir. Bu etkiler siklinler, sikline bağımlı kinaz (CDK) ve CDK inhibitörlerinin modülasyonu ile ilişkilidir.

Özellikle, G2/M fazındaki hücre döngüsünün durdurulması (arrest), PC-3 ve DU-145 insan prostat kanseri hücrelerinde, HCT-116, HT29 ve Caco-2 insan kolon kanseri hücrelerinde [82], F311 mürin meme kanseri hücrelerinde [39], MCF-7 insan meme kanseri hücrelerinde [40], Jurkat insan T lösemi hücrelerinde [23, 25], U2-OS insan osteosarkom hücrelerinde [53], insan miyelom hücre dizilerinden oluşan panelde ve primer miyelom tümör hücrelerinde gözlenmiştir [43].

SFN'nin G2/M faz arrestini indükleyebilmesinde çeşitli mekanizmalar rol oynamaktadır. PC-3 prostat kanseri hücrelerinde siklin B1, Cdc25B ve Cdc25c seviyelerinde anlamlı azalma ile ilişkili iken, Tyr15-fosforile CDK1'de ise artış ile ilişkilidir. Bu olaylar SER-16'daki Cdc25c'nin hızlı ve sürekli fosforilasyonunu indükleyen ChK2 aktivasyonuna yol açarlar. Aynı Chk2'ye bağımlı G2/M arresti HCT-116 insan kolon kanseri hücrelerinde de görülmüştür [82]. SFN bunlara ek olarak, MCF-7 meme kanseri hücrelerinin mitotik fazda tubulin polimerizasyonunun inhibisyonuna bağlı olarak arrestine neden olurken [40], F311 meme kanseri hücrelerinin arresti ise anormal ve eksik mitotik mikrotubul formasyonuna bağlıdır [39].

G2/M faz arresti SFN tarafından indüklenen ana hücre döngü arresti olmasına rağmen, prostat ve kolon kanseri hücrelerinde diğer fazlarda da arrest görülmektedir. LnCap ve DU-145 insan prostat kanser hücrelerinde SFN uygulanması ile CDK4 aktivitesinin inhibisyonu sonucu G1 fazında total arrest, p21 ekspresyonunda artış ve siklin D1 ekspresyonunda azalma olmuştur [91]. Benzer şekilde HT29 kolon kanseri hücrelerinde de p21 düzeylerinde artma ve D1, siklin A ve c-myc düzeylerinde azalma sonrası G1 faz arresti meydana gelir [79].

Ayrıca UMUC insan mesane hücrelerinde SFN uygulaması ile S fazında arrest bildirilmiştir [89].

İn vivo bir çalışmada SFN'nin gelişim fazını hücre proliferasyonunu inhibe ederek durdurduğu net olarak gösterilmiştir. SFN topikal uygulamada 7, 12 dimetilbenz(a) antrasen/12-O-tetradekanolforbol 13-asetatın indüklediği fare deri tümörijenezini anlamlı düzeyde inhibe etmiştir [34].

Bu kanıtların ışığında SNP'nin hücre döngüsünü farklı moleküler mekanizmalarla modüle edebilen efektif bir sitostatik ajan olduğu gösterilmiştir.

2.2.2 Sitotoksik Etkiler

SFN'nin proapoptotik etkileri hücre spesifik değildir ve farklı hücre dizilerinde tanımlanmıştır.

İlk kanıt kolon kanseri hücrelerinde bildirilmiştir [32, 33, 42]. Daha sonra prostat kanseri hücrelerinde [14, 15, 81], medullablastom [35], meme [39, 75], over [12], pankreas [74], kan [23, 24], mesane [77, 89], cilt [61] hücreleri ile insan miyelom hücre dizilerinden oluşan bir panel ve primer miyelom tümör hücrelerinde [43] ve yüksek oranda metastatik B16F-10 melanom hücrelerinde bu etkinin varlığı bildirilmiştir [36].

Bu in vitro modellerde SFN'nin apoptozun özellikleri olan kromatin kondensasyonu, fosfatidilserinin plazma membranı boyunca translokasyonu ve DNA fragmantasyonunu indükleyebildiği gösterilmiştir. SFN hem intrinsik (mitokondri aracılığı ile) ve ekstrinsik (ölüm reseptörü aracılığı ile) yolaklardaki multipl hedefleri de aktive edebilmektedir. En sık görülen ve tedavisi en zor beyin tümörlerinden biri olan glioblastom hücrelerinin, SFN'ye kaspaza bağımlı ve kaspazdan bağımsız mekanizmalar ile indüklenen apoptotik hücre fraksiyonunda artış ile cevap vermeleri ilginçtir [52].

SFN'nin proapoptotik etkisi ile ilgili birçok çok moleküler mekanizma önerilmiştir: Cdc2 kinazın aktif formda korunması [39, 73], kaspaz gibi proapoptotik genlerin aktivasyonu [74], tubulin polimerizasyonunun blokajı [39], oksidatif stresin artışı [83], intraselüler antioksidanların azalması [74] ve nükleer faktör sinyal yolakları [45]. Lösemi hücreleri ile yapılan diğer çalışmalarda SFN tarafından indüklenen apoptozun bax seviyelerinde bir artış ile ilişkili olduğu bulunmuştur [23, 25]. SFN, PC-3 prostat kanser hücrelerindeki apoptozu PARP ayrışması ile destekler. Bu sonuç çıplak faredeki PC-3 ksenogreft çalışmasında apoptozisin bax ve bid gibi proapoptotik proteinlerde artış ile ilişkili bulunması ile konfirme edilmiştir [81].

HT29 kolon kanseri hücrelerindeki bax ekspresyonu, sitokrom c salınımı ve PARP ayrılması SFN ile artmıştır [33]. Miyelom hücrelerinde SFN uygulaması ile mitokondrial membran potansiyelinin azalması, kaspaz 3 ve 9 artışı ve Mcl-1, X-IAP, c-IAP ve survivin gibi antiapoptotik proteinlerin aşağı regülasyonu apoptozu indüklemiştir [43].

SFN, HeLa insan servikal karsinom ve HepG2 hepatokarsinom hücrelerindeki apoptozu kaspaz 3 aktivasyonu ile indüklemiştir [71]. SFN, T98G ve U87MG glioblastom hücrelerindeki apoptozu ise Ca^{2+} artışı, kalpain indüksiyonu ve Smac/Diablo'nun sitosolik yukarı regülasyonu ile indüklemiştir [52]. Primer kanser hücre dizileri kullanılarak SFN'nin kolorektal kanserdeki antikanser etkilerini inceleyen güncel bir çalışmada kaspaz 3 artışı, mitokondri membran potansiyelinin kaybı, pro-kaspaz 3 ayrışması ve kaspaz 2, 3, 8, 9 aktivitesinde artış gösterilmiştir [13].

Ayrıca PC-3 hücrelerindeki SFN'ye bağlı apoptozu indükleyen aktivatör protein 1'in regülasyonunda ERK ve JNK sinyal yolakları da rol oynamaktadır [92]. Jurkat T lösemi hücrelerinde yapılan çalışmalarda bu hücrelerin SFN tarafından indüklenen apoptoza en fazla G1 fazında duyarlı olduğu gösterilmiştir. G2/M fazındaki duyarlılık daha azken, en düşük duyarlılık S fazında gözlenmiştir [29]. SFN ayrıca sitodiferensiyasyona ve HL-60 insan promiyelositik hücrelerindeki hem granülositik, hem de makrofajik türler yönünde apoptotik hücre fraksiyonunda artışa yol açabilir. Bu etki fosfatidilinositol 3-kinaz/protein kinaz C aracılığında gerçekleşir [31]. Ayrıca HEK293 embriyonik böbrek hücreleri, HCT-116 insan kolon kanseri hücreleri [65], BPH-1, LnCaP ve PC-3 prostat epitel hücreleri ile yapılan çalışmalarda da SFN'nin histon deasetilazın (HDAC) aktivitesini inhibe edebilme özelliği tanımlanmıştır. BU SNF'nin proapoptotik etkisinin altında yatan yeni bir mekanizmadır [16, 67]. Bu bulgular oral SFN ile beslenen farelerde de, HDAC aktivitesinin anlamlı inhibisyonu ile birlikte eş zamanlı olarak asetile histonlar H3 ve H4'ün de arttığının tespit edilmesi ile konfirme edilmiştir [66].

SFN tarafından indüklenen apoptoz ilginç biçimde kanser hücrelerinden sıklıkla mutasyona uğrayan ve en önemli tümör baskılayıcı genlerden birisi olan p53'den bağımsız görünmektedir. HT29 kolon kanseri hücrelerinde SFN uygulanması ile p53 düzeyleri değişmemektedir [33]. Farklı p53 statülerine sahip (doğal, knock-out ve mutasyonlu) üç tip fibroblast ile yapılan çalışmalarda mutasyonlu p53'ün SFN'nin indüklediği apoptozu engellemediği gösterilmiştir. Bu da p53'ün farklı bir yolağı olduğunu düşündürmektedir [27, 28]. HCT-116 kolon kanser hücrelerinde SFN'ye bağlı apoptoz kaspaz 7 ve 9 ile hem doğal hem de knock-out hücrelerde artış ile ilişkilidir [70, 76].

Sonuç olarak SFN'nin kanser hücrelerindeki apoptozu farklı yolakların modülasyonu ile indükleyen efektif bir sitotoksik ajan olduğu gösterilmiştir.

2.3 Progresyon Fazının Modülasyonu

2.3.1 Anjiogenezin İnhibisyonu

Güncel çalışmalarda SFN'nin anjiogenezi etkilediği gösterilmiştir. Anjiogenez yeni kan damarı formasyonunun fizyolojik sürecidir. Normal doku büyümesi için hayati olan bu süreç tümör dokusunun da beslenme, yayılma ve metastaz yapmakta kullandığı mekanizmadır [10]. Bir kapiler ağı oluşturarak oksijen ve besin maddelerinin intratümöral kullanımını sağlayan bu damar formasyonu olmadan tümörün büyümesi sınırlı kalır ve kritik boyut olan 1-2 mm^2'ye ulaşamaz.

Anjiogenezin progresyonu tümör hücrelerinden vasküler endotelyal büyüme faktörü (VEGF) gibi belirli proanjiogenik moleküllerin salgılanmasını gerektirir.

SFN, in vitro HMC-1 insan mikrovasküler endotel hücrelerinde mikrokapilerlerin, kapiler benzeri tüplerin oluşumunu ve hücre migrasyonunu, VEGF ve reseptörü olan KDR/flk-1'i (transkripsiyon düzeyinde), hipoksi ile indüklenebilir faktör-1 α'yı (Hif-1 α), ve c-Myc'yı inhibe ederek azaltır [7]. Anjiogenez modeli olarak HUVEC insan umblikal ven endotelyal hücrelerinin kullanıldığı çalışmada SFN'nin kan damar gelişimini engellediği ve endotel hücrelerinin proliferasyonunda doza bağlı azalmayı indüklediği gösterilmiştir [1]. Anjiogenezin proliferasyon supresyonu ile engellenmesi de sığır aort endotel hücrelerinde gözlenmiştir [41].

Bu bulguların bir arada değerlendirilmesi ile SFN'nin anjiogenezin tüm önemli basamaklarını modüle edebilme yeteneği olduğu görülmektedir.

2.3.2 Benign Tümörlerin Malign Tümörlere Dönüşümünün Engellenmesi

Çeşitli hayvan modellerinde SFN'in in vivo antitümör özellikleri değerlendirilmiştir. SFN akciğer [17], pankreas [54], cilt [34, 82] ve mide [21] gibi organlarda farklı karsinojenik bileşiklerle indüklenen tümörlerin gelişimini özellikle erken evrelerdeki tümör gelişimini modüle ederek inhibe edebilme yeteneğine sahiptir.

Ayrıca bazı farklı çalışmalarda da SFN'nin tütün karsinojenleri tarafından indüklenen akciğer adenomunun malign progresyonunu önlediği gösterilmiştir. Ayrıca 4-(metilnitrozoamino)-1-(3-piridil)-1-butanon ve benzo(a)piren uygulanan A/J farelerinde yapılan histopatolojik incelemede akciğer kanserinin malign progresyonunda anlamlı bir azalma tespit edilmiştir. SFN'nin inhibitör aktivitesi hücre proliferasyonunda azalma, apoptozda artma ve muhtemelen de kaspaz 3 modülasyonu ile ilgilidir [17].

2.3.3 Metastatik Prosesin İnhibisyonu

Metastaz yapabilme malign tümörlerin sahip olduğu özelliklerden birisidir. Metastatik proses kanser hücrelerinin kan veya lenf sistemi ile geliştikleri organdan diğer organlara ardışık olaylar serisi ile sıçramalarını sağlar.

Hastanın kişisel özelliklerine (genel durum ve immun cevap yeteneği) ve tümör hücrelerinin spesifik özelliklerine (lokasyon, boyut ve histopatolojik karakteristikler) bağlı olarak gerçekleşen biyolojik bir olaydır [22, 57, 69].

Tümörün lokal olarak yayılması, adipoz doku ve kıkırdak gibi çevre dokulardaki hücreleri parçalayan enzimlerin salınımı ile başlar. Tümör hücreleri kan ve lenf damarları ile karşılaşınca, bunların duvarlarını delerek kan veya lenf dolaşımına geçip vücut boyunca yayılabilme yeteneğine sahiptir [56, 58].

SFN, C57BL/6 faresinde B16F-10 ile indüklenen yüksek oranda metastatik melanom hücrelerinin akciğere metastaz yapmasını inhibe edici etki göstermektedir. Ayrıca pulmoner fibroz markerlerinde ve hücresel proliferasyon markerlerinde anlamlı azalmaya ve metastaz görülen hayvanlardaki sağkalımın da uzamasına neden olmuştur [90]. Bu etkileri sağlayan mekanizma, ekstraselüler matriksin komponentlerinin çoğunu imha ederek hücre invazyonuna ve metastaz formasyonuna yol açan endoproteinaz ailesinden metaloproteaz (MMP) 2 ve 9'un aktivasyonunun inhibisyonudur [11, 85]. Metaloproteazlar ayrıca neoplastik progresyonu destekleyen sitokinler ve büyüme faktörleri gibi belirli unsurları da modüle edebilirler [95]. SFN, oral karsinom hücrelerinin migrasyonunu ve invazyonunu MMP-1 ve MMP-2'yi [44] aşağı regüle ederek engeller. Ayrıca dişi atimik farelerdeki KPL-1 insan meme kanseri hücrelerinin aksiller lenf nodu metastazını da azalttığı gösterilmiştir [50].

3 Sonuçlar

Kanser birçok genetik ve moleküler değişimlerle karakterize aşırı derecede kompleks bir hastalıktır. Bu moleküler değişimler yeni farmakolojik stratejilerin geliştirilebilmesindeki potansiyel hedefleri oluşturmaktadır. Bir tümörü karakterize eden aşırı kompleks biyolojik özellikler göz önüne alındığında kullanılabilecek ümit vadeden stratejilerden bir tanesi kritik hedefleri eş zamanlı olarak inhibe veya modüle edebilen nonspesifik ajanların kullanımına dayanmaktadır. Bitkisel ürünler bu bağlamda kullanılabilecek çok hedefli bileşikler sunan ilginç bir kaynaktır. Ümit vadeden bir kemopreventif ajan olan

SFN, 1992 yılında faz II enzimlerinin önemli bir indükleyicisi olarak lanse edilmiştir. Bu ITC ile yapılan geniş kapsamlı çalışmalarda, SFN'in önemli kemoterapötik yaklaşımlara temel oluşturabilecek farklı özelliklere de sahip olduğu tespit edilmiştir. SFN gerçekten de farklı in vitro ve in vivo modellerde proliferasyonu inhibe edip apoptozu ve sitodiferensiyasyonu indükleyebilme özelliği göstermiştir. Birçok tümör hücresinin prolifere olamayan erişkin hücre geliştirebilme yeteneklerinde değişimler mevcuttur. SFN'nin terminal farklılaşmayı indükleyebilme özelliği replikasyon kapasitesi olmayan veya çok az olan hücrelerin oluşumuna neden olur. Bu hücreler sonrasında apoptoz sürecine girmek zorunda kalırlar [86]. Farklılaşma bu nedenle geleneksel antikanser ajanlara karşı bir alternatif teşkil etmektedir. SFN ayrıca ümit vadeden bir antianjiogenik ajan olup kanser hücrelerinin metastaz yapmasını inhibe edebilme yeteneğine sahiptir. Günümüzde mevcut ajanlar arasında kanser hücrelerinin metastazını engelleyebilen bir ilaç mevcut değildir [90]. Bu durum çok sayıda veya tek bir metastazdaki kanser hücrelerinin kemoterapiye farklı cevaplar vermesinden kaynaklanmaktadır.

Yeni veriler SFN'in p53'ün mutasyona uğradığı veya knockout olduğu hücrelerdeki apoptozisi indükleme yeteneği olduğunu göstermektedir. Klasik kemoterapötik ajanların çoğunun etki gösterebilmek için normal p53 varlığına ihtiyaç duydukları göz önüne alındığında, karşımıza ilginç ve önemli bir klinik uygulama alanı çıkmaktadır. Buna paralel olarak SFN'nin diğer kemoterapötik ajanların etkinliğini artırma ve gelişen rezistansı önleme yeteneğinin vurgulanması da önemlidir [28, 30, 49].

Ayrıca yeni moleküllerin geliştirilmesinde aranan tek özellik etkinlik değildir. Daha büyük ölçekli çalışmalara ihtiyaç olmasına rağmen, SFN'nin insanlarda genotoksisiteye yol açmadığı göz önüne alındığında [26], olumlu bir toksikolojik profile, tolerabilitiye ve güvenliğe sahip olduğu aşikardir [78].

Yukarıda da bahsedildiği üzere SFN'nin etkili ve güvenli bir kemopreventif molekül ve kanserle mücadelede ümit vadeden bir alternatif olduğu güncel literatürde net olarak ortaya koyulmaktadır.

Referanslar

1. Asakage M, Tsuno NH, Kitayama J et al (2006) Sulforaphane induces inhibition of human umbilical vein endothelial cells proliferation by apoptosis. Angiogenesis 9:83–91
2. Bacon JR, Williamson G, Garner RC et al (2003) Sulforaphane and quercetin modulate PhIP-DNA adduct formation in human HepG2 cells and hepatocytes. Carcinogenesis 24:1903–1911
3. Bacon JR, Plumb GW, Howie AF et al (2007) Dual action of sulforaphane in the regulation of thioredoxin reductase and thioredoxin in human HepG2 and Caco-2 cells. J Agric Food Chem 55:1170–1176
4. Barcelo S, Gardiner JM, Gescher A et al (1996) CYP2E1-mediated mechanism of antigenotoxicity of the broccoli constituent sulforaphane. Carcinogenesis 17:277–282
5. Barcelo S, Mace K, Pfeifer AM et al (1998) Production of DNA strand breaks by N-nitrosodimethylamine and 2-amino-3-methylimidazo[4,5-f]quinoline in THLE cells expressing human CYP isoenzymes and inhibition by sulforaphane. Mutat Res 402:111–120
6. Basten GP, Bao Y, Williamson G (2002) Sulforaphane and its glutathione conjugate but not sulforaphane nitrile induce UDP-glucuronosyl transferase (UGT1A1) and glutathione transferase (GSTA1) in cultured cells. Carcinogenesis 23:1399–1404

7. Bertl E, Bartsch H, Gerhauser C (2006) Inhibition of angiogenesis and endothelial cell functions are novel sulforaphane-mediated mechanisms in chemoprevention. Mol Cancer Ther 5:575–585
8. Bonnesen C, Eggleston IM, Hayes JD (2001) Dietary indoles and isothiocyanates that are generated from cruciferous vegetables can both stimulate apoptosis and confer protection against DNA damage in human colon cell lines. Cancer Res 61:6120–6130
9. Brooks JD, Paton VG, Vidanes G (2001) Potent induction of phase 2 enzymes in human prostate cells by sulforaphane. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 10:949–954
10. Carmeliet P, Jain RK (2000) Angiogenesis in cancer and other diseases. Nature 407:249–257
11. Chambers AF, Matrisian LM (1997) Changing views of the role of matrix metalloproteinases in metastasis. J Natl Cancer Inst 89:1260–1270
12. Chaudhuri D, Orsulic S, Ashok BT (2007) Antiproliferative activity of sulforaphane in Akt-overexpressing ovarian cancer cells. Mol Cancer Ther 6:334–345
13. Chen MJ, Tang WY, Hsu CW et al (2012) Apoptosis induction in primary human colorectal cancer cell lines and retarded tumor growth in SCID mice by sulforaphane. Evid Based Complement Alternat Med 2012:415231
14. Chiao JW, Chung FL, Kancherla R et al (2002) Sulforaphane and its metabolite mediate growth arrest and apoptosis in human prostate cancer cells. Int J Oncol 20:631–636
15. Choi S, Lew KL, Xiao H et al (2007) D, L-Sulforaphane-induced cell death in human prostate cancer cells is regulated by inhibitor of apoptosis family proteins and Apaf-1. Carcinogenesis 28:151–162
16. Clarke JD, Hsu A, Yu Z et al (2011) Differential effects of sulforaphane on histone deacetylases, cell cycle arrest and apoptosis in normal prostate cells versus hyperplastic and cancerous prostate cells. Mol Nutr Food Res 55:999–1009
17. Conaway CC, Wang CX, Pittman B et al (2005) Phenethyl isothiocyanate and sulforaphane and their N-acetylcysteine conjugates inhibit malignant progression of lung adenomas induced by tobacco carcinogens in A/J mice. Cancer Res 65:8548–8557
18. Cornblatt BS, Ye L, Dinkova-Kostova AT et al (2007) Preclinical and clinical evaluation of sulforaphane for chemoprevention in the breast. Carcinogenesis 28:1485–1490
19. Dashwood RH (2002) Modulation of heterocyclic amine-induced mutagenicity and carcinogenicity: an 'A-to-Z' guide to chemopreventive agents, promoters, and transgenic models. Mutat Res 511:89–112
20. Dinkova-Kostova AT, Holtzclaw WD, Cole RN et al (2002) Direct evidence that sulfhydryl groups of Keap1 are the sensors regulating induction of phase 2 enzymes that protect against carcinogens and oxidants. Proc Natl Acad Sci USA 99:11908–11913
21. Fahey JW, Haristoy X, Dolan PM et al (2002) Sulforaphane inhibits extracellular, intracellular, and antibiotic-resistant strains of Helicobacter pylori and prevents benzo[a]pyrene-induced stomach tumors. Proc Natl Acad Sci USA 99:7610–7615
22. Fidler IJ (1978) Tumor heterogeneity and the biology of cancer invasion and metastasis. Cancer Res 38:2651–2660
23. Fimognari C, Nusse M, Cesari R et al (2002) Growth inhibition, cell-cycle arrest and apoptosis in human T-cell leukemia by the isothiocyanate sulforaphane. Carcinogenesis 23:581–586
24. Fimognari C, Nusse M, Berti F et al (2003) Sulforaphane modulates cell cycle and apoptosis in transformed and non-transformed human T lymphocytes. Ann NY Acad Sci 1010:393–398
25. Fimognari C, Nusse M, Berti F et al (2004) Isothiocyanates as novel cytotoxic and cytostatic agents: molecular pathway on human transformed and non-transformed cells. Biochem Pharmacol 68:1133–1138
26. Fimognari C, Berti F, Cantelli-Forti G et al (2005) Effect of sulforaphane on micronucleus induction in cultured human lymphocytes by four different mutagens. Environ Mol Mutagen 46:260–267

27. Fimognari C, Sangiorgi L, Capponcelli S et al (2005) A mutated p53 status did not prevent the induction of apoptosis by sulforaphane, a promising anti-cancer drug. Invest New Drugs 23:195–203
28. Fimognari C, Nusse M, Lenzi M et al (2006) Sulforaphane increases the efficacy of doxorubicin in mouse fibroblasts characterized by p53 mutations. Mutat Res 601:92–101
29. Fimognari C, Lenzi M, Sciuscio D et al (2007) Cell-cycle specificity of sulforaphane-mediated apoptosis in Jurkat T-leukemia cells. In Vivo 21:377–380
30. Fimognari C, Lenzi M, Sciuscio D et al (2007) Combination of doxorubicin and sulforaphane for reversing doxorubicin-resistant phenotype in mouse fibroblasts with p53Ser220 mutation. Ann NY Acad Sci 1095:62–69
31. Fimognari C, Lenzi M, Cantelli-Forti G et al (2008) Induction of differentiation in human promyelocytic cells by the isothiocyanate sulforaphane. In Vivo 22:317–320
32. Gamet-Payrastre L, Lumeau S, Gasc N et al (1998) Selective cytostatic and cytotoxic effects of glucosinolates hydrolysis products on human colon cancer cells in vitro. Anticancer Drugs 9:141–148
33. Gamet-Payrastre L, Li P, Lumeau S et al (2000) Sulforaphane, a naturally occurring isothiocyanate, induces cell cycle arrest and apoptosis in HT29 human colon cancer cells. Cancer Res 60:1426–1433
34. Gills JJ, Jeffery EH, Matusheski NV et al (2006) Sulforaphane prevents mouse skin tumorigenesis during the stage of promotion. Cancer Lett 236:72–79
35. Gingras D, Gendron M, Boivin D et al (2004) Induction of medulloblastoma cell apoptosis by sulforaphane, a dietary anticarcinogen from Brassica vegetables. Cancer Lett 203:35–43
36. Hamsa TP, Thejass P, Kuttan G (2011) Induction of apoptosis by sulforaphane in highly metastatic B16F–10 melanoma cells. Drug Chem Toxicol 34:332–340
37. Hu C, Nikolic D, Eggler AL et al (2012) Screening for natural chemoprevention agents that modify human Keap1. Anal Biochem 421:108–114
38. Itoh K, Wakabayashi N, Katoh Y et al (2003) Keap1 regulates both cytoplasmic-nuclear shuttling and degradation of Nrf2 in response to electrophiles. Genes Cells 8:379–391
39. Jackson SJ, Singletary KW (2004) Sulforaphane: a naturally occurring mammary carcinoma mitotic inhibitor, which disrupts tubulin polymerization. Carcinogenesis 25:219–227
40. Jackson SJ, Singletary KW (2004) Sulforaphane inhibits human MCF-7 mammary cancer cell mitotic progression and tubulin polymerization. J Nutr 134:2229–2236
41. Jackson SJ, Singletary KW, Venema RC (2007) Sulforaphane suppresses angiogenesis and disrupts endothelial mitotic progression and microtubule polymerization. Vascul Pharmacol 46:77–84
42. Jakubikova J, Sedlak J, Mithen R et al (2005) Role of PI3 K/Akt and MEK/ERK signaling pathways in sulforaphane- and erucin-induced phase II enzymes and MRP2 transcription, G2/M arrest and cell death in Caco-2 cells. Biochem Pharmacol 69:1543–1552
43. Jakubikova J, Cervi D, Ooi M et al (2011) Anti-tumor activity and signaling events triggered by the isothiocyanates, sulforaphane and phenethyl isothiocyanate, in multiple myeloma. Haematologica 96:1170–1179
44. Jee HG, Lee KE, Kim JB et al (2011) Sulforaphane inhibits oral carcinoma cell migration and invasion in vitro. Phytother Res 25:1623–1628
45. Jeong WS, Kim IW, Hu R et al (2004) Modulatory properties of various natural chemopreventive agents on the activation of NF-kappaB signaling pathway. Pharm Res 21:661–670
46. Jiang ZQ, Chen C, Yang B et al (2003) Differential responses from seven mammalian cell lines to the treatments of detoxifying enzyme inducers. Life Sci 72:2243–2253
47. Jones SB, Brooks JD (2006) Modest induction of phase 2 enzyme activity in the F-344 rat prostate. BMC Cancer 6:62
48. Kalpana Deepa Priya D, Gayathri R, Sakthisekaran D (2011) Role of sulforaphane in the anti-initiating mechanism of lung carcinogenesis in vivo by modulating the metabolic activation and detoxification of benzo(a)pyrene. Biomed Pharmacother 65:9–16

49. Kaminski BM, Steinhilber D, Stein JM et al (2012) Phytochemicals resveratrol and sulforaphane as potential agents for enhancing the anti-tumor activities of conventional cancer therapies. Curr Pharm Biotechnol 13:137–146
50. Kanematsu S, Yoshizawa K, Uehara N et al (2011) Sulforaphane inhibits the growth of KPL-1 human breast cancer cells in vitro and suppresses the growth and metastasis of orthotopically transplanted KPL-1 cells in female athymic mice. Oncol Rep 26:603–608
51. Kang HJ, Hong YB, Kim HJ et al (2012) Bioactive food components prevent carcinogenic stress via Nrf2 activation in BRCA1 deficient breast epithelial cells. Toxicol Lett 209:154–160
52. Karmakar S, Weinberg MS, Banik NL et al (2006) Activation of multiple molecular mechanisms for apoptosis in human malignant glioblastoma T98G and U87MG cells treated with sulforaphane. Neuroscience 141:1265–1280
53. Kim MR, Zhou L, Park BH et al (2011) Induction of G/M arrest and apoptosis by sulforaphane in human osteosarcoma U2-OS cells. Mol Med Report 4:929–934
54. Kuroiwa Y, Nishikawa A, Kitamura Y et al (2006) Protective effects of benzyl isothiocyanate and sulforaphane but not resveratrol against initiation of pancreatic carcinogenesis in hamsters. Cancer Lett 241:275–280
55. Lee JM, Johnson JA (2004) An important role of Nrf2-ARE pathway in the cellular defense mechanism. J Biochem Mol Biol 37:139–143
56. Liotta LA, Tryggvason K, Garbisa S et al (1980) Metastatic potential correlates with enzymatic degradation of basement membrane collagen. Nature 284:67–68
57. Liotta LA (1984) Tumor invasion and metastases: role of the basement membrane. Warner-Lambert Parke-Davis award lecture. Am J Pathol 117:339–348
58. Liotta LA (1986) Tumor invasion and metastases–role of the extracellular matrix: Rhoads memorial award lecture. Cancer Res 46:1–7
59. Maheo K, Morel F, Langouet S et al (1997) Inhibition of cytochromes P-450 and induction of glutathione S-transferases by sulforaphane in primary human and rat hepatocytes. Cancer Res 57:3649–3652
60. Matusheski NV, Jeffery EH (2001) Comparison of the bioactivity of two glucoraphanin hydrolysis products found in broccoli, sulforaphane and sulforaphane nitrile. J Agric Food Chem 49:5743–5749
61. Misiewicz I, Skupinska K, Kasprzycka-Guttman T (2003) Sulforaphane and 2-oxohexyl isothiocyanate induce cell growth arrest and apoptosis in L-1210 leukemia and ME-18 melanoma cells. Oncol Rep 10:2045–2050
62. Mithen R, Faulkner K, Magrath R et al (2003) Development of isothiocyanate-enriched broccoli, and its enhanced ability to induce phase 2 detoxification enzymes in mammalian cells. Theor Appl Genet 106:727–734
63. Morimitsu Y, Nakagawa Y, Hayashi K et al (2002) A sulforaphane analogue that potently activates the Nrf2-dependent detoxification pathway. J Biol Chem 277:3456–3463
64. Munday R, Munday CM (2004) Induction of phase II detoxification enzymes in rats by plant-derived isothiocyanates: comparison of allyl isothiocyanate with sulforaphane and related compounds. J Agric Food Chem 52:1867–1871
65. Myzak MC, Karplus PA, Chung FL et al (2004) A novel mechanism of chemoprotection by sulforaphane: inhibition of histone deacetylase. Cancer Res 64:5767–5774
66. Myzak MC, Dashwood WM, Orner GA et al (2006) Sulforaphane inhibits histone deacetylase in vivo and suppresses tumorigenesis in Apc-minus mice. FASEB J 20:506–508
67. Myzak MC, Hardin K, Wang R et al (2006) Sulforaphane inhibits histone deacetylase activity in BPH-1, LnCaP and PC-3 prostate epithelial cells. Carcinogenesis 27:811–819
68. Nguyen T, Nioi P, Pickett CB (2009) The Nrf2-antioxidant response element signaling pathway and its activation by oxidative stress. J Biol Chem 284:13291–13295
69. Nicolson GL (1982) Cancer metastasis. Organ colonization and the cell-surface properties of malignant cells. Biochim Biophys Acta 695:113–176

70. Pappa G, Lichtenberg M, Iori R et al (2006) Comparison of growth inhibition profiles and mechanisms of apoptosis induction in human colon cancer cell lines by isothiocyanates and indoles from Brassicaceae. Mutat Res 599:76–87
71. Park SY, Kim GY, Bae SJ et al (2007) Induction of apoptosis by isothiocyanate sulforaphane in human cervical carcinoma HeLa and hepatocarcinoma HepG2 cells through activation of caspase-3. Oncol Rep 18:181–187
72. Parkin DM, Bray F, Ferlay J et al (2001) Estimating the world cancer burden: Globocan 2000. Int J Cancer 94:153–156
73. Parnaud G, Li P, Cassar G et al (2004) Mechanism of sulforaphane-induced cell cycle arrest and apoptosis in human colon cancer cells. Nutr Cancer 48:198–206
74. Pham NA, Jacobberger JW, Schimmer AD et al (2004) The dietary isothiocyanate sulforaphane targets pathways of apoptosis, cell cycle arrest, and oxidative stress in human pancreatic cancer cells and inhibits tumor growth in severe combined immunodeficient mice. Mol Cancer Ther 3:1239–1248
75. Pledgie-Tracy A, Sobolewski MD, Davidson NE (2007) Sulforaphane induces cell type-specific apoptosis in human breast cancer cell lines. Mol Cancer Ther 6:1013–1021
76. Rudolf E, Cervinka M (2011) Sulforaphane induces cytotoxicity and lysosome- and mitochondria-dependent cell death in colon cancer cells with deleted p53. Toxicol In Vitro 25:1302–1309
77. Shan Y, Sun C, Zhao X et al (2006) Effect of sulforaphane on cell growth, G(0)/G(1) phase cell progression and apoptosis in human bladder cancer T24 cells. Int J Oncol 29:883–888
78. Shapiro TA, Fahey JW, Dinkova-Kostova AT et al (2006) Safety, tolerance, and metabolism of broccoli sprout glucosinolates and isothiocyanates: a clinical phase I study. Nutr Cancer 55:53–62
79. Shen G, Xu C, Chen C et al (2006) p53-independent G1 cell cycle arrest of human colon carcinoma cells HT-29 by sulforaphane is associated with induction of p21CIP1 and inhibition of expression of cyclin D1. Cancer Chemother Pharmacol 57:317–327
80. Shishu, Kaur IP (2003) Inhibition of mutagenicity of food-derived heterocyclic amines by sulforaphane–a constituent of broccoli. Indian J Exp Biol 41:216–219
81. Singh AV, Xiao D, Lew KL et al (2004) Sulforaphane induces caspase-mediated apoptosis in cultured PC-3 human prostate cancer cells and retards growth of PC-3 xenografts in vivo. Carcinogenesis 25:83–90
82. Singh SV, Herman-Antosiewicz A, Singh AV et al (2004) Sulforaphane-induced G2/M phase cell cycle arrest involves checkpoint kinase 2-mediated phosphorylation of cell division cycle 25C. J Biol Chem 279:25813–25822
83. Singh SV, Srivastava SK, Choi S et al (2005) Sulforaphane-induced cell death in human prostate cancer cells is initiated by reactive oxygen species. J Biol Chem 280:19911–19924
84. Singletary K, MacDonald C (2000) Inhibition of benzo[a]pyrene- and 1,6-dinitropyrene-DNA adduct formation in human mammary epithelial cells by dibenzoylmethane and sulforaphane. Cancer Lett 155:47–54
85. Stetler-Stevenson WG, Hewitt R, Corcoran M (1996) Matrix metalloproteinases and tumor invasion: from correlation and causality to the clinic. Semin Cancer Biol 7:147–154
86. Suh N, Luyengi L, Fong HH et al (1995) Discovery of natural product chemopreventive agents utilizing HL-60 cell differentiation as a model. Anticancer Res 15:233–239
87. Surh YJ (2003) Cancer chemoprevention with dietary phytochemicals. Nat Rev Cancer 3:768–780
88. Svehlikova V, Wang S, Jakubikova J et al (2004) Interactions between sulforaphane and apigenin in the induction of UGT1A1 and GSTA1 in CaCo-2 cells. Carcinogenesis 25:1629–1637
89. Tang L, Zhang Y (2004) Dietary isothiocyanates inhibit the growth of human bladder carcinoma cells. J Nutr 134:2004–2010
90. Thejass P, Kuttan G (2006) Antimetastatic activity of sulforaphane. Life Sci 78:3043–3050

91. Wang L, Liu D, Ahmed T et al (2004) Targeting cell cycle machinery as a molecular mechanism of sulforaphane in prostate cancer prevention. Int J Oncol 24:187–192
92. Xu C, Shen G, Yuan X et al (2006) ERK and JNK signaling pathways are involved in the regulation of activator protein 1 and cell death elicited by three isothiocyanates in human prostate cancer PC-3 cells. Carcinogenesis 27:437–445
93. Zhang Y, Talalay P, Cho CG et al (1992) A major inducer of anticarcinogenic protective enzymes from broccoli: isolation and elucidation of structure. Proc Natl Acad Sci USA 89:2399–2403
94. Zhang Y, Callaway EC (2002) High cellular accumulation of sulphoraphane, a dietary anticarcinogen, is followed by rapid transporter-mediated export as a glutathione conjugate. Biochem J 364:301–307
95. Zhong H, Bowen JP (2006) Antiangiogenesis drug design: multiple pathways targeting tumor vasculature. Curr Med Chem 13:849–862

3. Bölüm
Genetik ve Epigenetik

Kanserde Kromatin Modülasyonunun Fonksiyonları, Anormallikleri ve Gelişmeler

Mariarosaria Conte ve Lucia Altucci

Özet

Kanserin başlangıcı ve progresyonu genel olarak genom ve epigenom deregülasyonları ile ilişkilidir. Tümörijenezde görülen epigenetik deregülasyonlar (örn. DNA metilasyonu, histon modifikasyonları ve miRNA'ya bağlı modülasyon) giderek daha fazla bildirilmektedir. Farklı kromatin modüle edici enzimler ve kanser ile ilişkili anormallikler de keşfedilmekte ve sınıflandırılmaktadır. Kromatin enzimlerindeki değişimlerin ve kanserdeki rollerinin daha iyi anlaşılması kanserin önlenmesi ve tedavisinde epigenetik hedeflemenin kullanılabilmesinde önemli bir basamaktır.

Anahtar Kelimeler

Kanser • Epi-modifikasyonlar • Yazarlar • Okuyucular • Siliciler • Tedavi

Kısaltmalar

AML	Akut myeloid lösemi
AR	Androjen reseptörü
CARM1	Koaktivatör ile ilişkili arginin metiltransferaz1
CBP	CREB-bağlayıcı protein
CLL	Kronik lenfositik lösemi

M. Conte · L. Altucci (✉)
Dipartimento di Biochimica, Biofisica e Patologia generale, Seconda Università di Napoli,
Vico L. De Crecchio 7, 80138, Naples, Italy
e-mail: lucia.altucci@unina2.it

L. Altucci
Istitutodi Genetica e Biofisica, Adriano Buzzati Traverso, CNR-IGB,
Via P. Castellino 111, 80131, Naples, Italy

V. Zappia et al. (eds.), *Advances in Nutrition and Cancer,*
Cancer Treatment and Research 159, DOI: 10.1007/978-3-642-38007-5_13,
© Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2014

DNMT	DNA metiltransferaz
DZNep	Deazaneplanosin A
EHMT2	Histon-lisin N-metiltransferaz
ER	Östrojen reseptörü
Eu-HMtaz1	Ökromatik Histon-lisin N-metiltransferaz 1
FBXL11	F-box ve lösinden zengin tekrar proteini 1
HAT	Histon asetiltransferaz
HDAC	Histon deasetilaz
HMT	Histon metiltransferaz
JHDM1B	JmjC-domain-içeren histon demetilaz 1B
JMJD5	Jumonji domain içeren 5
KDM	Lisin (K) demetilaz
KDM2B	Histon demetilaz 2B
KDM5	Histon demetilaz 5
KDM8	Histon demetilaz 8
KMT	Lisin metiltransferaz
LSD1	Lisin-spesifik demetilaz 1
MLL	Karışık soy lösemi
MOZ	Monositik lösemi çinko parmak protein
PCAF	P300/CBP-ile ilgili faktör
PRC2	Polikomb baskılayıcı kompleks 2
PRMT	Protein arginin metiltransferazlar
RBP2	Retinol-bağlayıcı protein 2
SIRT	Sirtuin

İçindekiler

1 Arkaplan 229
2 Kanserde Epi-enzimler 229
2.1 HAT'lar 229
2.2 Kanserde (de)asetilasyon ve HDAC'lar 230
2.3 HMT'ler ve KDM'ler 232
2.4 DNMT'ler 232
3 Epi-kanser Tedavi 233
3.1 HDAC ve HATM Modülatörleri 233
3.2 PRMT, KMT ve KDM İnhibitörleri 234
3.3 DNA Metiltransferaz İnhibitörleri 234
4 Sonuçlar 235
Referanslar 236

1 Arkaplan

Epi-modifikasyonlar ve etkileri ile ilgili çalışmalar bu konudaki bilgilerimiz arttıkça gelişmektedir. Histon kodunun ve biyolojideki kritik rolünün anlaşılması bu modifikasyonları "yazan" enzimler olan *yazıcılar*, modifiye kromatini "okuyan" enzimler *okuyucular* ve spesifik bir modifikasyonu ortadan kaldıran *siliciler* ile ilgili çalışmaları doğurdu [1]. Bu nedenle kanserdeki epigenetik işaretler ve bu işaretlerin yansımaları yeni terapötik stratejiler için önemli bir basamak teşkil etmektedir [2]. Belirli bir hücredeki epigenetik ve genetik değişimler proliferasyon, migrasyon, büyüme, farklılaşma, transkripsiyon ve ölüm sinyal yolaklarının deregülasyonuna yol açar Kanserin başlamasını sağlayan tüm bu değişiklikler, çevreleyen stromada değişikliklere ve immun sistem bozukluklarına yol açarlar.

2 Kanserde Epi-enzimler

Kromatin yapısı histonlar ve DNA'nın kovalent modifikasyonlarını içeren spesifik mekanizmalar ile tekrar modellenebilmektedir. DNA, CpG adacıklarında sitozinin metilasyonunu tetiklerken, histonların hem N-terminal hem de C-terminal uçlarını hatta globüler bölgelerini de kapsayan çok sayıda modifikasyona oluşur. Histon modifikasyonları kromatin yapısını dinamik olarak değiştirerek (epigenetik plastisite) hücredeki bu değişimlerle ilgili biyolojik sonuçların oluşmasına yol açar. Ancak, modülasyonun non-histon substratları da içermesinin bazı komplikasyonları mevcuttur [3]. Bundan dolayı, dikkatler kromatin modifiye edici enzimlerin kanserdeki deregülasyonlarının tanımlanmasına ve terapötik hedef olabilme potansiyellerine odaklanmıştır.

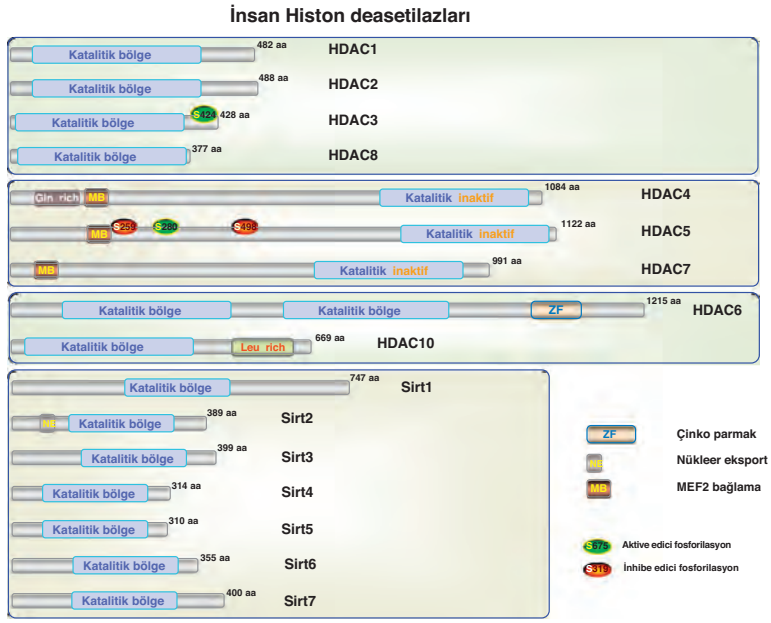
2.1 HAT'lar

İki ana HAT kategorisi vardır. A tipi HAT'lar histonların çekirdeklerindeki kromatini asetillerken, B tipi HAT'lar ise hücrede daha geniş bir rol oynarlar. A tipi HAT'lar, HAT bölgesindeki sekans homolojisine göre dört aileye ayrılır: Gcn5/PCAF [4], MYST [5], p300/CBP [6] ve Rtt109. Rtt109'un mikotik-spesifik olduğu bildirilmiştir [7]. p300 ve CBP prostat kanserinde aşırı eksprese olarak androjen reseptörüne (AR) cevap veren gen modülasyonunu değişime uğratır. CBP de t(8; 16)'da transloke olmuştur. Bunun içinde 8p11'de bulunan MOZ, CBP ile kaynaşmıştır [8] p300'ün mutasyonları da (sıklıkla C-terminal kısalması) birçok tümörde mevcuttur [9–11]. PCAF'nin aşağı regülasyonu gastrik kanser progresyonu ve kötü prognozla ilişkilidir. Tip60 mutasyonları prostat kanserinde DNA tamir deregülasyonu ve apoptoza rezistans ile ilişkilidir. PCAF ve Gcn5 pediatrik hastalardaki merkezi sinir sistemi hastalıklarında ve Wilms tümörlerinde aşırı eksprese olurlar [12].

2.2 Kanserde (de)asetilasyon ve HDAC'lar

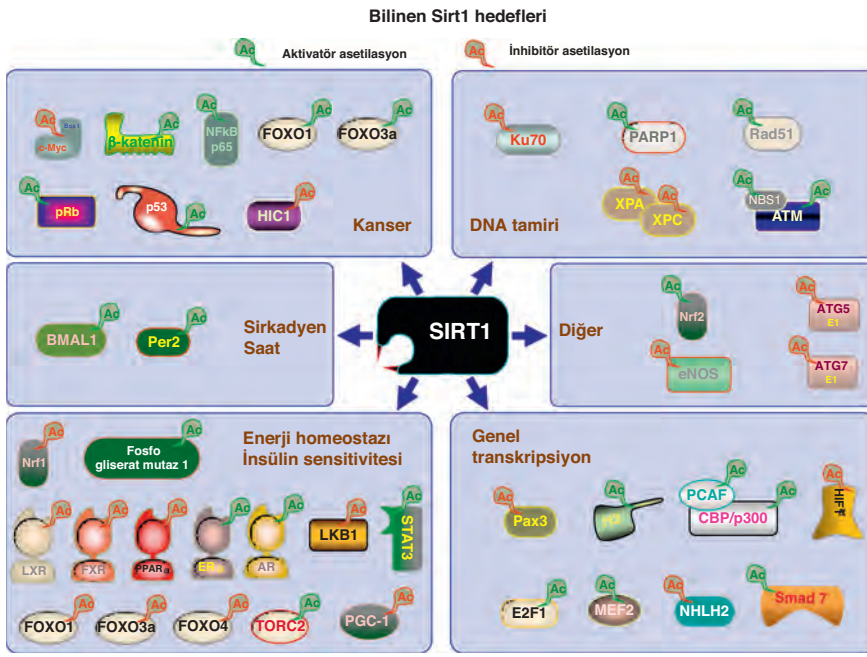
HDAC ve HAT aktiviteleri arasındaki denge gen ekspresyonunun regülasyonunda önemli rol oynamaktadır. Gelecekte yapılacak çalışmalar asetilasyonun modülasyonunun kanserle nedensel ilişkisi olup olmadığını veya kompleks epi-deregülasyonlarla oluşup oluşmadığını aydınlığa kavuşturacaktır. Sonuç olarak, asetilasyon düzeyindeki genel değişimlerden kaynaklanan kanserlerin epi-terapötik yaklaşımdan fayda görüp görmeyeceği (görürse de ne boyutta göreceği) hala araştırılması gereken bir konudur.

HDAC lösemi gibi insan kanserlerindeki gen regülasyonunda önemli bir rol oynar [13]. HDAC'lar dört sınıfa ayrılmıştır: Sınıf I HDAC'lar (HDAC1, HDAC2, HDAC3, ve HDAC8), Saccharomyces cerevisae Rpd3 homoloğu; Sınıf II (sınıf IIa ve sınıf IIb'ye ayrılır) HDAC'lar (HDAC4, HDAC5, HDAC6, HDAC7, HDAC9, HDAC10), maya HDA1 homoloğu; sınıf III HDAC'lar (sirtuinler), maya Sir2 homoloğu enzimler içerir; sınıf IV'de sadece HDAC11 vardır (Şema için bkz. Şekil 1). HDAC1 gastrik, kolorektal, hepatik, meme ve pankreas kanserini de içeren bazı kanserlerde özellikle yüksek düzeyde eksprese olur [14–16]. HDAC2 mutasyonu kolon kanserinde tespit edilmiştir. Ayrıca özofagus, prostat ve gastrointestinal karsinomlarda aşırı eksprese olur [17–19]. HDAC3 aşırı ekspresyonu tespit edilen prostat, mide, kolorektum ve kronik lenfositik lösemi [16, 18, 20, 21] gibi birçok kanser tipi kötü prognoz ile ilişkilidir. HDAC4 do-



Şekil 1 İnsan histon deasetilazlarının şematik gösterimi.

kuya spesifik olarak eksprese olarak kolon kanseri hücrelerini hücre siklüs regülatörü p21'in represyonu yoluyla destekler [22]. HDAC5'nin aşağı regülasyonu akciğer kanserinde [23], aşırı ekspresyonu ise kolon kanserinde tespit edilmiştir [24]. HDAC6'nın aşağı yönlü ekspresyon düzeyleri lenfomalarda gözlenmiştir [25]. Ancak oral skuamoz hücreli kanserde daha yüksek ekspresyon düzeyleri bulunmuştur [26]. HDAC8'in rolü kronik lenfositik lösemili çocuklarda araştırılmıştır [27]. III HDAC sınıfından SIRT1 sıklıkla yaşa bağlı neoplazmlarla ilgili karsinogenezde rol oynar (kanser ve diğer hastalıklarda SIRT1 hedefleri için bkz. Şekil 2). Sirtuinler özellikle yaşlanma, kanser ve stres cevabı ile ilgilidirler. SIRT1 aşırı ekspresyonu prostat, kolon, cilt kanserleri ve akut myeloid lösemide (AML)görülür [28]. SIRT1 dışındaki diğer sirtuinler de (örn. SIRT4 ve 7) kanser gelişimi ile ilişkilidir [29]. Buna karşın gastrik karsinom ve gliomalarda ise düşük SIRT2 seviyeleri gözlenmiştir. SIRT3 gibi bazı sirtuinlerin meme kanserinin bazı farklı formlarında hem yukarı hem de aşağı regüle oldukları bildirildiği için, komplike bir senaryo mevcuttur. SIRT4 kaybı kanser için majör bir risk faktörü olan diyabete yol açabilir. ADP riboziltransferaz aktivitesi de gösteren SIRT6 beyin ve iskelet kasında yaygın olarak aşırı eksprese olur. Ayrıca rRNA genlerinin aktif transkripsiyonunu destekleyen SIRT7 kalp, beyin ve iskelet kası gibi prolifere olmayan dokularda düşük miktarlarda bulunmaktadır.



Şekil 2 SIRT1 hedeflerinin şematik görünümü.

2.3 HMT'ler ve KDM'ler

Histonlar arginin metiltransferazlar (PRMT'ler) ve lisin metiltransferazlar (KMT'ler) gibi enzimler (HMT) ile metile olurlar. PRMT1 karışık soy löseminin (MLL) onkojenik füzyon proteinlerindeki önemli bir komponentidir [30]. PRMT6, H3R2'yi metile eder; bu metilasyon H3K4me3 aktivasyonunu etkisizleştirebilir. PRMT1 düzeylerinin meme ve kolon kanserlerinde yükseldiği bulunmuştur [31]. PRMT2 östrojen reseptörü (ER) ile etkileşime girebilir ve AR'nin güçlü koaktivatörü olarak etki gösterir. PRMT3 protein sentezinin regülasyonunda rol oynarken, CARM1 (koaktivatörle ilişkili arginin metiltransferaz1) olarak da bilinen PRMT4'ün arginin ile regüle edilen transkripsiyon mekanizmasını kontrol ettiği bilinmektedir. CARM1, histon H3'ü metile eder ve mutasyonu metiltransferaz ve p160 koaktivatör regülasyonunu azaltır [32]. CARM1 meme kanserinde aşırı eksprese olur [33]. PRMT5 lenfoma ve lösemi hücreleri ile gastrik karsinomda güçlü bir şekilde eksprese olur. Bir H3K27 KMT olan EZH2 polikomb baskılayıcı kompleks 2 (PRC2) ile etkileşir ve prostat kanseri gibi solid tümörlerde [35] ve pro-B hücrelerinde yüksek oranda eksprese olur [36]. SUV39H1/2 (KMT1A/B) aşırı ekspresyonu diyetle indüklenen tümörlerde bildirilmiştir [37]. Kolon kanseri hücrelerinde ise mRNA düzeylerinde artış görülür. Lisin metiltransferaz G9a, supresor gen sessizleştirmesinde regüle olan H3K9 dimetilasyonuna katkı yapar. G9a lösemi, prostat, akciğer kanseri ve hepatoselüler karsinom gibi çeşitli kanserlerde aşırı eksprese olur [38]. KMT1D (veya Eu-HMTaz1) salgı bezi tümörlerinde aşırı eksprese olurken [39], SETDB1/ESET tümörlerdeki promotör bölgelerinin sessizleştirilmesinde K9'daki histon H3'ün trimetilasyonu yoluyla DNA metiltransferaz (DNMT) ile koopere olur. Lökemojenezde MLL1'in (KMT2A'da denir) çok sayıda mutasyonları ve yeniden düzenlenmeleri gözlenmiştir. MLL4 (KMT2D'de denir) karaciğer karsinogenezinde rol oynar. Ayrıca histon demetilazların (KDM) değişimi de kansere yol açabilir veya kanser oluşumuna katkıda bulunabilir. Meme kanserinde KDM1 (LSD1) aşağı regülasyonu metastaz ile koreledir. Jumonji alanındaki demetilazların anormal regülasyonu çeşitli kanser hücre dizilerinde gözlenmiştir. KDM2B (JHDM1B/ FBXL11), H3K35me2 ve H3K4me3'ün dimetilasyonunu hücre döngüsünde rol oynayan T-hücreli lenfomalardaki p14, p15 ve p16 gibi proteinleri aşağı regüle ederek engeller. RBP2 (KDM5A), PLU1 (KDM5B), ve SMCX'yi de (KDM5C) içeren KDM5 ailesi gastrik, servikal, akciğer, meme, prostat, böbrek ve lösemiler gibi birçok kanser cinsinde sıklıkla aşırı eksprese olur. Lisin demetilazların bir başka ailesi olan KDM8 ve JMJD5, H3K36me2'yi hedefler. Bu enzim meme, tiroid, adrenal, mesane ve karaciğer kanserlerinde [40] aşırı eksprese olarak hücre proliferasyonunda önemli rol oynar.

2.4 DNMT'ler

DNA metilasyonu sıklıkla epigenetik sessizleştirme olayı olarak tanımlanır Metilasyon DNMT ailesine ait enzimler tarafından katalizlenir. Bir çok kanser türü DNA metilasyon düzeyleri ile ilişkilidir. DNA hipermetilasyondan daha sık olarak hipometilasyona

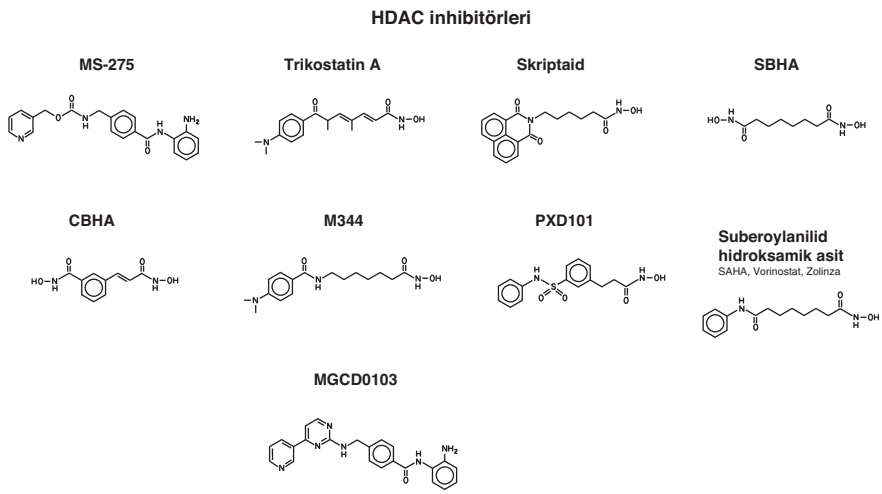
uğramaktadır. Genomik DNA normal hücrelerin prokanseröz hücrelere dönüşümünde rol oynayan faktörlerin daha iyi anlaşılması için yapılmakta olan birçok çalışmanın konusudur [41, 42].

3 Epi-Kanser Tedavisi

3.1 HDAC ve HAT Modülatörleri

HDACi kanser ile ilgili anormalliklerin geriye çevrilmesinde potansiyel bir strateji teşkil etmekte olup birçoğu klinik çalışmalarla test edilmektedir [43]. HDACi'nin kanserdeki rolünün ayrıntılı tanımı için (bilinen bazı HDACi için bkz. Şekil 3) [44–46] nolu referanslara başvurulmasını öneririz. Selektif HDACi'lerin geniş etkili HDACi'lere göre (pan HDACi) avantajlı olup olmadığı (veya yan etkileri azaltıp azaltmadığı) konusu hala cevap bekleyen bir sorudur.

HDACi'lerin tersine, HAT'ları zayıf derecede modüle eden az sayıda valide molekül bilinmektedir (bkz. Şekil 4). Son dekadda peptid-CoA konjugatlarının iki analog substratı olan Lys-CoA ve H3-CoA-20'nin güçlü p300 ve PCAF inhibitörleri olduğu bildirilmiştir. Ancak metabolik instabiliteleri ilaç olarak kullanımlarını engellemektedir. İzotiazolonlar ve analoglarından oluşan diğer PCAF inhibitörleri doz ve zamana bağlı olarak asetilasyon inhibitörü etkisi gösterirler. B tipi bir PBD olan garsinol virüs, bakteri, gastrik ülserler ve kolon adenokarsinomu gibi kanserlere karşı aktiftir [47]. Garsinolun türevleri de (LTK-13, LTK-14 ve disulfonil yedekli derive LTK-19) sentezlenmiştir. Bir diğer ümit vadeden HATi de kaşu cevizinin kabuk sıvısının ana komponenti olan



Şekil 3 Bilinen bazı HDAC inhibitörlerinin yapısı.

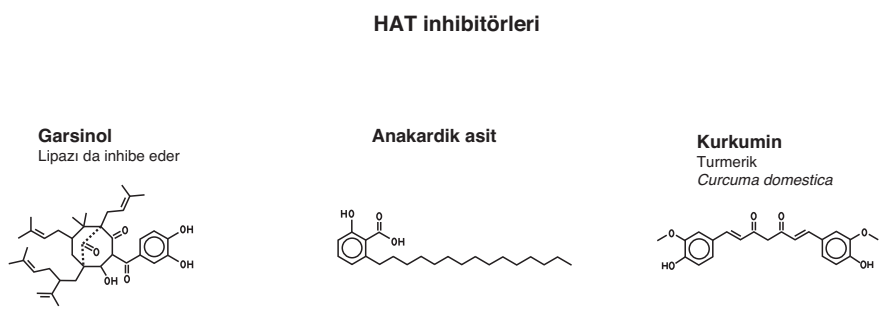
anakardik asittir (AA). Bu bileşik meme kanseri hücrelerinin yayılımını ER-alfa DNA bağlanmasını inhibe ederek azaltır [48]. Gcn5 inhibitörleri, T-butirolaktonlar da sentezlenmiş ve yararlı etkileri olduğu önerilmiştir [49]. p300 inhibitörü olan kurkuminin birçok kanser türünün önlenmesinde ve tedavisinde aktif olduğu bildirilmiştir. HATi, HDACi gelişiminden daha az gelişmiştir. Bu durum muhtemelen HAT'ların HDAC'lara kıyasla aşırı ekspresyondan ziyade daha fazla mutasyona uğramasından kaynaklanabilir. Bu durum inhibitörlerin gelişimini muhtemelen geciktirmesine rağmen, mutasyona uğramış HAT'lar için selektif HATi'ler kanserde tahmin edilebilir spesifitesi olan geçerli bir alternatif strateji olabilir.

3.2 PRMT, KMT ve KDM İnhibitörleri

PRMT değişimleri birçok kanser ile korele olabilir. Bundan dolayı metiltransferazları modüle edebilen moleküller tedavide tercih edilmektedir. Bir mikotoksin olan kaetosin, miyelom hücrelerinde ve in vivo antimiyelom aktivitesi gösteren bir SUV39H1 inhibitörüdür [50]. BIX01294 ilk G9a ve GLP inhibitörüdür. Spesifik transkripsiyon faktörleri için korepresör işlevi olan ve mesane karsinomlarında güçlü bir şekilde eksprese olan histon metiltransferaz EHMT2'yi inhibe eder [51]. Ayrıca p-aminosulfonamidlerin ve dapsonun asil türevleri de tanımlanmıştır. Özellikle dapson glioblastom tedavisi için önerilmiştir [52]. Tranilsipromin (trans-2-fenilsiklopropilamin) ve analogları en iyi bilinen LSD1 inhibitörleridir. Tranilsipromin sarkoma, periferik sinir kılıfı tümörleri ve promiyelositik lösemilerin tedavisi için önerilmiştir [53, 54]. Deazaneplanosin A (DZNep) PRC2 ile etkileşime girer ve kanser hücrelerindeki apoptozu indükler. EZH2'nin DZNep ile inhibisyonu meme kanseri hücrelerindeki proliferasyonu azaltır [55]. AML tedavisinde DNZep ve bir HDACi olan Panobinostatın birlikte kullanımı primer lösemi hücrelerinde apoptotik etki gösterir [56].

3.3 DNA Metiltransferaz İnhibitörleri

Gıda ve İlaç İdaresi (FDA) DNMT inhibitörleri 5-azasitidin (azasitidin) ve 5-aza-2-deoksisitidin (desitabin) miyelodisplastik sendromlar (MDS) için onaylamıştır [57]. De-



Şekil 4 Bilinen bazı HAT inhibitörlerinin yapıları.

sitabin triple negatif meme kanserindeki sessizleştirilmiş ER'nin reekspresyonu için de kullanılmıştır. Bir diğer önemli DNA Metiltransferaz İnhibitörü (DNMTi) olan zebularin, normal hücrelerin aksine malign hücrelere selektif olarak bağlanır. Ovaryum ve serviks karsinomları gibi kanserler DNMTi hidralazin ile tedavi edilebilir [58]. DNMT'lerin direkt inhibisyonu için nonnükleozid hedefli moleküller de önerilmiştir. Fosforotioat antisens oligonükleotid MG98 faz I bir çalışmada miyelodisplazi ve AML olan hastalarda test edilmiştir [59]. RG108 lenfoid, miyeloid ve kolorektal kanserlerde zebularine benzer düzeyde demetile edici etki göstermiştir. SGI-1027 DNMT1, DNMT3a, ve DNMT3b'yi inhibe eder ve hepatoselüler, servikal, prostat ve meme kanserinde test edilmiştir [60].

4 Sonuçlar

DNA metilasyon bozuklukları ve histon modifikasyonları kanserin gelişimini ve progresyonunu indükleyebilir. Kromatin değişimleri *yazıcılar* ve *siliciler* tarafından regüle edilirken, *okuyucular* tarafından "mayınlanabilir". Bu kompleks epi-regüle senaryoda tekil modifikasyonlar (ve tekil enzimler) ile diğer histon işaretleri ve enzimatik komplekslerle olan bağlantılar malignitelerdeki epigenetik deregülasyonu anlayabilmek için göz önünde bulundurulmalıdır. Kromatin modifikasyonlarının muhtemelen birbirine karşıt veya aditif özelliklere sahip olması birbirlerinin salınımlarını etkileyerek gen ekspresyonundaki kromatin modülasyonunu kompleks bir hale getirir. Kanserle ilgili çok sayıda büyük kapsamlı tarama çalışmasında bazı histon işaretlerinin ve epi-enzimlerin kanserdeki önemi vurgulanmıştır. Laboratuar bilgilerimizin kliniğe uygulanması için epigenetik statüsünün modifikasyonunun indüklenmesi ile deregüle olan kanserdeki geniş kromatin alanlarını "hedefleyen" yeni tedavilerin tanımlanması gerekir. Bu nedenle mevcut epi-kanser tedavi şemalarının dikkatli hasta sınıflandırması ile yeniden değerlendirilmesi gerekebilir. Epi-modülatörlerin antikanser aktivitelerinin sadece "temiz" epi-etkilerden mi kaynaklandığı yoksa non-epigenetik etkilerin de değerlendirilmesinin gerekip gerekmediği (gerekirse hangi düzeyde) net değildir. Non-histon hedeflerin epimoleküller ile net bir şekilde modüle edilmeleri ve az sayıda epi-tedavinin klinikte kullanılıyor olması (başlıca HDACi ve DNA demetile edici ajanlar) konunun komplekslik derecesini artırmaktadır. HDACi'lerin kanser tedavisinde kullanılması, (örneğin) histonların asetilasyonunun orijinal olarak önerildiği gibi tedaviye verilen cevap olarak değil tedavinin etkileri ile ilgili bilgi olarak değerlendirilmesinin önerilmesine yol açmıştır. Bu nedenle yapılabilecek bir seçim *yazıcı, okuyucu* ve *silicilerin* (aşırı ekspresyon veya sessizleştirme) dengeli olmayan bir kombinasyonu veya bu enzimlerin mutasyonu olabilir. Kanserde mutasyona uğrayan epi-enzimler sadece mutasyonlu enzimi modüle edebilecek selektif moleküllerin sentezlenebilmeleri adına açık bir fırsat sunmaktadır. Böylece tümör selektif etki elde edilecektir. İlginç biçimde HDAC'lar kanserde sayısal olarak daha sık değişime uğrarken (HDAC2 mutasyonu hariç) HAT'lar daha sık mutasyona uğramaktadır. Bu açık farklılığın etkileri hala araştırılması gereken bir konudur. Ayrıca bu alanda yeni tanımlanan kromatin işaretlerini kapsayan buluşlar progresif olarak devam etmekte olup bulunmaları için sarfedilen eforlar şu andaki bakış açımızı hızla

değiştirebilir. Kanserin epi-tedavisinde selektif ya da daha geniş etkili kromatin modülatörlerinin seçimi konusundaki tartışmalar hala sürmekte olup, ortaya muhtemelen birden fazla opsiyon çıkacaktır. Farklı modifiye edicilerin ve işaretlerin multipl değişimlere yol açmaları durumunda daha geniş etkili bir modülatör tabii ki daha avantajlıdır. Bu nedenle multipl epi-modülatörler (birden fazla enzim sınıfını hedeflerler) kanser tedavisinde ümit verici bir yaklaşım olabilir. Hala kapsamlı olarak valide edilmeye ihtiyaç gösteren bu son yaklaşım kromatin "re-modülasyonunun" daha hedefe yönelik olarak kullanılmasını sağlayabilir.

Teşekkürler: Bu çalışma Avrupa Birliği tarafından desteklenmiştir: Blueprint (contract no 282510); Italian IHEC (Flag Project: EPIGEN); İtalyan Kanser Araştırma Birliği (AIRC no 11812); İtalyan Üniversite ve Araştırma Bakanlığı (PRIN_2009PX2T2E_004); PON002782; PON0101227. C. Fisher'e metnin redaksiyonu için teşekkür ederiz.

Referanslar

1. Janzen WP, Wigle TJ, Jin J, Frye SV (2010) Epigenetics: tools and technologies. Drug Discov Today Technol 7:e59–e65
2. Wilting RH, Dannenberg JH (2012) Epigenetic mechanisms in tumorigenesis, tumor cell heterogeneity and drug resistance. Drug resistance updates: reviews and commentaries in antimicrobial and anticancer chemotherapy
3. Kouzarides T (2007) Chromatin modifications and their function. Cell 128:693–705
4. Liu X, Wang L, Zhao K, Thompson PR, Hwang Y, Marmorstein R et al (2008) The structural basis of protein acetylation by the p300/CBP transcriptional coactivator. Nature 451:846–850
5. Sapountzi V, Cote J (2011) MYST-family histone acetyltransferases: beyond chromatin. Cell Mol Life Sci CMLS 68:1147–1156
6. Bowers EM, Yan G, Mukherjee C, Orry A, Wang L, Holbert MA et al (2010) Virtual ligand screening of the p300/CBP histone acetyltransferase: identification of a selective small molecule inhibitor. Chem Biol 17:471–482
7. Stavropoulos P, Nagy V, Blobel G, Hoelz A (2008) Molecular basis for the autoregulation of the protein acetyl transferase Rtt109. In: Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, vol 105, pp 12236–12241
8. Sobulo OM, Borrow J, Tomek R, Reshmi S, Harden A, Schlegelberger B et al (1997) MLL is fused to CBP, a histone acetyltransferase, in therapy-related acute myeloid leukemia with a t(11;16)(q23;p13.3). In: Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, vol 94, pp 8732–8737
9. Iyer NG, Ozdag H, Caldas C (2004) p300/CBP and cancer. Oncogene 23:4225–4231
10. Muraoka M, Konishi M, Kikuchi-Yanoshita R, Tanaka K, Shitara N, Chong JM et al (1996) p300 gene alterations in colorectal and gastric carcinomas. Oncogene 12:1565–1569
11. Bryan EJ, Jokubaitis VJ, Chamberlain NL, Baxter SW, Dawson E, Choong DY et al (2002) Mutation analysis of EP300 in colon, breast and ovarian carcinomas. Int J Cancer J Int du Cancer. 102:137–141
12. Armas-Pineda C, Arenas-Huertero F, Perezpenia-Diazconti M, de Leon FC, Sosa-Sainz G, Lezama P et al (2007) Expression of PCAF, p300 and Gcn5 and more highly acetylated histone H4 in pediatric tumors. J Exp Clin Cancer Res: CR 26:269–276
13. Timmermann S, Lehrmann H, Polesskaya A, Harel-Bellan A (2001) Histone acetylation and disease. Cell Mol Life Sci: CMLS 58:728–736
14. Choi JH, Kwon HJ, Yoon BI, Kim JH, Han SU, Joo HJ et al (2001) Expression profile of histone deacetylase 1 in gastric cancer tissues. Japan J Cancer Res: Gann 92:1300–1304

15. Rikimaru T, Taketomi A, Yamashita Y, Shirabe K, Hamatsu T, Shimada M et al (2007) Clinical significance of histone deacetylase 1 expression in patients with hepatocellular carcinoma. Oncology 72:69–74
16. Weichert W, Roske A, Gekeler V, Beckers T, Stephan C, Jung K et al (2008) Histone deacetylases 1, 2 and 3 are highly expressed in prostate cancer and HDAC2 expression is associated with shorter PSA relapse time after radical prostatectomy. Br J Cancer 98:604–610
17. Ropero S, Fraga MF, Ballestar E, Hamelin R, Yamamoto H, Boix-Chornet M et al (2006) A truncating mutation of HDAC2 in human cancers confers resistance to histone deacetylase inhibition. Nat Genet 38:566–569
18. Fritzsche FR, Weichert W, Roske A, Gekeler V, Beckers T, Stephan C et al (2008) Class I histone deacetylases 1, 2 and 3 are highly expressed in renal cell cancer. BMC Cancer 8:381
19. Chang HH, Chiang CP, Hung HC, Lin CY, Deng YT, Kuo MY (2009) Histone deacetylase 2 expression predicts poorer prognosis in oral cancer patients. Oral Oncol 45:610–614
20. Krusche CA, Wulfing P, Kersting C, Vloet A, Bocker W, Kiesel L et al (2005) Histone deacetylase-1 and -3 protein expression in human breast cancer: a tissue microarray analysis. Breast Cancer Res Treat 90:15–23
21. Moreno DA, Scrideli CA, Cortez MA, de Paula Queiroz R, Valera ET, da Silva Silveira V et al (2010) Differential expression of HDAC3, HDAC7 and HDAC9 is associated with prognosis and survival in childhood acute lymphoblastic leukaemia. Br J Haematol 150:665–673
22. Wilson AJ, Byun DS, Nasser S, Murray LB, Ayyanar K, Arango D et al (2008) HDAC4 promotes growth of colon cancer cells via repression of p21. Mol Biol Cell 19:4062–4075
23. Osada H, Tatematsu Y, Saito H, Yatabe Y, Mitsudomi T, Takahashi T (2004) Reduced expression of class II histone deacetylase genes is associated with poor prognosis in lung cancer patients. Int J Cancer J Int du Cancer 112:26–32
24. Ozdag H, Teschendorff AE, Ahmed AA, Hyland SJ, Blenkiron C, Bobrow L et al (2006) Differential expression of selected histone modifier genes in human solid cancers. BMC Genomics 7:90
25. Gloghini A, Buglio D, Khaskhely NM, Georgakis G, Orlowski RZ, Neelapu SS et al (2009) Expression of histone deacetylases in lymphoma: implication for the development of selective inhibitors. Br J Haematol 147:515–525
26. Sakuma T, Uzawa K, Onda T, Shiiba M, Yokoe H, Shibahara T et al (2006) Aberrant expression of histone deacetylase 6 in oral squamous cell carcinoma. Int J Oncol 29:117–124
27. Amann JM, Nip J, Strom DK, Lutterbach B, Harada H, Lenny N et al (2001) ETO, a target of t(8, 21) in acute leukemia, makes distinct contacts with multiple histone deacetylases and binds mSin3A through its oligomerization domain. Mol Cell Biol 21:6470–6483
28. Carafa V, Nebbioso A, Altucci L (2012) Sirtuins and disease: the road ahead. Front Pharmacol 3:4
29. Ashraf N, Zino S, Macintyre A, Kingsmore D, Payne AP, George WD et al (2006) Altered sirtuin expression is associated with node-positive breast cancer. Br J Cancer 95:1056–1061
30. Cheung N, Chan LC, Thompson A, Cleary ML, So CW (2007) Protein arginine-methyltransferase-dependent oncogenesis. Nat Cell Biol 9:1208–1215
31. Papadokostopoulou A, Mathioudaki K, Scorilas A, Xynopoulos D, Ardavanis A, Kouroumalis E et al (2009) Colon cancer and protein arginine methyltransferase 1 gene expression. Anticancer Res 29:1361–1366
32. Chen D, Ma H, Hong H, Koh SS, Huang SM, Schurter BT et al (1999) Regulation of transcription by a protein methyltransferase. Science 284:2174–2177
33. Frietze S, Lupien M, Silver PA, Brown M (2008) CARM1 regulates estrogen-stimulated breast cancer growth through up-regulation of E2F1. Cancer Res 68:301–306
34. Pal S, Vishwanath SN, Erdjument-Bromage H, Tempst P, Sif S (2004) Human SWI/SNF-associated PRMT5 methylates histone H3 arginine 8 and negatively regulates expression of ST7 and NM23 tumor suppressor genes. Mol Cell Biol 24:9630–9645

35. Yu J, Yu J, Rhodes DR, Tomlins SA, Cao X, Chen G et al (2007) A polycomb repression signature in metastatic prostate cancer predicts cancer outcome. Cancer Res 67:10657–10663
36. Su IH, Basavaraj A, Krutchinsky AN, Hobert O, Ullrich A, Chait BT et al (2003) Ezh2 controls B cell development through histone H3 methylation and Igh rearrangement. Nat Immunol 4:124–131
37. Pogribny IP, Tryndyak VP, Muskhelishvili L, Rusyn I, Ross SA (2007) Methyl deficiency, alterations in global histone modifications, and carcinogenesis. J Nutr 137:216S–222S
38. Watanabe H, Soejima K, Yasuda H, Kawada I, Nakachi I, Yoda S et al (2008) Deregulation of histone lysine methyltransferases contributes to oncogenic transformation of human bronchoepithelial cells. Cancer Cell Int 8:15
39. Aniello F, Colella G, Muscariello G, Lanza A, Ferrara D, Branno M et al (2006) Expression of four histone lysine-methyltransferases in parotid gland tumors. Anticancer Res 26:2063–2067
40. Hsia DA, Tepper CG, Pochampalli MR, Hsia EY, Izumiya C, Huerta SB et al (2010) KDM8, a H3K36me2 histone demethylase that acts in the cyclin A1 coding region to regulate cancer cell proliferation. In: Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, vol 107, pp 9671–9676
41. Schausberger E, Hufnagl K, Parzefall W, Gerner C, Kandioler-Eckersberger D, Wrba F et al (2004) Inherent growth advantage of (pre)malignant hepatocytes associated with nuclear translocation of pro-transforming growth factor alpha. Br J Cancer 91:1955–1963
42. Toyota M, Yamamoto E (2011) DNA methylation changes in cancer. Prog Mol Biol Transl Sci 101:447–457
43. Bolden JE, Peart MJ, Johnstone RW (2006) Anticancer activities of histone deacetylase inhibitors. Nat Rev Drug Discov 5:769–784
44. Dell'aversana C, Lepore I, Altucci L (2012) HDAC modulation and cell death in the clinic. Exp Cell Res 318:1229–1244
45. Venugopal B, Evans TR (2011) Developing histone deacetylase inhibitors as anti-cancer therapeutics. Curr Med Chem 18:1658–1671
46. Dickinson M, Johnstone RW, Prince HM (2010) Histone deacetylase inhibitors: potential targets responsible for their anti-cancer effect. Invest New Drugs 28(Suppl 1):S3–S20
47. Hong J, Kwon SJ, Sang S, Ju J, Zhou JN, Ho CT et al (2007) Effects of garcinol and its derivatives on intestinal cell growth: Inhibitory effects and autoxidation-dependent growth-stimulatory effects. Free Radical Biol Med 42:1211–1221
48. Schultz DJ, Wickramasinghe NS, Ivanova MM, Isaacs SM, Dougherty SM, Imbert-Fernandez Y et al (2010) Anacardic acid inhibits estrogen receptor alpha-DNA binding and reduces target gene transcription and breast cancer cell proliferation. Mol Cancer Ther 9:594–605
49. Selvi BR, Mohankrishna DV, Ostwal YB, Kundu TK (2010) Small molecule modulators of histone acetylation and methylation: a disease perspective. Biochim Biophys Acta 1799:810–828
50. Isham CR, Tibodeau JD, Jin W, Xu R, Timm MM, Bible KC (2007) Chaetocin: a promising new antimyeloma agent with in vitro and in vivo activity mediated via imposition of oxidative stress. Blood 109:2579–2588
51. Cho HS, Kelly JD, Hayami S, Toyokawa G, Takawa M, Yoshimatsu M et al (2011) Enhanced expression of EHMT2 is involved in the proliferation of cancer cells through negative regulation of SIAH1. Neoplasia 13:676–684
52. Kast RE, Scheuerle A, Wirtz CR, Karpel-Massler G, Halatsch ME (2011) The rationale of targeting neutrophils with dapsone during glioblastoma treatment. Anti-Cancer Agents Med Chem 11:756–761
53. Schildhaus HU, Riegel R, Hartmann W, Steiner S, Wardelmann E, Merkelbach-Bruse S et al (2011) Lysine-specific demethylase 1 is highly expressed in solitary fibrous tumors, synovial sarcomas, rhabdomyosarcomas, desmoplastic small round cell tumors, and malignant peripheral nerve sheath tumors. Hum Pathol 42:1667–1675

54. Binda C, Valente S, Romanenghi M, Pilotto S, Cirilli R, Karytinos A et al (2010) Biochemical, structural, and biological evaluation of tranylcypromine derivatives as inhibitors of histone demethylases LSD1 and LSD2. J Am Chem Soc 132:6827–6833
55. Tan J, Yang X, Zhuang L, Jiang X, Chen W, Lee PL et al (2007) Pharmacologic disruption of Polycomb-repressive complex 2-mediated gene repression selectively induces apoptosis in cancer cells. Genes Dev 21:1050–1063
56. Fiskus W, Wang Y, Sreekumar A, Buckley KM, Shi H, Jillella A et al (2009) Combined epigenetic therapy with the histone methyltransferase EZH2 inhibitor 3-deazaneplanocin A and the histone deacetylase inhibitor panobinostat against human AML cells. Blood 114:2733–2743
57. Kuendgen A, Lubbert M (2008) Current status of epigenetic treatment in myelodysplastic syndromes. Ann Hematol 87:601–611
58. Yildirim E, Zhang Z, Uz T, Chen CQ, Manev R, Manev H (2003) Valproate administration to mice increases histone acetylation and 5-lipoxygenase content in the hippocampus. Neurosci Lett 345:141–143
59. Klisovic RB, Stock W, Cataland S, Klisovic MI, Liu S, Blum W et al (2008) A phase I biological study of MG98, an oligodeoxynucleotide antisense to DNA methyltransferase 1, in patients with high-risk myelodysplasia and acute myeloid leukemia. Clin Cancer Res: Official J Am Assoc Cancer Res 14:2444–2449
60. Datta J, Ghoshal K, Denny WA, Gamage SA, Brooke DG, Phiasivongsa P et al (2009) A new class of quinoline-based DNA hypomethylating agents reactivates tumor suppressor genes by blocking DNA methyltransferase 1 activity and inducing its degradation. Cancer Res 69:4277–4285

Epigenetik ve Epidemiyoloji: Çalışma Modelleri ve Örnekler

Karin van Veldhoven, Shati Rahman ve Paolo Vineis

Özet

Epidemiyolojik çalışmalarda hastalıklara yol açan çeşitli çevresel nedenler başarıyla tanımlanmıştır. Ancak metodolojik problemler bu çalışmaların sıklıkla kısıtlanmalarına neden olur (örn. maruziyetin değerlendirilmesinde sensitivite ve spesifite eksikliği; karışıklığa yol açan faktörler). Çevresel ilişkiler ile ilgili gözlemsel çalışmaların geliştirilmesinde Mendel randomizasyonu ve "orta noktada buluşma" (ONB) yaklaşımı önerilmiştir. Orta noktada buluşma yaklaşımı maruziyet ile hastalıkları ilişkilendiren patojenik proseste farzedilen aracı biyomarkerler olarak, gelişmekte olan omik alanındaki sinyallerden faydalanmaktadır. Bu yaklaşımın ilk basamağı maruziyet ile hastalık arasındaki ilişkiden oluşmaktadır. İkinci basamak maruziyet biyomarkerleri ile erken etki gösteren aracı -omik biyomarkerler arasındaki ilişkinin araştırılmasıdır; üçüncüsü de hastalık sonuçları ile aracı -omik biyomarkerler arasındaki ilişkinin değerlendirilmesidir. Her üç basamakta bulunabilecek ilişkiler arasında nedensel bir bağlantının varlığının mümkün olduğunu düşünüyoruz. Son yıllarda en kapsamlı araştırılan konulardan biri olsa da henüz tam olarak anlaşılamamış olan ilişkilerden bir tanesi, endokrin sistemini bozan çevresel etkenler ile meme kanseri arasındaki ilişkidir. Bu bölümde "orta noktada buluşma" yaklaşımı ile ilgili literatürleri inceleyerek, bu yaklaşımın endokrin bozucuları analiz etmekte nasıl kullanılabileceğini anlatacağız.

K. van Veldhoven · P. Vineis (✉)
HuGeF Foundation, Turin, Italy
e-mail: p.vineis@imperial.ac.uk

K. van Veldhoven · S. Rahman · P. Vineis
School of Public Health, Imperial College London, London, UK

V. Zappia et al. (eds.), *Advances in Nutrition and Cancer,*
Cancer Treatment and Research 159, DOI: 10.1007/978-3-642-38007-5_14,
© Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2014

Anahtar Kelimeler

Epigenetik · Epidemiyoloji · Meme kanseri · Endokrin bozucular · Omik biyomarkerlar · Orta noktada buluşma yaklaşımı

İçindekiler

1 Giriş 242
2 Meme Kanseri, Endokrin Bozucular, -Omik Biyomarkerler: *Orta Noktada Buluşma* Yaklaşımının Uygulandığı Bir Örnek 243
2.1 Biyomarkerler ve -Omik Teknolojisi 244
2.2 "Orta noktada buluşmak" yaklaşımı 245
2.3 1. Basamak: Endokrin Bozucu Kimyasallar ve Meme Kanseri 245
2.4 2. Basamak: Endokrin Sistemi Negatif Etkileyen Kimyasallar ve Epigenomik 246
2.5 3. Basamak: Epigenomik ve Meme Kanseri 251
3 Tartışma 252
Referanslar 253

1 Giriş

Yaşayan organizmaların evrimi farklı ve bazen de karşıt güçlerin etkisi ile gerçekleşir. Ana gerilim stabilite gereksinimi ile değişim gereksinimi arasında yaşanır. DNA'nın hemen tüm türlerde değişmeden korunan mükemmel yapısal stabilitesi birinci gereksinime örnek olarak verilebilir. Diğer yandan değişim olmaksızın organizmaların değişen ortamlara ve bu ortamlardaki sürekli tehditlere adapte olması mümkün olamaz. Transpozonlar (değiştirilebilir elemanlar) mayoz esnasında önemli role sahiptir. Epigenetik değişimler genetik konfigürasyonların çeşitliliğini sağlayan bazı mekanizmalar olup varyasyon, adaptasyon ve evrimde rol oynarlar.

Çok genel bir kural olarak çevresel streslerin (epi)genomik instabiliteyi artırma eğiliminde olduğu söylenebilir. Bu mekanizma hem çeşitliliği destekler hem de tehditlere ve hastalıklara yol açabilen potansiyel olarak zararlı mekanizmalara cevap verilebilmesini sağlar.

Son iki dekadda yapılan araştırmalar çoğunlukla kanser gelişiminde epigenetik değişimlerin rolü üzerine odaklanmaktadır [10, 38]. En sık araştırılan ve çalışma konusu olan epigenetik mekanizma DNA metilasyonudur [6]. İlk kez 1980'li yıllarda yapılan karsinogenez çalışmalarında gözlendiği üzere [10], DNA metilasyonu başlıca, tüm insan genlerinin yaklaşık %50'sinde bulunan promotör bölgelerde gruplanmış olarak bulunan CpG dinükleotidlerinde oluşmaktadır. Bu bölgelere CpG adacıkları adı da verilir. DNA metilasyonlu bir CpG dinükleotide metil grup eklenmesini içerir [6]. CpG adacıklarının metilasyonu genetik sessizleştirmeye yol açabilir. Bu durumun tümör baskılayıcı genleri etkilemesi kansere yol açabilir. Kanser hücrelerinin tümör baskılayıcı genlerin hipermetilasyonu ve proto-onkogenlerin veya dönüştürülebilir elemanların hipermetilasyonu gibi olağandışı metilasyon paternleri içerdiği gözlenmiştir [42].

Bir başka epigenetik mekanizma da histon kuyruklarının fosforilasyon, metilasyon veya asetilasyon ile modifiye olarak disregülasyona yol açmasıdır [10]. Bu histon kuyrukları başlıca nükleozom yapılarının korunmasından sorumludur [28, 36]. Normal histon modifikasyon mekanizmalarının bozulması gen ekspresyonunda bozukluklara yol açabilir. Bu etkinin bazı kanserlerin gelişiminde rol oynadığı gözlenmiştir [20, 28, 36]. Örneğin Jensen ve ark. [18] tarafından yapılan in vitro çalışmalarda histon H3 asetilasyon değişimlerinin ve histonlar ile ilişkili genlerin ekspresyon değişimlerinin arsenikli ajanlar olan AsIII ve MMA'ya maruziyetten kaynaklandığı tespit edilmiştir. Benzer şekilde 2009 yılında yapılan bir çalışmada da [55] insan akciğer kanseri hücrelerinin arseniğe maruz kalmalarının H3K4'ün metilasyonunda artışa yol açarak hücresel transkripsiyonun represyonuna yol açtığı tespit edilmiştir (arsenik epigenetik bakış açısıyla en iyi araştırılan çevresel maruziyet faktörlerinden biridir) [36].

Epigenetik değişimlerin meydana geldiği üçüncü ana mekanizma (mi)RNA ekspresyonu yoluyla gerçekleşir. (mi)RNA yaklaşık 22 nükleotidden oluşan protein kodlamayan küçük RNA molekülleri olarak tanımlanır. (mi)RNA'lar genomik ve hücresel regülasyonda rol oynarlar. Genel olarak gen aktivasyonunu suprese ettikleri düşünülmektedir. İnsanlarda 800'den fazla (mi)RNA mevcuttur. Memeli genlerinin %30'a kadar olan kısmının (mi)RNA'lardan etkilendiği düşünülmektedir [36]. (mi)RNA ekspresyonunun disregüle olmasının arsenikle ilişkili böbrek ve mesane kanserleri gibi çeşitli hastalıklarda [1] rol oynadığı düşünülmektedir [13].

Çevresel karsinojenlere maruziyetin ve buna bağlı olarak ortaya çıkan epigenetik değişimlerin yukarıda da bahsedilenler gibi in utero ortamda da oluşabileceğine inanılmaktadır; epigenetik programlama uzun dönemde, bir bireyin embriyonik gelişiminde ve sağlığı üzerinde önemli bir rol oynayabilir [6]. Martinez ve ark. tarafından 2011 yılında yapılan bir çalışmada hamilelikte arseniğe maruz kalmanın sıçanlardaki beyin hücrelerinin DNA metilasyon paternlerinin değişimine yol açarak hafızayı etkilediği bulunmuştur. Bu da in utero maruziyetin büyüme ve gelişme üzerinde uzun süreli etkileri olduğunu düşündüren bir bulgudur [31].

2 Meme Kanseri, Endokrin Bozucular, -Omik Biyomarkerler: *Orta Noktada Buluşma* Yaklaşımına Bir Örnek

Hastalıklara neden olan çevresel faktörlerin tanımlanması özellikle maruziyetin değerlendirilebilmesindeki güçlükleri de kapsayan metodolojik sorunlardan dolayı oldukça kısıtlıdır. Gözlemsel çalışmalarda çevresel faktörlere ilişkilerin daha iyi tespit edilebilmesi için sıklıkla kullanılan yaklaşım Mendel randomizasyonudur [7]. Potansiyel karışıkların önüne geçebilmek için bir jenerasyondan diğerine geçen çeşitli genlerin randomize olarak seçilip incelenmesine dayanır. Gen varyantı hem maruziyet hem de hastalık ile ilişkili ise, maruziyet ile hastalık arasında nedensel ilişki olduğu düşünülür. Çünkü gen varyantları karıştırıcı faktörleri de kapsayan çevresel faktörlerden etkilenmeden nesilden nesile geçer. Bu arada son yıllarda vücut sıvılarındaki veya dokuların biyolojik

Tablo 1 -Omik teknolojileri

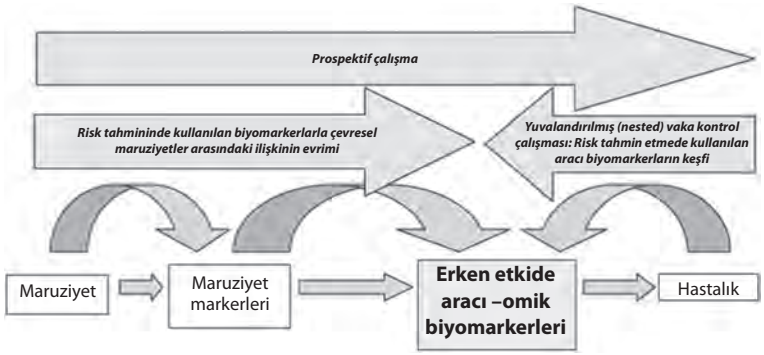
-Omik	Örnek platform	Özellikler
Transkriptomik	İnsan 4x44k DNA mikroarrayları	Bir hücre popülasyonunda mRNA moleküllerinin ekspresyon düzeylerinin analizi (gen ekspresyon profilinin çıkarılması). Hücre tipleri arasında zaman içinde büyük değişimler gösteren transkriptom çevresel değişimlere cevap olarak değişime uğrar
Proteomik [11]	Lumineks multianalit profil çıkarma sistemi	Genom tarafından kodlanan total proteini üretiminin analizi. Sıklıkla kompleks proteomik profildeki normal, benign veya hastalık statüsüne sahip proteinlerin tespitini sağlar [8,46]
Epigenomik [31]	Yüksek yoğunluklu DNA mikroarrayları	Geniş kapsamlı epigenetik proseslerin analizi (çoğunlukla DNA metilasyonu, histon modifikasyonları ile ilgili de olsa, mikro-RNA ve siRNA gibi protein kodlamayan RNA'ların gen ekspresyonundaki etkilerini de kapsar)
Metabolomik [13]	NMR spektroskopi veya LC- kütle spektrometresi	Herhangi bir zamanda bir hücre veya organizmada mevcut olan ve bireysel metabolik profilleri (ve cevapları) belirleyen düşük molekül ağırlıklı komple set analizi. Sık görülen hastalıkların başlangıçlarını tahmin etmekte kullanılabilir.

moleküllerin incelenmesinde kullanılan yüksek miktarda veri işleyebilen güçlü teknolojiler de gelişmeye başlamıştır. Bu teknolojiler genel olarak sonlarına gelen -omik eki ile tanınırlar. "Orta noktada buluşma" yaklaşımı çevresel etkilerin nedensel özelliklerini incelemeye olanak tanıyan bir yöntemdir. Patogenetik süreçlerde varsayılan aracı markerler olan -omik sinyallerinin özelliklerinin araştırılarak maruziyet ile hastalık arasındaki ilişkilerin ortaya çıkarılmasına dayanır.

2.1 Biyomarkerler ve -Omik Teknolojisi

Transkriptomik veya gene ekspresyonunun profilinin çıkarılması, proteomik, epigenetik ve metabolomik gibi yeni aracı biyomarkerler -omik teknolojileri ile tanımlanabilirler (Tablo 1). Bu aracı biyomarkerler maruziyet ile hastalık arasındaki süreçte etkili olan olaylarda direkt veya indirekt olarak rol oynayabilirler.

Aracı biyomarkerler çevresel hastalıkların patojenezi ile ilgili önemli mekanik bulgular sağlayabilirler. "-omik" teknolojileri klasik moleküler biyolojinin aksine, farklı kimyasallara ve toksisite tiplerine verilen hücresel cevabın tespit edilmesinde yararlanılan teknolojilerin kullanımına izin verirler. Böylece son derece büyük ölçekli mekanik bilgi sağlayabilirler. Daha önce yapılan çalışmaların sonuçları, -omik tabanlı biyomarkerlerin önerilen "orta noktada buluşma" yaklaşımı ile kullanılmasının, çevresel faktörlere maruziyet ile hastalıkların başlangıcı ve progresyonu arasındaki bağlantıların anlaşılmasını kolaylaştırabileceği hipotezini desteklemektedir.



Şekil 1 *"Orta Noktada Buluşma" yaklaşımı.*

2.2 "Orta Noktada Buluşma" Yaklaşımı

Yakın zamanda nedensel ilişkilerin tespit edilmesindeki zorluklarla baş edebilecek "orta noktada buluşma" (ONB) yaklaşımı olarak bilinen yaratıcı bir yaklaşım geliştirdik [13, 15]. Prospektif bir çalışmanın kapsamındaki bir kombinasyona dayanan bu yaklaşım şunları içerir: (a) Aracı biyomarker düzeyleri yüksek olan ve devamında hastalık gelişecek olan deneklerin prospektif taraması. (b) Bu biyomarkerlerin geçmişteki çevresel maruziyetler ile bağlantısını araştıran retrospektif araştırma (Şekil 1).

Bu yaklaşımın birinci basamağı maruziyet ve hastalık arasındaki ilişkiyi araştırır. İkinci basamak maruziyet biyomarkerleri ile erken etki gösteren aracı -omik biyomarkerleri arasındaki ilişkinin araştırılmasıdır; üçüncüsü de hastalık sonuçları ile aracı -omik biyomarkerleri arasındaki ilişkinin değerlendirilmesidir. Her üç basamakta da bulunabilecek ilişkiler arasında nedensel bir bağlantının varlığının mümkün olduğunu düşünüyoruz. (nedensel ilişkiyi araştırmakta kullanılan meşhur Hill kılavuzların kullanımı ile birlikte). Mendel randomizasyonu ile ONB yaklaşımı arasındaki benzerliklere rağmen, ONB yaklaşımında genetik enstrümanların kullanılmıyor olması nedeniyle, karışıklık ihtimali hala mümkündür.

Son yıllarda en kapsamlı araştırılan konulardan biri olsa da henüz tam olarak anlaşılamamış olan ilişkilerden bir tanesi, endokrin sistemi bozan çevresel faktörler ile meme kanseri arasındaki ilişkidir. Bu bölümde ONB yaklaşımı ile ilgili literatürleri inceleyerek, bu yaklaşımın endokrin bozucuları analiz etmekte nasıl kullanılabileceğini anlatacağız.

2.3 1. Basamak: Endokrin Bozucu Kimyasallar ve Meme Kanseri

Bir çok çalışma endokrin bozucu kimyasallara (EBK) maruziyet ile meme kanseri arasındaki riske odaklanmıştır. EBK'ler, endojen hormonlar ile etkileşerek (örn. taklit ve/

veya antagonize ederek) sentezlerini, sekresyonlarını, transportlarını, bağlanmalarını, etkilerini veya eliminasyonlarını değiştirerek endokrin sistemin fonksiyonlarını bozarak etki eden doğal veya sentetik bileşiklerdir. EBK maruziyeti çok çeşitli yollarla gerçekleşebilir. Tıbbi kullanım gibi bazı durumlarda kullanımları bilinçlidir. Ancak çoğunlukla istenmediği halde maruz kalınırlar. EBK'lerin çoğu BPA (bisfenol-A) örneğinde olduğu gibi ana maruziyet kaynağı olan gıdalarda bulunur.

2.4 2. Basamak: Endokrin Bozucu Kimyasallar ve Epigenomik

Bu örnekte odaklanacağımız -omik teknolojisi epigenomiktir. Ağustos 2012'ye kadar yayınlanan çalışmaları taradığımız PubMed aramasında ekteki arama terimlerini kullandık: "Endokrin bozucular" veya "Bisfenol-A" veya "Dietilstilbesterol (DES)" veya "Kadmiyum" veya "epigenomik" veya "epigenetik" veya "DNA metilasyonu" veya "histon modifikasyonu" veya "mikro-RNA".

Sonuçları eledikten sonra kullandığımız 26 makalede 11 tanesi birden fazla makalede geçen 1798 gen bildirilmiştir. Aşağıda bu makalelerdeki bulguların bir tanımı mevcuttur (genel bakış için bkz. Tablo 2). Görece olarak az sayıda miRNA bildirilmiş ve birden fazla çalışmada bahsedilen miRNA'ya rastlanmamıştır.

2.4.1 BPA

Bisfenol-A'ya maruziyeti araştıran hayvan modellerinde sağlığa tehdit oluşturabilecek epigenetik değişimler bulunmuştur. Farelerin perinatal ortamda yüksek ve düşük BPA dozlarına maruz kalmaları yavrularda hipometilasyona yol açmıştır [8, 52]; bir başka çalışmada da BPA maruziyeti ile oluşan epigenetik değişimlerin prostat kanseri riskini artırdığı bulunmuştur [12, 34]. İnsan hücre dizilerinde daha yakın zamanlarda yapılan çalışmalarda bisfenol-A maruziyeti ile DNA metilasyonu arasındaki ilişki araştırılmıştır. Weng ve ark. 3 mikroarray veri setini karşılaştırmıştır. BPA maruziyeti ile her üç setteki 170 genin farklı düzeylerde eksprese olduğunu tespit etmişlerdir (57 yukarı regülasyon, 113 aşağı regülasyon). Ayrıca hiyerarşik kümeleme çalışmalarında da yukarı regüle olan genlerin en çok ERa-negatif meme kanseri hücre dizilerinde, aşağı regüle olan genlerin ise en çok ERα-pozitif meme kanseri hücrelerinde bulunduğu tespit edilmiştir. Yine lizozom ile ilişkili membran protein 3'ün (LAMP3) aday geninde yapılan DNA metilasyon analizinde, özellikle ERa-pozitif meme kanseri hücre dizilerinde kontrollere göre artmış DNA metilasyon düzeyleri de tespit edilmiştir [50]. Başka bir çalışmada da BPA'ya maruz bırakılan insan meme epitel hücrelerdeki DNA metilasyonunun 6 gende arttığı tespit edilmiştir [35].

Avissar-Whiting ve ark. 6 gün boyunca BPA'ya maruz bırakılan üç farklı plasenta hücre dizisinde mikro-RNA'ların ekspresyonunu araştırmışlardır. Denetimsiz hiyerarşik kümeleme ile farklı hücre dizilerinde farklı ekspresyon paternleri tespit etmiştir. Ayrıca kullanılan hücre dizilerinin iki tanesinde vakalar ile kontroller arasında anlamlı fark bulunmuştur. Her iki hücre dizisinde farklı düzeyde eksprese olan 21 mi-RNA çakışması mevcuttu. Açıklama

Tablo 2 EDC maruziyeti sonrası farklı düzeyde metile olan meme kanseri ile ilişkili genler

Maruziyet	Çalışma, Yıl	Bulunan anlamlı ilişkilerin sayısı (n)	DYNC1LI2	ERLIN2	FGFR1	HN1L	IFNGR1	MOCS1	P16	PIM1	RUNX1T1	TAP2	VPS29
Maruziyet ile Epigenetik Karşılaştırması													
BPA	Dolinoy, 2007	1											
	Prins, 2008	8											
	Ho, 2008	8											
	Yaoi, 2008	13											
	Weng, 2010	170	X	X	X	X	X	X		X	X	X	
	Qin, 2012	6							X				
DES	Li, 1997, 2001, 2003	2											
	Sato, 2006	3											X
	Tang, 2008	14											X
	Sato, 2009	1											
	Bromer, 2009	1											
Cadmium	Benbrahim-Tallaa, 2007	2							X				
	Wang, 2011	1,574	X	X	X	X	X	X		X	X	X	
	Hossain, 2012	2											
Epigenetik ile Meme Kanseri Karşılaştırması													

(Devam ediyor)

Tablo 2 (devamı)

Maruziyet	Çalışma, Yıl	Bulunan anlamlı ilişkilerin sayısı (n)	DYNC1LI2	ERLIN2	FGFR1	HN1L	IFNGR1	MOCS1	P16	PIM1	RUNX1T1	TAP2	VPS29
	Lo, 2008	40							X				
	Jovanovic, 2010	43							X				
	Huang, 2010	186							X				
	Wang, 2010	14							X				
	Süijkerbuijk 2010	19											

Tablonun üst kısmında EBK (BPA, DES, kadmiyum) maruziyeti sonrası farklı düzeylerde metile olan genler mevcuttur. Alt bölümde epigenetik çalışmalarda meme kanseri ile ilişkili olduğu bildirilen genler görülmektedir. Bu tablonun amacı ONB yaklaşımının 2. ve 3. basamaklarında bahsedilen genleri karşılaştırmaktır.

eklenen 4 mi-RNA'nın sadece bir tanesi olan miR-146a (her iki hücre dizisinde de yukarı regüle olmuştur) RT-PCR kullanılarak valide edilmiştir [2]. Marsit ve ark.'nın aynı mi-RNA'nın folat eksikliği sonrası yukarı regüle olduğunu bildirmeleri de ilginçtir [30].

2.4.2 Dietilstilbestrol

İyi bilinen ve kapsamlı şekilde çalışılan bir diğer EBK de dietilstilbestroldur (DES). Epidemiyolojik çalışmalarda DES maruziyeti ile gözlenen etkinin kuşaklar arasında geçiş yapmasının gösterilmiş olması epigenetik faktörlerin rol oynadığının güçlü bir göstergesidir. Li ve ark. 1997 yılında yeni doğmuş farelerin DES'e maruz kalmaları ile laktoferin genindeki CpG bölgesindeki metilasyonda azalma olduğunu göstermiştir. Bu hipometilasyon uterin tümörlerde de gözlenmiştir [26]. Aynı yazarlar birkaç yıl sonra yeni doğan farelerin DES'e maruz kalmalarının c-fos genindeki exon-4 bölgesinde hipometilasyona neden olduğunu bildirmiştir. Ancak aynı azalmayı HOXA-10 ve HOXA-11 genlerinde tespit edememişlerdir [24, 25]. Çalıştıkları tüm fare genlerinin DES maruziyetinden sonra farklı düzeylerde eksprese oldukları ve üreme organlarını gelişiminde rol oynadıkları daha önce yapılan çalışmalarda bildirilmiştir [4, 29, 33, 51]. Bromer ve ark. da [5] DES'e maruz kalmış farelerin dişi yavrularındaki HOXA-10 genini araştırmış ve in utero maruziyet ile DNA metilasyonunda artış tespit etmişlerdir. Ancak aynı artış in vitro ve in vivo ortamda tespit edilememiştir. Tang ve ark. [44] DES'e maruziyet sonrası metilasyonları farklılaşan 14 gen (bu genlerin biri hariç hiçbiri daha önceki çalışmalarda yer almamıştır) bildirmişlerdir. DES maruziyeti sonrası fare uterus ve epididiminde genom boyunca farklı düzeylerde DNA metilasyonları (Restriction landmark genomic scanning [RLGS] tekniği ile araştırılmıştır) Sato ve ark. tarafından bildirilmiştir [39, 40].

DNA metilasyon çalışmalarına ek olarak mi-RNA'ları da araştıran birkaç çalışma mevcuttur. Hsu ve ark. MDEC hücrelerini (mamosfer kaynaklı epitel hücreleri) DES'e maruz bırakmış ve kontrollere kıyasla 82 mikro-RNA'nın ekspresyonunun değişime uğradığını (37 tanesi yukarı, 45 tanesi aşağı regüle olmuştur) tespit etmişlerdir. Bunlardan birini (miR-9-3) detaylı olarak incelediklerinde buldukları promotör hipermetilasyonunun meme kanseri riskinde artış ile ilişkili olabileceğini tespit etmişlerdir [15].

Lee ve ark. DES'e maruz bıraktıkları MCF-7 hücrelerinde miR-34b ekspresyonunda azalma bulmuştur [23]. Bu mikro-RNA'nın ekspresyonunun azalması daha önceki çalışmalarda DNA metilasyonunda artış ile ilişkili bulunmuştur [45].

Son olarak Warita ve ark. DES maruziyeti ile histon modifikasyonu arasındaki ilişkiyi araştırmıştır. TTE1 Leydig hücrelerinde bu ilişkiyi araştırmak için immunopresipitasyon (ChiP) ve PCR kullanmışlar ve P450scc geninin promotöründeki histon H3'de asetilasyonun azaldığını tespit etmişlerdir [49].

2.4.3 Kadmiyum

Kadmiyum EBK'lerin epigenetik değişimler ile ilişkisini araştıran birçok farklı araştırmanın odağındadır. Kadmiyum maruziyeti ile ilişkili farklı hayvan çalışmaları ile birlikte çeşitli hayvan hücre dizilerinin kullanıldığı çalışmalar da yapılmıştır. Takiguchi ve ark. bir hafta

süreye 2.5 μM kadmiyum uygulamasının TRL1215 (sıçan karaciğeri) hücrelerinde hipometilasyona yol açtığını bulmuştur. Ancak 10 haftalık maruziyet hipermetilasyona yol açmıştır (sonrasında hücreler muhtemelen değişime uğramıştır) [43]. Başka bir çalışmada da hem düşük (140 mg/kg CdC12) hem de yüksek (210 mg/kg CdC12) kadmiyum dozlarının 60 gün boyunca uygulanması ile tavuk karaciğer ve böbreğindeki metilasyonunun genel olarak arttığı tespit edilmiştir Zhu ve ark. sıçanların karaciğer ve testislerindeki LINE-1 metilasyonunu incelemek için COBRA kullanmıştır. Ancak hem postnatal 8. günde hem de 70. günde maruz kalan ve kalmayan fareler arasında bir fark bulamamışlardır. Ayrıca kadmiyum maruziyeti sonrası testisteki p53 promotör bölgesindeki metilasyon düzeylerinde de bir fark bulunmamıştır. Ancak kadmiyum maruziyetinin testisteki c-fos geninin bir bölümünde doğal olarak oluşan hipometilasyonu yavaşlattığı da tespit edilmemiştir [56].

Wang ve ark. tarafından sıçan karaciğerindeki epigenom boyunca MeDIP-chip testi kullanılarak yapılan çalışmada düşük doz, kronik kadmiyum maruziyetinin (maruz kalmayanlara göre) 385.000 probun metilasyon düzeylerindeki etkisi incelenmiştir [56]. Sonuçlarda 675 genin promotör bölgesinde hipermetilasyon, 899 genin promotör bölgesinde de hipometilasyon bildirmişlerdir. Apoptotik süreci regüle eden genlerin spesifik metilasyonlarının değerlendirilesinde de CASP8'in (ekspresyon azalmasına yol açar) hipermetile olduğunu TNF'in de (aynı şekilde ekspresyon azalmasına yol açar) hipometile olduğunu tespit etmişlerdir [47].

Benbrahim Tallaa ve ark. tarafından yayınlanan çalışmayı da kapsayan insan hücrelerinde veya hücre dizilerinde yapılan çalışmalarda insan prostat epitel hücrelerinin kadmiyuma maruz bırakılmaları sonrası genel bir DNA hipermetilasyonu meydan geldiği bildirilmiştir. Özellikle 2 tümör baskılayıcı genin (RASSF1A ve p16) promotör bölgesindeki CpG adacıklarındaki metilasyon düzeylerini araştırdıklarında, (maruz kalmayan hücrelere göre) ekspresyon azalmasına yol açan hipermetilasyon tespit etmişlerdir [3]. İnsan embriyo akciğer fibroblastlarının (HLF) kadmiyuma uzun süreli maruziyetinde genel hipermetilasyon olduğu bulunmuştur. Maruziyet artışı ile (sadece 1.2 ve 1.5 Imol/L konsantrasyonlarında) maruz kalmayan hücrelere göre doza bağlı anlamlı düzeyde metilasyon artışı olduğunu gözlemlemişlerdir [19]. Huang ve ark. [16] 2.0 IM kadmiyum maruziyetinin 24. ve 48. saatlerde K562 (kronik miyelojenöz lösemi hücre dizisi) hücrelerindeki DNA metilasyonunu genel olarak azalttığını tespit etmiştir.

İnsanlarda diyette mevcut olan kadmiyumun epigenetik etkilerini araştıran tek çalışma Hossain ve ark. tarafından yapılmıştır. Kan (kısa süreli maruziyetin göstergesi) ve idrar (uzun süreli maruziyetin göstergesi) örneklerinde kadmiyum seviyeleri ölçülmüştür. LINE-1 metilasyon düzeylerini ve p16 ve MLH1 promotörlerinin metilasyon seviyelerini ölçmek amacıyla periferik kan örnekleri alınmıştır. İdrarda yüksek kadmiyum seviyelerinin LINE-1'in hipometilasyonu ile ilgili olduğu bulunmuş ancak kandaki kadmiyum düzeyleri ile LINE-1 metilasyonu arasında bir ilişki tespit edilmemiştir. Ayrıca kan ve idrardaki kadmiyum düzeylerinin p16 ve MLH1 metilasyonları ile de bir ilişkisi bulunmamıştır [14].

Fabbri ve ark. tarafından yapılan çalışmada insan hepatoblastom hücrelerinde (HepG2) 10 μM kadmiyum ekspresyonu sonrasındaki mikro-RNA değişimleri ölçülmüştür. Çalışmalarında listeledikleri 12 miRNA'nın bazılarının tümör supresyonunda rol oynadıklarına inanılmaktadır [9].

2.4.4 Replike Olan Bağlantılar

Yukarıda bahsedilen çalışmalarda bulunan genlerin karşılaştırmasında, iki bağımsız çalışmada 11 genin bildirildiğini gözledik. Bu genler, epigenomik ile meme kanseri arasındaki ilişkileri inceleyen çalışmalarda bulunan genlerle aşağıdaki bölümde ONB yaklaşımına uygun olarak karşılaştırılmıştır.

2.5 3. Basamak: Epigenomik ve Meme Kanseri

ONB yaklaşımının son basamağı -omik teknolojisi ile meme kanseri arasındaki ilişkiyi tanımlamaktadır. Yeni biyomarkerlerin bulunması sadece meme kanserinin tespitinde değil, aynı zamanda tiplerine ayrılabilmesi ve tedavisinde de hayati rol oynamaktadır. Meme kanseri epigenetik ve diğer -omik teknolojilerinin en erken ve yoğun olarak kullanıldığı hastalıklar arasındadır. Bu tekniklerin meme kanseri ile ilişkisi hakkında çok sayıda makale yayınlandığı için, burada kullandıklarımızı epigenetik ile ilgili güncel bakış açıları sunanlarla kısıtlamak durumunda kaldık.

Lo ve ark. 2008 yılında meme kanserindeki DNA metilasyonunu da içeren epigenetik değişimleri içeren literatür taraması yapmıştır [27]. Bu hastalığı taşıyan bireylerde hipermetile olan 40 gen tanımlamışlardır. Bu genlerden bir tanesinin EBK'lara maruziyet sonrası farklı düzeyde metile olduğu bulunmuştur. Hem Jovanovic [21] ve ark. hem de Huang ve ark. [17] yakın zamanda meme kanserinin epigenetiği hakkında geniş kapsamlı incelemeler yayınlamışlardır. İki yazar da insan meme kanseri hücrelerinde hipermetile ve hipometile olan genlerin listesini yapmıştır. Jovanovic ve ark. [21] meme kanserinde en sık olarak farklı düzeylerde metile olan genlerin listesini yapmıştır. Bu genlerden 6 tanesi hipometile, 37 tanesi ise hipermetile olmaktadır. Bunlardan bir tanesinden yukarıda anlatılan maruziyet ve -omik çalışmalarında bahsedilmiştir. Huang ve ark. meme kanserinde çok sayıda genin (toplam 186) genel olarak hipermetile veya hipometile olduğunu bildirmiştir. Bu uzun listede bulunan bir genin EBK maruziyeti ile farklı düzeyde eksprese olduğu en az iki çalışma tarafından da bildirilmiştir Son olarak Wang ve ark. ile Suijkerbuijk ve ark. belirli genlerin metilasyon düzeylerinin meme kanserinde biyomarker olarak kullanılma ihtimalini incelemişlerdir. Bu yazarların bildirdikleri 14 ve 19 genden, EBK maruziyeti sonrası epigenetik değişime uğrayan 1 ve 0 genleri de iki çalışmada tanımlanmıştır [41, 48]. Tablo 2'de bu konu ile ilgili genel bir değerlendirme mevcuttur. Epigenetik ile meme kanseri karşılaştırma çalışmalarında bulunan genlerin, iki bağımsız maruziyet ile -omik karşılaştırma çalışmasında bildirilen 11 "valide" edilmiş gen ile karşılaştırmasında öne çıkan bir adet genin fonksiyonu aşağıda tanımlanmıştır.

2.5.1 P16

P16 sikline bağımlı kinaz inhibitörü 2A (melanom, P16, CDK4'ü inhibe eder) adı verilen genin prototipidir. Farklı isimleri arasına p16INK4a ve CDKN2A en sık kullanılanlarıdır. İnsan genomunda 9p21 bölgesinde bulunur. Diğer fonksiyonlarına ek olarak hücre döngüsünün durdurulması ve apoptozda önemli rol oynar. Farklı kanser tiplerinde

mutasyona uğradığı ve silindiği için tümör baskılayıcı bir gen olarak tanınır. Kanserde, promotör bölgesinin sıklıkla hipermetile olarak bu genin ekspresyonunda azalmaya ve sessizleştirilmesine yol açtığı gösterilmiştir [37].

3 Tartışma

Meme kanseri ve çevresel maruziyetleri araştıran güncel çalışmaların çoğunun hedefi -omik teknolojilerine dayanan aracı biyomarkerlerin tanımlanmasıdır. Bu biyomarkerlerin tanımlanabilmesi amacıyla üç olası ilişki araştırılmıştır: (1) Maruziyet ve hastalık arasındaki ilişkiler. (2) Maruziyet ile erken etki gösteren aracı -omik biyomarkerler arasındaki ilişkiler. (3) Hastalık sonuçları ile aracı -omik biyomarkerler arasındaki ilişkiler. Her üç basamakta bulunabilecek ilişkiler arasında nedensel bir bağlantının ve devamında yeni bir biyomarkerin bulunması mümkündür. Ancak arada bir ilişki olmama ihtimali de hala mümkündür.

Biyomarker validasyonunun ana amacı biyomarker değişkenliğinin tanımlanmasıdır. Epidemiyolojik çalışmaların dizaynlarını ve yorumlanmalarını etkileyen başlıca biyomarker değişkenlik komponentleri şunlardır: (1) Denekle ilgili biyomarker değişimleri (denekler arası ve deneğin kendi içindeki değişimleri de kapsar). (2) Ölçüm hatalarına bağlı değişkenlikler (laboratuarlar arası ve laboratuarın kendi içindeki değişkenlikleri de kapsar). (3) Randomize hatalar. Bu nedenle, biyomarkerler kullanılarak yapılan çalışmalarda mümkün olan yerlerde şu bilgilerin toplanması gerekmektedir: (1) Örnek alımının tekrarı (markera bağlı olarak günlük, aylık veya yıllık değişkenlikler önem taşıyabilir). (2) Potansiyel karıştırıcılar ile ilgili bilgiler (denekler arası değişkenlikleri etkileyen faktörler). (3) Örneklerin alınmasının ve laboratuar analizlerinin hangi koşullar altında gerçekleştiği hakkında bilgi (toplu örnek alımı, testler ve spesifik prosedürler) [46].

Güncel literatürde, p16 geninin EBK'ya maruziyet sonrası farklı düzeylerde metile olduğu bildirilmektedir. Ayrıca meme kanseri hücre ve dokularında da farklı düzeylerde metile olmaktadır. EBK maruziyeti büyük oranda diyet yoluyla gerçekleşir. Bu geni inceleyen birçok çalışma olmasına rağmen, hiçbir çalışmanın ONB yaklaşımının her üç basamağını da incelememiş olması problem teşkil etmektedir. Bu nedenle biyomarker değişkenliğinin tanımlanması güçtür. Yine de bu genin her üç basamakta da tespit edilmiş olması, EDC maruziyeti ile meme kanseri riski arasındaki nedensel bağlantının varlığının inandırıcılığını artırmaktadır.

Potansiyel aracı biyomarkerler ile ilgili önemli zorluklardan bir tanesi maruziyet ile hastalık arasındaki nedensel bağlantıya ait olup olmadıklarının ya da sadece bir maruziyetin veya hastalığın yan etkisi olup olmadıklarının ve diğer maruziyetler nedeniyle ölçüm doğruluklarının bozulup bozulmadığının anlaşılmasıdır. EBK'lerin kandaki düzeylerinin ölçülmesini sağlayabilecek bir yöntem meme kanseri riskinin tespitinin diğer karıştırıcı risk faktörlerinden bağımsız olarak belirlenmesine katkı yapabilir. Bu tür bir yöntem EBK düzeylerinin farklı genotipler veya polimorfizmler ile ilişkisini gösterebilir.

Ayrıca farklı genotip ve polimorfizmlere göre hastalık riski tahmin edilebilir (Mendel randomizasyonu konsepti). Örnek olarak CYP1A1 geninde polimorfizm olan postmenopozal beyaz kadınlarda yüksek PCB (poliklorlu feniller) maruziyetinin daha yüksek meme kanseri ile ilişkili olduğunu gösteren üç çalışma verilebilir [22, 32, 54]. CYP1A1 geninin farklı alelleri karıştırıcı faktörlerden bağımsız oldukları ve randomize bir şekilde nesilden nesile aktarıldıkları için bu gendeki polimorfizmin meme kanseri ile ilişkili olduğu bulgusu, EBK'lerin hastalığın etyolojisinde oynadığı rolün indirekt ispatı olabilir. Ancak diğer birçok kimyasal da CYP1A1 tarafından metabolize edilmektedir.

Hem Mendel randomizasyon konseptinin hem de ONB yaklaşımının aracı biyomarkerlerin tanımlanmasında büyük potansiyele sahip olduğu netleşmiştir. Ancak bu modellerin pratikte uygulanmaları ile ilgili zorluklar hala karşımızda durmaktadır.

Teşekkürler Bu çalışma Compagnia di San Paolo tarafından PV ve KVV'ye sağlanan destek ile gerçekleşmiştir.

Referanslar

1. Abdellatif M (2012) Differential expression of microRNAs in different disease states. Circ Res 110:638–650
2. Avissar-Whiting M, Veiga KR, Uhl KM et al (2010) Bisphenol A exposure leads to specific microRNA alterations in placental cells. Reprod Toxicol 29:401–406
3. Benbrahim-Tallaa L, Waterland RA, Dill AL et al (2007) Tumor suppressor gene inactivation during cadmium-induced malignant transformation of human prostate cells correlates with overexpression of de novo DNA methyltransferase. Environ Health Perspect 115:1454–1459
4. Block K, Kardana A, Igarashi P et al (2000) In utero diethylstilbestrol (DES) exposure alters Hox gene expression in the developing mullerian system. FASEB J 14:1101–1108
5. Bromer JG, Wu J, Zhou Y et al (2009) Hypermethylation of homeobox A10 by in utero diethylstilbestrol exposure: an epigenetic mechanism for altered developmental programming. Endocrinology 150:3376–3382
6. Christensen BC, Marsit CJ (2011) Epigenomics in environmental health. Front Genet 2:84
7. Davey SG, Ebrahim S (2003) 'Mendelian randomization': can genetic epidemiology contribute to understanding environmental determinants of disease? Int J Epidemiol 32:1–22
8. Dolinoy DC, Huang D, Jirtle RL (2007) Maternal nutrient supplementation counteracts bisphenol A-induced DNA hypomethylation in early development. Proc Natl Acad Sci USA 104:13056–13061
9. Fabbri M, Urani C, Sacco MG et al (2012) Whole genome analysis and microRNAs regulation in HepG2 cells exposed to cadmium. ALTEX 29:173–182
10. Feinberg AP, Tycko B (2004) The history of cancer epigenetics. Nat Rev Cancer 4:143–153
11. Fliser D, Novak J, Thongboonkerd V et al (2007) Advances in urinary proteome analysis and biomarker discovery. J Am Soc Nephrol 18:1057–1071
12. Ho SM, Tang WY, de Belmonte FJ et al (2006) Developmental exposure to estradiol and bisphenol A increases susceptibility to prostate carcinogenesis and epigenetically regulates phosphodiesterase type 4 variant 4. Cancer Res 66:5624–5632
13. Davey SG, Ebrahim S (2003) Mendelian randomization: can genetic epidemiology contribute to understanding environmental determinants of disease? Int J Epidemiol 32:1–22
14. Hossain MB, Vahter M, Concha G et al (2012) Low-level environmental cadmium exposure is associated with DNA hypomethylation in Argentinean women. Environ Health Perspect 120:879–884

15. Vineis P, Perera F (2007) Molecular epidemiology and biomarkers in etiologic cancer research: the new in light of the old. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 16:1954–1965
16. Huang D, Zhang Y, Qi Y et al (2008) Global DNA hypomethylation, rather than reactive oxygen species (ROS), a potential facilitator of cadmium-stimulated K562 cell proliferation. Toxicol Lett 179:43–47
17. Huang TH, Esteller M (2010) Chromatin remodeling in mammary gland differentiation and breast tumorigenesis. Cold Spring Harb Perspect Biol 2:a004515
18. Jensen TJ, Novak P, Eblin KE et al (2008) Epigenetic remodeling during arsenical-induced malignant transformation. Carcinogenesis 29:1500–1508
19. Jiang G, Xu L, Song S et al (2008) Effects of long-term low-dose cadmium exposure on genomic DNA methylation in human embryo lung fibroblast cells. Toxicology 244:49–55
20. Jo WJ, Ren X, Chu F et al (2009) Acetylated H4K16 by MYST1 protects UROtsa cells from arsenic toxicity and is decreased following chronic arsenic exposure. Toxicol Appl Pharmacol 241:294–302
21. Jovanovic J, Ronneberg JA, Tost J et al (2010) The epigenetics of breast cancer. Mol Oncol 4:242–254
22. Laden F, Ishibe N, Hankinson SE et al (2002) Polychlorinated biphenyls, cytochrome P450 1A1, and breast cancer risk in the Nurses' Health Study. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 11:1560–1565
23. Lee YM, Lee JY, Ho CC et al (2011) miRNA-34b as a tumor suppressor in estrogen-dependent growth of breast cancer cells. Breast Cancer Res 13:R116
24. Li S, Hansman R, Newbold R et al (2003) Neonatal diethylstilbestrol exposure induces persistent elevation of c-fos expression and hypomethylation in its exon-4 in mouse uterus. Mol Carcinog 38:78–84
25. Li S, Ma L, Chiang T et al (2001) Promoter CpG methylation of Hox-a10 and Hox-a11 in mouse uterus not altered upon neonatal diethylstilbestrol exposure. Mol Carcinog 32:213–219
26. Li S, Washburn KA, Moore R et al (1997) Developmental exposure to diethylstilbestrol elicits demethylation of estrogen-responsive lactoferrin gene in mouse uterus. Cancer Res 57:4356–4359
27. Lo PK, Sukumar S (2008) Epigenomics and breast cancer. Pharmacogenomics 9:1879–1902
28. Luger K, Mader AW, Richmond RK et al (1997) Crystal structure of the nucleosome core particle at 2.8 Å resolution. Nature 389:251–260
29. Ma L, Benson GV, Lim H et al (1998) Abdominal B (AbdB) Hoxa genes: regulation in adult uterus by estrogen and progesterone and repression in mullerian duct by the synthetic estrogen diethylstilbestrol (DES). Dev Biol 197:141–154
30. Marsit CJ, Eddy K, Kelsey KT (2006) MicroRNA responses to cellular stress. Cancer Res 66:10843–10848
31. Martínez L, Jiménez V, García-Sepúlveda C et al (2011) Impact of early developmental arsenic exposure on promotor CpG-island methylation of genes involved in neuronal plasticity. Neurochem Int 58:574–581
32. Moysich KB, Shields PG, Freudenheim JL et al (1999) Polychlorinated biphenyls, cytochrome P4501A1 polymorphism, and postmenopausal breast cancer risk. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 8:41–44
33. Newbold RR, Hanson RB, Jefferson WN (1997) Ontogeny of lactoferrin in the developing mouse uterus: a marker of early hormone response. Biol Reprod 56:1147–1157
34. Prins GS, Tang WY, Belmonte J et al (2008) Perinatal exposure to oestradiol and bisphenol A alters the prostate epigenome and increases susceptibility to carcinogenesis. Basic Clin Pharmacol Toxicol 102:134–138
35. Qin XY, Fukuda T, Yang L et al (2012) Effects of bisphenol A exposure on the proliferation and senescence of normal human mammary epithelial cells. Cancer Biol Ther 13:296–306
36. Ren X, McHale CM, Skibola CF et al (2011) An emerging role for epigenetic dysregulation in arsenic toxicity and carcinogenesis. Environ Health Perspect 119:11–19

37. Rocco JW, Sidransky D (2001) p16(MTS-1/CDKN2/INK4a) in cancer progression. Exp Cell Res 264:42–55
38. Salnikow K, Zhitkovich A (2008) Genetic and epigenetic mechanisms in metal carcinogenesis and cocarcinogenesis: nickel, arsenic, and chromium. Chem Res Toxicol 21:28–44
39. Sato K, Fukata H, Kogo Y et al (2006) Neonatal exposure to diethylstilbestrol alters the expression of DNA methyltransferases and methylation of genomic DNA in the epididymis of mice. Endocr J 53:331–337
40. Sato K, Fukata H, Kogo Y et al (2009) Neonatal exposure to diethylstilbestrol alters expression of DNA methyltransferases and methylation of genomic DNA in the mouse uterus. Endocr J 56:131–139
41. Suijkerbuijk KP, van Diest PJ, van der Wall E (2011) Improving early breast cancer detection: focus on methylation. Ann Oncol 22:24–29
42. Tabish AM, Poels K, Hoet P et al (2012) Epigenetic factors in cancer risk: effect of chemical carcinogens on global DNA methylation pattern in human TK6 cells. PLoS ONE 7:e34674
43. Takiguchi M, Achanzar WE, Qu W et al (2003) Effects of cadmium on DNA-(Cytosine-5) methyltransferase activity and DNA methylation status during cadmium-induced cellular transformation. Exp Cell Res 286:355–365
44. Tang WY, Newbold R, Mardilovich K et al (2008) Persistent hypomethylation in the promoter of nucleosomal binding protein 1 (Nsbp1) correlates with overexpression of Nsbp1 in mouse uteri neonatally exposed to diethylstilbestrol or genistein. Endocrinology 149:5922–5931
45. Toyota M, Suzuki H, Sasaki Y et al (2008) Epigenetic silencing of microRNA-34b/c and B-cell translocation gene 4 is associated with CpG island methylation in colorectal cancer. Cancer Res 68:4123–4132
46. Vineis P, Perera F (2007) Molecular epidemiology and biomarkers in etiologic cancer research: the new in light of the old. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 16:1954–1965
47. Wang B, Li Y, Tan Y et al (2012) Low-dose Cd induces hepatic gene hypermethylation, along with the persistent reduction of cell death and increase of cell proliferation in rats and mice. PLoS ONE 7:e33853
48. Wang W, Srivastava S (2010) Strategic approach to validating methylated genes as biomarkers for breast cancer. Cancer Prev Res (Phila) 3:16–24
49. Warita K, Mitsuhashi T, Sugawara T et al (2010) Direct effects of diethylstilbestrol on the gene expression of the cholesterol side-chain cleavage enzyme (P450scc) in testicular Leydig cells. Life Sci 87:281–285
50. Weng YI, Hsu PY, Liyanarachchi S et al (2010) Epigenetic influences of low-dose bisphenol A in primary human breast epithelial cells. Toxicol Appl Pharmacol 248:111–121
51. Yamashita S, Takayanagi A, Shimizu N (2001) Effects of neonatal diethylstilbestrol exposure on c-fos and c-jun protooncogene expression in the mouse uterus. Histol Histopathol 16:131–140
52. Yaoi T, Itoh K, Nakamura K et al (2008) Genome-wide analysis of epigenomic alterations in fetal mouse forebrain after exposure to low doses of bisphenol A. Biochem Biophys Res Commun 376:563–567
53. Zhang J, Fu Y, Li J et al (2009) Effects of subchronic cadmium poisoning on DNA methylation in hens. Environ Toxicol Pharmacol 27:345–349
54. Zhang Y, Wise JP, Holford TR et al (2004) Serum polychlorinated biphenyls, cytochrome P-450 1A1 polymorphisms, and risk of breast cancer in Connecticut women. Am J Epidemiol 160:1177–1183
55. Zhou X, Li Q, Arita A et al (2009) Effects of nickel, chromate, and arsenite on histone 3 lysine methylation. Toxicol Appl Pharmacol 236:78–84
56. Zhu H, Li K, Liang J et al (2011) Changes in the levels of DNA methylation in testis and liver of SD rats neonatally exposed to 5-aza-2′-deoxycytidine and cadmium. J Appl Toxicol 31:484–495

Kanser ve Yaşlanmada Diyet Epigenetiği

Trygve O. Tollefsbol

Özet

Kanserde ve yaşlılıkta sıklıkla görülen epigenetik anormallikler, bu süreçlerin önemli bir komponentini oluştururlar. Ancak epigenetik proseslerin belki de en önemli özelliği reversibl olmalarıdır. Kanser ve yaşlanmada rol oynayan genetik etkenlerin aksine, epigenetik anormallikler görece olarak daha kolay düzeltilebilirler. Kanser ve yaşlanmadaki epigenetik değişimleri hedef alan en yaygın yaklaşımlardan birisi diyetin kontrolüdür. Amaçlanan hedefe ulaşabilmek sadece diyetin kalitesini değil tüketilen kalori miktarını da hedeflemekle mümkün olabilir. Turpgiller ve yeşil çayda bulunan sulforafan gibi birçok fitokimyasalın antikanser epigenetik etkileri vardır. Ayrıca kansere ilave olarak yaşla ilişkili diğer hastalıklara bağlı olarak ortaya çıkan epigenetik anormalliklerin önlenmesinde veya tedavisinde etkilidirler. Benzer şekilde tüketilen kalori miktarının da kanserin önlenmesinde ve yaşamın uzatılmasında epigenetik aracıların kontrolü yoluyla fayda sağladığı ispatlanmıştır. Bu bölümün amacı kanser ve yaşlanma epigenetiğindeki en güncel gelişmeleri değerlendirmek ve bu biyolojik prosesleri hedefleyen ve sağlık üzerinde önemli etkileri ve dönüştürebilme potansiyeli olan diyet girişimleriyle ilişkili gelişmelere ışık tutmaktır.

T. O. Tollefsbol
Department of Biology, Centerfor Aging, Comprehensive Cancer Center, Nutrition Obesity Research Center, Comprehensive Diabetes Center, University of Alabama, Birmingham, AL, USA

T. O. Tollefsbol (✉)
University Boulevard, CH175, 1300, Birmingham, AL 35294-1170, USA
e-mail: trygve@uab.edu

V. Zappia et al. (eds.), *Advances in Nutrition and Cancer,*
Cancer Treatment and Research 159, DOI: 10.1007/978-3-642-38007-5_15,
© Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2014

Anahtar Kelimeler

Nütrisyon • Kanser • Epigenetik • Diyet • Yaşlanma

Kısaltmalar

CR	Kalori kısıtlaması
DNMT	DNA metiltransferaz
EGCG	(-)-epigallokateçin-3-gallat
HAT	Histon metiltransferaz
HDAC	Histon deasetilaz
hTERT	İnsan telomeraz revers transkriptaz
miRNA	mikro RNA
SAM	S-adenozilmetionin
SFN	Sulforafan
siRNA	Kısa düzenleyici RNA
SIRT1	Sirtuin 1

İçindekiler

1 Giriş 258
2 Kanser Epigenetiği ve Diyet Girişimleri 259
2.1 Kanserin Önlenmesi ve Tedavisinde Epigenetik Diyet 260
3 Yaşlanma Epigenetiği: Diyet Faktörlerinin Etkisi 261
3.1 Besin Öğeleri Miktarları, Epigenetik ve Yaşlanma 262
3.2 Diyet ve Yaşlanma Epigenetiği 262
3.3 Glukoz Kısıtlaması ve Hayflick Limitinin Artırılması 263
4 Sonuçlar 263
Referanslar 264

1 Giriş

Epigenetiğin birçok farklı tanımı mevcut olsa da muhtemelen en yaygın kabul göreni epigenetik proseslerin kalıtsal olan ancak DNA sekansı ile kodlanmayan değişimlerle ilişkili olduğudur. Çok sayıda epigenetik mekanizma mevcuttur. Memelilerdeki en önemli üç mekanizma DNA metilasyonu, histon modifikasyonu ve protein kodlamayan RNA'lardır.

DNA metilasyonu en fazla araştırılmış olan epigenetik prosestir. Primer olarak CpG dinükleotidlerinde, S-adenozilmetioninden (SAM) enzimatik yolla alınan metil ekinin (CH3) sitozinin 5. pozisyonuna eklenmesine dayanır. Bu proses memeli sistemlerinde bulunan üç majör metiltransferaz (DNMT1, DNMT3A ve DNMT3B) tarafından yü-

rütülür. DNMT1 büyük oranda her mitotik bölümde korunan metilasyon paterninin sürdürülmesinden sorumludur. DNMT3A ve DNMT3B ise ağırlıkla yeni metilasyondan sorumludur. Daha önce metile olmayan sitozindeki yeni metile sitozinlerin (5-metilsitozinler) oluşumunda rol oynarlar. Genel olarak bir genin regüle edici bölgesindeki genlerin metilasyon oranı arttıkça promotörden o oranda az transkripsiyon oluşur. Ancak telomerazın ana regüle edici geni olan insan telomeraz revers transkriptazı (hTERT) kodlayan gen bu dogmaya önemli bir istisna oluşturur [11, 44].

Epigenetik değişimlere histon modifikasyonları da aracılık eder. Histon asetilasyon ve metilasyonları bu modifikasyonlar arasında en fazla araştırılmış olanlarıdır. Ancak fosforilasyon, ubikutin eklenmesi, biyotinlenme, sumolasyon ve ADP ribozilasyonu da mevcuttur. Histon modifikasyonlarını gerçekleştiren enzimlerin sayısı, DNA metilasyonunu yürütenlere göre daha fazladır. Bunlardan kanser ve yaşlanma ile ilgili olan histon asetiltransferazlar (HAT) ve histon deaktilazlar (HDAC) en fazla ilgi çekenleridir [26]. Genel olarak histon amino kuyrukları ne kadar fazla asetillenirse histonları içeren gen promotör bölgelerinin transkripsiyonel aktiviteleri de o oranda artar [7].

Memeli sistemlerindeki üçüncü majör epigenetik kontrol tipi olan protein kodlamayan RNA'lar da gen ekspresyonunda önemli rol oynarlar. Örneğin tek zincirli protein kodlamayan RNA'lardan oluşan mikroRNA (miRNA) genel olarak 21-23 nükleotid uzunluğundadır. Bu sekanslar gen ekspresyonunu gen transkriptlerinin stabilitesini değiştirerek ve degradasyon transkriptlerini hedefleyerek baskılarlar. Ancak miRNA gen transkripsiyonunda artışa da neden olabilir [36]. Günümüzde memelilerdeki genlerin büyük yüzdesini regüle edebilen birçok miRNA tanımlanmıştır [14].

2 Kanser Epigenetiği ve Diyet Girişimleri

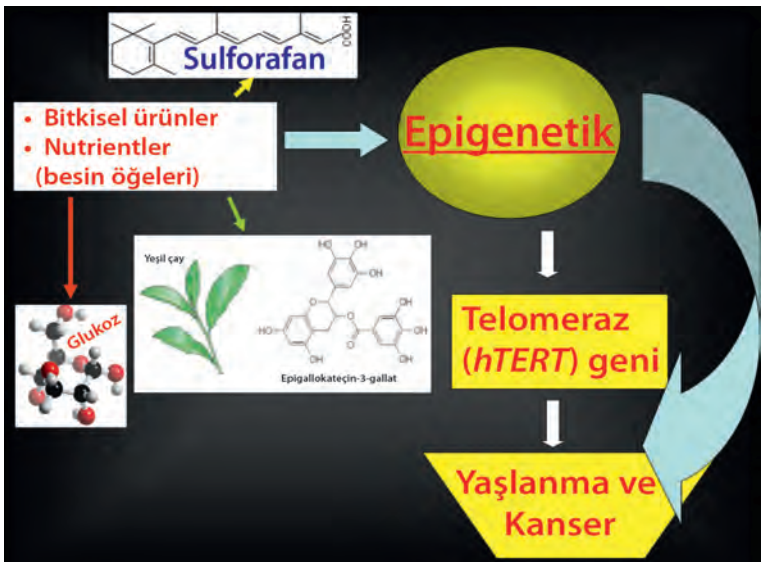
Diyet gibi çevresel faktörlerin gen ekspresyonunu etkilediği ve kanser gelişimine epigenetik mekanizmalar ile katkı yaptıkları iyi bilinmektedir [20]. Kanserde oluşan gen defektlerinin yarısından fazlasının epigenetik değişimlerle oluşması konunun önemini (genetik mutasyonlara göre) göstermektedir [23]. DNA hipometilasyonu kanser hücrelerinde nadir görülen bir durum olmayıp, sıklıkla tümör baskılayıcıları gibi önemli genlerin inaktivasyonuna yol açar [3]. DNA metilasyonundaki bu değişimler, kanserin oluşumunun erken dönemlerinde rol oynayarak, hücresel proliferasyon anormalliklerine yol açarlar. Ayrıca daha önce normal olan hücrelerin ölümsüzleşmesine neden olurlar. Histon modifikasyonlarında değişimler de kanser hücrelerinde sıklıkla görülür. Örneğin, kanser hücrelerinde çok sık görülen HDAC aktivite artışı epigenetik gen ekspresyonu üzerindeki etkileri ile tümörijeneze yol açabilir [13]. miRNA değişimleri kanserde sık görülür. Bu değişimler sıklıkla kanserin başlangıcı ve progresyonunda rol oynayan genlerin ekspresyonlarındaki defektler ile oluştur [14]. Belki de en önemlisi olan kanserdeki gen regülasyon anormalliklerinin kontrolündeki epigenetik proseslerin kollektif

etkileşimlerinin giderek daha fazla ilgi çekmesidir. Örnek vermek gerekirse epigenetik mekanizmaların kanser hücrelerindeki gen ekspresyonlarında değişime yol açmaları nadir görülen bir durum değildir [15].

2.1 Kanserin Önlenmesi ve Tedavisinde Epigenetik Diyet

Biyoaktif bileşiklerden oluşan birçok doğal diyet ajanının kanserin önlenmesi ve tedavisinde etkili oldukları gösterilmiştir. Bu nutrasötikler sıklıkla faydalı epigenetik değişimlere aracılık yaparlar [38, 50]. Bu nedenle epigenomu etkileyen ve kanserin önlenmesinde ve kemoterapötik stratejiler ile birlikte kullanılabilen "epigenetik diyet" kavramını geliştirdik [18].

Antikanser özelliklere sahip olduğu çok sayıda çalışmada gösterilen en önemli bileşiklerden biri yeşil çaydan elde edilen (-)-epigallokateçin-3-gallatdır (EGCG). Birçok çalışmada yeşil çay (EGCG) tüketimi ile çeşitli kanser türlerinin inhibisyonu arasında pozitif bir bağlantı olduğu gösterilmiştir [6, 25, 48]. EGCG'nin kanser hücreleri üzerinde (antioksidan etkisi gibi) farklı etkilere sahip olmasının yanında, DNMT'leri direkt



Şekil 1 Epigenetik diyetin komponentlerinin epigenetik, telomeraz (hTERT) ile yaşlanma ve kanserdeki etkileri. Turpgillerden elde edilen sulforafan ve (-)-epigallokateçin-3-gallat (EGCG) gibi (yapıları şekilde mevcuttur) bitkisel ürünler epigenetik prosesleri modifiye ederek yaşlanma ve kanser üzerinde direkt olarak etki gösterebilirler. Hem yaşlanma hem de kanserde önemli rol oynayan hTERT'in aşağı regülasyonuna da yol açabilirler. Fitokimyasalların epigenetik modifikasyonlara yol açma mekanizmaları bileşiğe göre farklılıklar gösterebilir. Glukoz kısıtlaması da epigenetik prosesleri etkileyerek yaşlanma ve kanser süreçlerini direkt olarak DNMT'ler ile etkileşime girerek etkileyebilir [16].

etkileşim yoluyla inhibe edebildiği de gösterilmiştir [16]. Bu şekilde kanser hücrelerindeki tümör baskılayıcı epigenetik sessizleştirmeyi etkili bir şekilde geriye çevirebilir ve bu hücrelerdeki apoptoz indüklenebilir. Ayrıca DNMT'nin EGCG tarafından inhibe edilmesinin hTERT'i aşağı regüle ederek kanser hücrelerindeki telomerazların supresyonuna yol açtıklarını da tespit ettik [4, 41]. Kanser hücrelerindeki hTERT aktivitesi promotörüne bağlanan represörler nedeniyle gen düzenleyici bölgesindeki DNA metilasyonundaki artış ile ilişkilidir [4]. Telomerazlar tümör progresyonunda çok önemli oldukları için, telomeraz aktivitesinin EGCG medyatörlüğündeki aşağı regülasyonunun kanserin önlenmesi ve tedavisinde önemli etkileri vardır (Şekil 1).

Epigenetik etkileri olan bir diğer önemli diyet komponenti de brokoli, karnabahar, Brüksel lahanası ve lahana gibi turpgillerde bulunan sulforafandır (SFN). Ancak SFN'nin DNMT1 ve DNMT3A'yı inhibe ettiğini göstermiş olsak ta [39], en güçlü etkilerini HDAC aktivitesinin inhibisyonu yoluyla göstermektedir [12, 42, 43, 47]. HDAC'lar yukarıda da bahsedildiği üzere kanser hücrelerinde sıklıkla artarlar. HDAC aktivitesinin SFN tarafından inhibisyonu kanser hücrelerindeki HDAC artışının önlenmesinde önemli bir potansiyele sahiptir. hTERT histon asetilasyon/deasetilasyonu ile de kontrol edildiği için [11], SFN'nin hTERT'in meme kanseri hücrelerinin gen regülasyonunu etkileme düzeylerini değiştirip değiştirmediğini test ettik. MCF-7 ve MDA-MB-231 hücrelerine SFN uygulanmasının hTERT'i doz ve zamana bağlı olarak aşağı regüle ettiğini tespit ettik (Şekil 1). SFN ile indüklenen hiperasetilasyon hTERT'in gen regüle edici bölgesine MAD1 ve CTCF gibi birçok hTERT represör proteinin bağlanmasını kolaylaştırır [39]. Ayrıca siRNA kullanan CTCF azalmasının meme kanseri hücrelerindeki SFN ile indüklenen hTERT aşağı regülasyonunu da zayıflattığını tespit ettik [39].

Yeşil çaydaki EGCG ve turpgillere ailesine ait sebzelerdeki SFN gibi diyet bileşiklerinin birçok farklı etkileri de mevcuttur. Bu bileşiklerin kanserin başlangıç ve progresyonunda rol oynayan ana genlerin epigenetik kontrolünü büyük oranda etkiledikleri kesindir [38]. Ayrıca EGCG ve SFN'ye ek olarak kanserin önlenmesinde oldukça etkili olan birçok diyet bileşiği de mevcuttur. Örneğin kurkumin (zerdeçal), resveratrol (üzüm ve şarap) ve genistein (soya fasulyesi) ve daha birçok fitokimyasal epigenetik potansiyelleri nedeniyle ciddi anlamda ilgi çekmektedir [38]. Epigenetiği modifiye eden gıdalar ve içeceklerin dünyada kanser insidansının azaltılmasında önemli rol oynayacağına inanıyoruz. Bu nedenle epigenetik diyet kullanımını sadece kanserlerin önlenmesinde değil, belki de erken evrelerdeki kanserlerin tedavisindeki muhtemel etkileri nedeniyle de önerilmektedir [18]. Bu fitokimyasalların diyette kombine halde kullanımları da kanser insidansını azaltmada oldukça makul bir yaklaşımdır [40].

3 Yaşlanma Epigenetiği: Diyet Faktörlerinin Etkisi

Kanser gelişimi ile ilgili en önemli risk faktörü yaştır. Kanser ile yaşlanma arasında bağlantılar olabileceğini öngören birçok çalışmada bu iki önemli biyolojik proseste epigenetiğin rolü araştırılmıştır. Gerçekten de, yaşlanma süreci aynen kanser gibi genel genomik

hipometilasyon ve bölgesel veya belirli genlere spesifik hipermetilasyon ile ilişkilidir [22, 37]. Bu durum DNMT'lerin ekspresyonlarındaki değişimlerden kaynaklanabilir [5, 34]. Yaşlanma esnasında DNA metilasyonunda görülen bu değişimlerin, yaşlanma sürecine katkı yapan epigenetik olarak kontrol edilen hTERT gibi genlerin regülasyonunda bir dizi değişime neden olması mümkündür [33]. Ayrıca histon modifikasyonlarının da yaşlanmada rol oynadıkları düşünülmektedir. Gerçekten de, sınıf III NAD^+ bağımlı bir HDAC olan sirtuin 1'in (SIRT1) farklı hayvan modellerindeki yaşam sürelerini dikkat çekici düzeyde uzatıcı etki yaptığı gösterilmiştir [8, 24]. SIRT1 enziminin metabolik oran ile ilişkili önemli bir nütrient sensörü olabileceği düşünülmektedir. NAD/NADH oranı şeklinde basitçe ifade edilen redoks potansiyeli oksijen tüketimi ve respiratuar zincirde önemli bir gösterge olan SIRT1 aktivitesini regüle etmede önemli rol oynuyor olabilir. Yaşlanma sırasında diğer birçok epigenetik değişim meydana geliyor olsa da, DNA metilasyonunun ve histon modifikasyonlarının regülasyonu, hTERT'in epigenetik kontrolü ve SIRT1'in yaşlanma ile ilgili biyolojik prosesleri modüle etmekteki rolü ciddi anlamda ilgi çeken konulardır.

3.1 Besin Öğeleri Miktarları, Epigenetik ve Yaşlanma

Yukarıda da bahsettiğimiz gibi kanser ve yaşlanmada sadece diyetin kalitesi değil, tüketilen besin öğelerinin miktarı da önemli bir rol oynamaktadır. Kalori kısıtlaması yaşlanma süreci ve maksimum hayat süresine ulaşabilme ile ilgili en önemli girişim olup kısmen epigenetik mekanizmaların aracılığında gerçekleşir [49, 53]. Total kalori miktarının hayati besin öğeleri sağlanmak kaydıyla %25-60 arasında kısıtlanması (normal beslenen kontrollere göre) yaşam süresinin %50 uzamasını sağlayabilmektedir [9, 10, 21, 31, 45, 52]. Kalori kısıtlamasının spesifik gen lokuslarındaki etkileri ile DNA metilasyonu değişime uğratılarak yaşam süresi uzatılabilir [19]. Ayrıca yaşlanma sürecinde önemli bir HDAC olan SIRT1'in kalori kısıtlaması ile güçlü bağlantısı vardır. Örneğin, kalori kısıtlaması ile SIRT1 aktivitesinin değişime uğradığı birçok in vitro ve in vivo çalışmada gösterilmiştir [8, 17, 27, 32]. Sirtuinin yaşam süresini uzatıcı etkisi orijinal olarak maya da keşfedilmiştir [17]. Kalori kısıtlamasına maruz kalan çeşitli hayvan dokularında sıklıkla SIRT1 aktivasyonu görülürken, SIRT1 inaktivasyonunun kalori kısıtlamasının yaşam süresini uzatıcı etkilerini ortadan kaldırdığı gözlenmiştir. Bu nedenle epigenetik proseslerin sadece yaşlanma sürecinde değil, DNA metilasyonu ve SIRT1 gibi yaşlanma ile ilgili ana medyatörler ile de önemli ilişkileri olduğu açıktır.

3.2 Diyet ve Yaşlanma Epigenetiği

Fitokimyasal bir diyet polifenolü olan resveratrol kalori kısıtlamasının önemli bir aracısıdır. SIRT1'i taklit ederek hem in vitro hem de in vivo ortamda yaşam süresinin uzamasını sağlar [1, 2, 51, 54]. Resveratrole ek olarak EGCG gibi diğer birçok polifenolün de yaşlanma süreci üzerinde faydalı etkileri olduğu gösterilmiştir [46]. Turpgiller ailesinde-

ki sebzelerin ve soya fasulyesi gibi diğer epigenetik diyet komponentlerinin kanseri önleyici etkileri yoluyla yaşam süresinin uzamasına katkıları vardır [28, 31, 38]. Örneğin, epigenetik diyet komponentlerinin belirli bir periyod süresince kullanılmaları ile kanser ve kardiyovasküler hastalık gibi yaşla ilgili hastalıklarda azalma görülebilmektedir [35].

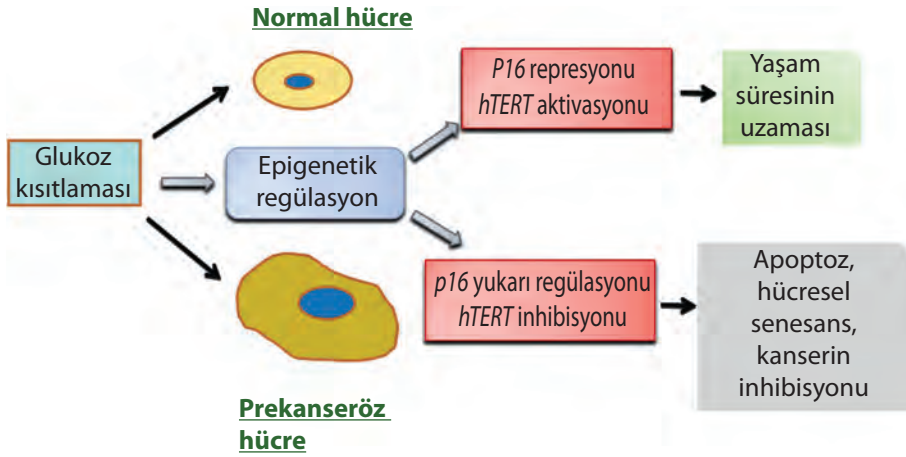
3.3 Glukoz Kısıtlaması ve Hayflick Limitinin Artırılması

Hayflick limiti biyolojik yaşlanma için hayati olan hücresel senesans ile ilişkilidir. Kalori kısıtlaması ile ilişkili çalışmalar organizma (tek hücreli mayalar gibi) yaşam sürelerinin analizi ile kısıtlı olduğu için, bu kısıtlamanın memelilerdeki Hayflick limitini etkileyip etkilemediğini test etmeyi amaçladık. Ayrıca kalori kısıtlamasının insan yaşlanması üzerindeki etkileri, bu çalışmaların görece olarak uzun yaşam süresi olan insan popülasyonlarında yapılması pratik olmadığı için henüz büyük oranda anlaşılamamıştır. Hücresel senesans yaşlanmanın önemli temellerinden kabul edildiği için, insan fibroblast hücre kültürlerindeki glukoz miktarının kısıtlanmasının Hayflick limiti üzerindeki etkilerini gözlemledik [29]. 15 mg/L glukoz uygulanan kültürdeki insan hücrelerinin yaşam sürelerinin 4.5 g/L glukoz uygulanan kontrol insan hücrelerine göre anlamlı olarak azaldığını tespit ettik. Ayrıca glukoz kısıtlaması uygulanan hücrelerde hTERT düzeylerinde görece olarak hafif düzeyde artışa (kanser hücrelerine göre) ve p16 düzeylerinde azalmaya yol açan epigenetik değişimler gözlemledik. Kalori kısıtlamasına cevap olarak oluşan epigenetik değişimlerin bu hücrelerdeki DNA metilasyon ve histon modifikasyonlarına bağlı olduğunu (en azından kısmen) tespit ettik (Şekil 2). Ayrıca prekanseröz hücrelerdeki hTERT ve p16'nın kalori kısıtlamasına ters yönde cevap vererek epigenetik olarak indüklenen hücre apoptozunun oluşumuna yol açtığı bulunmuştur [29] (Şekil 2).

Farklı çalışmalarımızdaki ilave analizlerde glukoz kısıtlaması uygulanan insan hücrelerindeki SIRT1 düzeylerinin arttığı tespit edilmiştir. Bu artış SIRT'in p16 üzerindeki epigenetik etkileri ile SIRT1'in p16 üzerindeki Akt/p70S6K1 yolağı vasıtasıyla gerçekleşen genetik etkileri ile insan hücrelerinin yaşam sürelerinin uzamasına neden olmuştur [30]. Kalori kısıtlaması bu nedenle sadece hayvanların değil, hücrelerinin de yaşam sürelerini artırmıştır. Hayflick limiti yaşlanmanın önemli bir özelliği olduğu ve bahsettiğimiz çalışmalarda metabolik sistemik faktörler rol oynamadığı için, kalori kısıtlamasının primer olarak senesans düzeyinde etki gösterdiği ve hücresel senesansın önemli bir aracısı olduğu ve yaşlanmanın kalori kısıtlamasına cevap olarak epigenetik mekanizmalarda oluşan değişimler ile meydana geldiği bulunmuştur.

4 Sonuçlar

Epigenetik mekanizmalar yaşlanma ve kanser ile ilgili birçok özellik önem taşımaktadır. Diyet faktörleri bu biyolojik süreçlerin advers etkilerini azaltabilen önemli yardımcılardır. Diyetin hem kalitesi hem de miktarı sağlıklı yaşlanma ve özellikle kanserde hayati



Şekil 2 Glukoz kısıtlamasının epigenetik regülasyon yoluyla yaşam süresi ve kanser üzerindeki etkisi. Glukoz kısıtlaması hem normal hem de kanser hücrelerindeki epigenetik regülasyonunu etkileyebilir. Glukoz kısıtlaması ile normal hücrelerde *p16* represyonu ve *hTERT* aktivasyonu gerçekleşerek Hayflick limitinin artmasına neden olur. Prekanseröz hücrelerde ise glukoz kısıtlaması ile *p16* ve *hTERT* üzerinde bu etkinin tersinin görülmesi apoptoz, hücresel senesans ve kanser inhibisyonuna yol açar.

önem taşımaktadır. Diyetin kalitesini, fitokimyasalların tüketiminden oluşan ve DNA metilasyon, histon modifikasyonu ve protein kodlamayan RNA gibi prosesleri modüle eden epigenetik diyet belirler. Epigenetik diyetin sadece kanseri önlemekte değil, yaşa bağlı hastalıkların ortaya çıkmasındaki önemli potansiyeli ile ilgili dünya çapında çok önemli bir veri tabanı oluşmaktadır. Diyet miktarının da epigenetik etkileri vardır. Kalori azaltımından, birçok hücresel prosesin aracısı olan SIRT1 aktivitesi gibi birçok epigenetik mekanizma etkilenmektedir. Kalori kısıtlamasının hücresel düzeyde insan hücrelerinin yaşam süresini uzattığını gösterdik. Bu bulgu kalori kısıtlamasının epigenetik etkileri ile yaşam süresinin uzatılması prosesinin muhtemel temelini oluşturmaktadır. Epigenetiğin kanser ve yaşlanmadaki rolü ile ilgili hala cevaplanmamış birçok soru mevcuttur. Ancak epigenetik mekanizmaların hem kanser hem de yaşlanmada görülen ana anormallikler olduğu netleşmiştir. Epigenetik diyet çok sayıda insanın hayatına mal olan biyolojik prosesler olan kanser ve yaşlanmada görülen morbidite ve mortaliteyi azaltmanın güvenli ve etkili bir yolu olarak giderek daha fazla öne çıkan bir araştırma konusu haline gelmektedir.

Teşekkürler Bu çalışmaya kısmi maddi destek sağlayanlar: Ulusal Kanser Enstitüsü (RO1 CA129415), Amerikan Kanser Enstitüsü, Norma Livingston Vakfı.

Referanslar

1. Barger JL, Kayo T, Vann JM et al (2008) A low dose of dietary resveratrol partially mimics caloric restriction and retards aging parameters in mice. PLoS ONE 3(6):e2264

2. Bass TM, Weinkove D, Houthoofd K et al (2007) Effects of resveratrol on lifespan in Drosophila melanogaster and Caenorhabditis elegans. Mech Ageing Dev 128:546–552
3. Baylin SB, Herman JG, Graff JR et al (1998) Alterations in DNA methylation: a fundamental aspect of neoplasia. Adv Cancer Res 72:141–196
4. Berletch JB, Liu C, Love WK et al (2008) Epigenetic and genetic mechanisms contribute to telomerase inhibition by EGCG. J Cell Biochem 103:509–519
5. Casillas MA Jr, Lopatina N, Andrews LG et al (2003) Transcriptional control of the DNA methyltransferases is altered in aging and neoplastically-transformed human fibroblasts. Mol Cell Biochem 252:33–43
6. Chen PN, Chu SC, Kuo WH et al (2011) Epigallocatechin-3 gallate inhibits invasion, epithelial-mesenchymal transition, and tumor growth in oral cancer cells. J Agric Food Chem 59:3836–3844
7. Clayton AL, Hazzalin CA, Mahadevan LC (2006) Enhanced histone acetylation and transcription: a dynamic perspective. Mol Cell 23:289–296
8. Cohen HY, Miller C, Bitterman KJ et al (2004) Calorie restriction promotes mammalian cell survival by inducing the SIRT1 deacetylase. Science 305:390–392
9. Colman RJ, Anderson RM, Johnson SC et al (2009) Caloric restriction delays disease onset and mortality in rhesus monkeys. Science 325:201–204
10. Cruzen C, Colman RJ (2009) Effects of caloric restriction on cardiovascular aging in non-human primates and humans. Clin Geriatr Med 25:733–743
11. Daniel M, Peek GW, Tollefsbol TO (2012) Regulation of the human catalytic subunit of telomerase (hTERT). Gene 498:135–146
12. Dashwood RH, Ho E (2008) Dietary agents as histone deacetylase inhibitors: sulforaphane and structurally related isothiocyanates. Nutr Rev 66(Suppl 1):S36–S38
13. Dokmanovic M, Marks PA (2005) Prospects: histone deacetylase inhibitors. J Cell Biochem 96:293–304
14. Esquela-Kerscher A, Slack FJ (2006) Oncomirs—microRNAs with a role in cancer. Nat Rev Cancer 6:259–269
15. Esteller M (2008) Epigenetics in cancer. N Engl J Med 358:1148–1159
16. Fang MZ, Wang Y, Ai N et al (2003) Tea polyphenol (-)-epigallocatechin-3-gallate inhibits DNA methyltransferase and reactivates methylation-silenced genes in cancer cell lines. Cancer Res 63:7563–7570
17. Guarente L, Picard F (2005) Calorie restriction–the SIR2 connection. Cell 120:473–482
18. Hardy TM, Tollefsbol TO (2011) Epigenetic diet: impact on the epigenome and cancer. Epigenomics 3:503–518
19. Hass BS, Hart RW, Lu MH et al (1993) Effects of caloric restriction in animals on cellular function, oncogene expression, and DNA methylation in vitro. Mutat Res 295:281–289
20. Herceg Z (2007) Epigenetics and cancer: towards an evaluation of the impact of environmental and dietary factors. Mutagenesis 22:91–103
21. Holloszy JO, Fontana L (2007) Caloric restriction in humans. Exp Gerontol 42:709–712
22. Issa JP (1999) Aging, DNA methylation and cancer. Crit Rev Oncol Hematol 32:31–43
23. Issa JP (2008) Cancer prevention: epigenetics steps up to the plate. Cancer Prev Res (Phila) 1:219–222
24. Kanfi Y, Peshti V, Gozlan YM et al (2008) Regulation of SIRT1 protein levels by nutrient availability. FEBS Lett 582:2417–2423
25. Kim JW, Amin AR, Shin DM (2010) Chemoprevention of head and neck cancer with green tea polyphenols. Cancer Prev Res (Phila) 3:900–909
26. Kouzarides T (2007) Chromatin modifications and their function. Cell 128:693–705
27. Leibiger IB, Berggren PO (2006) Sirt1: a metabolic master switch that modulates lifespan. Nat Med 12:34–36
29. Li Y, Liu L, Andrews LG et al (2009) Genistein depletes telomerase activity through cross-talk between genetic and epigenetic mechanisms. Int J Cancer 125:286–296

30. Li Y, Liu L, Tollefsbol TO (2010) Glucose restriction can extend normal cell lifespan and impair precancerous cell growth through epigenetic control of hTERT and p16 expression. FASEB J 24:1442–1453
28. Li Y, Tollefsbol TO (2011) p16(INK4a) suppression by glucose restriction contributes to human cellular lifespan extension through SIRT1-mediated epigenetic and genetic mechanisms. PLoS ONE 6:e17421
31. Li Y, Daniel M, Tollefsbol TO (2011) Epigenetic regulation of caloric restriction in aging. BMC Med 9:98
32. Lin SJ, Defossez PA, Guarente L (2000) Requirement of NAD and SIR2 for life-span extension by calorie restriction in Saccharomyces cerevisiae. Science 289:2126–2128
33. Liu L, Wylie RC, Andrews LG et al (2003) Aging, cancer and nutrition: the DNA methylation connection. Mech Ageing Dev 124:989–998
34. Lopatina N, Haskell JF, Andrews LG et al (2002) Differential maintenance and de novo methylating activity by three DNA methyltransferases in aging and immortalized fibroblasts. J Cell Biochem 84:324–334
35. Mathers JC (2006) Nutritional modulation of ageing: genomic and epigenetic approaches. Mech Ageing Dev 127:584–589
36. Mathers JC, Strathdee G, Relton CL (2010) Induction of epigenetic alterations by dietary and other environmental factors. Adv Genet 71:3–39
37. Mays-Hoopes LL (1989) DNA methylation in aging and cancer. J Gerontol 44:35–36
38. Meeran SM, Ahmed A, Tollefsbol TO (2010a) Epigenetic targets of bioactive dietary components for cancer prevention and therapy. Clin Epigenetics 1:101–116
39. Meeran SM, Patel SN, Tollefsbol TO (2010b) Sulforaphane causes epigenetic repression of hTERT expression in human breast cancer cell lines. PLoS ONE 5(7):e11457
40. Meeran SM, Patel SN, Li Y et al (2012) Bioactive dietary supplements reactivate ER expression in ER-negative breast cancer cells by active chromatin modifications. PLoS ONE 7(5):e37748
41. Mittal A, Pate MS, Wylie RC et al (2004) EGCG down-regulates telomerase in human breast carcinoma MCF-7 cells, leading to suppression of cell viability and induction of apoptosis. Int J Oncol 24:703–710
42. Myzak MC, Tong P, Dashwood WM et al (2007) Sulforaphane retards the growth of human PC-3 xenografts and inhibits HDAC activity in human subjects. Exp Biol Med (Maywood) 232:227–234
43. Nian H, Delage B, Ho E et al (2009) Modulation of histone deacetylase activity by dietary isothiocyanates and allyl sulfides: studies with sulforaphane and garlic organosulfur compounds. Environ Mol Mutagen 50:213–221
44. Poole JC, Andrews LG, Tollefsbol TO (2001) Activity, function, and gene regulation of the catalytic subunit of telomerase (hTERT). Gene 269:1–12
45. Pugh TD, Oberley TD, Weindruch R (1999) Dietary intervention at middle age: caloric restriction but not dehydroepiandrosterone sulfate increases lifespan and lifetime cancer incidence in mice. Cancer Res 59:1642–1648
46. Queen BL, Tollefsbol TO (2010) Polyphenols and aging. Curr Aging Sci 3:34–42
47. Schwab M, Reynders V, Loitsch S et al (2008) The dietary histone deacetylase inhibitor sulforaphane induces human beta-defensin-2 in intestinal epithelial cells. Immunology 125(2):241–251
48. Shanmugam MK, Kannaiyan R, Sethi G (2011) Targeting cell signaling and apoptotic pathways by dietary agents: role in the prevention and treatment of cancer. Nutr Cancer 63:161–173
49. Sinclair DA (2005) Toward a unified theory of caloric restriction and longevity regulation. Mech Ageing Dev 126:987–1002
50. Su LJ, Mahabir S, Ellison GL et al (2011) Epigenetic contributions to the relationship between cancer and dietary intake of nutrients, bioactive food components, and environmental toxicants. Front Genet 2:91

51. Subramanian L, Youssef S, Bhattacharya S et al (2010) Resveratrol: challenges in translation to the clinic–a critical discussion. Clin Cancer Res 16:5942–5948
52. Sun D, Krishnan A, Su J, Lawrence R et al (2004) Regulation of immune function by calorie restriction and cyclophosphamide treatment in lupus-prone NZB/NZW F1 mice. Cell Immunol 228:54–65
53. Weindruch R, Walford RL, Fligiel S et al (1986) The retardation of aging in mice by dietary restriction: longevity, cancer, immunity and lifetime energy intake. J Nutr 116:641–654
54. Wood JG, Rogina B, Lavu S et al (2004) Sirtuin activators mimic caloric restriction and delay ageing in metazoans. Nature 430:686–689

Meme Kanseri ve Erken Yaşlardaki Beslenmenin Önemi

Karen A. Lillycrop ve Graham C. Burdge

Özet

Epigenetik prosesler dokuya özgü gen ekspresyonunun regülasyonunda önemli rol oynamaktadır. Bu süreçlerin değişime uğraması fenotipte önemli değişikliklere yol açarak kanseri de içeren birçok insan hastalığının patojenezinde önemli rol oynar. Çevresel etkiler (özellikle diyetteki varyasyonlar) spesifik gelişim aşamalarında epigenom değişimlerine yol açabilmektedir. Bu değişimler hayat boyu korunarak, yaşamın ilerleyen döneminde kansere karşı duyarlılık derecesini etkileyebilir. Bu bölümde yaşamın erken yıllarındaki beslenme değişimlerinin meme kanseri riskini genlerin epigenetik regülasyonu ile etkileyebileceğini inceleyeceğiz. Yaşamın erken yıllarında oluşan bu tür epigenetik işaretlerin tespit edilmesinin, yüksek hastalık riski altındaki bireylerin tespitinde biyomarker olarak kullanımlarını tartışacağız.

Anahtar Kelimeler

Epigenetik • Nütrisyon • Transkripsiyon • Erken yaşam

Kısaltmalar

A^{vy}	Agouti viable yellow
AOX	Asetil-CoA karboksilaz

K. A. Lillycrop (✉)
Centre for Biological Sciences, Institute of Developmental Sciences, Faculty of Natural and Environmental Sciences, University of Southampton, Southampton, SO16 6YD, UK
e-mail: kal@soton.ac.uk

G. C. Burdge
Institute of Developmental Sciences, Faculty of Medicine, University of Southampton, Southampton, SO16 6YD, UK

V. Zappia et al. (eds.), *Advances in Nutrition and Cancer,*
Cancer Treatment and Research 159, DOI: 10.1007/978-3-642-38007-5_16,
© Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2014

Kısaltmalar

ATM	Ataksi telanjiektazi mutasyonu
VKİ	Vücut kütle indeksi
BRCA1	Meme kanseri 1, erken başlayan
DA	Doğum ağırlığı
KVH	Kardiyovasküler hastalık
CpG	Fosfatla bağlı sitozin ve guanin nükleotidleri
DES	Dietilstilbesterol
DHA	Dokosaheksaenoik asit
DNMT	DNA metiltransferaz
ER	Östrojen reseptörü
EWAS	Epigenom boyunca ilişkilendirme çalışmaları
GR	Glukokortikoid reseptörü
HDAC	Histon deasetilaz
HMT	Histon metiltransferaz
IAP	İntrasisternal A-partikülü
IGF1	İnsülin büyüme faktörü 1
MeCP	Metil CpG bağlayıcı protein
MeDIP	Metile DNA immunopresipitasyon
miRNA	Mikro RNA
MUFA	Monoansatüre yağ asidi
ncRNA	Protein kodlamayan RNA
NCD	Bulaşıcı olmayan hastalıklar
NMU	N-nitrozo-N-metilüre
POMC	Pro-opiomelanokortin
PR	Protein kısıtlaması
PPAR	Peroksizomal proliferatör-aktive reseptör
PUFA	Poliansatüre yağ asidi
RXRα	Retinoid X reseptör-α
TEB	Terminal uç tomurcukları

İçindekiler

1 Giriş 271
1.1 Erken Yaşamda Maruz Kalınan Çevre ve Gelecekteki Hastalık Riski 271
2 Epigenetik 272
2.1 DNA Metilasyonu 273
2.2 Histon Modifikasyonu 273
2.3 Protein Kodlamayan RNA'lar 274
2.4 Epigenetik, Yaşlanma ve Kanser 274
2.5 Erken Yaşamda Beslenme ve Epigenom 275
3 Prenatal Çevre ve Kanser Riski 276
3.1 Kanser Riskinin Nütrisyonel Programlamasında Hayvan Modelleri 277

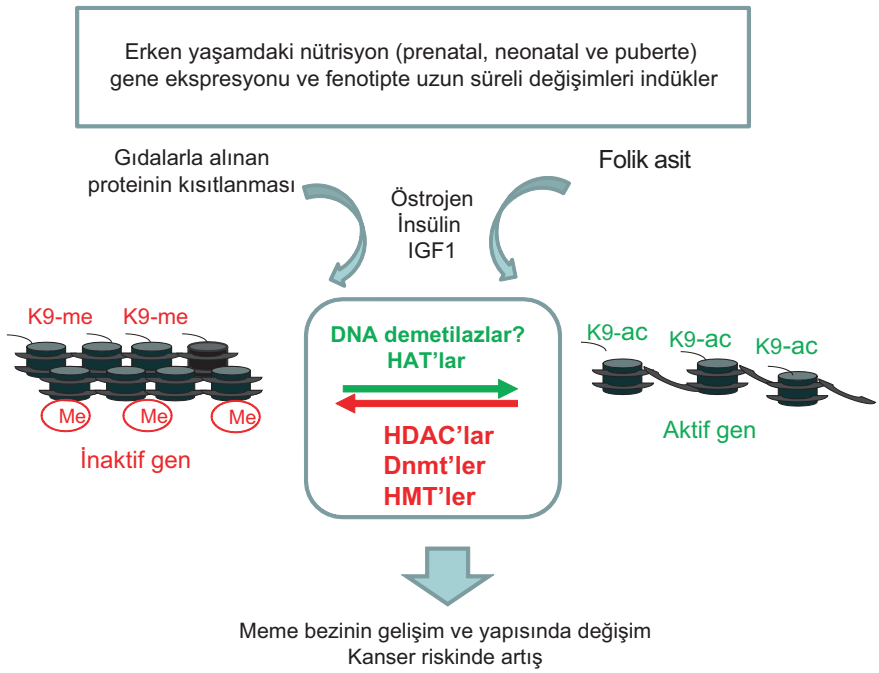
3.2 Mikrobesin Tüketimi 278
3.3 Epigenetik Biyomarkerlerin Tanımlanması 281
4 Sonuçlar 281
Referanslar 281

1 Giriş

Kanserin DNA mutasyonları veya silinmeleri gibi genetik değişimlerden kaynaklandığı geleneksel olarak kabul edilmektedir. Ancak meme kanserini de içeren bazı kanserlerin embriyonik hayattan kaynaklanabileceğini gösteren kanıtlar artmaktadır. Meme kanseri gelişiminde yaşamın erken yıllarında maruz kalınan çevrenin önemli rol oynadığı insan epidemiyoloji çalışmalarında gösterilmektedir. Hem fazla hem de az beslenen hayvan modellerinde de tespit edilen bu bulgular, yavruların kansere karşı duyarlılıklarının etkilendiğini göstermiştir. Yaşamın ilk evrelerinde maruz kalınan çevrenin farklı ve stabil bir fenotipi indükleme mekanizması anlaşılmaya başlamıştır. Bu mekanizmada epigenetik süreçlerin de rolü olabilir. Güncel çalışmalarda yaşamın ilk yıllarındaki çevresel faktörlerin indüklediği epigenom değişimleri yaşam boyu korunmaktadır. Bu durum erken yaşlardaki beslenmenin meme bezlerinin gelişimini veya yapısını hastalığın başlamasından onyıllar önce değiştirip kalıcı epigenetik değişimlere yol açarak meme kanseri riskini modüle ettiğini düşündürmektedir. Bu makalede yaşamın erken yıllarındaki beslenme değişimlerinin meme kanseri riskini genlerin epigenetik regülasyonu ile etkileyebileceğini inceleceğiz. Yaşamın erken yıllarındaki bu tür epigenetik işaretlerin tespit edilmesinin, yüksek hastalık riski altındaki bireylerin tespitinde biyomarker olarak kullanımlarını tartışacağız.

1.1 Erken Yaşamda Maruz Kalınan Çevre ve Gelecekteki Hastalık Riski

Erken yaşamdaki çevre kalitesi ile erişkin yaşamda görülen kronik hastalıklar arasındaki ilişki ilk kez David Barker ve çalışma arkadaşları tarafından tanımlanmıştır. İngiltere'deki infant mortalitesi ile 50-60 yıl sonra görülen KVH riski arasında güçlü bir coğrafi ilişki tespit etmişlerdir [1]. Çok sayıda retrospektif çalışmada da düşük doğum ağırlığının, erişkinlerde görülen KVH, tip 2 diyabet, obezite ve hipertansiyonu da içeren birçok bulaşıcı olmayan hastalığın riskinde artışla ilişkili olduğu gösterilmiştir [2]. Bu bulgular gebe ve/veya emzirme dönemindeki sıçan veya farelere genel olarak kısıtlanmış düşük proteinli diyet veya yüksek yağlı diyet uygulanan birçok hayvan çalışmasında tekrarlanmıştır. İlginç şekilde bu hayvanların yavruları da çok benzer özelliklerle doğmakta ve yaşamlarının ilerleyen dönemlerinde dislipidemi, obezite, hipertansiyon, hiperinsülinemi ve hiperleptinemi gelişmektedir [3]. Erken yaşamdaki nütrisyon anormalliklerine bağlı olarak farklı fenotiplerin indüklenmesinin, normal bir adaptasyon mekanizmasına bağlı olduğu düşünülmektedir. Organizma bu mekanizma sayesinde sahip olduğu gelişimsel esnekliği kullanarak (çevresel etkilere



Şekil 1 Erken yaşamdaki beslenmenin epigenom üzerindeki etkileri Yaşamın erken dönemlerindeki beslenme gen metilasyonu ile demetilasyon arasındaki dengeyi belirler. Histon deasetilazlar (HDAC), histon metiltransferazlar (HMT) ve DNA metiltransferazlar (DNMT) histon deasetilasyonunu, histon H3'teki K9 metilasyonunu ve kromatin konfigürasyonunun kapanmasına ve gen sessizleştirmesine yol açan DNA metilasyonunu indüklerler. Buna karşın histon asetil transferazlar (HAT) ise (H3K9'un asetilasyonunu da içerecek şekilde) lisin kalıntılarının asetilasyonunu indükleyerek açık kromatin konfigürasyonuna ve gen transkripsiyonuna yol açarlar.

cevap olarak) hayatın ilerleyen dönemlerindeki formunu ve sağkalımı koruyabilmek amacıyla gelişim programını değiştirebilir [4]. Organizmanın çevresel etkilere cevap olarak genlerin epigenetik regülasyonu yoluyla tek bir genomdan farklı fenotipler üretebildiğini gösteren kanıtlar günümüzde mevcuttur.

2 Epigenetik

Epigenetik prosesler spesifik genlerin ne zaman ve nerede eksprese olacaklarının belirlenmesinde rol oynarlar. Bu nedenle genlerin epigenetik regülasyonlarının değişime uğraması fenotipte önemli değişimlere yol açabilir [5, 6]. Majör epigenetik prosesler DNA metilasyonu, histon modifikasyonu ve protein kodlamayan RNA'lardır (Şekil 1).

2.1 DNA Metilasyonu

CpG dinükleotidindeki (p ilgili fosfat grubunu gösterir) DNA'daki sitozinin 5. pozisyonunda gerçekleşen metilasyon, memeli genomlarında sık görülür. Bu metilasyon DNA replikasyonu ve hücre bölünmesi ile iletilen stabil bir epigenetik izi oluşturur [7]. CpG dinükleotidleri genom boyunca randomize olarak dağılmamıştır. Genlerin/promotörlerin CpG adacıkları olarak bilinen 5′ uçlarında kümelenmişlerdir. Bu CpG adacıklarının hipermetilasyonu transkripsiyonal represyon ile ilişkili iken, aynı adacıkların hipometilasyonu ise transkripsiyonal aktivasyon ile ilişkilidir [8, 9].

DNA metilasyonu damgalanmış (imprinted) genlerin asimetrik sessizleştirilmesinde [10], X kromozomunun inaktivasyonunda [11, 12] ve hücre spesifikasyonu ile dokuya özgü gen ekspresyonunda önemlidir [7]. CpG'lerin metilasyonu büyük oran embriyogenez veya erken postnatal hayatta gerçekleşir. Maternal ve paternal genomlar fertilizasyon sonrası kapsamlı demetilasyona uğrarlar. Bunu blastosit implantasyonunun hemen öncesinde gerçekleşen yeni global metilasyon takip eder [13, 14]. Bu metilasyon sırasında CpG'lerin büyük bölümü represe heterokromatin bölgelerinde veya geriye çevrilebilir faktörler gibi repetitif sekanslar düzeyinde metile olurlar [15]. Dokuya spesifik genlerin kökene spesifik metilasyonları da prenatal gelişim ve erken postanal hayat sırasında oluşarak farklılaşan hücrelerin gelişimsel geleceklerini belirlerler. CpG dinükleotidlerinin yeni metilasyonu DNA metiltransferazlar (DNMT) 3a ve 3b tarafından katalizlenir ve hemi-metile DNA'nın DNTM1 ile gen spesifik metilasyonu ile gerçekleşen mitoz ile korunur [16].

2.2 Histon Modifikasyonu

Hücrelerimizdeki DNA kromatin olarak paketlenmiştir. Bir kromatinin temel ünitesi 147 DNA asit-baz çiftinden oluşan ve histon proteinlerinden (histon H2A, H2B, H3 ve H4'ün ikişer kopyası) oluşan bir çekirdeğin etrafına sarılmış nükleozomdur. Histon proteinlerinin iki bölgesi vardır: Globüler bölge ve N-terminal kuyruk bölgesi. Histonların N-terminal kuyrukları asetilasyon, metilasyon, ubikutin eklenmesi, sumolasyon ve fosforilazyon gibi modifikasyonlara açıktır [17]. Histon modifikasyonu spesifik hücresel proseslere yol açabilen efektör proteinlerin yerleşimine yol açar. Histon kuyruklarındaki bu işaretlere sıklıkla histon kodu adı verilir. Histon asetilasyonu aktif kromatin durumu ile özel olarak ilişkili iken lisinin metilasyonu ise rol oynayan spesifik lisine bağlı olarak aktif veya represif bir işaret olabilir [17]. Histon modifiye edici enzimlerinden oluşan ve kod yazarları olarak bilinen birçok aile tanımlanmıştır. Bunlar arasında asetil transferazlar ve metiltransferazlar mevcuttur. Deasetilazlar ve demetilazlar ise siliciler arasında sayılabilir [18, 19].

DNA metilasyonu ile histon modifikasyonu arasında net bir etkileşim (cross talk) oluşmaktadır. Metile DNA, metil CpG bağlayıcı protein-2 (MeCP2) tarafından bağlanır. Bu proteinler histonlardaki transkripsiyonel olarak aktif kromatin sinyalleri olan

asetil gruplarını uzaklaştıran histon deasetilazları (HDAC) ve kromatin yapısının kapanmasına ve transkripsiyonel sessizleştirmeye yol açan ve H3'teki lisin 9'u metile eden SUV39H1 [20] gibi metiltransferazlar (HMT) da içerirler. Ancak güncel çalışmalarında DNMT1'in, HDAC1 ve HDAC2 gibi bazı histon modifiye edici enzimler ve SUV39H1 ve EZH2 [21, 22] gibi metiltransferazlar tarafından kullanılıyor olması kromatin yapısının DNA metilasyon statüsünü de belirleyebileceğini ve bu iki proses arasında iki taraflı bir ilişki olduğunu düşündürmektedir.

2.3 Protein kodlamayan RNA'lar

Protein kodlamayan RNA'lar (ncRNA'lar) gen ekspresyonunun epigenetik regülasyonunda da rol oynamaktadır. ncRNA'lar etkilerini cis veya transda gösterirler. Cis-etkili (cis-acting) ncRNA'lar uzun/makro-ncRNA'lardır (100.000 nt'ye kadar). Trans-etkili (trans-acting) mcRNA'lar ise çoğunlukla degradasyon mRNA'larının 3′ translasyona uğramamış bölgesini hedef alan mikro RNA'lar (miRNA'lar) içerirler [23]. Ancak güncel çalışmalarda insan miRNA'sının aynı zamanda kromatinlerin yeniden biçimlenmesini de indükleyebileceğinin gösterilmiş olması [24, 25], DNA metilasyonu, histon modifikasyonu ve miRNA'ların gen ekspresyonunun regülasyonunda uyum içinde çalıştıklarını düşündürmektedir.

2.4 Epigenetik, Yaşlanma ve Kanser

Gelişim sırasında oluşan epigenetik izler erişkinlik çağında da büyük oranda korunurlar. Ancak yaşlanma dokuya özgü epigenetik kayma, DNMT1 aktivitesinde azalma ve c-Myc ve cN-ras gibi proto-onkogenlerin aktivasyonuna yol açan global genom hipometilasyonu ile ilişkilidir [26]. Ancak yaşlanma ile tümör baskılayıcı gen promotörlerinde hipermetilasyon da görülür [27]. Değişime uğramış epigenetik regülasyon meme, akciğer, prostat ve hematopoetik dokuları da içeren birçok çok kanser türünün gelişimi ile ilişkilidir [28–32]. Örneğin normalde sadece kök hücrelerinde eksprese olan ve pluripotent özelliğin korunmasında önemli rol oynayan Oct-4 ve Sox2, spontan meme kanserinde hipometile olur ve yüksek oranda eksprese edilir [33]. Buna karşın DNA tamirinde hayati rol oynayan ve meme kanserinin kalıtsal formlarında mutasyona uğrayan tümör supresor gen BRCA1 sıklıkla hipermetile olur. Bu durum kötü prognoz ve östrojen reseptörü negatif tümörler ile ilişkilidir [34, 35]. Bu bulgular yaşlanmanın sadece DNA metilasyon kapasitesinin korunmasında progresif bir azalma ile değil aynı zamanda epigenetik proseslerin selektif disregülasyonu ile de ilişkili olduğunu göstermektedir. Bu hedefli hipermetilasyonun altında yatan mekanizma net olarak bilinmemektedir. Metilasyonun heterokromatinden genomun transkripsiyonel olarak aktif bölgelerine atlaması olası mekanizma olarak önerilmiştir. Ancak bu mekanizma, niçin DNA'nın sadece bazı belirli sekanslarının etkilendiğini açıklamamaktadır. Yaşla birlikte oluşan değişimler, erken yaşlarda indüklenen metilasyon düzeylerinin oluşturduğu epi-

genetik altyapı üzerinde etki gösterirler. Böylece gelişim esnasında indüklenen epigenom varyasyonları hayatın ilerleyen dönemlerinde hastalıklara duyarlılık derecelerini etkileyebilir [36].

2.5 Erken Yaşamda Beslenme ve Epigenom

DNA metilasyonu en stabil epigenetik işarettir. Ancak epigenomun hayat sürecinin prenatal, neonatal ve pubertal dönemler gibi spesifik periyotlarındaki birçok çevresel faktörlere duyarlı olduğunu gösteren kanıtlar giderek artmaktadır. Erken yaşamdaki beslenmenin fenotipi nasıl değiştirebileceğini gösteren en iyi örneklerden bir tanesi bal arıları ile yapılan çalışmalardır. Genetik yapıları aynı olmasına rağmen farklı şekillerde beslenen dişi larvalardan ya steril işçi arılar ya da fertil kraliçe arılar gelişir [37]. Ancak DNA metiltransferaz 3 (DNMT3) ekspresyonu sessizleştirilen larvalardan gelişen kraliçe arıların sayısı işçi arı sayısına göre anlamlı olarak artar. Bu bulgu beslenmenin DNA metilasyonunu değiştirmek suretiyle fenotipi anlamlı olarak değiştirebileceğini göstermektedir [37].

Fare yavrularında diyetin DNA metilasyonunu değiştirebileceği gösterilmiştir. Agouti faresindeki tek-karbon metabolizması için metil donör ve kofaktörlerin alımındaki farklılıklar, yavrunun renginde değişimlere yol açmaktadır. Mürin A^{vy} mutasyonu agouti genine yukarı yönlü intrasisternal A-partikülü (IAP) retrotranspozonu eklenmesi ile oluşarak sarı renkli tüy pigmenti üretimini indükler. Gebe farelere betain, kolin, folik asit ve vitamin B12 takviyesi yapılması, agouti geninin metilasyonunda artışa ve yavrunun tüy renginin sarıdan (agouti) kahverengiye (psödo-agouti) dönmesine neden olur [38].

Bazı hayvan modellerinde erken yaşamdaki nütrisyonel programlama anormalliklerinin lipid ve glukoz metabolizmasının birçok önemli regülatörünün epigenetik kontrolünü değişime uğrattığını gösteren kanıtlar da mevcuttur. Örneğin gebe sıçanların proteini kısıtlı diyetle beslenmesinin juvenil ve erişkin yavruların karaciğerindeki GR ve PPARα promotörlerinin hipometilasyonunu indükleyerek, bu genlerin mRNA ekspresyonunda artışa yol açtığı tespit edilmiştir [39, 40]. Ekspresyon artışı aynı zamanda histon H3 ve H4'ün metilasyonları ile lisin K4'deki histon H3'ün asetilasyonlarında da artma ile ilişkilidir [41]. PPARα promotörünün sıralama analizleri dört spesifik CpGs'nin hipometile olduğunu göstermiştir. Ayrıca transkripsiyon faktör cevap elementlerinde bulunan iki CpGs'nin de transkripsiyon düzeyini belirlediği tespit edilmiştir [42]. Bu nedenle kısıtlı protein içeren maternal diyetin etkileri yavrudaki spesifik CpGs'leri hedeflemektedir. Sıçan yavrularının neonatal dönemde aşırı beslenmesinin pro-opiomelanokortin (POMC) promotöründeki iki Cpg dinükleotidinin hipermetilasyonunu indüklediği gösterilmiştir. Bu dinükleotidler leptin ve insüline bağlı POMC indüksiyonu için hayati öneme sahiptir [43]. Bu bulgu hipotalamustaki iştah merkezinin hala gelişmekte olduğu erken postnatal hayatta uygulanan aşırı beslemenin vücut ağırlığı regülasyonunda kritik rol oynayan genlerin metilasyonunu değişime uğratabi-

leceğini göstermektedir. Tüm bulgular bir arada değerlendirildiğinde erken yaşamdaki beslenmenin metabolizma ve iştah kontrolü ile ilişkili genlerin metilasyonundaki uzun süreli değişimleri indükleyerek metabolik hastalıkların gelişim süreçlerinde rol oynayabileceğini göstermektedir.

3 Prenatal Çevre ve Kanser Riski

Erken yaşamdaki etkilerin metabolik hastalıklar ile ilişkilerini araştıran çalışmaların aksine, prenatal ortamın ilerleyen yaşlardaki kanser riski ile ilişkisini araştıran çok daha az sayıda çalışma mevcuttur. Endokrin bozucu ajan dietilstilbesterole (DES) gebelik döneminde maruz kalan annelerin kızlarındaki vajina, serviks ve meme kanseri riski artmaktadır [44]. Prenatal dönemde veya erken çocuklukta iyonize radyasyona maruziyet ile de hayatın ilerleyen dönemlerinde sindirim sistemi ve reprodüktif sistem kanserlerinde artış olmaktadır [45]. Ancak günümüze kadar yapılan çalışmaların çoğu doğum ağırlığı ile sonrasındaki kanser riskine odaklanmıştır. Bu çalışmaların önemli bir bölümünde doğum ağırlığı ile kanser riski arasında doğru orantılı ilişki bulunmuştur; ancak hepatoblastom ve endometrium kanseri ile doğum ağırlığı arasında ise ters orantı tespit edilmiştir [46].

Doğum ağırlığı ile sonrasındaki meme kanseri riskini inceleyen birçok çalışmanın dizaynları birbirinden oldukça farklıdır. Özellikle premenopozal ve postmenopazal çalışmaların birlikte veya ayrı ayrı incelenmesi gibi farklılıklar yanında çalışmalarda yer alan diğer değişkenler, karşılaştırma ve çıkarım yapmayı zorlaştırmaktadır. Ancak 26 yayınlanmış çalışmayı inceleyen güncel bir metaanalizde premenopozal meme kanseri riskinin yüksek doğum ağırlığı ile doğan bireylerde tutarlı şekilde arttığı gösterilmiştir. Aynı ilişki postmenopozal meme kanseri riski için geçerli değildir [47]. Premenopozal meme kanseri riski yönünden yüksek doğum ağırlığı kadınlarla düşük doğum ağırlığı kadınların karşılaştırılması ile ortaya çıkan rölatif risk kohort çalışmaları için 1.20 (CI 0.91-1.19), vaka kontrol çalışmaları için ise 1.36 (CI 0.66-1.64) bulunmuştur. İlginç biçimde doğum ağırlığı ile premenopozal meme kanseri riski arasında J- veya U- şeklinde ilişkili gösteren birkaç çalışma mevcuttur [48– 50]. Bu çalışmalarda 2500 gr'ın altında ve 4000 gr'ın üstünde doğan bebeklerdeki kanser riskinin normal aralıkta doğanlara göre artmış olduğu tespit edilmiştir. Ancak bu çalışmalardaki doğum ağırlığı, çok çeşitli maternal, çevresel ve plasental faktörlerden etkilenebilen intrauterin ortamın çok kaba bir göstergesi olarak kabul edilmelidir [51].

İlerideki kanser riskini önemli bir göstergesi de maternal diyettir. Norveç'te İkinci Dünya Savaşı sırasında gıdaların karne ile dağıtılmasına bağlı kalori alımındaki düşmenin o dönemde doğan veya peripubertal dönemde olan kadınlardaki meme kanseri riskinde azalma ile ilişkili olduğu tespit edilmiştir [52, 53]. Buna karşın, 1944 yılında Hollanda'da görülen kıtlığa (Dutch Hunger Winter) hamilelikleri döneminde maruz kalan annelerin çocuklarında meme kanseri riskinde artış görülmüştür [54, 55]. Çocukluk

çağında kıtlık yaşayan kadınlarda da meme kanseri riskinin arttığı görülmüştür. Norveç ve Hollanda çalışmamalarının sonuçları arasındaki farklar Hollanda'daki kıtlığın ciddiyetinin ya da birden sona ermiş olmasının göstergesi olabilir [54]. Kıtlığın aniden sona ermiş olması ile hızlıca artan gıda tüketimi kanser riskini artıran büyüme faktörlerinin ve hormonların artışına yol açmış olabilir.

Meme kanseri riskini değişime uğratan tek faktör prenatal beslenme değildir. Çalışmalarda emzirilen bebeklerde menopoz öncesi görülen meme kanseri riskinin azalabileceği gösterilmiştir [56]. Anne sütünde bulunan uzun zincirli PUFA olan DHA nöron gelişimi için önemlidir. Ancak hayatın erken dönemlerinde alınan DHA meme bezlerinin gelişimini etkileyerek gelecekteki kanser riskini modifiye edebilir. Hayvanlarda yapılan bazı çalışmalarda n-3 PUFA'nın koruyucu etkiye sahip olduğu ve kanser riskini azalttığının gösterilmiş olması ilginçtir [57]. Erken yaşamdaki büyüme hızı da devamındaki meme kanseri riskinin önemli bir belirleyicisidir. 8-14 yaşları arasındaki hızlı büyüme meme kanseri riskinde artış ile ilişkilidir. Ancak 8,10, 12, 14. yaşlar arasındaki VKİ ise meme kanseri riski ile ters orantılı bulunmuştur [58].

3.1 Kanser Riskinin Nütrisyonel Programlamasında Hayvan Modelleri

Hayvan çalışmaları da erken yaşamdaki beslenmenin ilerleyen yıllardaki meme kanseri riskini etkilediği hipotezini desteklemektedir. Laktasyon sırasında proteini kısıtlı diyet uygulaması ile düşük VKİ olan yavrular doğar. Bu yavrularda erken başlayan N-nitrozo-Nmetilüre (NMU) tarafından indüklenen meme tümörlerinin insidansı kontrol grubundaki anne sıçanlardan elde edilen yavrulara göre iki kat daha yüksektir [59]. Bu yavrularda 3. haftadaki postnatal duktal dallanmanın ve epitelyal invazyonun da azaldığı bulunmuştur. Bunu hızlı kompensatuar meme büyümesi ve insülin reseptörü, ER ve IGF1 ekspresyonların artışının kontrollere kıyasla daha fazla olması takip eder.

Erken yaşamda aşırı beslenmenin de kanser riskinde artış ile ilişkili olduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur. De Assis ve ark. gestasyon esnasında yüksek yağlı (satüre PUFA ve MUFA karışımı) diyetle beslenen dişi sıçanların yavrularının VKİ düzeyleri artmış ve 7,12-dimetilbenz[a]antrasen (DMBA) maruziyetine cevap olarak kontrollere göre anlamlı olarak daha erken meme tümörü gelişimi olmuştur [60]. Yüksek yağlı diyetle beslenen anne sıçanların yavrularının meme bezleri meme tümörlerine yol açabilen daha fazla sayıda terminal uç tomurcuğu (TEB) içermekte olup [61] epitel dansitesi de artmıştır. Bu yavruların meme bezlerinde daha yüksek sayıda prolifere olan hücre, daha yüksek olan pro-sağkalım faktörü AKT ve daha düşük düzeyde ER-α mevcuttur. Yağın tipi ve maruziyetin zamanı da önemlidir. n-6 PUFA yönünden zengin diyetle beslenen gebe sıçanların dişi yavrularında anlamlı olarak daha yüksek meme tümörü insidansı görülmektedir [62, 63]. Tümör insidansındaki artış burada da meme bez yapısındaki değişimler ile ilişkilidir. Daha yüksek miktarda TEB tespit edilmiştir; bu TEB'ler daha uzun süre korunmuş ve alveolar tomurcukların farklılaşma düzeylerini azaltmıştır. Sı-

çanların peripubertal dönemde yüksek n-6 PUFA içeren diyetlerle beslenmesi ile de, sadece postpubertal dönemde yüksek n-6-PUFA içeren diyetlerle beslenenlere göre daha yüksek meme tümörü insidansı görülmüştür [64, 57]. Buna karşın peripubertal dönemde düşük n-6 PUFA içeren diyetlerle beslenen sıçanlarda meme karsinogenezine karşı koruyucu etki tespit edilmiştir. [57]. Düşük n-6 PUFA içeren diyet meme hücrelerini proliferasyonunu azaltıp, apoptozisi artmıştır (özellikle TEB'lerde). DNA hasarının bir markeri olan 8-hidroksi-20 deoksiguanozin düşük n-6 PUFA içeren diyetle beslenen sıçanlarda anlamlı olarak azalmıştır. Ayrıca yüksek yağlı n-6 PUFA içeren diyetlerin balık yağından elde edilen n-3 PUFA ile takviye edildiği gebe sıçanların yavrularındaki meme kanseri riskinin azaldığı gösterilmiştir [65].

Yüksek doğum ağırlığının intrauterin hayattaki östrojen maruziyetinde ve insülinin maternal ve/veya kordon kanı konsantrasyonlarındaki artış ile insülin benzeri büyüme faktörü 1 (IGF1), leptin ve adionektin düzeylerinde yükselme ile ilişkili olduğu tespit edilmiştir. [66–69]. Düşük doğum ağırlığı bireylerde ve yetersiz besleme modellerinde de bu hormonların düzeyinde artış gözlenmiştir [70]. Bu tür hormonların ve büyüme faktörlerinin epigenomun çevresel faktörlere en duyarlı olduğu erken yaşamda artmalarının meme bezlerinin gelişiminde uzun süreli etkileri olması muhtemeldir. Meme bezlerindeki hücre proliferasyon ve apoptoz oranları ile kök hücrelerin sayıları ve farklılaşmalarındaki değişimiler hayatın ilerleyen dönemlerindeki meme kanseri riskini etkiler. Şu ana kadar gebelikte kısıtlı protein veya yüksek yağlı diyetin yol açtığı birçok epigenetik değişim bildirilmiştir. Zheng ve ark. hücre siklüs inhibitörleri olan p16 ve p21'in proteini kısıtlanmış diyet uygulanan sıçanların yavrularının meme bezlerinde sürekli bir biçimde azaldığını tespit etmiştir [71, 72]. p16 ve p21 ekspresyonunda azalma histon 3'teki K4'ün asetilasyon ve demetilasyonunda azalma ile birlikte seyrediyordu. p21 için maternal diyetin DNA metilasyonu üzerindeki etkisi bisülfit sıralaması kullanılarak incelenmiş ancak metilasyonda herhangi bir değişim gözlenmemiştir [72]. Gebelikte yüksek yağlı beslemenin p16'daki epigenetik değişimleri indüklediği gösterilmiştir. Zheng ve ark. histon H4 asetilasyonunda ve HDAC3 bağlanmasında azalma bildirmiştir. Ancak CpGS'lerdeki metilasyonun tek tek ölçümü yerine bir bölge boyunca ölçüm yapan MeDIP yaklaşımı kullanılmış olmasına rağmen DNA metilasyon düzeylerinde bir değişim tespit edilmiştir. [73].

3.2 Mikrobesin Tüketimi

Tek-karbon metabolizmasında rol alan folat, B6 vitamini, B2 vitamini, B12 vitamini ve kolin gibi besin öğelerinin birçok kanser türüne karşı koruma sağladığı çok sayıda insan epidemiyolojik ve hayvan çalışmasında gösterilmiştir. Ancak erişkinlikteki folat tüketimi ile meme kanseri riski arasındaki ilişki karmaşıktır. Hepsinde olmasa bile, çalışmaların bir çoğunda diyetle folat alımı ile meme kanseri riski arasında ters orantılı bir ilişki gösterilmiştir [74]. Ancak ≥400 μg/d dozunda uygulanan folik asit takviyesinin meme kanseri riskinde artışa yol açtığını gösteren çalışmalar da mevcuttur [75]. Son 10 yılda

bazı ülkelerdeki folik asit tüketimi gıdaların folik asit ile zengileştirilmesi, folik asit takviyelerinin tüketimi, nörol tüp defektlerinin önlenmesi amacıyla perikonsepsiyonel folik asit takviyesi kullanımı nedeniyle dramatik olarak artmıştır [76–78]. Bazı çalışmalarda erken yaşamdaki folik asit ve diğer mikrobesinlerin takviyesinin sonrasındaki kanser riski ile ilişkisi araştırılmıştır. Cinsel birleşme öncesi 3. haftadan itibaren ve gebelik ve emzirme boyunca kullanılan folik asit takviyesi uygulanan sıçanların yavrularında, kontrol diyeti uygulananların yavrularına göre anlamlı olarak daha az sayıda TEB oluşmuştur (p=0.014) [79]. TEB'ler meme tümörlerini destekleyen oluşumlar oldukları için, daha az TEB'in tümör eğiliminde azalmaya yol açabileceği düşünülebilir. Ancak çalışmada bu teori test edilmemiştir. Buna karşın Ly ve ark. hem maternal hem de sütten kesme sonrası uygulanan folik asit takviyesinin yavrulardaki meme adenokarsinomlarını, DMBA uygulanması sonrası anlamlı olarak artırdığını bildirmiştir (sırasıyla OR 1/4 2.1, %95 CI 1.2–3.8, P 1/4 0.008 ve OR 1/4 1.9, %95 CI 1.1–3.3, P 1/4 0.03) [80]. Aynı çalışmada uygulanan maternal folik asit takviyesi de yavrulardaki meme adenokarsinomlarının görülmesini anlamlı düzeyde hızlandırmış (p 1/4 0.002) hücrelerin katlanarak büyüme hızlarını artırmıştır (p 1/4 0.008). Bu iki çalışmada folik asit takviyesine verilen cevapların farklı olması, çalışmalardan birinde karsinojenik ajanlara maruz kalınmayan uzun latent periyodlar mevcutken, diğer çalışmada DMBA gibi ajanlara maruziyetin meme tümörlerini indüklemesinden kaynaklanıyor olabilir. Mikrobesinler, nükleotid ve/veya S-adenozil metionin (SAM - DNA'yı da içeren hemen tüm metilasyon reaksiyonlarının üniversal donörü) sentezi için gereken tek-karbonlu segmentleri sağlayarak karsinogenez üzerinde etki gösteriyor olabilirler. Ly ve ark. maternal (sütten kesme sonrasını içermeyen) folik asit takviyesinin yavruların non-neoplastik meme bezlerindeki global DNA metilasyonunu anlamlı olarak azalttığını bildirmiştir (p=0.03). Ancak sütten kesme sonrası folik asit uygulanmasının DNA metiltransferaz aktivitesini anlamlı olarak azalttığını tespit etmişlerdir (p=0.05) [81, 80]. Bu bulgular epigenetik prosesin kanseri riskini belirlemede önemli bir rol oynayabileceğini önermektedir.

3.3 Epigenetik Biyomarkerlerin Tanımlanması

Kanser riski hayat boyunca maruz kalınan olayların bir göstergesi ise, hücre transformasyonu ile ilişkili epigenetik değişimler klinik hastalığın başlamasından yıllar önce mevcut olabilirler [82]. Bu nedenle hastalığın belirgin semptomları ortaya çıkmadan önce epigenetik değişimlerin tespit edilmesi ile yüksek risk altındaki bireylerin belirlenmesi mümkün olabilir. İnsanlarda kolayca test etmeye müsait olan dokular kan, bukkal, göbek bağı ya da plasentadır. Gen metilasyonlarındaki dokuya özel farklılıklar gayet net olarak dokümante edilmiştir. Ancak Talens ve ark. kanda ölçülen metilasyon düzeylerinin, bukkal hücrelerinde ölçülen aday lokusların yarısındaki metilasyon düzeylerine eşit olduğunu, bu hücrelerin farklı germ tabakalarından (sırasıyla mezoderm ve ektoderm) kaynaklandığı gerçeğine rağmen yakın zamanda bildirmiştir [83]. Godrey ve ark. da güncel bir yayınlarında iki farklı kohortta göbek bağındaki transkripsiyon faktörü olan

RXRα'nın promotör alanındaki tek bir CpG bölgesindeki metilasyon düzeylerinin, hem erkek hem de kızlarda çocukluk çağındaki adipozite derecesiyle güçlü bir ilişkisi olduğunu bildirmişlerdir [84]; RXRα promotör metilasyonunun çocukluk çağındaki yağ kütlesi varyasyonunun beşte birinden fazlasını açıklayabiliyor olması, epigenetik değişimlerin bir bireyin bulaşıcı olmayan hastalıklara yakalanma riskinde daha önce tahmin edilenden çok daha büyük rol oynadığını düşündürmektedir. Bu gözlem göbek bağındaki veya diğer hemen test edilebilen dokulardaki metilasyon düzeylerinin metabolik olarak daha ilişkili dokulardaki metilasyonu temsil eden markerler olarak kullanılabilme ihtimalini ortaya koymaktadır. Bunun mümkün olması çevresel problemin ne zaman ortaya çıktığına bağlı olsa da, erken gelişim basamaklarındaki bu tür bir problemin muhtemelen tüm germ tabakalarını etkileyerek değiştirdiği epigenetik işaretlerin izinin dokularda tespit edilmesi mümkün olabilir. Gestasyonun ileri evrelerinde oluşan maruziyetlerin ise sadece dokuya özgü etkilerinin olması muhtemeldir.

Brennan ve ark. prediagnostik kan örneklerindeki periferik kan DNA'sındaki ATM geni içindeki intragenik bir bölgenin metilasyonunun meme kanseri riskinde artış ile ilişkili olduğunu güncel bir makalelerinde bildirmişlerdir [85]. Kan alımından teşhise kadar geçen 1 ila 11 aylık süre ile ATM metilasyon düzeyi arasında bir ilişki tespit edilememiş olması, bu ilişkinin preklinik hastalık varlığı ile açıklanamayacağını göstermektedir. ATM metilasyon bölgesinin zaman içinde stabilitesini korumuş olması, periferik kandaki ATM hipermetilasyonunun predispozisyonun stabil bir markeri olduğunu düşündürmektedir. Wong ve ark. periferik kandaki BRAC1 metilasyonunun, BRCA1 mutasyonu ile ilişkili patolojiye sahip erken başlangıçlı meme kanseri riskini 3.5 kat (%95 CI, 1.4-10.5) artırdığını bildirmiştir [86]. Periferik kanda tespit edilebilen BRCA1 metilasyonunun da tümör içindeki BRCA1 promotörünün yüksek metilasyonu ile ilişkili olduğunun bulunmuş olması, yapısal BRCA1 metilasyonunun BRCA1 hipermetile tümörlerin gelişime karşı olan duyarlılığı artırdığını bildirmiştir [86]. Ancak ATM veya BRCA1'de görülen metilasyon değişimlerinin epigenomun değişime en duyarlı olduğu erken yaşamda meydana gelip gelmediği konusu açıklığa kavuşturulmayı beklemektedir. Buna rağmen, elimizdeki bulgular periferik kandaki epigenetik işaretlerin yaşamın ilerleyen dönemlerindeki hastalık riskini tahmin etmede kullanışlı biyomarkerler olabileceğini düşündürmektedir. Ayrıca, yeni geliştirilen yüksek kapasiteli tüm genomu kapsayan metilasyon analizleri ile kanda yüksek meme kanseri duyarlılığı ile ilgili epigenetik işaretlerin tanımlanmasını sağlayacak tüm epigenomu kapsayan ilişkilendirme çalışmaları (EWAS) yapabilmek artık mümkün olacaktır. Bu tür değişimlerin altında yatan mekanizmalar ile ilgili hala cevaplanmayı bekleyen birçok soru mevcuttur. Örneğin bu tür değişimleri indükleyebilen nütrisyonel faktörlerin veya bu tür değişimlere duyarlılık veya stabilite periodlarının zamanları gibi sorular mevcuttur. Bu proseslerin anlaşılması hem hastalık riski ile ilişkili efektif markerlerin geliştirilmesini hem de meme kanseri riskinin azaltılabilmesinde kullanılacak girişimsel hedeflerin belirlenebilmesini sağlayacaktır.

4 Sonuçlar

Geleneksel olarak genetik değişimlerin kansere neden olduğu kabul edilmektedir. Ancak, günümüzde erken yaşamda maruz kalınan çevrenin kalitesindeki varyasyonların genlerin epigenetik regülasyonunu değiştirerek gelecekteki kanser riskini etkilemesi hakkında hatırı sayılır kanıtlar mevcuttur. Erken yaşamdaki meme kanseri gelişiminin indüklenmesinde genlerin epigenetik regülasyonlarındaki değişimlerin rolünün ve potansiyel biyomarkerlerin tanımlanması, uzun süreli meme kanseri riskini modifiye edebilecek nütrisyonel veya farmakolojik girişimlerin geliştirilebilme ihtimalini ortaya koymaktadır.

Referanslar

1. Barker DJ, Osmond C (1986) Infant mortality, childhood nutrition, and ischaemic heart disease in England and Wales. Lancet 1:1077–1081
2. Godfrey KM, Barker DJ (2001) Fetal programming and adult health. Public Health Nutr 4:611–624
3. Bertram CE, Hanson MA (2001) Animal models and programming of the metabolic syndrome. Br Med Bull 60:103–121
4. Gluckman PD, Hanson MA, Spencer HG (2005) Predictive adaptive responses and human evolution. Trends Ecol Evol 20:527–533
5. Cox GF, Burger J, Lip V, Mau UA, Sperling K, Wu BL, Horsthemke B (2002) Intracytoplasmic sperm injection may increase the risk of imprinting defects. Am J Hum Genet 71:162–164
6. DeBaun MR, Niemitz EL, Feinberg AP (2003) Association of in vitro fertilization with Beckwith-Wiedemann syndrome and epigenetic alterations of LIT1 and H19. Am J Hum Genet 72:156–160
7. Bird A (2002) DNA methylation patterns and epigenetic memory. Genes Dev 16:6–21
8. Bird AP (1986) CpG-rich islands and the function of DNA methylation. Nature 321:209–213
9. Reik W, Dean W (2001) DNA methylation and mammalian epigenetics. Electrophoresis 22:2838–2843
10. Li E, Beard C, Jaenisch R (1993) Role for DNA methylation in genomic imprinting. Nature 366:362–365
11. Walsh CP, Chaillet JR, Bestor TH (1998) Transcription of IAP endogenous retroviruses is constrained by cytosine methylation. Nat Genet 20:116–117
12. Waterland RA, Jirtle RL (2003) Transposable elements: targets for early nutritional effects on epigenetic gene regulation. Mol Cell Biol 23:5293–5300
13. Bird A (2001) Molecular biology. Methylation talk between histones and DNA. Science 294:2113–2115
14. Reik W, Walter J (2001) Genomic imprinting: parental influence on the genome. Nat Rev Genet 2:21–32
15. Yoder JA, Soman NS, Verdine GL, Bestor TH (1997) DNA (cytosine-5)-methyltransferases in mouse cells and tissues. Studies with a mechanism-based probe. J Mol Biol 270:385–395
16. Reik W, Dean W, Walter J (2001) Epigenetic reprogramming in mammalian development. Science 293:1089–1093
17. Turner BM (2000) Histone acetylation and an epigenetic code. BioEssays 22:836–845
18. Brenner C, Fuks F (2007) A methylation rendezvous: reader meets writers. Dev Cell 12:843–844

19. Yun M, Wu J, Workman JL, Li B (2011) Readers of histone modifications. Cell Res 21:564–578
20. Nakayama J, Rice JC, Strahl BD, Allis CD, Grewal SI (2001) Role of histone H3 lysine 9 methylation in epigenetic control of heterochromatin assembly. Science 292:110–113
21. Rountree MR, Bachman KE, Baylin SB (2000) DNMT1 binds HDAC2 and a new co-repressor, DMAP1, to form a complex at replication foci. Nat Genet 25:269–277
22. Vire E, Brenner C, Deplus R, Blanchon L, Fraga M, Didelot C, Morey L, Van EA, Bernard D, Vanderwinden JM, Bollen M, Esteller M, Di CL, de LY, Fuks F (2006) The polycomb group protein EZH2 directly controls DNA methylation. Nature 439:871–874
23. Siomi H, Siomi MC (2009) On the road to reading the RNA-interference code. Nature 457:396–404
24. Kim DH, Saetrom P, Snove O Jr, Rossi JJ (2008) MicroRNA-directed transcriptional gene silencing in mammalian cells. Proc Natl Acad Sci USA 105:16230–16235
25. Bayne EH, Allshire RC (2005) RNA-directed transcriptional gene silencing in mammals. Trends Genet 21:370–373
26. Lopatina N, Haskell JF, Andrews LG, Poole JC, Saldanha S, Tollefsbol T (2002) Differential maintenance and de novo methylating activity by three DNA methyltransferases in aging and immortalized fibroblasts. J Cell Biochem 84:324–334
27. Richardson B (2003) Impact of aging on DNA methylation. Ageing Res Rev 2:245–261
28. Liu L, Wylie RC, Andrews LG, Tollefsbol TO (2003) Aging, cancer and nutrition: the DNA methylation connection. Mech Ageing Dev 124:989–998
29. Zhu J (2006) DNA methylation and hepatocellular carcinoma. J Hepatobiliary Pancreat Surg 13:265–273
30. Galm O, Herman JG, Baylin SB (2006) The fundamental role of epigenetics in hematopoietic malignancies. Blood Rev 20:1–13
31. Szyf M (2006) Targeting DNA methylation in cancer. Bull Cancer 93:961–972
32. Szyf M, Pakneshan P, Rabbani SA (2004) DNA methylation and breast cancer. Biochem Pharmacol 68:1187–1197
33. Bloushtain-Qimron N, Yao J, Shipitsin M, Maruyama R, Polyak K (2009) Epigenetic patterns of embryonic and adult stem cells. Cell Cycle 8:809–817
34. Xu X, Gammon MD, Zhang Y, Bestor TH, Zeisel SH, Wetmur JG, Wallenstein S, Bradshaw PT, Garbowski G, Teitelbaum SL, Neugut AI, Santella RM, Chen J (2009) BRCA1 promoter methylation is associated with increased mortality among women with breast cancer. Breast Cancer Res Treat 115:397–404
35. Xu X, Gammon MD, Zhang Y, Cho YH, Wetmur JG, Bradshaw PT, Garbowski G, Hibshoosh H, Teitelbaum SL, Neugut AI, Santella RM, Chen J (2010) Gene promoter methylation is associated with increased mortality among women with breast cancer. Breast Cancer Res Treat 121:685–692
36. Waterland RA, Jirtle RL (2004) Early nutrition, epigenetic changes at transposons and imprinted genes, and enhanced susceptibility to adult chronic diseases. Nutrition 20:63–68
37. Kucharski R, Maleszka J, Foret S, Maleszka R (2008) Nutritional control of reproductive status in honeybees via DNA methylation. Science 319:1827–1830
38. Wolff GL, Kodell RL, Moore SR, Cooney CA (1998) Maternal epigenetics and methyl supplements affect agouti gene expression in Avy/a mice. FASEB J 12:949–957
39. Burdge GC, Slater-Jefferies J, Torrens C, Phillips ES, Hanson MA, Lillycrop KA (2007) Dietary protein restriction of pregnant rats in the F0 generation induces altered methylation of hepatic gene promoters in the adult male offspring in the F1 and F2 generations. Br J Nutr 97:435–439
40. Lillycrop KA, Phillips ES, Jackson AA, Hanson MA, Burdge GC (2006) Dietary protein restriction in the pregnant rat induces altered epigenetic regulation of the glucocorticoid receptor and peroxisomal proliferator-activated receptor alpha in the heart of the offspring which is prevented by folic acid. Proc Nutr Soc 65:65A

41. Lillycrop KA, Slater-Jefferies JL, Hanson MA, Godfrey KM, Jackson AA, Burdge GC (2007) Induction of altered epigenetic regulation of the hepatic glucocorticoid receptor in the offspring of rats fed a protein-restricted diet during pregnancy suggests that reduced DNA methyltransferase-1 expression is involved in impaired DNA methylation and changes in histone modifications. Br J Nutr 97:1064–1073
42. Lillycrop KA, Phillips ES, Torrens C, Hanson MA, Jackson AA, Burdge GC (2008) Feeding pregnant rats a protein-restricted diet persistently alters the methylation of specific cytosines in the hepatic PPARalpha promoter of the offspring. Br J Nutr 100:278–282
43. Plagemann A, Harder T, Brunn M, Harder A, Roepke K, Wittrock-Staar M, Ziska T, Schellong K, Rodekamp E, Melchior K, Dudenhausen JW (2009) Hypothalamic proopiomelanocortin promoter methylation becomes altered by early overfeeding: an epigenetic model of obesity and the metabolic syndrome. J Physiol 587:4963–4976
44. Herbst AL, Ulfelder H, Poskanzer DC (1971) Adenocarcinoma of the vagina. Association of maternal stilbestrol therapy with tumor appearance in young women. N Engl J Med 284:878–881
45. Preston DL, Cullings H, Suyama A, Funamoto S, Nishi N, Soda M, Mabuchi K, Kodama K, Kasagi F, Shore RE (2008) Solid cancer incidence in atomic bomb survivors exposed in utero or as young children. J Natl Cancer Inst 100:428–436
46. McCormack VA, dos Santos Silva I, Koupil I, Leon DA, Lithell HO (2005) Birth characteristics and adult cancer incidence: Swedish cohort of over 11,000 men and women. Int J Cancer 115:611–617
47. Michels KB, Xue F (2006) Role of birthweight in the etiology of breast cancer. Int J Cancer 119:2007–2025
48. Innes K, Byers T, Schymura M (2000) Birth characteristics and subsequent risk for breast cancer in very young women. Am J Epidemiol 152:1121–1128
49. Mellemkjaer L, Olsen ML, Sorensen HT, Thulstrup AM, Olsen J, Olsen JH (2003) Birth weight and risk of early-onset breast cancer (Denmark). Cancer Causes Control 14:61–64
50. Sanderson M, Shu XO, Jin F, Dai Q, Ruan Z, Gao YT, Zheng W (2002) Weight at birth and adolescence and premenopausal breast cancer risk in a low-risk population. Br J Cancer 86:84–88
51. Gluckman PD, Hanson MA, Cooper C, Thornburg KL (2008) Effect of in utero and early-life conditions on adult health and disease. N Engl J Med 359:61–73
52. Tretli S, Gaard M (1996) Lifestyle changes during adolescence and risk of breast cancer: an ecologic study of the effect of World War II in Norway. Cancer Causes Control 7:507–512
53. Robsahm TE, Tretli S (2002) Breast cancer incidence in food- vs non-food-producing areas in Norway: possible beneficial effects of World War II. Br J Cancer 86:362–366
54. Elias SG, Peeters PH, Grobbee DE, van Noord PA (2004) Breast cancer risk after caloric restriction during the 1944–1945 Dutch famine. J Natl Cancer Inst 96:539–546
55. Painter RC, De Rooij SR, Bossuyt PM, Osmond C, Barker DJ, Bleker OP, Roseboom TJ (2006) A possible link between prenatal exposure to famine and breast cancer: a preliminary study. Am J Hum Biol 18:853–856
56. Potischman N, Troisi R (1999) In-utero and early life exposures in relation to risk of breast cancer. Cancer Causes Control 10:561–573
57. Olivo SE, Hilakivi-Clarke L (2005) Opposing effects of prepubertal low- and high-fat n-3 polyunsaturated fatty acid diets on rat mammary tumorigenesis. Carcinogenesis 26:1563–1572
58. Huang Z, Hankinson SE, Colditz GA, Stampfer MJ, Hunter DJ, Manson JE, Hennekens CH, Rosner B, Speizer FE, Willett WC (1997) Dual effects of weight and weight gain on breast cancer risk. JAMA 278:1407–1411
59. Fernandez-Twinn DS, Ozanne SE (2010) Early life nutrition and metabolic programming. Ann NY Acad Sci 1212:78–96
60. De AS, Khan G, Hilakivi-Clarke L (2006) High birth weight increases mammary tumorigenesis in rats. Int J Cancer 119:1537–1546

61. Hilakivi-Clarke L, Shajahan A, Yu B, De AS (2006) Differentiation of mammary gland as a mechanism to reduce breast cancer risk. J Nutr 136:2697S–2699S
62. Hilakivi-Clarke L, Clarke R, Onojafe I, Raygada M, Cho E, Lippman M (1997) A maternal diet high in n–6 polyunsaturated fats alters mammary gland development, puberty onset, and breast cancer risk among female rat offspring. Proc Natl Acad Sci USA 94:9372–9377
63. Hilakivi-Clarke L, Clarke R, Lippman M (1999) The influence of maternal diet on breast cancer risk among female offspring. Nutrition 15:392–401
64. Lo CY, Hsieh PH, Chen HF, Su HM (2009) A maternal high-fat diet during pregnancy in rats results in a greater risk of carcinogen-induced mammary tumors in the female offspring than exposure to a high-fat diet in postnatal life. Int J Cancer 125:767–773
65. Su HM, Hsieh PH, Chen HF (2010) A maternal high n-6 fat diet with fish oil supplementation during pregnancy and lactation in rats decreases breast cancer risk in the female offspring. J Nutr Biochem 21:1033–1037
66. Delvaux T, Buekens P, Thoumsin H, Dramaix M, Collette J (2003) Cord C-peptide and insulin-like growth factor-I, birth weight, and placenta weight among North African and Belgian neonates. Am J Obstet Gynecol 189:1779–1784
67. Sivan E, Mazaki-Tovi S, Pariente C, Efraty Y, Schiff E, Hemi R, Kanety H (2003) Adiponectin in human cord blood: relation to fetal birth weight and gender. J Clin Endocrinol Metab 88:5656–5660
68. Troisi R, Potischman N, Roberts J, Siiteri P, Daftary A, Sims C, Hoover RN (2003) Associations of maternal and umbilical cord hormone concentrations with maternal, gestational and neonatal factors (United States). Cancer Causes Control 14:347–355
69. Vatten LJ, Nilsen TI, Tretli S, Trichopoulos D, Romundstad PR (2005) Size at birth and risk of breast cancer: prospective population-based study. Int J Cancer 114:461–464
70. Park CS (2005) Role of compensatory mammary growth in epigenetic control of gene expression. FASEB J 19:1586–1591
71. Zheng S, Pan YX (2011) Histone modifications, not DNA methylation, cause transcriptional repression of p16 (CDKN2A) in the mammary glands of offspring of protein-restricted rats. J Nutr Biochem 22:567–573
72. Zheng S, Rollet M, Yang K, Pan YX (2011) A gestational low-protein diet represses p21WAF1/Cip1 expression in the mammary gland of offspring rats through promoter histone modifications. Br J Nutr 1–10
73. Zheng S, Li Q, Zhang Y, Balluff Z, Pan YX (2012) Histone deacetylase 3 (HDAC3) participates in the transcriptional repression of the p16 (INK4a) gene in mammary gland of the female rat offspring exposed to an early-life high-fat diet. Epigenetics 7:183–190
74. Larsson SC, Giovannucci E, Wolk A (2007) Folate and risk of breast cancer: a meta-analysis. J Natl Cancer Inst 99:64–76
75. Stolzenberg-Solomon RZ, Chang SC, Leitzmann MF, Johnson KA, Johnson C, Buys SS, Hoover RN, Ziegler RG (2006) Folate intake, alcohol use, and postmenopausal breast cancer risk in the prostate, lung, colorectal, and ovarian cancer screening trial. Am J Clin Nutr 83:895–904
76. Pfeiffer CM, Johnson CL, Jain RB, Yetley EA, Picciano MF, Rader JI, Fisher KD, Mulinare J, Osterloh JD (2007) Trends in blood folate and vitamin B-12 concentrations in the United States, 1988 2004. Am J Clin Nutr 86:718–727
77. Radimer K, Bindewald B, Hughes J, Ervin B, Swanson C, Picciano MF (2004) Dietary supplement use by US adults: data from the National health and nutrition examination survey, 1999–2000. Am J Epidemiol 160:339–349
78. Wilson RD, Johnson JA, Wyatt P, Allen V, Gagnon A, Langlois S, Blight C, Audibert F, Desilets V, Brock JA, Koren G, Goh YI, Nguyen P, Kapur B (2007) Pre-conceptional vitamin/folic acid supplementation 2007: the use of folic acid in combination with a multivitamin supplement for the prevention of neural tube defects and other congenital anomalies. J Obstet Gynaecol Can 29:1003–1026

79. Sie KK, Chen J, Sohn KJ, Croxford R, Thompson LU, Kim YI (2009) Folic acid supplementation provided in utero and during lactation reduces the number of terminal end buds of the developing mammary glands in the offspring. Cancer Lett 280:72–77
80. Ly A, Lee H, Chen J, Sie KK, Renlund R, Medline A, Sohn KJ, Croxford R, Thompson LU, Kim YI (2011) Effect of maternal and postweaning folic acid supplementation on mammary tumor risk in the offspring. Cancer Res 71:988–997
81. Korotkova M, Gabrielsson BG, Holmang A, Larsson BM, Hanson LA, Strandvik B (2005) Gender-related long-term effects in adult rats by perinatal dietary ratio of n-6/n-3 fatty acids. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol 288:R575–R579
82. Burdge GC, Lillycrop KA, Jackson AA (2009) Nutrition in early life, and risk of cancer and metabolic disease: alternative endings in an epigenetic tale? Br J Nutr 101:619–630
83. Talens RP, Boomsma DI, Tobi EW, Kremer D, Jukema JW, Willemsen G, Putter H, Slagboom PE, Heijmans BT (2010) Variation, patterns, and temporal stability of DNA methylation: considerations for epigenetic epidemiology. FASEB J 24:3135–3144
84. Godfrey KM, Sheppard A, Gluckman PD, Lillycrop KA, Burdge GC, McLean C, Rodford J, Slater-Jefferies JL, Garratt E, Crozier SR, Emerald BS, Gale CR, Inskip HM, Cooper C, Hanson MA (2011) Epigenetic gene promoter methylation at birth is associated with child's later adiposity. Diabetes 60:1528–1534
85. Brennan K, Garcia-Closas M, Orr N, Fletcher O, Jones M, Ashworth A, Swerdlow A, Thorne H, Riboli E, Vineis P, Dorronsoro M, Clavel-Chapelon F, Panico S, Onland-Moret NC, Trichopoulos D, Kaaks R, Khaw KT, Brown R, Flanagan JM (2012) Intragenic ATM methylation in peripheral blood DNA as a biomarker of breast cancer risk. Cancer Res 72:2304–2313
86. Wong EM, Southey MC, Fox SB, Brown MA, Dowty JG, Jenkins MA, Giles GG, Hopper JL, Dobrovic A (2011) Constitutional methylation of the BRCA1 promoter is specifically associated with BRCA1 mutation-associated pathology in early-onset breast cancer. Cancer Prev Res (Phila) 4:23–33

4. Bölüm
Zeytinyağı ve Kanserin Önlenmesi

Meme Kanserinde Zeytinyağı ve Diğer Diyet Lipidleri

Eduard Escrich, Montserrat Solanas ve Raquel Moral

Özet

Meme kanseri dünyada kadınlar arasında en sık görülen malign neoplazidir. Genetik ve endokrin faktörlere ek olarak, çevre ve özellikle de nütrisyonel faktörler etyolojisinde önemli rol oynamaktadır. Epidemiyolojik ve özellikle de deneysel çalışmalarda diyet yağı ve meme kanseri arasındaki bağlantı gösterilmiştir. Akdeniz diyetindeki ana yağ kaynağı olan ve meme kanseri gibi kronik hastalıklardaki düşü mortalite insidansı ile ilişkili olan natürel sızma zeytinyağının (NSZY) potansiyel kemopreventif etkisi ile ilgili bol miktarda veri mevcuttur. Başlıca deneysel modellerde gerçekleştirdiğimiz çalışmalarda, diyet lipidlerinin meme karsinogenezi üzerindeki farklı modüle edici etkilerini gösterdik. n-6 poliansatüre yağ asitleri (PUFA) yönünden zengin diyetler meme kanseri gelişimini net bir şekilde stimüle ederken, NSZY yönünden zengin diyetler ise negatif modüle edici etki gösterirler. Burada rol oynayan spesifik mekanizmalar tam olarak anlaşılmamıştır. Ancak günümüzde çok sayıda ve kompleks mekanizmanın rol oynadığı kabul edilmektedir. Çalışma grubumuz bu alandaki bilgi düzeyinin artmasına diyet lipidlerinin hücre membranlarının yapı ve fonksiyonlarındaki etkilerini, hücre sinyal dönüştürme yolaklarının modülasyonunu, gen ekspresyonu, büyüme ve cinsel olgunluğun regülasyonunu göstererek katkı yapmıştır.

Anahtar Kelimeler

Meme kanseri • Diyet lipidleri • NSZY • Deneysel meme kanseri • n-6 PUFA Zeytinyağı • Mısır yağı

E. Escrich (✉) · M. Solanas · R. Moral
Department of Cell Biology, Physiology and Immunology, Physiology Unit, Medicine School, Universitat Autnoma de Barcelona, Bellaterra, 08193, Barcelona, Spain
e-mail: Eduard.Escrich@uab.es

V. Zappia et al. (eds.), *Advances in Nutrition and Cancer,*
Cancer Treatment and Research 159, DOI: 10.1007/978-3-642-38007-5_17,
© Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2014

Kısaltmalar

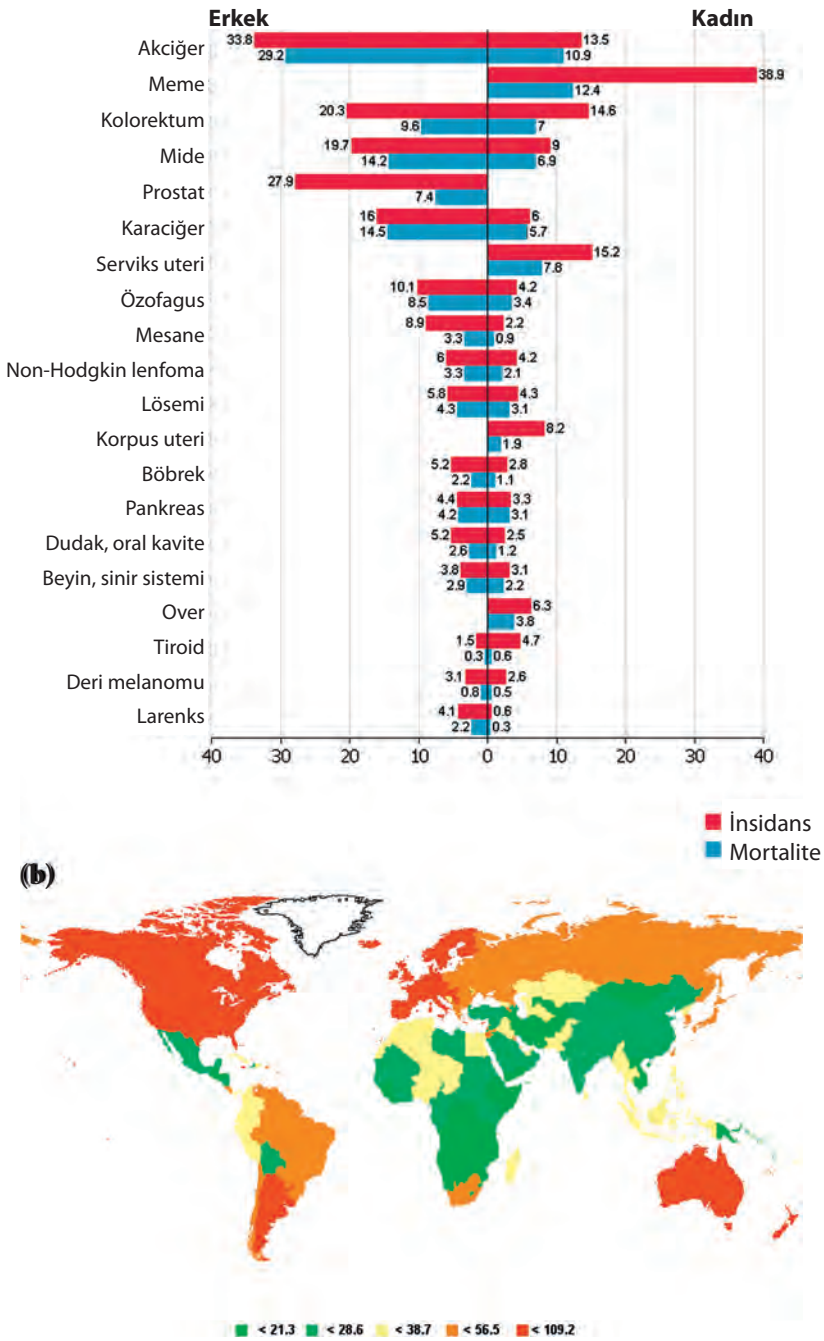
PUFA	Poliansatüre yağ asitleri
MUFA	Monoansatüre yağ asitleri
OA	Oleik asit
NSZY	Natürel sızma zeytinyağı
DMBA	Dimetil-benz(α)antrasen
HCO	Yüksek mısır yağı
LA	Linoleik asit
FFA	Serbest yağ asitleri
PCNA	Prolifere hücre nükleer antijeni
CPT I	Karnitin palmitoltransferaz I
PPAR	Peroksizom proliferatör reseptörü
VDUP1	Vitamin D3-yukarı regüle protein 1
IGF	İnsülin benzeri büyüme faktörü

İçindekiler

1 Giriş 290
2 Meme Karsinogenezinde Diyet Lipidlerinin Etkisi ile İlgili Deneysel Kanıtlar 293
3 Diyet Lipidlerinin Meme Adenokarsinomlarının Morfolojik Malignitesi Üzerindeki Etkileri 295
4 Meme Kanserinde Diyet Lipidlerinin Etki Mekanizması 297
4.1 Hormonal Statünün Değişimi 297
4.2 Hücre Membranının Yapı ve Fonksiyonunun Modifikasyonu 299
4.3 Sinyal Dönüştürücü Yolaklar Üzerindeki Etki 299
4.4 Gen Ekspresyonu Üzerindeki Etki 301
4.5 Büyüme ve Cinsel Olgunluk Üzerindeki Etki 302
5 Sonuçlar 304
Referanslar 305

1 Giriş

Meme kanseri dünyada kadınlar arasında büyük farkla en sık görülen kanser türüdür (tüm kanserlerin %22.9'u). Daha sonra kolorektal kanser (%9.4) ile serviks ve uterus kanserleri (%8.8) gelmektedir. Hem gelişmiş hem de gelişmemekte olan ülkelerde kansere bağlı en sık ölüm nedenini oluşturur (Şekil 1a) [1]. Meme kanserinin etyolojisi multifaktöryeldir. Başlıca genetik, epigenetik ve endokrin faktörler rol oynar [2, 3]. Ancak neoplazilerin insidans oranları coğrafi bölgelere göre farklılıklar gösterir. En sık olarak

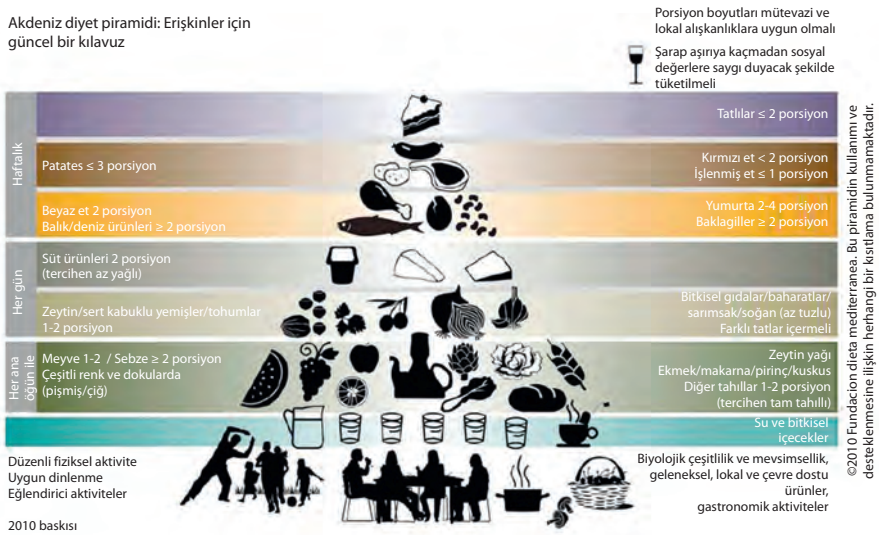


Şekil 1 **a** Dünyada cinsiyete ve kanser tipine göre (yaşa göre standardize edilmiş) insidans ve mortalite oranları (1/100.000). **b** Meme kanserinin yaşa göre standardize edilmiş insidans oranları (1/100.000) [4].

dünyanın gelişmiş bölgelerinde (Japonya hariç) görülür. En düşük insidanslara da çoğunlukla gelişmekte olan bölgelerde rastlanmaktadır (Şekil 1b) [1, 4]. Bu bulgu meme kanseri gelişiminde çevresel faktörlerin de rol oynadığını göstermektedir. Aralarında en önemlisinin nütrisyonel faktörler olmasının ilk nedeni bir toplumun diyet alışkanlıkları nedeniyle sürekli olarak maruz kaldığı veya eksikliğini çektiği gıdaların varlığıdır. İkinci neden ise bu faktörleri baz alarak koruyucu önlemlerin alınabilme ihtimalidir [5].

Meme kanseri ile ilişkili çok sayıda diyet faktörü arasında bulunan lipidler, en önemlilerinden biri olarak kabul edilmektedir. Diyet lipidleri ile meme, kolorektum ve prostat kanseri gibi belirli kanser tipleri arasındaki ilişki epidemiyoloji ve özellikle de deneysel çalışmalarda tespit edilmiştir Diyetle alınan yağ ile meme kanseri riski arasındaki ilişkiyi destekleyen ile epidemiyolojik destek ekolojik çalışmalardan (korelasyonel ve göçmenlerle ilgili) gelmiştir. Buna karşın analitik epidemiyoloji çalışmalarında (vaka kontrol ve prospektif çalışmalar) elde edilen bazı veriler tutarsızdır. Bu çalışmaların tamamı anlamlı bir ilişki varlığını desteklememektedir. Total ve satüre yağ tüketimi ile meme kanseri arasında pozitif bir ilişki olduğu tespit edilmiş görünmektedir. Ancak spesifik yağ alt tipleri ile ilgili ilişkiler daha az tutarlıdır [9–13]. Bizim çalışma grubumuzun yaptıklarını da kapsayan deneysel çalışmalar diyet lipidleri ile meme kanseri arasındaki ilişki hakkında önemli bilimsel kanıtlara imza atmıştır. Bu nedenle yağdan zengin diyetlerin stimülan etkilerine ek olarak, özel lipid tiplerinin meme kanseri üzerinde farklı modüle edici etkileri mevcuttur: Stimüle edici satüre yağlar başlıca hayvansal kaynaklıdır. Ancak n-6 pan yağ asitleri (PUFA) ise bitkisel kaynaklı olup sıklıkla yağlı tohumlardan elde edilen yağlarda mevcuttur. n-3 PUFA inhibitörleri ise sebzelerde ve özellikle deniz kaynaklı gıdalarda mevcuttur. Monoansatüre yağ asitlerinden (MUFA) olan oleik asit (OA) zeytinyağında yüksek miktarda mevcuttur. Kemopreventif etkisi ile ilişkili kanıtlar artmakta olsa da çelişkili sonuçlar da mevcuttur. Tümör büyümesi üzerindeki etkileri ile ilgili çelişkili sonuçlar stimüle etmeyici, hafif stimüle edici veya stimüle edici olabileceğini bildirmektedir [7, 14–17].

Akdeniz ülkelerindeki kardiyovasküler hastalıklar ve meme kanserini de içeren bazı kanser türleri gibi kronik hastalıkların insidans ve mortalitelerinin diğer Batı ülkeleri ile kıyaslandığında daha düşük olduğunu gösteren çok miktarda veri nedeniyle, Akdeniz diyetinin majör yağ kaynağı olan zeytinyağı ciddi bir ilgi kaynağı olmuştur. Akdeniz diyeti, Akdeniz'in farklı bölgelerinde çeşitli beslenme paternlerine sahiptir ve bitkisel (meyve, sebze, tahıllar, tohumlar ve sert kabuklu yemişler), süt ürünleri, balık ve zeytinyağı gibi besinlerin çok miktarda tüketimi ile karakterizedir [18] (Şekil 2). NSZY (natürel sızma sızan zeytinyağı) OA (%72-74) yönünden zengin olmasına ek olarak, skualen, fenolik antioksidanlar (hidroksitirozol, tirozol ve oleuropein), sekoiridoidler (oleuropein ve aglikonu), flavonoidler ve lignanlar gibi minör biyoaktif bileşikleri de içerir [19– 21]. Günümüzde NSZY'nin potansiyel sağlıklı etkilerinin hem yağ asidi kompozisyonuna (özellikle yükse OA içeriği, uygun miktarda esansiyel PUFA ve görece düşük n-6 PUFA / n-3 PUFA oranı) hem de içerdiği minör biyoaktif bileşiklere dayandığı net olarak anlaşılmıştır [22–25].

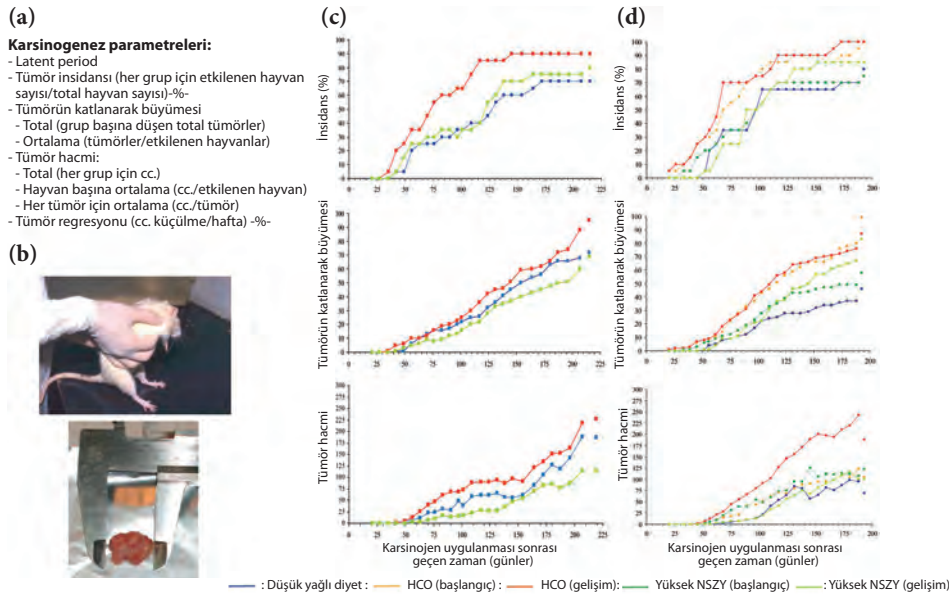


Şekil 2 Güncellenmiş Akdeniz Diyet Piramidi (Akdeniz Diyet Vakfı) [89].

Grubumuz diyet lipidlerinin meme kanseri üzerindeki etkisini 25 yıldan uzun süredir başlıca iki ana konu üzerinde araştırmaktadır: Birincisi iki tip yağ kullanılarak (n-6 PUFA yönünden zengin bir yağlı tohum yağı olan mısır yağı ve NSZY) kimyasal olarak indüklenen meme kanseri üzerinde yaptığımız çalışmalardır. İkincisi insan meme tümörleridir. Bu bölümün amacı deneysel modellerden elde edilen başlıca sonuçların paylaşılmasıdır. Bu modellerdeki araştırmalarımızda klinik karsinogenez, tümör morfolojisi ve özellikle bu iki yağ türünün meme karsinogenezindeki farklı modüle edici etkilerinin moleküler mekanizmalarını araştırmaya odaklandık. Deneysel verilerin insanlara uyarlanmasında dikkatli olunması gerekmektedir. Ancak kontrollü değişkenler kullanılarak insan verisi toplamak oldukça güç olduğu için, deneysel çalışmalar nütrisyonel faktörlerin sağlık üzerindeki etkilerinin anlaşılmasında önemli rol oynamaktadır.

2 Meme Karsinogenezinde Diyet Lipidlerinin Etkisi ile İlgili Deneysel Kanıtlar

Meme kanseri modelleri kullanılarak geliştirilen deneysel çalışmalarda dişi Sprague-Dawley sıçanlarında polisiklik aromatik bir hidrokarbon olan dimetil-benz(α)antrasen (DMBA) tek doz uygulanarak kanser indüklenmiştir [26]. Bu modelin sonuçları insan meme kanserine uyarlanabilmesi için daha önce valide edilmiştir ve meme kanseri çalışmalarında yoğun olarak kullanılmaktadır [27, 28]. Zeytinyağı ve n-6 PUFA'nın meme adenokarsinomlarının başlangıcı ve gelişimindeki olası farklı etkilerinin araştırılması için şu diyetler dizayn



Şekil 3 Yüksek tohum yağı ve yüksek NSZY diyetlerinin DMBA ile indüklenen sıçan karsinogenezi üzerindeki etkisi. Deneyin dizaynına bağlı olarak, hayvanlar yüksek-mısır yağı (HCO) diyeti veya yüksek-NSZY diyeti ile sütten kesilmelerinden itibaren (başlangıç grupları) veya karsinojen uygulanmasında itibaren (gelişim grubu) beslenmiştir. Düşük yağlı diyet grubu da tüm çalışma boyunca kontrol grubu olarak kullanılmıştır. Hayvanlar karsinojen uygulanmasından sonra 21. günden itibaren (53 günlükken) her hafta muayene edilmiş ve kiloları ölçülmüştür. **a.** Uygun istatistiksel analize ek olarak sekiz farklı klinik parametre belirlenmiştir. **b.** Hayvanların incelenmesi ve eksprerimental meme adenokarsinomunu gösteren resimler **c.** Deneysel serilerde karsinogenez gelişimini araştırmayı amaçlayan 3 örnek parametre. HCO diyetinin yaptığı belirgin stimulan etki ile tümörler daha erken gelişmiştir. Kontrol grubuna göre daha fazla hayvan etkilenmiş, daha çok ve daha büyük tümörler gelişmiştir. Buna karşın yüksek-NSZY diyeti ile genel olarak koruyucu etki görülmüştür. Latent period, insidans, tümör hacmi ve içerikleri kontrol grubu ile benzer veya daha düşük bulunmuştur. **d.** Aynı örnek parametrelerin kullanıldığı diğer deneysel serilerde diyet lipidlerinin başlama ve gelişme üzerindeki etkileri görülmektedir. HCO diyeti tutarlı olarak tümör geliştirici etki gösterirken, yüksek-NSZY diyeti de zayıf stimülan etki göstermiştir. NSZY yüksek yağ içeren bir diyet olmasına rağmen stimüle edici etkisi HCO diyetine göre çok daha zayıftır.

edilmiştir: Kontroller için düşük yağlı diyet (%3 mısır yağı), yüksek yağlı n-6 PUFA diyeti (%20 mısır yağı) ve yüksek yağlı n-9 MUFA diyeti (%17 NSZY ve %3 mısır yağı) [29–31].

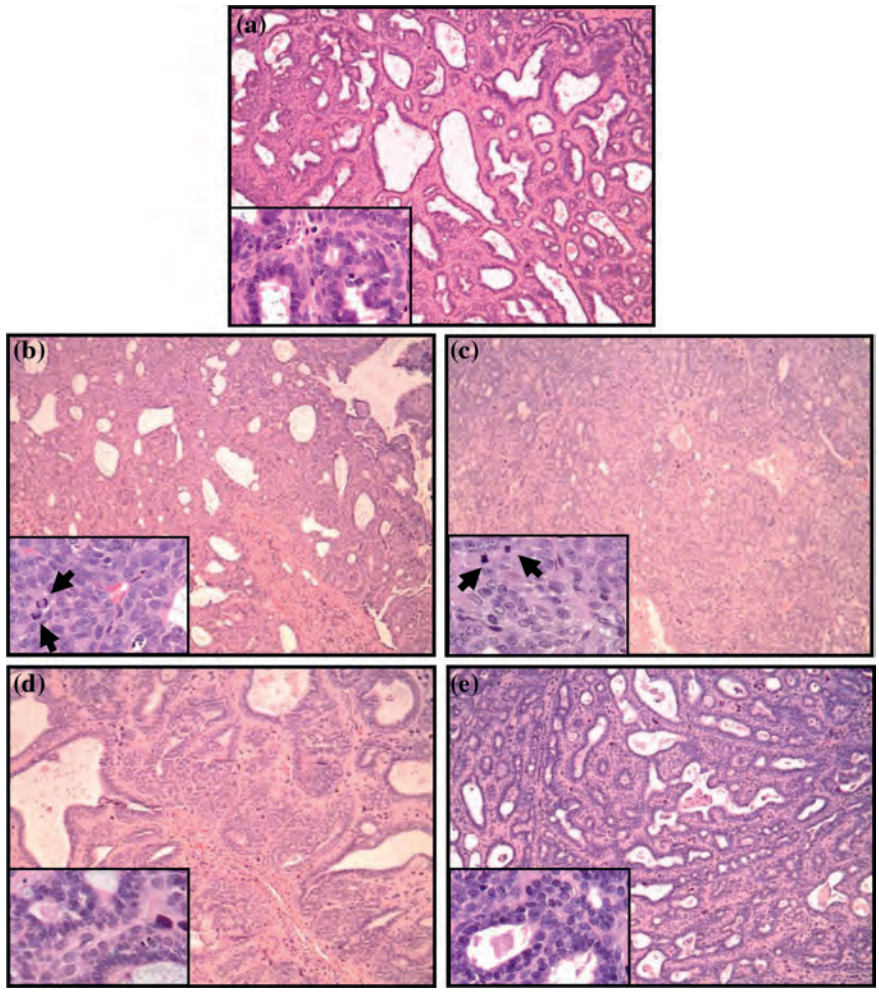
Uygun istatistiksel analizlere ek olarak, deneysel meme kanserindeki bu etkilerin araştırılmasında çeşitli klinik parametreler de tanımlanmıştır (latent period, tümör insidansı, katlanarak büyüme, hacim ve tümör regresyonu) (Şekil 3a, b) [32–35]. Laboratuarımızda geliştirilen 16 deneysel seride, yağ yönünden zengin diyetlerin meme karsinogenezindeki stimulan etkilerini tutarlı olarak gösterdik. Bu etkiler tümörlerin

kontrol grubuna göre daha erken oluşması, daha fazla hayvanın etkilenmesi ve daha büyük olmalarını kapsamaktadır. Buna karşın zengin NSZY diyetleri HCO diyeti ile aynı miktarda yağ içermesine rağmen genel olarak koruyucu etki göstermiştir. Latent period, insidans, tümör hacmi ve içerikleri kontrol grubu ile benzer veya daha düşük bulunmuştur. Tümör regresyonu ile ilgili çalışmada, bu diyetle tümör progresyonunun yavaşladığının bulunmuş olması önemlidir. Ancak parsiyel veya total tümör regresyonu gerçekleşmemektedir. Bu sonuçlar NSZY diyetlerinin terapötik ajan olarak kullanılacak kadar güçlü etkiye sahip olmadığını göstermektedir (Şekil 3c, d) [6–8, 31, 36–38]. Ayrıca deneysel serilerde hafif bir stimülan etki de gözlenmiştir. Ancak bu diyet yağdan zengin olmasına rağmen stimülan etkisi her zaman tohum yağına göre çok daha düşük seviyede bulunmuştur (Şekil 3d) [39]. Bu farklılıklar diyet girişiminin uygulanma zamanlaması veya kullanılan farklı zeytinyağı çeşitleri ile ilişkili olabilir. Zeytinyağının karsinogenez üzerindeki etkisinin satüre/ansatüre yağ asitlerinin oranına ve OA/lineolik asit oranına ve yağdaki minör bileşiklerin rölatif kompozisyonuna bağlı olduğu bildirilmiştir [40]. Bu tür bulgular tüm yüksek yağlı diyetlerin karsinogenez üzerinde spesifik olmayan stimülan etkileri olabildiği ve deneysel diyette yüksek oranda zeytinyağı kullanıldığı göz önüne alındığında ilgi çekici hale gelmektedir [41]. Bu bağlamda alınan enerji miktarı ile kanser mortalite oranları arasında doğru orantı olduğu gösterilmiş olup, enerji kısıtlaması ile karsinogenez üzerinde genel bir inhibitör etki meydana gelmektedir [42].

Bu sonuçlar yüksek n-6 PUFA diyetlerinin, meme tümörlerinin klinik davranışlarını biyolojik olarak daha agresif hale getirdiğini göstermektedir. NSZY diyetleri ise tümörlerin malignite derecelerini daha az etkilemektedir. Diyet lipidlerinin meme kanserindeki modüle edici etkisinin çoğunlukla karsinogenezin gelişim aşamasında ortaya çıktığı vurgulanmalıdır. Ancak başlangıç aşamasındaki etki de dışlanmamalıdır [6, 8].

3 Diyet Lipidlerinin Meme Adenokarsinomlarının Morfolojik Malignitesi Üzerindeki Etkileri

Çalışma grubumuz, diyet lipidlerini meme kanseri üzerindeki farklı morfolojik etkilerini, meme adenokarsinomlarının kapsamlı histopatolojik incelemelerini kullanarak ilk kez gösteren gruptur. Analizlerde onbir farklı parametre kullanılmıştır. Bu parametrelerden bazıları insan meme kanseri patolojisinde ve deneysel tümörlerin diğer karakteristiklerinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Grubumuz ayrıca sıçan meme karsinomlarına adapte edilen yeni bir histolojik sınıflama sistemi geliştirmiştir. İlk olarak, bu çalışmalarda her tümörün histolojik paterni ile klinik karakteristikleri arasında bir ilişki gösterilmiştir. Biyolojik olarak daha agresif olan tümörlerin daha yüksek histopatolojik evre, desmoplastik reaksiyon, limfoplazmositik infiltrasyon ve tümör nekrozu ile karakterize olduğu ve sıklıkla kribriform yapıya sahip olduğu bulunmuştur [43, 44]. İkinci olarak da farklı diyetlerinin etkileri analiz edildiğinde tohum yağlarının adenokarsinomları, kontrol grubu ve NSZY diyetlerine göre daha yüksek malignite derecesi ile indüklediği



Şekil 4 DMBA ile indüklenen meme adenokarsinomlarının farklı diyet gruplarındaki histopatolojik özellikleri. Hematoksilin ve eozin ile boyanmış farklı deney gruplarındaki tümör kesitlerinin histopatolojik analizinde tohum yağı yönünden zengin diyetlerin adenokarsinomların gelişimini kontrollere (**a**) ve NSZY gruplarına (**d** ve **e**) göre daha yüksek malignite derecesi ile destekledikleri bulunmuştur (**b** ve **c**). Buna karşın yüksek NSZY diyeti ile beslenen hayvanların tümörleri ise, HCO diyeti uygulanan hayvanların tümörlerine göre daha düşük malignite derecesine sahip ve kontrol tümörlerine daha benzer histopatolojik özellikler göstermiştir. Büyük resimlere orijinale göre x100 büyütme, küçük resimlere orijinale göre x400 büyütme uygulanmıştır. Mitotik figürler oklarla gösterilmiştir (**b** ve **c**) [45].

görülmüştür. Tohum yağları daha yüksek histolojik evreye, stroma invazyonuna, daha yoğun tümör nekrozuna ve daha sık kribriform paterne yol açmıştır. Buna karşın NSZY diyeti ile beslenen hayvanların tümörleri ise, HCO diyeti uygulanan hayvanların tümörlerine göre daha düşük malignite derecesine sahip olup kontrol tümörlerine daha benzer

histopatolojik özellikler göstermiştir. Bu nedenle daha düşük bir histopatolojik dereceye sahip olan bu tümörler, daha az invazif, nekrotik ve papiller bölgeye sahiptir (Şekil 4). Dolayısı ile diyet lipidlerinin farklı modüle edici etkileri, sadece tümörün klinik davranışında değişikliğe neden olmayıp aynı zamanda farklı histopatolojik özelliklere de yol açmaktadır.

4 Meme Kanserinde Diyet Lipidlerinin Etki Mekanizması

Genel olarak diyet yağlarının ve spesifik olarak da NSZY diyetlerinin meme kanserinde etkilerini göstermelerini sağlayan spesifik mekanizmalar henüz aydınlatılamamıştır. Ancak günümüzde diyet lipidlerinin muhtemelen entegre, simultane ve/veya sıralı şekilde etki göstermesini sağlayan çeşitli, kompleks mekanizmalar hakkındaki anlayış giderek daha fazla artmaktadır. Grubumuz bu mekanizmalar ile ilgili bilgilerin artmasına, hormonal statüdeki muhtemel değişimleri, hücre membranlarının yapı ve fonksiyonlarını, hücre sinyallerini dönüştürücü yolakları, gen ekspresyonunu, büyüme ve cinsel olgunlaşmayı araştırarak katkı yapmıştır (Tablo 1) [46–48].

4.1 Hormonal Statünün Değişimi

Meme kanseri hormona bağımlı bir neoplazi olduğu için ilk olarak normal meme bezlerini ve tümörleri regüle eden ana hormonların statülerinin diyet lipidleri tarafından modifiye edilip edilmediğini araştırdık. Luteinizan hormon, folikül stimüle edici hormon, östradiol, progesteron, insülin ve kortikosteronun serum konsantrasyonlarının yüksek n-6 PUFA veya yüksek NSZY diyetleri ile değişmediğini tespit ettik [49], (E. Escrich, yayınlanmamış sonuçlar). Diyet lipidlerinin dolaşımdaki hormon düzeylerine etkileri ile ilgili literatür verileri net bir sonuca sahip değildir [50]. Yüksek n-6 PUFA diyeti ile beslenen gebe sıçanlardaki serum östradiol seviyelerinin arttığını [51] ya da değişmediğini [52] gösteren çalışmalar mevcuttur. Diğer yazarlar emziren sıçanlardaki östradiol konsantrasyonlarının %7 zeytinyağı içeren diyet ile beslenenlerde %7 mısır yağı ile beslenenlere göre daha düşük olduğunu tespit edilmiştir [53]. Sonuçlar arasındaki çelişkiler hormonların siklik özelliklerine bağlı olabilir. Çünkü bu hormonların serum konsantrasyonları sirkadian ritm ve östrus siklusunun fazı ile yüksek oranda ilişkilidir [54]. Ayrıca meme bezlerindeki ve deneysel tümörlerdeki seks hormon reseptörlerinin analizinde de diyet lipidlerinin etkisi ile sadece küçük farklılıklar tespit edebildik. Sonuç olarak östrojen reseptörlerinin ekspresyonlarında anlamlı farklılıklar bulunmamıştır (ERα, ERβ1 ve ERβ2). Puberte esnasında NSZY diyeti ile beslenen sıçanların meme bezlerinde HCO diyeti ile beslenenlere göre daha yüksek östrojen reseptör seviyeleri tespit ettik. Bu bulgu lobulo-alveolar yapıların gelişimi ile ilişkili olabilir [39]. Bu sonuçlar diyet lipidlerinin meme kanserini modüle edici etkilerinin normal ve kanserli meme için çok

Tablo 1 Yüksek NSZY ve yüksek tohum yağı diyetlerinin deneysel meme kanserindeki ana moleküler etki mekanizmalar üzerindeki etkisi

		NSZY diyetleri	Tohum yağı diyetleri
Klinik davranış		Yavaş seyirli tümör büyümesi	Hızlanmış tümör büyümesi
		Koruyucu veya zayıf gelişim destekleyici etki	Stimüle edici etki
Histopatolojik özellikler		Düşük dereceli histolojik malignite	Yüksek dereceli histolojik malignite
Etki mekanizması	Proliferasyon	Azalma ve aynı kalma	Artma
		↔ *mitotik aktivite*	←↑ *mitotik aktivite*
		↔ *PCNA düzeyleri*	↔ *PCNA düzeyleri*
		↔ *Siklin D1 ekspresyonu*	↔ *Siklin D1 ekspresyonu*
		↓ *p21Ras aktivitesi*	↔ *p21Ras aktivitesi*
		↑ *non-aktive p21Ras düzeyleri*	↔ *non-aktive p21Ras düzeyleri*
		↑ *MAPK aktivitesi (↓Akt aktivitesi ile birlikte)*	↑ *MAPK aktivitesi (↓ Akt aktivitesi yok)*
	Sağkalım	Azalma	Artma
		↓ *Akt aktivitesi (↓ fosfo-Akt düzeyleri)*	↑ *fosfo-Akt/total Akt oranı*
	Apoptoz	Artma	Değişim yok
		↓*Akt aktivitesi ve* ↑*MAPK aktivitesi*	↑*Akt aktivitesi ve* ↑*MAPK aktivitesi*
		↑*aktif Kaspaz-3 düzeyleri*	↔ *aktif Kaspaz-3 düzeyleri*
		↑ *apoptotik hücreler*	↔ *apoptotik hücreler*
	Tümör regresyonu	Yok	Yok
	DNA hasarı	Muhtemel azalma	Muhtemel artma
		↓ *Ubi-PCNA düzeyleri*	↑ *Ubi-PCNA düzeyleri*
		↔ *8-okso-dG düzeyleri*	↔ *8-okso-dG düzeyleri*
	Farklılaşma	Benzer	Azalma
		↔ *PCPH ekspresyonu*	↓ *PCPH ekspresyonu*
		↔ *H19 ve VDUP1 ekspresyonu*	↓ *H19 ve VDUP1 ekspresyonu*

[a]Etkiler düşük yağlı diyet uygulanan kontrollerle karşılaştırılmıştır. ↑: artma, ↓: azalma, ↔: değişim yok.

önemli bir parametre olan, hormonal durumu değiştirmek yoluyla ortaya çıkmadığını düşündürmektedir. Benzer şekilde incelediğimiz çeşitli biyokimyasal plazma parametrelerinden, yüksek n-6 PUFA ve yüksek NSZY diyetlerinin etkisi ile sadece total kolesterol düzeylerinde bir azalma olduğunu tespit ettik (E. Escrich, yayınlanmamış sonuçlar).

4.2 Hücre Membranının Yapı ve Fonksiyonunun Modifikasyonu

Membran lipid kompozisyonu membran fonksiyonunu etkiler ve hücreler tarafından yüksek oranda regüle edilir. Ayrıca alınan lipidlerin türüne (başlıca n-3 PUFA ve n-3 PUFA / n-6 PUFA oranı) bağlı olarak değişimler gösterir. Membran lipid kompozisyonunda diyet tarafından indüklenen modifikasyonlar membran akışkanlığı, lipidlerle modifiye edilen yolaklar ve hücre membranlarının lipid peroksidasyon düzeyleri ile ilişkilidir [55]. Bu nedenle laboratuarımızda altı lipid fraksiyonu içindeki 14 yağ asidinin analizini yaparak diyet lipidlerinin tümör yağ asidi kompozisyonundaki etkisini inceledik. Yüksek tohum yağlı diyetle beslenen sıçanların meme adenokarsinomları klinik ve histopatolojik olarak kontrol diyet tümörlerine göre daha agresif olup rölatif LA içeriğinde anlamlı artma, OA içeriğinde azalma ile fosfatidilkolin, fostatidiletanolamin ve serbest yağ asitlerinde de anlamlı azalma görülür. Bu fosfolipidlerin hidroliz ürünlerinin ve serbest yağ asitlerinin tümör hücre proliferasyonu ile ilişkili olduğu göz önüne alındığında, bu sonuçların meme karsinogenezi ile ilgili deneysel ve epidemiyolojik çalışmalarda bulunan LA yönünden zengin diyetlerin zararlı etkilerini ve NSZY diyetlerinin faydalı etkilerini onaylar nitelikte olduğu söylenebilir [36]. Akdeniz diyetinin hipertansiyon üzerindeki faydalı etkileri ile uyumlu olarak, hipertansif hastalardaki eritrosit hücre membranının yapısal özelliklerini etkilediklerini gösteren kanıtlar da mevcuttur [56].

4.3 Sinyal Dönüştürücü Yolaklar Üzerindeki Etki

Araştırmalarımızın bir sonraki konusu gen fonksiyonunda ve hücre sinyal yolaklarında rol oynayan proteinlerdeki değişimlere odaklanmıştır. Özellikle meme gelişiminde ve insan meme kanserinde rol oynadığı gösterilen Ras-aracılığındaki sinyal yolağını araştırdık [57]. Sonuçlarda zengin NSZY diyetinin p21Ras aktivitesini anlamlı düzeyde azaltırken protein düzeylerini artırmış olması bu diyetin non-aktive proteinlerde artışa yol açtığını düşündürmektedir. p21Ras aktivitesinde azalma daha düşük Ras mutasyon oranına ya da HMG-CoA redüktaz ve skualen sentaz gibi Ras'ın postranslasyonel modifikasyonunda rol oynayan gen kodlayan proteinlerin azalmış ekspresyonuna bağlı değildir [58]. Diğer deneysel çalışmalarda zeytinyağı diyetinin, bileşimindeki minör bileşik skualenin etkisiyle HMG-CoA redüktazı inhibe etmek yoluyla kolon kanserine karşı

koruyucu etki sağlayabileceği gösterilmiştir. Ancak bu tür etkiler çok yüksek skualen konsantrasyonlarında ortaya çıkmıştır (diyetin %1'i) [59].

Azalmış p21Ras aktivitesi beklenmedik şekilde, insan meme kanserinde önemli rolü olan tirozin kinaz membran reseptörleri ErbB1, ErbB2 ve ErbB3'ün ekspresyon veya aktiviteleri ile ilişkili bulunmamıştır [60]. Buna karşın yüksek NSZY diyetine bağlı olarak 80-kDa ErbB4-bağlı proteinin düzeylerinde anlamlı azalma gözlemledik. ErbB4-kesik formunun meme kanserindeki biyolojik önemi net olarak bilinmemekle birlikte ErbB4 aktivasyonu ile ilişkilidir [61]. NSZY diyeti (kontrollere kıyasla) pro-sağkalım Ras/PI3 K/Akt yolağını aşağı, Raf/Erk yolağını da yukarı regüle etmektedir. Buna karşın yüksek n-6 PUFA diyeti ise Ras aktivitesini ve ErbB reseptörlerini modifiye etmezken, RAf/Erk yolağını güçlendiriyor olması her iki yüksek yağlı diyetin de ERK1/2 yolağını yukarı regüle eden non-spesifik etkileri olduğunu düşündürmektedir. Ayrıca yüksek n-6 PUFA diyeti tümör büyümesini stimüle edici etkisi ile uyumlu olarak, en yüksek fosfo-Akt:total Akt oranının ortaya çıkmasına yol açmıştır. Her iki diyet tipi de RaIA/B-aracılığındaki yolakta bir değişime yol açmamıştır.

Ras ve ana efektörlerinin analizinden elde edilen sonuçlar NSZY diyeti ile ilgili pro-apoptotik hipotez geliştirmemize neden oldu. Bu nedenle farklı deney gruplarındaki meme tümörlerinin apoptotik durumlarını inceledik. Kaspaz kaskadının hem ekstrinsik hem de intrinsik apoptozda rol oynayan ana unsuru olan kaspaz-3'ün [62] rölatif seviyeleri zeytinyağı diyeti ile beslenen hayvanlardaki tümörlerde anlamlı olarak yükselmiştir. Bu sonuç bu diyete bağlı olarak apoptozun arttığı düşüncesi ile uyumludur. Bu sonuç TUNEL deneyleri ile konfirme edilmiştir [58]. Bu sonuçlar zeytinyağının, oleik asidin ve zeytinyağındaki bazı minör bileşiklerin apoptozu modüle ettiğini bildiren bazı çalışmaların sonuçları ile uyumludur [53, 63–65].

Sonuçlarımız mitotik aktivite ve prolifere olan hücre nükleer antijen (PCNA) düzeylerinin analizinde görüldüğü üzere, yüksek NSZY diyetinin tümör hücre proliferasyonunda önemli bir etki yapmadığını da göstermiştir. Bu nedenle NSZY diyeti meme kanserini modüle edici etkisini, proliferasyon/apoptoz balansını apoptoz lehine değiştirip (diyetin tümör büyümesini negatif regüle edici etkisine katkı yaparak) gösteriyor olabilir. Ancak yüksek tohum yağlı diyet ise sağkalım/proliferasyon sinyallerini dönüştürücü etkisi ile uyumlu olarak mitotik aktiviteyi artırıp, tümör gelişimine destek olmaktadır [58]. Zeytinyağının tümör proliferasyonu üzerindeki olası etkisi henüz net olarak anlaşılamamıştır. İn vitro deneylerde zeytinyağındaki hidroksitirozol ve oleuroprotein gibi bazı minör bileşiklerin meme kanseri proliferasyonunu inhibe ettiği yönünde kanıt bulunmuştur [63]. Oleatın ise hücre proliferasyonunda stimülan etkisi olduğu bildirilmiştir [64].

Mono-ubikutin ekli PCNA düzeyleri NSZY diyeti ile ilginç biçimde anlamlı olarak azalırken yüksek mısır yağlı diyetle anlamlı olmayan düzeyde yükselmiştir. PCNA'YA ubikutin eklenmesinin özellikle DNA hasarında veya replikasyon çatalları bozulduğunda meydana gelmesi, NSZY diyetinin daha az DNA hasarına yol açtığını ve yüksek tohum yağlı diyetin de daha yüksek genotoksik strese yol açtığını düşündürmektedir. Ancak pre-mutajenik 8-okso-dG bazında değişime rastlanmamış olması muhtemelen

diyet lipidlerinin diğer DNA lezyonları üzerindeki etkilerinden kaynaklanmaktadır. Meme tümörlerinin gelişiminin modülasyonunda lipid peroksidasyonunun rolü tam olarak anlaşılmamış olan çelişkili bir konudur. Kanserin başlangıcında rol oynayan santral mekanizmalardan birisi olduğu kabul edilmiş olsa da [14], uzun zincirli n-3 PUFA'nın kanser önleyici etkisinin (en azından kısmen) peroksidasyon ürünlerinin oluşumundan kaynaklandığı düşünülmektedir [66–68]. Ayrıca oksidatif stres ile indüklenen apoptozun, bazı polifenolleri de içeren çeşitli kemopreventif ajanların antikarsinojenik etkilerinde önemli rol oynadığını gösteren kanıtlar artmaktadır [69, 70]. Yüksek NSZY diyetlerinin oksidatif stres üzerindeki etkisi şu anda grubumuz tarafından araştırılmaktadır.

4.4 Gen Ekspresyonu Üzerindeki Etki

Farklı diyet komponentlerinin spesifik genlerin ekspresyonunu modüle edebildiği gayet iyi bilinmektedir. Yağ asitlerinin gen ekspresyonu üzerindeki en iyi bilinen etkisi lipid, karbonhidrat ve protein metabolizması üzerinde rol oynayan genleri modüle etmektir [71]. Ayrıca diyet lipidlerinin etkileri hastalık tarafından da etkilenebilir. Bunu doğrular şekilde tümör taşıyıcı sıçanların karaciğerlerinde yüksek n-6 PUFA diyetinin etkisi ile karnitin palmitoltransferaz I (CPT I), mitokondrial HMG-CoA sentaz ve peroksizom proliferatör reseptör α (PPARα) ekspresyonlarının normal regülasyonlarında değişimler gözlemledik [72]. Diyet lipidlerinin kanserle ilişkili genler üzerindeki etkilerine yönelik veriler az olmasına rağmen, hücre büyümesi, sağkalım ve farklılaşmada görev yapan genlerin regülasyonunda rol oynadıklarını gösteren veriler giderek artmaktadır [71]. Deneysel meme tümörlerinde yüksek NSZY ve HCO diyetlerinin, ErbB membran reseptör ailesinin (özellikle c-erbB1) ekspresyonunun modülasyonunda farklı etkiler gösterdiğini tespit ettik. HCO diyeti meme adenokarsinomundaki c-erbB1/EGFR'deki 9.5-kb mRNA (tam boy fonksiyonel reseptörü kodlar) ile 2.7-kb mRNA (inaktif kesik reseptörü kodlar) arasındaki oranı yükseltirken, yüksek NSZY diyeti ise bu oranı azaltmıştır. Bu diyet ayrıca c-erbB2/neu mRNA ve p185ErbB2/Neu protein düzeylerini azaltma eğilimi gösterirken, HCO diyeti bu reseptörün ekspresyonunu modüle etmemiştir [37]. Diğer taraftan ErbB proliferatif sinyalinin önemli dönüştürücülerinde birisi olan c-Haras1'in ekspresyon düzeyleri bu diyetler tarafından modifiye edilmemiştir [73, 74]. Yüksek yağlı diyetler p21RAS'ın post-translasyonel modifikasyonu ve devamındaki aktivasyonu için gereken prenil gruplarının kaynağı olan mevalonat yolağını kodlayan HMGCoA redüktaz veya skualen sentazın [58] ekspresyon düzeylerini de modifiye etmezler [75].

Dediferensiyasyon kanserle ilgili bir proses olduğu için, grubumuz diyet lipidlerinin DMBA ile indüklenen meme tümörlerindeki hücre farklılaşması ile ilişkili genleri de araştırmıştır. Bilinen meme diferensiyasyon markerları olan a- ve b-kazein ve transferine ek olarak tümörün invazyon kapasitesi ile ilişkili olan β-aktinin de ekspresyonlarını analiz ettik. Bu sonuçların düşük kazein ekspresyon düzeylerinin tümörün morfolojik farklılaşmasının derecesi veya klinik davranışı ile ilişkili olmadığını göstermiş olması,

bu genlerin diyet lipidlerinin meme adenokarsinomundaki modifikasyonları için iyi bir biyomarker olmadığının göstergesidir. Buna karşın yüksek zeytinyağı diyeti uygulanan gruplardaki transferin ekspresyonunun artma eğilimi göstermiş olması, bu diyetin sonucu olarak tümörün daha az agresif fenotipe sahip olmasının göstergesidir. Ayrıca NSZY diyetinin aksine yüksek tohum yağlı diyet β-aktin mRNA ekspresyonunu artırırken protein düzeylerinde bir değişime yol açmamıştır. Bu son sonuç, çekirdekten hücre periferine β-aktin transporterinin taşıyıcısı olan ZBP1'de gözlenen artışa ek olarak, bu mRNA'nın transportunun ve translasyonunun deregüle olmasının yüksek tohum yağlı diyetle beslenenlerde daha yüksek malignite dereceli tümörlerle ilişkili olduğunu düşündürmektedir [76]. Ayrıca, ürünleri Ras ile sinerjistik etki yapan PCPH geninin ekspresyonunda diyet lipidlerinin etkisini de araştırdık. Sonuçlar meme bezindeki farklılaşma derecesinin PCPH düzeylerindeki anlamlı artış ile ilişkili olduğunu göstermektedir. Adenokarsinomlardaki PCPH ekspresyonu, normal dokuya kıyasla sadece azalmakla kalmaz aynı zamanda deregüle de olur. Ayrıca yüksek tohum yağlı diyet gruplarındaki en malign tümörler en düşük PCPH ekspresyon düzeylerine sahiptir [77].

Gen ekspresyonlarının incelenmesinde kullanılan yeni yüksek veri işleme kapasiteli teknikler diyet lipidlerinin kanserdeki etkisinin farklı bir deneysel yaklaşımla incelenebilmesine olanak tanımaktadır. cDNA mikroarray analizleri kullanarak yüksek tohum yağlı diyetle anlamlı olarak aşağı regüle olan 4 gen tanımladık. Bu genler NSZY diyeti ile aşağı regüle olmazlar. Bunlar a2u-globülin, Vitamin D3 yukarı regüle protein 1 (VDUP1), damgalanmış (imprinted) H19 geni ve bilinmeyen bir gendir. Tüm bu genler (özellikle H19 ve VDUP1) hücre farklılaşması ve proliferasyonu ile potansiyel olarak ilişkilidir. Yüksek tohum yağlı diyette aşağı regüle olmaları bu diyetin meme kanserindeki tümör stimüle edici etkisinde rol oynayabileceğini düşündürmektedir [78]. Ayrıca gen proliferasyonu ile ilişkili olan ve H19'un karşıtında damgalanan insülin benzeri büyüme faktörü (IGF) II geni HCO diyeti ile yukarı, NSZY diyeti ile de aşağı regüle olmaktadır. Her iki yüksek yağ diyeti, hücre büyümesini destekleyen ve antiapoptotik eksi olan ve VDUP1 tarafından inhibe edilen bir oksiredüktaz olan tioredoksinin etkisinin karşıtı etkiye sahiptir [79]. Bu sonuç HCO ve NSZY diyetlerinin meme kanserindeki karşıt etkileri ile uyum içindedir.

4.5 Büyüme ve Cinsel Olgunluk Üzerindeki Etki

Diyet lipidlerinin kanserin başlangıcında meme bezlerinin neoplastik transformasyona olan duyarlılığını veya direncini modüle ederek nasıl rol oynadıklarına da odaklandık. Gıda ve nütrisyonu da içeren erken yaşam olaylarının hayatın ilerleyen dönemlerindeki meme kanseri riskini modifiye ettiğini gösteren çok çarpıcı kanıtlar mevcuttur [80]. Şu anda araştırmakta olduğumuz mekanizmalardan bazıları meme bezinin farklılaşmasını da içeren büyüme ve cinsel olgunlaşma, ksenobiyotik detoksifikasyonu ve oksidatif strestir.

Meme bezinin diğer organlara benzemeyen bir özelliği doğumdan puberteye kadar büyük oranda değişmeden kalmasıdır. Örneğin erken menarş gibi menstrüel siklusları-

nın sayısını ve hayat boyunca maruz kalınan östrojen miktarını artıran reprodüktif olaylar, meme kanseri riskini artıran faktörler olarak kabul edilmektedir [5]. Bu nedenle pubertenin zamanını etkileyen modifiye edilebilir nütrisyonel faktörler, meme dokusunun transformasyona karşı olan duyarlılığını değiştirerek, bu duyarlılığı hızlandırabilir, geriletebilir veya genişletebilir. Bizim elde ettiğimiz sonuçlar yüksek yağlı diyetlerin etkisi ile büyüme ve cinsel olgunlaşmanın hızlandığını göstermektedir. Bu etki yüksek tohum yağlı diyetlerde, yüksek NSZD diyetlere göre daha güçlüdür [39]. Bu bulgu DMBA ile indüklenen meme kanseri olan sıçanlarda klinik, morfolojik ve moleküler olarak gösterilmiştir. Klinikte cinsel olgunlaşmaya eşlik eden vajinal değişimleri tespit edip, evre 0 ile evre 3 arasında puanlar vererek skorladık. Puberte başlangıcının yüksek yağlı diyet grubunda (özellikle HCO diyet grubu) anlamlı oranda olarak erken gerçekleştiğini tespit ettik. Bu nedenle, örneğin yüksek tohum yağlı diyet ile beslenen sıçanların, tamamen olgun durumu gösteren 3. evreye kontrol grubundaki sıçanlardan anlamlı olarak daha erken ulaştığını tespit ettik. Ancak evreler arasındaki günler karşılaştırıldığında (1-2, 2-3 ve 1-3) gruplar arasında bir fark bulunmamıştır. Bu nedenle puberte başlangıç gününden bağımsız olarak, olgunlaşma prosesinin gelişimi diyet lipidleri ile değişmemiştir. Ayrıca sıçanlarda puberte başlangıcı ve birinci östroz arasında geçen zamanda ve sikluslarda diyete bağlı olarak bir değişiklik olmamıştır. Ek olarak belirli bir evrede bulunan sıçanlardaki vücut ağırlıkları grupla arasında farklılık göstermemiştir. Ancak yukarıda da bahsedildiği üzere, yüksek tohum yağlı diyet grubu spesifik bir evreye düşük yağ diyeti uygulanan gruptaki sıçanlardan daha erken ulaşmıştır. Diğer taraftan, yüksek tohum yağlı diyet grubunda belirli bir gün için tahmin edilen vücut ağırlıkları, düşük yağlı grupta tespit edilenden daha yüksek bulunmuştur. Her evreye ulaşılması sırasında vücut ağırlıklarında bir fark bulunamamış olması, cinsel olgunlaşmanın belirli bir vücut kütlesine ulaşmayı gerektirmesinden kaynaklanaktadır. Bu durum insanlar için de geçerlidir [81]. Puberte başlangıcının HCO diyetine bağlı olarak erken gerçekleşmesi morfolojik olarak konfirme edilmiştir. Post-pubertal dönemde (postnatal 51. gün) overlerin histolojik analizinde, yüksek tohum yağlı diyet grubundaki sıçanlarda kontrol grubuna göre daha fazla sayıda corpus luteuma rastlanmış olması (ovulasyon göstergesi) bu hayvanların daha yüksek fertilite düzeyine sahip olduğunu gösterir. Cinsel olgunluk üzerindeki etki, puberte kisspeptin-1 (KiSS1) markerinin hipotalamik ekspresyonunun analizi ile de moleküler düzeyde tanımlanmıştır [82]. Postnatal 36. gündeki KiSS1 düzeylerinin yüksek tohum yağlı diyet grubunda düşük yağlı diyet grubuna göre daha yüksek bulunmuş olması bu gruptaki erken puberte başlangıcı ile uyumludur. KiSS1 düzeyleri östral faza yüksek oranda bağımlı olduğu için diğer yaşlarda yapılan ölçümlerde bir fark bulunmamıştır.

Meme bezinin bir başka cinsel olgunluk göstergesi olması nedeniyle, gelişimin farklı günlerinde meme bezlerindeki normal epitelyal yapıları analiz ettik (terminal uç tomurcukları (TEB), terminal kanallar (TD), alveolar kanallar (AB); Tip1 lobüller (Lob1), Tip 2 lobüller (Lob2), Tip 3 lobüller (Lob 3)). Ancak yüksek yağlı diyetlerin etkisine bağlı çok az sayıda farklılık tespit edilebilmiştir. 51. günde Lob2'de daha yüksek sayıda farklılaşmış hücre mevcudiyeti gibi hafif postpubertal modifikasyonlar görülmüştür. Bu modifikasyonlar malign transformasyonun hedefi olan farklılaşmamış yapılarda bir azalma

olmaksızın gerçekleşmiştir (TEB ve TD) [39]. Meme bezlerinin morfolojisinde transformasyona en yüksek duyarlılığın olduğu dönemde gözlenen modifikasyonlar, diyet lipidlerinin meme kanseri riskini moleküler düzeyde farklı değişimlere yol açarak modifiye edebileceğini düşündürmektedir. Çalışmanın sonunda, en yüksek meme bezi dansitesi yüksek tohum yağlı diyet grubunda bulunurken, bu grubu düşük yağlı ve yüksek zeytin yağlı diyet grupları takip etmiştir. Ancak bulunan farklar anlamlı değildir [39].

Bu sonuçlar diyet lipidlerinin meme karsinogenezini başlangıç evresinde farklı düzeyde modüle etme mekanizmalarından birinin, reprodüktif durum üzerindeki etkileri olduğunu kesin olarak göstermektedir. Bir başka ilginç olasılık da, diyet lipidlerinin vücut yağ depolarının düzeylerini farklı düzeylerde etkileme ihtimalidir. Şimdi bu olasılığı araştırmaya başlamış bulunuyoruz. İlk olarak vücut ağırlığı gelişimini ve farklı vücut kütle indekslerini analiz etmeye başladık. Sonuçlarda çalışma boyunca yüksek tohum yağlı diyetle beslenen sıçanların vücut ağırlıklarının, kontrol diyetiyle beslenen sıçanlara göre daha fazla arttığı tespit edilmiştir. HCO diyetiyle benzer oranda yağ içeren NSZY diyeti uygulanan sıçanlardaki vücut ağırlığı ve kütlesi kontroller ile benzer bulunmuştur. Çalışmanın sonunda tohum yağlı diyet grubundaki vücut ağırlığı ve vücut kütle indekslerinin düşük yağlı diyet grubuna daha yüksek olduğu tespit edilmiştir [39]. Birçok farklı çalışmada yüksek n-6 PUFA diyetlerinin vücut ağırlığı üzerindeki etkileri bildirilmiştir. Ancak zeytin yağlı diyetlerle ilgili çok az miktarda deneysel veri mevcuttur. Bir çalışmada %30'luk NSZY diyetinin sıçanlardaki vücut ağırlığını %30'luk mısır yağı diyetine göre daha az artırdığı tespit edilmiştir [83]. Diğer yandan Akdeniz diyetinin obeziteye karşı koruyucu etkisi olabileceğini gösteren insan epidemiyoloji çalışmaları da mevcuttur [84–86]. n-6 PUFA ve NSZY diyetlerinin vücut enerji dengesini hangi mekanizma ile farklı düzeylerde değiştirerek cinsel olgunluğu ve meme kanseri riskini etkilediklerini hala laboratuarımızda araştırıyoruz. Sonuçlar bağımsız bir yayının parçası olarak yayınlanacaktır.

5 Sonuçlar

Akdeniz diyetinin majör yağ kaynağı olan zeytinyağının (özellikle NSZY'nin) meme kanseri ve diğer hastalıklarla ilgili yararlı etkilerini destekleyen epidemiyolojik ve deneysel kanıtlar giderek artmaktadır [87, 88]. NSZY'nin düzenli kullanımı MUFA oleik asit ve fenolik antioksidanlar gibi biyolojik olarak aktif bileşiklerin yüksek miktarda alınmasını sağlar. Zeytinyağının meme kanserine karşı koruyucu etkilerinden farklı spesifik mekanizmalarla etki gösteren bu iki komponent sınıfının sorumlu olduğu gözlenmiştir.

Deneysel bir meme kanseri modelinde, diyet lipidlerinin deneysel meme adenokarsinomlarının klinik davranış ve histopatolojik özelliklerini farklı düzeyde modüle ettikleri gösterilmiştir. n-6 poliansatüre yağ asitleri (PUFA) yönünden zengin diyetler meme kanseri gelişimini net bir şekilde stimüle eder ve tümör fenotipinin malignite derecesini artırırlar. NSZY yönünden zengin diyetler ise negatif ile zayıf pozitif arasında modüle

edici etki gösterirler ve her durumda daha düşük tümör malignitesine yol açarlar. Bu nedenle enerji içeriğinden bağımsız olarak, diyetle tüketilen lipidlerin türü meme kanserinin gelişimi ve progresyonu üzerindeki etkisini belirlediği için hayatidir. NSZY ve diğer diyet lipidlerinin etki gösterme mekanizmaları birbirinden farklı olup, hücre membran kompozisyonundaki değişimler, hücre proliferasyonunda ve farklılaşmasında rol oynayan hücre sinyal yolaklarının modülasyonu, hücre sağkalımı ve apoptoz ile büyüme ve cinsel olgunluk üzerindeki etkilerin farklı olmasına yol açar. Düşük zeytinyağı oranları ile yapılan deneysel çalışmaların sonuçlarına paralel olarak, bizim de araştırdığımız parametrelerden bazılarında NSZY'nin orta derecede tüketiminin meme kanseri riski üzerinde faydalı etkiye sahip olabileceği görülmektedir. NSZY'nin potansiyel kemopreventif etkisi, çocukluktan başlayıp hayat boyu süren sağlıklı ve dengeli bir seçim olan Akdeniz gıda paterni ve hayat tarzı ile birlikte değerlendirilmelidir.

Teşekkürler. Bu çalışmaya maddi katkıda bulunanlar: "Plan Nacional de I+D+I (AGL2006-0769 and AGL2011-24778)"; "Fundación Patrimonio Comunal Olivarero 2008-2012" (FPCO2008-165.396); "Agencia para el Aceite de Oliva del Ministerio de Medio Ambiente y de Medio Rural y Marino 2008-2012" (AAO2008-165.471); "Organización Interprofesional del Aceite de Oliva Español 2009-2013" (OIP2009-165.646); and the "Departaments d'Agricultura, Alimentació i Acció Rural, i de Salut de la Generalitat de Catalunya" (GC2010-165.000). Sponsorların çalışmanın dizaynı, veri toplanması ve analizi, sonuçların yorumlanması, makalenin hazırlanması, makalenin yayını için başvurulması ve makalenin yazılmasında herhangi bir rolü olmamıştır. Yazarlar Irmgard Costa, M. Carmen Ruiz de Villa Raquel Escrich'e bu çalışmalardaki işbirlikleri için teşekkürü borç bilirler.

Referanslar

1. Ferlay J, Shin HR, Bray F et al (2010) Estimates of worldwide burden of cancer in 2008: GLOBOCAN 2008. Int J Cancer 127:2893–2917
2. Kenemans P, Verstraeten RA, Verheijen RH (2004) Oncogenic pathways in hereditary and sporadic breast cancer. Maturitas 49:34–43
3. Musgrove EA, Sutherland RL (2009) Biological determinants of endocrine resistance in breast cancer. Nat Rev Cancer 9:631–643
4. Ferlay J, Shin HR, Bray F et al (2010). GLOBOCAN 2008 v1.2, Cancer Incidence and Mortality Worldwide: IARC CancerBase No. 10 [Internet]. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer; 2010. Available from: http://globocan.iarc.fr, accessed on day/month/year
5. World Cancer Research Fund/American Institute for Cancer Research (2007) Food, nutrition, physical activity, and the prevention of cancer: a global perspective. American Institute for Cancer Research, Washington, DC
6. Escrich E, Ramírez-Tortosa MC, Sanchez-Rovira P et al (2006) Olive oil in the prevention and the progression of cancer. Nutr Rev 64:40–52
7. Escrich E, Solanas M, Moral R (2006) Olive oil, and other dietary lipids, in cancer: experimental approaches. In: Quiles JL, Ramírez-Tortosa MC, Yaqoob P (eds) Olive oil and health. CABI Publishing, Oxford
8. Escrich E, Solanas M, Moral R et al (2006) Are the olive oil and other dietary lipids related to cancer? Experimental evidence. Clin Transl Oncol 8:868–883
9. Gonzalez CA, Riboli E (2010) Diet and cancer prevention: contributions from the european prospective investigation into cancer and nutrition (EPIC) study. Eur J Cancer 46:2555–2562

10. Howe GR, Hirohata T, Hislop TG et al (1990) Dietary factors and risk of breast cancer: combined analysis of 12 case-control studies. J Natl Cancer Inst 82:561–569
11. Schulz M, Hoffmann K, Weikert C et al (2008) Identification of a dietary pattern characterized by high-fat food choices associated with increased risk of breast cancer: the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC)-Potsdam Study. Br J Nutr 100:942–946
12. Smith-Warner SA, Spiegelman D, Adami HO et al (2001) Types of dietary fat and breast cancer: a pooled analysis of cohort studies. Int J Cancer 92:767–774
13. Willett WC (1998) Dietary fat intake and cancer risk: a controversial and instructive story. Semin Cancer Biol 8:245–253
14. Bartsch H, Nair J, Owen RW (1999) Dietary polyunsaturated fatty acids and cancers of the breast and colorectum: emerging evidence for their role as risk modifiers. Carcinogenesis 20:2209–2218
15. Fay MP, Freedman LS, Clifford CK et al (1997) Effect of different types and amounts of fat on the development of mammary tumors in rodents: a review. Cancer Res 57:3979–3988
16. Ip C (1997) Review of the effects of trans fatty acids, oleic acid, n-3 polyunsaturated fatty acid, and conjugated linoleic acid on mammary carcinogenesis in animals. Am J Clin Nutr 66:1523S–1529S
17. Lee MM, Lin SS (2000) Dietary fat and breast cancer. Annu Rev Nutr 20:221–248
18. Willett WC, Sacks F, Trichopoulou A et al (1995) Mediterranean diet pyramid: a cultural model for healthy eating. Am J Clin Nutr 61(6 Suppl):1402S–1406S
19. Hashim YZ, Eng M, Gill CI et al (2005) Components of olive oil and chemoprevention of colorectal cancer. Nutr Rev 63:374–386
20. Manna C et al (2009) Olive oil phenolic compounds inhibit homocysteine-induced endothelial cell adhesion regardless of their different antioxidant activity. J Agric Food Chem 57:3478–3482
21. Owen RW, Giacosa A, Hull WE et al (2000) Olive-oil consumption and health: the possible role of antioxidants. Lancet Oncol 1:107–112
22. Bougnoux P, Giraudeau B, Couet C (2006) Diet, cancer, and the lipidome. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 15:416–421
23. Owen RW, Haubner R, Wurtele G et al (2004) Olives and olive oil in cancer prevention. Eur J Cancer Prev 13:319–326
24. Pérez-Jiménez F, Ruano J, Perez-Martinez P et al (2007) The influence of olive oil on human health: not a question of fat alone. Mol Nutr Food Res 51:1199–1208
25. Visioli F, Galli C (2002) Biological properties of olive oil phytochemicals. Crit Rev Food Sci Nutr 42:209–221
26. Escrich E (1987) Mammary cancer model induced by dimethylbenz(a)anthracene: a good experimental tool for the study of tumour markers. Int J Biol Markers 2:109–119
27. Escrich E (1987) Validity of the DMBA-induced mammary cancer model for the study of human breast cancer. Int J Biol Markers 2:197–206
28. Russo J, Gusterson BA, Rogers AE et al (1990) Comparative study of human and rat mammary tumourigenesis. Lab Invest 62:244–278
29. Escrich E, Solanas M, Segura R (1994) Experimental diets for the study of lipid influence on induced mammary carcinoma in rats: I—diet definition. In Vivo 8:1099–1106
30. Escrich E, Solanas M, Ruiz de Villa MC et al (1994) Experimental diets for the study of lipid influence on induced mammary carcinoma in rats: II—suitability of the diets. In Vivo 8:1107–1112
31. Solanas M, Hurtado A, Costa I et al (2002) Effects of a high olive oil diet on the clinical behavior and histopathological features of rat DMBA-induced mammary tumors compared with a high corn oil diet. Int J Oncol 21:745–753
32. El Halimi R, Ocaña J, Ruiz de Villa MC et al (2003) Modelling experimental mammary adenocarcinoma growth, using nonlinear mixed-effects models and S-Plus. InterStat. http://jscs.stat.vt.edu/interstat/articles/2003/abstracts/0309002.html-ssi

33. Escrich E, Ribalta T, Muntané J et al (1991) Effects of an androgenic derivative on pre-established mammary tumours chemically induced in the rat. J Cancer Res Clin Oncol 117:575–582
34. Gonçalves MH, Cabral MS, Ruiz de Villa MC et al (2007) Likelihood approach for count data in longitudinal experiments. Comput Stat Data Anal 51:6511–6520
35. Ruiz de Villa MC, Cabral MSE, Escrich E et al (1999) A non parametric regression approach to repeated measures analysis in cancer experimental. J Appl Stat 26:601–611
36. Escrich E, Solanas M, Soler M et al (2001) Dietary polyunsaturated n-6 lipids effects on the growth and fatty acid composition of rat mammary tumors. J Nutr Biochem 12:536–549
37. Moral R, Solanas M, García G et al (2003) Modulation of EGFR and neu expression by n-6 and n-9 high-fat diets in experimental mammary adenocarcinomas. Oncol Rep 10:1417–1424
38. Solanas M, Moral R, Escrich E (2000) Effects of dietary (n-6) polyunsaturated lipids on experimental mammary carcinogenesis. J Women's Cancer 2:67–72
39. Moral R, Escrich R, Solanas M et al (2011) Diets high in corn oil or extra-virgin olive oil provided from weaning advance sexual maturation and differentially modify susceptibility to mammary carcinogenesis in female rats. Nutr Cancer 63:410–420
40. Cohen LA, Epstein M, Pittman B et al (2000) The influence of different varieties of olive oil on N-methylnitrosourea (NMU)-induced mammary tumorigenesis. Anticancer Res 20:2307–2312
41. Guthrie N, Carroll KK (1999) Specific versus non-specific effects of dietary fat on carcinogenesis. Prog Lipid Res 38:261–271
42. Kritchevsky D (1999) Caloric restriction and experimental carcinogenesis. Toxicol Sci 52:13–16
43. Costa I, Esquius J, Solanas M et al (2001) Histopathologic characteristics of chemically induced mammary adenocarcinomas in rats fed diets high in (n-6) polyunsaturated lipids. Virchows Arch 439:310–311
44. Costa I, Solanas M, Escrich E (2002) Histopathologic characterization of mammary neoplastic lesions induced with 7,12 dimethylbenz(alpha)anthracene in the rat: a comparative analysis with human breast tumors. Arch Pathol Lab Med 126:915–927
45. Costa I, Moral R, Solanas M et al (2004) High-fat corn oil diet promotes the development of high histologic grade rat DMBA-induced mammary adenocarcinomas, while high olive oil diet does not. Breast Cancer Res Treat 86:225–235
46. Escrich E, Moral R, Grau L et al (2007) Molecular Mechanisms of the Effects of Olive Oil and Other Dietary Lipids on Cancer. Mol Nutr Food Res 51:1279–1292
47. Escrich E, Moral R, Solanas M (2011) Olive Oil, an Essential Component of the Mediterranean Diet, and Breast Cancer. Public Health Nutr 14(1A):2323–2332
48. Escrich E, Solanas M, Moral R et al (2011) Modulatory Effects and Molecular Mechanisms of Olive Oil and Other Dietary Lipids in Breast Cancer. Curr Pharm Des 17:813–830
49. Escrich E (1998) Endocrine aspects of breast cancer. In: Cardoso J (ed) Senology. Monduzzi Editore, Bologna
50. Wynder EL, Cohen LA, Muscat JE et al (1997) Breast cancer: weighing the evidence for a promoting role of dietary fat. J Natl Cancer Inst 89:766–775
51. Hilakivi-Clarke L, Clarke R, Onojafe I et al (1997) A maternal diet high in n-6 polyunsaturated fats alters mammary gland development, puberty onset, and breast cancer risk among female rat offspring. Proc Natl Acad Sci USA 94:9372–9377
52. de Assis S, Khan G, Hilakivi-Clarke L (2006) High birth weight increases mammary tumorigenesis in rats. Int J Cancer 119:1537–1546
53. Stark AH, Kossoy G, Zusman I et al (2003) Olive oil consumption during pregnancy and lactation in rats influences mammary cancer development in female offspring. Nutr Cancer 46:59–65
54. Sylvester PW, Russell M, Ip MM et al (1986) Comparative effects of different animal and vegetable fats fed before and during carcinogen administration on mammary tumorigenesis, sexual maturation, and endocrine function in rats. Cancer Res 46:757–762

55. Hulbert AJ, Turner N, Storlien LH et al (2005) Dietary fats and membrane function: implications for metabolism and disease. Biol Rev Camb Philos Soc 80:155–169
56. Barceló F, Perona JS, Prades J et al (2009) Mediterranean style diet effect on the structural properties of the erythrocyte cell membrane of hypertensive patients: the Prevencion con Dieta Mediterranea Study. Hypertension 54:1143–1150
57. Malaney S, Daly RJ (2001) The ras signaling pathway in mammary tumorigenesis and metastasis. J Mammary Gland Biol Neoplasia 6:101–113
58. Solanas M, Grau L, Moral R et al (2010) Dietary olive oil and corn oil differentially affect experimental breast cancer through distinct modulation of the p21ras signaling and the proliferation-apoptosis balance. Carcinogenesis 31:871–879
59. Rao CV, Newmark HL, Reddy BS (1998) Chemopreventive effect of squalene on colon cancer. Carcinogenesis 19:287–290
60. Hynes NE, MacDonald G (2009) ErbB receptors and signaling pathways in cancer. Curr Opin Cell Biol 21:177–184
61. Muraoka-Cook RS, Feng SM, Strunk KE et al (2008) ErbB4/HER4: role in mammary gland development, differentiation and growth inhibition. J Mammary Gland Biol Neoplasia 13:235–246
62. Jin Z, El-Deiry WS (2005) Overview of cell death signaling pathways. Cancer Biol Ther 4:139–163
63. Han J, Talorete TP, Yamada P et al (2009) Anti-proliferative and apoptotic effects of oleuropein and hydroxytyrosol on human breast cancer MCF-7 cells. Cytotechnology 59:45–53
64. Hardy S, Langelier Y, Prentki M (2000) Oleate activates phosphatidylinositol 3-kinase and promotes proliferation and reduces apoptosis of MDA-MB-231 breast cancer cells, whereas palmitate has opposite effects. Cancer Res 60:6353–6358
65. Llor X, Pons E, Roca A et al (2003) The effects of fish oil, olive oil, oleic acid and linoleic acid on colorectal neoplastic processes. Clin Nutr 22:71–79
66. Larsson S, Kumlin M, Ingelman-Sundberg M et al (2004) Dietary long-chain n-3 fatty acids for the prevention of cancer: a review of potential mechanisms. Am J Clin Nutr 79:935–945
67. Rose DP (1997) Effects of dietary fatty acids on breast and prostate cancers: evidence from in vitro experiments and animal studies. Am J Clin Nutr 66:1513S–1522S
68. Stoll BA (2002) N-3 fatty acids and lipid peroxidation in breast cancer inhibition. Br J Nutr 87:193–198
69. Della Ragione F, Cucciolla V, Borriello A et al (2000) Pyrrolidine dithiocarbamate induces apoptosis by a cytochrome c-dependent mechanism. Biochem Biophys Res Commun 268:942–946
70. Sun SY, Hail N Jr, Lotan R (2004) Apoptosis as a novel target for cancer chemoprevention. J Natl Cancer Inst 96:662–672
71. Jump DB (2004) Fatty acid regulation of gene transcription. Crit Rev Clin Lab Sci 41:41–78
72. Moral R, Solanas M, Manzanares EM et al (2004) Influence of DMBA-induced mammary cancer on the liver CPT I, mit HMG-CoA synthase and PPARa mRNA expression in rats fed low or high corn oil diet. Int J Mol Med 14:283–287
73. Costa I, Moral R, Solanas M et al (2011) High corn oil and extra virgin olive oil diets and experimental mammary carcinogenesis: clinicopathological and immunohistochemical p21Ha-Ras expression study. Virchows Arch 458:141–151
74. Solanas M, Moral R, Escrich E (2001) The stimulating effect of a high-fat n-6polyunsaturated diet on rat DMBA-induced mammary tumors is not related to changes in c-Ha-ras1 mRNA tumor expression. Nutr Res 21:1261–1273
75. Singh RP, Kumar R, Kapur N (2003) Molecular regulation of cholesterol biosynthesis: implications in carcinogenesis. J Environ Pathol Toxicol Oncol 22:75–92
76. Moral R, Solanas M, Garcia G et al (2008) High corn oil and high extra virgin olive oil diets have different effects on the expression of differentiation-related genes in experimental mammary tumors. Oncol Rep 20:429–435

77. Solanas M, Escrich E, Rouzaut A et al (2002) Deregulated expression of the PCPH proto-oncogene in rat mammary tumors induced with 7,12-dimethylbenz[a]anthracene. Mol Carcinog 33:219–227
78. Escrich E, Moral R, García G et al (2004) Identification of novel differentially expressed genes by the effect of a high fat n-6 diet in experimental breast cancer. Mol Carcinog 40:73–78
79. Solanas M, Moral R, Garcia G et al (2009) Differential expression of H19 and vitamin D3 upregulated protein 1 as a mechanism of the modulatory effects of high virgin olive oil and high corn oil diets on experimental mammary tumours. Eur J Cancer Prev 18:153–161
80. Russo IH, Russo J (1996) Mammary gland neoplasia in long-term rodent studies. Environ Health Perspect 104:938–967
81. Vizmanos B, Martí-Henneberg C (2000) Puberty begins with a characteristic subcutaneous body fat mass in each sex. Eur J Clin Nutr 54:203–208
82. Castellano JM, Roa J, Luque RM et al (2009) KiSS-1/kisspeptins and the metabolic control of reproduction: physiologic roles and putative physiopathological implications. Peptides 30:139–145
83. Oi-Kano Y, Kawada T, Watanabe T et al (2007) Extra virgin olive oil increases uncoupling protein 1 content in brown adipose tissue and enhances noradrenaline and adrenaline secretions in rats. J Nutr Biochem 18:685–692
84. Buckland G, Bach A, Serra-Majem L (2008) Obesity and the Mediterranean diet: a systematic review of observational and intervention studies. Obes Rev 9:582–593
85. Romaguera D, Norat T, Vergnaud AC et al (2010) Mediterranean dietary patterns and prospective weight change in participants of the EPIC-PANACEA project. Am J Clin Nutr 92:912–921
86. Soriguer F, Almaraz MC, Ruiz-de-Adana MS et al (2009) Incidence of obesity is lower in persons who consume olive oil. Eur J Clin Nutr 63:1371–1374
87. López-Miranda J, Pérez-Jiménez F, Ros E et al (2010) Olive oil and health: summary of the II international conference on olive oil and health consensus report, Jaén and Córdoba (Spain) 2008. Nutr Metab Cardiovasc Dis 20:284–294
88. Perez-Jimenez F, Alvarez de Cienfuegos G, Badimon L et al (2005) International conference on the healthy effect of virgin olive oil. Eur J Clin Invest 35:421–424
89. Bach-Faig A et al (2011) Mediterranean diet pyramid today. Science and cultural updates. Public Health Nutr 14(12A):2274–2284

Doğal Antioksidanların Enflamasyon ve Karaciğer Kanseri Üzerindeki Etkilerinin Araştırılmasına Holistik Bir Yaklaşım

Susan Costantini, Giovanni Colonna ve Giuseppe Castello

Özet

Kemoterapinin kısıtlı etkinliği ve kanserlerin yüksek rekürans oranları acil olarak yeni moleküler hedeflerin belirlenmesi ve yeni tedavilerin geliştirilmesi ihtiyacını ortaya koymaktadır. Çok sayıda güncel epidemiyolojik çalışmada meyve ve sebze tüketimi, doğal antioksidanlar ile kanser arasında ters orantılı bir ilişkinin varlığı vurgulanmaktadır. Kanserin önlenmesi ve tedavisinde diyet veya bitkisel kaynaklı takviyeler yoluyla alınan antioksidanların kullanımı kuvvetle önerilmektedir. Sebze, mineral veya hayvansal kaynaklı maddeler olan antioksidanlar serbest radikalleri nötralize ederek, plazma membranı, proteinler ve DNA üzerindeki olumsuz etkilerinden vücudu korumaktadır. Bu nedenle immun sistemin stimülasyonu ile kanser hücrelerinin yok edilmesi veya proliferasyonlarının bloke edilmesi ile kanserin önlenebilmesi mümkündür. Yaşayan organizmaların bütün ve kompleks bir sistem olarak "omik bilimleri" tarafından incelenebiliyor olması, genler, mRNA, proteinler ve metabolitler ile ilgili anlayışın gelişmesine ve global mekanizmalarının anlaşılabilmesine yol açmıştır. Bizim amacımız biyoinformatik ve sistemler biyolojisini kullanarak enflamatuar proseslerin gelişiminde önemli rol oynayan ve kanserde de önemli bir komponent olan sitokinomu incelemektir. Kanser kronik enflamasyondan kaynaklanabilen, tip 2 diyabet ve obezite ile de eş zamanlı görülebildiği kabul edilen bir hastalıktır. Bu bölümde sitokinomları oluşturan proteinlerin tamamını ve biyolojik hücrelerin içindeki ve çevrelerindeki etkileşimlerini tanımlayacağız.

S.Costantini (✉) · G. Castello
Istituto Nazionale per lo Studio e la Cura dei Tumori, Fondazione Giovanni Pascale–IRCCS-Italia, Via Ammiraglio Bianco, 83013, Mercogliano, AV, Italy
e-mail: susan.costantini@unina2.it

G. Colonna (✉)
Department of Biochemistry, Biophysics and General Pathology (Second University of Naples), via Costantinopoli 16, 80138, Naples, Italy
e-mail: giovanni.colonna@unina2.it

V. Zappia et al. (eds.), *Advances in Nutrition and Cancer,*
Cancer Treatment and Research 159, DOI: 10.1007/978-3-642-38007-5_18,
© Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2014

Kanserden etkilenen hastalardaki kompleks sitokinom ağının anlaşılması hem kanserin gelişiminin ilk evrelerinden itibaren takip edilmesi, hem de biyolojik sistem yaklaşımları kullanarak yenilikçi terapötik stratejilerin tanımlanmasında çok faydalı olacaktır. Bu bölümde grubumuzun "omik" mantığını kullanarak yaptığı çalışmalardan elde edilen bazı sonuçları gözden geçireceğiz ve (1) Özellikle hepatoselüler karsinomu da içeren multifaktöryel kanser gibi kompleks sistemlere global yaklaşım gereksinimini, (2) Doğal antioksidanlar, enflamasyon ve karaciğer kanseri arasındaki korelasyonu, (3) Sitokinom profilinin zorluklarını ve önemini, (4) Tip 2 diyabet ve/veya kronik hepatit C enfeksiyonu olan hastalardaki sitokinom profilinin değerlendirmesini, (5) Adipokin interaktomunu inceleyeceğiz.

Anahtar Kelimeler

Sistemler biyolojisi • Kompleks sistemler • Sitokinom • Enflamasyon

Kısaltmalar

ACE	Anjiotensin dönüştürücü enzim
ADIPOQ	Adiponektin
AGT	Anjiotensin II
KHC	Kronik hepatit C
KKH	KHC ve tip 2 diyabet
CXCL1	Kemokin (CXC motif) ligand 1
CXCL9	Kemokin (CXC motif) ligand 9
GIP	Glukoza bağımlı insülinotropik peptid
HCC	Hepatoselüler karsinom
HGF	Hepatosit büyüme faktörü
IL-1	İnterlökin-1
JAK	Janus kinaz
LC	KKH- ile ilişkili siroz
LCD	KHC- ile ilişkili siroz ve tip 2 diyabet
MIF	Makrofaj migrasyon inhibitör faktörü
NF-κB	Aktive B hücrelerinde nükleer faktör kappa hafif zincir güçlendirici
NGF	Sinir büyüme faktörü
NR3C1	Nükleer reseptör alt ailesi 3 grup C, üye 1
PAI-1	Plazminojen aktivatör inhibitörü-1
D (POLR2D)	Polimeraz (RNA) II (DNA tarafından yönetilen) polipeptid
RBP4	Retinol bağlayıcı protein 4
RELA	V-rel retiküloendotelioz viral onkogen homoloğu A
ROS	Reaktif oksijen türleri
SFR5	Salgılanan kıvrımla ilişkili protein 5
STAT3	Sinyal dönüştürücü ve transkripsiyon aktivatörü

T2D	Tip 2 diyabet
TNT	Tümör nekroz faktörü
USF1	Yukarı yönlü stimulatör faktör 1

İçindekiler

1 "Omik" Çağında Biyolojinin Yeni Mantığı 313
2 Doğal Antioksidanların Enflamasyon ve Karaciğer Kanseri Üzerindeki Etkilerinin Araştırılmasına Holistik Bir Yaklaşım 314
3. Tip 2 Diyabet ve/veya Kronik Hepatit C Enfeksiyonu Olan Hastalardaki Sitokinom Profili 317
4 Adipokin İnteraktomu 320
5 Sonuçlar 321
Referanslar 322

1 "Omik" Çağında Biyolojinin Yeni Mantığı

Biyolojik bilimler geçtiğimiz yüzyılın sonuna kadar, biyolojik objenin parçalarının analiz edilerek yaşam süreçlerinin açıklanmasına dayanıyordu. Tipik olarak analitik ve indirgeyici olan bu yaklaşım, yaşayan organizmaların genler, proteinler ve metabolitler gibi hemen tüm moleküler özelliklerinin anlaşılmasına yardım etmişti. Sistemin tek tek tüm komponentlerinin incelenmesine odaklanmıştı. Ancak sistemin bir bütün olarak nasıl davranacağını öngöremiyordu. Sistem aynı ortamda bulunarak birbirleri ile etkileşime giren çok sayıda yapıtaşının oluşturduğu bütün olarak tanımlanabilir. Özellikleri komponentlerini oluşturan elemanların yapısına bağlıdır. Sistem ayrıca dışarıdan gelen uyarılar ile etkileşime girebilir ve cevap verebilir. Birbiriyle etkileşime giren komponentlerin sayısı çok fazla ise kompleks bir sistemden bahsedilir. Kompleks sistemlerin çarpıcı bir özelliği, komponentleri arasındaki etkileşimler ile ortaya tahmini güç olan özelliklerinin (gelişen özellikler) çıkmasıdır. Sistemlerin içinde dinamik olarak rol oynayan unsurların indüklediği adaptasyon, kendini organize etme ve problemlere cevap verebilme gibi özelliklerin etkisi ile kompleks bir davranışa sahip olduklarını söyleyebiliriz. Bu nonlineer etkileşimler, tekil komponentlerin işlevlerine bakarak tahmin edilemeyen farklı durumların ve devamında da davranışların ortaya çıkmasına neden olur. Borsa, ekosistemler ve kuş sürülerinin özelliklerini tahmin etmekte kullanılan bu prensiplerin biyolojiye uygulanması ise yakın zamanda gerçekleşmiştir.

Biyolojide yaşayan canlıları bir bütün olarak değerlendirilmesi ile ilgili bilgilerimiz sınırlı düzeydedir. Ancak biyolojik sistemleri yöneten organizasyonal güçlerle ilgili

kanunlar kollektif fenomenin ve sistemlerin fonksiyonları için gereken yapının anlaşılmasında hayati rol oynamaktadır. "Omik bilimleri" bir çevredeki "biyolojik aktörlerin" bütün olarak anlaşılmasındaki ilk basamak olup, genler (genomik), mRNA (transkriptomik), proteinler (proteomik) ve metabolitler (metabolomik ile) ile ilgili verilerin bütün olarak anlaşılmasını ve tanımlanmasını amaçlar. Ancak farklı "omik" düzeyleri arasındaki ilişkileri tanımlayacak bir yöntem henüz geliştirilememiştir. Biyolojik bilimler giderek daha fazla veri üretmektedir. Yeni hücresel teknikler ve moleküler analizler ile yorumlanan bu bilgilerin yorumlanmasında, sadece tekil komponentlerin değil, bu komponentlerin aralarındaki ilişkilerin de analiz edilmesi gerekir. Sadece bu şekilde protein katlanması veya bazı majör hastalıkları açıklamakta yetersiz olduğu bilinen tipik, analitik ve indirgemeci prosedürlerden kaçınılabilir.

Kompleks sistemlerin küçük komponentlere ve basit birimlere ayrılmasının organizasyonu ve yeni bir özelliği anlamakta yetersiz olduğu günümüzde yaygın olarak kabul edilmektedir. Komponentlerin aralarındaki etkileşimlere ve ağlara odaklanmak kompleks karakteristiklerini çözümleyebilmek adına çok önemlidir.

Bu bağlamda, sistemlerin tüm olası durumlarını içeren birimler arasında bulunan çok yüksek sayıdaki bağlantılar göz önüne alınmalıdır. Grafikler ve nöral düğümler gibi matematiksel araçlar fonksiyonel ağların anlaşılabilmesi amacıyla sıklıkla kullanılmaktadır. Çünkü sadece bu yolla kanser gibi patolojik proseslerden etkilenen metabolik davranışın kapsamlı bir bakış açısıyla anlaşılması sağlanabilir. Dikkate alınması gereken bir başka konu da çevreden kaynaklanan anormalliklerin tüm sistemi ilgilendiren değişimleri indükleyebilme ihtimalidir.

2 Doğal Antioksidanların Enflamasyon ve Karaciğer Kanseri Üzerindeki Etkilerinin Araştırılmasına Holistik Bir Yaklaşım

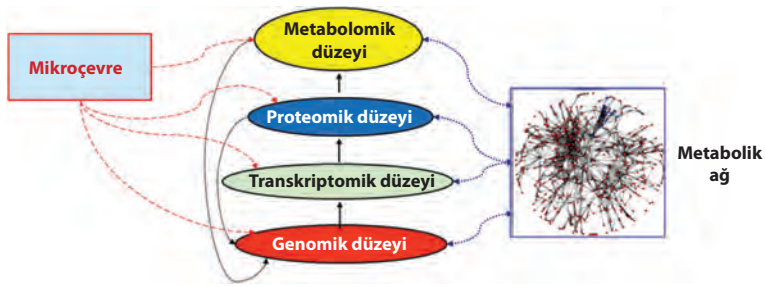
İnsan diyetindeki antioksidan bileşiklerin, oksidatif metabolizma ile oluşan reaktif oksijen türleriyle (ROS) etkileşimi hakkında bir çok yayın mevcuttur [1]. Bir antioksidanın etkisini gösterebilmesi, metabolize ve elimine olabilmesi için hücresel metabolik proseslerle etkileşime girmesi gerekir [2]. Antioksidanların spesifik moleküler özellikleri hakkında yeterli veri olmasına rağmen, gerçek fizyolojik faydaları ve metabolik aktiviteleri hakkındaki bilgiler yetersizdir [2]. Antioksidanların özellikle spesifik hücresel bölgelerdeki etkileri ile ilgili, sıklıkla çelişkili sonuçlar içeren birçok çalışma vardır. Ancak daha geniş metabolik ağdaki aktiviteleri ve global etkileri ile ilgili olarak az miktarda veri mevcuttur. Genel olarak, antioksidanların etkilerini popülasyonlardaki bireylerde kısıtlı zaman periyodlarında yapılan ve makroskopik etkilerini açıklayan epidemiyolojik çalışmalar ile anlamaya çalışıyoruz. Bu etkiler sıklıkla U şekilli eğriler ile karakterize olmaktadır. Eğrideki geniş minimum değer fizyolojik olarak aktif olması gereken konsantrasyonu gösterir. Eğrinin yükselen kolları ise fizyolojik ve hatta

toksik etkiler ile ilişkili değildir [3, 4]. Bu antioksidanları içeren diyetlerin, kanser hastalarındaki progresyonun sınırlanması amacıyla kombine edilmesi konuyu daha da karışık hale getirmektedir. Biyolojik olarak multi-etyolojik bir hastalık olan kanserin farklı hücresel ve metabolik özellikleri farklı bir hastalık olduğunu ortaya koymaktadır [5]. Bu durum antioksidan bileşiklerin kanserli hastalardaki genel etkilerini anlamamızı zorlaştırmaktadır.

Milenyumun ilk yıllarına kadar yapılan çalışmaların çoğunda kullanılan bilimsel rasyonel hala indirgemeci mantığı yansıtmaktaydı. Bu çalışmalar tekil biyolojik moleküllerin ve/veya spesifik bir hücre bölgesinin özellikleri hakkında önemli bilgiler sağlamıştır. Ancak entegrasyonları ve genel bakış açıları yetersizdir. Bu milenyumun ilk yıllarında geliştirilen İnsan Genom Projesi kapsamında biyologlar tarafından geliştirilen holistik bakış açısı, "omik" teknolojileri tarafından yeterince desteklenmiş ve sistemler biyolojisi adı altında çok büyük miktarda verinin kompleks istatistiksel analizinin yapılmasını sağlamıştır [7]. Çalışma grubumuz düşük sağkalım şansı olan letal bir kanser türü olan hepatoselüler karsinom ile ilgili son yıllardaki çalışmalarında bu kapsamlı yaklaşımı kullanmaktadır [8]. Bu hastalık dünya çapında olduğu gibi güney İtalya'nın Campania bölgesinde de yaygın olup en tehlikeli kanser türlerinden bir tanesidir.

Ana objektifimiz deneysel ve sayısal veriler yardımıyla, tip 2 diyabet ve obezite varlığında (ya da yokluğunda) karaciğer kanserine yol açan kronik enflamatuar prosesleri araştırmaktı [9]. Kapsamlı bir yaklaşımla yapılan bu çalışmalar sadece "omik" bilimlerinden (genomik, transkriptomik, proteomik ve metabolomik) elde edilen verileri değil, aynı zamanda aralarındaki olası ilişkilerin karaciğer kanserinin gelişimini ve progresyonunu regüle eden metabolik ağın tamamının tanımlanmasını da göz önüne almaktadır [7]. Bu şekilde indirgeyici bir yaklaşım yerinde geniş kapsamlı global bir bakış açısına ulaşmak mümkün olacaktır. Farklı "omik" düzeylerinin fizyolojik ve/veya kanser şartlarındaki hepatositlere entegre edilmesi ile metabolik ağlar hakkında elde edilecek farklı bakış açısı, evrelerin ve hastalığın progresyonuna bağlı olarak oluşan değişimlerin ve önemli fizyolojik fonksiyonları kontrol eden temel öneme sahip metabolik nodların tanımlanmasına yardımcı olacaktır. Bu bilgileri, sadece bu şartlar altında hastalığın erken evrelerindeki patolojik değişimleri tanımlayarak hedefli metabolik veya farmakolojik yaklaşımlara yönelik olarak kullanabiliriz. Bu sonuca ulaşabilmek için farklı düzeylere özgü verileri kullanmamız gerekmektedir. Şekil 1'de çok daha basit bir biyolojik modele uyguladığımız mantıksal yaklaşımın şeması görülmektedir. Farklı düzeylerle ilgili verilerin çözülmesi gereken problemle ilgili bir şekilde entegre edilmesi gerekmektedir. Çevrenin (çoğunlukla diyette bulunan besin öğelerinden kaynaklanan) hücresel sistemler üzerinde farklı düzeylerde anormalliklere yol açtığı görülmektedir. Metabolik ağın sinyal sisteminin net olarak tanımlanması önemlidir. Bir hastalığın progresyonunu ve oksidatif strese karşı kullanılan gıda takviyelerinin başarılı olup olmadıklarını anlayabilmek için normal ve patolojik hücrelerdeki farklı düzeylerdeki bilgi alışverişlerinin anlaşılması önemlidir. Bu nedenle yaklaşık 50 farklı sitokin, kemokin ve büyüme faktörü ile hastalardaki sitokinom sinyallerini değerlendiren multipleks

immunoassay adı verilen modern bir teknik kullanıyoruz. Bu yaklaşım "omik" mantığı ile ilişkilendirildiğinde önemlidir. Hücreler sitokin sinyallerini membranlarında bulunan uygun reseptörler ile algılarlar. Ancak bu reseptörler ile çalışma yapmanın bazı kısıtlamaları vardır: (1) Çok duyarlı antikorlar ile yapılan testler ve floresan (ELİZA) kullanıldığında bile sadece daha fazla sayıda olan reseptörler araştırılabilmiştir; (2) Reseptörlerin pleiotropik özelliklere sahip olmaları nedeniyle farklı sitokinlere karşı afinitelerinin olması, benzer mesajların farklı reseptörler tarafından üretilmesine yol açmaktadır; (3) Biyolojik mesaj tanımı sadece bazı reseptörler için bilinmektedir. Yetersiz derecede temsil edilen (plazmada daha düşük konsantrasyonlara sahip olan) sitokinler tarafından taşınan tüm bu mesajların anlamını bilmiyoruz Ayrıca bu mesajların reseptörler tarafından gereksiz bilgi olarak mı yoksa farklı bilgi içeren mesajlar olarak mı algılandığını bilmiyoruz [10, 11]. Ciddi ve geliştirilmiş sensitiviteye sahip protein çipleri günümüzde mevcuttur. Farklı sitokinlerin eş zamanlı tespitine floresan/lazer/antikor bazlı yeni bir test teknolojisi ile olanak tanırlar (multipleks teknolojisi). En doğru, sensitif ve tekrar edilebilir sonuçları verebilen bu test çok küçük serum, plazma veya hücresel süpernatan örnekleri değerlendirebilmektedir. Bu teknolojinin çok ilginç başka bir yönü de, yetersiz temsil edilen sitokinleri sayısal olarak gösterebilmesidir [12, 13]. Bu yeni holistik paternin parçası olan sitokin paternlerine "sitokinom" adı verilir [14]. Sitokinler bir bilgi ağı oluşturan hücre sinyallerinde internete benzer mantıkla, kapilerlerin bir organizmanın tüm hücresel sistemlerine bağlanan bölümlerinde etki gösterirler. Bu ağın kapsamlı bir tanımının yapılması birçok kronik enflamatuar hastalığın patojenik evrimlerinin anlaşılabilmesinde önemlidir. Ancak hala cevaplanmamış birçok soru mevcuttur. Örneğin kronik enflamatuar hastalıklarda tüm sitokin paterni içinden hangilerinin rol oynadığı bilinmemektedir. Tüm sitokinlerin tüm hastalıklarda aynı yolla ve genel olarak rol oynayıp oynamadıkları veya belirli bir patolojinin farklı sitokin tip ve sınıfları ile ilişkili olup olmadıkları bilinmemektedir. Belirli hastalıkta hangi sitokinlerin geliştiği de henüz aydınlatılmamıştır. Bu cevapların bilinmesi kronik enflamatuar hastalıkların progresyonunda rol oynayan sitokinomların dinamiklerinin değerlendirilmesine yardımcı olacaktır. Ancak en önemlisi prognozun önceden tahmin edilmesini de sağlayabileceklerdir. Sitokin ağının bir başka karmaşık yönü de sitokin kodlayan bazı genlerin alternatif birleşme yoluyla sitokin varyantlarının (izoformlar) oluşumuna yardımcı olmasıdır. Bu durum yapısal olarak hafifçe farklı olsalar da biyolojik aktiviteleri anlamlı olarak farklı moleküllerin ortaya çıkmasına neden olur. Bu bulgu sitokinlerle korelasyon gösteren gen ekspresyonlarının incelenmesinin niçin her durumda faydalı olacağını açıklamaktadır. Daha önce yapılan çalışmalarda bazı kanser türlerinde önemli mutasyonlar tanımlanmıştır. Ancak bu çalışmaların kısıtlı bir gen setine odaklanmış olmaları mutasyonal spektrumun sınırlı bir görüntüsünü sunabilmelerini sağlamıştır. Sitokinin fonksiyonlarının doğru ve kapsamlı olarak anlaşılabilmesi serum konsantrasyonlarının eş zamanlı ve uyumlu ölçümlerinin yapılması ile mümkün olsa da, sitokinom yaklaşımının kullanılmasının bir diğer avantajı da multipleks teknolojisinden kaynaklanmaktadır. Aynı biyolojik sıvıdaki farklı moleküllerdeki bağımsız sitokin konsantrasyonlarının ölçülerek doğru internal oranların elde edilmesi güçtür.



Şekil 1 Farklı omik düzeyleri arasındaki ilişkinin şematik gösterimi.

Çünkü konsantrasyonlar arasındaki farklılıklar çok farklı büyüklük basamaklarına sahiptir. Ancak günümüzde sitokinlerin serum düzeylerini efektif olarak tanımlamak ve güvenilir internal konsantrasyon oranlarını hesaplamak geniş spektrumlu, boncuk tabanlı (bead-based) multipleks immunoassay kullanımı ile mümkün olmaktadır. Bu nedenle sitokinlerle ilişkili tüm veriler grafikler veya farklı veri gruplarına bağlanabilen ağlar (mikroarray ve multipleks biyometrik ELISA tabanlı immunoassay kullanılarak elde edilen gen ve protein ekspresyonu ile ilgili) kullanılarak analiz edilebilir ve modellenebilir. Böylece metabolik ve/veya fizyolojik aktivitelerin ve/veya patojenik yolakların olasılık haritaları elde edilebilir. İnsan sitokinomunun tanımlanması, gelecekte hem sağlıklı bireylerdeki hem de kanser hastalarındaki sitokin ağlarının analizinde kullanılan önemli bir araç olabilir. Bu sayısal modellerin kullanılması ile kronik enflamatuar proseslerin regresyonunun sitokinlerin hücresel popülasyonlarını etkileyerek kanseri nasıl bloke edebileceğini anlamak kolaylaşacaktır. Bu bilgi klinisyenler için kullanışlı bir prognostik ve diyagnostik araç olacaktır.

3 Tip 2 Diyabet ve/veya Kronik Hepatit C Enfeksiyonu Olan Hastalardaki Sitokinom Profili

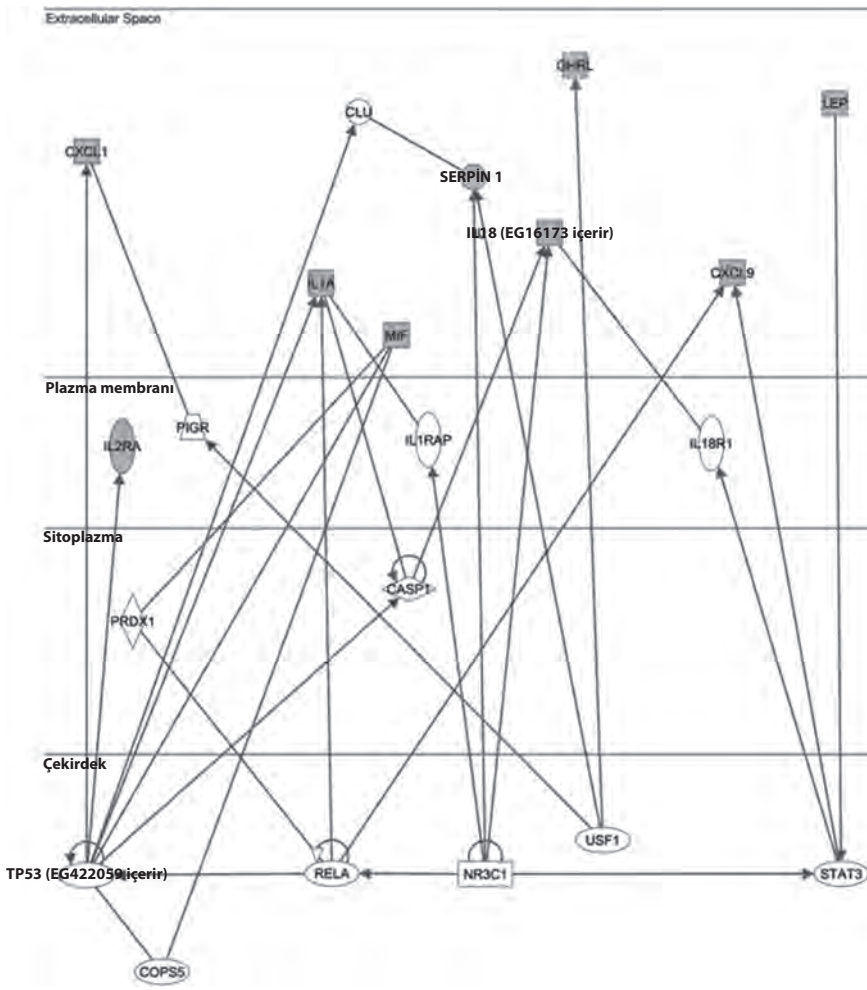
Karaciğerde hepatoselüler karsinom gelişimine neden olan metabolik olayların karmaşıklığı, bazı hastalıkların (hepatit virüsleri, diyabet, obezite) gelişiminde rol oynayan moleküler mekanizmaların anlaşılmasının önünde hala ciddi bir engeldir. Bağımsız ya da bağımlı olarak etki gösteren bu moleküler mekanizmalar sonuçta sıklıkla kanser gelişimine neden olmaktadır. Patolojinin progresyonunu yöneten farklı bilgi sinyallerinin birbirinden ayrıştırılarak tanımlanması, köken ve metabolik etkilerin hastalığın tanımlanmasındaki gerçek önemlerinin doğru olarak anlaşılabilmesi için önemlidir.

Ancak bu prensibe göre hareket edilmediğinde, herhangi bir nütrisyonel takviyenin metabolik önemini anlamak pratikte imkansızdır. Bu takviyelerin makroskopik ve fenotipik etkilerinin her zaman gösterilebilmesi mümkündür. Ancak metabolik ağ düzeyinde ne tür etkilere yol açtıklarını hiçbir zaman öğrenemeyebiliriz. Bu nedenle şu andaki çalışmalarımız multipleks teknoloji ile geliştirilen paneller kullanılarak birçok patojenik sitokinin kökenlerini tanımlamaya odaklanmıştır.

Genel olarak hem tip 2 diyabetin (T2D) hem de kronik hepatit C (KHC) enfeksiyonunun hepatoselüler karsinom (HCC) gelişim riskini artırdığını söyleyebiliriz [15, 16]. Sitokinlerin sadece insülin rezistansında ve glukoz kullanımında değil, karaciğerdeki viral enfeksiyonlardaki patolojik proseslerde de önemli rol oynadıkları bilinmektedir [12]. Bu nedenle, KHC, KHC'ye bağlı siroz, T2D, KHC ve T2D, KHC'ye bağlı siroz ve T2D ve sağlıklı kontrollerde bu hastalıkların farklı evrelerinin ayrımını yapabilmek amacıyla, birçok sitokin, kemokin, adipokin ve büyüme faktöründen oluşan panellerin serum seviyeleri BioPlex testi ile ölçülmüştür [9].

Elde edilen sonuçlar b-NGF, CXCL1, CXCL9, Cpeptid, GIP ve adiponektin ekspresyonunun T2D dışındaki tüm hasta gruplarında yukarı regüle olduğunu göstermiştir. Bu bulgu fibroz, siroz ve kanser progresyonuna yol açabilecen KHC enfeksiyonu (ya da KHC ile birlikte T2D'nin) ile ilişkili olabileceklerini göstermektedir. Ayrıca Tip 2 diyabetin KHC enfeksiyonunun gidişatını modifiye edebilen bir kofaktör olduğunun bilinmesi ve bağımsız bir HCC göstergesi olarak kullanılabilmesi nedeniyle [16], T2D ve KHC hastalarındaki anlamlı moleküller karşılaştırılmıştır. Sonuçlarda (1) KHC hastalarındaki girelin ve leptin düzeylerinin T2D hastalarına göre daha düşük olduğu, (2) KHC hastalarındaki IL-1a, insülin ve PAI-1 düzeylerinin T2D hastalarına göre daha yüksek olduğu, (3) CXCL1, CXCL9, b-NGF, C-peptid, GIP ve adiponektin düzeylerinin sadece KHC hastalarında yüksek olduğu, (4) HGF ve glukagonun sadece T2D hastalarında yüksek olduğu bulunmuştur.

Tüm bu moleküller ilgili fonksiyonları ve literatürde bildirilen deneysel çalışma sonuçlarını kullanarak bir veri ağı oluşturan Ingenuity Yolak Analizi 7.1 (Ingenuity Systems Inc., Redwood, Kaliforniya, ABD) kullanılarak analiz edilmiştir (Şekil 2). Bu grafik transkripsiyon 3 (STAT3), NR3C1 (nükleer reseptör alt ailesi 3, grup C, üye 1), NF-κB (RELA adı da verilir), TP53 (tümor p53), ve yukarı yönlü stimülan faktör 1'in (USF1) adlı sinyal dönüştürücüsü ve aktivatörü olan beş ana geni göstermektedir. Leptin tarafından indüklenen STAT3 [17], CXCL9 gibi STAT1'e bağımlı enflamatuar genlerdeki IFN indüksiyonunda rol oynamaktadır [18]. Bu nedenle T2D hastalarındaki yüksek leptin düzeylerinin STAT3 ekspresyonunu artırdığı ve ilgili CXCL9'u da suprese ettiği hipotezinin geliştirilmesi mümkün olmuştur. Diğer taraftan kortizol ve diğer glukokortikoidlerin bağlandığı NR3C1 reseptörü de STAT3 ve RELA ile etkileşime girmektedir [19]. Şekil 2'de gösterilen ağ, RELA'nın TP53, MIF, CXCL9 ve IL-1a ekspresyonunu regüle ederken, TP53'ün ise CXCL1, IL-2R, IL-1a, MIF, PAI-1 (SERPINE1 adı da verilir), ve IL-18 ekspresyonunu regüle ettiğini göstermektedir. Bu durum KHC hastalarındaki CXCL1, IL-1a, IL-18, PAI-1 ve CXCL9 düzeylerinin niçin daha yüksek olduğunu açıklayabilir. USF1 ise glukoz, lipid ve hepatik metabolizmadaki çok



Şekil 2 Bu grafik Ingeniuty Yolak Analizi bilgisayar programı ile elde edilen T2D ve KHC hastalarındaki (*gri semboller*) önemli sitokinlerle ve diğer moleküllerle (*beyaz semboller*) yakından ilişkili olan ağı göstermektedir ([9] nolu referanstan uyarlanmıştır).

sayıda genin regülasyonunda rol oynamaktadır. USF1 ekspresyonu KHC hastalarındaki karaciğer fibrozunun progresyonu sırasında aşağı regüle olmaktadır [20]. Bu bulgu KHC hastalarındaki girelin ekspresyonunun T2D hastalarına göre niçin daha düşük olduğunu açıklamaktadır. Ayrıca HGF'nin sadece KHC hastalarında normal değerlerde bulunması da dikkate değerdir. Bu büyüme faktörü epitel ve endotel hücrelerindeki mitojenik, motojenik (metastogenez dahil) ve morfojenik etkileri reseptörü olan proto-onkogen Met ile stimüle etmektedir. Met'in HGF bağlanması ile aktive olması

hücre büyümesi ve sağkalımı ile PI3-kinase/PDK/Akt ve Ras/Raf/MEK/ERK yolaklarının aktivasyonu yoluyla, hücre mobilitesi ve sitoskeletal organizasyon ile de RhoGT-Pazlar, Rho, Rac, ve CDC42 aktivasyonu yoluyla ilişkilidir. HGF ve Met birçok kanser türünün progresyon, invazyon ve metastaz özelliği ile ilişkilidir. Bu nedenle sinyalleri kanser tedavilerinin geliştirilmesinde ana hedef durumundadırlar [21]. HGF düzeyleri KHC hastaları dışındaki tüm hasta gruplarında yükseldiği için bu proteinin T2D hastalarındaki kronik enflamasyonun kansere dönüşümünü tahmin etmekte kullanılması mümkündür [13]. Bu çalışma genel olarak, büyük bir sitokin panelinin eş zamanlı sayısal tespitinin, yüksek ve düşük oranda temsil edilen moleküller arasındaki doğru oran ve dinamikleri gösterebilmesinin mümkün olduğunun göstergesidir. Ayrıca doğru, basit, spesifik, noninvazif, tekrar edilebilen ve pahalı olmayan bir yöntem olduğu için, gelecekte rutin klinik pratikte tip 2 diyabet ve/veya KHC ile karaciğer sirozu ve muhtemelen de kanser arasındaki ilişkinin takibinde kullanılarak, bu hastalıklarının prognozlarının iyileştirilmesine katkıda bulunabilir.

4 Adiponektin İnteraktomu

Adipöz doku hem lokal (otokrin/parakrin) hem de sistemik (endokrin) etkileri olan farklı adipokinleri eksprese edebilir ve salgılayabilir. Adipöz doku bu efferent sinyallere ek olarak, klasik hormon sistemlerinin afferent sinyallerine cevap verebilmesini sağlayan birçok reseptörü de eksprese eder. Adipöz doku, depolama ve enerji salımı için gereken biyolojik repertuvara ek olarak uzak organlarla iletişime izin veren metabolik mekanizmaları da içerir. Adipöz doku bu interaktif ağı kullanarak enerji metabolizması, nöroendokrin fonksiyon ve immun fonksiyon gibi bir dizi biyolojik prosesin koordinasyonuna entegre olarak rol oynar [22]. Grubumuzun son zamanlarda başlattığı bir çalışmada tip 2 diyabet, obezite ve kanser arasındaki muhtemel bir bağlantıya işaret eden adipokin ağının kompleks etkileşimleri incelenmektedir [23]. İnsan proteomunun tamamından elde edilen bu birbiri ile ilişkili ağ için, Biogrid, HPRD, MINt ve Yolak Etkileşim Veri Tabanı, ve Verona Üniversitesi tarafından manuel olarak oluşturulan ve güncellenen veri tabanı (önceki versiyonu 11.210 nodül içermektedir) kullanılmıştır [24]. 21.289 köşesi (interaksiyon) olan 729 nodülden (protein) oluşan adipokin ağı ADIPOQ ve SFRP-5 gibi direkt etkileşime giren iki izole komponent içerir. Bu ağın bağlantılı komponenti 21.286 interaksiyon içeren 724 nodülden oluşur ve ortalama kümelenme kat sayısı 0.586'dır. Ortalama kümelenme kat sayısı dağılımının gelişimi ile tanımlanan metabolik ağların modüler organizasyonu ve ağ heterojenitesi (bağlanabilirlik varyansı) ile ilişkili değer, bir ağın ana nodüller içerme eğiliminin göstergesidir.

Bir ağdaki sıkışmış proteinler ana birleştiricileri temsil ettikleri için ağın önemli ve vazgeçilmez nodülleridir [25]. Ayrıca merkezi konumun arada kalma düzeyi bir ağdaki tepe ya da köşenin muhatap olduğu trafik miktarı ile ifade edilir [26]. Stres merkeziyeti en kısa yolakların çok sayıda olduğunu göstermektedir [27]. Bu nedenle sıkışıklığın, arada olmanın ve stresin dereceleri ağdaki önemli ve temel nödüllerin karakterize edilebilmeleri amacıyla hesaplanmıştır. Bu değerler tüm adipokinler arasında sadece anjiotensin II (AGT) için yüksek derecede tespit edilmiştir. Birinci sıradaki AGT interaktomunu araştırdığımızda, adipokinin 19 protein ve 27 interaksiyon ile etkileştiğini ve kan basıncının regülasyonu ile ilişkili çok sayıda metabolik prosesi regüle ettiğini tespit ettik. Ayrıca anjiotensin dönüştürücü enzim 2 de (ACE2), AGT ve girelin arasındaki zayıf bir ilişki meydana getirerek leptin ve IL-6 ile etkileşime girmektedir. IL-6 ağındaki JAK1, JAK2, STAT1 ve STAT3 gibi komponentler de TNF ve omentin gibi diğer adipokinlerin fosforilasyonunun regülasyonunda rol oynamaktadır. Adipokin ağının detaylı analizi 0.840 ortalama kat sayısı olan POLR2D'nin (RBP4 adı da verilir) bir diğer yüksek oranda kümelenen ağ komponenti olduğunu göstermiştir. Bazıları RNA bağlanması, metabolik yolaklar, gen ekspresyonu ve DNA tamiri gibi farklı hücresel aktivitelerle ilişkili olan 257 protein ve 10.920 interaksiyon ile etkileşime girer. IL-6, IL-8, adipsin, TNF ve rezistin gibi birçok adipokin RBP4 ile ikinci sıra derecesinde etkileşime girer. Tüm bu veriler adipokinlerin birbirleri ile etkileşime girerek kompleks bir ağ oluşturduklarını ve obezite ve kanser gelişimini desteklemek için uyum için çalıştıklarını göstermektedir.

5 Sonuçlar

Çok sayıda güncel epidemiyolojik çalışmada meyve ve sebze tüketimi, doğal antioksidanlar ve kanser tüketimi arasında ters orantılı bir ilişkinin varlığı vurgulanmaktadır. Kanserin önlenmesi ve tedavisinde diyet veya bitkisel kaynaklı takviyeler yoluyla alınan antioksidanların kullanımı kuvvetle önerilmektedir (Storner ve Mukhtar 1995). Sebze, mineral veya hayvansal kaynaklı maddeler olan antioksidanlar serbest radikalleri nötralize ederek, plazma membranı, proteinler ve DNA üzerindeki olumsuz etkilerini önleyerek vücudu korumaktadır [28, 29].

Ancak antioksidan takviyelerle ilişkili çalışmaların, sıklıkla çok dar bir metabolik bakış açısıyla detaylı metabolik etkilere odaklandığını ve tüm organizma ile fizyolojik yapıda mevcut olan geniş metabolik ağ ile yeterince ilişkili olmadığını gözlüyoruz. Daha çok zaman isteyen, birçok farklı yetenek gerektirdiği için çok daha kompleks olan ve çok ciddi sayısal analizler gerektiren bir yöntem olmasına rağmen bu kısıtlamayı aşmanın en iyi yolunun sistemler biyolojisi yaklaşımı olduğuna inanıyoruz.

Çalışmalarımız hepatokarsinom progresyonunu destekleyen metabolik ağın anlaşılmasına odaklamıştır. Enflamasyon, tip 2 diyabet, obezite ve kanser arasındaki ilişkiye olan ilgi son yıllarda yeniden artmaya başlamıştır. Sitokinlerin bu hastalıkların evrimlerinde önemli rol oynayan moleküllerden olduğuna inanıyoruz. Enflamasyonun öncesinde ve sırasında eksprese olan bu proteinler hastalıkların çeşitli evrelerinde önemli bir rol oynarlar. Bu nedenle kanserin ve spesifik evrimsel basamaklarının spesifik markerları olarak değerlendirilebilirler [12, 13]. Son zamanlarda, KHC, KHC'ye bağlı siroz, KHC ve T2D, KHC'ye bağlı siroz ve T2D hastalarındaki birçok sitokin, kemokin, adipokin ve büyüme faktörünün serum düzeyleri geniş spektrumlu, boncuk tabanlı multipleks immunoassay kullanımı ile değerlendirilmiştir Elde edilen veriler bazı proteinlerin serum düzeylerinin yukarıda sayılan tüm hastalıklarda arttığını, diğer bazılarının ise sadece bir hastalıkta arttığını göstermiştir. Her iki hastalığın mevcudiyetinde ise farklı düzeylerde artış tespit edilmiştir. Bazı moleküllerin klinik ve biyokimyasal veriler ile anlamlı korelasyon göstermesi, hastalığın farklı evrelerinde spesifik biyomarkerlar olarak kullanılabilecek mini panellerin geliştirilebilme olasılığına işaret etmektedir. Ancak tüm bu gözlemler, izole ölçümler yerine entegre bir yaklaşım kullanılmasının bu iki kompleks patolojinin (tip 2 diyabet ve KHC) tek başlarına veya birlikte bulunduğu hastalardaki farklı evrelerinin, değerlendirilmesinde çok daha güçlü bir yaklaşım olduğunu göstermektedir [9].

Bu nedenle sitokinlerin evrimi ile ilişkili verilerin grafikler veya çeşitli veri gruplarına bağlanan ağlar kullanılarak kompüterize bir şekilde modellenmesi gerektiğini vurgulamak istiyoruz. Böylece metabolik ve/veya fizyolojik aktivitelerin ve/veya patojenik yolakların olasılık haritaları elde edilebilir. Gerçekten de insan sitokinomunun tanımlanması sadece bu yolla mümkündür. Bu şekilde hem sağlıklı hem de farklı hastalıkları olan bireylerdeki sitokin ağlarındaki etkileşimlerin analizinde kullanılan önemli bir araca sahip olabiliriz.

Referanslar

1. Carlsen MH, Halvorsen BL, Holte K et al (2010) The total antioxidant content of more than 3,100 foods, beverages, spices, herbs and supplements used worldwide. Nutr J 9:3
2. Das Sarma A, Rahaman Mallick A, Ghosh AK (2010) Free radicals and their role in different clinical conditions: an overview. Int J Pharma Sci Res 1:185–192
3. Agewall S, Wright S, Doughty RN et al (2000) Does a glass of red wine improve endothelial function? Eur Heart J 21:74–78
4. Zhang Y, Shen G, Yu Y et al (2009) The hormetic effect of cadmium on the activity of antioxidant enzymes in the earthworm Eisenia fetida. Environ Pollut 157:3064–3068
5. Seyfried T, Shelton LM (2010) Cancer as a metabolic disease. Nutr Metab 7:7
6. Gonzaga-Jauregui C, Lupski JR, Gibbs RA (2012) Human genome sequencing in health and disease. Annu Rev Med 63:35–61
7. Costantini S, Autiero I, Colonna G (2008) On new challenge for the bioinformatics. Bioinformation 3:238–239
8. Castello G, Costantini S, Scala S (2010) Targeting the inflammation in HCV-associated hepatocellular carcinoma: a role in the prevention and treatment. J Trasl Med 8:109

9. Costantini S, Capone F, Guerriero E et al (2012) Cytokinome profile of patients with type 2 diabetes and/or chronic hepatitis C infection. PLoS ONE 7(6):e39486
10. Palladino P, Portella L, Colonna G et al (2012) The N-terminal peptide of CXCL11 as structural template for CXCR3 antagonist: synthesis, conformational analysis and binding studies. Chem Biol Drug Des 80(2):254–265
11. Trotta T, Costantini S, Colonna G (2009) Modelling of the membrane receptor CXCR3 and its complexes with CXCL9, CXCL10 and CXCL11 chemokines: putative target for new drug design. Mol Immunol 47:332–339
12. Capone F, Costantini S, Guerriero E et al (2010) Serum cytokine levels in patients with hepatocellular carcinoma. Eur Cytokine Netw 21:99–104
13. Costantini S, Capone F, Guerriero E et al (2010) Serum cytokine levels as putative prognostic markers in the progression of chronic HCV hepatitis to cirrhosis. Eur Cytokine Netw 21:251–256
14. Costantini S, Castello G, Colonna G (2010) Human Cytokinome: a new challenge for systems biology. Bioinformation 5(4):166–167
15. Huang JF, Dai CY, Hwang SJ et al (2007) Hepatitis C viremia increases the association with type 2 diabetes mellitus in a hepatitis B and C endemic area: an epidemiological link with virological implication. Am J Gastroenterol 102:1237–1243
16. Hung CH, Lee CM, Wang JH et al (2011) Impact of diabetes mellitus on incidence of hepatocellular carcinoma in chronic hepatitis C patients treated with interferon-based antiviral therapy. Int J Cancer 128(10):2344–2352
17. Carvalheira JBC, Siloto RMP, Ignacchitti I et al (2001) Insulin modulates leptin-induced STAT3 activation in rat hypothalamus. FEBS Lett 500:119–124
18. Ho HH, Ivashkiv LB (2006) Role of STAT3 in type I interferon responses. JBC 281:14111–14118
19. Hollenberg SM, Weinberger C, Ong ES et al (1985) Primary structure and expression of a functional human glucocorticoid receptor cDNA. Nature 318:635–641
20. Takahara Y, Takahashi M, Zhang Q-W et al (2008) Serial changes in expression of functionally clustered genes in progression of liver fibrosis in hepatitis C patients. World J Gastroenterol 14:2010–2022
21. Gentile A, Trusolino L, Comoglio PM (2008) The met tyrosine kinase receptor in development and cancer. Cancer Metastasis Rev 27:85–94
22. Kershaw EE, Flier JS (2004) Adipose tissue as an endocrine organ. J Clin Endocrinol Metab 89:2548–2556
23. Raucci R, Rusolo F, Sharma A et al (2012) Functional and structural features of adipokine family. Cytokine
24. Scardoni G, Petterlini M, Laudanna C (2009) Analyzing biological network parameters with CentiScaPe. Bioinformatics 25:2857–2859
25. Yu H, Kim PM, Sprecher E et al (2007) The importance of bottlenecks in protein networks: correlation with gene essentiality and expression dynamics. PLoS Comput Biol 3:e59
26. Brandes U (2001) A faster algorithm for betweenness centrality. J Math Sociol 25:163–177
27. Sharma A, Gautam V, Costantini S et al (2012) Interactomic and pharmacological insights on human Sirt-1. Front Exp Pharmacol Drug Discov 3:40
28. Jayaprakasam BJ, Vanisree M, Zhang Y et al (2006) Impact of alkyl esters of caffeic and ferulic acids on tumor cell proliferation cyclooxygenase enzyme and lipid peroxidation. J Agric Food Chem 54:5375–5381
29. Lin HP, Kuo LK, Chuu CP et al (2012) Combined treatment of curcumin and small molecule inhibitors suppresses proliferation of A549 and H1299 human non-small-cell lung cancer cells. Phytother Res 26:122–126

Natürel Sızma Zeytinyağı: Kompozisyondan Moleküler Gastronomiye

Raffaele Sacchi, Antonello Paduano, Maria Savarese, Paola Vitaglione ve Vincenzo Fogliano

Özet

Bu bölümde natürel sızma zeytinyağı (NSZY) ile ilgili güncel çalışmaların sonuçlarını ve pişirme esnasında diğer gıda içerikleri ile etkileşimlerini kısaca gözden geçirerek "sihirli" NSZY'nin basit moleküler özelliklerini ve Akdeniz gastronomisindeki rolünü vurgulayacağız. Gıdalara pişirme sonrası çiğ olarak (veya salata yağı olarak) NSZY eklenmesi, orijinal tadın korunmasının ve doğal antioksidanlar ile insan sağlığına faydalı bileşiklerin (hipotensif, antienflamatuar, antikanserojenik ve diğerleri) alımının maksimize edilmesinin en iyi yoludur. NSZY'nin koruyucu etkileri pişirme sırasında ve sonrasında da devam etmektedir. Bifenolik bileşiklerle diğer gıda içerikleri arasında (su, süt proteinleri, domatesteki karotenoidler, yağla konserve yapılmış balık, et ve balık proteinlerindeki omega-3 poliansatüre doymamış yağ asitleri) farklı kimyasal reaksiyonlar oluşmaktadır. NSZY pişirme esnasında bile güçlü antioksidan özellikler göstermekte ve pişirilen gıdaların genel tadını etkilemektedir. NSZY'nin pişirilmesi esnasında oluşan fiziksel (partisyon oluşumu, emülsiyon) ve kimyasal (hidroliz, kovalen bağlanma, antioksidan özellikler) fenomen, bazı geleneksel Akdeniz yemeklerinin duyusal (acılık ve meyvemsi tat) ve nütrisyonel kalitesi üzerinde oluşturduğu değişimlere odaklanarak incelenecektir. Özellikle pişirme esnasındaki domates-yağ etkileşimleri, NSZY'de balık konservesi, pişirme öncesi NSZY ile marine etme, fırında veya tavada NSZY ile kızartma yöntemleri incelenecektir. Zeytinyağı antioksidanlarının ve tatlarının süt proteinleri ile olan etkileşimlerinden de kısaca bahsedilmiştir.

R. Sacchi · A. Paduano · M. Savarese · P. Vitaglione · V. Fogliano
Department of Agriculture, University of Naples Federico II, I-80055, Portici, NA, Italy

R. Sacchi (✉)
Dipartimento di Agraria, via Universita' 100, 80055, Portici, NA, Italy
e-mail: raffaele.sacchi@unina.it

V. Zappia et al. (eds.), *Advances in Nutrition and Cancer,*
Cancer Treatment and Research 159, DOI: 10.1007/978-3-642-38007-5_19,
© Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2014

Anahtar Kelimeler

Natürel sızma zeytinyağı • Moleküler gastronomi • Akdeniz diyeti

Kısaltmalar

EFSA	Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi
NSZY	Natürel sızma zeytin yağı
HA	Heterosiklik Amin
HPLC	Yüksek performanslı likid kromatografi
HPTA	Hidroksi pentasiklik triterpen asitleri
LC–MS	Likid kromatografi-Kütle spektrometresi
NMR	Nükleer manyetik rezonans

İçindekiler

1. Zeytinyağının Kompozisyonu ve Sağlıklı Etkileri 326
2. Akdeniz Moleküler Gastronomisinde NSZY 328
   2.1 Balık Konservelerinde NSZY 330
   2.2 Domates ve NSZY Etkileşimi 331
   2.3 Etlerin Fırında Kızartma Öncesinde NSZY ile Marine Edilmesi 332
   2.4 NSZY ile Kızartma 333
   2.5 NSZY ve Süt Proteinleri 335
3 Sonuçlar 336
Referanslar 336

1 Zeytinyağının Kompozisyonu ve Sağlıklı Etkileri

Son birkaç yıl içinde natürel sızma zeytinyağının (NSZY) kimyasal kompozisyonunun insan sağlığı üzerindeki in vitro ve in vivo olumlu etkileri ile ilişkili bazı çalışmalar yayınlanmıştır [16, 31]. Zeytinyağının sağlıklı özellikleri yüksek oleik asit ve triasilgliserol içeriğine ve zeytinyağının sabunlaşmayan fraksiyonu içinde bulunan birçok minör bileşiğin (skualen, tokoferoller, fenil alkol gibi fenolik asit bileşikleri, sekoridoidler ve lignanlar) varlığına bağlanmaktadır. Bu özelliklerin insan sağlığını koruyu etkileri vardır [16]. Zeytinyağı başlıca antimikrobik, antioksidan, ve antienflamatuar özelliklere sahiptir (inceleme için [9] nolu referansa bakınız). Zeytinyağının antienflamatuar faydaları ile ilişkili olan fenolik bileşik oleokantala özel olarak odaklanılmıştır (inceleme için [18] nolu referansa bakınız). Bu bileşiğin ibuprofene benzer aktivitesi olduğu gösterilmiştir.

Her iki bileşik de (oleokantal ve ibuprofen) prostoglandin biyosentez yolağındaki siklooksijenaz enzimlerini inhibe eder [5]. Ancak NSZY'nin içinde mevcut oleokantal miktarının, zeytinyağının antienflamatuar etkisinden sorumlu tek bileşik olduğu henüz bilimsel olarak gösterilememiştir [14]. Aslında, gıda bilimi ve sağlık araştırmalarında giderek artan şekilde elde edilen kanıtlar, tekil bileşiklerden ziyade, gıdalarda bulunan kompleks polifenol karışımlarının sinerjistik etki ile sağlığa faydalı olduklarını düşündürmektedir. Bu konsept zeytinyağında bulunan pinoresinol ve kolon kanseri arasındaki ilişki için gösterilmiştir [12]. Araştırmacılar pinoresinol yönünden zengin zeytinyağı ekstrelerinin kolon kanserinde güçlü kemopreventif etkileri olduğunu bildirmiştir. Ancak aynı sonuca saflaştırılmış pinoresinole göre çok daha düşük pinoresinol konsantrasyonları içeren zeytinyağı ile de ulaşılabilmiştir [12].

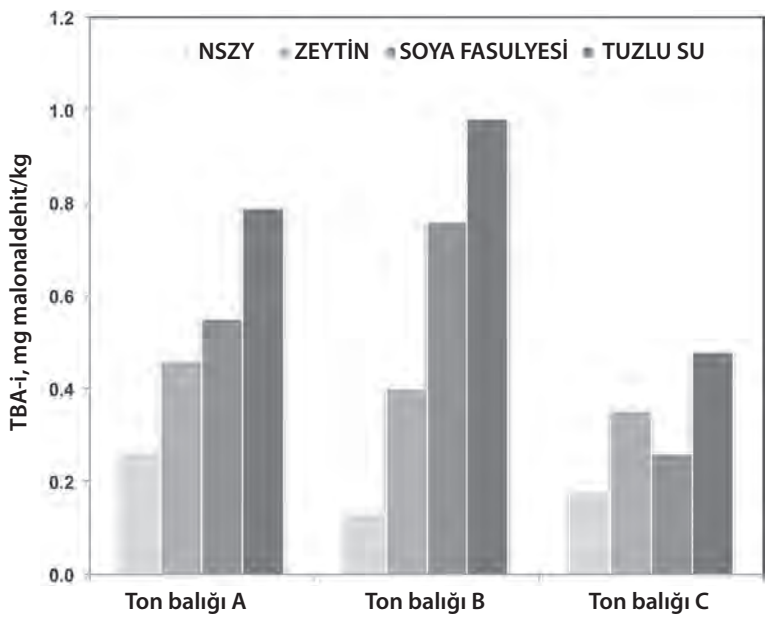
Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi (EFSA) tarafından yakın zamanda gerçekleştirilen Diyetetik Ürünler, Nütrisyon ve Alerji Panelinde ortaya konulan bilimsel görüş şu şekildedir: *Zeytinde bulunan polifenollerin LDL partiküllerini oksidatif hasardan koruduğu, kandaki normal HDL konsantrasyonlarını ve normal kan basıncını koruduğu, antienflamatuar etki yaptığı, üst respiratuar sistem sağlığına katkı yaptığı, normal gastrointestinal kanal sağlığını koruduğu ve dış ajanlara karşı vücut savunmasına katkı yaptığı ile ilgili sağlık iddiaları incelenmiştir. Bu sağlık iddialarının konusu olan gıda bileşeni zeytindeki polifenollerdir (zeytin meyvesi, zeytinyağı değirmeni ürünü veya zeytinyağı, Olea europaea L. ekstresi ve yaprağı). Panel sunulan verilere dayanarak zeytinyağındaki polifenoller ile (hidroksitirozol ve türevlerinin içeriğine göre standardize edilmiştir) LDL partiküllerinin oksidatif stresten korunması arasında bir neden sonuç ilişkisi olduğuna karar vermiştir. Panel bu iddiadaki etkinin ortaya çıkabilmesi için zeytinyağında bulunan hidroksitirozol ve türevlerinin (örn. oleuropein kompleksi ve tirozol) hergün 5 mg tüketilmesi gerektiğini bildirmiştir [11].*

NSZY'deki fenolik bileşikler antioksidan kapasiteleri ile oksidatif proseslere karşı kimyasal stabilite (yüksek oksidatif stabilite) sağladıkları gibi acı ve buruk tadın oluşmasına da katkı yaparlar. Meyvemsi bir aroması olan doğal uçucu fenol bileşikleri NSZY'nin hem "fonksiyonel gıda" özelliğine hem de lezzetine katkı yaparlar. Ancak NSZY çeşitleri kullanılan zeytinin türüne, yetiştiği çevreye, büyüme ve olgunluk düzeyine, ekstraksiyon ve depolama teknolojisine bağlı olarak büyük farklılıklar gösterirler [31]. Piyasada mevcut NSZY'ler arasında kimyasal ve duyusal kaliteleri, nütrisyonel özellikleri ve fiyatları yönünden büyük farklar mevcuttur. Gıda kimyacıları ve uzman panelleri daha acı tada sahip olan NSZY'lerin daha yüksek kaliteye sahip olduğu ve sağlıklı özelliklere sahip NSZY seçiminde tadın önemli bir yol gösterici olabileceği yönünde hemfikirdir [36].

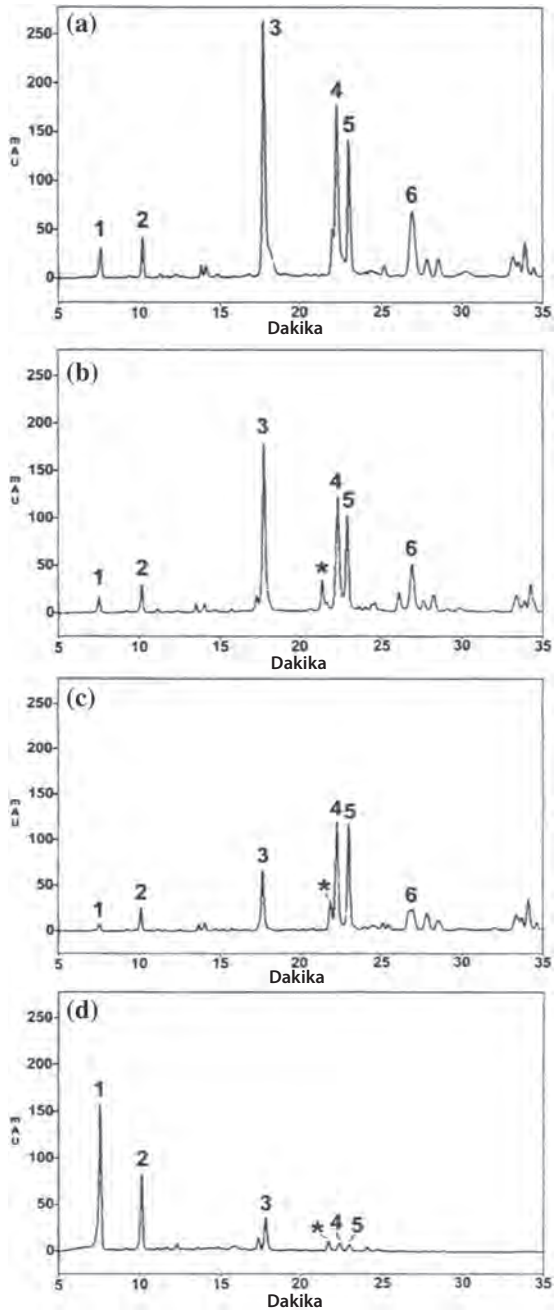
NSZY'nin pişmesi esnasında fenolik ve uçucu bileşiklerde meydana gelen değişimlerle birlikte Akdeniz yemeklerinde kullanılan diğer birçok bileşen ile de etkileşimler meydana gelir. Zeytinyağının kalitesi hakkındaki agronomik ve teknolojik parametrelerle ilgili birçok çalışma olmasına rağmen çok az sayıda çalışmada gastronomik özellikleri araştırılmıştır. Bu bölümde konuyla ile ilgili güncel çalışmaların sonuçlarını kısaca gözden geçirecek ve "sihirli" NSZY'nin Akdeniz gastronomisindeki rolünü açıklamak amacıyla ana moleküler özelliklerini vurgulayacağız.

2 Akdeniz Moleküler Gastronomisinde NSZY

Gıdalara pişirme sonrası çiğ olarak (veya salata yağı olarak) NSZY eklenmesi, orijinal tadın korunmasının ve doğal antioksidanlar ile insan sağlığına faydalı bileşiklerin (hipotensif, antienflamatuar, antikanserojenik ve diğerleri) alımının maksimize edilmesinin en iyi yoludur. Ancak NSZY'nin koruyucu etkileri pişirildiğinde de devam etmektedir. Bifenolik bileşiklerle diğer gıda içerikleri arasında (su, süt proteinleri, domatesteki karotenoidler, yağla konserve yapılmış balık, et ve balık proteinlerindeki omega-3 poliansatüre doymamış yağ asitleri) oluşan farklı kimyasal reaksiyonlar birçok çalışmada incelenmiştir. NSZY pişirme esnasında bile güçlü antioksidan özellikler göstermekte ve pişirilen gıdaların genel tadını etkilemektedir. NSZY'nin pişirilmesi esnasında oluşan fiziksel (partisyon oluşumu, emülsiyon) ve kimyasal (hidroliz, kovalen bağlanma, antioksidan özellikler) fenomen, bazı geleneksel Akdeniz yemeklerinin duyusal (acılık ve meyvemsi tat) ve nütrisyonel kalitesi üzerinde değişimlere yol açar. NSZY'deki fenolik bileşiklerle farklı biçimde pişirilen gıda sistemlerindeki diğer bileşikler arasında moleküler etkileşimler oluşarak, bazı pişmiş gıdaların sağlıklı ve koruyucu etkilerinin artmasına yol açar. Bu etki ilerleyen paragraflarda detaylı olarak tartışılacaktır.



Şekil 1 Farklı maddeler ile sterilize edilen üç farklı ton balığı konservesinin oksidasyon düzeyleri (TBA-i, mg malonaldehit/kg).



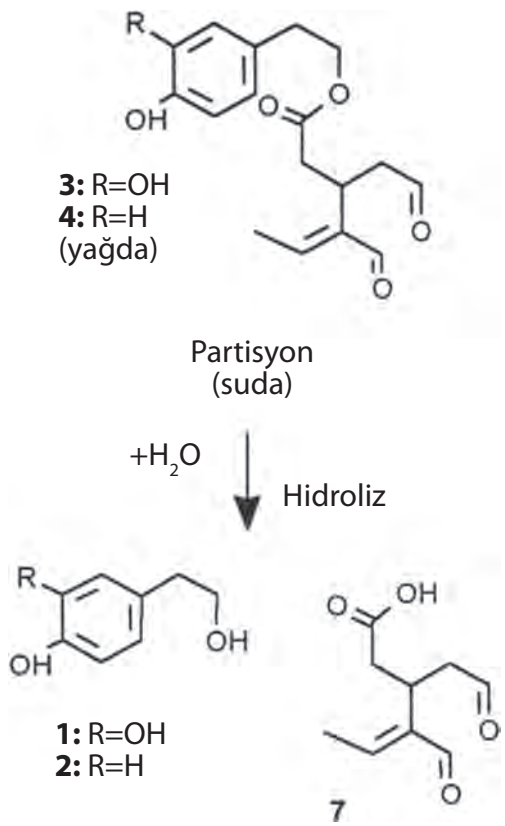
Şekil 2 Fenolik antioksidan sterilizasyon bileşiklerinin davranışları: (**a**) Başlangıçtaki NSZY; (**b**) sterilize NSZY; (**c**) sterilizasyon sonrası yağlı faz; (**d**) sterilizasyon sonrası su fazı. Tepe değerleri: hidroksitirozol (*1*), tirozol (*2*), dekarboksimetil oleuropeinin (*3*) ve ligstrosidin dialdehidik formu (*4*), aglikonlar, pinoresinol (*5*), oleuproeinin aldehidik formu (*6*), *bilinmeyen bileşik.

2.1 Balık Konservelerinde NSZY

Doldurma yağı olarak kullanılan NSZY ile konserve ton balığı eti arasındaki etkileşimler yaptığımız çeşitli deneylerde incelenmiştir. Deneylerin amacı balık etinde konserveleme öncesi bulunan doğal n-3 PUFA'ların korunmasıdır.

NSZY ile konservelenen tuna etinin NMR spektroskopisi ile ölçülen n-3 PUFA düzeyleri, soya fasulyesi, rafine zeytinyağı ve tuzlu su ile konservelenen ve sterilize edilen tuna etindeki düzeylere göre anlamlı olarak daha yüksektir [21, 22]. Konserve tuna etinden ekstrakte edilen lipidlerdeki oksidasyon oranları da NSZY ile daha düşük bulunmuştur (Şekil 1).

NSZY'nin konservelere uygulanan işlem sırasındaki ve sonrasındaki koruyucu etkisi içindeki doğal antioksidanlara bağlanmaktadır. Bu etki diğer doldurma yağları ve tuzlu suda mevcut değildir [13, 23]. Konservelerin sterilizasyon işlemlerinin öncesinde ve sonrasındaki fenol düzeylerine bakıldığında, sekoiridoid aglikonların hidrolizi ile kombine olan yağ fazından su fazına (et) doğru net bir partisyon oluşumu gözlenmiştir (Şekil 2 ve Şema 1) [7, 32].



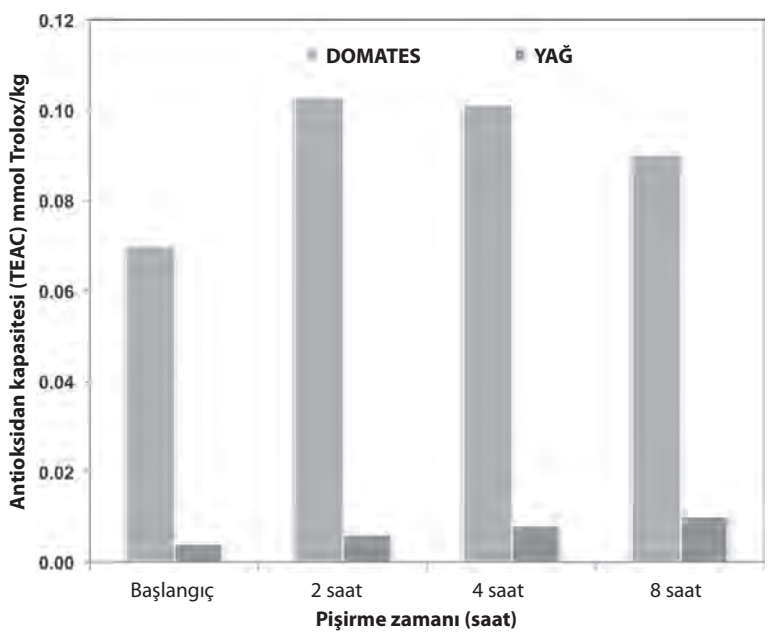
Şema 1 NSZY ile tuzlu su karışımı ile sterilizasyon sırasında, hidroksitirozol (*1*) tirozol (*2*) ve dekarboksimetil elenolik asidin dialdehidik formunun (*7*) tuzlu sudaki dekarboksimetil oleuropeinin dialdehidik formundan (*3*) ve ligstrosid (*4*) aglikonlarından formasyonu.

Bu iki fenomenin (partisyon oluşumu ve hidroliz) kombinasyonu etin yüzeyinde hidrofilik fenolik antioksidanların (hidroksitirozol ve tirozol) birikmesine yol açarak n-3 PUFA'yı termal oksidasyondan korumaktadır.

2.2 Domates ve NSZY Etkileşimi

Taze domates ve domates ürünleri sağlıklı olmaları ve özellikle prostat kanserine karşı antitümör özellikleri ile bilinirler [28]. Karotenoid (likopen) alımı hem in vitro hem de in vivo ortamda antikarsinojenik aktivite ve antiaterojenik etkiler ile ilişkilidir [27]. Çeşitli epidemiyolojik çalışmalarda likopen içeren domates ve domates ürünlerinin yüksek oranda tüketiminin kardiyovasküler hastalıklara karşı koruyucu olabileceği ve başta prostat, meme ve sindirim kanalı olmak üzere çeşitli kanserlerin riskini azaltabileceği gösterilmiştir. Likopenin serum düzeyleri kronik hastalık riski ile ters orantılı ilişkiye sahiptir [27]. Tüm dünyadaki insan diyetlerinde hem taze hem de işlenmiş domates tüketimi mevcuttur. Ancak Akdeniz gastronomisinde makarna ve pizza kombinasyon halinde büyük oranlarda domates ve zeytinyağı içerir.

Son yıllarda, domates soslarının küçük miktarda NSZY ile kombinasyon halinde pişirilmesini simüle eden farklı model sistemlerinin davranışlarını inceledik. Özellikle geleneksel bir domates sosunun (örn. Napolitan Ragù) pişirilmesi uzun süreler gerek-



Şekil 3 Domatesin antioksidan kapasitesi (TEAC, mmol Trolox ekivalan/kg) ile domates ve NSZY sosuna ısı testi uygulanması sırasındaki yağ fazları.

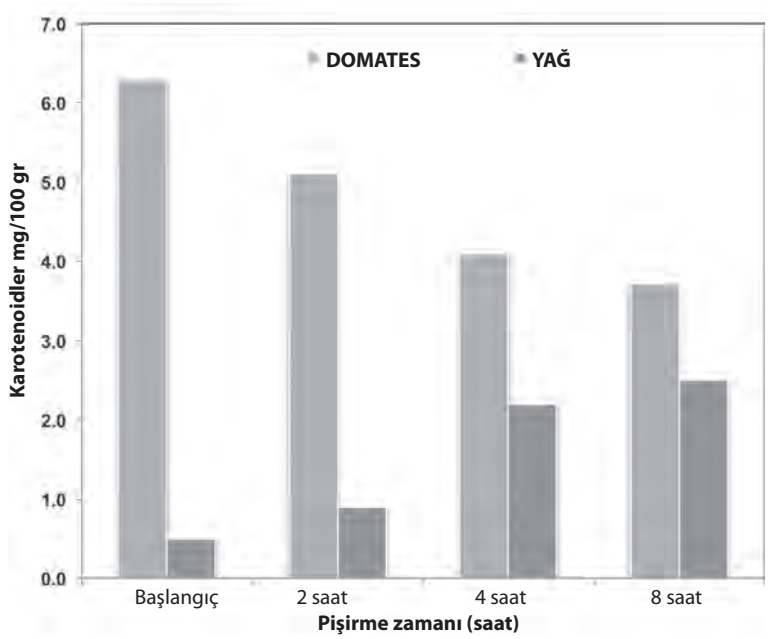
tirmekte (6-10 saat) ve orta ısıda (70-80 °C) geleneksel toprak kaplarda pişirilmektedir. Bu şartlarda ısıtılan domates-yağ sistemine neler olur? Pişirmenin sonunda antioksidan içeriğinde bir azalma beklenebilir. Bu azalma ısı testi yapılan domates sosunda gösterilmiştir [29]. Buna karşın, kendi çalışmamızda NSZY ilavesi ile pişirilen domatesteki antioksidanların (domates karoteonidlerinin sızma zeytinyağında bulunan sekoiridoidler tarafından korunması ile) anlamlı düzeyde arttığını tespit ettik (Şekil 3).

Karotenoidlerin ve naringenin gibi flavonoidlerin, yağ fazı yönünde partisyonlara ayrılması (Şekil 4) pişirme sırasında gözlenmiştir. Bu bulgu hazırlanan yemeklerdeki biyolojik olarak kullanılabilir karotenoid miktarı ile de ilişkilidir.

Bu gözlemler ve veriler Ragù gibi geleneksel fonksiyonel gıdaların kanserden koruyucu özelliklerinin ilgi çekmesine neden olmaktadır. Bu geleneksel yemekler hem antioksidan hem de koruyucu olan moleküllerin alımını sağladıkları için çok sağlıklı gıdalardır.

2.3 Etlerin Fırında Kızartma Öncesinde NSZY ile Marine Edilmesi

Akdeniz tarzı pişirme yöntemlerindeki bir başka geleneksel yöntem de et ve balığın yağ, şarap ve bitkiler (kekik, biberiye) kullanılarak fırında kızartma öncesi marine edilmesi ve pişirme esnasında et veya balığın yüzeyini nemlendirmek amacıyla limon-yağ veya



Şekil 4 Isı testi uygulanan domates-yağ karışımının karotenoid içeriği (mg/100 gr).

yağ-kırmızı şarap emülsiyonu kullanılmasıdır. Ev ve restoranlarda kısmen kaybolan bu geleneksel yöntemin, ısıl işlem sırasındaki protein degradasyonuna karşı koruyucu etkisi olduğu gösterilmiştir [25, 30, 35].

Pişirme simülasyon sistemlerine fenol bileşikleri veya NSZY eklenmesinin heterosiklik amin (HA) formasyonunu anlamlı olarak inhibe ettiği gösterilmiştir. Et veya balık pişirilirken düşük miktarlarda oluşan mutajenik HA'lardan bazılarının muhtemel insan karsinojeni olduğu düşünülmektedir. HA formasyonu sentetik veya doğal olarak oluşan antioksidanların varlığından etkilenebilir. Monti ve ark. [25] NSZY'deki fenolik bileşiklerin bir sistem modelindeki HA formasyonu üzerindeki etkisini LC-MS ile belirlemiş ve ölçmüştür. Kreatinin, glukoz ve glisinden oluşan aköz bir solüsyon, sadece fenolik bileşiklerin kompozisyonunda farklılık olan iki NSZY örneği ile birlikte ısıtılmıştır. Sistem modeline NSZY eklenmesi ile 2-amino-3-metilimidazo[4,5-f]kuinoksalin, 2-amino-3,8-dimetilimidazo [4,5f] kuinoksalin ve 2-amino-3,7,8-trimetilimidazo [4,5-f] kuinoksalin formasyonunu kontrollere kıyasla %30-50 arasında inhibe etmiştir. Çok miktarda dihidroksifeniletanol içeren taze zeytinyağı, HA formasyonunu bir yıllık zeytinyağından daha fazla azaltmıştır. Natürel zeytinyağından elde edilen fenolik bileşiklerle HA formasyonunun inhibisyonu, NSZY'nin balık ve etlerin pişirilmesi veya fırında kızartılması sırasında oluşan potansiyel karsinojenik molekülerin formasyonunun engellenmesinde ilginç bir rolü olabileceğini göstermektedir.

NSZY'deki fenolik bileşiklerin bisküvi gibi düşük nemli sistemlerdeki akrilamid formasyonunu bile azaltabilmesi de ilginçtir [4].

2.4 NSZY ile Kızartma

NSZY kullanarak yapılan kızartma potansiyel olarak toksik bileşiklerin üretimini (akrilamid ve hidroksi-alkenaller gibi) ve kızartmanın gevrek dış kısmında bulunan sağlıklı bifenolik antioksidanların alımlarını da minimize edebilir. NSZY'de bulunan fenolik bileşikler çok stabildirler ve kızartmadan birkaç saat sonra bile tespit edilebilirler [1, 10]. Bu bileşikler gıda matriksi ile etkileşime girerek tehlikeli bileşiklerin formasyonunu inhibe ederler.

NSZY fenol bileşikleri ile patates kızartmasındaki akrilamid formasyonu arasındaki ilişki ilk olarak Napolitano ve ark. tarafından incelenmiştir [26]. 20 NSZY örneğindeki fenolik kompozisyon LC-MS yöntemi ile tespit edilmiştir. Kızartma deneyleri için farklı fenol bileşik paternleri ile karakterize olan dört yağ seçilmiştir. Patates dilimleri 180 °C'de 5, 10, 15 dakika boyunca NSZY içinde kızartılarak akrilamid içerikleri LC-MS ile belirlendi. NSZY'nin fenolik bileşikleri kızartma sırasında degrade olmamıştır. Dört farklı NSZY ile kızartılan patateslerin renklerinde de anlamlı bir fark oluşmamıştır. Kızartma esnasında patateslerdeki akrilamid konsantrasyonları arttı. Ancak en yüksek artış en düşük fenolik bileşik içeren yağda gerçekleşmiştir. En yüksek orto-difenolik bileşik konsantrasyonu içeren NSZY hafif-orta ateşte yapılan kızartma sırasındaki akrilamid formasyonunu etkili bir biçimde inhibe edebilmiştir. Orto-difenolik yönünden zengin NSZY'lerin kullanımının evlerde yapılan derin

kızartmalarda akrilamid formasyonunu azaltabilen güvenilir bir strateji olduğu öne sürülmüştür.

Kızartma sırasında PUFA'ların dekompozisyonu ile oluşan hidroksi alkenaller diğer potansiyel toksik ve karsinojenik bileşiklerdir [15]. Termal olarak okside yağlardaki hidroksiperoksidaz dekompozisyonunun kantitatif analizinde yüksek çözünürlüklü proton nükleer manyetik rezonans (1H-NMR) spektroskopisi (400-600 MHz) kullandık [33]. Farklı yağlar (NSZY, ayçiçek ve soya yağı) termostatik fritözde ısıtıldı (180 °C'de 360 dakika). Proton NMR 15 yağ örneğindeki (0, 60, 120, 240 ve 360 dakika ısıtma süresi) kantitatif aldehit analizi (n-alkanaller, trans-2-alkenaller, 4-hidroksitrans-2-alkenaller, alka-2,4-dienaller) silika kolon kromatografisi ile ölçülen total polar bileşiklerle ve gaz kromatografisi ile ölçülen kısa zincirli yağ asitleri ile karşılaştırılmıştır. Üç yağda 6 saatlik ısıtma boyunca farklı aldehitlerin formasyonu takip edilmiştir. Alka-2,4-dienallller ve trans-2-alkenaller tüm ısıtılan yağlarda NMR ile saptanan majör ürünlerdir. Trans-2-alkenal üretimi NSZY ve tohum yağlarında hemen hemen aynı seviyede bulunurken, pişirmenin sonunda oluşan n-alkaneller en büyük oranda NSZY'de tespit edilmiştir.

NSZY kullanılarak yapılan 6 saatlik ısıtmanın sonunda özellikle 4-hidroksi-2-alkenal (eşik değer 0.1 mM/L) tespit edilmedi. Bu bileşiklerin formasyonu poliansatüre yağ asitlerinin oksidasyonundan kaynaklanan konjuge hidroperoksidienlerin dekompozisyonu ile ilişkilidir [15]. Zeytinyağında bulunan düşük linoleik (%5-10) ve linolenik (%1'den az) asit miktarları bu bulguları açıklamaktadır. Aynı nedenle poliansatüre tohum yağları ile oluşan alka-2,4-dianeller de düşük miktarlarda (6 saatlik ısıtmadan sonra 1.1 mM/L) ölçülmüştür.

NSZY ile kızartılan gıdalarla ilgili diğer çalışmalar fenol bileşiklerinin alımına odaklanmıştır. Sürekli kızartma yağı olarak NSZY kullanılan patates kızartmalarının, (LC-MS ile ekstrakte edilerek ölçülebilen) anlamlı miktarda fenol bileşiği abzorbe ettikleri bulunmuştur [34]. Kalogeropoulos ve ark. [19] Yunanistan'da bulunan en popüler balık türlerini natürel sızma zeytinyağı içinde kızartarak incelemiştir. Taze balık, kızartma yağı ve kızarmış balıktaki polifenol, hidroksi pentasiklik triterpen asitler (HPTA) ve α-tokoferol analizleri yapılmıştır. Kızartma yağı örneklerinde 6 tanesi kızarmış balıkta da bulunan 9 polifenol tespit etmişlerdir. Terpenik asitler olan oleanolik, maslinik ve ursolik asitler kızartma yağı ve kızarmış balıkta da tespit edilmiştir. Tavada kızartma ile oluşan su kaybı ve yağ absorpsiyonunun yanında, kızartma yağında araştırılan tüm antioksidanlarda kısmı azalma meydana gelirken, kızarmış balıktaki antioksidan miktarları artmıştır. Araştırılan antioksidanların polariteleri kızartma yağı ile su içeren balık arasındaki partisyonda bir miktar etkilenmiştir.

Aynı yazarlar [20] Akdeniz'in geleneksel gastronomik kültürüne göre sığ NSZY'de kızartılan patates, yeşil biber, kabak ve patlıcanı araştırmıştır. Kabak ve patlıcanlar kızartılmadan önce buğday unu veya sulu hamur ile kaplanmıştır. Tespit edilen 12 polifenol arasında bulunan tirozol kızartma yağlarında ve kabak örneklerinde en sık rastlanan polifenoldür. Klorojenik asit ise diğer sebze örneklerinde en çok bulunan fenolik türüdür. Su kaybı ve yağ absorpsiyonuna ek olarak, sığ yağda kızartma ile kızartma yağındaki

tüm antioksidanların miktarlarında kısmi azalma ile kızartılan sebzelerdeki zeytinyağı kaynaklı antioksidan miktarlarında da artış tespit edilmiştir. Bu sonuçlar kısmen kızartılan sebzenin türünden ve uygulanan kızartma şeklinden etkilenmiştir. Yağdaki antioksidanların genel korunma oranları α-tokoferol için %32-64, polifenoller için %25-70 ve HPTA için %35-83 bulunmuştur. NSZY'de kızartılan sebzelerin α-tokoferol, terpenik asitler ile tirozol ve klorojenik asit gibi polifenollerin alımını artırdıkları düşünülmektedir.

Natürel zeytinyağının ve ticari sebze yağının performansı da (180 °C'de toplam 60 dakika süreli ardışık 10 tava patates kızartması ile 170 C'de toplam120 dakika süreli ardışık 10 derin patates kızartması) Andrikopoulos ve ark. tarafından araştırılmıştır [2]. Test edilen her iki yağ türünde de tavada kızartma derin kızartmaya göre daha kötü etki yapmıştır. Aynı etki natürel sızma zeytinyağında görülebilir spektrumlar ve total fenoller için de geçerliydi. Tavada kızartma performansı her iki yağ için de benzerken, natürel zeytinyağı derin kızartmada daha iyi performans göstermiştir. Tüm veri setinde oktatonik asit formasyonu ile total polar artefaktlar arasında çok güçlü bir ilişki gözlenmiştir.

Andrikopoulos ve ark. [3] yerel pratiklere uygun olarak natürel zeytinyağı, ayçiçek yağı ve sebze yağı kullanarak derin yağda veya tavada kızarttıkları patatesleri de ardışık sekiz seans boyunca test ettiler. Patateslerin yağ absorpsiyon oranları yağ tipine ve kızartma şekline bağlı olarak %6.1 ila %12.8 arasında bulunmuştur. Total fenoliklerin korunma oranları %70-80 (birinci kızartma) ile %20-30 (sekizinci kızartma) arasında değişmekteydi. Tannik asit, oleuropein ve hidroksitirosolelenolik asidin dialdehidik formu her iki kızartma şekline karşı anlamlı rezistans gösterirken, hidroksitirozol ve hidroksitirozol-elenolik asit daha hızlı elimine olmuştur. Diğer fenolik türlerin azalmaları, (evlerde gayet yaygın uygulandığı üzere üç ila dört saatlik kızartma seansları sonrasında) derin kızartma ile %40-50, tavada kızartma ile %20-30 düzeyinde bulunmuştur.

Kızartma yağındaki sağlığa yararlı mikro-bileşenlerin patates kızartmasına geçme oranları, bu termal prosesteki E vitamini davranışını inceleyen Chiou ve ark. tarafından da araştırılmıştır [8].

2.5 NSZY ve Süt Proteinleri

Zeytinyağı bileşikleri ile süt proteinleri arasındaki etkileşimler de gıda matriksinin algılanmasını ve nütrisyonel kalitesini değiştirebilir. Meynier ve ark. [24] NSZY'de yüksek miktarlarda bulunan heksanal ve t-2-heksanal uçucu bileşiklerinin peynir altı suyu proteinleri ve sodyum kazeinat ile kovalen bağlanarak okside lipidlerin varlığında amino asit kompozisyonunda değişimlere yol açabileceğini göstermişlerdir. Benzer bir davranış NSZY fenolik bileşikleri ile süt proteini arasında da, algılanan acılık ve buruklukta azalma ile birlikte gözlenebilir. Bir başka önemli konu da uçucu olan ve uçucu olmayan (biofenoller) bileşiklerin sudaki yağ emülsiyonları ile ilişkili olarak algılanma düzeyleridir. Emülsiyonlardaki hidrofobik tat komponentleri suda yağa göre daha düşük kon-

santrasyonlarda algılanabilir ve lipid oksidasyon ürünlerinin çoğu yağ fazında yüksek çözünürlüğe sahiptir [6].

NSZY ve süt proteinlerinin mevcut olduğu gıda sistemlerindeki etkileşimler NSZY'nin duyusal özelliklerinin ciddi biçimde modifiye olmasına yol açarak acılık ve burukluk tadının kaybına yol açar.

3 Sonuçlar

Burada kısaca tartışılan bilimsel kanıtlar NSZY'nin aktif fonksiyonel bir rolü olduğunu göstermiştir. Akdeniz diyetindeki bu rol sadece çiğ tüketildiğinde bir antioksidan kaynağı olmasından değil pişirme esnasında diğer gıda komponentlerini korumasından da kaynaklanmaktadır.

Diğer komponentlerle de (karotenoidler, omega-3 PUFA ve proteinler) çeşitli modifikasyonlar ve pozitif etkileşimler oluşabilir. NSZY ile pişirilen gıdaların nütrisyonel kalitesi ve antikarsinojenik etkileri artabilir. Bu etkinin varlığı pişmiş domates ve NSZY karışımı için net olarak gösterilmiştir [17].

Referanslar

1. Ambrosino ML, Della Medaglia D, Paduano A et al (2002) Behaviour of phenolic antioxidants of virgin oil during oil heating and frying. In: Amadò R et al (eds) Bioactive compounds in plant foods: healt effects and perspectives for the food industry. European scientific conference of COST action 916. EC Office for Official Publications, Luxembourg, pp 119–120, ISBN 92-828-1816-0
2. Andrikopoulos NK, Kalogeropoulos N, Falirea A et al (2002) Performance of virgin olive oil and vegetable shortening during domestic deep-frying and pan-frying of potatoes. Int J Food Sci Technol 37:177–190
3. Andrikopoulos NK, Dedoussis GVZ, Falirea A et al (2002) Deterioration of natural antioxidant species of vegetable edible oils during the domestic deep-frying and pan-frying of potatoes. Int J Food Sci Nutr 53:351–363
4. Arribas-Lorenzo G, Fogliano V, Morales FJ (2009) Acrylamide Formation in a cookie system as influenced by the oil phenol profile and degree of oxidation. Eur Food Res Technol 228:311–319
5. Beauchamp GK, Keast RS, Morel D et al (2005) Ibuprofen-like activity in extra-virgin olive oil. Nature 437:45–46
6. Beltran G, Paz Aguilera M, Gordon MH (2005) Solid phase microextraction of volatile oxidation compounds in oil-in-water emulsions. Food Chem 92:401–406
7. Brenes M, Garcia A, Dobarganes MC et al (2002) Influence of thermal treatments simulating cooking processes on the polyphenol content in virgin olive oil. J Agric Food Chem 50:5962–5967
8. Chiou A, Kalogeropoulos N, Boskou G et al (2012) Migration of health promoting microconstituents from frying vegetable oils to French fries. Food Chem 133:1255–1263
9. Cicerale S, Lucas LJ, Keast RS (2012) Antimicrobial, antioxidant and anti-inflammatory phenolic activities in extra virgin olive oil. Curr Opin Biotechnol 23:129–135
10. Della Medaglia D, Ambrosino ML, Spagna Musso S et al (1996) Modification of phenols during the storage and heating of extra-virgin olive oil. Oil Process and Biochemistry of lipids. In: 1st European meeting of the American oil chemists society, University of Burgundy, Dijon (France) 19–20 Sept, p B24

11. EFSA (2011) Scientific Opinion on the substantiation of health claims related to polyphenols in olive and protection of LDL particles from oxidative damage (ID 1333, 1638, 1639, 1696, 2865), "maintenance of normal blood HDL-cholesterol concentrations" (ID 1639), "maintenance of normal blood pressure" (ID 3781), "anti-inflammatory properties" (ID 1882), "contributes to the upper respiratory tract health" (ID 3468), "can help to maintain a normal function of gastrointestinal tract" (3779), and "contributes to body defences against external agents" (ID 3467) pursuant to Article 13(1) of Regulation (EC) No 1924/2006. EFSA J 9(4):2033
12. Fini L, Hotchkiss E, Fogliano V et al (2008) Chemopreventive properties of pinoresinol-rich olive oil involve a selective activation of the ATM-p53 cascade in colon cancer cell lines. Carcinogenesis 29:139–146
13. Fogliano V, Ritieni A, Monti S et al (1999) Antioxidant activity of virgin olive oil phenolic compounds in a micellar system. J Sci Food Agric 79:1803–1808
14. Fogliano V, Sacchi R (2006) Oleocanthal in olive oil: between myth and reality. Mol Nutr Food Res 50:5–6
15. Frankel EN (1998) Lipid Oxidation. The Oily Press Ed, Dundee
16. Frankel EN (2011) Nutritional and biological properties of extra virgin olive oil. J Agric Food Chem 59(3):785–792
17. Lee A, Thurnham I, Chopra M (2000) Consumption of tomato products with olive oil but not sunflower oil increases the antioxidant activity of plasma. Free Radical Biol Med 29:1051–1055
18. Lucas L, Russell A, Keast R (2011) Molecular mechanisms of inflammation. Anti-inflammatory benefits of virgin olive oil and the phenolic compound oleocanthal. J Agric Food Chem 59:785–792
19. Kalogeropoulos N, Chiou A, Mylona A et al (2007) Recovery and distribution of natural antioxidants (α-tocopherol, polyphenols and terpenic acids) after pan-frying of Mediterranean finfish in virgin olive oil. Food Chem 100:509–517
20. Kalogeropoulos N, Mylona A, Chiou A et al (2007) Retention and distribution of natural antioxidants (α-tocopherol, polyphenols and terpenic acids) after shallow frying of vegetables in virgin olive oil. LWT 40:1008–1017
21. Medina I, Sacchi R, Aubourg S (1995) A ^{13}C-NMR study of lipid alteration during fish canning: effect of filling medium. J Sci Food Agric 69:445–450
22. Medina I, Sacchi R, Giudicianni I et al (1998) Oxidation of fish lipids during thermal stress as studied by ^{13}C nuclear magnetic resonance spectroscopy. J Am Oil Chem Soc 75:147–154
23. Medina I, Sacchi R, Biondi L et al (1998) Effect of packing media on the oxidation of canned tuna lipids. Antioxidant effectiveness of extra virgin olive oil. J Agric Food Chem 46:1150–1157
24. Meynier A, Rampon V, Delgadarrondo M et al (2004) Hexanal and t-2-hexenal form covalent bonds with whey proteins and sodium caseinate in aqueous solution. Int Dairy J 14:681–690
25. Monti S, Ritieni A, Sacchi R et al (2001) Characterisation of phenolic compounds in virgin olive oil and their effect on the formation of carcinogenic/mutagenic heterocyclic amines in a model system. J Agric Food Chem 49:3969–3975
26. Napolitano A, Morales F, Sacchi R et al (2008) Relationship between virgin olive oil phenolic compounds and acrylamide formation in fried crisps. J Agric Food Chem 56:2034–2040
27. Omoni AO, Aluko RE (2005) The anti-carcinogenic and anti-atherogenic effects of lycopene: a review. Trends Food Sci Technol 16:344–350
28. Pannellini T, Iezzi M, Liberatore M et al (2010) A dietary tomato supplement prevents prostate cancer in TRAMP mice. Cancer Prev Res (Phila) 3:1284–1291
29. Pernice R, Vitaglione P, Sacchi R et al (2007) Phytochemicals in mediterranean diet: the interaction between tomato and olive oil bioactive compounds. In: Hui YH et al (eds) Handbook of food products manufacturing, Vol 2. Wiley-Interscience, London, pp 53–68. ISBN 978-0-470-04964-0

30. Persson E, Graziani G, Ferracane R et al (2003) Influence of antioxidants in virgin olive oil on the formation of heterocyclic amines in fried beef burgers. Food Chem Tox 41:1587–1597
31. Preedy V R, Watson RR (2010) Olives and olive oil in health and disease prevention. Academic Press, Elsevier Inc, USA
32. Sacchi R, Paduano A, Fiore F et al (2002) Partition behavior of virgin olive oil phenolic compounds in Oil-Brine mixtures during thermal processing for fish canning. J Agric Food Chem 50:2830–2835
33. Sacchi R, Falcigno L, Paduano A et al (2006) Quantitative evaluation of the aldehydes formed in heated vegetable oils using high resolution proton-NMR spectroscopy. Riv Ital Sostanze Grasse 82:257–263
34. Savarese M, Parisini C, De Marco E et al (2006) Detection of biophenols from virgin olive oil in fried French-fries potatoes by high-performance liquid chromatography tandem electrospray ionization mass spectrometry (HPLC-ESI/MS). In: 4th EuroFed lipid congress (Oils, fats and lipids for a Healthier future), University Complutense of Madrid, Spain
35. Vitaglione P, Fogliano V (2004) Use of antioxidants to minimize the human health risk associated to mutagenic/carcinogenic heterocyclic amines in food. J Chromatography B 802:189–199
36. Vitaglione P, Savarese M, Paduano A et al (2012) Healthy virgin olive oil: a matter of bitterness. Critical Rev Food Sci Nutr, in press

5. Bölüm
Kanserin Hayat Tarzı Değişimleri ile Önlenmesi

Kanser Reküransının Hayat Tarzı Değişimleri ile Önlenmesi: Yin ve Yang

Franco Berrino

Özet

Hayat tarzının kanser teşhisi sonrası prognozu etkileyebileceği ile ilgili kanıtlar giderek artmaktadır. Çeşitli çalışmalarda Batı diyet paterni, obezite, kilo alımı, sedanter yaşam tarzı, metabolik sendrom, yüksek serum insülin düzeyleri, büyüme faktörleri ve enflamatuar sitokinlerin kanser teşhisi sonrasındaki rekürans insidansını artırdığı gösterilmiştir. Bu çalışmaların çoğu meme ve kolon kanserinde yapılmıştır. Ancak kanserin klinik yönetiminde hayat tarzını iyileştirmeye ve vücut ağırlığını kontrol etmeye yeterince dikkat gösterilmemektedir. Kanser reküransı ile ilişkili gözlemlerin doğrulanabilmesi ya da çürütülmesi için hayat tarzı girişim çalışmalarına ihtiyaç vardır. Ancak şu anda bile orta derecede fiziksel egzersiz, orta derecede kalori kısıtlaması ve Akdeniz diyet paterninin uygulanmasının önünde bir kontrendikasyon mevcut değildir. AICR/WCRF 2007 tarafından gerçekleştirilen sistematik literatür analizleri sonucunda, kanser hastalarının kanserin önlenmesine uygun hayat tarzı sürdürmeleri tavsiye edilmektedir. AICR/WCRF tavsiyeleri ilginç biçimde uzak Doğu filozofisine dayanan geleneksel kurallarla benzerlik göstermektedir. Bu kurallarda şekerli içecekler ve kalori yoğun yiyecekler gibi aşırı "yin" gıdalardan ve işlenmiş et gibi gibi aşırı “yang” gıdalardan kaçınılması ve tam taneli işlenmemiş tahıllar gibi hafifçe yang gıdalar ile baklagiller ve sebzeler gibi hafifçe yin gıdaların dengeli olarak tüketilmesi gerekmektedir.

Anahtar Kelimeler

Makrobiyotik diyet • Hayat tarzı • Akdeniz diyet paterni • Meme kanseri

F. Berrino (✉)
Fondazione IRCCS Istituto Nazionale dei Tumori, Via Venezian, 1, 20133, Milan, Italy
e-mail: franco.berrino@istitutotumori.mi.it

V. Zappia et al. (eds.), *Advances in Nutrition and Cancer,*
Cancer Treatment and Research 159, DOI: 10.1007/978-3-642-38007-5_20,
© Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2014

Kısaltmalar

CMF	Siklofosfamid/metotreksat/5-florourasil
CR	Kalori kısıtlaması
MS	Metabolik sendrom

İçindekiler

1 Giriş 342
2 "Yin" Gıdalar ve "Yang" Gıdalar 343
3 Beslenmede Sinerji 345
4 Kanser ve Hayat Tarzı 347
Referanslar 349

1 Giriş

Dünyada bulaşıcı olmayan yaşa bağlı kronik hastalıkların prevalansının eşi görülmemiş bir şekilde arttığı bir döneme giriyoruz. Bu bulgu ekonomik ve sosyal problemlerde çok ciddi artışa yol açmaktadır. İnsanlarda görülen kronik hastalıklar kompleks ve nonlineer proseslerdir. Birbirine bağlı çok sayıda genetik ve metabolik yolaklardan kaynaklanan bu sorunla başa çıkabilmek için çok boyutlu önleyici stratejilerin kullanılması gerekmektedir. Hayvanlarda kanser ve yaşla ilişkili diğer kronik hastalıkların önlenmesi ile hayatın uzatılmasındaki en güçlü diyet girişimi kalori kısıtlamasıdır. İnsanlarda ise kalori yoğun diyetler ve sedanter yaşam tarzı artan metabolik sendrom (MS) prevalansından sorumludur ve sigara kullanımı ile birlikte en sık görülen kronik hastalıkların en önemli önlenebilir nedenidir. Metabolik sendroma insülin, büyüme faktörleri ve enflamatuar sitokinlerin düzeylerindeki artış aracılık yapar. MS'nin kanser reküransının majör belirleyicisi olduğu yönündeki kanıtlar da giderek artmaktadır [6, 44, 46, 49, 55, 59, 60]. Biz ve diğer araştırmacılar tarafından gösterildiği üzere, sürdürülebilir kalori kısıtlaması MS prevalansındaki azalma ile ilişkilidir. Bu amaca diyet alışkanlıklarının kapsamlı olarak değiştirilmesi ile ulaşılabilir. Değişimler hayvansal gıdaların ve rafine karbonhidratların azaltılması ile tam taneli tahılların, baklagillerin ve sebzelerin artırılmasını kapsar [2, 13]. Kronik hastalıklar sıklıkla Batı hayat tarzı faktörlerinin sonucunda oluşur. Ancak bugüne kadar, potansiyel koruyucu ve sürdürülebilir hayat tarzına yapılan yatırımlar muhtemel getirisine kıyasla oldukça düşüktür.

Kanser ve diğer kronik hastalıkların biyolojileri, son birkaç dekad içinde son derece hızlı gelişmekte ve kardiyovasküler hastalıkların önlenmesinde (spesifik risk faktörlerinin tedavi edilmesine dayanır) çok faydalı olan ancak kanser için çoğunlukla geçer-

siz olan geçmişte sık kullanılan indirgemeci yaklaşım yerine kompleksitenin önemini vurgulamaktadır. İnsanlarda şu anda kadar yapılan kanser kemoprevensiyon deneyleri giderek gelişmekte olan kanserin kompleks bir hastalık olduğu görüşünü dikkate alıyor görünmemektedir. Çoğu tek veya birkaç besin öğesinin takviyesine veya kullanımının durdurulmasına dayanan bu çalışmaların çoğu başarısız olmuş veya net olmayan sonuçlar vermiştir. Kanserin gelişiminde rol oynayan kompleks biyolojik sistemleri hedeflenen şekilde etkileyebilmek için muhtemelen çok boyutlu girişimlere ihtiyaç vardır. Çok sayıda dolaylı yolağın varlığı nedeniyle, bir veya birkaç yolağa odaklanan tek bir ajan veya faktör muhtemelen başarısız olacaktır. Hatta potansiyel olarak koruyucu olan yolaklarla etkileşerek tehlikeli olma ihtimali de vardır.

2 "Yin" Gıdalar ve "Yang" Gıdalar

Tüm gıdalar yaşayan organizmalar olan hayvan veya bitkilerden elde edilir. Bu gıdalar insanların ataları gibi milyonlarca yıllık süreç içinde evrimleşmiş son derece kompleks organizmalardır. Gıdaların mevcudiyeti insan evrimini etkilemiştir (tersi de geçerlidir). Toksik gıdalar giderek hızlanan şekilde tespit edilmekte ve diyetlerden çıkarılmaktadır. Doğal seleksiyon sağlıklı üremeyi mümkün kılacak gıda paternlerinin adaptasyonunu sağlamıştır. Tahıllar son 10-30.000 yıl içinde hemen tüm insan popülasyonlarının değişmez gıdası olmuştur. İnsanlar tahıllar ile baklagilleri aynı yemekte kombine etmenin avantajını, içeriklerindeki tamamlayıcı aminoasit kompozisyonunu öğrenmeden binlerce yıl önce kullanmaya başlamıştır. Diyetle lif tüketimi ve mortalite ilişkisini araştıran iki güncel kohort çalışması mevcuttur. Avrupa'da yapılan EPIC [8] ve ABD'de yapılan NCI-ARP çalışmasında [45], yüksek tahıl liflerinin kullanımının düşük kanser, kardiyovasküler, pulmoner, gastrointestinal ve enfeksiyon hastalıkları mortalitesi ile ilişkili olduğu istikrarlı olarak gösterilmiştir. Ayrıca sebze ile alınan liflerin de kısmen koruyucu olduğu ancak meyve liflerinin bu özelliği taşımadığı da tespit edilmiştir. İlginç biçimde tam taneli tahılların komponentlerin (lifler, vitaminler veya mineraller) izole olarak uygulanmasında koruyucu etki görülmemesi [26], tahıllardaki birden fazla bileşenin bir araya gelerek "gıda sinerjisi" ile toplam etki yaptığını düşündürmektedir [23–25].

Tam taneli tahıllar (başlıca esmer pirinç, darı, arpa, yulaf) ve kısmen de kara buğday ve buğday makarnası makrobiyotik bir diyetin temel komponentleridir. Ayrıca %20-30 lokal sebzeler, %5-10 fasulye (geleneksel soya ürünleri de içerir), deniz sebzeleri ile bazen de meyve, sert kabuklu yemişler ve balık içerir [33]. 2007 WCRF/AICR kanserin önlenmesi tavsiyeleri ilginç bir şekilde şeker ve şekerli ve alkollü içecekler gibi aşırı derecede "yin" gıdalar ile işlenmiş et, tuzlu gıdalar, kırmızı et gibi aşırı "yang" gıdalardan sakınılmasını öneren makrobiyotik tavsiyelerle genel bir benzerlik göstermektedir.[1] Ana tavsiye olan "Çoğunlukla bitkisel kaynaklı gıdalar tüketiniz. Hergün çeşitli nişastasız sebzeler ve

[1] www.dietandcancerreport.org

Tablo 1 WCRF tavsiyeleri

• Normal sınırlar içindeki vücut ağırlığına mümkün olduğu kadar yakın olunuz
• Fiziksel aktiviteyi günlük yaşamın bir parçası haline getirerek aktif kalınız
• Enerji yoğun besinlerin tüketimini azaltınız ve şekerli içeceklerden kaçınınız
• Çoğunlukla bitkisel kaynaklı gıdalar tüketiniz. "Hergün çeşitli nişastasız sebzeler ve çeşitli meyveler" ile "her öğünde görece az işlenmiş tahıllar (taneli) ve/veya bakliyat" tüketiniz
• Kırmızı et tüketimini azaltınız ve işlenmiş etten sakınınız
• Alkollü içkileri azaltınız
• Tuz tüketimini azaltınız. Küflü tahıl veya baklagil tüketiminden sakınınız
• Nütrisyonel ihtiyaçları sadece diyetle karşılamaya çalışınız
• Anneler emzirmeli; bebekler emzirilmelidir
• Kanser hastaları kanserin önlenmesi ile ilişkili tavsiyelere uymalıdır

Şekil 1 Yin ve yang kavramını temsil eden Tao piktogramı.



çeşitli meyveler ile her öğünde görece az işlenmiş tahıllar ve/veya bakliyat tüketiniz" ifadesi aynı zamanda Akdeniz diyetinin de temel özelliğidir. Aynı zamanda endüstri devriminden önceki toplumlarının çoğunun temel gıdalarıdır: İtalya'da fasulye ile makarna, Kuzey Afrika'da nohut ile kuskus, Asya'da soya ürünleri ile pirinç, Orta Amerika'da darı ile börülce, Siyahi Afrika'da darı ve yer fıstığı bu yiyeceklere örnek olarak verilebilir.

Tablo 2 Yin-yang kriterlerine göre sıralanmış WCRF nütrisyonel tavsiyeleri

Şekerli içeceklerden kaçınız	▼▼▼
Alkollü içkileri azaltınız	▼▼
Yüksek enerjili gıdaları azaltınız	▼
Çoğunlukla görece az işlenmiş tahıllar, bakliyat, sebzeler içeren, bitkisel kaynaklı gıdalar tüketiniz.	
Kırmızı et tüketimini azaltınız	▼
Tuz tüketimini azaltınız	▼▼
İşlenmiş etlerden sakınınız	▼▼▼

Yin-yang konsepti Çin filozofisinde polar karşıtların veya belirgin olarak zıt güçlerin doğal dünyada birbirleriyle nasıl bağlantılı olduklarını ve herşeyin meydana gelmesine nasıl neden olduklarını tanımlamakta kullanılır. Yin ve yang karşıt değil tamamlayıcı güçlerdir. Herşeyin hem yin hem de yang yönü vardır. Yin ve yang konsepti Tao piktogramı ile gösterilmektedir (Şekil 1). Sembolik olarak omuzlarındaki bambu kamışına asılı iki sepetten birinde yin enerjisini diğerinde ise yang enerjisini taşıyan yürüyen bir adam ile ifade edilir. Bu insan sadece iki enerji arasında mükemmel bir denge olması halinde Tao'ya doğru ilerleyebilir. Klasik olarak "yang" ifadesi "güneşli tarafı", "yin" ifadesi ise "gölgeli tarafı" sembolize eder. Karanlık, pasif, kadınsı, soğuk, ıslak, yaygın ve zayıf olan "yin" dünya ile ilişkilidir. Parlak, aktif, erkeksi, sıcak, kuru, odaklı ve güçlü olan "yang" ise gökyüzü ve güneş ile ilişkilidir. Hayvansal besinler, özellikle de tuz ve tuzlu et yangdır. Bitkisel besinler ise yindir. Yağlar, alkollü içkiler ve şeker gibi rafine besinlerin çoğu da yindir.

Tablo 2 WCRF/AICR tavsiyelerinin yin ve yangdaki makrobiyotik sınıflamaya göre sıralanmış halini göstermektedir. Bir üçgen ile sembolize edilen yang bu üçgenin tabanında huzur içinde dinlenmektedir. Yini sembolize eden üçgen ise tepe noktasındaki dengeyi zorlukla sağlayabilmektedir. WCRF/AICR tavsiyelerinin aslında aşırı derecede yin ve yang gıdalardan sakınılmasını, yin ve yang gıdalarının dengesini bozan gıdaların azaltılmasını, taneli işlenmemiş tahıllar gibi hafifçe yang gıdaların, baklagiller ve sebzeler gibi hafifçe yin gıdalar ile dengelenmesini önerdiği görülmektedir.

Gerçekten de ılıman iklimlerde yaşayan tüm toplumların gastronomik geleneklerine bakıldığında, genel olarak yang ve yin gıdalarının dengelenmeye çalışıldığı görülmektedir: Balık sıklıkla kaynatılmış patatesle, hindi kestane ile doldurulmuş olarak, kırmızı et biraz salata ve kırmızı şarapla servis edilir; İtalya'da tuzlu jambon karpuzla, Sicilya'da narenciye türü meyveler tuz ile tüketilir; kırmızı etten yapıldığı ve yüksek ısıda pişirildiği için aşırı derecede yang bir gıda olan hamburger sıklıkla buzlu ve şekerli yin içeceklerle tüketilmektedir. Sadece çok soğuk (yin) iklimlerde domuz pastırması ve yumurta gibi çok yang olan kahvaltılar tüketilir. Sıcak iklimlerde ise yin meyveler ve tatlılar tercih edilir. Taoist filozofinin ana prensiplerinden biri wu-wei'nin (tam anlamı eylemsizliktir) eylemsizlik ile uygulanması vurgular. Temel olarak doğaya saygı duyma, doğa ile uyum sağlama ve natürelliği ifade eder. Nütrisyonel olarak da aşırı derecede işlenmiş gıdaların yerine natürel, basit ve uyumlu gıdaların seçilmesine dayanır.

3 Beslenmede Sinerji

Gıda komponentleri arasında sinerji oluşturan basit gıdaların tercih edilmesi giderek daha fazla kabul görmektedir [25]. Balıktan alınan omega-3 yağ asitlerinin biyoyararlanımı takviyelerle alınandan birkaç kat daha yüksektir. Yağda çözünen bir vitaminin takviye olarak alınması aynı taşıyıcı mekanizmayı kullanan vitaminlerin absorpsiyonunda azalmaya yol açabilir. Gıda takviyeleri (başlıca antioksidan vitaminler, mineral-

ler ve B vitaminleri) ile ilgili randomize kontrollü çalışmaların çoğunda ya hiçbir etki bulunmamış ya da advers olaylar görülmüştür. Buna karşın ihtiyatlı veya Akdeniz diyet paterni skoru yüksek olan bireylerde gerçekleştirilen gözlemsel çalışmalarda kronik hastalık insidansı daha düşük bulunmuştur. Diyabet [51], kardiyovasküler hastalık [18, 30], Alzheimer [53], meme [9, 57, 61], mide [3], kolon [5] ve pankreas [27] kanserini de içeren çeşitli kanserlerin insidansları bu bireylerde anlamlı olarak daha düşük bulunmuştur.

Doğal gıdaların içerikleri koordinasyon içindedir ve ortama göre konsantrasyonları farklılıklar gösterir. Örneğin dağlarda büyüyen sebzeler, soğuktan koruyan poliansatüre yağ asitleri yönünden daha zengindir. Yüksek oranda poliansatüre yağ asidi içeren gıdalar da antioksidan fitokimyasallar yönünden genellikle daha zengindir. Fitokimyasalların gen ekspresyonunu etkiledikleri, DNA metilasyonunu, histon asetilasyonunu ve mikro-RNA'yı artırdığı ya da azalttıkları yönündeki kanıtlar giderek artmaktadır. Çeşitli kanser türlerinde gösterilen spesifik DNA metilasyonları ve histon modifikasyonları çoğunlukla proenflamatuar mikroortamlarla ilişkilidir. Epigenetik değişimler prensipte ardışık mitotik bölünmeler ile iletilebildiği için, gebelik öncesi veya embriyonik gelişim sırasında oluşmaları organizmanın genel epigenetik statüsü üzerinde çok daha büyük etki yapacaktır. Ancak diyet ve fiziksel aktivite gibi çevresel faktörler her yaşta DNA modifikasyonuna ve histon asetilasyonuna yol açabilirler [14, 36]. Global hipometilasyon ve bulunduğu bölgeye spesifik hipermetilasyon insan tümörlerinin genel özelliğidir. Diyet epigenetik paternleri derinden değiştirebilir. Ancak insan hastalıklarının gelişiminde diyet ve epigenetik arasındaki nedensel ilişki hala çok az düzeyde anlaşılmıştır. Hangi advers epigenetik işaretlerin ilaçlar, besinler veya hayat tarzı değişimleri ile geriye çevrilebileceğini araştıran zorlu bir araştırma alanı gelişmektedir. Elliden fazla biyoaktif fitokimyasalın DNA metiltransferaz veya histon asetilaz/deasetilazı etkilediği gösterilmiştir. Hayvanlarda veya insan hücre kültürlerinde yapılan deneysel çalışmalar fitokimyasalların kanserdeki rolünü desteklemektedir. Ancak bu deneyler insanlardaki konsantrasyonların çok üzerindeki değerler ile gerçekleştirilmiştir. Bu sonuçlardan bu maddelerin insanlardaki hastalıkların önlenmesi ile ilişkili etkilerini tahmin etmek çok güçtür. Ancak fizyolojik konsantrasyonlara sürekli maruz kalmanın epigenomu kümülatif bir şekilde yeniden yapılandırabileceği yönündeki kanıtlar artmaktadır [52]. Ayrıca bu deneylerde kullanılan tam gıda ekstrelerinin izole spesifik bileşenlere göre anlamlı olarak daha yüksek fizyolojik etkileri olduğu bulunmuştur: "Tabiat ana bitkileri yaratırken ne yaptığını biliyordu: Sebzeler, meyveler, tam tahıllar, sert kabuklu yemişler ve baklagiller vitamin, mineral, lif, protein, antioksidan ve daha birçok önemli bileşenin zengin kombinasyonlarını içeren mükemmel örneklerdir" ([24] nolu referanstan alınmıştır). Biyolojik olarak aktif gıda komponentleri hakkında henüz bilmediğimiz ve anlamadığımız çok şey olduğu için gıdaların doğal formlarına en uygun şekilde tüketilmesi daha uygun olacaktır: Şimdi doğa ile uyum içinde olma zamanıdır.

4 Kanser ve Hayat Tarzı

Çeşitli çalışmalarda Batı diyet paterni, obezite, kilo alımı, sedanter yaşam tarzı, metabolik sendrom, yüksek serum insülin düzeyleri, büyüme faktörleri ve enflamatuar sitokinlerin kanser teşhisi sonrasındaki rekürans insidansını artırdığı ve kansere spesifik sağkalımı azalttığı gösterilmiştir.< Çalışmaların çoğu meme ve kolon kanserinde yapılmıştır. Ancak kanserin klinik yönetiminde hayat tarzını iyileştirmeye ve vücut ağırlığını kontrol etmeye yeterince dikkat gösterilmemektedir.

KANSER reküransı ile ilişkili gözlemlerin doğrulanabilmesi ya da çürütülmesi için hayat tarzı girişim çalışmalarına ihtiyaç vardır. Ancak şu anda bile orta derecede fiziksel egzersiz, orta derecede kalori kısıtlaması ve Akdeniz diyet pateninin uygulanmasının önünde bir kontrendikasyon mevcut değildir. Çeşitli çalışmalarda meme [10, 37, 50, 54], kolorektal [11, 20] ve prostat kanseri [17, 38] teşhisi koyulan obez bireylerin kanserin evresinden ve hastalığın diğer biyolojik özelliklerinde bağımsız olarak daha düşük genel ve hastalıksız sağkalıma sahip oldukları gösterilmiştir. Son zamanlarda yapılan klinik bir çalışmada obezitenin non-Hodgkin lenfoma için de olumsuz bir prognostik faktör olduğu gösterilmiştir [16]. Meme kanseri hastalarını takip eden 43 çalışmanın metaanalizinde obez hastaların normal kilolu hastalara göre hem genel [HR 1.33; %95 güven aralığı (CI) 1.21, 1.47] hem de meme kanserine spesifik sağkalımlarının (HR 1.33; %95 CI 1.19, 1.50) daha kötü olduğu gösterilmiştir. Benzer sonuçlar obezite ölçütü olarak bel kalça oranı kullanıldığında da elde edilmiştir (HR 1.31; 1.08, 1.58). Bu etki hem premenopozal hem postmenopozal hastalar ile tedavi ve gözlem kohortları için de geçerliydi [50].

Meme kanseri teşhisi sonrası kilo alımının total ve meme kanseri mortalitesini artırdığı yönünde kanıtlar da vardır. Bir başka çalışmada her 5 kg'lık kilo artışının meme kanserine spesifik mortalitede %13 azalma ile ilişkili olduğu bulunmuştur [43]; tanı sonrası kilo kaybı ise tüm nedenlere bağlı ölümde artışa yol açarken, meme kanserine bağlı ölümleri ise (kilosu değişmeyenlere göre) anlamlı olmayan düzeyde azaltmıştır. Çeşitli çalışmalarda CMF bazlı adjuvan kemoterapi esnasındaki kilo alımının genel olarak daha kötü prognoz ile ilişkili olduğu gösterilmiştir [5, 31]. Kendi çalışmamızda adjuvan kemoterapi esnasındaki kilo alımının önlenebileceğini gösterdik [59]. Ancak günümüzde meme kanserinin klinik yönetiminde kilo kontrolüne yeterince dikkat gösterilmemektedir.

Diyetle alınan yağın azaltılmasının etkisinin test edildiği 2500 meme kanseri hastası ile yapılan randomize kontrollü çalışmada yeni meme kanseri olaylarında %24 (sınırda anlamlı) oranında azalma gösterilmiştir (lokal ve distal rekürans ile kontralateral meme kanseri) [7]. Bu çalışmanın girişim kolundaki kadınlar 5 yıllık takip süresince ortalama 2.1 kg zayıflamıştır. Yağ alımını azaltmanın ve meyve ve sebze tüketimini artırmanın (başlıca meyve ve sebze suları ile) etkisinin 3000'den fazla hastada test edildiği bir başka çalışmada ise herhangi bir koruyucu etki tespit edilmemiştir; ancak çalışmanın dizaynının izokalorik olması nedeniyle girişim grubuna randomize edilen kadınlar biraz kilo almıştır [48]. Bu tür bir çelişkinin olası nedeni orta derecede kalori kısıtlamasının meme kanseri reküransından koruyabilme ihtimalidir.

Opere edilen binlerce meme [21, 22, 47] ve kolorektum kanseri [20, 40] hastasında yapılan gözlemsel çalışmalarda ise tanı sonrası orta düzeyde fiziksel egzersiz yapanlardaki rekürans ve ölüm riskinin azaldığı tespit edilmiştir. I ve IV. evredeki kolon kanseri olan hastalarda herhangi bir etki mevcut değilken, II ve III: evrelerdeki hastalarda ise belirgin etki tespit edilmiştir. Fiziksel aktivitenin meme kanseri hastalarındaki etkisi östrojen reseptörü pozitif tümörlerle sınırlıdır. Hergün tempolu yürüyüş düzeyinde 30 dakika egzersiz yapan kadınlardaki kansere spesifik mortalite %30-50 oranında azalmıştır. Fiziksel aktivitenin koruyucu olmasının altında yatan mekanizma muhtemelen insülin sensitivitesi üzerindeki etkisinden kaynaklanmaktadır.

Adjuvant kemoterapi gören kolon kanseri hastalarının katıldığı diyet paterni ile ilişkili gözlemsel bir çalışmada yüksek Batı diyeti skorunun rekürans riskinde anlamlı artış ile ilişkili olduğu bulunmuştur. Daha yüksek faktör yükü olan besinler arasında peynir, yağlı soslar, margarinler, tatlılar, kırmızı et ve işlenmiş et mevcuttur [39] Ancak meme kanseri hastalarında yapılan benzer çalışmalarda Batı diyet paterni ile tüm nedenlere bağlı ölüm daha düşük tespit edilmiştir. Bu etki meme kanserine spesifik mortalite için geçerli değildir [32, 35]. Ovaryum kanseri hastalarında yapılan iki çalışmada süt ürünlerinden zengin ve sebze yönünden fakir diyetlerin daha kötü sağkalım ile ilişkili olduğu bulunmuştur [12, 41]. Ancak bu çalışmalar çalışmada yer alan hastaların tanı öncesindeki diyetlerini hatırlamalarına dayanmaktadır. Gözlemsel çalışmalarda soya [4, 19, 29, 56] ve turpgiller gibi spesifik sebze yemeklerinin hem hormon tedavisi alan hem de almayan meme kanseri hastalarındaki reküransı azaltmaya yardımcı olabileceği öne sürülmüştür. Ayrıca gıdalarla alınan deniz ürünleri kaynaklı yağ asitlerinin de meme kanseri reküransında ve tüm nedenlere bağlı ölümde muhtemel azalma ile ilişkili olduğu gösterilmiştir: 6 yıl süreli olan ve hastaların son 24 saat içinde yediklerini hatırlamalarına dayanarak diyet değerlendirmesi yapan bir çalışmada uzun zincirli omega 3 yağ asidi tüketimi en yüksek 2 üçtebirlik dilimde olan meme kanseri hastalarında ilave meme kanseri olaylarının görülme riski %25 azalmıştır [27, 58]. Omega-3 takviyelerinin tüketimi ile herhangi bir koruyucu etki tespit edilmemiştir. Meme kanserinde multivitamin desteğinin araştıran çalışmalarda elde edilen sonuçlar ise çelişkilidir [34, 42].

DIANA (Diyet ve Androjen) çalışmalarında meme kanserinin önlenmesinde diyet girişimlerinin etkisi araştırılmıştır. Birkaç ay süreyle uygulanan Akdeniz ve makrobiyotik diyetin yüksek meme kanseri riski altındaki kadınların metabolik ve endokrin özelliklerini olumlu yönde (insülin düzeyleri ile büyüme faktörlerinin ve seks hormonlarının biyoyararlanımlarının azalması) modifiye etmek için yeterli olduğu gösterilmiştir [2, 28]. Hala sürmekte olan DIANA-5 projesi [60] metabolik sendrom ve/veya yüksek serum insülin veya testosteron düzeyleri nedeniyle yüksek rekürans riski altında bulunan 2000 meme kanseri hastasında diyet ve fiziksel aktivitenin etkisini araştıran randomize kontrollü bir çalışmadır. Çalışmanın amacı 2007 Dünya Kanser Araştırma Fonu tavsiyelerinde yer alan orta derecede fiziksel egzersiz, orta düzeyde kalori kısıtlaması ile büyük bölümü bitkisel kaynaklı olan ve çok çeşitli işlenmemiş taneli tahıllar, baklagiller, mevsim sebzeleri ve meyve içeren diyetlerin meme kanseri reküransını anlamlı olarak azaltabileceği hipotezini test etmektir.[2]

[2] www.dietandcancerreport.org

Bu ve diğer çalışmalardan kanserle ilişkili morbiditenin azaldığını ve hayat kalitesinin yükseldiğini gösteren sonuçlar elde edilmesi durumunda, diyet tavsiyesi ve kilo kontrolü meme kanseri hastaları için yeni bir bakım standardı haline gelebilir.

Referanslar

1. Agnoli C, Krogh V, Grioni S, Sieri S et al (2011) A priori-defined dietary patterns are associated with reduced risk of stroke in a large Italian cohort. J Nutr 141:1552–1558
2. Berrino F, Bellati C, Secreto G et al (2001) Reducing bioavailable sex hormones through a comprehensive change in diet: the diet and androgens (DIANA) randomized trial. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 10:25–33
3. Buckland G, Agudo A, Lujan L et al (2010) Adherence to a Mediterranean diet and risk of gastric adenocarcinoma within the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC) cohort study. Am J Clin Nutr 91:381–390
4. Caan BJ, Natarajan L, Parker B et al (2011) Soy food consumption and breast cancer prognosis. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 20:854–858
5. Camoriano JK, Loprinzi CL, Ingle JN et al (1990) Weight change in women treated with adjuvant therapy or observed following mastectomy for node-positive breast cancer. J Clin Oncol 8:1327–1334
6. Castillejos-Molina R, Rodriguez-Covarrubias F et al (2011) Impact of metabolic syndrome on biochemical recurrence of prostate cancer after radical prostatectomy. Urol Int 87:270–275
7. Chlebowski RT, Blackburn GL, Thomson CA et al (2006) Dietary fat reduction and breast cancer outcome: interim efficacy results from the Women's Intervention Nutrition Study. J Natl Cancer Inst 98:1767–1776
8. Chuang SC, Norat T, Murphy N et al (2012) Fiber intake and total and cause-specific mortality in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition cohort. Am J Clin Nutr 96:164–174
9. Cottet V, Touvier M, Fournier A et al (2009) Postmenopausal breast cancer risk and dietary patterns in the E3N-EPIC prospective cohort study. Am J Epidemiol 170:1257–1267
10. Dawood S, Broglio K, Gonzalez-Angulo AM et al (2008) Prognostic value of body mass index in locally advanced breast cancer. Clin Cancer Res 14:1718–1725
11. Dignam JJ, Polite BN, Yothers G et al (2006) Body mass index and outcomes in patients who receive adjuvant chemotherapy for colon cancer. J Natl Cancer Inst 98:1647–1654
12. Dolecek TA, McCarthy BJ, Joslin CE et al (2010) Prediagnosis food patterns are associated with length of survival from epithelial ovarian cancer. J Am Diet Assoc 110:369–382
13. Esposito K, Marfella R, Ciotola M et al (2004) Effect of a mediterranean-style diet on endothelial dysfunction and markers of vascular inflammation in the metabolic syndrome: a randomized trial. JAMA 292:1440–1446
14. Fraga MF, Ballestar E, Paz MF et al (2005) Epigenetic differences arise during the lifetime of monozygotic twins. Proc Natl Acad Sci USA 102:10604–10609
15. Fung TT, Hu FB, Wu K et al (2010) The Mediterranean and dietary approaches to stop hypertension (DASH) diets and colorectal cancer. Am J Clin Nutr 92:1429–1435
16. Geyer SM, Morton LM, Habermann TM et al (2010) Smoking, alcohol use, obesity, and overall survival from non-Hodgkin lymphoma: a population-based study. Cancer 116:2993–3000
17. Gong Z, Agalliu I, Lin DW et al (2007) Obesity is associated with increased risks of prostate cancer metastasis and death after initial cancer diagnosis in middle-aged men. Cancer 109:1192–1202

18. Guallar-Castillon P, Rodriguez-Artalejo F, Tormo MJ et al (2012) Major dietary patterns and risk of coronary heart disease in middle-aged persons from a Mediterranean country: the EPIC-Spain cohort study. Nutr Metab Cardiovasc Dis 22:192–199
19. Guha N, Kwan ML, Quesenberry CP et al (2009) Soy isoflavones and risk of cancer recurrence in a cohort of breast cancer survivors: the Life After Cancer Epidemiology study. Breast Cancer Res Treat 118:395–405
20. Haydon AM, Macinnis RJ, English DR et al (2006) Effect of physical activity and body size on survival after diagnosis with colorectal cancer. Gut 55:62–67
21. Holick CN, Newcomb PA, Trentham-Dietz A et al (2008) Physical activity and survival after diagnosis of invasive breast cancer. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 17:379–386
22. Holmes MD, Chen WY, Feskanich D et al (2005) Physical activity and survival after breast cancer diagnosis. JAMA 293:2479–2486
23. Jacobs DR Jr, Steffen LM (2003) Nutrients, foods, and dietary patterns as exposures in research: a framework for food synergy. Am J Clin Nutr 78:508S–513S
24. Jacobs DR Jr, Tapsell LC (2007) Food, not nutrients, is the fundamental unit in nutrition. Nutr Rev 65:439–450
25. Jacobs DR Jr, Gross MD, Tapsell LC (2009) Food synergy: an operational concept for understanding nutrition. Am J Clin Nutr 89:1543S–1548S
26. Jacobs DR, Pereira MA, Meyer KA et al (2000) Fiber from whole grains, but not refined grains, is inversely associated with all-cause mortality in older women: the Iowa women's health study. J Am Coll Nutr 19:326S–330S
27. Jiao L, Mitrou PN, Reedy J et al (2009) A combined healthy lifestyle score and risk of pancreatic cancer in a large cohort study. Arch Intern Med 169:764–770
28. Kaaks R, Bellati C, Venturelli E et al (2003) Effects of dietary intervention on IGF-I and IGF-binding proteins, and related alterations in sex steroid metabolism: the diet and androgens (DIANA) randomised trial. Eur J Clin Nutr 57:1079–1088
29. Kang X, Zhang Q, Wang S et al (2010) Effect of soy isoflavones on breast cancer recurrence and death for patients receiving adjuvant endocrine therapy. CMAJ 182:1857–1862
30. Keys AB, Keys M (1975) Eat well and stay well the Mediterranean way. Doubleday, Garden City
31. Kroenke CH, Chen WY, Rosner B et al (2005a) Weight, weight gain, and survival after breast cancer diagnosis. J Clin Oncol 23:1370–1378
32. Kroenke CH, Fung TT, Hu FB et al (2005b) Dietary patterns and survival after breast cancer diagnosis. J Clin Oncol 23:9295–9303
33. Kushi LH, Cunningham JE, Hebert JR et al (2001) The macrobiotic diet in cancer. J Nutr 131:3056S–3064S
34. Kwan ML, Greenlee H, Lee VS et al (2011) Multivitamin use and breast cancer outcomes in women with early-stage breast cancer: the Life After Cancer Epidemiology study. Breast Cancer Res Treat 130:195–205
35. Kwan ML, Weltzien E, Kushi LH et al (2009) Dietary patterns and breast cancer recurrence and survival among women with early-stage breast cancer. J Clin Oncol 27:919–926
36. Ling C, Groop L (2009) Epigenetics: a molecular link between environmental factors and type 2 diabetes. Diabetes 58:2718–2725
37. Loi S, Milne RL, Friedlander ML et al (2005) Obesity and outcomes in premenopausal and postmenopausal breast cancer. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 14:1686–1691
38. Ma J, Li H, Giovannucci E et al (2008) Prediagnostic body-mass index, plasma C-peptide concentration, and prostate cancer-specific mortality in men with prostate cancer: a long-term survival analysis. Lancet Oncol 9:1039–1047
39. Meyerhardt JA, Niedzwiecki D, Hollis D et al (2007) Association of dietary patterns with cancer recurrence and survival in patients with stage III colon cancer. JAMA 298:754–764
40. Meyerhardt JA, Ogino S, Kirkner GJ et al (2009) Interaction of molecular markers and physical activity on mortality in patients with colon cancer. Clin Cancer Res 15:5931–5936

41. Nagle CM, Purdie DM, Webb PM et al (2003) Dietary influences on survival after ovarian cancer. Int J Cancer 106:264–269
42. Nechuta S, Lu W, Chen Z et al (2011) Vitamin supplement use during breast cancer treatment and survival: a prospective cohort study. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 20:262–271
43. Nichols HB, Trentham-Dietz A, Egan KM et al (2009) Body mass index before and after breast cancer diagnosis: associations with all-cause, breast cancer, and cardiovascular disease mortality. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 18:1403–1409
44. Oh SW, Park CY, Lee ES et al (2011) Adipokines, insulin resistance, metabolic syndrome, and breast cancer recurrence: a cohort study. Breast Cancer Res 13:R34
45. Park Y, Subar AF, Hollenbeck A et al (2011) Dietary fiber intake and mortality in the NIH-AARP diet and health study. Arch Intern Med 171:1061–1068
46. Pasanisi P, Berrino F, De Petris M et al (2006) Metabolic syndrome as a prognostic factor for breast cancer recurrences. Int J Cancer 119:236–238
47. Patterson RE, Cadmus LA, Emond JA et al (2010) Physical activity, diet, adiposity and female breast cancer prognosis: a review of the epidemiologic literature. Maturitas 66:5–15
48. Pierce JP, Natarajan L, Caan BJ et al (2007) Influence of a diet very high in vegetables, fruit, and fiber and low in fat on prognosis following treatment for breast cancer: the women's healthy eating and living (WHEL) randomized trial. JAMA 298:289–298
49. Post JM, Beebe-Dimmer JL et al (2011) The metabolic syndrome and biochemical recurrence following radical prostatectomy. Prostate Cancer 2011:245642
50. Protani M, Coory M, Martin JH (2010) Effect of obesity on survival of women with breast cancer: systematic review and meta-analysis. Breast Cancer Res Treat 123:627–635
51. Romaguera D, Guevara M, Norat T et al (2011) Mediterranean diet and type 2 diabetes risk in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC) study: the InterAct project. Diabetes Care 34:1913–1918
52. Scalbert A, Manach C, Morand C et al (2005) Dietary polyphenols and the prevention of diseases. Crit Rev Food Sci Nutr 45:287–306
53. Scarmeas N, Stern Y, Mayeux R et al (2009) Mediterranean diet and mild cognitive impairment. Arch Neurol 66:216–225
54. Sestak I, Distler W, Forbes JF et al (2010) Effect of body mass index on recurrences in tamoxifen and anastrozole treated women: an exploratory analysis from the ATAC trial. J Clin Oncol 28:3411–3415
55. Shen Z, Ye Y, Bin L et al (2010) Metabolic syndrome is an important factor for the evolution of prognosis of colorectal cancer: survival, recurrence, and liver metastasis. Am J Surg 200:59–63
56. Shu XO, Zheng Y, Cai H et al (2009) Soy food intake and breast cancer survival. JAMA 302:2437–2443
57. Sieri S, Krogh V, Pala V et al (2004) Dietary patterns and risk of breast cancer in the ORDET cohort. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 13:567–572
58. Thomson CA, Rock CL, Thompson PA et al (2011) Vegetable intake is associated with reduced breast cancer recurrence in tamoxifen users: a secondary analysis from the women's healthy eating and living study. Breast Cancer Res Treat 125:519–527
59. Villarini A, Pasanisi P, Raimondi M et al (2012) Preventing weight gain during adjuvant chemotherapy for breast cancer: a dietary intervention study. Breast Cancer Res Treat 135:581–589
60. Villarini A, Pasanisi P, Traina A et al (2012) Lifestyle and breast cancer recurrences: The DIANA-5 trial. Tumori 98:1–18
61. Wu AH, Yu MC, Tseng CC et al (2009) Dietary patterns and breast cancer risk in Asian American women. Am J Clin Nutr 89:1145–1154

6. Bölüm
Çığır Açan Yenilikler

Eski Bir Antidiyabetik İlaca Yeni Yaklaşım: Antikanser Ajan Olarak Metformin

Alessandra Leone, Elena Di Gennaro, Francesca Bruzzese, Antonio Avallone ve Alfredo Budillon

Özet

Pahalı olmayan, iyi tolere edilen ve tip 2 diyabetin birinci basamak tedavisinde sıklıkla kullanılan, oral ajan metforminin potansiyel antikanser ajan özelliği önemli bir araştırma konusu haline gelmiştir. Epidemiyolojik, klinik ve preklinik kanıtların birleşimini yansıtan bu araştırmalar metforminin diyabetiklerdeki kanser riskini azaltabileceğini ve birçok sık görülen kanser türünün sonuçlarını iyileştirebileceğini göstermektedir. Metforminin diyabetiklerde hayat boyunca görülen kanser riskini yaklaşık %30 azaltabilmesi dikkate değer bir bulgudur. Metforminin ekteki etkilerinin varlığı giderek daha fazla kabul edilmektedir: (1) Mitokondriyal respirasyonu etkileyerek hücrelerdeki enerji homeostazını kontrol eden AMP-aktive protein kinaz (AMPK) aktivasyonuna yol açarak kanser hücrelerini direkt olarak etkileyebilir. (2) Büyük oranda AMPK aracılığında gerçekleşen hepatik glukoneojenezi azaltarak dolaşımdaki insülin düzeylerinin azalmasına ve PI3K yolağının insülin/IGF-1 reseptörü aracılığındaki aktivasyonunun azalmasına yol açarak konak metabolizması üzerinde indirekt etki gösterebilir. Bu etkiler, metforminin kanser hücrelerinin in vitro büyümesini inhibe ettiği, farelerde tütün karsinojeni ile indüklenen akciğer kanserinin başlangıcını geciktirdiği ve metformin analoğu fenforminin kansere duyarlı transgenik farelerde spontan tümör gelişimini geciktirdiği yönündeki gözlemler tarafından desteklenmektedir. Hem direkt antitümör etki hem de konak üze-

A. Leone · E. Di Gennaro · F. Bruzzese
Experimental Pharmacology Unit, Istituto Nazionale per lo Studio e la Cura dei Tumori Fondazioni Giovanni Pascale - IRCCS, 80131, Naples, Italy

A. Avallone
Gastrointestinal Medical Oncology Unit, Istituto Nazionale per lo Studio e la Cura dei Tumori Fondazioni Giovanni Pascale - IRCCS, 80131, Naples, Italy

A. Budillon (✉)
Direttore U.O.C. Farmacologia Sperimentale, Istituto Nazionale per lo Studio e la Cura dei Tumori Fondazioni Giovanni Pascale - IRCCS, Via Mariano Semmola, 80131, Napoli, Italy
e-mail: a.budillon@istitutotumori.na.it

V. Zappia et al. (eds.), *Advances in Nutrition and Cancer,*
Cancer Treatment and Research 159, DOI: 10.1007/978-3-642-38007-5_21,
© Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2014

rinde indirekt etki yapabilme potansiyeli çok büyük ilgi çekmiştir. Ancak preklinik bulguların kliniğe yansıtılmasında aşılması gereken ilave engeller mevcuttur. Ancak artmakta olan kanıtlar, meme kanserinde yapılan büyük ölçekli adjuvan çalışma da dahil olmak üzere, metforminin antikanser özelliklerini araştıran klinik çalışmaların başlaması için yeterli hale gelmiştir.

Anahtar Kelimeler

Metformin • Fenformin • Diabetes mellitus • AMP-aktive protein kinaz • PI_3K yolağı

Kısaltmalar

ACC	Asetil-CoA karboksilaz
ACF	Aberan kript odakları
ACL	ATP sitrat liyaz
AKT/PKB	Protein kinaz B
CaMKK2	Ca^{2+}/kalmodülin-aktive kinaz kinaz
cAMP	Siklik adenozin monofosfat
CI	Güven aralığı
CRTCS	cAMP-'a cevap veren element bağlayıcı protein (CREB)-regüle transkripsiyon koaktivatörü
CSC	Kanser kök hücresi
DM	Diabetes mellitus
ER	Östrojen reseptörü
ERK	Ekstraselüler sinyal-regüle kinaz
FAS	Yağ asidi sentaz
FOXO	Forkhead box class O
GLUT	Glukoz taşıyıcısı
GPCR	G-protein birleşik reseptör
HCC	Hepatoselüler karsinom
HIF-1α	Hipoksi ile indüklenebilir faktör 1α
HOMA	Homeastaz model değerlendirmesi
IGF	İnsülin büyüme faktörü
IGFBP	İnsülin büyüme faktörü bağlayıcı protein
IGF-R	İnsülin büyüme faktörü reseptörü
IR	İnsülin reseptörü
IRS	İnsülin reseptör substratları
LKB1	Karaciğer kinaz B1
MAPK	Mitojen aktive protein kinaz
MEF	Fare embriyonik fibroblastı
mTOR	Memeli rapamisin hedefi

mTORC1	mTOR kompleks 1
NAFLD	Nonalkolik yağlı karaciğer hastalığı
Nampt	Nikotinamid fosforibosiltransferaz
OCT	Organik katyon taşıyıcısı
PDK1-3	Piruvat dehidrogenaz kinaz 1 ve 3
PET	Pozitron emisyon tomografisi
PI3K	Fosfatidilinositol 3 kinaz
rag	Rekombinasyon aktive edici gen
RR	Rölatif risk
SREBP-1	Sterol regülatör element bağlayıcı protein 1
TSC	Tüberöz skleroz
UMIN	Üniversite Hastanesi Medikal Enformasyon Ağı
VEGF	Vasküler endotelyal büyüme faktörü

İçindekiler

1 Giriş 357
2 Kanser ve Metabolizma 358
3 Diyabet ve Kanser 360
4 Metformin ve Kanser 363
4.1 Epidemiyolojik Çalışmalar 363
4.2 Etki Mekanizması ve Preklinik Çalışmalar 366
4.3 Klinik Çalışmalar 370
5 Sonuçlar 371
Referanslar 372

1 Giriş

Diabetes mellitus (DM) insülin sekresyonu, insülin etkisi veya her ikisindeki defektlerden kaynaklanan kronik hiperglisemi ve anormal karbonhidrat, yağ ve protein metabolizması ile karakterize metabolik bir bozukluktur. Yüzyıllardır bilinen ve tedavi edilen majör ve global bir sağlık problemidir. Avrupalılar Orta Çağ'dan beri DM hastalarında görülen iki semptom olan "susama ve sıklıkla idrar yapma" belirtilerini daha sonra bir guanidin türevi olan galegin gibi aktif komponentler içerdiği tespit edilen otsu bir bitki olan Galega officinalis ekstreleri ile tedavi etmiştir. 1920'lerde galeginin kan şekerini ve insülin rezistansını azaltıcı etkisi olduğu bulunmuştur. Fenformin ve metformin gibi biguanid türevlerinin 1950'lerde klinik kullanıma sunulması oral antidiyabetik farmakoterapinin geliştirilmesinde önemli bir kilometre taşı olmuştur. Fenformin nadir görülen

fatal laktik asidoz yan etkisi nedeniyle ABD ve diğer birçok ülkede 1978'den itibaren piyasadan çekilmiştir. Ancak geçici gastrointestinal toksisiteye ve çok nadir ağır laktik asidoza neden olan metformin, birinci basamak antidiyabetik tedavide diyet ve egzersiz ile birlikte hala yaygın olarak tercih edilmektedir [80].

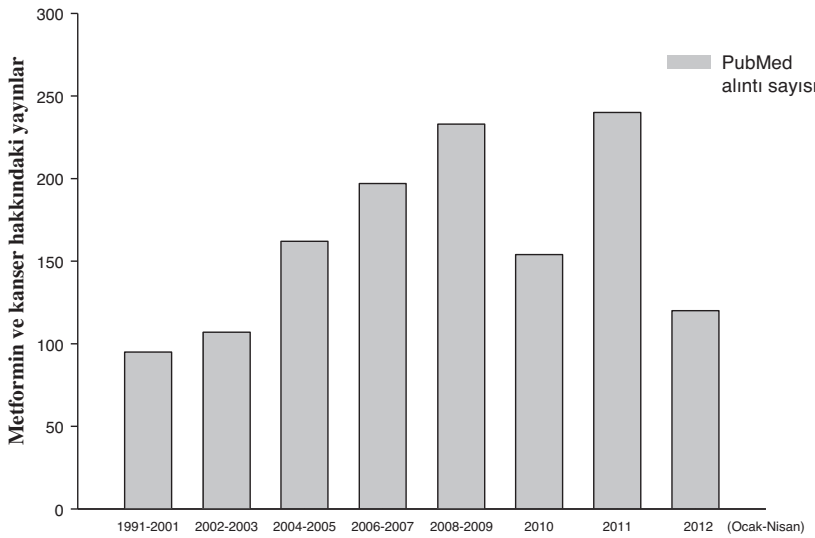
Güncel hasta serileri ve metaanalizlerde DM hastalarındaki kanser riskinin arttığı gösterilmiştir. Özellikle DM hastalarındaki metabolik dengenin deregülasyonunda rol oynayan başlıca organlar olan pankreas ve karaciğer kanserleri ile diyabet arasında güçlü bir ilişki gösterilmiştir [80]. Hiperglisemi ve hiperinsülinemi gibi metabolik patolojiler ve obezite ve yüksek oranda doymuş yağ içeren diyetler gibi DM ile ilişkili diğer unsurların da kanser için bağımsız risk faktörleri olmaları her iki hastalık arasındaki yakın ilişkiyi göstermektedir [39].

Buna karşın diyabet hastalarındaki metformin tedavisinin yaşam boyu kanser insidansında azalma ile korele olduğunu gösteren çeşitli retrospektif epidemiyolojik çalışmalar mevcuttur. Ayrıca günümüzde kanserin ana özelliklerinden biri olduğu kabul edilen metabolik programlama, antikanser tedavinin hedefi haline gelmiştir [73]. Bu bağlamda, NCI (Ulusal Kanser Enstitüsü) direktörü Harold Varmus dedike bir web sitesinde kanser araştırmalarındaki ilerlemeler ile ilgili kafa karıştırıcı problemler hakkında 24 provokatif soru sormuştur. Bu sorulardan kritik olan bir tanesi, yaygın ve kronik olarak farklı endikasyonlarda kullanılan bazı ilaçların (metformin ve diğerleri) kanserin insidans ve mortalitesini azaltabilen mekanizmalarının nasıl tanımlanacağıdır [9]. Metformin kanserde de etkili olan bir diyabet ilacı mı, yoksa diyabette de etkili olan bir kanser ilacı mıdır? [53]. Bu bölümde birçok tartışmanın yaşandığı bu alandaki tüm bu özellikleri gözden geçirerek soruların bazılarına cevap vermeye çalışacağız. Bu nedenle PubMed'de son 3 yıl içinde metformin ve kanser arasındaki ilişkiyi araştıran çok sayıda yayına rastlamak bir sürpriz değildir (Şekil 1).[1]

2 Kanser ve Metabolizma

Kanser hücrelerinin artan glukoz alımı ilk kez 1920'lerde Nobel Ödülü sahibi Otto Warburg tarafından tanımlanmıştır. Warburg etkisi adı verilen bu bulgu tümör hücrelerinin çoğunun yüksek oksijen basıncı (örn. aerobik glikoz) olan durumlarda bile korunan glikoliz artışı ile karakterize olmalarıdır. Bu artışı laktat üretim seviyelerinin artması takip eder. Bu metabolik durum, normal hücrelerin çoğundaki mitokondrial piruvatın oksidasyonu ile ilişkili olan düşük glikolitik oranlarla kontrast teşkil eder [12]. Warburg bu metabolizma değişiminin kanserin temel nedeni olduğu görüşünü de öne sürmüştür. Günümüzde, kanser hücrelerinin büyümelerinde hayati önemi olan çeşitli biyosentetik yolakların yönetilmesinde karbon kaynağı olarak artan oranlarda glukoz kullandıklarını

[1] http://provocativequestions.nci.nih.gov



Şekil 1 Grafik son 20 yıl içindeki PubMed kayıtlarında metformin ile kanser hakkındaki ilişki ile ilgili alıntıların sayısındaki artmayı göstermektedir (Mayıs 2012).

biliyoruz [47]. Glukoz metabolizmasındaki değişimler karsinogenezin erken dönemlerinde oluştuğu için, hem primer hem de metastatik kanserlerde alımı artan radyoaktif işaretli deoksiglukozu kullanarak kanseri teşhis etmeyi amaçlayan pozitron emisyon tomografisinin (PET) günümüzdeki kullanımının temeli Warburg etkisine dayanmaktadır [25, 79].

Aerobik glikolizin öncelikli kullanımı, yüksek oranda proliferatif olan hücrelerin sürekli değişen oksijen basıncı koşullarındaki sağkalımını iyileştirmektedir. Aksi halde sürekli değişen oksijen koşulları ATP üretimi için oksidatif fosforilasyona ihtiyaç duyan normal hücreler için öldürücü olacaktır [68]. Ayrıca kanser hücreleri tarafından üretilen laktik asit hücresel pH'yı etkileyerek tümör invazyonunu ve antikanser immun efektörlerin supresyonunu destekleyebilir. Pentoz fostat sistemi ile glukozu metabolize edebilen tümörler, yağ asidi sentezine katkı yapabilen ve kemoterapötik ajanlarla karşı koruyabilen NADPH üretebilirler [25, 73].

Warburg etkisi uzun yıllardır bilinmesine rağmen bu fenomenin altında yatan moleküler mekanizma henüz bilinmemektedir. Ayrıca antikanser yaklaşımlar için selektif bir hedefin tanımlanması da güçtür. Bazı yayınlarda, glukoz-6-fosfat dönüşümünü katalizleyen ve glikolitik yolakların birinci basamağının hızını sınırlayan bir metabolik enzim olan heksokinazın bir antikanser hedef olabileceği bildirilmiştir [87]. Ayrıca hem glikolitik yolaklarda rolü olan çeşitli metabolik reaksiyonların ve hem de tümör progresyonunu ve enflamatuar cevabı (örn. sirtuinler) etkileyen faktörlerin regülasyonunda hayati rol oynayan nikotinamid fosforibosiltransferaz (Nampt) ile ürünü olan nikotinamid adenin dinükleotid de (NAD) antikanser bir hedef olabilir [24].

Yeni yağ asidi üretim artışının kanser hücrelerinde hayati bir metabolik değişim olduğu ve ATP sitrat liyaz (ACL), asetil CoA karboksilaz (ACC) ve yağ asidi sentaz (FAS) gibi lipojenik enzimlerin hiperaktivitesi ile ilişkili olduğu düşünülmektedir [48]. FAS bir çok kanser türünde aşırı eksprese olur [81]. FAS'ın kimyasal inhibitörlerinin kanser hücrelerindeki proliferasyonu azaltıp, apoptozu artırdığı gösterilmiştir [48]. Güncel çalışmalarda kanser hücrelerindeki Warburg etkisinin, mitokondrial entegrasyon ve fonksiyonu korumak amacıyla, Krebs döngüsü yoluyla piruvat akışında azalmaya ve nonglukoz karbon kaynaklarının (örn. yağ asitleri) oksidasyonunda kaymaya yol açan mitokondrial ayrışmaya (kanser hücrelerinde mitokondrial membran potansiyeline cevap olarak ATP sentezinin ortadan kalkması) bağlı olabileceği bildirilmiştir [71]. Ancak diğer bazı yayınlarda Warburg etkisinin daimi mitokondrial disfonksiyonunda rol oynamayabileceği bildirilmiştir [87]. İlginç biçimde hücreleri sitotoksik saldırılara karşı daha dirençli hale getiren mitokondrilerin birbirlerinden ayrılmaları ve+ kemorezistans ile ilişkili olan yağ asidi oksidasyonunda artışın kanser tedavisinde ilave terapötik hedefler olma ihtimali vardır.

Kanser hücrelerinin metabolik yeniden programlanmaları ile il. bir başka hedefte düşük oksijenli ortama maruz kalan hücrelerin adaptasyonunda rol oynadığı düşünülen hipoksi ile indüklenen gen ekspresyonunu modüle eden bir transkripsiyon faktörü olan hipoksi ile indüklenen faktör 1a'dır (HIF-1α). Bu tür genler glikolizde rol oynayan genleri kaplar ve glukoz taşıyıcıları içerirler (GLUT1 ve GLUT3). Ayrıca güncel makalelerde, piruvat dehidrogenazın fosforilasyonunu ve devamında kanser hücrelerindeki mitokondrial respirasyonu kolaylaştıran piruvat dehidrogenaz kinaz 1 ve 3 (PDK1-3) ekspresyonunun HIF-1 tarafından indüklendiği gösterilmiştir [44, 52, 65].

Özet olarak hücresel metabolizmanın mitokondrial respirasyondan glikolize doğru kayması kanser hücrelerinin transformasyon ve progresyonları ile kemorezistansı yönlendirdiği için antikanser tedavide hayati bir hedef olarak değerlendirilmelidir.

3 Diyabet ve Kanser

DM iki predominant alt tipten oluşan (tip 1 ve 2) ve farklı metabolik aktiviteler ile karakterize olan bir grup metabolik bozukluktur. Tip 1 diyabette (tüm diyabetiklerin %5-10'u) endojen insülinin mevcut olmaması, insülin salgılayan β-pankreatik hücrelerin otoimmün harabiyetine bağlanır ve eksojen insülin uygulanmasını gerektirir. Buna karşın tip 2 diyabet ise (tüm diyabetiklerin %90'ı) uzun süreli hiperinsülinemi ve hiperglisemi ile karakterize olup periferik dokularda insülin rezistansı mevcuttur. Tip 2 diyabet tedavisinde sadece β-pankreatik hücrelerin fonksiyonlarını kaybetmeleri durumunda eksojen insülin tedavisi gerekir [39, 80]. Günümüzde DM tedavisinde kullanılan birçok ilaç çeşidi mevcuttur. Bunlar arasında hastaların pankreatik hücrelerindeki insülin üretim eksikliğni kompanse eden insülin, insülin analogları ve

insülin sekretagogları mevcuttur. Bir başka grup olan insülin duyarlılığını artırıcılar da, insülin rezistansını tedavi edebilen oral antidiyabetikler olan metformin veya tiazolidindionlar gibi ilaçları içerir. Son olarak akarboz gibi glukozidaz inhibitörleri de postprandiyal hipergliseminin önlenmesi amacıyla karbonhidrat sindirimi üzerinde etki gösterirler. Genel olarak tüm diyabetik ilaç sınıfları, DM ile sıklıkla birlikte görülen obezitenin engellenebilmesi için diyet ve egzersiz gibi hayat tarzı değişiklikleri ile birlikte kullanılırlar [62].

DM retinopati, nöropati, kardiyovasküler hastalıklar ve birçok çalışmada da bildirildiği üzere kanser riskinde artış gibi birçok komplikasyona neden olmaktadır.

Diyabetiklerden oluşan vaka kontrol ve kohort çalışmalarındaki kanserin rölatif riskini (RR) inceleyen çeşitli metaanalizlerde kanser ve kansere bağlı mortalitede hafif bir artış gösterilmiştir. Bu artış hem solid hem de hematolojik maligniteler için geçerli olsa da, spesifik bazı bölgelerdeki kanserler daha fazla artmaktadır. Rölatif risk artışı, DM gelişiminde rol oynayan başlıca organlar olan pankreasın (RR 2.50 %95 CI 1.8-3.5) ve karaciğerin (RR 1.94 %95 CI 1.53-2.46) kanserlerinde gösterilmiştir [22, 37].

Daha önce yayınlanan metaanalizlerde önceden mevcut olan diyabetin ekzokrin pankreatik kanserinin oluşumunu kolaylaştıran bir faktör mü olduğu ya da kanserin bir sonucu olarak mı ortaya çıktığı tespit edilemediği için, diyabetle pankreatik kanser arasındaki ilişkinin kesin olarak tanımlanması güçtür.

Orta yaşlı hastaların kaydedildiği güncel tarama çalışmalarında erken başlangıçlı diyabet pankreas kanserinin erken başlama ihtimalinin potansiyel göstergesi olarak kullanılmaktadır. Yaşlı hastalardaki pankreas kanserinde yüksek tahmin gücü olduğu gösterilen bu yöntem yaşlı diyabetiklerdeki 3 yıllık pankreas kanseri riskinin benzer yaş ve cinsiyetteki nondiyabetiklere göre 8 kat daha fazla olduğunu göstermiştir. Farklı çalışmalarda da yeni başlayan diyabetin normal pankreas dokusundaki değişimlerden çok pankreatik tümörlerinin sitokin üretiminden kaynaklanan erken bir olay olduğu gösterilmiştir [15, 64]. Metaanalizler yaş, ırk, sigara ve yükleme sonrası glukoz seviyelerine göre düzeltildiğinde hastalığın yeni başladığı diyabetik hastalardaki rölatif riskin yüksek kalması ilginç bir bulgudur. Bu bulgular hiperglisemi ve prediyabetik evrenin pankreas kanseri için risk faktörü olabileceğini ve kanser progresyonunun desteklenmesinde insülinin önemli rol oynadığını göstermektedir. Ancak tip 1 diyabetik hastalardaki pankreatik hücreler diğer dokulara kıyasla daha fazla insüline maruz kalmadıkları için, kanser progresyonunun desteklenmesinde tek başına insülin varlığı yetersizdir [64, 80].

Diyabetik hastalarda karaciğer kanserinin insidansında artış görülmesinin (özellikle hepatoselüler karsinom-HCC) başlıca nedeni karaciğer hücrelerinin portal dolaşım yolu ile maruz kaldıkları insülin seviyesinin artmasıdır. Bu durum özellikle tip 2 diyabetteki hiperinsülineminin ve insülin rezistansının şiddetlenmesi ile karakterize olan fizyolojik ve patolojik durumlar için geçerlidir. Eksojen insülin ile tedavi edilen tip 1 diyabet hastalarının karaciğer hücrelerindeki insülin düzeylerinin diğer organlar ile aynı seviyede olması dikkat çekicidir. Yukarıda pankreas kanseri ile ilgili olarak benzer şekilde bahsedil-

diği üzere, karaciğer kanserinde de artmış insülin düzeyleri kanser ve diyabet arasındaki korelasyonu açıklayamamaktadır. Bu nedenle çeşitli epidemiyolojik çalışmalarda diğer faktörler analiz edilmiştir. Örneğin iki hastalık arasında bağlantıya neden olan faktörler olarak hepatik steatoz ve siroz ile hepatit B ve C enfeksiyonları gösterilmiştir. Benzer şekilde nonalkolik yağlı karaciğer hastalığının da obez diyabetik hastalar ile tip 2 diyabet hastalarının %80'inde kanser riski için önemli bir faktör olabileceği bildirilmiştir [16, 18].

Sonuç olarak diyabet ile kanser arasındaki ilişki hala netleşmemiş olup diyabet tek bir rahatsızlıktan oluşan bir hastalık olmadığı için konunun yeniden değerlendirilmesi gerekmektedir. DM bir grup metabolik bozukluktan oluşur. Bu bozuklukların her biri hastaları farklı şekilde etkileyen özel metabolik ve hormonal anormalliklerle karakterize olur. Bu nedenle diyabetik hastaların homojen bir kohort olarak değerlendirilmesi güçtür. Diyabet ve kanser arasındaki bu kompleks ilişkiyi anlayabilmek için yeni çalışmalara ihtiyaç vardır.

Ayrıca fiziksel aktivite eksikliği, sigara, cinsiyet, etnik köken, komorbiditeler, tedavinin süresi, metabolik kontrolün kalitesi ve tedavi sırasında değiştirilen antidiyabetik ilaçların sayısı gibi birçok karıştırıcı faktör de mevcuttur. Bu tür faktörler metaanaliz sonuçlarını etkileyebilmektedir. Bu bağlamda yapılan güncel bir çalışmada insülin düzeylerinin erken takip için (teşhis sonrası ilk 5 yıl) fizyolojik bir gösterge olabileceği, leptin gibi obezite ile ilişkili faktörlerin de meme kanserinin uzun süreli takibinde önemli bir marker olabileceği gösterilmiştir [27].

Diyabetik hastalarda gözlenen tümör büyümesinde, moleküler düzeyde birçok faktör rol oynayabilir. Diyabet karsinogenezi, insülinin sadece metabolik yolakları modüle etmekle kalmayıp ekteki iki özgün mekanizma ile mitojenik sinyali de modüle eden kompleks aşağı yönlü sinyal ağı ile de destekleyebilir: (a) Hiperglisemi ve hiperinsülinemiyi de içeren spesifik değişimlerle ilişkili sistemik mekanizmalar ve (b) Spesifik organları etkileyen bölgeye özel mekanizmalar [80]. Hiperinsülinemi ilginç biçimde, epitel hücrelerindeki insülin reseptörlerini (IR) aktive ederek veya insülin büyüme faktörleri (IGF'ler), seks hormonları ve enflamatuar medyatörler gibi diğer modülatörleri indirekt olarak etkileyerek tümörijenezi destekler. Örneğin insülin çoğunlukla kanser hücrelerinde eksprese olan IR'nin A izoformuna bağlanarak IR substratları (IRS1-4) gibi adaptör proteinler yoluyla etki gösteren mitojenik sinyal yolaklarını tetikleyebilir. Bu sinyal mitojen aktive protein kinaz (MAPK) yolağının aktivasyonuna (insülin rezistansı varlığında korunan aktivasyon) ve AKT ve memeli rapamisin hedefi (mTOR) aracılığındaki sağkalım sinyalinin indüklenmesine neden olur [39, 55]. İnsülin yukarıda da bahsettiğimiz üzere, IGF'ler ve bunların aynı kökten gelen reseptörleri (IGF-R) vasıtasıyla indirekt etki gösterebilir. İnsülin rezistansı ve artmış insülin düzeyleri IGF'leri insülin büyüme faktörü bağlayıcı proteinlerden (IGFBP) ayırarak, tümör büyümesini ve kanser progresyonunu artırabilen serbest IGF düzeylerinde artışa yol açar. Meme kanseri hücre dizilerinde, insülin ile bu tümörde çok miktarda eksprese edilen IR izoformu olan IRA homodimeri ve IR-A/IGF1R heterodimeri arasında gözlenen etkileşim tümörijenezi stimüle eder ve sağkalım yolaklarını güçlendirir [6,

56, 66]. Ayrıca IGF1R'nin polimorfik formunun küçük hücreli dışı akciğer kanseri ile, IGF2R'nin polimorfizminin de gastrik kanser riski ile ilişkili olduğu gösterilmiştir [36, 86]. Meme kanserinde tümörün alt tipinden bağımsız olarak (örn. luminal, üçlü negatif veya Her2+) IGF1R/IR aktivasyonu gözlenmiştir. Bu aktivasyon sağkalımda azalma ve östrojen reseptörü ve Her ailesinin üyelerini de kapsayan hedefe yönelik tedavilere rezistans ile ilişkilidir. Yazarlar ayrıca spesifik tirozin kinaz inhibitörü olan BMS-536924'ün, meme kanserinin alt tipinden bağımsız olarak bu tür bir rezistansın üstesinden gelmek ve sağkalımı artırmak için kullanılabileceğini öne sürmüşlerdir [50].

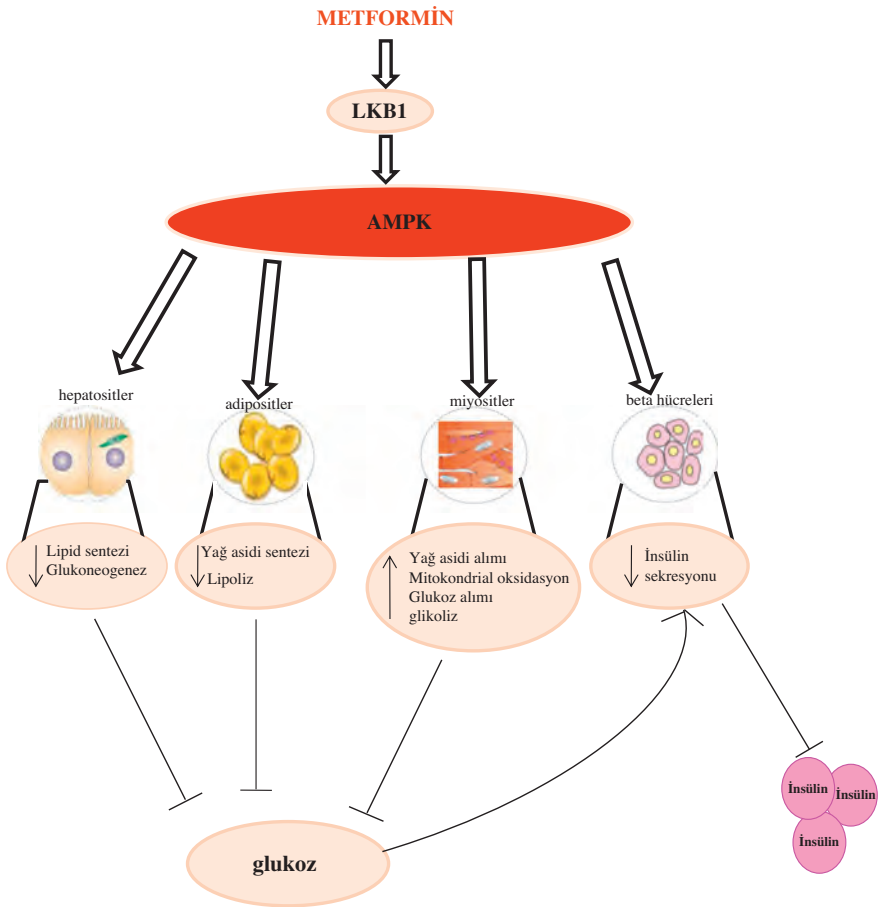
Yükselmiş insülin seviyeleri insülin rezistansı ile ilişkilidir. Bu rezistans overlerde üretilen serbest östrojen seviyelerini artırarak, seks hormonu bağlayıcı globülini bloke ederek ve adipöz dokudaki androjenin östrojene dönüşümünü artırarak tümörijenezi destekleyebilir [39, 80].

4 Metformin ve Kanser

4.1 Epidemiyolojik Çalışmalar

Bir biguanid türevi olan metformin (1, 1-dimetilbiguanid hidroklorid) oral bir hipoglisemik ajandır. Metformin başlıca hepatositler, miyositler, adipozitler ve pankreastaki β hücrelerinde etki gösterir (Şekil 2). Metformin karaciğerdeki glukoz üretimini inhibe ederken, periferik dokulardaki insülin sensitivitesini artırarak, iskelet kası ve adipöz dokuların glukoz alımının ve kullanımının artışına yol açar. Primer etkisi plazma insülin ve glukoz düzeylerinin azalmasıdır. Bunu kan glukoz kontrolünde iyileşme ve diyabetle ilişkili komplikasyonların azalması takip eder [8, 20]. Metforminin moleküler düzeydeki glukoz düşürücü etkisinin başlıca metabolik medyatörü hücresel enerji metabolizmasının regülasyonunda rol oynayan bir serin treonin kinaz olan AMPK aktivasyonudur [45, 67] (bkz. bölüm 5). Metformin görece düşük fiyatı, güvenli bir ilaç olarak bilinmesi ve kardiyovasküler hastalıkların önlenmesindeki etkileri nedeniyle tip 2 diyabette en sık reçetelenen birinci basamak ilaçlardandır [7]. Metforminin hafif-orta düzeyde toksisitesine bağlı olarak görülen bulantı, kusma ve diyare gibi gastrointestinal rahatsızlıklar doz azaltımı ile engellenebilir. Laktik asidoz nadir görülmesine rağmen en ciddi görülen yan etkisidir. En çok, mevcut hepatik, kardiyak veya renal komorbiditeleri olan yaşlı hastalarda görülür [20].

Son dekadda yapılan epidemiyolojik gözlem çalışmalarında DM hastalarında metformin kullanımının kanser insidansında azalma ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Evans ve. ark. tarafından yapılan 11.876 yeni tanı almış tip 2 diyabet hastası arasında bulunan 923 kanser hastasının değerlendirildiği vaka kontrol çalışmasında metformin tedavisi gören hastalardaki kanser insidansının diğer gruplara göre daha düşük olduğu ilk kez



Şekil 2 Metforminin tip 2 diyabet olan hastalardaki çeşitli dokularda ATP tüketen yolakların aşağı regülasyonuna ve ATP üreten yolakların yukarı regülasyonuna yol açan etkileri.

gösterilmiştir. Ayrıca tedavinin süresi ve reçetelerin sayısı da kanser insidansını etkilemektedir: Tedavi süresinde ve reçete sayılarındaki artış daha düşük kanser insidansı ile ilişkili bulunmuştur [23].

Bu çalışmadan sonra giderek artan sayıda retrospektif analiz yapılmaktadır. Bowker ve ark. 2006 yılında farklı tedaviler uygulanan (metformin, sülfonilüreler ve/veya insülin) 10.309 diyabet hastasından oluşan bir kohortun 5.4 yıl boyunca takip edildiği bir popülasyon çalışması gerçekleştirmiştir. Çalışmada sadece metformin ile tedavi edilen (insülin kullanmayan) hastalardaki kanser ölümlerinin, süfonilüre ile tedavi edilen hastalara göre (insülin kullanımından bağımsız olarak) azaldığı bildirilmiştir [11, 62]. Çalışmada tedavi görmeyen bir kontrol grubu olmadığı için, kanser riskinin metformin tarafından mı azaltıldığı yoksa insülin tarafından mı artırıldığı maalesef tespit edilememiştir.

Diğer gözlemsel çalışmalarda da benzer trendler bildirilmiştir [3, 60]. Kanser insidansı ve mortalitesinde metformin tedavisi ile görülen azalmanın, insülin varlığında veya insülin dozunun ayarlanması sonrasında da ilginç biçimde korunmuş olması metforminin etkilerinin insülinden bağımsız olduğunu düşündürmektedir [60].

Son zamanlarda, metforminin kanser insidansı ve mortalitesi üzerindeki etkisini anlamayı amaçlayan çeşitli metaanalizler yapılmıştır. Decensi ve ark. kapsamlı literatür taraması ile tespit ettikleri dil veya zaman sınırlaması olmayan 11 epidemiyolojik çalışmayı (tüm kanserlerle ilgili 5 kapsamlı çalışma ile, tek kanser tipine odaklanan 6 çalışma) incelemiştir. Analizden elde edilen veriler metformin tedavisinin kanser insidans ve mortalitesinde doza bağlı olarak %31'lik artış ile ilişkili olduğunu göstermiştir. İlginç biçimde, metformin tedavisi ile hepatoselüler ve pankreas kanseri arasında anlamlı bir korelasyon bulunurken, kolon, meme ve prostat kanserleri ile anlamlı bir korelasyonun tespit edilememiş olması metforminin etkilerini kanserin bölgesine spesifik olarak gösterdiğini düşündürmektedir [19]. 1353 tip 2 diyabet hastasında yapılan güncel bir çalışmada da metformin tedavisinin 9.6 yıllık takipteki kansere karşı koruyucu etkilerinin doza bağlı olarak ortaya çıktığı konfirme edilmiştir [1, 49].

Farklı ülkeleri kapsayan geniş kapsamlı popülasyon tabanlı verilerin kullanıldığı başka bir metaanalizde ise metformin tedavisinin kanserlerin (herhangi bir bölgedeki) insidans ve mortalitesini yaklaşık %33 oranında azalttığı gösterilmiştir. Azalma oranlarında kanserin bölgesine göre farklılıklar görülmüştür. Metformin tedavisi kolon, akciğer ve karaciğer kanseri risklerini de azaltmış, ancak hormona bağımlı prostat ve meme kanserleri ile pankreas ve gastrik kanser gelişimini etkilememiştir [61].

Metforminin metastaz gelişimindeki rolünü ve kemoterapinin etkinliğini artırıp artırmadığını anlamak amacıyla retrospektif analizler yapılmıştır. Özellikle akciğer kanseri olan diyabetik hastalarda yapılan bir analizde, metformin tedavisinin metastatik hastalığı azalttığı [57, 58] ve kemoterapötik etkinliği artırdığı bulunmuştur [78]. Jiralerspong benzer şekilde metformin tedavisinin, neoadjuvan kemoterapi alan meme kanseri hastalarındaki toplam patolojik cevabı artırdığını gözlemiştir Metformin 3 yıllık tahmini relapssız sağkalım oranlarını maalesef artırmamıştır [1, 42]. Buna karşın, metformin tedavisinin üçlü negatif meme kanserindeki genel sağkalım, hastalıksız sağkalım veya distal metastaz gelişimi üzerinde herhangi bir pozitif etkisi tespit edilememiştir [4].

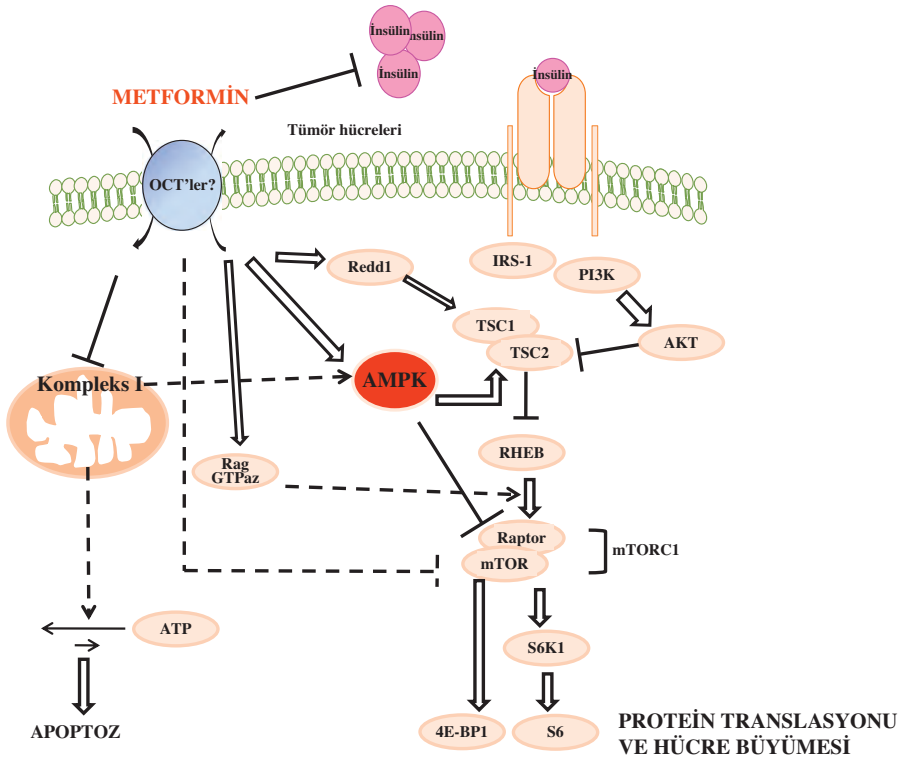
Sonuç olarak bazı çalışmalarda metforminin antikanser ilaç olarak kullanımı önerilmiş olmasına rağmen, mevcut kısıtlamaların göz önüne alınması gerekmektedir. Bu çalışmaların bir çoğu retrospektif çalışmalardır. Elde edilen veriler de popülasyon tabanlı kayıtlardan değil, klinik ve hastane kayıtlarından alınmıştır. Ayrıca çeşitli tedaviler uygulanan diyabetik hastalar metformin uygulamasına göre veya objektif kriterler kullanılarak randomize edilmemiştir (örn. kanser hikayesi olan bazı hastalar kanser riskini araştıran çalışmalarda yer almıştır). Ayrıca önemli kanser riskleri ile prognostik faktörler arasında bir dengesizlik olduğu da aşikardır. Ancak yine de bu tür gözlemsel çalış-

malar ile metforminin olası antitümör etkilerinin gösterilmiş olması prospektif klinik çalışmalar için bir altyapı oluşturmuştur.

4.2 Etki Mekanizması ve Preklinik Çalışmalar

Metforminin antitümör etkilerini açıklayabilmek amacıyla farklı mekanizmalar öne sürülmüştür. Ancak moleküler düzeydeki ana etkisi AMPK aktivasyonudur [21, 63]. AMPK metabolizma ve stresi algılayan hücresel sensör görevi yapar. Örneğin oksidatif stres, iskemi ve diğer faktörler AMP:ATP oranınında artışa yol açarak sonuçtaki AMPK aktivasyonunu artırırlar [20]. AMPK şu üç bağımsız mekanizma ile metformin tarafından aktive edilebilir: (1) AMPK'nın katalitik alt ünitesindeki Thr 172'nin fosforilasyonunun LKB1 (karaciğer kinaz B1) tarafından indüklenmesi ile [51]; (2) İndirekt olarak respiratuar zincirdeki kompleks I'in inhibisyonu ile; ve (3) Oligomisin gibi mitokondrial ATP sentezinin diğer inhibitörlerinin aktivasyonu ile. Respiratuar zincirdeki kompleks I'in blokajının düşük oksijen tüketimine yol açmasını, takip eden NAD+/NADH oranının modülasyonu ve AMP:ATP oranındaki artış, AMPK aktivasyonunda artışa yol açar [1]. Memelilerdeki bir diğer önemli kinaz da, AMP:ATP oranını değiştirmeden intraselüler Ca2+ artışına cevap olarak alternatif AMPK yolağını aktive eden Ca2+/kalmodulin aktive kinaz kinazdır (CaMKK2) [31]. Aktive AMPK fizyolojik şartlardaki hipoglisemik etkilerini Glut1 düzeylerinin artışını indükleyerek glukoz alımını artırdığı karaciğer, β-pankreatik hücreler, kaslar ve adipoz dokuda gösterir. AMPK ayrıca glikoliz gibi ATP üreten yolakları indüklerken, glukoneojenez, glikojen sentezi ve kolesterol sentezi gibi ATP tüketen yolakları inhibe eder [39, 45, 67]. AMPK aktivasyonu glukoz ve yağ asitlerinin oksidatif katabolizmalarının indüklenmesinde ve mitokondrial biyogenezin regülasyonunda hayati rol oynamaktadır. Ayrıca AMPK aktivasyonu, mTOR yolağını bloke ederek protein sentezinin inhibisyonuna da yol açar [31]. AMPK aktivasyonu genel olarak hem hipoglisemik etki gösterir hem de tümör gelişiminde rol oynayan çeşitli yolakları direkt olarak etkiler.

AMPK bu bulguların ışığında bir tümör baskılayıcı olarak kabul edilebilir. Solid tümörlerde genel olarak mutasyona uğrayan yukarı yönlü kinaz LKB1'in de tümör baskılayıcı etkiye sahip bir gen olması dikkate değerdir. LKB1 geni küçük hücreli olmayan akciğer kanserlerinin yaklaşık %30'unda ve servikal kanserlerin yaklaşık %20'sinde, genin kendi fonksiyonun kaybına yol açan mutasyonlara uğrar [40, 83]. LKB1 mutasyonlarının hücre büyümesini, hücre siklus progresyonunu ve polariteyi etkilediği gösterilmiştir [30, 82]. Ayrıca LKB1'in küçük hücreli olmayan akciğer kanserlerinde sıklıkla kRAS ile birlikte mutasyona uğraması tümör insidansı ve metastaz artışlarını indükler [30]. AMPK inhibisyonu, B-RAf V600E mutasyonuna sahip melanomlara yol açar. İçindeki LKB1 iki C-terminal bölgesinde fosforillenmiştir [88] ve AMPK'yi aktive edemez. Ayrıca birçok tümörde sıklıkla mevcut olan AKT hiperaktivasyonu, AMPK'nın LKB1 tarafından fosforilasyonunu ve aktivasyonunu inhibe eden ser485'teki AMPK'nın fosfo-



Şekil 3 Metformin insüline bağımlı olan ve olmayan mekanizmalar ile antitümör etki gösterir. AKT-mTOR yolağının inaktivasyonu ve/veya AMPK ve mitokondrial kompleks I üzerinde etki göstererek sırasıyla apoptoz artışına, protein translasyonunun aşağı regülasyonuna ve hücre büyümesinin inhibisyonuna yol açar.

rilasyonunu indükler [34]. AMPK'nin olumlu bir prognoz markeri olduğu bir başka çalışmada da gösterilmiştir. pAMPK ve pMAPK3/1'in konkomitant artışlarının, kolorektal kanser hastalarının tedavisi için olumlu prognostik faktörler olduğu düşünülmektedir. Bu bulgu bu iki yolağın ve yeni terapötik stratejilerin muhtemel bir etkileşimi olduğunu düşündürmektedir [2].

Metforminin antikanser etkilerinin şu iki özgün mekanizma ile gerçekleştiği düşünülmektedir: İndirekt insüline bağımlı etkisi ile insülinden bağımsız direkt olarak tümör üzerindeki etkisi (Şekil 3) Metforminin indirekt etkileri karaciğerde gerçekleşir. Burada AMPK aktivasyonunu indükleyerek hepatik glukoneogenezi inhibe etmesini takiben dolaşımdaki glukoz ve insülin düzeyleri azalır. İn vitro ve in vivo çalışmalarda metforminin diğer biguanidlere benzer şekilde glukozdan yoksun hücrelerdeki 4E-bağlayıcı proteinin hiperaktivasyonunu indükleyerek katlanmamış protein cevabının inhibisyonu ile mTOR yolağının güçlü inhibisyonuna yol açtığı gösterilmiştir [56]. Ayrıca Buzzai ve arkadaşları

da kolorektal hücre dizilerinde, metformine cevap olarak gelişen AMPK aktivasyonu ile oluşan glukoz deprivasyonu ile indüklenen p53'e bağımlı otofajiyi göstermişlerdir [14]. Buna karşın p53 statüsünün meme kanseri hücrelerinin metformin sensitivitesi ile ilişkili olmadığı görülmektedir. Metformin glukoz deprivasyonuna cevap olarak hem kaspaza bağımlı hem de kaspazdan bağımsız mekanizmalarla apoptozu, NAD+ düzeylerindeki azalma ile ilişkili hücresel enerji kolapsına bağlı mitokondrial morfolojideki ve membran permeabilitesindeki eş zamanlı değişimlerle birlikte indükler [90]. Ayrıca, pankreatik kanser hücrelerinin, insülin/IGF1 reseptörleri ile G-proteinine bağlı reseptörler (GPCR) arasındaki etkileşimi (crosstalk) indükleyerek, mTORC1, ERK, ve PI_3K tarafından indüklenen hücre büyümesinde ve sağkalım sinyalinde artışa yol açtığı son zamanlarda gösterilmiştir. İyi tanımlanmış KRAS efektörleri olan ERK ve PI_3K pankres kanserlerinin %90'ında mutasyona uğrar. Yukarıda sözü geçen etkileşim bu mutasyonlar tarafından güçlendirilir. İlginç bir şekilde metforminin IR/IGF1R ve GPCR'ler arasındaki etkileşimi bozarak her iki hücre dizisindeki [46] ve ksenograft modellerindeki hücre proliferasyonunu azalttığı gözlenmiştir [70].

Metforminin indirekt etkisi Memmott ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada tütün karsinojeni ile indüklenen akciğer tümörijenezinin metformin tarafından engellendiğinin gözlenmesi ile konfirme edilmiştir. Özellikle, metforminin tümör yükünü azalttığı ve tümörlerdeki mTOR'u eş zamanlı olarak belirgin şekilde aşağı regüle ettiği gösterilmiştir. Metformin mTOR'u karaciğerdeki AMPK'yı aktive ederek inhibe ederken, IR/IGF1R'yi indirekt olarak aşağı regüle ettiği ve AKT'yi azalttığı akciğerde aynı inhibisyona yol açmaması ilginçtir [59].

Metforminin kanser büyümesi üzerindeki direkt etkisi insülinden bağımsızdır ve lipojenik yolaklar gibi çeşitli yolakları SREBP-1 (sterol regülatör element bağlayıcı protein 1) supresyonu, hücre döngüsünün p53 ve FOXO3a [84] fosforilasyonu ile regülasyonu veya CRTCS fosforilasyonu (cAMP'a cevap veren element bağlayıcı protein (CREB)-regüle transkripsiyon koaktivatörü) ile östrojene bağımlı yolağın modülasyonu ile birçok yolağı inhibe eden AMPK'nin aktivasyonunda rol oynayabilir [13]. Direkt AMPK'ya bağımlı etki, AMPK'nın TSC2 üzerindeki direkt etkisini de kapsayabilir ve aşağı yönlü sinyalinin bir sonucu olarak hem protein sentezini hem de hücre döngüsünün progresyonunu azaltır. TSC2 kaybı sırasında, AMPK'nın mTOR ile ilişkili protein Raptor'u fosforilleyerek mTOR'u direkt olarak etkilediği öne sürülmüştür [29]. Ayrıca AMPK aktivasyonu ile metabolik sinyallerde rol oynayan bir protein olan adiponektin arasındaki korelasyonda son zamanlarda gösterilmiştir. Adiponektinin fizyolojik konsantrasyonlarının normal kilolu hastalardaki AMPK'yi aktive ederek ve S6 K'yı inhibe ederek prostat ve kolon kanserini engellediği bulunmuştur. Bu bulgunun düşük adiponektin seviyeleri olan obez hastalarda görülmemesi daha düşük AMPK aktivasyonuna ve tümör büyümesinde artışa yol açar. Yazarlar sonuç olarak, metforminin AMPK aktivatörü görevi yaparak adiponektine karşı olan rezistansı engelleyerek hücre büyümesini engellediğini belirtmişlerdir [85].

Metforminin TSC2 ve AMPK'dan bağımsız olarak mTOR üzerinde direkt etki yaptığı son zamanlarda gözlenmiştir [43]. Bu çalışmada metforminin MEF içindeki mTOR ak-

tivitesini azaltan bir protein olan Rheb içeren hücresel kompartmanlardaki mTORC1'in direkt translokasyonunda rol oynayan bir GTPaz proteini olan Rag'ı inhibe ederek antitümör etki gösterdiği bulunmuştur [43]. Bu bulguları konfirme edecek şekilde, pankreas hücreleri ile yapılan güncel bir çalışmada metforminin mTOR yolağını direkt olarak (p53'e bağımlı bir şekilde), mTOR'un negatif regülatörü olan REDD1'i AMPK'dan bağımsız bir mekanizmayla artırarak etkilediği gösterilmiştir. Ayrıca REDD1'in indüklenmesi ile AMPK1'den bağımsız olarak siklin D1 düzeylerinin azalması hücre döngüsünde durmaya yol açmıştır [8]. Metforminin tümör üzerindeki AMPK'dan bağımsız bir başka direkt etkisi de respiratuar zincirdeki kompleks I'i modüle ederek ATP düzeylerinin regülasyonuna yol açarak apoptozu etkilemesi olabilir.

Tümörlerin artan heterojenitesini baz alarak yapılan çeşitli güncel çalışmalarda metforminin özellikle kanser kök hücrelerini de (CSC) kapsayan kanser hücrelerinin alt kümelerinde selektif etki gösterdiği öne sürülmüştür [5, 33]. Bu hipotezi ilk kez metforminin üçlü negatif meme kanseri hücrelerindeki kanser kök hücrelerini selektif olarak hedefleyerek doksorubisin ile sinerjistik antitümör aktivite gösterdiğini gözlemleyen Hirsch ve ark. [33] öne sürmüştür. Bu bulgu metforminin çeşitli kanser hücre modellerinde farklı kemoterapötik ajanlarla kombine uygulanması ile muhtemelen yüksek oranda tümörijenik olan CSC-benzeri hücrelerin inhibisyonu ile hücre büyümesinin azaldığı ve relapsın önlendiği gözlenen güncel fare ksenogreftleri ile konfirme edilmiştir. Ayrıca metformin ile kemoterapötik ilaçlar arasındaki sinerjistik etkileşim de konfirme edilmiştir [38]. Metformin ile kemoterapötiklerin kombine uygulandığı bir başka çalışmada, metformin ile paklitakselin etkileri birleşerek AMPK aktivasyonunu artırarak hücre büyümesinin azalmasına yol açmıştır [69]. Metforminin kanser hücrelerinde AMPK aktivasyonu ve mTOR aktivasyonu ile radyorezistansı azaltarak, bu hücrelerin radyoterapiye daha sensitif hale gelmelerini sağladığı ve kanser kök hücreleri üzerinde sitotoksik etki yaptığı güncel bir çalışmada gösterilmiştir [75].

Metformin analoğu olan biguanide fenformin gibi bir katyondur. Metforminin direkt ve indirekt selektif antitümör etkileri organik katyon taşıyıcılarının ekspresyonuna dayanır (OCT1, 2 ve 3). Metformin diyabetik hastalardaki hepatik hücrelere hepatik portal vende ilaca yüksek maruziyet sırasında OCT1 taşıyıcıları ile girer. Katyonik taşıyıcılar hepatositlerde yüksek oranda eksprese olurlar; global OCT1 knockout'u ve OCT1 polifmorfizmleri mevcut olan farelerde metforminin hepatik alımı ciddi derecede bozulur ve hipoglisemik etkileri azalır [41, 59, 74, 89]. Neoplastik hücrelerdeki OCT1 hakkında çok az şey bilinmektedir. Ancak OCT1 ekspresyonunun hem epitelyal over kanser hücrelerinde hem de primer insan tümörlerinde yüksek oranda değişken olduğu son zamanlarda gösterilmiştir. Epitelyal over kanser hücre dizilerindeki OCT1 knockdown'u ve OCT1 inhibitörü kuinidin uygulanması ile metforminin antitümör etkisi azalmış ancak fenforminin antineoplastik aktivitesi etkilenmemiştir [31, "kişisel iletişim", 72].

4.3 Klinik Çalışmalar

Prospektif ve sürmekte olan klinik çalışmalar metforminin kanser hastalarındaki etkinlik ve güvenliğini diyabetten bağımsız olarak araştırmayı, kemopreventif ajan olarak rolünü analiz etmeyi ve biyolojik etkilerini tanımlamayı amaçlamaktadırlar (Şekil 3). NCI'ın metforminin kanser hastalarındaki etkinliğini araştıran elliden fazla çalışması cancer.gov'da kayıtlıdır. Bu çalışmaların çoğu biyomarker analizi ve metforminin tek ajan olarak veya diğer tedavi modaliteleri ile kombinasyon halinde uygulanmasını içeren faz II meme kanseri çalışmalarıdır.

Şu ana kadar metformin ile ilişkili az sayıda klinik çalışma yayınlanmıştır. Hadad ve ark. yaptıkları preoperatif "fırsat penceresi" randomize çalışmasında metforminin tümör dokularındaki olası biyolojik etkilerini göstermişlerdir. Metformin nondiyabetik meme kanseri hastalarına cerrahi öncesi uygulanmış ve antitümör etkileri tedavi almayan kontrol grubu ile karşılaştırılmıştır. İlginç biçimde metformin tedavisinin 2-3. haftalarından sonra hastalardaki tümör boyutlarında ölçülebilir bir değişim görülmemiştir. Ancak tümörlerden alınan biyopsilerin analizinde insülin düzeylerinde ve tümör dokularındaki muhtemel etkileri gösteren bir proliferasyon markeri olan ve Ki67 boyanmada azalma görülmüştür [30]. Buna karşın nondiyabetik meme kanseri hastalarında yapılan güncel bir çalışmada cerrahi öncesi uygulanan metforminin plasebo grubu ile karşılaştırıldığında Ki67 düzeylerini etkilemediği bulunmuştur. Planlı bir alt grup analizinde metforminin Ki67 üzerindeki etkileri HOMA (homeostaz model değerlendirmesi) indeksine göre insülin rezistansı bazında sınıflandırılabilmiştir. HOMA indeksi 2.8'den büyük olan hastalarda insülin düzeyleri ile metformin tedavisi arasında bir korelasyon gözlenmemiştir. Ancak HOMA indeksi 2.8'den düşük olan hastalarda Ki67 düzeylerinde değişimler gözlenmesi metforminin insülin rezistansının derecesine bağlı olarak indirekt etki yaptığını göstermektedir. İlginç biçimde fazla kilolu veya obez olan, abdominal obezitesi olan veya orta derecede alkol tüketen kadınlardaki Ki67'nin HOMA indeksine göre sınıflandırılmasında da benzer sonuçlar elde edilmiştir [10].

Gözlemsel çalışmalara göre nondiyabetik meme kanseri hastalarındaki artmış peptid-C düzeyleri kötü prognoz ile ilişkilidir [17]. Goodwin ve ark. [27, 28] standart doz olarak uygulanan metforminin (1500 mg/gün) relaps görülmeyen nondiyabetik meme kanseri hastalarındaki insülin düzeylerini %22 azalttığını göstermiştir. Aynı araştırma grubunun güncel bir neoadjuvan "fırsat penceresi" çalışmasında cerrahiden 2-4 hafta önce günde üç kez metformin uygulanmıştır. Metforminin olası faydaları ile ilişkili şu potansiyel göstergeleri belirlemişlerdir: Konak üzerindeki etkisi ile ilgili markerler olarak artmış VKİ, fiziksel inaktivite, yüksek açlık insülin düzeyleri ve Ki67 ve TUNEL boyama için tümör immunopozitivitesi, tümör etki markerları olarak da OCT1 ve LKB1 varlığı. İlginç biçimde, TUNEL boyanmada net bir artış ile Ki67 boyanmada azalmanın metabolik değişimler ile korele olduğunu tespit etmişlerdir [27, "kişisel iletişim", 76].

Metforminin kemopreventif rolü kolorektal kanser için endoskopik surrogate marker olarak kabul edilen rektal aberan kript odakları (ACF) ile yapılan kısa süreli klinik çalışmada gösterilmiştir. Metformin ACF'li nondiyabetik hastalardaki ACF sayılarını 1 aylık tedavi sonrası kontrol grubuna göre anlamlı olarak daha fazla azaltmıştır. Yazarlar prolifere olan hücre nükleer antijen işaretleme indeksini kullanarak değerlendirdikleri, aynı gruptaki kolonik epitelin proliferatif aktivitesinin de aşağı regüle olduğunu tespit etmişlerdir. Buna karşın önemli bir apoptotik modülasyon tespit edilmemiştir [35]. ACF'nin kolorektal kanserde surrogate marker olarak biyolojik önemi tartışmalıdır. Aynı grup Üniversite Hastanesi Medikal Araştırma Ağı (UMIN) veri tabanına UMIN000006254 nolu güncel bir prospektif, randomize, kontrollü çalışmayı kaydetmiştir. Bu çalışmada metforminin kemopreventif etkileri metakronoz kolorektal poliplerde ve nondiyabetik post-polipektomi hastalarında değerlendirilecektir [32].

5 Sonuçlar

Bu bölümde biguanid metforminin antitümör ajan olarak rolünü destekleyen çeşitli kanıtlardan bahsettik. Ancak metforminin ana etki mekanizması (direkt veya indirekt/konak etkisi), metformine cevabı etkileyebilen hasta veya tümör özellikleri, biguanidlere ne tür kanserlerin cevap verebileceği, hangi terapötik ortamın metforminin etkilerini artırabileceği (kemoprevensiyon, neoadjuvan, adjuvan, kombine veya tek ajan uygulaması) gibi konular henüz netleştirilememiştir.

Çeşitli yayınlarda metforminin antitümör aktivitesinin hem direkt hem indirekt mekanizmalarla ortaya çıktığı düşünülmektedir. İnsülin düzeylerini azaltarak ya da hem AMPK'ya bağımlı hem de bağımsız mekanizmalarla tümör dokularını direkt olarak etkileyerek etki gösterebileceği bildirilmiştir. Metformin aktivitesinin başlıca aracılarından biri olan AMPK birçok tümör hücrelerinde defektiftir. AMPK aktivasyonunun kaybına çeşitli mekanizmalar neden olabilir ve metforminin antitümör etkinliğini etkileyebilir. Metformin AMPK aktivasyonunun kaybolduğu tümörlerde, ATP düzeylerini daha fazla azaltabileceği ve apoptozu daha çok artırabileceği için paradoksal olarak daha etkili olabilir.

Fizyolojik ve klinik şartlara göre daha yüksek metformin, insülin ve glukoz düzeylerini kullanıldığı preklinik modellerdeki kısıtlamalardan dolayı metforminin etki mekanizması belirsizliğini korumaktadır. Örneğin klinik ve epidemiyolojik çalışmalarda kullanılan metformin dozu 250-2250 mg/gün iken, preklinik çalışmalardaki doz in vivo çalışmalar için bu dozun 45 katına, in vitro çalışmalar için de 10.000 katına kadar çıkabilmektedir. Bu çalışmalarda metformin için mM konsantrasyonları kullanılmaktadır. Ayrıca doku kültürleri de 3-5 kat daha fazla glukoz, ve 40 kata kadar daha fazla insülin içermektedir. Ancak son zamanlarda metforminin düşük dozlarının (yaklaşık 10 μM)

orta derecede AMPK aktivasyonunu ve devamındaki aşağı yönlü yolakların aktivasyonunu indüklemek için yeterli olduğu gösterilmiştir [77].

Bu konuları araştırmak için kaydedilen, güncel bir faz III randomize çalışmada erken evre meme kanseri hastalarında metformin ile kemoterapi kombinasyonunun etkinliği plasebo ile karşılaştırılmaktadır. Çalışmaya katılan hastalar hormon reseptör statüsüne, HER2 ekspresyonuna ve paklitaksel, doksorubisin ve siklofosfamid gibi kullanılan kemoterapötik ilaçlara göre sınıflandırılmıştır [26]. Primer sonlanım noktası kansersiz sağkalım iken, sekonder sonlanım noktaları ise genel sağkalım, hastalıksız sağkalım, advers olaylar ve kilo, açlık plazma insülin düzeyleri ve tümör dokusu gibi bağlantılı analizle ilişkili faktörlerden oluşmaktadır. Çalışmanın primer hipotezi başlangıçtaki yükselmiş açlık insülin düzeylerinde 6. ayda anlamlı bir düşüş olmasının metforminin faydasının göstergesi olduğudur ([27], "kişisel iletişim", [28]).

Klinik uygulamada hangi biguanid tipinin uygun olduğu da henüz netleşmeyen konulardadır. Örneğin tümör üzerinde direkt etki istenen durumlarda OCT1 reseptörünün ekspresyon düzeyleri önem kazandığı için, hücrelere penetre olmak için OCT1 reseptörlerinin varlığına ihtiyaç duymayan fenformin kullanımı daha uygun olabilir.

Güncel bir tartışmalı çalışmada tüm melanomların %50'sinde mevcut olan mutant V600E Braf geninin AMPK aktivasyonunu engelleyen RSK'yı aktive ederek metformine karşı in vitro rezistans gelişimine neden olduğu bildirilmiştir. Ayrıca metformin tedavisi ile in vitro ortamdaki tümör büyümesi hızlanmış ve VEGF-A ekspresyonu indüklenmiştir. Kombine anti-VEGF tedavisi Braf mutantındaki tümör büyümesini sinerjistik etkiyle azaltırken, aynı etkiye normal hücrelerde rastlanmamıştır [54].

Birçok çalışmada "eski" antidiyabetik ilaç olan metforminin yeni bir uygulama ile antikanser ilaç olarak kullanımı birçok çalışmada ne olarak gösterilmiştir. Ancak antitümör ilaç olarak optimal terapötik ve klinik kullanım şartlarını belirleyebilmek için etki mekanizması ile ilişkili daha ileri ve derinlemesine bilgilere ihtiyaç vardır.

Referanslar

1. Aljada A, Mousa SA (2012) Metformin and neoplasia: implications and indications. Pharmacol Ther 133:108–115
2. Baba Y, Nosho K, Shima K et al (2010) Prognostic significance of AMP-activated protein kinase expression and modifying effect of MAPK3/1 in colorectal cancer. Br J Cancer 103:1025–1033
3. Baur DM, Klotsche J, Hamnvik OP et al (2011) Type 2 diabetes mellitus and medications for type 2 diabetes mellitus are associated with risk for and mortality from cancer in a German primary care cohort. Metabolism 60:1363–1371
4. Bayraktar S, Hernadez-Aya LF, Lei X et al (2012) Effect of metformin on survival outcomes in diabetic patients with triple receptor-negative breast cancer. Cancer 118:1202–1211
5. Bednar F, Simeone DM (2012) Metformin and cancer stem cells: old drug, new targets. Cancer Prev Res (Phila) 5:351–354
6. Belfiore A, Frasca F (2008) IGF and insulin receptor signaling in breast cancer. J Mammary Gland Biol Neoplasia 13:381–406

7. Ben Sahra I, Le Marchand-Brustel Y, Tanti JF et al (2010) Metformin in cancer therapy: a new perspective for an old antidiabetic drug? Mol Cancer Ther 9:1092–1099
8. Ben Sahra I, Regazzetti C, Robert G et al (2011) Metformin, independent of AMPK, induces mTOR inhibition and cell-cycle arrest through REDD1. Cancer Res 71:4366–4372
9. Blagosklonny MV (2011) NCI's provocative questions on cancer: some answers to ignite discussion. Oncotarget 2:1352–1367
10. Bonanni B, Puntoni M, Cazzaniga M et al (2012) Dual effect of metformin on breast cancer proliferation in a randomized presurgical trial. J Clin Oncol 30(21):2593–2600
11. Bowker SL, Majumdar SR, Veugelers P et al (2006) Increased cancer-related mortality for patients with type 2 diabetes who use sulfonylureas or insulin. Diabetes Care 29:254–258
12. Brahimi-Horn MC, Chiche J, Pouyssegur J (2007) Hypoxia signalling controls metabolic demand. Curr Opin Cell Biol 19:223–229
13. Brown KA, Simpson ER (2010) Obesity and breast cancer: progress to understanding the relationship. Cancer Res 70:4–7
14. Buzzai M, Jones RG, Amaravadi RK et al (2007) Systemic treatment with the antidiabetic drug metformin selectively impairs p53-deficient tumor cell growth. Cancer Res 67:6745–6752
15. Chari ST, Leibson CL, Rabe KG et al (2008) Pancreatic cancer-associated diabetes mellitus: prevalence and temporal association with diagnosis of cancer. Gastroenterology 134:95–101
16. Chen HF, Li CY, Chen P et al (2006) Seroprevalence of hepatitis B and C in type 2 diabetic patients. J Chin Med Assoc 69:146–152
17. Chlebowski RT, Aiello E, McTiernan A (2002) Weight loss in breast cancer patient management. J Clin Oncol 20:1128–1143
18. Davila JA, Morgan RO, Shaib Y et al (2005) Diabetes increases the risk of hepatocellular carcinoma in the United States: a population based case control study. Gut 54:533–539
19. Decensi A, Puntoni M, Goodwin P et al (2010) Metformin and cancer risk in diabetic patients: a systematic review and meta-analysis. Cancer Prev Res (Phila) 3:1451–1461
20. Dowling RJ, Niraula S, Stambolic V et al (2012) Metformin in cancer: translational challenges. J Mol Endocrinol 48:R31–R43
21. El-Mir MY, Nogueira V, Fontaine E et al (2000) Dimethylbiguanide inhibits cell respiration via an indirect effect targeted on the respiratory chain complex I. J Biol Chem 275:223–228
22. El-Serag HB, Hampel H, Javadi F (2006) The association between diabetes and hepatocellular carcinoma: a systematic review of epidemiologic evidence. Clin Gastroenterol Hepatol 4:369–380
23. Evans JM, Donnelly LA, Emslie-Smith AM et al (2005) Metformin and reduced risk of cancer in diabetic patients. BMJ 330:1304–1305
24. Galli M, Van Gool F, Rongvaux A et al (2010) The nicotinamide phosphoribosyltransferase: a molecular link between metabolism, inflammation, and cancer. Cancer Res 70:8–11
25. Gatenby RA, Gillies RJ (2004) Why do cancers have high aerobic glycolysis? Nat Rev Cancer 4:891–899
26. Gonzalez-Angulo AM, Meric-Bernstam F (2010) Metformin: a therapeutic opportunity in breast cancer. Clin Cancer Res 16:1695–1700
27. Goodwin PJ, Ennis M, Pritchard KI et al (2012) Insulin- and obesity-related variables in early-stage breast cancer: correlations and time course of prognostic associations. J Clin Oncol 30:164–171
28. Goodwin PJ, Stambolic V, Lemieux J et al (2011) Evaluation of metformin in early breast cancer: a modification of the traditional paradigm for clinical testing of anti-cancer agents. Breast Cancer Res Treat 126:215–220
29. Gwinn DM, Shackelford DB, Egan DF et al (2008) AMPK phosphorylation of raptor mediates a metabolic checkpoint. Mol Cell 30:214–226
30. Hadad S, Iwamoto T, Jordan L et al (2011) Evidence for biological effects of metformin in operable breast cancer: a pre-operative, window-of-opportunity, randomized trial. Breast Cancer Res Treat 128:783–794

31. Hardie DG, Ross FA, Hawley SA (2012) AMPK: a nutrient and energy sensor that maintains energy homeostasis. Nat Rev Mol Cell Biol 13:251–262
32. Higurashi T, Takahashi H, Endo H et al (2012) Metformin efficacy and safety for colorectal polyps: a double-blind randomized controlled trial. BMC Cancer 12:118
33. Hirsch HA, Iliopoulos D, Tsichlis PN et al (2009) Metformin selectively targets cancer stem cells, and acts together with chemotherapy to block tumor growth and prolong remission. Cancer Res 69:7507–7511
34. Horman S, Vertommen D, Heath R et al (2006) Insulin antagonizes ischemia-induced Thr172 phosphorylation of AMP-activated protein kinase alpha-subunits in heart via hierarchical phosphorylation of Ser485/491. J Biol Chem 281:5335–5340
35. Hosono K, Endo H, Takahashi H et al (2010) Metformin suppresses colorectal aberrant crypt foci in a short-term clinical trial. Cancer Prev Res (Phila) 3:1077–1083
36. Hoyo C, Schildkraut JM, Murphy SK et al (2009) IGF2R polymorphisms and risk of esophageal and gastric adenocarcinomas. Int J Cancer 125:2673–2678
37. Huxley R, Ansary-Moghaddam A, Berrington de Gonzalez A et al (2005) Type-II diabetes and pancreatic cancer: a meta-analysis of 36 studies. Br J Cancer 92:2076–2083
38. Iliopoulos D, Hirsch HA, Struhl K (2011) Metformin decreases the dose of chemotherapy for prolonging tumor remission in mouse xenografts involving multiple cancer cell types. Cancer Res 71:3196–3201
39. Jalving M, Gietema JA, Lefrandt JD et al (2010) Metformin: taking away the candy for cancer? Eur J Cancer 46:2369–2380
40. Ji H, Ramsey MR, Hayes DN et al (2007) LKB1 modulates lung cancer differentiation and metastasis. Nature 448:807–810
41. Jin HE, Hong SS, Choi MK et al (2009) Reduced antidiabetic effect of metformin and down-regulation of hepatic Oct1 in rats with ethynylestradiol-induced cholestasis. Pharm Res 26:549–559
42. Jiralerspong S, Palla SL, Giordano SH et al (2009) Metformin and pathologic complete responses to neoadjuvant chemotherapy in diabetic patients with breast cancer. J Clin Oncol 27:3297–3302
43. Kalender A, Selvaraj A, Kim SY et al (2010) Metformin, independent of AMPK, inhibits mTORC1 in a rag GTPase-dependent manner. Cell Metab 11:390–401
44. Kim JW, Tchernyshyov I, Semenza GL et al (2006) HIF-1-mediated expression of pyruvate dehydrogenase kinase: a metabolic switch required for cellular adaptation to hypoxia. Cell Metab 3:177–185
45. Kim YH, Liang H, Liu X et al (2012) AMPKalpha modulation in cancer progression: multilayer integrative analysis of the whole transcriptome in Asian gastric cancer. Cancer Res 72:2512–2521
46. Kisfalvi K, Eibl G, Sinnett-Smith J et al (2009) Metformin disrupts crosstalk between G protein-coupled receptor and insulin receptor signaling systems and inhibits pancreatic cancer growth. Cancer Res 69:6539–6545
47. Kroemer G, Pouyssegur J (2008) Tumor cell metabolism: cancer's Achilles' heel. Cancer Cell 13:472–482
48. Kuhajda FP (2000) Fatty-acid synthase and human cancer: new perspectives on its role in tumor biology. Nutrition 16:202–208
49. Landman GW, Kleefstra N, van Hateren KJ et al (2010) Metformin associated with lower cancer mortality in type 2 diabetes: ZODIAC-16. Diabetes Care 33:322–326
50. Law JH, Habibi G, Hu K et al (2008) Phosphorylated insulin-like growth factor-i/insulin receptor is present in all breast cancer subtypes and is related to poor survival. Cancer Res 68:10238–10246
51. Long YC, Zierath JR (2006) AMP-activated protein kinase signaling in metabolic regulation. J Clin Invest 116:1776–1783

52. Lu CW, Lin SC, Chen KF et al (2008) Induction of pyruvate dehydrogenase kinase-3 by hypoxia-inducible factor-1 promotes metabolic switch and drug resistance. J Biol Chem 283:28106–28114
53. Martin M, Marais R (2012) Metformin: a diabetes drug for cancer, or a cancer drug for diabetics? J Clin Oncol 30(21):2698–2700
54. Martin MJ, Hayward R, Viros A et al (2012) Metformin accelerates the growth of BRAFV600E-driven melanoma by upregulating VEGF-A. Cancer Discov 2:344–355
55. Massoner P, Ladurner-Rennau M, Eder IE et al (2010) Insulin-like growth factors and insulin control a multifunctional signalling network of significant importance in cancer. Br J Cancer 103:1479–1484
56. Matsuo J, Tsukumo Y, Saito S et al (2012) Hyperactivation of 4E-binding protein 1 as a mediator of biguanide-induced cytotoxicity during glucose deprivation. Mol Cancer Ther 11:1082–1091
57. Mazzone PJ (2010) Lung cancer screening: an update, discussion, and look ahead. Curr Oncol Rep 12:226–234
58. Mazzone PJ (2010) Preoperative evaluation of the lung cancer resection candidate. Expert Rev Respir Med 4:97–113
59. Memmott RM, Mercado JR, Maier CR et al (2010) Metformin prevents tobacco carcinogen–induced lung tumorigenesis. Cancer Prev Res (Phila) 3:1066–1076
60. Monami M, Colombi C, Balzi D et al (2011) Metformin and cancer occurrence in insulin-treated type 2 diabetic patients. Diabetes Care 34:129–131
61. Noto H, Goto A, Tsujimoto T et al (2012) Cancer risk in diabetic patients treated with metformin: a systematic review and meta-analysis. PLoS ONE 7:e33411
62. Onitilo AA, Engel JM, Glurich I et al (2012) Diabetes and cancer II: role of diabetes medications and influence of shared risk factors. Cancer Causes Control 23:991–1008
63. Owen MR, Doran E, Halestrap AP (2000) Evidence that metformin exerts its anti-diabetic effects through inhibition of complex 1 of the mitochondrial respiratory chain. Biochem J 348(Pt 3):607–614
64. Pannala R, Basu A, Petersen GM et al (2009) New-onset diabetes: a potential clue to the early diagnosis of pancreatic cancer. Lancet Oncol 10:88–95
65. Papandreou I, Cairns RA, Fontana L et al (2006) HIF-1 mediates adaptation to hypoxia by actively downregulating mitochondrial oxygen consumption. Cell Metab 3:187–197
66. Pollak M (2008) Insulin and insulin-like growth factor signalling in neoplasia. Nat Rev Cancer 8:915–928
67. Pollak M (2012) Metformin and pancreatic cancer: a clue requiring investigation. Clin Cancer Res 18:2723–2725
68. Pouyssegur J, Dayan F, Mazure NM (2006) Hypoxia signalling in cancer and approaches to enforce tumour regression. Nature 441:437–443
69. Rocha GZ, Dias MM, Ropelle ER et al (2011) Metformin amplifies chemotherapy-induced AMPK activation and antitumoral growth. Clin Cancer Res 17:3993–4005
70. Rozengurt E, Sinnett-Smith J, Kisfalvi K (2010) Crosstalk between insulin/insulin-like growth factor-1 receptors and G protein-coupled receptor signaling systems: a novel target for the antidiabetic drug metformin in pancreatic cancer. Clin Cancer Res 16:2505–2511
71. Samudio I, Fiegl M, Andreeff M (2009) Mitochondrial uncoupling and the Warburg effect: molecular basis for the reprogramming of cancer cell metabolism. Cancer Res 69:2163–2166
72. Segal ED, Yasmeen A, Beauchamp MC et al (2011) Relevance of the OCT1 transporter to the antineoplastic effect of biguanides. Biochem Biophys Res Commun 414:694–699
73. Seyfried TN, Shelton LM (2010) Cancer as a metabolic disease. Nutr Metab (Lond) 7:7
74. Shu Y, Sheardown SA, Brown C et al (2007) Effect of genetic variation in the organic cation transporter 1 (OCT1) on metformin action. J Clin Invest 117:1422–1431
75. Song CW, Lee H, Dings RP et al (2012) Metformin kills and radiosensitizes cancer cells and preferentially kills cancer stem cells. Sci Rep 2:362
76. Stambolic V (2012). A. 2012. Chicago

77. Stambolic V, Woodgett JR, Fantus IG et al (2009) Utility of metformin in breast cancer treatment, is neoangiogenesis a risk factor? Breast Cancer Res Treat 114:387–389
78. Tan BX, Yao WX, Ge J et al (2011) Prognostic influence of metformin as first-line chemotherapy for advanced nonsmall cell lung cancer in patients with type 2 diabetes. Cancer 117:5103–5111
79. Vander Heiden MG, Cantley LC, Thompson CB (2009) Understanding the Warburg effect: the metabolic requirements of cell proliferation. Science 324:1029–1033
80. Vigneri P, Frasca F, Sciacca L et al (2009) Diabetes and cancer. Endocr Relat Cancer 16:1103–1123
81. Wang HQ, Altomare DA, Skele KL et al (2005) Positive feedback regulation between AKT activation and fatty acid synthase expression in ovarian carcinoma cells. Oncogene 24:3574–3582
82. Williams T, Brenman JE (2008) LKB1 and AMPK in cell polarity and division. Trends Cell Biol 18:193–198
83. Wingo SN, Gallardo TD, Akbay EA et al (2009) Somatic LKB1 mutations promote cervical cancer progression. PLoS ONE 4:e5137
84. Zadra G, Priolo C, Patnaik A et al (2010) New strategies in prostate cancer: targeting lipogenic pathways and the energy sensor AMPK. Clin Cancer Res 16:3322–3328
85. Zakikhani M, Dowling RJ, Sonenberg N et al (2008) The effects of adiponectin and metformin on prostate and colon neoplasia involve activation of AMP-activated protein kinase. Cancer Prev Res (Phila) 1:369–375
86. Zhang M, Hu Z, Huang J et al (2010) A 3'-untranslated region polymorphism in IGF1 predicts survival of non-small cell lung cancer in a Chinese population. Clin Cancer Res 16:1236–1244
87. Zhao Y, Liu H, Riker AI et al (2011) Emerging metabolic targets in cancer therapy. Front Biosci 16:1844–1860
88. Zheng B, Jeong JH, Asara JM et al (2009) Oncogenic B-RAF negatively regulates the tumor suppressor LKB1 to promote melanoma cell proliferation. Mol Cell 33:237–247
89. Zhou G, Myers R, Li Y et al (2001) Role of AMP-activated protein kinase in mechanism of metformin action. J Clin Invest 108:1167–1174
90. Zhuang Y, Miskimins WK (2011) Metformin induces both caspase-dependent and poly(ADP-ribose) polymerase-dependent cell death in breast cancer cells. Mol Cancer Res 9:603–615

İntestinal Mikroplar, Diyet ve Kanser

Meredith A. J. Hullar, Andrea N. Burnett-Hartman
ve Johanna W. Lampe

Özet

Giderek artan kanıtlar intestinal mikropların kanser etyolojisindeki rolünü desteklemektedir. Daha önce direkt olarak gastrointestinal maligniteleri başlatan veya destekleyen bakteri türlerinin tanımlanmalarına odaklanılıyordu; ancak intestinal mikropların sistemik enflamasyonu ve diğer aşağı yönlü yolakları etkileme kapasiteleri, bunların gastrointestinal kanal dışında dokulardaki kanser riskini de etkileyebileceğini göstermektedir. İntestinal mikrobiyotanın kansere karşı duyarlılıkla ilgili genel fonksiyonel katkıları arasında şunlar mevcuttur: (1) Başka türlü kullanılması mümkün olmayan diyet besin öğeleri ve/veya enerji kaynaklarına erişim (örn. diyet liflerinin ve dirençli nişastanın fermentasyonu); (2) Potansiyel olarak faydalı veya zararlı olabilen ksenobiyotiklerin metabolizması (örn. diyet bileşenleri, ilaçlar, karsinojenler v.s.); (3) İntestinal epitel hücrelerinin yenilenmesi ve mukozal entegrasyonun korunması; ve (4) İmmun sistem gelişim ve aktivitesinin etkilenmesi. İntestinal mikrobiyom, konak immun sistemi ve diyet maruziyetleri arasındaki kompleks ve dinamik ilişkilerin anlaşılması, karsinogenez mekanizmalarının tanımlanmasına yardımcı olarak gelecekteki kanser önleme ve tedavi stratejilerine ışık tutabilir.

Supported by US NIH grants U01 CA162077, R01 DK084157 and Fred Hutchinson Cancer Research Center.

M. A. J. Hullar · A. N. Burnett-Hartman · J. W. Lampe (✉)
Cancer Prevention Program, Public Health Sciences Division, Fred Hutchinson Cancer Research Center, 1100 Fairview Ave N, M4-B402, PO Box 19024Seattle, WA 98109, USA
e-mail: jlampe@fhcrc.org

J. W. Lampe
Department of Epidemiology, School of Public Health, University of Washington, Seattle, WA 98195, USA

V. Zappia et al. (eds.), *Advances in Nutrition and Cancer,*
Cancer Treatment and Research 159, DOI: 10.1007/978-3-642-38007-5_22,
© Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2014

Anahtar Kelimeler

Mikrobiyota · İntestinal mikrobiyom · İntestinal mikrobiyal topluluk · Kanserin önlenmesi

Kısaltmalar

PRR	Patern tanıma reseptörleri
ETFB	Enterojen *Backteroides fragilis*
LPS	Lipopolisakarid
TLR-4	Toll benzeri reseptör -4
LBP	LPS-bağlayıcı protein
MSI	Kararsız mikrosatelit
CIN	Kromozomal kararsızlık
SRB	Sülfat indirgeyici bakteri
UC	Ülseratif kolit
NOC	N-nitrozo bileşikleri
ODC	Ornitin dekarboksilaz
DFMO	Difluorometilornitin
ODMA	O-desmetilangolensin
ITC'ler	İzotiyosiyanatlar
EHC	Enterohepatik dolaşım
SSA	Sekonder safra asitleri
CA	Kolik asit
DCA	Deoksikolik asit
LCA	Litokolik asit
E_2	Östradiol
E_1	Östron
E_1S	Östron-3-sülfat
E_3	Östriol
DHEA	Dehidroepiandrosteron
16α-OHE1	16α-hidroksiöstron
TRFLP	Terminal restriksiyon uzunluk polimorfizmi
SHBG	Seks hormonu bağlayıcı globülin

İçindekiler

1 Giriş 379
2 İntestinal Mikrobik Topluluğun Moleküler Özellikleri 379
3 İntestinal Mikrobiyomun Kanser Gelişimindeki Direkt Etkileri 382
3.1 Enfeksiyon Ajanı Olarak İntestinal Mikroplar 382

3.2 Enflamasyonla İlişkili İntestinal Mikrobik Antijenik Partiküller 383
4 İntestinal Mikrobiyomun Kanserin Gelişimi ve Önlenmesindeki İndirekt Etkileri 383
4.1 Karsinogenez İle İlişkili Eksojen Substratların İntestinal Mikrobik Metabolizması 385
4.2 Karsinogenez İle İlişkili Endojen Substratların İntestinal Mikrobik Metabolizması 389
5 Sonuçlar 392
Referanslar 392

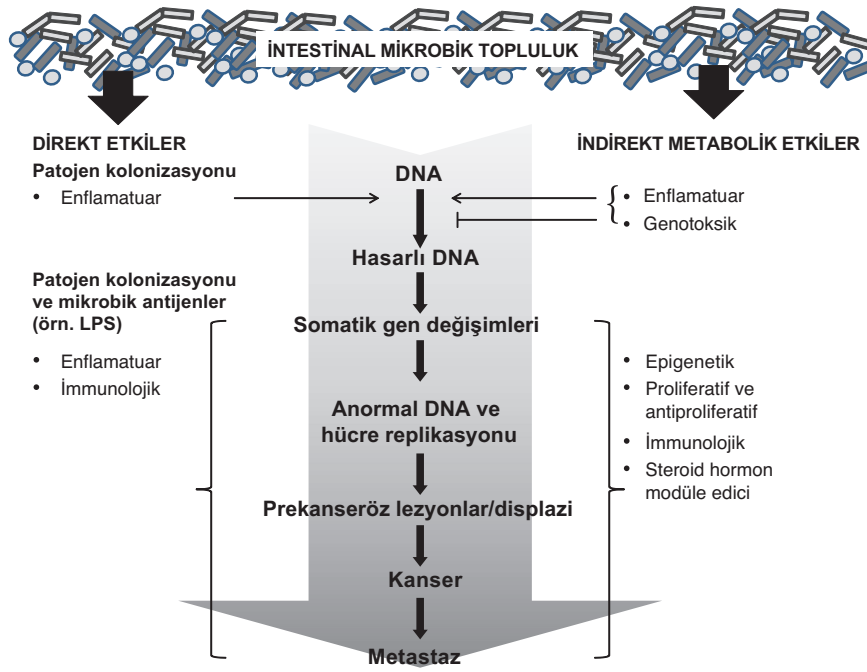
1 Giriş

İnsan bağırsaklarında büyük bir ekosistem oluşturan doğal bakterilerin çeşitli fizyolojik etkileri vardır. Ayrıca konağın sağlığını etkileyebilen multipl metabolik fonksiyonlara sahiptirler. Bakterilerin konağa bir çok farklı şekilde faydalı oldukları hipotezi mevcuttur. Bu faydalı etkiler arasında şunlar mevcuttur: (1) Metabolik dönüşümün ve faydalı diyet komponentlerinin kolaylaştırılması; (2) İntestinal pH'yı etkileyen faydalı fermentasyon son ürünlerinin üretimi ve intestinal mukoza epitel hücreleri ile etkileşim; (3) İntestinal mukozadaki patojenlerin bağlanma bölgeleri için yarışma yoluyla elimine edilmesi; (4) İntestinal immun sistem ile etkileşim ve immun sistemin regülasyonuna katkı; (5) Toksik maddelerin transformasyonu veya ekskresyonu; (6) Geçiş zamanını azaltan ve toksik maddeleri dilüe eden fekal kütlenin oluşturulması Mikropsuz ve normal hayvanlar arasındaki fenotipik farkları araştıran laboratuar çalışmalarında, mikrobiyotanın genel konak sağlığı üzerindeki etkisi gösterilmektedir [128, 142]; mikropsuz hayvanlarda daha düşük vücut ısısı, daha küçük lenf nodları, bilüribin ve safra asitlerinin dekonjugasyon yokluğu, üreaz ve β-glukuronidaz aktivitelerinin yokluğu ve daha düşük organ ağırlıkları görülür [20, 139].

Karsinogenez mikrobiyomla direkt ve indirekt yolaklar vasıtası ile ilişkilidir (Şekil 1). Direkt yolaklar arasında epitelde patojen kolonizasyonu veya patern tanıma reseptörleri olan bakteryel antijenik partiküller ile doğal immun sistem ile direkt etkileşim mevcuttur (PRR, örn. toll benzeri reseptör). İndirekt yolaklar arasında bakteryel karsinojen ve kemoprotektif faktörlerin diyet gibi eksojen kaynaklardan üretimi veya insanda metabolizma sonucunda ortaya çıkan endojen kaynaklardan üretilen bileşikler (örn. safra asitleri ve steroid hormonlar) mevcuttur. Aşağıda intestinal mikrobiyom, diyet ve kanser arasındaki ilişkiler ile ilgili epidemiyolojik ve deneysel kanıtlardan bahsedeceğiz.

2 İntestinal Mikrobik Topluluğun Moleküler Özellikleri

Bakteriler gastrointestinal kanal boyunca kolonize olurlar. Fekal örneklerdeki bakteriler insan kolon lümenindeki bakteryel kompozisyonu büyük oranda yansıtırlar [49, 129].



Şekil 1 İntestinal mikrobik toplulukların kanser riskini direkt ve indirekt olarak etkileme mekanizmaları. Patojenlerin intestinal epitelde direkt olarak kolonize olmaları ve mikrobik antijenlerin etkileri (örn. lipopolisakarid-LPS) enflamasyona ve immun fonksiyonun değişimine katkı yapabilir. Eksojen substratların (örn. diyet bileşenleri) mikrobik metabolitleri ve endojen konak bileşikleri (örn. steroid hormonlar, safra asitleri vs.) kolondaki karsinogenez sürecini ve sistemik etki ile de diğer dokulardaki karsinogenez sürecini etkileyebilir.

Erişkin insan bağırsağı 800'den fazla bakteri türü içeren bir bakteri topluluğuna ev sahipliği yapmaktadır [119]. Ancak bu mikrobik topluluk başlıca iki bakteryel tür olan Bacterioidetes ve Firmcutes ile bir Archaeal türü olan Methanobacter brevii tarafından oluşturulur [49, 62, 119, 143]. İntestinal mikropların metagenomik analizinde tüm bireylerde mevcut olan ana bir mikrobiyom olduğu gösterilmiştir. Ancak bireyler arasında intestinal mikrobik kompozisyonu oluşturan bakteri türleri yönünden büyük varyasyonlar mevcuttur [49, 62, 119, 143]. Bu nedenle insanda spesifik bir fenotip ile ilişkili özel bir bakterinin tanımlanması zor olabilir. Aktif bakterilerin izole edilmelerinde ve tanımlanmalarında kullanılan geleneksel kültür teknikleri zahmetli ve çok zaman alıcı yöntemlerdir. Ayrıca bakterilerin bu tekniklerle ölçümü, memeli bakteri türlerinin yaklaşık %40-60'ının klasik kültür teknikleri ile üretimlerinin mümkün olmaması nedeniyle sınırlıdır [20, 140].

İntestinal mikroplarla yapılan çalışmalar, klasik kültür tekniklerinin problemleri nedeniyle, intestinal bakteri türlerinin tanımlanmasında kullanılan moleküler sekans

bazlı yaklaşımlara kaymıştır [5, 53, 65, 92, 150]. Bakteryel DNA ve RNA bakterinin kültürde mevcudiyetinden bağımsız olarak tanımlanabilir. 16S ribozomal RNA (rRNA) geni filogenetik bazlı yaklaşımlar için idealdir. Çünkü bakteri türleri boyunca korunan DNA bölgeleri içerir. Ayrıca spesifik bakteri türlerine özgü sekanslar da içerir. Ayrıca enterik bakterilerdeki rRNA içeriği ile büyüme oranı arasındaki ilişki iyi bilinmektedir. Hücre başına düşen rRNA içeriği farklı beslenme şartlarındaki büyüme oranlarına bağlı olarak değişimler gösterir. Bu nedenle 16S rRNA içeriği mikrobik biyokütlenin [112, 124, 131] ve fizyolojik olarak aktif bakterilerin tahmininde kullanılabilir. Bu moleküler analizler alan düzeyine (örn. Eubacteria ve Archae), filum düzeyine (örn. Bacteroidetes ve Firmicutes), fonksiyonel grup düzeyine (örn. sülfat indirgeyici bakteriler) veya diğer türler düzeyine (örn. Clostridia türleri) odaklanmak amacıyla kullanılabilir.

Karşılaştırmalı omik teknolojileri mikrop kolonilerinin yapı ve fonksiyonlarının insan sağlığı ve hastalıkları ile ilişkilendirilmesine olanak tanımıştır Qin ve ark. 124 bireyin mikrobiyomlarındaki genleri metagenomik yaklaşım ile kataloglad ıkları güncel çalışmalarında 3.3 milyon bakteryel sekans tanımlamıştır [119]. Bu yaklaşım insanları, intestinal mikrobiyomların kompozisyon ve fonksiyonel potansiyellerine göre üç varsayımsal sınıfa ya da enterotipe ayırmak için kullanılmıştır [9]. Bu yaklaşım intestinal mikrobiyomun altında yatan fizyolojinin ve insanların bu mikrobiyomdan nasıl etkilenebileceklerinin potansiyel olarak tahmin edilebileceğini öne sürdüğü için merak uyandırıcıydı. Ancak bir genin varlığı, o genin her zaman eksprese olup mikrobiyom-konak ilişkilerini belirlemesi anlamına gelmemektedir. Fonksiyonel metagenomik yaklaşımların hangi genlerin aktif olarak eksprese olduğunu (metatranskriptomik) ve fonksiyonel proteinler haline dönüştüğünü (metaproteomik) değerlendiren yaklaşımlarla entegre olması gerekmektedir. Bu "omik" teknolojilerinin entegrasyonu ile sülfat indirgenmesi, nitrat indirgenmesi, sekonder safra asidi formasyonu ve diyetle etkileşime girerek insan sağlığını etkileyen diğer metabolik yolların değerlendirilmesi mümkündür. Epitel hücrelerinde karsinogenezi destekleyebilen patojenlerin direkt etkilerinin ölçümünde de kullanılabilirler. İntestinal mikrobiyomunun karsinogenezi direkt veya indirekt ajan olarak etkilediğini gösteren kanıtlar epidemiyolojik literatürde mevcuttur (bkz. aşağıdaki bölümler). İn vitro sistemler, fare modelleri ve kontrollü insan girişimleri ile birlikte intestinal mikrobiyomun insan sağlığını ve hastalık riskini etkileme mekanizmalarını anlamaya başlayabiliriz. Ancak intestinal mikrobiyomu prospektif bir şekilde örnekleyene kadar hastalık sonuçları üzerindeki nedensel etkilerini tam olarak anlamak güç olacaktır [86].

3 İntestinal Mikrobiyomun Kanser Gelişimindeki Direkt Etkileri

3.1 Enfeksiyon Ajanı Olarak İntestinal Mikroplar

Enfeksiyöz ajanların servikal, anal, penil, orofarengeal, karaciğer ve mide kanserleri ile belirli lenfoma tiplerinin etyolojilerinde önemli rol oynadıkları artık netleşmiştir [23, 42]. Dünyadaki kanser yükünün yaklaşık %20'si bilinen enfeksiyon ajanlarına bağlıdır. Bu oranın zaman içinde artması beklenmektedir [23, 153]. Enfeksiyonla ilişkili kanserlerin büyük bölümü viral ajanlara bağlı olarak oluşur. Servikal kanser ile insan papillomavirüs alfa tiplerinin veya karaciğer kanseri ile hepatit B ve C virüslerinin ilişkisi örnek olarak verilebilir [116]. Ancak özellikle intestinal mikropları kapsayan bakterilerin de karsinojenik etkileri olduğu bildirilmiştir [96].

Helicobakter pylori Uluslararası Kanser Araştırma Ajansı (IARC) tarafından klas I karsinojen olarak kabul edilmektedir. Gastrik kanserin ve MALT lenfomanın kabul edilen nedenlerinden biridir ve dünyadaki kanserlerin yaklaşık %5.5'inde sorumludur [72, 116]. Tifo ajanı olan *Salmonella typhi*'nin kronik mevcudiyetinin safra kesesi kanseri ile ilişkili olduğu hipotezi geliştirilmiştir [90]. Ayrıca çeşitli bakteri türleri de kolon kanserine yol açan potansiyel adaylar olarak belirlenmiştir. Bunlar arasında *Streptococcus bovis* (*S. gallolyticus* olarak da bilinir), *Fusobacterium nucleatum*, *H. pylori*, *Coriobacterialies*, ve enterotoksikojenik *Bacteroides fragilis* (ETFB) mevcuttur [27, 31, 63, 100].

Potansiyel enfeksiyöz bakteriyel ajanlarla intestinal karsinomları ilişkilendiren çalışmalarda vaka kontrol dizaynı kullanılmıştır. Vaka kontrol çalışmaları nadir hastalıkları incelemek için yeterli olsalar da, enfeksiyon ve kanser arasındaki zamana bağlı ilişkiyi tespit edemezler [99]. Bu metodolojik problem vaka kontrol çalışmalarının sonuçlarının yorumlanmasında önemlidir. Kanserde tümörün etrafındaki mikroçevre daha anaerobik hale gelerek, kanserin progrese olurken enfeksiyonlara muhtemelen daha duyarlı hale gelmesine neden olmaktadır [68]. Bu nedenle malign bir tümörün spesifik bakteryel ajanlar içeren enfeksiyonlara ideal bir ortam yaratıp yaratmadığı veya bakteryel enfeksiyonun kanserden önce başlayıp enflamasyon veya diğer yolaklarla karsinogeneze yol açıp açmadığı konusu henüz netleşmemiştir. Ayrıca bazı bakteri türleri erken karsinogenezde önemli rol oynasalar da, kanser gelişirken oluşan tümör ortamını tolere edemeyebilir; bu potansiyel olarak önemli ajanlar intestinal kanserle ilgili vaka kontrol çalışmalarında gözden kaçırılabilir. Bu nedenle prospektif çalışmalar ile kolorektal adenomlar gibi kanser prekürsörlerini araştıran çalışmalar bakteryel ajanlarla kanser arasındaki nedensel ilişkinin belirlenmesinde önemlidir.

Ayrıca bakteryel ajanlarla kanser arasındaki zamana bağlı ilişkinin tespit edilmesine ek olarak, enfeksiyon ajanlarının karsinogenezi hangi mekanizmalarla desteklediklerini de tespit edilmelidir. Yukarıda kısaca tartışılan tüm bakteri türlerinin, enfeksiyon bölgesindeki kanserleri klasik mikrobik karsinogenez ile direkt olarak desteklediklerini hipotezi

öne sürülmüştür. Bu modelde mikrobun intestinal mukozayı enfekte ederek kronik, lokal enflamatuar cevaba yol açmasının hücresel proliferasyonu, sitokin üretimini ve artan reaktif oksijen türlerine bağlı olarak DNA hasarın tetiklediği öne sürülmektedir [37]. Zaman içinde enfekte hücreler ile komşu hücrelerinde DNA hasarının akümüle olması ile tümör baskılayıcı genler ile morfolojik değişimleri indükleyen onkogenlerde ortaya çıkan mutasyonlar, sonuçta malign tümör gelişimine neden olur. Bu model *H. pylori* ve gastrik kanser gelişimi yönünden kesinlikle önemli olmasına rağmen [51], intestinal mikropların gastrointestinal sistem dışındaki bölgelerde bulunan karsinogenezi de etkileme potansiyelleri olduğunu ve diyet ile kompleks etkileşimlere girdiğini gösteren kanıtlar giderek artmaktadır [36, 123]. Örneğin bazı araştırmacılar *H.pylori* ve tuz alımının sinerjistik etki ile gastrik kanseri desteklediği hipotezini geliştirmiştir [147]. Ayrıca güncel çalışmalarda farelerdeki poliamin katabolizmasının ETFB tarafından indüklenen kolon tümörijenezine katkı yaptığı gösterilmiştir [63] (bkz. aşağıdaki diyet poliamin bölümü). Diyet ayrıca muhtemel karsinojen etkisi olan enfeksiyonların potansiyel kaynağı da olabilir. Örneğin kırmızı et tüketimi kolorektal kanser riskinde artış ile ilişkilidir [114]. Bu artışın kırmızı et ürünlerinde bulunan *S. bovis* gibi potansiyel karsinojenik bakteriyel kontaminantlardan kaynaklanıyor olması mümkündür [84].

3.2 Enflamasyonla İlişkili İntestinal Mikrobik Antijenik Partiküller

Gram negatif bakterilerin hücre duvarındaki komponentlerinden biri olan lipopolisakarid (LPS, endotoksin olarak da bilinir) obezitede düşük dereceli kronik enflamasyon [29, 30, 38] ve kolorektal kanser ile ilişkilidir [28, 56]. LPS toll benzeri doğal immunite ile ilişkili bir PRR olan ve TGF-β aracılığındaki yolakları tetikleyen reseptör-4 (TLR-4) yoluyla etki gösterir [1, 97]. Bu etki büyüme faktörlerini ve enflamatuar aracıları da içeren neoplaziye yol açabilen çeşitli genlerin ekspresyonu ile ilişkilidir. TLR-4 aktivasyonu ile LPS bağlayan, serum LPS-bağlayıcı protein (LBP) LPS'nin dolaşımdaki konsantrasyonları ile koreledir [117]. Güncel bir prospektif çalışmada LBP genindeki polimorfizmlerin kolorektal kanser riskinde artış ile ilişkili olduğu gösterilmiştir [33]. Bugüne kadar bu mutasyonların intestinal mikrobiyomdaki gram negatif bakterilerin dağılımı ve kanser riski ile ilişkisini araştıran bir çalışma yapılmamıştır.

4 İntestinal Mikrobiyomun Kanserin Gelişimi ve Önlenmesindeki İndirekt Etkileri

Diyet intestinal bakterilerin miktar ve tiplerini etkiler. Diyet bileşenlerinin intestinal metabolizmaları da hem koruyucu hem de zararlı metabolitlerin oluşumunu etkiler. Bu nedenle diyet ve ortak yaşayan intestinal bakteriler arasındaki etkileşimin sonucunda insanlardaki kanser riski etkilenebilir. Kanserler genomik ve epigenomik instabilite

Tablo 1 Spesifik eksojen ve endojen bileşiklerle ilgili intestinal mikrobik metabolizmanın kanser riski üzerindeki potansiyel etkisinin özeti

Bakteriyel metabolizma	Substrat kaynakları	Bakteri türleri	Kanserde potansiyel etkisi
Eksojen substratlar			
Hidrojen sülfür üretimi için sülfat indirgenmesi (H_2S)	Diyet proteinleri, özellikle sülfür içeren amino asitler ve inorganik sülfür kaynakları (su içindeki SO_4)	Sülfat indirgeyici bakteriler (SRB)	H_2S sitotoksik ve genotoksik etkilere sahiptir
Nitratın nitrite indirgenmesi N-nitrozo bileşiklerinin oluşumuna yol açar	Et (özellikle kırmızı et)	Multipl intestinal bakteri türleri	NOC, DNA eklentileri oluşturabilir
Poliamin üretimi	Ornitin	Multipl intestinal bakteri türleri	Enflamatuar mikroçevrenin büyümesi ile ilişkili poliamin
Flavonoid metabolizması: daidzein ekuola dönüşür	Soya	*Enterococcus faecium* suşu EPI1, *Laktobacillus mucosae* suşu EPI2, *Finegoldia magna* suşu EPI3 ve *Veillonella* türleri	Yüksek soya tüketen popülasyonlardaki ekuol üretimi düşük meme ve prostat kanseri riski ile ilişkilidir
Glukozinatların isotiyosiyanatlara (ITC) metabolize olması	Brokoli, lahana, kara lahana ve Brüksel lahanası gibi turpgiller ailesine ait sebzeler	*Escherichiacoli, Bacteroides thetaiotaomicron, Enterococcusfaecalis, Enterococcusfaecium, Peptostreptococcussp.* ve *Bifidobacterium* türleri	ITC'nin hücre siklusunu durdurma ve apoptozu indüklemeyi de içeren anti-karsinojenik özellikleri vardır
Endojen substratlar			
Sekonder safra asidi üretimi: Deoksikolik asit ve litokolik asit	Primer safra asitleri: Kolik asit ve kenodeoksikolik asit	Multipl Clostridium türleri	Sekonder safra asitleri tümör destekleyici aktiviteye bazı çalışmalar yüksek fekal sekonder safra asidi kolorektal kanser riskinde artış ile ilişkili olduğunu bildirmiştir
Endojen östrojen metabolizması	Östradiol (E2), östron 16α-hidroksiöstron, 16-oksoöstradiol, 15α-hidroksiöstron	*Clostridium paraputrificum, Bacteroides* türleri, *Eubacterium lentumu* da içeren çok sayıda reaksiyon gerçekleşir	Meme kanseri ile ilişkili olarak yükselen E2 konsantrasyonları

sonucunda ortaya çıkarlar. Bu instabilite normal, sağlıklı hücreleri kanser hücrelerine dönüştüren genetik ve epigenetik değişimlerin akümülasyonuna izin verir. Mikrobik metabolitler DNA üzerindeki direkt genotoksik etkileri ile DNA tamir sistemlerin modülasyonu ve histon asetilasyonu veya CpG adacık metilasyonu ile epigenetik mekanizmaların modülasyonu ile instabil mikrosatelit veya instabil kromozomlar içeren tümörlerin gelişimini etkileyebilirler [98, 137]. İnorganik bileşikleri büyüyebilmek için elektron akseptörü ve organik karbon kaynağı olarak kullanan kemolitoheterotroflar ile organik karbonu hem respirasyon hem de büyüme için kullanan organoheterotroflar gibi özgün metabolizmaları olan bakteriler kanserle ilişkilidir. Aşağıda özgün metabolizmaya sahip çeşitli bakteri örnekleri tanımladık. Bu mekanizmalar intestinal mikrobiyomun 1) Eksojen kaynaklardan (örn. diyet) tümörijenezi etkileyebilen metabolitleri üretebilmesine veya 2) Dolaşımda bulunan ve steroid hormonlar veya safra asitleri gibi tümörijenezi etkileyen endojen bileşiklere maruziyeti değiştirmesine neden olur.

4.1 Karsinogenez İle İlişkili Eksojen Substratların İntestinal Mikrobik Metabolizması

4.1.1 Sülfat İndirgenmesi

Hidrojen sülfit (H_2S) sülfat indirgeyici bakteri (SRB) tarafından üretilir ve hücre kültürü çalışmalarında hem sitotoksik hem de genotoksik etkilere sahiptir [13, 44, 75]. Örneğin Attene-Ramos ve ark. [13] modifiye komet deneyi kullanarak H_2S'in DNA hasarına yol açtığını göstermişlerdir. Sülfitin kolonik epitel hücrelerindeki bütiratın oksidasyonunu da önleyerek ATP formasyonunu ve enerji kullanımını azalttığı gösterilmiştir [34]. Bu etki iyonların absorpsiyonunu, mukus formasyonunu ve hücresel detoksifikasyonu engeller. Roediger ve ark. [121, 122] H2S'e maruz kalan kolonositlerdeki yağ asidi oksidasyonun azaldığını ve sülfitin hücresel redoks potansiyelini değişime uğratarak hücre proliferasyonunu değiştirdiğini bildirmiştir [44].

Sülfat indirgeyici bakterilerin enflamatuar bağırsak hastalığı ve kolorektal kanserdeki rolü çeşitli epidemiyolojik ve klinik çalışmalar tarafından araştırılmıştır [15, 60, 80, 118, 121, 122, 130]. Kolon kanseri için bir risk faktörü olan ve H2S maruziyetine bağlı olarak oluştuğu hipotezi geliştirilen genomik instabilite sporadik kolon kanseri ve ülseratif kolit ile ilişkilidir [14]. Popülasyon bazlı bir çalışmada (n=55) farklı etnik gruplardaki SRB dağılımı farklılıklar göstermiştir. SRB prevalansı daha yüksek kolon kanseri görülen gruplardaki diyet ile ilişkili bulunmuştur [115]. Ülseratif kolit muhtemelen SRB tarafından üretilen H2S ile ilişkili enflamasyon artışı ile bağlantılıdır [52]. Ayrıca ülseratif kolitli hastalardan alınan ve kültür yöntemi ile analiz edilen fekal örneklerde ülseratif kolit olmayanlara göre daha yüksek SRB konsantrasyonları tespit edilmiştir [61].

Normal intestinal mikrobiyatada sıklıkla bulunan SRB'nin dağılım ve aktivitesi diyetten etkilenebilir. Özellikle sülfür içeren amino asitler gibi diyet proteinleri ve inorganik sülfür kaynakları (suda SO_4) H_2S üretimine katkı yapabilir [46]. Magee ve ark. [95] tara-

fından yapılan kontrollü besleme çalışmasında H_2S üretiminin tüketilen protein miktarı ile anlamlı olarak ilişkili olduğu gösterilmiştir. Farelerden alınan fekal bulamaç ile inoküle edilmiş sürekli kültürde inorganik sülfat indirgenmesi [46] ve sülfonlu proteinler (örn. müsinler) sülfat indirgenmesini artırmış ve metanogenezi inhibe etmiştir [59]. Bu çalışmalar sülfat indirgenmesinin gerçekleşmesi için SRB gerektiğini ve SRB miktarının diyet tarafından değiştirilebileceğini göstermiştir. Delta Proteobacterianın delta alt divizyonunda bulunan SRB'lerin çoğu filogenetik olarak mütevazi bir grup oluştururlar. Gram pozitif bakterilerin Clostridium alt divizyonunda bulunan Desulfotomaculum bu duruma bir istisna teşkil eder [71]. Adenozin indirgenme yolağındaki ana enzimler, fonksiyonel genler olan katabolik (bi) sülfit redüktaz (*dsr*A) [154] ve adenozin-5' -fosfosülfat redüktazdır (*aps*A) [45, 55].

4.1.2 Nitrat İndirgenmesi

Epidemiyolojik çalışmalarda kırmızı ve işlenmiş et tüketimi ile kolon kanseri arasında ilişki olduğu gösterilmiştir [114]. Kırmızı ve işlenmiş etteki protein ve diğer nitrojenöz kalıntılar gibi instestinal bakterilerin N-nitrozo bileşikleri (NOC) üretmesine izin veren birçok bileşen [17] bu risk artışına katkı yapabilir [22]. Nitrat endojen olarak intestinal bakteriler tarafından üretilen nitrat redüktaz ile nitrite indirgenebilir. Nitrit organik bileşikler ile NOC oluşturmak üzere etkileşime girebilir. Feçeste nitrozaminler, nitrozamidler ve nitrozoguanidini de içeren birçok NOC sınıfı tespit edilmiştir [25]. NOC mutasyonları indükleyebilen DNA eklentileri oluşturabilir. Örneğin bazı NOC'ların K-ras geninin 12. veya 13. kodonunun ikinci tabanındaki GC'den AT'ye transisyonu indükleyebilen alkilleyici ajanlar oldukları gösterilmiştir. Bu K-ras mutasyonları olan kolorektal tümörlerde sık görülen bir mutasyondur [25]. Daha yakın zamanda yapılan bir çalışmada, ülseratif kolit teşhisi alan enflamatuar barsak hastaları ile enflamasyon olmayan irritabl barsak hastalarının kolon biyopsilerinin transkriptomik analizleri karşılaştırıldı [66]. Araştırmacılar gen ekspresyon düzeylerini çalışmaya katılan tüm deneklerdeki (vakalar ve kontroller) fekal NOC ile ilişkilendirdiler. Ağ analizi ile kromatin modifikasyonunun 11 histon geninin regülasyonunda değişim ile ilişkili olduğunu buldular. Bu bulgu epigenetik mekanizmaların NOC tarafından indüklenen karsinogenez ile ilişkili olabileceğini düşündürmektedir.

Diyet NOC konsantrasyonlarını etkileyebilir. Et tüketimi kolondaki nitrojenöz kalıntıları artırır [136]. Sekiz erkekte yapılan kontrollü besleme çalışmasında et tüketimi ile fekal NOC konsantrasyonları arasında doza bağlı ilişki tespit edilmiştir [73]. Fekal su genotoksisitesi, kırmızı et ile 7 günlük diyet girişim çalışasında, DNA hasar tamiri, hücre siklüsü ve apoptoz yolaklarını da içeren prokarsinojenik yolaklardaki kolonik gen ekspresyonunda değişimler ile ilişkili bulunmuştur Erkeklerde yapılan diğer kontrollü besleme çalışmalarında "hem demir" fekal NOC düzeylerini artırırken, "hem" yönünden zayıf protein kaynaklarının (örn. beyaz et ve sebze kaynaklı protein) fekal NOC'u artırmadığı bulunmuştur [22, 39]. Hem'in NOC üzerindeki bağımsız etkisi, bakteryel N-nitrozlaşmasına ek olarak kimyasal katalizin kırmızı etin endojen intestinal

N-nitrozlaşması üzerindeki doza bağlı etkisinden sorumlu olabileceğini düşündürmektedir [39]. Yüksek oranda kırmızı et içeren diyete brokoli, Brüksel lahanası ve bezelye eklenmesinin fekal NOC düzeylerine bir etkisi olmamıştır. Ancak soya eklenmesi fekal NOC düzeylerini anlamlı düzeyde baskılamıştır [74].

İntestinal bakterilerin N-nitrozlaşması üzerindeki önemi, nitrozlaştırma ajanı olarak nitrat verilen mikropsuz farelerde N-nitrozlaşması görülürken, normal intestinal mikrobiotası olan farelerde bu etkinin görülmemesi ile gösterilmiştir [103]. Bazı fakültatif ve anaerob bakteriler nitrat redüktaz yoluyla NOC katalizleyebilirler. Katabolik nitrat indirgenmesi bakteri grupları boyunca dağılmış bir grup bakteri tarafından yürütülür. NarG geni nitratın nitrite indirgenmesinden sorumludur. İnsanlarda yapılan güncel çalışmalarda haftada üç porsiyondan fazla kırmızı et tüketenlerde ve nükleotid eksizyon tamir yolağında polimorfizm olanlarda kolorektal kanser riskinde artış gözlenmiş olması ilginçtir [79]. Ancak intestinal mikrobik NOC formasyonunun derecesi ile konak DNA tamir mekanizmalarındaki varyasyonların kolorektral risk üzerindeki kombine etkileri araştırılmamıştır.

4.1.3 Poliamin Üretimi

Poliamine maruziyet kolonik mukoza enflamasyonu ve devamında kolon kanseri riski ile ilişkilendirilmiştir [58]. Ornitin spermidin ve spermin prekürsoru olan poliamin putreskine dönüşür. Bu yolak normal büyümede önemlidir. Ancak poliaminler okside olarak reaktif oksijen türlerinin üretimine yol açarak kronik enflamatuar mikroçevreye katkı yapabilirler. Epitelyuma poliamin akışında artış ökaryotik ornitin dekarboksilazı (ODC) yukarı regüle eder. Poliamin sentezinde rol oynayan önemli bir regülatör enzim olan ODC kolon kanserinde yukarı regüle olur. Bu ODC yukarı regülasyonu, CIN tümörlerinde bulunan K-ras mutasyonlarının aşağı yönündeki MAPK sinyal yolağı yukarı regüle olan kolon kanserlerini destekleyebilir [76, 89, 105].

Poliaminler endojen olarak üretilmelerine rağmen diyet ve diyet prekürsorlarının metabolizması ile üretilen poliaminler intestinal epitel hücrelerinin maruziyetini etkilerler. Gerner ve ark. [57] kemopreventif tedavilerin etkinliklerinin diyetle alınan putreskinin modülasyonu ile etkilenebileceğini göstermiştir. Ancak intestinal mikrobiyomunun modülasyonu dikkat çekmemiş bir kemopreventif opsiyondur. Ailesel adenamatöz polipoziste sıklıkla uygulanan bir kemoprevensiyon tedavisi ODC'nin difluorometilornitin (DFMO) ve nonsteroidal antienflamatuar ilaçlarla bloke edilmesidir [58]. DFMO poliaminlerin ökaryotik üretimlerinde rol oynar; ancak bakteryel yolla üretilen putreskinin tedarik miktarının değiştirilmesinde daha az etkili olabilir. Bakteryel amino asit dekarboksilazların filogenetik ve yapısal farklılıkları göz önüne alındığında [91] bakterilerin poliamin üretmelerini ve lümendeki poliamin konsantrasyonlarını etkilemelerini sağlayan multipl, farklı mekanizmaları mevcuttur. DFMO bu nedenle poliaminlerin ökaryotik üretimlerini etkilerken, bakteryel üretim etkilenmeyebilir. Örneğin DFMO'nun H. pylori büyüme oranlarını etkilediği gösterilmiştir. Ancak E. coli ve C. rodentium gibi diğer enterikleri etkilememektedir [16]. Poliamin üretiminin intestinal mikroplar tarafından azaltılmasının yeni yollarının tanımlanması veya intestinal mik-

robiyal topluluğunun değişimi, yüksek riskli hasta popülasyonlarında kullanılabilecek farklı bir kemoprevensiyon stratejisi olabilir.

4.1.4 Flavonoid Mekanizması

Epidemiyolojik çalışmalarda bitkisel kaynaklı besinlerin tüketiminin farklı kanser türlerinin risklerinde azalma ile ilişkili olduğu gösterilmiştir [152]. Polifenolik bileşikler olan flavonoidler insan diyetinde en çok bulunan bitkisel kaynaklı besin öğeleridir. Altı kategoriye ayırılırlar. Antioksidan özellikleri yoluyla DNA hasarının azaltılması veya enflamasyon yolakları ile etkileşime girebilme gibi çeşitli kanser engelleyici özellikleri mevcuttur ([138] nolu referansta incelenmiştir). Salgı miktarlarında ve dolaşımdaki konsantrasyonlarında büyük bireysel farklılıklar olması muhtemelen intestinal mikrobiyom varyasyonlarının bir yansımasıdır.

Bakteryel metabolizma üzerindeki etkileri en fazla araştırılmış flavonoid muhtemelen soya izoflavonu olan daidzeindir. Çalışmalarda popülasyonun yaklaşık %30-50'sinin daidzeini ekuole [54, 88], %80-90'ının da O-desmetilangolensine (ODMA) metabolize edebildiği gösterilmiştir [6, 81]. Çeşitli in vitro çalışmalarda ekuolinin prekürsörü olan daidzeine göre daha biyolojik olarak daha fazla aktif olduğu gösterilmiştir. Örneğin ekuolin daha fazla östrojenik [101], daha güçlü bir antioksidan olduğu [7, 120, 144, 145] ve serumda hem genistein hem de 17β-östradioldan daha yüksek serbest fraksiyonunun mevcut olduğu gösterilmiştir [110]. Bu bulgu 10 yıldan daha uzun süre önce ekuol üretebilen bireylerin soya tüketimine potansiyel "cevap verici" olması nedeniyle ilginin artmasına yol açmıştır. Setchell ve ark. [133] soya ve izoflavon takviye çalışmalarında çok farklı sonuçlar elde edilmesinin, bireylerin ekuol üretebilme yeteneklerinin "bakteryel tiplemesinin" yapılmamış olmasından kaynaklanabileceği hipotezini geliştirmiştir. Hepsi değilse de, bazı çalışmalarda ekuol üretiminin meme ve prostat kanseri risklerinde azalma ile ilişkili olduğu gösterilmiştir ([87] nolu referansta incelenmiştir). Ayrıca ekuol üretimi ile (meme kanseri riski yönünden), steroid hormonların ve üriner östrojen metabolitlerinin dolaşımdaki miktarları ve mamografik meme dansitesi arasında olumlu ilişkiler gözlenmiştir [10, 48, 54, 113].

İnsan intestinal bakterileri ekuol ve ODMA üretiminden sorumludur [11. 32]. Belirli bakterilerin ekuol üretim yolağında özgün fonksiyonları olduğu belirlenmiştir [135]. Ancak diğer çalışmalarda Enterococcus faecium suş EPI1, Lactobacillus mucosae EPI2 suşu, Finegoldia magna EPI3 suşu ve suşu henüz tespit edilemeyen Veillonella türünden bakterilerden oluşan bir konsorsiyumun da ekuol üretiminde rol oynayabileceği gösterilmiştir [43].

4.1.5 Turpgillerden Elde Edilen Glukozinolatların Metabolizmaları

Turpgiller veya hardal ailesine ait sebzelerin tüketiminin bazı kanser riskleriyle ters orantılı ilişkiye sahip olduğu gösterilmiştir [85]. Glukozinolatların hidroliz ürünü olan izotiyosiyanatların (ITC) hem in vitro hem de in vivo ortamda antikarsinojenik özellikleri olduğu gösterilmiştir ([111] nolu referansta incelenmiştir). ITC'lerin biyolojik etkileri çeşitlidir. Karsinogenezde önemli rol oynayan multipl yolaklarla iletişime girmeyi ve

yolakların kendi arasındaki etkileşimini de kapsayan çeşitli etkileri mevcuttur. ITC'nin tümörijenezi inhibe edici etkisinin, enzim aktivitelerinin faz 1 ve 2 biyotransformasyonlarını inhibe etmeleri ile karsinojenlerin metabolizmaları ve DNA'ya bağlanmaları gibi kimyasal karsinogenez ile ilişkili farklı mekanizmaları etkilemeleri yoluyla gerçekleştiği gösterilmiştir [70]. İn vitro çalışmalarda ITC'nin hücre döngüsünü durdurduğu ve apoptozu indüklediği de gösterilmiştir [109].

Glukozinolatlar bitki mirozinazları veya bakteriler tarafından üretilen tioglukozidazlar tarafından ITC'ye dönüştürülürler. Turpgillere ait bitkilerin pişirilmesi bitki mirozinazlarını deaktive eder. Turpgillerin çoğunun pişirilerek tüketildiği düşünülürse intestinal bakterilerin glukozinolatların ITC'ye dönüştürülmesinde önemli rol oynadığı ortaya çıkmaktadır. Daha önce yapılan çalışmalarda insan bağırsağından veya feçesten elde edilen Escherichia coli, Bacteroides thetaiotaomicron, Enterococcus faecalis, E. faecium, Peptostreptococcus türleri, ve Bifidobacterium türleri gibi belirli bakterilerin glukozinatları ITC veya diğer türevlerine dönüştürebildiği gösterilmiştir [26, 50, 69]. İnsanlardaki kontrollü besleme çalışmalarında (bitki mirozinaz aktivitesini yok etmek için ısıtılmış veya mikrodalga fırında ısıtılmış) aynı miktarda turpgilllere ait sebzelerin tüketimi sonrasında üriner ITC ekskresyon oranlarında önemli bireysel farklar gösterilmiştir [125, 134, 146]. Benzer sonuçlar sıçanlarla yapılan kontrollü besleme çalışmalarında da tespit edilmiştir [35, 126]. Bu bulgular ITC formasyonunda bireyler arasındaki intestinal bakterilerin aktivite veya kompozisyonlarının farklı olduğunu düşündürmektedir. Yakın zamanda yaptığımız bir çalışmada, standart pişirilmiş brokoli yemeğinden sonra idrarında daha yüksek ITC ekskresyonu görülen bireylerdeki fekal bakterilerin glukorafanini daha fazla metabolize ettiğini gösterdik [93].

4.2 Karsinogenez İle İlişkili Endojen Substratların İntestinal Mikrobik Metabolizması

4.2.1 Sekonder Safra Asitlerinin Üretimi

Kolonik bakteryel transformasyon ürünü olan sekonder safra asitl (SSA) deoksikolik asidin (DCA) safra taşı formasyonunda [141] ve kolorektal karsinogenezde [21, 106] rolü olduğu bildirilmiştir Primer safra asitleri olan kolik asit ve kenodeoksikolik asit karaciğer kolesteroldan sentezlendikten sonra glisin veya taurin ile konjuge olarak enterohepatik dolaşıma girerler. Karaciğer, safra kesesi ve bağırsaklar arasındaki enterohepatik dolaşım yaklaşık %95 oranında etkili olduğu halde, safra asitlerinin 5%'i bu dolaşımdan kaçarak kolondaki anaerobik bakteriler tarafından SSA, DCA ve litokolik aside (LCA) dönüştürülürler. Diyet kolona geçen safra asitlerinin miktarını direkt olarak etkileyebilir. Çalışmalar yüksek yağlı diyetlerin daha yüksek SSA konsantrasyonlarına yol açabileceğini göstermektedir [40, 104]. Hayvan çalışmalarında SSA'ların tümör destekleyici etkileri olduğu gösterilmiştir. İnsanlarda yapılan bazı çalışmalarda da yüksek fekal safra asidi konsantrasyonlarının kolorektal kanser riskini artırdığı belirtilmiştir ([104] nolu referansta incelenmiştir). Ancak bu ilişki tüm çalışmalarda gösterilememiştir [107]. İn. geçiş zamanı ve pH gibi faktörlerin fekal SSA konsantrasyonlarını etkilediği düşünüldü-

ğünde fekal safra asidi konsantrasyonları ile kolon kanseri arasındaki ilişkinin kompleks olduğu anlaşılmaktadır. Enterohepatik dolaşımdan kaçan hemen tüm safra asitlerinin ekskresyon öncesi SSA'ya dönüştürüldüğü göz önüne alınırsa, fekal safra asidi konsantrasyonları kullanılarak tahmin edilen safra asidi havuzundaki DCA miktarlarının gerçekte olduğundan daha yüksek çıkabileceği bildirilmiştir [104]. Ancak safra asidi havuzunu daha doğru ölçebilen serum DCA seviyelerinin de kolon kanseri hastalarında sağlıklı bireylerden daha yüksek olduğu gösterilmiştir [18, 19]. DCA ile kolon kanseri arasındaki potansiyel bir ilişki DCA'nın tümör supresyonuna müdahil olarak ve hücre büyüme sinyalleri yoluyla büyümeyi stimüle ederek apoptoz, proliferasyon ve intestinal epitelin farklılaşması [64] arasındaki dengeyi değiştirmesi olabilir.

DCA formasyonundan sorumlu bakterilerin *Clostridium* cinsine ait olduğu belirlenmiştir [47, 83, 148, 149]. Bu bakteriler düşük veya yüksek 7α-hidroksile edici aktivitelerine göre iki sınıfa ayrılmıştır. Bu sınıflar bireysel DCA konsantrasyonlarındaki varyasyonları kısmen açıklayabilir. Ayrıca kolik asidin DCA'ya bakteryel 7α-dehidroksilasyonunda rol oynayan safra asidi tarafından indüklenen operon da tanımlanmıştır [148].

4.2.2 Endojen Östrojenlerin Metabolizması

Meme kanseri riski idrarda yükselmiş östradiol (E_2), östron (E_1), E_1 sülfat (E_1S), östriol (E_3), dehidroepiandrosteron (DHEA) ve 16α-hidroksiöstron (16α-OHE_1) seviyeleri ile ilişkilidir [10]. Dolaşımdaki östrojen seviyelerini değiştiren hem genetik hem de çevresel faktörler de meme kanseri riskini etkileyebilir.

Östrojenler kan dolaşımında serbest ya da proteine bağlanmış, konjuge veya konjuge olmayan halde bulunabilir, hedef organ ile etkileşime girebilir veya salgılanabilirler. Östrojenler karaciğerde sülfatlanabilir, glukuronidasyona uğrayabilir ya da metile olabilirler. Yaklaşık %50'si idrarla atılırken kalan kısmı safraya geçerek enterohepatik dolaşıma geçer. Kolondaki bazı bileşikler feçesle atılırken bazıları da intestinal mikrobiyom tarafından metabolize edilir ([108] nolu referansta incelenmiştir). İn. mikrobiyom (1) dekonjugasyon yoluyla dolaşımdaki hormonlara maruziyeti artırabilir ve (2) dolaşımdaki hormonların kompozisyonunu (veya tiplerini) hidroksilasyon/dehidroksilasyon ve metilasyon/demetilasyon yoluyla etkileyebilir. Çeşitli intestinal bakterilerde bulunan β-glukozidazlar, β-glukuronidazlar ve sulfatazlar hormon konjugatlarını hidrolize ederler [41]. Bu unkonjuge östrojenler kan dolaşımına reabsorbe olduktan sonra, idrarla atılabilir veya tekrar enterohepatik dolaşıma girebilirler [132] Adlercreutz ve ark. otuz yıldan daha uzun süre önce antibiyotik uygulanması ile östrojenlerin idrarla atılımının azaldığını gözlemiştir. Bu bulgu intestinal bakterilerin östrojenlerin enterohepatik dolaşımının regüle edilmesinde ve buna bağlı olarak maruz kalınma derecelerinde önemli rol oynadıklarını göstermektedir [3, 4, 102]. Diyetin kendisi de östrojenleri direkt olarak diyet lifleri ile bağlayarak ya da intestinal mikropların östrojenleri metabolize etme derecelerini etkileyerek serum hormon konsantrasyonlarını etkileyebilir [2].

Birçok intestinal bakteri konjuge steroidlerin hidrolizasyonlarının ilk aşamasını gerçekleştirerek [151] diğer intestinal bakteriler tarafından daha ileri metabolize edilmelerinin yolunu açar. Östrojenlerin mikrobik metabolizmaları indirgenme, oksidasyon ve E_2'nin E_1'den

Tablo 2 Premenopozal kadınlardaki serum hormon konsantrasyonları (sonuç) ile intestinal mikrobik topluluk (maruziyet) ve diyet (maruziyet) arasındaki ilişkiler.

	β-Katsayısı	p değeri
Östron sülfat		
Archaea[b]	–0.11	0.028
Total lif	–0.01	0.019
Alu I Eksen 1	–0.18	0.017
Total lif	–0.01	0.094
Total yağ	–0.005	0.045
Serbest östradiol: östradiolun *tamamı*		
Alu I Eksen 2	0.21	0.013
Total lif	–0.01	0.099
Total östradiol		
Rsa I Eksen 2	0.17	0.028
Total lif	–0.011	0.053

[a] Basamaklı GLM (genel lineer model) ile hormonlar, vücut yağı yüzdesi ve potansiyel olarak bozucu demografik faktörler 0.10 düzeyinde değerlendirilmiştir

[b] Adipozite için düzeltme

ve E_2-3-glukuronidden, E_1'in E_2'den ve östron-3-sulfattan (E_1S) ve E_3'ün 16α-OHE_1'den oluşumunu içerir. Ayrıca in vitro enkübasyonda E_1, E_2, ve 16α-dehidroksiöstronun E_3'e, 16-oksoöstradiolun 16-epiöstriola, ve 15α-hidroksiöstronun 15α-hidroksiöstradiole dönüşümü de gösterilmiştir [77, 78, 94]. Ring-A indirgemesi *Clostridium paraputrificum* ve *Bacteroides* türleri gibi çok çeşitli bakterilerin enzimleri ile katalizlenir. Ring-D'nin redüktif dehidroksilasyonu ve dehidrojenasyon gibi oksidatif reaksiyonlar da *Eubacterium lentum* gibi bakteriler tarafından gerçekleştirilir [24].

Güncel bir çalışmada intestinal mikrobik topluluk kompozisyonu ile dolaşımdaki steroid hormon konsantrasyonları arasındaki ilişkileri 40-45 yaşları arasındaki 115 sağlıklı premenopozal kadında araştırdık [12]. Fekal örneklerdeki intestinal mikrobik topluluğun kompozisyonu Alu I (başlıca Bacteroidetes) ve Rsa I (başlıca Firmicutes) adlı iki restriksiyon enzimi içeren terminal restriksiyon uzunluk polimorfizmi (TRFLP) ve Bacteria, Bacteroides, Clostridia Küme XIVa ve Archaea'daki 16S rRNA genlerinin kuantitatif PCR'ı (qPCR) ile ölçüldü. Regresyon modelleri hormonlar ve intestinal mikrobik topluluk yapısı arasındaki ilişkileri değerlendirmek amacıyla kullanıldı. E_1, E_1S, total ve serbest E_2 ve seks hormonu bağlayıcı globülinin (SHBG) serum konsantrasyonları ile serbest E_2:total E_2 oranları ölçülmüştür. Ayrıca TRFLP analizi ve qPCR'dan elde edilen intestinal mikrobik topluluk çok değişkenli eksen maruziyetleri ölçülmüştür. Alu I TRFLP paternlerinin NMS (non-mass selected) analizlerinin final çözümünde 400 tekrar sonrası 16.65'lik stabil stres değeri elde edilmiştir. Üç eksen her iki alt kümedeki TRFLP verilerindeki varyasyonlarının %79.7'sini kümülatif olarak açıklayabilmiştir. 1, 2 ve 3. eksenler sırasıyla %26.2, %31.7, %21.7 oranında açıklanmıştır. Rsa I TRFLP pa-

ternlerinin NMS (non-mass selected) analizlerinin final çözümünde 400 tekrar sonrası 16.87'lik stabil stres değeri elde edilmiştir. Rsa I TRFLP'nin NMS analizi eksen 1 (%23), eksen 2 (%29) ve eksen 3 (%29) verilerindeki varyasyonların %82'sini açıklamıştır. E_1 ($p<0.004$), E_1S ($p<0.017$), E_2, ve serbest E_2:total E_2 oranı ALU I kullanan intestinal mikrobik topluluk ile anlamlı olarak ilişkili bulunmuştur ($p<0.05$). E_1S, E_2, ve serbest E_2:total E_2 oranı Rsa I ile tanımlanan intestinal mikrobik topluluk ile anlamlı olarak ilişkili bulunmuştur ($p<0.05$). E_2, ve serbest E_2:total E_2 oranı ve SHBG Bacteroides ile ilişkili bulunmuştur. E_1 ve E_1S Archaea ile ilişkilidir ($p<0.05$). Diyet faktörlerine ve demografik özelliklere göre düzeltme yapıldıktan sonra E_1S ile Archaea veya Alu Ekseni I, serbest E_2:total E_2 ve Alu Ekseni 2, ve E_2 ve Rsa Ekseni I arasında anlamlı ilişki bulunmuş olması intestinal mikrobiyomun kompozisyonunun dolaşımdaki steroid hormonlarının konsantrasyonlarının ve tiplerinin belirlenmesinde önemli bir faktör olabileceğini göstermektedir. Bu çalışma diyet gibi maruziyetlerin intestinal mikrobik topluluk ile ilişkisinin değerlendirilmesinin önemli olduğunu vurgulamaktadır (Tablo 2).

5 Sonuçlar

İnsan sağlığı intestinal mikrobiyom, diyet ve konak fizyolojisi arasındaki etkileşimlerden etkilenmektedir. Bu bölümde mikrobik olarak yönetilen kanserle ilgili yolaklar ile ilgili örnekler sunduk. Bu yolaklar 1) Patojeninin insanlar ile direkt temasını ve 2) Mikrobik metabolizmanın eksojen ve endojen substratlar üzerindeki indirekt etkilerini kapsamaktadır. Bu yolaklar enflamasyonun özelliklerini değiştirebilir, DNA'yı modifiye ederek mutasyonlara neden olabilir veya epigenetik ve gen sessizleştirmesinde rol oynayabilirler. Son zamanlarda intestinal mikrobiyomda yapılan metagenomik çalışmalarda, çeşitli kemoheterotrofik ve organoheterotrofik anaerobik metabolizmaların fermentasyonda ve konağa faydalı veya zararlı olabilen metabolitlerin üretiminde rol oynadığı gösterilmiştir [9, 143]. Ayrıca bu yaklaşımlar ile kolondaki tümörlü ve tümörsüz bölgelerdeki intestinal mikrobik topluluğun kompozisyonundaki farklılıklar da tanımlanmıştır [100]. Bireyler arası kanser riskindeki farklılıklar, mikrobik biyokütle, kompozisyon, fonksiyon ve diyet gibi konak faktörleri ile olan etkileşimden kaynaklanabilir. Gelecekteki çalışmalar intestinal mikrobiyomu konağın maruz kaldığı faktörler ile ilişkisine katkı yapan fonksiyonel bir ünite olarak değerlendirmelidir. Böylece hem intestinal mikrobiyomun hem de maruziyetlerin kanser riski üzerindeki etkileri anlaşılarak uygun önleme stratejileri dizayn edilebilir.

Referanslar

1. Abreu MT (2010) Toll-like receptor signalling in the intestinal epithelium: how bacterial recognition shapes intestinal function. Nat Rev Immunol 10:131–144
2. Adlercreutz H, Martin F (1980) Biliary excretion and intestinal metabolism of progesterone and estrogens in man. J Steroid Biochem 13:231–244
3. Adlercreutz H, Martin F, Pulkkinen M et al (1976) Intestinal metabolism of estrogens. J Clin Endocrinol Metab 43:497–505

4. Adlercreutz H, Martin F, Lehtinen T et al (1977) Effect of ampicillin administration on plasma conjugated and unconjugated estrogen and progesterone levels in pregnancy. Am J Obstet Gynecol 128:266–271
5. Amann RI, Binder BJ, Olson RJ et al (1990) Combination of 16S rRNA-targeted oligonucleotide probes with flow cytometry for analyzing mixed microbial populations. Appl Environ Microbiol 56:1919–1925
6. Arai Y, Uehara M, Sato Y et al (2000) Comparison of isoflavones among dietary intake, plasma concentration and urinary excretion for accurate estimation of phytoestrogen intake. J Epidemiol 10:127–135
7. Arora A, Nair MG, Strasburg GM (1998) Antioxidant activities of isoflavones and their biological metabolites in a liposomal system. Arch Biochem Biophys 356:133–141
8. Arts CJM, Govers CARL, Van den Berg H et al (1991) In vitro binding of estrogens by dietary fiber and the in vivo apparent digestibility tested in pigs. J Steroid Biochem Mol Biol 38:621–628
9. Arumugam M, Raes J, Pelletier E et al (2011) Enterotypes of the human gut microbiome. Nature 473:174–180
10. Atkinson C, Skor HE, Dawn Fitzgibbons E et al (2003) Urinary equol excretion in relation to 2-hydroxyestrone and 16alpha-hydroxyestrone concentrations: an observational study of young to middle-aged women. J Steroid Biochem Mol Biol 86:71–77
11. Atkinson C, Berman S, Humbert O et al (2004) In vitro incubation of human feces with daidzein and antibiotics suggests interindividual differences in the bacteria responsible for equol production. J Nutr 134:596–599
12. Atkinson C, Newton KM, Stanczyk FZ et al (2008) Daidzein-metabolizing phenotypes in relation to serum hormones and sex hormone binding globulin, and urinary estrogen metabolites in premenopausal women in the United States. Cancer Causes Control 19:1085–1093
13. Attene-Ramos MS, Wagner ED, Plewa MJ et al (2006) Evidence that hydrogen sulfide is a genotoxic agent. Mol Cancer Res 4:9–14
14. Attene-Ramos MS, Wagner ED, Gaskins HR et al (2007) Hydrogen sulfide induces direct radical-associated DNA damage. Mol Cancer Res 5:455–459
15. Balamurugan R, Rajendiran E, George S et al (2008) Real-time polymerase chain reaction quantification of specific butyrate-producing bacteria, Desulfovibrio and Enterococcus faecalis in the feces of patients with colorectal cancer. J Gastroenterol Hepatol 23:1298–1303
16. Barry DP, Asim M, Leiman DA et al (2011) Difluoromethylornithine is a novel inhibitor of Helicobacter pylori growth, CagA translocation, and interleukin-8 induction. PLoS ONE 6:e17510
17. Bastide NM, Pierre FH, Corpet DE (2011) Heme iron from meat and risk of colorectal cancer: a meta-analysis and a review of the mechanisms involved. Cancer Prev Res (Phila) 4:177–184
18. Bayerdorffer E, Mannes GA, Richter WO et al (1993) Increased serum deoxycholic acid levels in men with colorectal adenomas. Gastroenterology 104:145–151
19. Bayerdorffer E, Mannes GA, Ochsenkuhn T et al (1994) Variation of serum bile acids in patients with colorectal adenomas during a one-year follow-up. Digestion 55:121–129
20. Berg RD (1996) The indigenous gastrointestinal microflora. Trends Microbiol 4:430–435
21. Bernstein C, Holubec H, Bhattacharyya AK et al (2011) Carcinogenicity of deoxycholate, a secondary bile acid. Arch Toxicol 85:863–871
22. Bingham SA, Hughes R, Cross AJ (2002) Effect of white versus red meat on endogenous N-nitrosation in the human colon and further evidence of a dose response. J Nutr 132:3522S–3525S
23. Blaser MJ (2008) Understanding microbe-induced cancers. Cancer Prev Res 1:15–20
24. Bokkenheuser VD, Winter J (1980) Biotransformation of steroid hormones by gut bacteria. Am J Clin Nutr 33:2502–2506

25. Bos JL (1989) ras oncogenes in human cancer: a review. Cancer Res 49:4682–4689
26. Brabban AD, Edwards C (1994) Isolation of glucosinolate degrading microorganisms and their potential for reducing the glucosinolate content of rapemeal. FEMS Microbiol Lett 119:83–88
27. Burnett-Hartman AN, Newcomb PA, Potter JD (2008) Infectious agents and colorectal cancer: a review of Helicobacter pylori, Streptococcus bovis, JC virus, and human papillomavirus. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 17:2970–2979
28. Cammarota R, Bertolini V, Pennesi G et al (2010) The tumor microenvironment of colorectal cancer: stromal TLR-4 expression as a potential prognostic marker. J Transl Med 8:112
29. Cani PD, Neyrinck AM, Fava F et al (2007) Selective increases of bifidobacteria in gut microflora improve high-fat-diet-induced diabetes in mice through a mechanism associated with endotoxaemia. Diabetologia 50:2374–2383
30. Cani PD, Amar J, Iglesias MA et al (2007) Metabolic endotoxemia initiates obesity and insulin resistance. Diabetes 56:1761–1772
31. Castellarin M, Warren RL, Freeman JD et al (2011) *Fusobacterium nucleatum* infection is prevalent in human colorectal carcinoma. Genome Res 22:299
32. Chang YC, Nair MG (1995) Metabolism of daidzein and genistein by intestinal bacteria. J Nat Prod 58:1892–1896
33. Chen RFL, Wang Y et al (2011) LBP and CD14 polymorphisms correlate with increased colorectal carcinoma risk in Han Chinese. World J Gastroenterol 17:2326–2331
34. Christl SU, Eisner HD, Dusel G et al (1996) Antagonistic effects of sulfide and butyrate on proliferation of colonic mucosa: a potential role for these agents in the pathogenesis of ulcerative colitis. Dig Dis Sci 41:2477–2481
35. Conaway CC, Getahun SM, Liebes LL et al (2000) Disposition of glucosinolates and sulforaphane in humans after ingestion of steamed and fresh broccoli. Nutr Cancer 38:168–178
36. Conterno L, Fava F, Viola R et al (2011) Obesity and the gut microbiota: does up-regulating colonic fermentation protect against obesity and metabolic disease? Genes Nutr 6:241–260
37. Coussens LM, Werb Z (2002) Inflammation and cancer. Nature 420:860–867
38. Creely SJ, McTernan PG, Kusminski CM et al (2007) Lipopolysaccharide activates an innate immune system response in human adipose tissue in obesity and type 2 diabetes. Am J Physiol Endocrinol Metab 292:E740–E747
39. Cross AJ, Pollock JR, Bingham SA (2003) Haem, not protein or inorganic iron, is responsible for endogenous intestinal N-nitrosation arising from red meat. Cancer Res 63:2358–2360
40. Cummings JH, Wiggins HS, Jenkins DJ et al (1978) Influence of diets high and low in animal fat on bowel habit, gastrointestinal transit time, fecal microflora, bile acid, and fat excretion. J Clin Invest 61:953–963
41. Dabek M, McCrae SI, Stevens VJ et al (2008) Distribution of beta-glucosidase and beta-glucuronidase activity and of beta-glucuronidase gene gus in human colonic bacteria. FEMS Microbiol Ecol 66:487–495
42. De Flora S, Bonanni P (2011) The prevention of infection-associated cancers. Carcinogenesis 32:787–795
43. Decroos K, Vanhemmens S, Cattoir S et al (2005) Isolation and characterisation of an equol-producing mixed microbial culture from a human faecal sample and its activity under gastrointestinal conditions. Arch Microbiol 183:45–55
44. Deplancke B, Gaskins HR (2003) Hydrogen sulfide induces serum-independent cell cycle entry in nontransformed rat intestinal epithelial cells. FASEB J 17:1310–1312
45. Deplancke B, Hristova KR, Oakley HA et al (2000) Molecular ecological analysis of the succession and diversity of sulfate-reducing bacteria in the mouse gastrointestinal tract. Appl Environ Microbiol 66:2166–2174

46. Deplancke B, Finster K, Graham WV et al (2003) Gastrointestinal and microbial responses to sulfate-supplemented drinking water in mice. Exp Biol Med (Maywood) 228:424–433
47. Doerner KC, Takamine F, LaVoie CP et al (1997) Assessment of fecal bacteria with bile acid 7 alpha-dehydroxylating activity for the presence of bai-like genes. Appl Environ Microbiol 63:1185–1188
48. Duncan AM, Merz-Demlow BE, Xu X et al (2000) Premenopausal equol excretors show plasma hormone profiles associated with lowered risk of breast cancer. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 9:581–586
49. Eckburg PB, Bik EM, Bernstein CN et al (2005) Diversity of the human intestinal microbial flora. Science 308:1635–1638
50. Elfoul L, Rabot S, Khelifa N et al (2001) Formation of allyl isothiocyanate from sinigrin in the digestive tract of rats monoassociated with a human colonic strain of *Bacteroides thetaiotaomicron*. FEMS Microbiol Lett 197:99–103
51. Ernst P (1999) Review article: the role of inflammation in the pathogenesis of gastric cancer. Aliment Pharmacol Ther 13(Suppl 1):13–18
52. Florin T, Neale G, Gibson GR et al (1991) Metabolism of dietary sulfate—absorption and excretion in humans. Gut 32:766–773
53. Frank DN, Pace NR (2001) Molecular-phylogenetic analyses of human gastrointestinal microbiota. Curr Opin Gastroenterol 17:52–57
54. Frankenfeld CL, McTiernan A, Aiello EJ et al (2004) Mammographic density in relation to daidzein-metabolizing phenotypes in overweight, postmenopausal women. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 13:1156–1162
55. Friedrich MW (2002) Phylogenetic analysis reveals multiple lateral transfers of adenosine-5′-phosphosulfate reductase genes among sulfate-reducing microorganisms. J Bacteriol 184:278–289
56. Fukata M, Abreu MT (2007) TLR4 signalling in the intestine in health and disease. Biochem Soc Trans 35:1473–1478
57. Gerner EW (2007) Impact of dietary amino acids and polyamines on intestinal carcinogenesis and chemoprevention in mouse models. Biochem Soc Trans 35:322–325
58. Gerner EW, Meyskens FL Jr (2009) Combination chemoprevention for colon cancer targeting polyamine synthesis and inflammation. Clin Cancer Res 15:758–761
59. Gibson GR, Cummings JH, Macfarlane GT (1988) Use of a three-stage continuous culture system to study the effect of mucin on dissimilatory sulfate reduction and methanogenesis by mixed populations of human gut bacteria. Appl Environ Microbiol 54:2750–2755
60. Gibson GR, Cummings JH, Macfarlane GT (1991) Growth and activities of sulfate-reducing bacteria in gut contents of healthy-subjects and patients with ulcerative-colitis. FEMS Microbiol Ecol 86:103–111
61. Gibson GR, Macfarlane S, Macfarlane GT (1993) Metabolic interactions involving sulfate-reducing and methanogenic bacteria in the human large-intestine. FEMS Microbiol Ecol 12:117–125
62. Gill SR, Pop M, Deboy RT et al (2006) Metagenomic analysis of the human distal gut microbiome. Science 312:1355–1359
63. Goodwin AC, Destefano Shields CE, Wu S et al (2011) Polyamine catabolism contributes to enterotoxigenic *Bacteroides fragilis*-induced colon tumorigenesis. Proc Natl Acad Sci USA 108:15354–15359
64. Hague A, Elder DJ, Hicks DJ et al (1995) Apoptosis in colorectal tumour cells: induction by the short chain fatty acids butyrate, propionate and acetate and by the bile salt deoxycholate. Int J Cancer 60:400–406
65. Hayashi H, Sakamoto M, Benno Y (2002) Phylogenetic analysis of the human gut microbiota using 16S rDNA clone libraries and strictly anaerobic culture-based methods. Microbiol Immunol 46:535–548

66. Hebels DG, Sveje KM, de Kok MC et al (2011) N-nitroso compound exposure-associated transcriptomic profiles are indicative of an increased risk for colorectal cancer. Cancer Lett 309:1–10
67. Hebels DG, Sveje KM, de Kok MC et al (2012) Red meat intake-induced increases in fecal water genotoxicity correlate with pro-carcinogenic gene expression changes in the human colon. Food Chem Toxicol 50:95–103
68. Hirayama A, Kami K, Sugimoto M et al (2009) Quantitative metabolome profiling of colon and stomach cancer microenvironment by capillary electrophoresis time-of-flight mass spectrometry. Cancer Res 69:4918–4925
69. Holst B, Williamson G (2004) A critical review of the bioavailability of glucosinolates and related compounds. Nat Prod Rep 21:425–447
70. Holst JJ, Deacon CF (2004) Glucagon-like peptide 1 and inhibitors of dipeptidyl peptidase IV in the treatment of type 2 diabetes mellitus. Curr Opin Pharmacol 4:589–596
71. Hristova KR, Mau M, Zheng D et al (2000) Desulfotomaculum genus- and subgenus-specific 16S rRNA hybridization probes for environmental studies. Environ Microbiol 2:143–159
72. Huang JQ, Sridhar S, Chen Y et al (1998) Meta-analysis of the relationship between *Helicobacter pylori* seropositivity and gastric cancer. Gastroenterology 114:1169–1179
73. Hughes R, Cross AJ, Pollock JR et al (2001) Dose-dependent effect of dietary meat on endogenous colonic N-nitrosation. Carcinogenesis 22:199–202
74. Hughes R, Pollock JR, Bingham S (2002) Effect of vegetables, tea, and soy on endogenous N-nitrosation, fecal ammonia, and fecal water genotoxicity during a high red meat diet in humans. Nutr Cancer 42:70–77
75. Huycke MM, Gaskins HR (2004) Commensal bacteria, redox stress, and colorectal cancer: mechanisms and models. Exp Biol Med (Maywood) 229:586–597
76. Ignatenko NA, Gerner EW, Besselsen DG (2011) Defining the role of polyamines in colon carcinogenesis using mouse models. J Carcinog 10:10
77. Järvenpää P (1990) In vitro metabolism of catechol estrogens by human fecal microflora. J Steroid Biochem 35:289–292
78. Järvenpää P, Kosunen T, Fotsis T et al (1980) *In vitro* metabolism of estrogens by isolated intestinal micro-organisms and by human faecal microflora. J Steroid Biochem 13:345–349
79. Joshi AD, Corral R, Siegmund KD et al (2009) Red meat and poultry intake, polymorphisms in the nucleotide excision repair and mismatch repair pathways and colorectal cancer risk. Carcinogenesis 30:472–479
80. Kanazawa K, Konishi F, Mitsuoka T et al (1996) Factors influencing the development of sigmoid colon cancer. Bacteriologic and biochemical studies. Cancer 77:1701–1706
81. Kelly GE, Joannou GE, Reeder AY et al (1995) The variable metabolic response to dietary isoflavones in humans. Proc Soc Exp Biol Med 208:40–43
82. Key TJ (1999) Serum oestradiol and breast cancer risk. Endocr Relat Cancer 6:175–180
83. Kitahara M, Takamine F, Imamura T et al (2000) Assignment of *Eubacterium sp*. VPI 12708 and related strains with high bile acid 7alpha-dehydroxylating activity to *Clostridium scindens* and proposal of *Clostridium hylemonae sp*. nov., isolated from human faeces. Int J Syst Evol Microbiol 50(Pt 3):971–978
84. Knudtson LM, Hartman PA (1993) Comparison of fluorescent gentamicin-thallous-carbonate and KF streptococcal agars to enumerate enterococci and fecal streptococci in meats. Appl Environ Microbiol 59:936–938
85. Kristal AR, Lampe JW (2002) Brassica vegetables and prostate cancer risk: a review of the epidemiological evidence. Nutr Cancer 42:1–9
86. Lampe JW (2008) The human microbiome project: getting to the guts of the matter in cancer epidemiology. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 17:2523–2524
87. Lampe J (2010) Emerging research on equol and cancer. J Nutr 140:1369S–1372S
88. Lampe JW, Karr SC, Hutchins AM et al (1998) Urinary equol excretion with a soy challenge: influence of habitual diet. Proc Soc Exp Biol Med 217:335–339

89. Laukaitis CM, Gerner EW (2011) DFMO: targeted risk reduction therapy for colorectal neoplasia. Best Pract Res Clin Gastroenterol 25:495–506
90. Lazcano-Ponce EC, Miquel JF, Munoz N et al (2001) Epidemiology and molecular pathology of gallbladder cancer. CA Cancer J Clin 51:349–364
91. Lee J, Michael AJ, Martynowski D et al (2007) Phylogenetic diversity and the structural basis of substrate specificity in the beta/alpha-barrel fold basic amino acid decarboxylases. J Biol Chem 282:27115–27125
92. Ley RE, Bäckhed F, Turnbaugh P et al (2005) Obesity alters gut microbial ecology. Proc Natl Acad Sci USA 102:11070–11075
93. Li F, Hullar MA, Beresford SA et al (2011) Variation of glucoraphanin metabolism in vivo and ex vivo by human gut bacteria. Br J Nutr 106:408–416
94. Lombardi P, Goldin B, Boutin E et al (1978) Metabolism of androgens and estrogens by human fecal microorganisms. J Steroid Biochem 9:795–801
95. Magee EA, Curno R, Edmond LM et al (2004) Contribution of dietary protein and inorganic sulfur to urinary sulfate: toward a biomarker of inorganic sulfur intake. Am J Clin Nutr 80:137–142
96. Mager DL (2006) Bacteria and cancer: cause, coincidence or cure? A review. J Transl Med 4:14
97. Manco M, Putignani L, Bottazzo GF (2010) Gut microbiota, lipopolysaccharides, and innate immunity in the pathogenesis of obesity and cardiovascular risk. Endocr Rev 31:817–844
98. Maneval ML, Eckert KA (2004) Effects of oxidative and alkylating damage on microsatellite instability in nontumorigenic human cells. Mutat Res 546:29–38
99. Mann CJ (2003) Observational research methods. Research design II: cohort, cross sectional, and case-control studies. Emerg Med J 20:54–60
100. Marchesi JR, Dutilh BE, Hall N et al (2011) Towards the human colorectal cancer microbiome. PLoS ONE 6:e20447
101. Markiewicz L, Garey J, Adlercreutz H et al (1993) *In vitro* bioassays of non-steroidal phytoestrogens. J Steroid Biochem Mol Biol 45:399–405
102. Martin F, Peltonen J, Laatikainen T et al (1975) Excretion of progesterone metabolites and estriol in faeces from pregnant women during ampicillin administration. J Steroid Biochem 6:1339–1346
103. Massey RC, Key PE, Mallett AK et al (1988) An investigation of the endogenous formation of apparent total N-nitroso compounds in conventional microflora and germ-free rats. Food Chem Toxicol 26:595–600
104. McGarr SE, Ridlon JM, Hylemon PB (2005) Diet, anaerobic bacterial metabolism, and colon cancer: a review of the literature. J Clin Gastroenterol 39:98–109
105. Meyskens FL Jr, Gerner EW (2011) Back to the future: mechanism-based, mutation-specific combination chemoprevention with a synthetic lethality approach. Cancer Prev Res (Phila) 4:628–632
106. Mower HF, Ray RM, Shoff R et al (1979) Fecal bile acids in two Japanese populations with different colon cancer risks. Cancer Res 39:328–331
107. Mudd DG, McKelvey ST, Norwood W et al (1980) Faecal bile acid concentration of patients with carcinoma or increased risk of carcinoma in the large bowel. Gut 21:587–590
108. Munro IC, Harwood M, Hlywka JJ et al (2003) Soy isoflavones: a safety review. Nutr Rev 61:1–33
109. Myzak MC, Hardin K, Yan M et al (2006) Sulforaphane inhibits HDAC activity in prostate cancer cells, retards growth of PC3 xenografts, and inhibits HDAC activity in vivo. FASEB J 20:A150–A150
110. Nagel SC, vom Saal FS, Welshons WV (1998) The effective free fraction of estradiol and xenoestrogens in human serum measured by whole cell uptake assays: physiology of delivery modifies estrogenic activity. Proc Soc Exp Biol Med 217:300–309
111. Navarro SL, Li F, Lampe JW (2011) Mechanisms of action of isothiocyanates in cancer chemoprevention: an update. Food Funct 2:579–587

112. Neidhardt FC, Magasanik B (1960) Studies on the role of ribonucleic acid in the growth of bacteria. Biochim Biophys Acta 42:99–116
113. Nettleton JA, Greany KA, Thomas W et al (2005) The effect of soy consumption on the urinary 2:16-hydroxyestrone ratio in postmenopausal women depends on equol production status but is not influenced by probiotic consumption. J Nutr 135:603–608
114. Norat T, Bingham S, Ferrari P et al (2005) Meat, fish, and colorectal cancer risk: the European prospective investigation into cancer and nutrition. J Natl Cancer Inst 97:906–916
115. O'Keefe SJD, Carrim Y, van der Merwe CF et al (2004) Differences in diet and colonic bacterial metabolism that might account for the low risk of colon cancer in native Africans compared with Americans. J Nutr 134:3526S–3527S
116. Parkin DM (2006) The global health burden of infection-associated cancers in the year 2002. Int J Cancer 118:3030–3044
117. Pastor Rojo O, Lopez San Roman A, Albeniz Arbizu E et al (2007) Serum lipopolysaccharide-binding protein in endotoxemic patients with inflammatory bowel disease. Inflamm Bowel Dis 13:269–277
118. Pitcher MCL, Beatty ER, Gibson GR et al (1995) Sulfate-reducing bacteria—prevalence in active and inactive ulcerative-colitis. Gastroenterology 108:A894–A894
119. Qin J, Li R, Raes J et al (2010) A human gut microbial gene catalogue established by metagenomic sequencing. Nature 464:59–65
120. Rimbach G, De Pascual-Teresa S, Ewins BA et al (2003) Antioxidant and free radical scavenging activity of isoflavone metabolites. Xenobiotica 33:913–925
121. Roediger WEW (1998) Decreased sulphur amino acid intake in ulcerative colitis. Lancet 351:1555
122. Roediger WEW, Moore J, Babidge W (1997) Colonic sulfide in pathogenesis and treatment of ulcerative colitis. Dig Dis Sci 42:1571–1579
123. Rooks MG, Garrett WS (2011) Bacteria, food, and cancer. F1000 Biol Rep 3:12
124. Rosset R, Julien J, Monier R (1966) Ribonucleic acid composition of bacteria as a function of growth rate. J Mol Biol 18:308–320
125. Rouzaud G, Rabot S, Ratcliffe B et al (2003) Influence of plant and bacterial myrosinase activity on the metabolic fate of glucosinolates in gnotobiotic rats. Br J Nutr 90:395–404
126. Rouzaud G, Young SA, Duncan AJ (2004) Hydrolysis of glucosinolates to isothiocyanates after ingestion of raw or microwaved cabbage by human volunteers. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 13:125–131
127. Rowland IR (1999) Toxicological implications of the normal microflora. In: Tannock GW (ed) Medical importance of the normal microflora. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht
128. Samuel BS, Gordon JI (2006) A humanized gnotobiotic mouse model of host-archaeal-bacterial mutualism. Proc Natl Acad Sci USA 103:10011–10016
129. Savage DC (1977) Microbial ecology of the gastrointestinal tract. Annu Rev Microbiol 31:107–133
130. Scanlan PD, Shanahan F, Clune Y et al (2008) Culture-independent analysis of the gut microbiota in colorectal cancer and polyposis. Environ Microbiol 10:789–798
131. Schaechter M, Maalow O, Kjelgaard NO (1958) Dependency on medium and temperature of cell size and chemical composition during balanced grown of *Salmonella typhimurium*. J Gen Microbiol 19:592–606
132. Setchell KDR, Adlercreutz H (1988) Mammalian lignans and phyto-oestrogens: recent studies on their formation, metabolism and biological role in health and disease. In: Rowland I (ed) Role of the gut flora in toxicity and cancer. Academic Press, NY, pp 316–345
133. Setchell KD, Brown NM, Lydeking-Olsen E (2002) The clinical importance of the metabolite equol-a clue to the effectiveness of soy and its isoflavones. J Nutr 132:3577–3584

134. Shapiro TA, Fahey JW, Wade KL et al (1998) Human metabolism and excretion of cancer chemoprotective glucosinolates and isothiocyanates of cruciferous vegetables. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 7:1091–1100
135. Shimada Y, Yasuda S, Takahashi M et al (2010) Cloning and expression of a novel NADP(H)-dependent daidzein reductase, an enzyme involved in the metabolism of daidzein, from equol-producing Lactococcus strain 20–92. Appl Environ Microbiol 76:5892–5901
136. Silvester KR, Cummings JH (1995) Does digestibility of meat protein help explain large bowel cancer risk? Nutr Cancer 24:279–288
137. Soreide K (2008) Proteinase-activated receptor 2 (PAR-2) in gastrointestinal and pancreatic pathophysiology, inflammation and neoplasia. Scand J Gastroenterol 43:902–909
138. Spencer JPE, Crozier A (2012) Flavonoids and related compounds. CRC Press, Taylor & Francis Group, Boca Raton
139. Tannock GW (1999) The normal microflora: an introduction. In: Tannock GW (ed) Medical importance of the normal microfloraed. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, pp 1–23
140. Tannock GW, Munro K, Harmsen HJ et al (2000) Analysis of the fecal microflora of human subjects consuming a probiotic product containing *Lactobacillus rhamnosus* DR20. Appl Environ Microbiol 66:2578–2588
141. Thomas LA, Veysey MJ, Bathgate T et al (2000) Mechanism for the transit-induced increase in colonic deoxycholic acid formation in cholesterol cholelithiasis. Gastroenterology 119:806–815
142. Turnbaugh PJ, Ley RE, Mahowald MA et al (2006) An obesity-associated gut microbiome with increased capacity for energy harvest. Nature 444:1027–1031
143. Turnbaugh PJ, Hamady M, Yatsunenko T et al (2009) A core gut microbiome in obese and lean twins. Nature 457:480–484
144. Turner R, Baron T, Wolffram S et al (2004) Effect of circulating forms of soy isoflavones on the oxidation of low density lipoprotein. Free Radic Res 38:209–216
145. Vedavanam K, Srijayanta S, O'Reilly J et al (1999) Antioxidant action and potential antidiabetic properties of an isoflavonoid-containing soyabean phytochemical extract (SPE). Phytother Res 13:601–608
146. Vermeulen M, Van den Berg R, Freidig AP et al (2006) Association between consumption of cruciferous vegetables and condiments and excretion in urine of isothiocyanate mercapturic acids. J Agric Food Chem 54:5350–5358
147. Wang XQ, Terry PD, Yan H (2009) Review of salt consumption and stomach cancer risk: epidemiological and biological evidence. World J Gastroenterol 15:2204–2213
148. Wells JE, Hylemon PB (2000) Identification and characterization of a bile acid 7alpha-dehydroxylation operon in *Clostridium sp*. strain TO-931, a highly active 7alpha-dehydroxylating strain isolated from human feces. Appl Environ Microbiol 66:1107–1113
149. Wells JE, Berr F, Thomas LA et al (2000) Isolation and characterization of cholic acid 7alpha-dehydroxylating fecal bacteria from cholesterol gallstone patients. J Hepatol 32:4–10
150. Wilson KH, Blitchington RB (1996) Human colonic biota studied by ribosomal DNA sequence analysis. Appl Environ Microbiol 62:2273–2278
151. Winter J, Bokkenheuser VD (1987) Bacterial metabolism of natural and synthetic sex hormones undergoing enterohepatic circulation. J Steroid Biochem 27:1145–1149
152. World Cancer Research Fund (2007) Food, nutrition, physical activity, and the prevention of cancer: a global perspective. American Institute for Cancer Research, Washington, D.C
153. Zur Hausen H (2009) The search for infectious causes of human cancers: where and why. Virology 392:1–10
154. Zverlov V, Klein M, Lucker S et al (2005) Lateral gene transfer of dissimilatory (bi)sulfite reductase revisited. J Bacteriol 187:2203–2208

Kanserin Tedavisinde ve Önlenmesinde Enflamatuar Anjiogenez ve Tümör Mikroçevresinin Hedeflenmesi

Antonino Bruno, Arianna Pagani, Elena Magnani, Teresa Rossi, Douglas M. Noonan, Anna Rita Cantelmo ve Adriana Albini

Özet

Tümör hücreleri anormal şekilde transformasyona uğramış hücrelere ek olarak, stromal hücreler, vasküler hücreler ve prekürsorları ile immun hücreler gibi konak komponentlerine de sahiptir. Tüm bu bileşenler birbirleriyle hücresel ve moleküler düzeyde etkileşerek tümör mikroçevresi olarak tanımlanan karmaşık ve heterojen hücre komplekslerinin ve matriksin ortaya çıkmasına neden olur. Bu etkileşimlerde rol oynayan çeşitli yolaklar hem patolojik hem de fizyolojik senaryolar ile incelenmiştir. Günümüzdeki kemoterapötik ve koruyucu tedavilerin hedefinde farklı moleküller mevcuttur. Birçok fitokimyasal ve türevlerinin tümör mikroçevresinde etkili olarak tümör progresyonunu, anjiogenezi ve metastazı engelleyici etki yaptığı gösterilmiştir. Bu incelemede tümör mikroçevresinde rol oynayan başlıca oyuncular ve mekanizmalar ile bu etkileşimleri engelleyerek tümörlerin kontrolsüzlüğünü ve progresyonunu bloke etmeyi amaçlayan bazı ilginç bileşikleri tartışacağız. Bu değerlendirmeler sağlıklı görünen bireylerden oluşan büyük popülasyonlarda kanser riskinin azaltılmasında kullanılacak yeni koruyucu yaklaşımların geliştirilmesinde hayati rol oynayacaktır.

A. Bruno · A. Pagani
Polo Scientificoe Tecnologico, Multi Medica Onlus, Milano, Italy

T. Rossi · A. Albini (✉)
Research Infrastructure, IRCCS Arcispedale Santa Maria Nuova, Reggio Emilia, Italy
mail: adriana.albini@asmn.re.it

A. Pagani · D. M. Noonan
Department of Biotechnologies and Life Sciences, University of Insubria,Varese, Italy

E. Magnani · D. M. Noonan · A. R. Cantelmo
Polo Scientifico e Tecnologico, MultiMedica IRCCS, Milano, Italy

V. Zappia et al. (eds.), *Advances in Nutrition and Cancer,*
Cancer Treatment and Research 159, DOI: 10.1007/978-3-642-38007-5_23,
© Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2014

Anahtar Kelimeler

Tümör mikroçevresi • Anjiogenez • Enflamasyon • Antianjiogenik tedavi • Kemoprevensiyon

Kısaltmalar

IGF1-R	İnsülin benzeri büyüme faktörü 1-reseptörü
IκB	İnhibitör kinaz B
IKK	İnhibitör kinaz kinaz
IL-13	İnterlökin-13
IL-4	İnterlökin-4
IL-6	İnterlökin-6
IL-12	İnterlökin-12
IL1Rα	İnterlökin-1 reseptör-alfa
IL1β	İnterlökin-1 beta
JAK	Aktive Janus kinaz
MAPK	Mitojen aktive protein kinaz
MDM2	Mürin çift dakika 2
MDM4	Mürin çift dakika 4
MDSC	Myeloid-derive supresör hücre
MMP-1	Matriks metalo proteaz-1
MMP-2	Matriks metalo proteaz-2
MMP-7	Matriks metalo proteaz-7
MMP-9	Matriks metalo proteaz-9
mTOR	Memeli rapamisin hedefi
N1	N1-polarize nötrofiller
N2	N2-polarize nötrofiller
NAC	N-asetilsistein
NF-κB	Nükleer faktör kappa B
NSAİD	Nonsteroid antienflamatuar ilaç
NSCLC	Küçük hücreli olmayan akciğer kanseri
PDGF	Platelet derive büyüme faktörü
PDGFR-β	Platelet derive büyüme faktör reseptörü-beta
PDGFR	Platelet derive büyüme faktör reseptörü

PI3K	Fosfoinositid 3-kinaz
PIG3	p53 ile indüklenebilir gen 3
PlGF	Plasenta büyüme faktörü
PMNs	Polimorfonükleer nötrofiller
Raf	Root abundant factor
RAR	Retinoid asit reseptörü
RARβ	Retinoid asit reseptörü-beta
RCC	Renal hücreli karsinom
RelA	NFkB alt ünite-A
RelB	V-rel retiküloendotelioz viral onkojen homoloğu B
RET	Transfeksiyon sırasında yeniden düzenlenmiş
RHD	Rel homoloji alanı
RITA	p53 reaktivasyonu ve tümör hücre apoptozunun indüksiyonu
ROS	Reaktif oksijen türleri
RTK	Reseptör tirozin kinaz
STAT	Sinyal dönüştürücü ve transkripsiyon aktivatörü
STAT3	Sinyal dönüştürücü ve transkripsiyon aktivatörü 3
SV40	Simian virüsü 40
TAM	tümör ile ilişkili makrofaj
TEM	Tie2-eksprese eden makrofaj
TGFα	Transforme olan büyüme faktörü-alfa
TGFβ	Transforme olan büyüme faktörü-beta
Th	Yardımcı T
Th2	Yardımcı T tip-2 polarizasyon
TKİ	Tirozin kinaz inhibitörleri
TNF	Tümör nekroz faktörü
TNFα	Tümör nekroz faktörü-alfa
TP53TG1	TP53 hedefi 1
TSP-1	Trombospondin-1
VEGF-A	Vasküler endotelyal büyüme faktörü A izoformu
VEGF	Vasküler endotelyal büyüme faktörü
VEGFR	Vasküler endotelyal büyüme faktörü reseptörü
wSMC	Vasküler düz kas hücresi
WIP1	Yara ile indüklenen protein 1

İçindekiler

1 Tümör Mikroçevresi 404
1.1 Hücresel Oyuncular 405
1.2 Moleküler Yolaklar 408

2 Kanser Kemoprevensiyonu 412
2.1 N-asetilsistein 412
2.2 Fenretinid 413
3 Tümör Mikroçevresini Hedefleyen Tedaviler 414
4 Sonuçlar 416
Referanslar 417

1 Tümör Mikroçevresi

Konağın karsinogenezde ve tümör progresyonunda önemli bir rol oynadığı biliniyor da olsa, Virchow'un 1863 yılında kanserdeki enflamatuar hücreleri gözlemesi ve Paget tarafından 1889 yılında ortaya atılan ve günümüzde de geçerliliğini koruyan "tohum ve toprak" hipotezi yaklaşık bir yüzyıl boyunca göz ardı edilmiştir [14]. Kanserin bir doku olduğu ve sadece bir hücredeki mutasyonlardan kaynaklanmadığı ve konakta kanser gelişimine izin veren kompleks bir prosesinin mevcut olduğu günümüzde artık kabul edilmektedir [44]. Tümör mikroçevresinin, [46] hem kanser tedavisinde (örneğin giderek artan sayıda tümör tipinde anjiogenezin hedeflenmesi ile) ve belki de daha da önemli olarak kanserin önlenmesinde de [8, 10] bir hedef olabileceği konsepti giderek daha fazla gerçeğe yaklaşmaktadır.

Enflamasyon günümüzde karsinogenezi yöneten bir güç olarak kabul edilmektedir [31, 114]. Kanserin birçok çevresel nedeni ve risk faktörleri kronik enflamasyonun tiplerinden biri ile ilişkilidir. Kanserlerin %20'ye kadar olan kısmı kronik enfeksiyonlarla ilişkilidir. %30'u sigara ve inhale edilen kirleticilerle (örn. silika ve asbest), %35'i de diyet faktörleriyle (kanser yükünün %20'si obezite ile ilişkilidir) bağlantılıdır [77].

Enflamasyonun tümör progresyonundaki etkisi anjiogenezi başlatan "anjiogenetik anahtarı" etkileyebilme yeteneği ile ilişkilidir [7, 89, 106]. Kanser hücreleri vasküler endotelyal büyüme faktörü (VEGF) bir dizi büyüme faktörü salgılarlar. Bu faktörler endotel hücre yerleşimi ve aktivasyonunu indükleyen spesifik reseptörler etkileşirler. Aktive endotel hücreleri tümör damar ağının gelişimini başlatırlar. Tümör anjiogenezi olarak bilinen bu proses normal dokulardaki damar ağından oldukça farklıdır. Karmaşık, disorganize ve delikli damarlar, yüksek makromolekül difüzyon katsayıları ve yüksek interstisyel basınca neden olan yetersiz veya mevcut olmayan lenfatik ağ ile karakterizedir. Tümör vaskülarizasyonu kanser progresyonu için şarttır. Tümörün büyümesi, lokal invazyonu ve metastatik yayılımının bu yolla gerçekleşmesi tümör anjiogenezinin karsinogenez için kritik bir erken olay olduğunu gösterir [22, 47, 54, 59].

1.1 Hücresel Oyuncular

1.1.1 Enflamatuar Hücreler

Birçok çalışmada kanser ve enflamasyon arasında sıkı bir ilişki olduğu gösterilmiştir (Tablo 1). Kanserle ilişkili enflamasyon tümör mikroçevresindeki önemli rolü nedeniyle, yakın zamanda kanserin yedinci ana özelliği olarak tanımlanmıştır [28, 60]. Mikroçevresinin enflamatuar komponentleri, kanserle ilişkili enflamasyonda rol oynayan ve enflamasyonun sürdürülmesini sağlayan çeşitli hücre tiplerinden oluşur. Tümörlere infiltre olan başlıca enflamatuar hücreler, tümörle ilişkili makrofajlar (TAM), Tie2 eksprese eden monositler (TEM), miyeloid kaynaklı supresor hücreler (MDSC) ve nötrofillerdir. Tümöre infiltre olan makrofajların rolleri gayet iyi bilinmektedir. Makrofajlar mikroçevredeki uyarıcılara bağlı olarak, tümör progresyonunu veya spesifik immun cevapların gelişimini destekleyen kemokinler gibi farklı fenotiplere sahip olabilirler [31, 106, 121]. Tümörlere infiltre olabilen en önemli enflamatuar hücreler olan tümörle ilişkili makrofajlar bir dizi büyüme faktörleri, sitokinler ve ekstraselüler matriks modelleme molekülleri üreterek tümör proliferasyonunu ve anjiogenezi indüklerler. Monosit prekürsörlerinden kaynaklanan tümörle il. makrofajlar tümör hücrelerine CCL2 ve CSF-1 vasıtası ile kan dolaşımından ulaşırlar. tümörle il. makrofajlar CCL2 üreterek otokrin pozitif regülasyon döngüsünü oluştururlar [141]. Çeşitli çalışmalarda tümörle il. makrofajların nekrotik ve hipoksik bölgelerde lokalize olarak, TAM migrasyonunu regüle eden HIF-1'e bağımlı molekülleri (VEGF, CXCL12 ve CXCR4) salgıladıkları gösterilmiştir [104]. Aktive TAM'lar tümör büyümesini destekleyen ve sürdüren VEGF, PDGF, TGFβ ve FGF ailesi üyelerini de kapsayan bir dizi proanjiogenik hücre salgılarlar. TAM'lar ayrıca matriks metaloproteinazlar olan MMP-7, MMP-2, MMP-9, MMP-1 ve sikloksijenaz (COX)-2 gibi çok sayıda anjiogenez modüle edici enzim salgılarlar [106].

Çeşitli çalışmalarda infiltre olan TAM ile lenfoma [76, 165] ve meme kanseri [20] gibi malignitelerin prognozunda kötüleşme arasında korelasyon olduğu gösterilmiştir Son zamanlarda mürin gliom modellerinde CCL2'ye karşı geliştirilen ve test edilen bir antikorun TAM oranlarını anlamlı olarak azalttığı ve tümör olan farelerdeki sağkalımı uzattığı gösterilmiştir [182]. TEM'ler endotel hücreler ve tümör anjiogenezi ile yakından ilişkili olan Tie2 eksprese edici TAM'ların bir alt kümesidir [27].

Polimorfonükleer nötrofiller (PMN) lökositlerin kandaki en yaygın bulunan alt kümesini oluşturan ve esas olarak mikroorganizmalara karşı oluşan doğal immun cevapla ilişkili olan hücrelerdir. Esneklikleri ve regüle edebilme kapasiteleri giderek daha fazla anlaşılmaktadır [96, 149]. Nötrofiller stimülasyon sonrası etkilenen dokulara hızlıca yerleşerek degranüle olarak proteazları salgılar ve reaktif oksijen türlerini (ROS) üretirler. Bu faktörler doku hasarı ve hücre lizisine yol açtıkları gibi, hem başlatıcı hem de destekleyici görev yaparak potansiyel DNA hasarına yol açarlar [96]. Nötrofil düzeylerinin artması meme ve kolon kanseri gibi çeşitli kanser türlerinde ve enflamatuar lezyonlarda ve ülserli bölgelerde gözlenmiştir [104]. PMN'ler kemokin bağlayan CXCR2 tarafından

Tablo 1 Bazı kemoprevensiyon ajanlarının etki mekanizması

Bileşik	Fonksiyonel hedefler		Moleküler hedefler			
	↓Enflamasyon	Anjiyoprevensiyon	↓NF-κB	↓AKT	↓STAT3	↑AMPK
NAC	+	+	+	+*	+*	+*
Fenretinid	–	+	?	+	–	–
Aspirin	+	+	+	+	+	+**
Metformin	+	+	+	+	+	+
EGCG	+	+	+	+	+	+
Ksantohumol	+	+	+	+	–	–
Deguelin	+	+	+	+	+	+
Hiperforin	+	+	+	+	–	–
Kurkumin	+	+	+	+	+	+
Resveratrol	+	+	+	+	+	+
CDDO-Me	+	+	+	+	+	+
CDDO-Im	+	+	+	+	+	–
Tamoksifen	–	+	+	–	+***	–

Bu kanser prevensiyon ajanlarının bir çoğunun enflamasyonu (↓), anjiogenezi (anjioprevensiyon), NF-κB ve Akt yolaklarını inhibe ettikleri gösterilmiştir. Bazılarının STAT3 yolağını bloke ettikleri ve AMPK'yi (↑) aktive ettikleri gösterilmiştir (AMPK devamında Akt aşağı yönlü yolağını inhibe eder). +Aktivite var, - Literatürde aktivite kanıtı yok *Aktivite kontrast oksidatif stres kaynaklıdır. **Aktivite in vivo bir metabolit olan salisilat kaynaklıdır. *** Sadece bir makalede raloksifen kullanılmıştır. Referanslar için ekteki makalelere bakınız: [2,8,10,138,139].

indüklenen anjiogenezde direkt rol oynarlar. Kemokin bağlanması PMN'lerin VEGF üretimini indükler Çeşitli kanıtlara dayanarak tümörlerdeki PMN'lerin tümör makrofajları [106], anti-tümör "PMN1" (veya N1) ve protümör "PMN2" (veya N2) alt kümeleri ile benzer fenotipik polarizasyona sahip olabilecekleri hipotezini geliştirdik [73, 107, 142]. Deneysel modellerde yapılan güncel çalışmalarda pro-anjiogenik (N2) veya anti-tümör (N1) nötrofil fenotiplerinin varlığını destekleyen birçok bulgu elde edilmiştir [49]. İki fenotip arasındaki değişimin TGFβ'den kaynaklandığı düşünülmektedir. Çünkü TGFβ düzeylerindeki artış N2 nötrofilleri yönündeki polarizasyonu stimüle etmektedir [48, 49]. Nötrofiller tümör nekroz faktörü α (TNFα), interlökin (IL) 1b, IL12, IL1Rα ve VEGF gibi çok sayıda sitokin, kemokinlerler (CXCL1, CXCL8, CXCL9, CCL3 ve CCL4) ve MMP9 gibi proteazlar üretebilir [106].

1.1.2 Fibroblastlar ve Miyofibroblastlar

Fibroblastlar dokuların yapısal kelepçesi olan stromayı üretir ve tümör mikroçevresinde önemli rol oynarlar. Fizyolojik koşullarda oldukça sessizdirler. Ancak doku hasarı fibroblastları aktive ederek kollajen ve fibronektin gibi ekstraselüler matriks komponentle-

rinin üretimini artırırlar [125]. Ayrıca bazal membranın formasyonunda laminin ve tip IV kollajen salgılayarak rol oynarlar. Fibroblastlar karsinojenik prosesin ilk fazlarındaki tümör progresyonunu aktive fibroblastlar arasındaki ara bağlantılar yoluyla inhibe ederler. Tümör progrese olurken kanserle ilişkili fibroblastlar (CAF) tümörün büyümesini ve progresyonunu tümör stromasını modifiye ederek desteklerler [116]. Mekanik basınçlar aktive fibroblastların miyofibroblastlara farklılaşmasını sağlarlar. Güncel çalışmalarda fibrozisin karsinogenezin majör bir destekçisi olduğu bildirilmiştir [75]. Matriks rijiditesinin invazif tümör büyümesinin ve yayılımının ana yolu olan karsinogenez ve epitelyal mezenkimal geçişin (EMT) belirli özelliklerini regüle ettiği bilinmektedir [74]. CAF'lar tümörü çevreleyen stromaya çeşitli sitokinler ile hepatosit büyüme faktörü (HGF), fibroblast büyüme faktörü (FGF), CXCL2, IL6 ve TGFβ gibi çeşitli büyüme faktörleri salgılarlar [60]. CAF'lar stroma kaynaklı faktör-1 (SDF-1) olarak da bilinen ve endotel hücre prekürsörlerini çeken CXCL12 üreterek anjiogenezi desteklerler [110, 172]. Mobil dil skuamoz hücreli karsinomu olan hastalardaki CAF dansitesinin prognozu tahmin etmekte güvenilir bir faktör olduğu güncel bir çalışmada gösterilmiştir [15].

1.1.3 Endotel Hücreleri ve Perisitler

Tümörlerdeki damarların yapıları normal damarlardan oldukça farklıdır. Bunun en önemli nedeni endotel-endotel ve endotel-perisit etkileşimlerindeki değişimlerin iyi gelişmemiş çapraşık damar gelişimine neden olmasıdır. Bu damarlar delikli duvarlar, perisitlerin az sayıda olması gibi fonksiyonel değişimlere yol açan yapısal varyasyonlara sahiptir. Mevcut damarlardan yeni damarların formasyonu ile karakterize olan anjiogenez farklı basamakları olan kompleks bir prosestir. Başlangıçta, metaloproteinazlar gibi proteinazlar tarafından indüklenen ekstraselüler matriks hasarı ile özellikle VEGF'yi de içeren ve kendileri de permeabiliteye yol açan anjiogenez faktörlerinin etkisi ile vasküler permeabilite artışı görülür [71]. Daha sonra endotel hücreleri anjiogenik uyarının kaynağına doğru yer değiştirerek prolifere ve sonrasında da diferansiye olurlar. Duvar hücreleri yeni damar hücreleri oluşturan endotel hücrelerini stabilize ederler. Bu proses anjipoietinler, integrinler, kemokinler, oksijen sensörleri ve diğer ilgili faktörlerin aracılığındaki uyarıcı ve inhibe edici sinyallerin hassas regülasyonunu gerektirir [21]. Normal damarlardaki perisitler kapiler yatağının entegre parçalarıdır. Sızıntıyı önlemek için damarın endotel hücreleri ile diğer komponentleri arasındaki intraselüler sinyalleri koordine ederler. Kan damarlarının vasküler tonusları ve kontraksiyonları damarların etrafında tek veya multipl tabakalar oluşturan damar düz kas hücreleri tarafından sağlanır [128].

Buna karşın proanjiogenik ve antianjiogenik faktörlerin disregülasyonuna bağlı olarak anjiogenik sitokinlerin ve inhibitörlerin dengesiz ekspresyonu sonucu tümör damarlarının immatür olduğu gözlenir. Tümör mikroçevre tümörijenez esnasında kemik iliğindeki endotel prekürsör hücrelerini çeken uyarılar oluşturur. Sonrasında endotel veya mural hücrelerinin diferansiye olarak olgunlaşmalarını sağlar [66]. Bu prosesin başlıca medyatörlerinden biri çeşitli neoplastik hücrelerden salgılanan VEGF-A'dır. VEGF-A hipoksi varlığında yukarı regüle olarak EPC'lerde bulunan reseptörlere bağlanır ve mo-

bilize olmalarını indükler. VEGF-A ve VEGA-A reseptörleri, monoklonal antikorlar ile antitümör ve antianjiogenik aktiviteleri olan küçük inhibitör moleküller gibi farklı bileşikler tarafından hedeflenirler. Anjiogenezin hedeflenmesi kanserin önlenmesinde kullanılabilecek bir yöntem (Tablo 1) ve terapötik bir modalite olarak değerlendirilmeye başlanan bir konudur [8, 9, 153].

Perisitlerin tümör damar ağı üzerindeki rolü son zamanlarda incelenmektedir. Fibroblastik/düz kas benzeri hücreler olan perisitler endotel hücreleri ile yakın temas halindedir. Yerleşimleri, farklılaşmaları, fonksiyonları ve homeostazları platelet kaynaklı büyüme faktörü (PDGF), TGFβ ve anjiopoietinler gibi bir dizi sinyal yolağı tarafından hassasiyetle regüle edilmektedir [117]. Perisitler endotel hücrelerini anti-VEGF tedaviden koruyabilir. Yeterli miktarda perisite sahip olmayan tümör hücreleri antianjiogenik tedavilere karşı daha hassastırlar [117]. Bu nedenle, çeşitli araştırma grupları, endotel hücrelerin anti-VEGF terapi ile hedeflenmeleri ile perisitlerin anti-PDGF terapi ile hedeflenmelerinin fizibilitesini değerlendirmiştir. Çift hedefli tedavilerin etkinliklerinin daha yüksek olduğu çeşitli fare modellerinde gösterilmiştir [17, 42]. Ancak güncel çalışmalarda klinik araştırmalarla ilgili bazı problemlerin hala mevcut olduğu gösterilmiştir [92]. İlginç biçimde, renal karsinom ve diğer bazı kanser türlerinde onaylı iki küçük moleküllü tirozin kinaz inhibitörü olan (TKİ) antianjiogenik ajanlar (Sorafenib ve Sunitinib) hem VEGFR'leri hem de PDGFR'leri hedeflemektedir. Ancak deneysel çalışmalarda anjiogenez inhibisyonunun metastatik yayılımı destekleyebileceği yönündeki bulgular [43, 111], daha sonra perisitlerin kapsama alanlarının inhibisyonuna ve devamında tümör hücrelerinin damarlara ulaşmalarının kolaylaşmasına bağlanmıştır [26, 170].

1.2 Moleküler Yolaklar

Mikroçevre içindeki moleküler yolakların deregülasyonu sitokinlerin, kemokinlerin ve diğer ilgili faktörlerin yaygın olarak stimüle olması ile karsinogenezin tüm evrelerinde gerçekleşir. Bu durum hücrelerde bir tür yaşam veya ölüm meselesi oluşması anlamına gelir. Bu dinamik dengesizliğin mevcudiyetinde, farklı evrelerdeki sinyal yolaklarını hedefleyen kimyasallar hücresel şartlara uygun şekilde kullanılabilir. Bu bölümde aşağıda açıkladığımız doğal bileşikler tarafından modüle edilen ana yolakları tanımlıyoruz. Bu yolaklar basitçe paralel veya farklı yönlere giden yollar gibi gözükseler de, birbirleri ile çapraşık bir biçimde kesiştikleri için nihai sonucun veya hedefin tahmin edilmesi güç ve rastlantısal bir hale gelmesine neden olurlar [152, 166].

1.2.1 p53

p53 mitojenik onkogenlerin dergülasyonu, DNA hasarı, besin öğesi eksikliği, hipoksi ve stroma desteği kaybı ile indüklenen hücresel strese cevap olarak aktive olan, hücrenin geleceğini belirleyen başlıca regülatörlerden biridir [161]. Moll ve Schramm tanımladıkları "tümörijenezdeki akrobat" ifadesini, p53 proteininin diğer moleküler partnerlerle girdiği multipl etkileşimler sonucunda hücre sağkalımında oynadığı "iyi polis/kötü polis" rolünü anlatmak için kullanmışlardır [136] 1979 yılında bulunan p53, SV40-

dönüştürülmüş hücrelerindeki büyük T antijeni ile ko-immunopresipitasyona uğrayan konak tarafından üretilen bir 55-kDA proteinidir [85]. Normal dokulardaki p53 düzeyleri ölçülemezken, birçok tümörde aşırı derecede eksprese olduğu bulunmuştur [32]. Bu bulgu diğer deneysel kanıtlarla [97, 100] bir arada değerlendirildiğinde hücre proliferasyonunun pozitif regülasyonunda rol oynadığı düşünülebilir. Ancak 1980'lerin sonunda p53'ün insan kanserlerinin yaklaşık yarısında mutasyona uğrayarak fonksiyon kaybına uğradığı bulunmuştur [61, 62]. Büyük T antijeni Rb ve p53 ile bir kompleks oluşturarak her iki molekülü de inaktive ederek SV40 virüsünün potent hücre transformasyon kapasitesinde rol oynar. Ayrıca sıçan fibroblastlarına doğal (wild type) p53 enjeksiyonu başka onkogenler tarafından transforme edilmesini engellemektedir [88]. Bu bulgular geniş kabul görmüş ve p53 tümör baskılayıcı bir gen olarak tanımlanmıştır. Başlangıçta TP53 geni tarafından kodlanan tek ürün olduğu düşünülmüş olsa da, şu anda p53 ailesinin alternatif ayrışma, alternatif promotör kullanımı veya translasyon başlamasından kaynaklanan en az dokuz izoformu mevcuttur. p53 spesifik DNA cevap element sekansları bağlayan, hücre döngüsü kontrolünde (p21, GADD45, WIP1, mdm-2, EGFR, PCNA, Siklin D1, Siklin G, TGFα, ve 14-3-3 s), DNA tamirinde (GADD45, PCNA, ve p21), apoptozda (BAX, Bcl-L, FAS1, FASL, IGF-BP3, PAG608 ve DR5/KILLER ve GML) anjiogenezde (TSP-1, BAI1) ve hücresel stres cevabında (TP53TG1, CSR, ve PIG3) rol oynayan genleri aktive eden bir transkripsiyon faktörüdür [122]. Güncel bulgular, p53 tarafından tetiklenen tümör progresyonunda, sadece hücre döngüsünün durdurulması ve apoptozun değil, senesansın indüksiyonuna bağlı olarak organizma tarafından verilen immun cevapların da rol oynayabileceğini ilginç bir biçimde göstermektedir [173]. Güncel bir çalışmada p53'ün mikroRNA ekspresyonunu [63] regüle edebildiğinin ve Bcl-2 ailesinin üyeleri ile direkt olarak etkileşime girerek sitoplazmadaki otofaji ve apoptozisi tetikleyen nontranskripsiyonel aktiviteye de sahip olduğunun keşfedilmiş olması tümör baskılayıcı rolüne yeni bir kompleks mekanizmanın eklenmesini sağlamıştır [56]. p53 aktivitesi geçiş denetçisi MDM2 tarafından sıkı bir şekilde regüle edilir. MDM2 p53'ün transaktivasyon bölgesine bağlanarak transkripsiyonel aktivitesini bloke ederek [102] ve p53'e ubikutin eklenmesini sağlayarak proteazom için degrade olmasını sağlar [83]. MDM2 p53'ün direkt transkripsiyonel hedefi olduğu için [169], sistem sıkı bir şekilde regüle edilir. MDM4 de MDM2 gibi p53'e bağlanarak degradasyonunda rol oynar [90]. MDM2-p53 döngüsünün ayarlanması antikanser tedavi için ümit verici bir hedeftir.

Onkogen sinyallerin tümör hücrelerindeki anjiogenik programı, HIF1α'yı stabilize ederek [103, 133], VEGF ve diğer proanjiogenik faktörleri de artırarak aktive ettiği tespit edilmiştir [79, 123, 124]. Ancak onkosupresörler hem normal hem de tümör hücrelerindeki anjiogenik programın regülasyonunda rol oynarlar [50, 150]. Anjiogenez birçok kemoterapötikten etkilenen veya kemoterapötiklerin efektörü olan başlıca moleküllerden birisi ve ana regülatör ve kritik tümör supresörü olan p53 tarafından modüle edilir [50, 150]. Multivalan tümör supresörü olan p53'ün tümörlerdeki yolakları sıklıkla inaktive ederek kanseri engelleyici etkiye sahip olduğu gösterilmiştir [109].

p53'e atfedilen birçok fonksiyon arasında tamir ve rekombinasyon üzerinde direkt etki, genom stabilitesinde rol oynayan proteinlerle ilişkisi ve kromatin modifikasyonu

mevcuttur. Ancak en önemli hücresel etkisi transkripsiyon faktörü üzerindedir. p53'ün kontrol ettiği büyük gen ağındaki ana regülatör etkisi, apoptoz, hücre döngüsü regülasyonu, senesans, enerji metabolizması, immun cevap, motilite ve migrasyon ile hücreler arası iletişim gibi çeşitli biyolojik aktivitelerden kaynaklanır [162].

p53'ün anjogenezi çeşitli farklı mekanizmalar yoluyla da suprese ettiğini gösteren kanıtlar giderek artmaktadır: (1) Ektraselüler matrikste bulunan ve kolajen prolil-4-hidroksilazın kolajen aktivitesinden kaynaklanan p53'ün transkripsiyonel hedefi olan antianjiogenik moleküllerin üretimini artırır [151]; (2) VEGF ve bFGF gibi proanjiogenik moleküllerin transkripsiyonunu represe eder [150]; (3) HIF1α degradasyonunu direkt bağlanma ile stimüle eder [126]; (4) miR107 gibi HIF1β'yi modüle eden mikroRNA'ları modüle eder [174]; (5) Tümörlerdeki anjiogenez anahtarını p19ARF ile birlikte inhibe eder[155]. Ayrıca p53 yolağının nongenotoksik aktivatörü olan nutlin-3'ün de endotel hücre migrasyonunu ve tüp formasyonunu inhibe ettiği ancak endotel hücre döngüsü ve apoptoz üzerinde minör etkileri olduğu gösterilmiştir [132]. MDM2-p53 etkileşimini bozan iki ilaç olan nutilinler ve RITA preklinik çalışmalarda önemli antikanser aktivite göstermiştir [70, 157]. Bu etkinin klinikte de test edilmesini umuyoruz.

1.2.2 NF-κB

NF-κB spesifik DNA sekansları bağlayan transkripsiyon faktörüdür [134]. Çok sayıda normal hücresel cevabın kontrolünde (immun ve enflamatuar cevaplar, gelişim, hücresel büyüme ve apoptoz) rol oynar. NF-κB kronik enflamasyon, kalp hastalığı ve kanseri de içeren birçok hastalıkta rol oynar [11, 84].

NF-κB DNA bağlayabilen Rel homoloji alanı (RHD) adı verilen korunan N-terminal bölgesini paylaşan beş farklı proteinin (p50, p52, p65 RelA, RelB, ve c-Rel) hetero- ve homodimerlerinden oluşur. IκB adı verilen inhibitör partner ailesi de mevcuttur [13]. NF-κB birçok hücrede IκB ailesinin yedi üyesinden birine direkt olarak bağlandığı için sitoplazmada tecrit edilmiş halde bulunur. Bu etkileşimin yukarı yönlü regülatörü IκB kinazdır (IKK). İki katalitik alt üniteden (IKKα ve IKKβ) ve bir regülatuar alt üniteden (IKKγ) oluşur. Ektraselüler sinyallarin aktivasyonunu takiben IIK IκB'yi fosforiller. IκB devamında çoklu ubikutin eklenme degradasyon yolağına girerek sitoplazmada tecrit halindeki NF-κB'nin serbestleşmesini sağlar. NF-κB çekirdeğe girince sitokinleri, kemokinleri, immunoreseptörleri, hücre adezyon moleküllerini, hücre yüzey reseptörlerini ve pro- ve antiapoptotik proteinleri kodlayan çok sayıda geni regüle edebilir [53]. Birçok farklı uyarı NF-κB'yi üç farklı yolak ile aktive edebilir. Kanonik yolak proenflamatuar sitokinler ve viral/mikrobik enfeksiyonlar ve IKK aktivasyonu-IκB degradasyonu-p50:ReIa nükleer lokalizasyonu ile tetiklenerek doğal immunitede yer alan genlerin ekspresyonuna ve apoptozun inhibisyonuna yol açar [77, 135]. Nonkanonik yolağında ise, TNF sitokin aile üyeleri tarafından stimüle edildikten sonra prekürsör kompleksi p100:ReIB'nin proseslenmesi ile p52:ReIB oluşur. Bu da adaptif immun cevapta rol oynayan genlerin modülasyonuna ve sekonder lenfoid organ gelişimine yol açar [171]. Atipik olan üçüncü yolak ise IKK aktivasyonuna ihtiyaç duymaz. DNA hasarı (ultraviyole

radyasyon), belir kemoterapötik ilaçlar ve ARF aktivasyonu antiapoptotik genleri aktive etmek yerine p50:ReIA ile represe ederek tümör baskılayıcı fonksiyon yapar [112]. Aktive edici stokinlerin (TNF-a, IL-1b) [51] aşırı üretimleri, ras veya myc gibi onkogenler veya NF-κB kodlayan genlerdeki genetik değişimler [30, 127] birçok malignitedeki NF-κB'nin yapısal ekspresyonunu belirler. NF-κB kanser destekleyici bir faktör olarak apoptozu [140] represe eder, anjiogenezi [24], tümör metastazını [68] ve hücre döngü progresyonunu [67] güçlendirir. NF-κB aracılığındaki kemorezistans apoptozu inhibe edici etkisinden sorumludur. Ancak bazı durumlarda (paklitaksel, doksorubisin) ilaçla indüklenen hücre ölümü için NF-κB gerekir [18, 68]. Araştırmacılar kanser ve enflamasyondaki karmaşık rolü nedeniyle NF-κB yolağını ve sıklıkla natürel bileşiklerden (kurkumin, resveratrol), sentetik ilaçlardan (talidomid) veya biyomoleküler araçlardan (hücre permeabl peptidler, mikroRNA ve tuzak oligodeoksinükleotidler) oluşan regüle edici partnerlerini (Tablo 1) spesifik olarak hedefleyen yeni stratejilerin geliştirilebilmesi için büyük çaba harcamaktadırlar [12, 78, 87].

1.2.3 Sinyal Dönüştürücü ve Transkripsiyon Aktivatörü

Tümör hücreleri tarafından salgılanan sitokinler ve büyüme faktörleri kanser hücrelerindeki ve tümör mikroçevresinin diğer komponentlerindeki yapısal NF-κB aktivasyonunu tetikler [57, 91, 131]. IL-6 ve FGF gibi spesifik faktörler sinyal dönüştürücü ve transkripsiyon aktivatörü 3'ün (STAT3) aktivatörüdür [41, 181]. Memelilerde herbiri farklı bir gende kodlanan yedi STAT proteini mevcut olup, bazılarının farklı alternatif ayrışma izoformları mevcuttur. Orijinal olarak IFN ile indüklenen cevapların [35] araştırılması ile tespit edilen STAT'lar çok farklı olan ve STAT spesifitesine katkı yapan karboksi-terminal transkripsiyonel aktivasyon bölgesi haricinde yapısal ve fonksiyonel olarak korunan alanları paylaşırlar [178]. En yüksek oranda korunan alan olan SH2 alanı sadece STAT'ların homo-heterodimerize edebilme kapasitelerinden değil [137], aynı zamanda spesifik fosfotirozin motiflerine bağlanabilmelerinden de sorumludur. Gerçekten de bu son SH2 özelliği STAT sinyali için vazgeçilmezdir. Sitokin reseptörüne STAT yerleşimini ve aktive edici Janus kinaz (JAK) ile ilişkisini sağlarlar [58] Bilinen yedi STAT proteini içinde, STAT3, STAT5 ve STAT6'nın yapısal aktivasyonunun lösemi, multipl miyelom ve çeşitli solid tümörlerde rol oynadığı bilinmektedir. Bu bulgular, NF-κB sinyal yolağındaki rolleri ile birlikte STAT'ları kanser tedavisi için uygun hedefler haline getirmektedir. STAT3 ilk olarak IL-6'ya cevap veren genlerin transkripsiyonlarında rol oynayan akut faz cevap faktörleri (APRF) olarak tanımlanmıştır [5]. Daha sonra yapılan çalışmalarda STAT3'ün yapısal aktivasyonunun Src gibi onkogenik tirozin kinazlar tarafından transforme edilen hücrelerde gerçekleştiği gösterilmiştir [177, 178]. Yapısal STAT3 aktivasyonunun mekanizması, esas olarak tümördeki enflamatuar ortamda bulunan IL-6'nın, STAT3 fosforilasyonuna yol açan otokrin ve parakrin üretiminden kaynaklanmaktadır. IL-6 ile indüklenen STAT3'ün, devamında ileri beslemeli aktivasyon döngüsü ile IL-6'yı indüklemesi ilginç bir bulgudur. STAT3 aktivasyonu hücreleri apoptozdan korurken, hücre döngüsünün progresyonunu ve metastazı destekler [23]. Çeşitli çalışmalarda

STAT3 ve NF-κB yolakları arasında bağlantılar tanımlanmıştır: STAT3, NF-κB'nin transkripsiyonal hedefleri olan IL-6 [105, 181] ve COX-2 [34] tarafından aktive edilmektedir. Diğer yandan STAT3 normal immun hücrelerdeki NF-κB aktivasyonunu IKK'yı inhibe ederek kontrol etmektedir [166]. Fosrolillenmemiş STAT3, fosforillenmemiş NF-κB'yi bağlayarak çekirdekte akümüle olur ve NF-κB'ye bağımlı genlerin alt kümesini aktive eder [175]. Ayrıca, Lee ve ark. güncel bir çalışmalarında STAT3'ün ReIA ile direkt olarak etkileşerek p300 tarafından asetile edilmesini kolaylaştırıp hem tümör hem de tümör ile ilişkili immun hücrelerdeki NF-κB'nin nükleer retansiyonunu nasıl uzattığı açıklanmaktadır. STAT6'nın önce IL-4 tarafından, devamında da IL-4 ile bir reseptör zinciri paylaşan IL13 tarafından aktive edildiği gösterilmiştir. İnterlökin-4 yardımcı T hücre alt kümelerinin dengelerinin modüle edilmesinde önemli rol oynayarak, Th2 türünün Th1'e göre daha fazla yayılmasını sağlamaktadır. Gerçekten de STAT6 knockout fareler Th2 hücreleri geliştiremezler [148].

2 Kanser Kemoprevensiyonu

2.1 N-asetilsistein

N-asetilsistein (NAC) mikroçevresinin korunmasında ümit vadeden ajanlardan biri [39] olarak görünmektedir (Tablo 1). Vücuttaki en önemli antioksidan olan sistein ve glutatyonun sentetik prekürsörüdür. Glutatyon düzeylerinin artmasına yol açan NAC'ın kendisi de bir antioksidan ilaç olarak kabul edilmekte ve artrit, kanser, kardiyovasküler ve respiratuar hastalıklarda reaktif oksijen türlerinin yol açtığı oksidatif stresi tamponlamakta önemli bir rol oynamaktadır [179]. NAC ilk kez 1960'larda bir mukolitik ilaç olarak [119] kronik obstruktif akciğer hastalığının alevlenmelerine engel olmak amacıyla kullanılmıştır. Daha sonra 1980'lerde hayvan modellerinde yapılan çeşitli deneylerde kanser önleyici potansiyeli ortaya çıkmıştır. NAC'ın karsinojenler aracılığında gerçekleşen oksidatif DNA hasarını önlediği, tümörlerin ve neoplastik lezyonların gelişimini baskıladığı ya da geciktirdiği kemirgenlerde gösterilmiştir [37, 38]. NAC ayrıca HIV1 aracılığında düşük sistein ve glutatyon düzeylerine bağlı olarak oluşan oksidatif stresi takiben oluşan hücresel hasarı engelleyebilir [118].

Son zamanlarda fare epitel hücre dizilerinde DNA eklentilerinin oluşumunu engellediği bildirildiği için meme kanserine karşı korumada uygun bir ilaç olabileceği önerilmiştir [160]. NAC'ın koruyucu rolünün gerçekleşmesinde yer alan moleküler mekanizmalar derinlemesine araştırılmıştır. NF-κB, AP1, MAPK yolaklarını inhibe etmekte, proenflamatuar ve büyüme faktörü sinyalleri ile mücadele etmekte ve kemoterapi ile radyoterapi sonrası görülen hücre hasarını azaltmaktadır [147]. NAC, AKT fosforilasyonunu azalttığı için mikroçevreyi de hedeflemektedir. Anjiogenezi ve tümör metastazlarını deneysel modellerde engellediğinin gösterilmesi antikanser etkilerini destekleyen bulgulardır [6, 94]. İyi bir kemopreventif ilacın birçok özelliğine sahip olmasına rağmen, NAC ile yapılan kli-

nik çalışmalar büyük hayal kırıklığı yaratmıştır: BRONCUS çalışmasında pulmoner hastalıkta bir faydası tespit edilmemiştir [40]; EUROSCAN çalışmasında da boyun, baş veya akciğer kanseri olan hastalarda NAC uygulanması ile herhangi bir fayda tespit edilmemiştir [156]. Ayrıca kardiyovasküler, karaciğer ve böbrek hastalıklarındaki etkisine işaret edebilecek güçlü klinik kanıtlar da mevcut değildir [3]. Deneysel çalışmalarda NAC'ın Cu II varlığında DNA hasarına yol açarak muhtemel karsinojenik etki gösterebilme ihtimali de (diğer antioksidanlar ile benzer şekilde) gösterilmiştir [108].

2.2 Fenrenitid

N-(4-hidroksifenil)retinamid (4HPR) olarak da bilinen fenrenitid kanser kemoprevensiyonunda en sık kullanılan retinoid asit analoğudur. Retinoik asit reseptörünün intraselüler reseptörünün steroid/tiroid hormon üst ailesine ait olduğu biliniyor olsa da, analoğu aktivitesini tümör hücrelerindeki çeşitli yolakları etkileyerek gösterir. 4HPR hepatoselüler karsinom, akciğer, baş, boyun kanseri ve çeşitli ovaryum hücre dizilerinde RARβ bağlayarak kaspaz 3'ü aktive ederek apoptozu indükler [19, 129]. RARβ normal hücre büyüme ve regülasyonunda rol oynayan üç retinoid asit reseptöründen (RAR) birisidir. Fenretinid apoptozu kaspazdan bağımsız olarak redoks dengesini bozarak, reaktif oksijen türlerinin üretimini ve sitokrom c salınımını tetikleyerek de indükleyebilir. Ayrıca seramid/sfingomiyelin aracılığındaki yolakları da aktive eder [159]. Bu etki mekanizmaları miyeloid lösemi hücrelerinde [72], prostat kanseri hücrelerinde [55], insan pankreas hücrelerinde [98], nöroblastom [33], retinoblastom [154, 159] ve karaciğer kanseri hücrelerinde aktiftir [176].

Fenretinid tümör mikroçevresinin anjiogenik komponentini de etkiler (Tablo 1). Direkt olarak endotel fonksiyonunu bozar, çeşitli büyüme faktörlerinin ve sitokinlerin üretim, salınım ve aktivasyonunu etkiler. Pienta ve ark. onbeş yıl önce 4HPR'nin prostat kanser modelinde endotel hücre motilitesini inhibe ettiğini, kapiler benzeri yapılar oluşturabildiğini ve neovaskülarizasyona yol açabildiğini gösterdiler [115]. Biz de daha sonra 4HPR'nin retinoblastom ve Kaposi sarkomu modellerindeki tümör anjiogenezini azalttığını gösterdik [45, 154]. Fehretinid ayrıca IGF1/IGF1 reseptörü, TGFβ ve NF-κB gibi diğer yolakları hedefleyen hücrelerin yaşama yeteneklerini de etkiler [138].

Çeşitli klinik çalışmalarda fenretinidin hem kemopreventif hem de kemoterapötik etkinliği araştırılmıştır. En büyük faz III klinik çalışma İstituto Nazionale dei Tumori of Milan koordinatörlüğünde 1987 yılında başlatılan ve evre I meme kanseri olan hastalardaki tümör insidansı üzerinde fenrenitinidin etkilerini araştıran çok merkezli, randomize, kemoprevensiyon çalışmasıdır. Bu çalışmanın sonuçları fenretinidinin premenopozal kadınlarda kemopreventif etkisi olduğunu göstermiştir. Ancak postmenopozal kadınlarda paradoksik şekilde karşıt etkileri olduğu görülmektedir. Şu anda serviks, mesane ve ovaryum kanserinde fenretinidin kemoprevensiyon özelliğini araştıran klinik çalışmalar sürmektedir. Diğer çalışmalar 4HPR'nin baş ve boyun kanseri, lenfoma, nöroblastom, böbrek kanseri, gliom, küçük hücreli akciğer kanseri ve prostat kanseri hastalarında kemoterapötik ilaç olarak etkinliğini araştırmayı amaçlamaktadır.

3 Tümör Mikroçevresini Hedefleyen Tedaviler

Konvansiyonel kanser tedavisinde tümör hücresinin kendisini hedefleyen tedavilere alternatif veya ek olarak tümör mikroçevresinin hedeflenmesinin ümit verici olduğu açıktır. Bu teori tümör mikroçevresinin kansere yol açan tek neden olduğunu öneren bulgularla desteklenmektedir [163, 164]. Ayrıca tümör mikroçevresinin çeşitli kemoprevensiyon ajanları tarafından hızlıca ve efektif olarak hedeflenebilmesi ile tümörün agresifliği engellenebilmekte ya da geciktirilebilmektedir.

Solid tümörlerin klinik olarak sessiz olan küçük hücre grubu durumundan, onkoloji hastalarının çoğunun ölüm nedeni olan metastaz yapabilecek hale gelebilmesi için anjiogenez şarttır. Bu gerçek araştırmacıların ve endüstrinin efektif antianjiogenik tedaviler geliştirmek için sarf ettikleri büyük enerjinin nedenidir. Folkman 1971 yılında anjiogenezin karsinogenezdeki rolünü öngörmüştür [46]. Tümör hücreleri genetik ve çevresel değişimleri takiben proanjiogenik büyüme faktörlerini (örn. VEGF) salgılayarak tümör damar ağı formasyonuna neden olan "anjiogenik anahtarı" aktive ederler. Bu anjiogenik fenotipin oluşumunda rol oynayan tüm yolaklar ve moleküler oyuncular antianjiogenik terapi için iyi birer adaydır. Çalışmaların çoğu VEGF/VEGFR yolağına odaklanmıştır. Bevakizumab VEGF (VEGF-A) izoformlarını inhibe ederek reseptörlerine bağlanmasını engelleyen hümanize monoklonal antikordur. FDA tarafından kolorektal kanser tedavisinde kemoterapi rejimi ile kombinasyon halinde kullanım için onaylı ilk antianjiogenik ilaçtır. Bevakizumab, muhtemelen tümör damarları üzerindeki "normalizasyon" etkisi nedeniyle, hemen her zaman sadece kemoterapi ile kombine olarak kullanıldığında etkilidir. Bu dengesiz ve düzensiz tümör damar düzeninin "tamiri" sızıntıları azaltarak interstisyel basıncı düşürür. Böylece ilaçların daha iyi dağılmasını ve etkinlik göstermelerini sağlar [71, 80, 99].

Aflibersept (VEGF-Tuzağı) VEGFR-1 ve VEGFR-2'nin ekstraselüler bölgelerinin IgG'nin Fc fragmanı ile birlikte füzyonu sonucunda elde edilen bir moleküldür. Füzyon proteinlerinin preklinik çalışmalarda, VEGF ve PIGF'nin hücresel reseptörlerine bağlanmalarını inhibe ederek anjiogenezi ve tümör büyümesini bloke ettikleri tespit edilmiştir. Akut myeloid lösemi, glioblastom, karsinom, metastatik pankreas kanseri, küçük hücreli akciğer kanseri ile diğer bazı kanser türlerinde yapılmakta olan güncel klinik çalışmalarda değerlendirilmektedir [64].

Yoğun olarak araştırılan bir başka bileşik sınıfı da RTK inhbitörleri olarak da bilinen tirozin kinazların reseptörlerini hedefleyen TKİ'lerdir. Bazı reseptörler hem endotel hem de kanser hücreleri tarafından eksprese edildikleri için, bu moleküller her iki hücre tipinde de etkili olabilirler. Bu sınıfa ait olan ilk bileşik olan semaksanib ilk olarak 5-florourasil ile kombinasyon halinde test edilmiştir. Ancak çalışma hayal kırıklığı yaratan sonuçları ve yüksek toksisite nedeniyle durdurulmuştur [130]. Küçük bir oral molekül olan ve VEGFR, PDGFR, c-kit, RET ve koloni stimüle edici faktör (CSF)-1R'yi hedefleyen sunitinib tedavisi ile metastatik renal hücreli karsinom (RCC) hastalarında yapılan klinik çalışmada ümit verici sonuçlar alınması sonrası metastatik renal hücreli karsinom ve gastrointestinal stromal tümör tedavisinde FDA onayı al-

mıştır [28]. Aynı bileşik grubuna ait olan sorafenib de VEGFR, PDGFR-β ve c-kit'i inhibe eder. Bu molekül çeşitli tümör hücre dizilerinde Raf kinazları ve ERK1/1 MAPK sinyalini de hedefler. Metastastik RCC ve rezeke edilemeyen hepatoselüler karsinom tedavisinde onaylıdır [167].

EGFR/HER1 inhibitörü olan erlotinibin antikanser aktivitesini VEGF'yi de içeren büyüme faktörlerinin ekspresyonunu represe ederek gösterdiği düşünülmektedir. Pankreas kanserinin tedavisinde gemsitabin ile kombine halde ve küçük hücreli olmayan akciğer kanserinin (NSCLC) tedavisinde onaylıdır [120]. PDGFR ve Bcr/Abl inhibitörü olan imatinib kronik miyeloid lösemi tedavisinde kullanılır. İn vitro anjiogenetik etkileri de olan imatinib endotel hücrelerini ve perisitleri PDGFR ile etkileşimi sayesinde etkiler. Perisitlerin hedeflenmesi damar ağını etkilemek için geçerli bir yaklaşımdır. Ancak bu yaklaşım dezavantajı sızdıran damarların metastaza neden olma ihtimalidir. Bu potansiyel yan etkilerden kaçınabilmek için iyi dizayn edilmiş bir tedavi gereklidir [144].

Uzun süreli anti-VEGF tedavinin faydaları yanında kardiyovasküler komplikasyonlar ve direnç kazanımı gibi yan etkileri de vardır. Kardiyovasküler yan etkiler bu bileşiklerin hem tümör hem de tümörle ilişkili olmayan endotel hücrelerinde etki gösteriyor olmalarından kaynaklanır. Tümörle ilişkisiz endotel hücrelerinde etki göstermeleri anjiogenez sinyallerinin çokluğundan kaynaklanır. Bu dezavantajların üstesinde gelebilmek için çok hedefli bir yaklaşım gerekir.

İnter- ve intraselüler iletişimlerin altında yatan kompleks ağ nedeniyle, sinyal yolaklarını hedeflemek üzere geliştirilen birçok bileşik aynı zamanda anjiogenezi de etkilemektedir. EGFR'yi hedefleyen monoklonal antikor olan setuksimab metastatik kolorektal kanserdeki proanjiogenik sitokin ekspresyonunu represe eder [82].

PI3K ailesinin iki inhibitörü olan LY294002 ve wortmannin yüksek toksisiteleri nedeniyle klinik kullanıma girememiştir [145]. AKT/mTOR yolağı perifozin (bir alkilfosfolipid), rapamisin ve analogları (temsirolimus ve everolimus) tarafından hedeflenir; bu bileşikler renal hücreli karsinom tedavisinde etkilidir [69]. Sinyal ağındaki bir diğer merkezde hipoksi ile indüklenebilir faktör HIF'dır. HIF, DNA'ya bağlanmasını (Ekinomisin) [81] ve p300 (Ketomin) [143] veya HSP90 (Geldanamisin) [95] gibi kofaktörlerle etkileşimini engelleyerek, transkripsiyonel aktivitesinin inhibe eden [180] multipl bileşikler tarafından hedeflenir. HIF'ı hedeflemenin diğer yöntemleri ekspresyonunu ve akümülasyonunu (2-Metoksiöstradiol) tioredoksinlerin inhibisyonu (PX-12) ile engellemektir. Geldanamisin, 2-Metoksiöstradiol ve PX-12 ile ilgili süren çalışmalarda bazı ön sonuçlar alınmıştır [29].

Çeşitli epidemiyolojik çalışmalarda antienflamatuar ilaçlarla (NSAİD) ve diğer COX-2 inhibitörleri ile uzun süre tedavi edilen hastalardaki kolon, meme ve gastrik kanserlerin insidansları daha düşük bulunmuştur [10]. COX-2 adenokarsinom, over ve kolon kanseri gibi farklı kanser türleri olan hastalarda kötü prognoz ile koreledir. COX-2 inhibitörü selekoksibin (Celebrex) prostat, baş ve boyun, küçük hücreli akciğer kanserleri gibi çeşitli kanserlerin tedavisinde kullanıldığı klinik çalışmalar sürmektedir [52].

En önemli proenflamatuar moleküllerden biri TNFα'dır. TNFα, tümörlerin büyüme ve yayılımları için gerekli olan NF-κB yolağını ve dokuların yeniden yapılanmasını aktive eder. TNFα aktivitesine engel olmak için çözünür TNF reseptörü, etanersept, TNF'e karşı kimerik bir monoklonal antikor, infliksimab ve pegile hümanize anti-TNFα parçası, CDP870 gibi çeşitli yaklaşımlar kullanılmıştır [1]. Bu inhibitörler günümüzde başta romatoid artrit olmak üzere çeşitli kronik enflamatuar hastalıkların tedavisinde klinikte kullanılmaktadır. TNFα inhibitörlerini anti-neoplastik tedavide kullanımlarını araştıran çeşitli klinik çalışmalar sürmektedir. Ancak şu ana kadar etkinliklerini gösteren net bir kanıt bulunmamıştır (http://clinicaltrials.gov/).

Tanımlanan moleküler yolaklara ek olarak, tümör mikroçevresini oluşturan enflamatuar hücreler de kanser tedavisinde uygun hedefler olabilir. Yukarıda bahsedildiği üzere, TAM'lar kanser ile ilişkili enflamasyonda çok önemli rol oynarlar; çoğunlukla CSF-1 ve CCL-2 tarafından alınırlar. TAM infiltrasyonunu inhibe etmenin muhtemel bir yolu CSF-1/CFS-1 reseptörünü (CSF-1R) veya CCL2/CCL2 reseptör (CCR2) eksenini hedeflemektir. RTK inhibitörü olan sunitinib in vitro deneylerde CSF-1R'yi bloke edebilmektedir [25]. CCR2 inhibitörleri çeşitli ilaç firmaları tarafından araştırılmaktadır. Merck'in son zamanlarda geliştirdiği MK0812 tedavisi ataklar ve remisyonlarla karakterize multipl sklerozda ve romatoid artritte sürmekte olan faz II klinik çalışma ile araştırılmaktadır [168] (http://clinicaltrials.gov/).

TAM'lar yerleşimlerini takiben, karsinojenezi destekleyen çok miktarda proanjiogenik ve protümörijenik faktörler salgılarlar. Bu nedenle diğer stratejiler aktive TAM'ları hedeflerler. Kemik metastazları ile ilgili iskelet problemlerini azalttığı bilinen zoledronik asidin, TAM'lara yönelik miyeloid farklılaşmayı bozarak ve TAM'ların MMP9 salgılamalarını azaltarak da etki gösterdiği güncel çalışmalarda gösterilmiştir [158]. Ayrıca CAF'lar da güncel bir tedavi hedefidir. CAF'lar, endotel hücre prekürsorlarını (EPC) kendilerine çekerek anjiogenezi destekleyen CXCR4 ligandı olan SDF-1 üretirler. CXCR4 inhibitörü olarak geliştirilen AMD3100'ün akut myeloid lösemi, lenfoma, relaps/refrakter multipl miyelom ve diğer malignitelerin tedavisinde kullanımını araştıran klinik çalışmalar sürmektedir [36].

Tümör mikroçevresinin hedeflenmesinin avantajı, (en azından teorik olarak) nontümör hücre popülasyonlarının genetik olarak stabil olmaları nedeniyle kazanılmış ilaç rezistansına yol açan mutasyonların akümülasyonuna daha az eğilimli olmalarıdır. Ancak bu varsayım tam olarak doğru değildir. Örneğin endotel hücrelerinin tümör hücrelerinden kaynaklanabileceği ve tümörle ilişkili endotel hücrelerinde genetik dş.lerin bazı vakalarda görüldüğü güncel deneyler ile gösterilmiştir [4, 93, 113, 146].

4 Sonuçlar

Sonuç olarak etkili bir tümör tedavisi sadece tümör hücresini değil bütün hücresel oyuncuları hedef almalıdır: Bu komplike proseste rol oynayan endotel hücreleri, perisitler, immun hücreler ve fibroblastlar hedeflenmelidir. Bu hedefe ulaşmak için çok sayıda

adım atılmıştır. Ancak kanseri ve karsinogenez prosesini etkili bir şekilde hedefleyebilmek için çok daha fazlasına ihtiyaç vardır. Çok miktarda deneysel veriler, klinik ve preklinik gözlemler göz önüne alındığında kanseri yok edebilmek için tümör hücrelerinin hedeflenmesinin yeterli olmadığı açıktır. Çeşitli terapötik protokollerde bevakizumab, sunitib ve sorafenib gibi antianjiogenik ilaçlar yer almaktadır. Tümör mikroçevresine uyarlanmış antienflamatuar ilaçlar da mevcuttur. Tedaviler bu çok hedefli yaklaşımlara rağmen sıklıkla başarısız olmaktadır. Bu durum kısmen hastalığın ileri evrede teşhis ve tedavi edilmesine bağladır. Bu nedenle tümörlerin henüz klinik olarak teşhis edilemedikleri başlangıç evrelerinde kanser kemoprevensiyonu yoluyla hedeflenmeleri ilginç bir alternatif stratejidir. Bu yaklaşımın başlıca özelliklerinden biri tümör mikroçevresinin hedeflenmesidir. Hatta tümör mikroçevresinin oluşmadan önce engellenerek tümör büyüme ve progresyonunun durdurulması en ideal yaklaşımdır.

Bu yaklaşımın altında yatan bilimsel mantığın bazı yönleri ile tümör, tümör mikroçevresi ve ilaçlar arasındaki etkileşimlerin gerçekleştiği biyolojik senaryoyu tanımladık. Karsinogenezin tüm evreleri, preneoplastik hücrelerdeki genetik mutasyonlar, mikroçevresinin moleküler sinyalleri ve tümör homeostazı ilaçların olası hedefleridir. Bu bölümde hem preklinik hem de klinik çalışmalarda kanser kemoprevensiyonunda kullanımları araştırılmakta olan en fazla ümit vadeden bileşiklerle ilgili güncel bilgilerden bahsettik. Bazıları çelişkili olsa da genel olarak ümit verici olan çalışma sonuçlarında, tümör mikroçevresinin önemi vurgulanmakta ve kemopreventif yaklaşımların kanserin ve progresyonunun önlenmesinde geçerli stratejiler haline gelebileceği bildirilmektedir.

Teşekkürler Bu çalışmalara maddi destke veren kurumlar: AIRC (Associazione Italiana per la Ricerca sul Cancro), Ministero della Salute, ISS (Istituto Superiore della Sanità). AB, FIRC (Fondazione Italiana per la Ricerca sul Cancro) asistanıdır. AP, "Caterina Forni" AIRC bursu almıştır. Veri yönetimi için Dr Paola Corradino'ya (Multimedica IRCCS) teşekkür ediyoruz.

Referanslar

1. Aaltonen KJ, Virkki LM, Malmivaara A, Konttinen YT, Nordstrom DC, Blom M (2012) Systematic review and meta-analysis of the efficacy and safety of existing TNF blocking agents in treatment of rheumatoid arthritis. PLoS One 7:e30275
2. Aggarwal BB, Vijayalekshmi RV, Sung B (2009) Targeting inflammatory pathways for prevention and therapy of cancer: short-term friend, long-term foe. Clin Cancer Res 15:425–430
3. Aitio ML (2006) N-acetylcysteine—passe-partout or much ado about nothing? Br J Clin Pharmacol 61:5–15
4. Akino T, Hida K, Hida Y, Tsuchiya K, Freedman D, Muraki C, Ohga N, Matsuda K, Akiyama K, Harabayashi T, Shinohara N, Nonomura K, Klagsbrun M, Shindoh M (2009) Cytogenetic abnormalities of tumor-associated endothelial cells in human malignant tumors. Am J Pathol 175:2657–2667
5. Akira S, Nishio Y, Inoue M, Wang XJ, Wei S, Matsusaka T, Yoshida K, Sudo T, Naruto M, Kishimoto T (1994) Molecular cloning of APRF, a novel IFN-stimulated gene factor 3 p91-

related transcription factor involved in the gp130-mediated signaling pathway. Cell 77:63–71
6. Albini A, Morini M, D'Agostini F, Ferrari N, Campelli F, Arena G, Noonan DM, Pesce C, De Flora S (2001) Inhibition of angiogenesis-driven Kaposi's sarcoma tumor growth in nude mice by oral N-acetylcysteine. Cancer Res 61:8171–8178
7. Albini A, Noonan DM (2012) Angiopoietin2 and tie2: tied to lymphangiogenesis and lung metastasis. New perspectives in antimetastatic antiangiogenic therapy. J Natl Cancer Inst 104:429–431
8. Albini A, Sporn MB (2007) The tumour microenvironment as a target for chemoprevention. Nat Rev Cancer 7:139–147
9. Albini A, Tosetti F, Benelli R, Noonan DM (2005) Tumor inflammatory angiogenesis and its chemoprevention. Cancer Res 65:10637–10641
10. Albini A, Tosetti F, Li VW, Noonan DM, Li WW (2012) Cancer prevention by targeting angiogenesis. Nat Rev Clin Oncol 9:498–509
11. Aradhya S, Nelson DL (2001) NF-kappaB signaling and human disease. Curr Opin Genet Dev 11:300–306
12. Aravindaram K, Yang NS (2010) Anti-inflammatory plant natural products for cancer therapy. Planta Med 76:1103–1117
13. Baldwin AS Jr (1996) The NF-kappa B and I kappa B proteins: new discoveries and insights. Annu Rev Immunol 14:649–683
14. Balkwill F, Mantovani A (2001) Inflammation and cancer: back to Virchow? Lancet 357:539–545
15. Bello IO, Vered M, Dayan D, Dobriyan A, Yahalom R, Alanen K, Nieminen P, Kantola S, Laara E, Salo T (2011) Cancer-associated fibroblasts, a parameter of the tumor microenvironment, overcomes carcinoma-associated parameters in the prognosis of patients with mobile tongue cancer. Oral Oncol 47:33–38
16. Benelli R, Morini M, Carrozzino F, Ferrari N, Minghelli S, Santi L, Cassatella M, Noonan DM, Albini A (2002) Neutrophils as a key cellular target for angiostatin: implications for regulation of angiogenesis and inflammation. FASEB J 16:267–269
17. Bergers G, Song S, Meyer-Morse N, Bergsland E, Hanahan D (2003) Benefits of targeting both pericytes and endothelial cells in the tumor vasculature with kinase inhibitors. J Clin Invest 111:1287–1295
18. Bian X, McAllister-Lucas LM, Shao F, Schumacher KR, Feng Z, Porter AG, Castle VP, Opipari AW Jr (2001) NF-kappa B activation mediates doxorubicin-induced cell death in N-type neuroblastoma cells. J Biol Chem 276:48921–48929
19. Bu P, Wan YJ (2007) Fenretinide-induced apoptosis of Huh-7 hepatocellular carcinoma is retinoic acid receptor beta dependent. BMC Cancer 7:236
20. Campbell MJ, Tonlaar NY, Garwood ER, Huo D, Moore DH, Khramtsov AI, Au A, Baehner F, Chen Y, Malaka DO, Lin A, Adeyanju OO, Li S, Gong C, McGrath M, Olopade OI, Esserman LJ (2011) Proliferating macrophages associated with high grade, hormone receptor negative breast cancer and poor clinical outcome. Breast Cancer Res Treat 128:703–711
21. Carmeliet P (2003) Angiogenesis in health and disease. Nat Med 9:653–660
22. Carmeliet P, Jain RK (2000) Angiogenesis in cancer and other diseases. Nature 407:249–257
23. Chan KS, Sano S, Kiguchi K, Anders J, Komazawa N, Takeda J, DiGiovanni J (2004) Disruption of Stat3 reveals a critical role in both the initiation and the promotion stages of epithelial carcinogenesis. J Clin Invest 114:720–728
24. Chilov D, Kukk E, Taira S, Jeltsch M, Kaukonen J, Palotie A, Joukov V, Alitalo K (1997) Genomic organization of human and mouse genes for vascular endothelial growth factor C. J Biol Chem 272:25176–25183
25. Chow LQ, Eckhardt SG (2007) Sunitinib: from rational design to clinical efficacy. J Clin Oncol 25:884–896

26. Chung AS, Lee J, Ferrara N (2010) Targeting the tumour vasculature: insights from physiological angiogenesis. Nat Rev Cancer 10:505–514
27. Coffelt SB, Hughes R, Lewis CE (2009) Tumor-associated macrophages: effectors of angiogenesis and tumor progression. Biochim Biophys Acta 1796:11–18
28. Colotta F, Allavena P, Sica A, Garlanda C, Mantovani A (2009) Cancer-related inflammation, the seventh hallmark of cancer: links to genetic instability. Carcinogenesis 30:1073–1081
29. Cook KM, Figg WD (2010) Angiogenesis inhibitors: current strategies and future prospects. CA Cancer J Clin 60:222–243
30. Courtois G, Smahi A (2006) NF-kappaB-related genetic diseases. Cell Death Differ 13:843–851
31. Coussens LM, Werb Z (2002) Inflammation and cancer. Nature 420:860–867
32. Crawford LV, Pim DC, Gurney EG, Goodfellow P, Taylor-Papadimitriou J (1981) Detection of a common feature in several human tumor cell lines–a 53,000-dalton protein. Proc Natl Acad Sci USA 78:41–45
33. Cuperus R, Leen R, Tytgat GA, Caron HN, van Kuilenburg AB (2010) Fenretinide induces mitochondrial ROS and inhibits the mitochondrial respiratory chain in neuroblastoma. Cell Mol Life Sci 67:807–816
34. Dalwadi H, Krysan K, Heuze-Vourc'h N, Dohadwala M, Elashoff D, Sharma S, Cacalano N, Lichtenstein A, Dubinett S (2005) Cyclooxygenase-2-dependent activation of signal transducer and activator of transcription 3 by interleukin-6 in non-small cell lung cancer. Clin Cancer Res 11:7674–7682
35. Darnell JE Jr, Kerr IM, Stark GR (1994) Jak-STAT pathways and transcriptional activation in response to IFNs and other extracellular signaling proteins. Science 264:1415–1421
36. De Clercq E (2010) Recent advances on the use of the CXCR4 antagonist plerixafor (AMD3100, Mozobil) and potential of other CXCR4 antagonists as stem cell mobilizers. Pharmacol Ther 128:509–518
37. De Flora S, Bennicelli C, Zanacchi P, Camoirano A, Morelli A, De Flora A (1984) In vitro effects of N-acetylcysteine on the mutagenicity of direct-acting compounds and procarcinogens. Carcinogenesis 5:505–510
38. De Flora S, D'Agostini F, Izzotti A, Balansky R (1991) Prevention by N-acetylcysteine of benzo[a]pyrene clastogenicity and DNA adducts in rats. Mutat Res 250:87–93
39. De Flora S, Izzotti A, D'Agostini F, Balansky RM (2001) Mechanisms of N-acetylcysteine in the prevention of DNA damage and cancer, with special reference to smoking-related end-points. Carcinogenesis 22:999–1013
40. Decramer M, Rutten-van Molken M, Dekhuijzen PN, Troosters T, van Herwaarden C, Pellegrino R, van Schayck CP, Olivieri D, Del Donno M, De Backer W, Lankhorst I, Ardia A (2005) Effects of N-acetylcysteine on outcomes in chronic obstructive pulmonary disease (Bronchitis Randomized on NAC Cost-Utility Study, BRONCUS): a randomised placebo-controlled trial. Lancet 365:1552–1560
41. Deo DD, Axelrad TW, Robert EG, Marcheselli V, Bazan NG, Hunt JD (2002) Phosphorylation of STAT-3 in response to basic fibroblast growth factor occurs through a mechanism involving platelet-activating factor, JAK-2, and Src in human umbilical vein endothelial cells. Evidence for a dual kinase mechanism. J Biol Chem 277:21237–21245
42. Duignan IJ, Corcoran E, Pennello A, Plym MJ, Amatulli M, Claros N, Iacolina M, Youssoufian H, Witte L, Samakoglu S, Schwartz J, Surguladze D, Tonra JR (2011) Pleiotropic stromal effects of vascular endothelial growth factor receptor 2 antibody therapy in renal cell carcinoma models. Neoplasia 13:49–59
43. Ebos JM, Lee CR, Cruz-Munoz W, Bjarnason GA, Christensen JG, Kerbel RS (2009) Accelerated metastasis after short-term treatment with a potent inhibitor of tumor angiogenesis. Cancer Cell 15:232–239
44. Egeblad M, Nakasone ES, Werb Z (2010) Tumors as organs: complex tissues that interface with the entire organism. Dev Cell 18:884–901

45. Ferrari N, Morini M, Pfeffer U, Minghelli S, Noonan DM, Albini A (2003) Inhibition of Kaposi's sarcoma in vivo by fenretinide. Clin Cancer Res 9:6020–6029
46. Folkman J (1971) Tumor angiogenesis: therapeutic implications. N Engl J Med 285:1182–1186
47. Folkman J (2002) Role of angiogenesis in tumor growth and metastasis. Semin Oncol 29:15–18
48. Fridlender ZG, Albelda SM (2012) Tumor-associated neutrophils: friend or foe? Carcinogenesis
49. Fridlender ZG, Sun J, Kim S, Kapoor V, Cheng G, Ling L, Worthen GS, Albelda SM (2009) Polarization of tumor-associated neutrophil phenotype by TGF-beta: "N1" versus "N2" TAN. Cancer Cell 16:183–194
50. Gabellini C, Del Bufalo D, Zupi G (2006) Involvement of RB gene family in tumor angiogenesis. Oncogene 25:5326–5332
51. Garg AK, Aggarwal BB (2002) Reactive oxygen intermediates in TNF signaling. Mol Immunol 39:509–517
52. Ghosh N, Chaki R, Mandal V, Mandal SC (2010) COX-2 as a target for cancer chemotherapy. Pharmacol Rep 62:233–244
53. Ghosh S, Karin M (2002) Missing pieces in the NF-kappaB puzzle. Cell 109(Suppl):S81–S96
54. Goh PP, Sze DM, Roufogalis BD (2007) Molecular and cellular regulators of cancer angiogenesis. Curr Cancer Drug Targets 7:743–758
55. Gouaze-Andersson V, Flowers M, Karimi R, Fabrias G, Delgado A, Casas J, Cabot MC (2011) Inhibition of acid ceramidase by a 2-substituted aminoethanol amide synergistically sensitizes prostate cancer cells to N-(4-hydroxyphenyl) retinamide. Prostate 71:1064–1073
56. Green DR, Kroemer G (2009) Cytoplasmic functions of the tumour suppressor p53. Nature 458:1127–1130
57. Greten FR, Karin M (2004) The IKK/NF-kappaB activation pathway-a target for prevention and treatment of cancer. Cancer Lett 206:193–199
58. Gupta S, Yan H, Wong LH, Ralph S, Krolewski J, Schindler C (1996) The SH2 domains of Stat1 and Stat2 mediate multiple interactions in the transduction of IFN-alpha signals. EMBO J 15:1075–1084
59. Hanahan D, Folkman J (1996) Patterns and emerging mechanisms of the angiogenic switch during tumorigenesis. Cell 86:353–364
60. Hanahan D, Weinberg RA (2011) Hallmarks of cancer: the next generation. Cell 144:646–674
61. Harris CC (1993) p53: at the crossroads of molecular carcinogenesis and risk assessment. Science 262:1980–1981
62. Harris CC, Hollstein M (1993) Clinical implications of the p53 tumor-suppressor gene. N Engl J Med 329:1318–1327
63. Hermeking H (2007) p53 enters the microRNA world. Cancer Cell 12:414–418
64. Holash J, Davis S, Papadopoulos N, Croll SD, Ho L, Russell M, Boland P, Leidich R, Hylton D, Burova E, Ioffe E, Huang T, Radziejewski C, Bailey K, Fandl JP, Daly T, Wiegand SJ, Yancopoulos GD, Rudge JS (2002) VEGF-Trap: a VEGF blocker with potent antitumor effects. Proc Natl Acad Sci USA 99:11393–11398
65. Hou J, Schindler U, Henzel WJ, Ho TC, Brasseur M, McKnight SL (1994) An interleukin-4-induced transcription factor: IL-4 Stat. Science 265:1701–1706
66. Hristov M, Erl W, Weber PC (2003) Endothelial progenitor cells: mobilization, differentiation, and homing. Arterioscler Thromb Vasc Biol 23:1185–1189
67. Hsia CY, Cheng S, Owyang AM, Dowdy SF, Liou HC (2002) c-Rel regulation of the cell cycle in primary mouse B lymphocytes. Int Immunol 14:905–916
68. Huang S, DeGuzman A, Bucana CD, Fidler IJ (2000) Nuclear factor-kappaB activity correlates with growth, angiogenesis, and metastasis of human melanoma cells in nude mice. Clin Cancer Res 6:2573–2581

69. Hudes GR (2009) Targeting mTOR in renal cell carcinoma. Cancer 115:2313–2320
70. Issaeva N, Bozko P, Enge M, Protopopova M, Verhoef LG, Masucci M, Pramanik A, Selivanova G (2004) Small molecule RITA binds to p53, blocks p53-HDM-2 interaction and activates p53 function in tumors. Nat Med 10:1321–1328
71. Jain RK (2002) Tumor angiogenesis and accessibility: role of vascular endothelial growth factor. Semin Oncol 29:3–9
72. Jiang L, Pan X, Chen Y, Wang K, Du Y, Zhang J (2011) Preferential involvement of both ROS and ceramide in fenretinide-induced apoptosis of HL60 rather than NB4 and U937 cells. Biochem Biophys Res Commun 405:314–318
73. Kaipainen A, Kieran MW, Huang S, Butterfield C, Bielenberg D, Mostoslavsky G, Mulligan R, Folkman J, Panigrahy D (2007) PPARalpha deficiency in inflammatory cells suppresses tumor growth. PLoS One 2:e260
74. Kalluri R (2009) EMT: when epithelial cells decide to become mesenchymal-like cells. J Clin Invest 119:1417–1419
75. Kalluri R, Zeisberg M (2006) Fibroblasts in cancer. Nat Rev Cancer 6:392–401
76. Kamper P, Bendix K, Hamilton-Dutoit S, Honore B, Nyengaard JR, d'Amore F (2011) Tumor-infiltrating macrophages correlate with adverse prognosis and Epstein-Barr virus status in classical Hodgkin's lymphoma. Haematologica 96:269–276
77. Karin M, Lin A (2002) NF-kappaB at the crossroads of life and death. Nat Immunol 3:221–227
78. Kasinski AL, Slack FJ (2010) Potential microRNA therapies targeting Ras, NFkappaB and p53 signaling. Curr Opin Mol Ther 12:147–157
79. Kerbel RS (2008) Tumor angiogenesis. N Engl J Med 358:2039–2049
80. Kim S (1993) Liposomes as carriers of cancer chemotherapy. Current status and future prospects. Drugs 46:618–638
81. Kong D, Park EJ, Stephen AG, Calvani M, Cardellina JH, Monks A, Fisher RJ, Shoemaker RH, Melillo G (2005) Echinomycin, a small-molecule inhibitor of hypoxia-inducible factor-1 DNA-binding activity. Cancer Res 65:9047–9055
82. Ku GY, Haaland BA, de Lima Lopes G (2012) Cetuximab in the first-line treatment of K-ras wild-type metastatic colorectal cancer: the choice and schedule of fluoropyrimidine matters. Cancer Chemother Pharmacol 70:231–238
83. Kubbutat MH, Jones SN, Vousden KH (1997) Regulation of p53 stability by Mdm2. Nature 387:299–303
84. Kumar A, Takada Y, Boriek AM, Aggarwal BB (2004) Nuclear factor-kappaB: its role in health and disease. J Mol Med (Berl) 82:434–448
85. Lane DP, Crawford LV (1979) T antigen is bound to a host protein in SV40-transformed cells. Nature 278:261–263
86. Lee H, Herrmann A, Deng JH, Kujawski M, Niu G, Li Z, Forman S, Jove R, Pardoll DM, Yu H (2009) Persistently activated Stat3 maintains constitutive NF-kappaB activity in tumors. Cancer Cell 15:283–293
87. Leen AM, Christin A, Khalil M, Weiss H, Gee AP, Brenner MK, Heslop HE, Rooney CM, Bollard CM (2008) Identification of hexon-specific CD4 and CD8 T-cell epitopes for vaccine and immunotherapy. J Virol 82:546–554
88. Levine AJ (1989) The p53 tumor suppressor gene and gene product. Princess Takamatsu Symp 20:221–230
89. Lewis CE, Pollard JW (2006) Distinct role of macrophages in different tumor microenvironments. Cancer Res 66:605–612
90. Linares LK, Hengstermann A, Ciechanover A, Muller S, Scheffner M (2003) HdmX stimulates Hdm2-mediated ubiquitination and degradation of p53. Proc Natl Acad Sci USA 100:12009–12014
91. Lu T, Sathe SS, Swiatkowski SM, Hampole CV, Stark GR (2004) Secretion of cytokines and growth factors as a general cause of constitutive NFkappaB activation in cancer. Oncogene 23:2138–2145

92. Lu-Emerson C, Norden AD, Drappatz J, Quant EC, Beroukhim R, Ciampa AS, Doherty LM, Lafrankie DC, Ruland S, Wen PY (2011) Retrospective study of dasatinib for recurrent glioblastoma after bevacizumab failure. J Neurooncol 104:287–291
93. Lyden D, Hattori K, Dias S, Costa C, Blaikie P, Butros L, Chadburn A, Heissig B, Marks W, Witte L, Wu Y, Hicklin D, Zhu Z, Hackett NR, Crystal RG, Moore MA, Hajjar KA, Manova K, Benezra R, Rafii S (2001) Impaired recruitment of bone-marrow-derived endothelial and hematopoietic precursor cells blocks tumor angiogenesis and growth. Nat Med 7:1194–1201
94. Ma WW, Adjei AA (2009) Novel agents on the horizon for cancer therapy. CA Cancer J Clin 59:111–137
95. Mabjeesh NJ, Post DE, Willard MT, Kaur B, Van Meir EG, Simons JW, Zhong H (2002) Geldanamycin induces degradation of hypoxia-inducible factor 1alpha protein via the proteosome pathway in prostate cancer cells. Cancer Res 62:2478–2482
96. Mantovani A, Cassatella MA, Costantini C, Jaillon S (2011) Neutrophils in the activation and regulation of innate and adaptive immunity. Nat Rev Immunol 11:519–531
97. Mercer WE, Avignolo C, Baserga R (1984) Role of the p53 protein in cell proliferation as studied by microinjection of monoclonal antibodies. Mol Cell Biol 4:276–281
98. Messner MC, Cabot MC (2011) Cytotoxic responses to N-(4-hydroxyphenyl) retinamide in human pancreatic cancer cells. Cancer Chemother Pharmacol 68:477–487
99. Miller RB, Reece G, Kroll SS, Chang D, Langstein H, Ziogas A, Robb G, Evans GR (2007) Microvascular breast reconstruction in the diabetic patient. Plast Reconstr Surg 119: 38–45; discussion 46–48
100. Milner BJ, Allan LA, Eccles DM, Kitchener HC, Leonard RC, Kelly KF, Parkin DE, Haites NE (1993) p53 mutation is a common genetic event in ovarian carcinoma. Cancer Res 53:2128–2132
101. Moll UM, Schramm LM (1998) p53–an acrobat in tumorigenesis. Crit Rev Oral Biol Med 9:23–37
102. Momand J, Zambetti GP, Olson DC, George D, Levine AJ (1992) The mdm-2 oncogene product forms a complex with the p53 protein and inhibits p53-mediated transactivation. Cell 69:1237–1245
103. Monti E, Gariboldi MB (2011) HIF-1 as a target for cancer chemotherapy, chemosensitization and chemoprevention. Curr Mol Pharmacol 4:62–77
104. Murdoch C, Muthana M, Coffelt SB, Lewis CE (2008) The role of myeloid cells in the promotion of tumour angiogenesis. Nat Rev Cancer 8:618–631
105. Naugler WE, Karin M (2008) The wolf in sheep's clothing: the role of interleukin-6 in immunity, inflammation and cancer. Trends Mol Med 14:109–119
106. Noonan DM, De Lerma Barbaro A, Vannini N, Mortara L, Albini A (2008) Inflammation, inflammatory cells and angiogenesis: decisions and indecisions. Cancer Metastasis Rev 27:31–40
107. Nozawa H, Chiu C, Hanahan D (2006) Infiltrating neutrophils mediate the initial angiogenic switch in a mouse model of multistage carcinogenesis. Proc Natl Acad Sci USA 103:12493–12498
108. Oikawa S, Yamada K, Yamashita N, Tada-Oikawa S, Kawanishi S (1999) N-acetylcysteine, a cancer chemopreventive agent, causes oxidative damage to cellular and isolated DNA. Carcinogenesis 20:1485–1490
109. Olivier M, Hollstein M, Hainaut P (2010) TP53 mutations in human cancers: origins, consequences, and clinical use. Cold Spring Harb Perspect Biol 2: a001008
110. Orimo A, Gupta PB, Sgroi DC, Arenzana-Seisdedos F, Delaunay T, Naeem R, Carey VJ, Richardson AL, Weinberg RA (2005) Stromal fibroblasts present in invasive human breast carcinomas promote tumor growth and angiogenesis through elevated SDF-1/CXCL12 secretion. Cell 121:335–348

111. Paez-Ribes M, Allen E, Hudock J, Takeda T, Okuyama H, Vinals F, Inoue M, Bergers G, Hanahan D, Casanovas O (2009) Antiangiogenic therapy elicits malignant progression of tumors to increased local invasion and distant metastasis. Cancer Cell 15:220–231
112. Perkins ND (2004) Regulation of NF-kappaB by atypical activators and tumour suppressors. Biochem Soc Trans 32:936–939
113. Pezzolo A, Parodi F, Corrias MV, Cinti R, Gambini C, Pistoia V (2007) Tumor origin of endothelial cells in human neuroblastoma. J Clin Oncol 25:376–383
114. Philip M, Rowley DA, Schreiber H (2004) Inflammation as a tumor promoter in cancer induction. Semin Cancer Biol 14:433–439
115. Pienta KJ, Nguyen NM, Lehr JE (1993) Treatment of prostate cancer in the rat with the synthetic retinoid fenretinide. Cancer Res 53:224–226
116. Pietras K, Ostman A (2010) Hallmarks of cancer: interactions with the tumor stroma. Exp Cell Res 316:1324–1331
117. Pietras K, Pahler J, Bergers G, Hanahan D (2008) Functions of paracrine PDGF signaling in the proangiogenic tumor stroma revealed by pharmacological targeting. PLoS Med 5:e19
118. Pollicita M, Muscoli C, Sgura A, Biasin A, Granato T, Masuelli L, Mollace V, Tanzarella C, Del Duca C, Rodino P, Perno CF, Aquaro S (2009) Apoptosis and telomeres shortening related to HIV-1 induced oxidative stress in an astrocytoma cell line. BMC Neurosci 10:51
119. Poppe JK (1964) Clinical Experiences with Acetylcysteine as a Mucolytic Agent. Dis Chest 46:66–69
120. Pore N, Gupta AK, Cerniglia GJ, Jiang Z, Bernhard EJ, Evans SM, Koch CJ, Hahn SM, Maity A (2006) Nelfinavir down-regulates hypoxia-inducible factor 1alpha and VEGF expression and increases tumor oxygenation: implications for radiotherapy. Cancer Res 66:9252–9259
121. Pucci F, Venneri MA, Biziato D, Nonis A, Moi D, Sica A, Di Serio C, Naldini L, De Palma M (2009) A distinguishing gene signature shared by tumor-infiltrating Tie2-expressing monocytes, blood "resident" monocytes, and embryonic macrophages suggests common functions and developmental relationships. Blood 114:901–914
122. Qian H, Wang T, Naumovski L, Lopez CD, Brachmann RK (2002) Groups of p53 target genes involved in specific p53 downstream effects cluster into different classes of DNA binding sites. Oncogene 21:7901–7911
123. Rak J, Klement G (2000) Impact of oncogenes and tumor suppressor genes on deregulation of hemostasis and angiogenesis in cancer. Cancer Metastasis Rev 19:93–96
124. Rak J, Yu JL, Kerbel RS, Coomber BL (2002) What do oncogenic mutations have to do with angiogenesis/vascular dependence of tumors? Cancer Res 62:1931–1934
125. Rasanen K, Vaheri A (2010) Activation of fibroblasts in cancer stroma. Exp Cell Res 316:2713–2722
126. Ravi R, Mookerjee B, Bhujwalla ZM, Sutter CH, Artemov D, Zeng Q, Dillehay LE, Madan A, Semenza GL, Bedi A (2000) Regulation of tumor angiogenesis by p53-induced degradation of hypoxia-inducible factor 1alpha. Genes Dev 14:34–44
127. Rayet B, Gelinas C (1999) Aberrant rel/nfkb genes and activity in human cancer. Oncogene 18:6938–6947
128. Raza A, Franklin MJ, Dudek AZ (2010) Pericytes and vessel maturation during tumor angiogenesis and metastasis. Am J Hematol 85:593–598
129. Sabichi AL, Lerner SP, Grossman HB, Lippman SM (1998) Retinoids in the chemoprevention of bladder cancer. Curr Opin Oncol 10:479–484
130. Sakamoto J, Kodaira S, Hamada C, Ito K, Maehara Y, Takagi H, Sugimachi K, Nakazato H, Ohashi Y (2001) An individual patient data meta-analysis of long supported adjuvant chemotherapy with oral carmofur in patients with curatively resected colorectal cancer. Oncol Rep 8:697–703
131. Scapini P, Morini M, Tecchio C, Minghelli S, Di Carlo E, Tanghetti E, Albini A, Lowell C, Berton G, Noonan DM, Cassatella MA (2004) CXCL1/macrophage inflammatory protein-2-

induced angiogenesis in vivo is mediated by neutrophil-derived vascular endothelial growth factor-A. J Immunol 172:5034–5040
132. Secchiero P, Corallini F, Gonelli A, Dell'Eva R, Vitale M, Capitani S, Albini A, Zauli G (2007) Antiangiogenic activity of the MDM2 antagonist nutlin-3. Circ Res 100:61–69
133. Semenza GL (2010) Vascular responses to hypoxia and ischemia. Arterioscler Thromb Vasc Biol 30:648–52
134. Sen R, Baltimore D (1986) Inducibility of kappa immunoglobulin enhancer-binding protein Nf-kappa B by a posttranslational mechanism. Cell 47:921–928
135. Senftleben U, Cao Y, Xiao G, Greten FR, Krahn G, Bonizzi G, Chen Y, Hu Y, Fong A, Sun SC, Karin M (2001) Activation by IKKalpha of a second, evolutionary conserved, NF-kappa B signaling pathway. Science 293:1495–1499
136. Sharpless NE, DePinho RA (2002) p53: good cop/bad cop. Cell 110:9–12
137. Shuai K, Horvath CM, Huang LH, Qureshi SA, Cowburn D, Darnell JE Jr (1994) Interferon activation of the transcription factor Stat91 involves dimerization through SH2-phosphotyrosyl peptide interactions. Cell 76:821–828
138. Sogno I, Vene R, Ferrari N, De Censi A, Imperatori A, Noonan DM, Tosetti F, Albini A (2010) Angioprevention with fenretinide: targeting angiogenesis in prevention and therapeutic strategies. Crit Rev Oncol Hematol 75:2–14
139. Sogno I, Vene R, Sapienza C, Ferrari N, Tosetti F, Albini A (2009) Anti-angiogenic properties of chemopreventive drugs: fenretinide as a prototype. Recent Results Cancer Res 181:71–76
140. Sohur US, Dixit MN, Chen CL, Byrom MW, Kerr LA (1999) Rel/NF-kappaB represses bcl-2 transcription in pro-B lymphocytes. Gene Expr 8:219–229
141. Solinas G, Germano G, Mantovani A, Allavena P (2009) Tumor-associated macrophages (TAM) as major players of the cancer-related inflammation. J Leukoc Biol 86:1065–1073
142. Sparmann A, Bar-Sagi D (2004) Ras-induced interleukin-8 expression plays a critical role in tumor growth and angiogenesis. Cancer Cell 6:447–458
143. Staab A, Loeffler J, Said HM, Diehlmann D, Katzer A, Beyer M, Fleischer M, Schwab F, Baier K, Einsele H, Flentje M, Vordermark D (2007) Effects of HIF-1 inhibition by chetomin on hypoxia-related transcription and radiosensitivity in HT 1080 human fibrosarcoma cells. BMC Cancer 7:213
144. Steeghs N, Nortier JW, Gelderblom H (2007) Small molecule tyrosine kinase inhibitors in the treatment of solid tumors: an update of recent developments. Ann Surg Oncol 14:942–953
145. Stein RC (2001) Prospects for phosphoinositide 3-kinase inhibition as a cancer treatment. Endocr Relat Cancer 8:237–248
146. Streubel B, Chott A, Huber D, Exner M, Jager U, Wagner O, Schwarzinger I (2004) Lymphoma-specific genetic aberrations in microvascular endothelial cells in B-cell lymphomas. N Engl J Med 351:250–259
147. Sun Y, Chen J, Rigas B (2009) Chemopreventive agents induce oxidative stress in cancer cells leading to COX-2 overexpression and COX-2-independent cell death. Carcinogenesis 30:93–100
148. Takeda K, Kamanaka M, Tanaka T, Kishimoto T, Akira S (1996) Impaired IL-13-mediated functions of macrophages in STAT6-deficient mice. J Immunol 157:3220–3222
149. Tazzyman S, Lewis CE, Murdoch C (2009) Neutrophils: key mediators of tumour angiogenesis. Int J Exp Pathol 90:222–231
150. Teodoro JG, Evans SK, Green MR (2007) Inhibition of tumor angiogenesis by p53: a new role for the guardian of the genome. J Mol Med (Berl) 85:1175–1186
151. Teodoro JG, Parker AE, Zhu X, Green MR (2006) p53-mediated inhibition of angiogenesis through up-regulation of a collagen prolyl hydroxylase. Science 313:968–971
152. Tergaonkar V (2009) p53 and NFkappaB: fresh breath in the cross talk. Cell Res 19:1313–1315

153. Tosetti F, Ferrari N, De Flora S, Albini A (2002) Angioprevention': angiogenesis is a common and key target for cancer chemopreventive agents. Faseb J 16:2–14
154. Tosetti F, Vene R, Arena G, Morini M, Minghelli S, Noonan DM, Albini A (2003) N-(4-hydroxyphenyl) retinamide inhibits retinoblastoma growth through reactive oxygen species-mediated cell death. Mol Pharmacol 63:565–573
155. Ulanet DB, Hanahan D (2010) Loss of p19 (Arf) facilitates the angiogenic switch and tumor initiation in a multi-stage cancer model via p53-dependent and independent mechanisms. PLoS One 5:e12454
156. van Zandwijk N, Dalesio O, Pastorino U, de Vries N, van Tinteren H (2000) EUROSCAN, a randomized trial of vitamin A and N-acetylcysteine in patients with head and neck cancer or lung cancer. For the European organization for research and treatment of cancer head and neck and lung cancer cooperative groups. J Natl Cancer Inst 92:977–986
157. Vassilev LT (2004) Small-molecule antagonists of p53-MDM2 binding: research tools and potential therapeutics. Cell Cycle 3:419–421
158. Veltman JD, Lambers ME, van Nimwegen M, Hendriks RW, Hoogsteden HC, Hegmans JP, Aerts JG (2010) Zoledronic acid impairs myeloid differentiation to tumour-associated macrophages in mesothelioma. Br J Cancer 103:629–641
159. Vene R, Arena G, Poggi A, D'Arrigo C, Mormino M, Noonan DM, Albini A, Tosetti F (2007) Novel cell death pathways induced by N-(4-hydroxyphenyl) retinamide: therapeutic implications. Mol Cancer Ther 6:286–298
160. Venugopal D, Zahid M, Mailander PC, Meza JL, Rogan EG, Cavalieri EL, Chakravarti D (2008) Reduction of estrogen-induced transformation of mouse mammary epithelial cells by N-acetylcysteine. J Steroid Biochem Mol Biol 109:22–30
161. Vousden KH, Lu X (2002) Live or let die: the cell's response to p53. Nat Rev Cancer 2:594–604
162. Vousden KH, Ryan KM (2009) p53 and metabolism. Nat Rev Cancer 9:691–700
163. Walkley CR, Olsen GH, Dworkin S, Fabb SA, Swann J, McArthur GA, Westmoreland SV, Chambon P, Scadden DT, Purton LE (2007) A microenvironment-induced myeloproliferative syndrome caused by retinoic acid receptor gamma deficiency. Cell 129:1097–1110
164. Walkley CR, Shea JM, Sims NA, Purton LE, Orkin SH (2007) Rb regulates interactions between hematopoietic stem cells and their bone marrow microenvironment. Cell 129:1081–1095
165. Wang L, Zheng GG, Ma CH, Lin YM, Zhang HY, Ma YY, Chong JH, Wu KF (2008) A special linker between macrophage and hematopoietic malignant cells: membrane form of macrophage colony-stimulating factor. Cancer Res 68:5639–5647
166. Welte T, Zhang SS, Wang T, Zhang Z, Hesslein DG, Yin Z, Kano A, Iwamoto Y, Li E, Craft JE, Bothwell AL, Fikrig E, Koni PA, Flavell RA, Fu XY (2003) STAT3 deletion during hematopoiesis causes Crohn's disease-like pathogenesis and lethality: a critical role of STAT3 in innate immunity. Proc Natl Acad Sci USA 100:1879–1884
167. Wilhelm SM, Adnane L, Newell P, Villanueva A, Llovet JM, Lynch M (2008) Preclinical overview of sorafenib, a multikinase inhibitor that targets both Raf and VEGF and PDGF receptor tyrosine kinase signaling. Mol Cancer Ther 7:3129–3140
168. Wisniewski T, Bayne E, Flanagan J, Shao Q, Wnek R, Matheravidathu S, Fischer P, Forrest MJ, Peterson L, Song X, Yang L, Demartino JA, Struthers M (2010) Assessment of chemokine receptor function on monocytes in whole blood: In vitro and ex vivo evaluations of a CCR2 antagonist. J Immunol Methods 352:101–110
169. Wu X, Bayle JH, Olson D, Levine AJ (1993) The p53-mdm-2 autoregulatory feedback loop. Genes Dev 7:1126–1132
170. Xian X, Hakansson J, Stahlberg A, Lindblom P, Betsholtz C, Gerhardt H, Semb H (2006) Pericytes limit tumor cell metastasis. J Clin Invest 116:642–651

171. Xiao ZL, Sun GY, Xia QM, Qian GS (2001) Experimental research on permeability injury of pulmonary microvascular endothelial cells monolayer induced by tumor necrosis factor. Zhongguo Ying Yong Sheng Li Xue Za Zhi 17:79–81
172. Xing F, Saidou J, Watabe K (2010) Cancer associated fibroblasts (CAFs) in tumor microenvironment. Front Biosci 15:166–179
173. Xue W, Zender L, Miething C, Dickins RA, Hernando E, Krizhanovsky V, Cordon-Cardo C, Lowe SW (2007) Senescence and tumour clearance is triggered by p53 restoration in murine liver carcinomas. Nature 445:656–660
174. Yamakuchi M, Lotterman CD, Bao C, Hruban RH, Karim B, Mendell JT, Huso D, Lowenstein CJ P53-induced microRNA-107 inhibits HIF-1 and tumor angiogenesis. Proc Natl Acad Sci U S A 107: 6334-9
175. Yang G, Yu F, Fu H, Lu F, Huang B, Bai L, Zhao Z, Yao L, Lu Z (2007) Identification of the distinct promoters for the two transcripts of apoptosis related protein 3 and their transcriptional regulation by NFAT and NFkappaB. Mol Cell Biochem 302:187–194
176. Yang H, Bushue N, Bu P, Wan YJ (2010) Induction and intracellular localization of Nur77 dictate fenretinide-induced apoptosis of human liver cancer cells. Biochem Pharmacol 79:948–954
177. Yu CL, Meyer DJ, Campbell GS, Larner AC, Carter-Su C, Schwartz J, Jove R (1995) Enhanced DNA-binding activity of a Stat3-related protein in cells transformed by the Src oncoprotein. Science 269:81–83
178. Yu H, Pardoll D, Jove R (2009) STATs in cancer inflammation and immunity: a leading role for STAT3. Nat Rev Cancer 9:798–809
179. Zafarullah M, Li WQ, Sylvester J, Ahmad M (2003) Molecular mechanisms of N-acetylcysteine actions. Cell Mol Life Sci 60:6–20
180. Zhang Q, Zhang ZF, Rao JY, Sato JD, Brown J, Messadi DV, Le AD (2004) Treatment with siRNA and antisense oligonucleotides targeted to HIF-1alpha induced apoptosis in human tongue squamous cell carcinomas. Int J Cancer 111:849–857
181. Zhong Z, Wen Z, Darnell JE Jr (1994) Stat3: a STAT family member activated by tyrosine phosphorylation in response to epidermal growth factor and interleukin-6. Science 264:95–98
182. Zhu X, Fujita M, Snyder LA, Okada H (2011) Systemic delivery of neutralizing antibody targeting CCL2 for glioma therapy. J Neurooncol 104:83–92

DNA Hasarının Önlenmesinde, Telomer Bütünlüğünün Korunmasında ve Kanser Büyümesinin Kontrolünde Nutriomlar ve Bireyselleştirilmiş Beslenme

Michael F. Fenech

Özet

Baz sekans ve kromozom düzeyindeki DNA hasarı gelişimsel ve dejeneratif hastalıkların temel nedenlerinden biridir. Multipl mikrobesinler ve bunların genetik ve/veya edinsel genom ile etkileşimleri DNA hasarının ve genomik instabilite oranlarını belirler. Aşılması gereken ana zorluk her birey için genom stabilitesini optimize edebilecek (telomer bütünlüğü ve fonksiyonelliği ile DNA tamiri dahil) mikrobesin kombinasyonlarının ve dozlarının (örn. nutriom) belirlenmesidir. Nutrient (besin öğesi) dizilim sistemleri ile birlikte DNA hasarı, hücre ölümü ve hücre büyümesinin geniş içerikli analizlerinin kullanımı, DNA hasar kontrolü ve kanser büyüme kontrolü için gereken optimal nutriomun bireysel bazda tespit edilmesine olanak tanır. Bu bilgi terapötiklerde kullanılan hücrelerin kültür sistemlerin geliştirilmesi için de kullanılabilir. Kök hücrelerinin vücuda uygulanmadan önce genetik olarak anormal olmadıklarının tespiti bu kullanıma bir örnektir. Bu bilgiler ayrıca mikrobesin eksikliğine veya fazlalığına bağlı DNA hasarının engellenebilmesi için gereken mikrobesin kombinasyon ve konsantrasyonlarına sahip diyet paternlerinin dizayn edilmesi için de kullanılabilir. Bu yaklaşım ile spesifik kanser türlerinin kontrol edilebilmesi için gereken diyet kısıtlamaları ve/veya takviyeleri hakkında yeni bilgiler elde edilebilir. Bu yaklaşım kanser teşhisi alan bireyler için güvenilir ve valide önerilerin henüz mevcut olmadığı göz önüne alındığında özel olarak önemlidir.

M. F. Fenech (✉)
CSIRO Food and Nutritional Sciences, 10041 Adelaide BC, SA 5000, Australia
e-mail: michael.fenech@csiro.au

V. Zappia et al. (eds.), *Advances in Nutrition and Cancer,*
Cancer Treatment and Research 159, DOI: 10.1007/978-3-642-38007-5_24,
© Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2014

Anahtar Kelimeler

Nutriomlar • DNA hasarı • Telomer • Genom stabilitesi • Bireyselleştirilmiş beslenme

Kısaltmalar

MRI	Manyetik rezonans görüntleme
TRF1; TRF2	Telomerik-tekrar bağlayıcı faktörler 1 ve 2
MTHFR	Metilentetrahidrofolat redüktaz
ADH1	Alkol dehidrogenaz
ALDH2	Aldehit dehidrogenaz
CBMN Cyt	Sitokinez-bloke mikronükleus sitom
MTAP	Metiltioadenozin fosforilaz

İçindekiler

1 Arkaplan ve Güncel Durum 428
2 İn Vivo Ortamda Nutriomlar, DNA Hasarı ve Telomer Koruma 429
3 Nütrisyonel İhtiyaçlar ve Doku Kültür Sistemlerindeki Bilgi Eksiklikleri 432
4 Nutriomların Nutrient Dizilerinde Test Edilmesi 434
5 Kanser Büyümesinin Kontrolü İçin Nutrient Kısıtlaması 436
6 Sonuçlar 438
Referanslar 438

1 Arka Plan ve Güncel Durum

Baz sekans ve kromozom düzeyindeki DNA hasarı gelişimsel ve dejeneratif hastalıkların temel nedenlerinden biridir (yaşlanma hızlanması dahil) ve bu hastalıkların prospektif olarak tahmin edilebilmesini sağlar [1-3]. Genom bütünlüğünde rol oynayan yüzlerce gen mevcuttur. Bireyler arasında enzim aktivitelerinin farklı olmasına yol açan polimorfizmlerde büyük kişisel farklılıklar mevcuttur [4-8]. DNA replikasyonu, DNA tamiri ve potansiyel genotoksinlerin detoksifikasyonunda rol oynayan genler için gerekli olan proteinlerin optimal fonksiyon gösterebilmeleri diyetle alınan önemli kofaktörlere bağlıdır [9-24]. Bireyler arasındaki diyet profilleri edinilmiş veya ailesel diyet tercihlerine ve gıdaların mevcudiyet durumuna göre değişmektedir; ayrıca mikrobesinlerin sindirim sisteminde reabsorbe olmaları ve hücrelere taşınmaları genetik özelliklere ve taşıyıcı ekspresyonunda yaşa bağlı olarak ortaya çıkan değişimlere bağlıdır [25-27]. İn vivo ortamda genomun korunması için gereken nütrisyonel faktörler büyük farklılıklar gösterir. Aynı durum, in vitro ortamda kullanılan farklı kültür ortamları içinde geçerlidir [28-29]. Genom bütünlüğünün in vitro ortamda korunması özellikle uzun süreli hücre

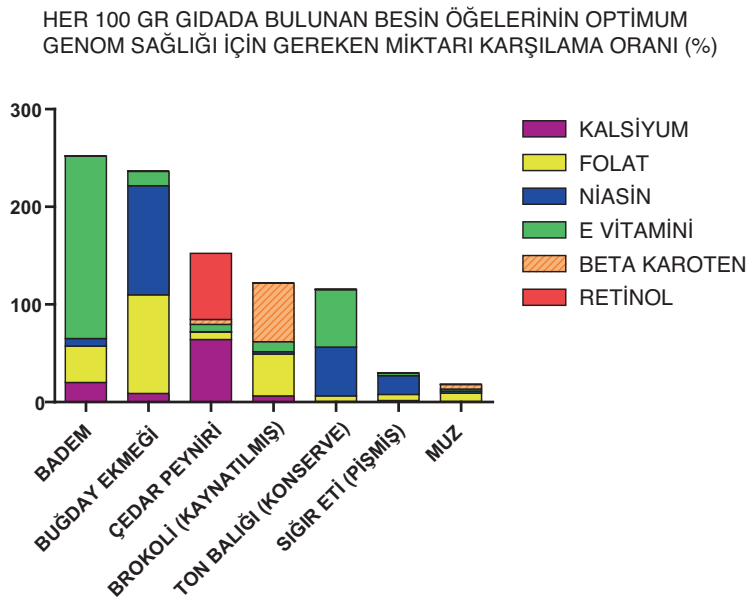
kültürleri (örn. kök hücreler) için kritik öneme sahiptir. Bireyden alınan bu hücreler kültür ortamında çoğaltıldıktan sonra medikal tedavi amaçlı olarak orijinal donöre veya diğer hastalara uygulanır. İn vitro ortamda oluşabilecek DNA hasarı kök hücrelerinde onkojenik olayların gelişimine neden olabilir [30, 31]. Günümüzdeki diyet referans değerleri (örn. tavsiye edilen günlük tüketim miktarları, üst güvenlik sınırları) ve kültür ortamlarının içerikleri ve özellikleri, genom bütünlüğü üzerindeki etkileri dikkate almamaktadır. DNA sekans ve/veya epigenom hasarı hala hücrelerin ve organizmaların sağlıkları ve hastalıkları ile ilişkili en temel ve kritik patolojilerdir.

2 İn Vivo Ortamda Nutriomlar, DNA Hasarı ve Telomer Koruma

Gıdaların tüketim sıklığını sorgulayan anketleri ve DNA hasarının [1] en iyi valide edilmiş biyomarkerlerinden biri olan sitokinez-bloke mikronükleus analizini kullanarak kromozom kırılması veya kaybı ile ilişkili dokuz mikrobesini belirlemeyi başardık. Diyetle alınan E vitamini, folat, retinol ve nikotinik asit tüketimlerinin artması DNA hasarında azalma ile ilişkili bulunurken, riboflavin, pantotenik asit ve biyotin tüketimlerinin artması daha yüksek DNA hasarına neden olmuştur. Beta-karotenin orta derece kullanımının faydalı ancak aşırı tüketimin zararlı olabileceğini gösteren U şekilli bir ilişki tespit edilmiştir [32]. Ayrıca bu faktörlerin kendi aralarında da interaktif etkileşimler olduğu tespit edilmiştir.

Bu çalışmaların sonuçları kullanılarak, DNA hasarının önlenmesine yönelik olarak E vitamini, kalsiyum, folat, retinol, beta karoten ve nikotinik asitten oluşan gıdaların nutriom içeriklerinin şekil 1'de gösterildiği üzere sınıflandırılması mümkündür. Bu sınıflandırmadan sığır eti ve muzun, genom koruyucu nutriom içeriği yönünden badem, buğday kepeği, peynir, brokoli ve ton balığına göre daha fakir olduğu anlaşılmaktadır. Nutriomların bu yaklaşımla incelenmesi, genom düzeyindeki başlıca patolojilere karşı en iyi koruma sağlayan gıdaların ve diyet paternlerinin belirlenmesinde daha etkili bir yöntem olabilir. En önemli komponentlerin analiz edildiği güncel bir çalışmada, plazma nutriomlarının kognitif fonksiyonlarda ve beyin MRI bulgularında düzelmelere yol açtığı ilk kez bildirilmiştir [33]. Benzer yaklaşımlar DNA hasarı ve kanserden korunma ile ilişkili besin öğelerinin biyomarker paternlerinin tanımlanmasında da kullanılabilir.

Bu yolla elde edilecek daha detaylı bilgiler optimal sağlık için uyulması gereken diyet tavsiyelerinin mükemmelleştirilmesine yardımcı olabilir. Örneğin en güncel WHO/FAO raporunda kalp hastalığı, kanser, diyabet ve obeziteden korunmak ve özellikle az gelişmiş ülkelerdeki mikrobesin eksikliklerini engellemek ve mevcut eksiklikleri düzeltebilmek amacıyla günde en az 400 gr. sebze ve meyve tüketimi önerilmektedir [34]. Tablo 1'deki genom bütünlüğü ve normal fetal gelişim için başlıca mikrobesinlerden biri olan folat örneğine bakıldığında bu önerinin yanlış yönlendirici olma ihtimali ortaya çıkmaktadır [35, 36]. Başlıca dört sebze tipi mevcuttur. Meyveler bu sebze tiplerinden



Şekil 1 Sık kullanılan bazı gıdalardaki DNA hasarında azalma ile ilişkili mikrobesinler. Farklı besinleri gösteren sütunların içindeki mikrobesinlerin günlük tavsiye edilen minimum alım miktarını karşılama yüzdeleri Fenech ve ark. tarafından yapılan çalışmada lenfositlerde azalan mikronükleus sıklık indeksi kullanılarak tespit edilmiştir [32]. Her mikrobesinin (mevcut ise) rölatif katkısı farklı renklerdeki sütunların yüksekliği ile gösterilmektedir. Besin öğesi içerikleri USDA Nutrient Veri Tabanı (http://www.nal.usda.gov/fnic/foodcomp/search/) ile McCance ve Widdowson Kompozisyonu (6. Özet Baskı) gibi gıda içerik tabloları kullanılarak belirlenmiştir.

bir tanesidir. Seçilen veya tercih edilen sebzeler içerdikleri folat miktarı veya günlük tüketim ihtiyacını karşılama oranları büyük farklılıklar göstermektedir. Yüksek folat içerikli sebzelerin (örn. baklagiller ve/veya yeşil yapraklı veya turpgiller ailesine ait sebzeler) günde 400 gr tüketilmeleri (günlük 400 µg'lık folat ihtiyacının karşılanabilmesi için) yeterlidir. Ancak kök veya yumru sebzelerin veya "meyve sebzelerin" tercih edilmesi durumunda tüketilmesi gereken miktar pratikte imkansız ve çok pahalı olan 2.5 kg'a yükselmektedir. Ayrıca meyvelerin içindeki folat miktarı kök ve yumru sebzelerin yarısından daha azdır. Tek başına bu örnek bile güncel tavsiyelerin, folat gibi önemli mikrobesinlerin alımının etkili bir şekilde maksimize edilmesinde yetersiz kaldığını göstermektedir. Acil olarak baklagiller ve taneli tahıllar gibi nutrient yönünden zengin olan gıdalara ve genom bütünlüğünün korunmasında etkili kombinasyonlara odaklanan daha kesin tavsiyelere ihtiyaç vardır.

Telomer, genomik ile uğraşan bilim adamlarının giderek daha fazla ilgisini çeken genom bölgesidir. Kromozomların uçlarında bulunan başlıklar olan telomerler TTAGGG tandem tekrar sekanslarıdır. İlişkili oldukları shelterin proteinleri (örn. TRF1 ve TRF2) ile birlikte disentrik kromozomların, anafaz köprülerinin, kromozom

kırığı döngülerinin ve başlıksız kromozomların ortaya çıkmasına bağlı olarak daha ileri füzyonların oluşumuna yol açan kromozom uçlarının füzyonunu engellerler. Bu kırılma-füzyon-köprü döngüsü aşırı telomer kısalması ve/veya telomer/telozom kompleksinin disfonksiyonundan kaynaklanır [37, 38]. Nütrisyon şu nedenlerle muhtemel koruyucu rol oynayabilir: (1) Telomer sekansındaki guaninin oksidasyonu telomer stabilitesi ve fonksiyonu için gereken TRF1 ve TRF2 bağlanmasını engelleyebilir. Guanin oksidasyonu diyetle uygun antioksidan alımı ile engellenebilir; (2) Telomer sekansında urasil akümülasyonuna engel olmak için folat gereklidir. Urasil birikimi telomer ve subtelomerde kırıklara neden olarak telomer silinmeleri ve kaybına yol açarken, subtelomer hipometilasyonu ise telomer uzunluk kontrolünün kaybına ve disfonksiyonuna yol açar; (3) Niasin, tankiraz aktivitesi için NAD sağlanmasında gereklidir. Bu aktivite telomerazın, telomeri korunma işlevini yerine getirebilmesi için gereklidir [39, 40].

İn vivo çalışmalarda folat, D vitamini, omega 3 yağ asitleri, multivitamin kullanımı, kalori kısıtlaması ile kilo kaybı ve tahıl lifinin daha uzun telomerler ile ilişkili olduğu bulunmuştur. Oksidatif stres, yüksek plazma homosisteini, işlenmiş et, lineolik asit, psikolojik stres ve obezite ise daha kısa telomerlerle ilişkilidir [41, 47]. Bu sonuçların büyük bölümü tekil çalışmalardan elde edildiği için anlamlılık dereceleri netleşmemiştir. Telomer kısalmasının sağlıksız yaşlanma ile ilişkisi aşırı uzun ve aşırı kısa telomerlerin kanser riski ile ilişkili olduğu göz önüne alınarak araştırılmıştır [48].

Tablo 1 Sebzelerin folat içerikleri (Her 100gr'da µg olarak diyet folat eşdeğeri)[a]

Yüksek folat içeren sebzeler		Düşük folat içeren sebzeler	
Baklagiller	Yeşil yapraklı sebzeler veya turpgiller	Kökler veya yumrular	"Meyve" sebzeler
Kırmızı barbunya (130)	Brokoli (93)	Soğan (16)	Domates (15)
Maş fasulyesi (60)	Brüksel lahanası (60)	Patates (22)	Bal kabağı (9)
Bezelye (171)	Lahana (43)	Turp (9)	Salatalık (6)
Mercimek (180)	Hindiba (142)	Yabani havuç (57)	Kırmızı biber (11)
Nohut (59)	Ispanak (146)	Şalgam (21)	Patlıcan (14)
Kuru fasulye (50)	Marul (73)	Havuç (14)	Zeytin (0)
Ortalama (108)	Ortalama (93)	Ortalama (23)	Ortalama (10)
	Ortalama (100)		Ortalama (16)

[a]Veriler USDA Nutrient Veri Tabanı (http://www.nal.usda.gov/fnic/foodcomp/search/) Diyet folat eşdeğeri değerleri parantez içinde gösterilmiştir.

3 Nütrisyonel İhtiyaçlar ve Doku Kültür Sistemlerindeki Bilgi Eksiklikleri

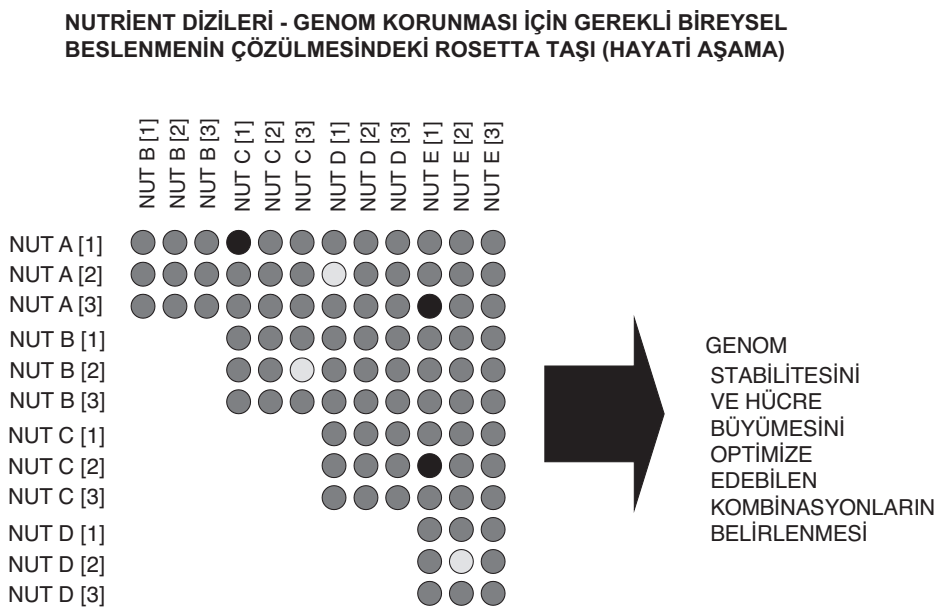
Doku kültüründeki önemli problemlerden bir tanesi hem kültür ortamı hem de oksijen basıncının fizyolojik koşullardan uzak olmasıdır. Her iki faktör de hücre büyümesinde ve kromozomal instabilite düzeylerinde önemli etkilere sahiptir. Örneğin farklı kültür ortamları mineral ve vitamin içerikleri yönünden büyük farklara sahip olup insan serumuna kıyasla da sıklıkla suprafizyolojik ya da normalden düşük konsantrasyonlarda bulunmaktadırlar. RPMI 1640 kültür ortamı insan hücrelerinin kültüründe en sık kullanılan ortamlardandır. Kültürdeki folat, metionin ve riboflavin konsantrasyonları insan serumuna göre suprafizyolojik düzeylerde iken, demir, bakır, çinko, magnezyum ve sülfür oranları ise normalden düşüktür (Tablo 2). Kültür ortamındaki bazı eksiklikler sadece %5-10 oranında eklenen fetal sığır serumu ile kısmen giderilebilir. Ancak kültürde eksik olan ya da hiç olmayan mikrobesinler hala istenilen düzeye gelmeyebilir. Günümüzde kullanılan kültür ortamlarının insan serumuna kıyasla fizyolojik olmadıkları açıktır Bu nedenle in vitro çalışmalardan elde edilen veriler in vivo tahminler yapmak için kullanılacağında dikkatli olunmalıdır. Bu tür tahminler yapmak sadece insan serumuna ve diğer vücut sıvıların (örn. serebrospinal sıvı, interstisyel sıvı) eşdeğer kompozisyona ve oksijen basıncına sahip fizyolojik kültür ortamları geliştirildiğinde makul hale gelecektir. Fizyolojik oksijen basıncı hücre kültür inkübatörlerinde kullanılan atmosferik oksijene göre 2-4 kat daha azdır. Fizyolojik oksijen şartlarında büyüyen hücrelerin daha az oksidatif strese maruz kaldıkları ve atmosferik oksijen inkübatörlerindeki hücrelere göre paradoksik olarak daha yavaş büyüdükleri gösterilmiştir [49, 50]. Daha hızlı büyüme daha iyi genom stabilitesine yol açmayabilir. Çünkü hızlı büyüme, hücre döngüsü kontrol noktalarının izin vermesi ile hücre döngü zamanında kısalmalara ve/veya DNA hasarı olan hücrelerin apoptozunda azalmalara yol açar. Biz ve diğer yazarlar kültür hücrelerindeki DNA hasarının, hücre ölümünün ve büyümesinin önemli mikrobesinlerin konsantrasyonlarından ciddi oranda etkilendiğini göstermiştir. Fizyolojik sınırlara göre hem daha fazla hem de daha az konsantrasyon genoma zarar vererek hücre büyümesi ve sağkalım kinetiklerini değiştirebilmektedir [23, 28, 29, 51–54]. Kültür ortamlarındaki metil donörlerinin (örn. folat, metionin, kolin, b12 vitamini) aşırı yüksek konsantrasyonları teorik olarak advers DNA metilasyon paternine yol açarak, önemli idareci genlerin sessizleşmesine neden olabilir. Ancak bu teoriyi desteklemesi beklenen güçlü kanıtlar henüz mevcut değildir [55]. Genomun korunması ve tamiri için gereken geniş mikrobesin spektrumu göz önüne alındığında, fizyolojik kültür ortamı kompozisyonunun geliştirilmesi, genomik olarak stabil durumda olan insan hücrelerinin büyüyebilmesi için optimal kültür şartlarının sağlanması ve farklı mikrobesin kombinasyonlarının (örn. nutriomlar) ve farklı genetik altyapılardaki dozajların etkilerinin incelenebilmesi için şarttır. Bu gelişmeler in vitro verilerin bireysel bazda in vivo etkilerin tahmin edilmesinde kullanılacağı durumlar için de kritiktir. Bu bağlamda, in vitro ortamda ulaşılabilen

Tablo 2 İnsan serum örneği ile normal komple RPMI 1640 kültür ortamındaki bazı mikrobesinlerin konsantrasyonlarının karşılaştırması (daha önce yayınlanmamış veriler)

Mikrobesinler	Konsantrasyon	İnsan serumu	RPMI 1640 kültür ortamı
Folat	μmol/L	0.028	2.3
Metionin	μmol/L	30	100
Riboflavin	μmol/L	0.05	0.53
Demir	mg/L	0.84	0.19
Bakır	mg/L	1.4	<0.1
Çinko	mg/L	0.94	0.17
Kalsiyum	mg/L	98	26
Magnezyum	mg/L	20	11
Sodyum	mg/L	3,400	3,200
Potasyum	mg/L	154	200
Fosfor	mg/L	121	174
Sülfür	mg/L	1,110	64

mikrobesin konsantrasyonlarına in vivo ortamda dokulardaki yeniden dağılım nedeniyle ulaşılamayacağı dikkate alınmalıdır. Ayrıca vücut sıvıları dikkate alındığında kan plazmasındaki mikrobesin konsantrasyonları hakkında oldukça iyi bilgilere sahibiz. Ancak organların çevreleyen interstisyel sıvı (örn. serebrospinal sıvı) ve dokulardaki konsantrasyonlarla ilgili bilgilerimiz oldukça yetersizdir. Hem fizyolojik hem de suprafizyolojik olarak en uygun sınırları göz önünde bulundurmalıyız. Ancak sadece in vivo ortamda ulaşılabilen "fizyolojik doz aralıklarını" in vitro modellerin in vivo tahmininde kullanabiliriz.

In vitro ve in vivo hücre sağlığı ile ilgili genom ve epigenom hasar parametrelerinin mikrobesin konsantrasyonlarındaki değişimlere "normal" fizyolojik sınırlarda bile son derece duyarlı oldukları giderek daha fazla kabul görmektedir [23, 28, 29, 52, 55, 56]. Bu nedenle diyet referans değerlerinin DNA hasarını minimize edebilecek doku konsantrasyonlarına ulaşılmasını sağlayacak şekilde yeniden gözden geçirilmesi pratik, makul ve arzu edilen bir durumdur. DNA hasarının validasyon statüsü ile ilgili detaylı bir inceleme, malnütrisyonun genomik etkilerini ölçen biyomarkerler ve optimal gen koruması için gereken nutrient ve nutriom gerekliliklerinin belirlenmesinde kullanılabilecek bir yol haritası için Fenech çalışmasına başvurabilirsiniz [1, 18].



Şekil 2 Basit nutrient dizilerinin mikrokültür sistemi için teorik bir örnek NUT = tek nutrient veya multipl nutrient kombinasyonu; A-E = farklı nutrient veya nutrient kombinasyonları; 1-3= artan doz düzeyleri. Farklı gri tonları, kullanılan kombinasyona bağlı olarak ortaya çıkabilen hücre büyümesi, canlılığı ve genom stabilitesindeki potansiyel varyasyonların göstergesidir. Buradaki en önemli zorluk her birey için en iyi kombinasyonun tanımlanmasıdır.

4 Nutriomların Nutrient Dizilerinde Test Edilmesi

Nütrisyonel genomik ile ilgili en büyük zorluk indirgeyici tek-nutrient-tek-gen etkileşimi yaklaşımından komple nutrient kombinasyonunun (örn. nutriom) bireysel bazda bir bireyin tüm genomu ile etkileşiminin incelenmesidir. Nihai hedef her bireyin genomuna en uygun nutriomu bulmaktır. Böylece hücresel fonksiyon, genom ve epigenomun optimal bir biçimde sürdürülebilmesi sağlanabilecektir. Bu bulmacayı çözebilmek için gereken "Rosetta Taşı" (mekanizma veya kod) mikrokültür sistemleri içinde nutrient dizileri geliştirmektir. Böylece multipl nutriomlar eş zamanlı olarak test edilirken, farklı dozajların etkileri de değerlendirilmiş olur (Şekil 2). Hücre üreten mikrokuyucuk uygun ve tutarlı bir şekilde prolifere olurken genom ve epigenom stabilitesinin korunması ile bireyin hücrelerine en uygun nutriomun tespit edilmesi mümkün olacaktır. Geniş içerikli otomatikleştirilmiş DNA hasar analizlerinin geliştirilebilmesi kantitatif görüntü sitometrisi kullanımı ile uygulanabilir hale gelmiştir [57-60]. Bu yöntem interfaz hücrelerin sayıları ve nükleer DNA içeriklerini de kapsayan multipl ölçütler içerebilir. Genom

stabilitesi ile ilgili telomer uzunluğu ve FISH ile aneuploidi ölçümü gibi multipl ölçütler, immunohistokimyasal yöntemlerle oksidize guanin ve DNA metilasyonu tespiti, sitokinez bloke çift çekirdekli hücrelerde mikronükleus sitom testleri ile kromozom hasarı ve telomer uç füzyonları gibi ölçütler ve daha birçok ölçüt örnek olarak verilebilir.

Bu tür bir sistemde basit bir tarama ile multipl mikrobesinlerin eksikliği veya güvenli üst sınır aralıkları bireysel bazda tespit edilebilir. Ayrıca normalde tahmin edilemeyecek şekilde sitotoksik veya genotoksik olabilen beklenmedik kombinasyonlar da tespit edilebilir. Bu tür bir ihtimalin akla yakın olabileceği genom instabilitesinin, düşük folat konsantrasyonlarında (20 nM) ve riboflavin konsantrasyonları doygun hale geldiğinde arttığını gösteren gözlemlerimizle desteklenmiştir [20]. Bu bulgu muhtemelen MTHFR'nin FAD kofaktörünün prekürsörü olan riboflavinin, 5,10-metilentetrahidrofolatın 5-metiltetrahidrofolata irreversibl dönüşümünü katalizleyen MTHFR aktivitesini artırmasıyla, dUMP'den dTMP sentezi için gereken öncel folat türlerinin miktarını azaltıp DNA'daki urasili artırmasından kaynaklanıyor olabilir. DNA'da aşırı urasil bulunması abazik bölgelerin oluşmasına ve urasil glikozilazlar bu yüksek oranda mutajenik lezyonu tamir etmeye çalışırken DNA zincir kırıklarına yol açar [1, 18, 55]. Bu nedenle farklı dozajlardaki multipl mikrobesin kombinasyonlarını etkili bir biçimde incelemeye olanak tanıyacak nutrient dizi sistemlerinin geliştirilmesi önemlidir. Bu tür bir yaklaşım bireylerin genetik geçmişlerini bilmeye gerek kalmadan genom sağlığının koruması için gereken bireysel nutriomların tanımlanmasına olanak sağladığı için avantajlıdır. Ayrıca bu tür sistemler farklı genotiplerin benzer nutriom şartlarındaki cevaplarını karşılaştırmak ve ölçülen biyomarkerların değişim yüzdelerini karşılaştırmak için de kullanılabilir. Bu değişimler test edilen nutriomlardaki farklı genotipler ve farklı nutrientler ile aralarındaki etkileşimlerden kaynaklanmaktadır.

DNA hasarı, hücre ölümü ve hücre büyümesi ile ilişkili aşağıdaki interaktif etkileri araştırmayı amaçlayan bu yaklaşımın kullanıldığı prototipler bizim grubumuz ve farklı araştırmacılar tarafından geliştirilmiştir:

1. Sabit fizyolojik metionin konsantrasyonlarında farklı sülfür- ve seleno-metionin oranları [54].
2. Alkolde folat konsantrasyonları [61].
3. Alkol/asetaldehit konsantrasyonları ve ADH1 veya ADLH2 genotipi [62, 63].
4. BRCA1 veya BRCA2 genotipinde folat konsantrasyonları [64, 65].
5. MRHFR C677T genotipinde riboflavin konsantrasyonu ile folat konsantrasyonu [29].

Bu çalışmalarda CBMN Cyt testi kromozomal instabilite, hücre ölümü ve hücre bölünmesi ile ilişkili multipl ölçümlerin yapılması için kullanılmıştır [66, 67]. Bu yaklaşımın sonuçları oldukça ümit vericidir. Çünkü sadece spesifik bir mikrobesin, genotip ve bu parametreler arasındaki etkileşimler ile ilişkili genotoksisite, sitotoksisite, metabolit ve hücre büyüme markerlerindaki yüzdesel varyasyonların tanımlanmasında değil, genetik olarak tanımlanmış hücre tiplerindeki nutrient/DNA hasarı doz-cevap eğrisinin şeklinin belirlenmesinde de kullanılabilir. CBMN Cyt testinin kullanılması bu amaç için özellikle uygundur. Çünkü bir nutriomdaki multipl kombinasyonlardaki mikrobesinler

ve konsantrasyonları arttığında veya azaldığında rölatif DNA hasarı, hücre ölüm olayları ve sitostaz insidansları da değişmektedir. Tek bir metabolik yolakla ilgili nutriomlar ikiden fazla mikrobesin içerebilir. Örneğin folat-metionin döngüsü substrat olarak farklı folat formlarına ve kofaktörler olarak da betain, B12 vitamini, B6 vitamini ve B2 vitaminine ihtiyaç göstermektedir. Bu nedenle nutrient dizilerinin multipl mikrobesinlerin kombinasyonlarını eş zamanlı ve dozla ilişkili şekilde inceleyecek biçimde dizayn edilmeleri de gerekir. Bu dizayn bir mikrobesinin farklı veya çelişkili doz düzeylerinin diğer mikrobesinlerle karşılaştırılmasını da içermelidir.

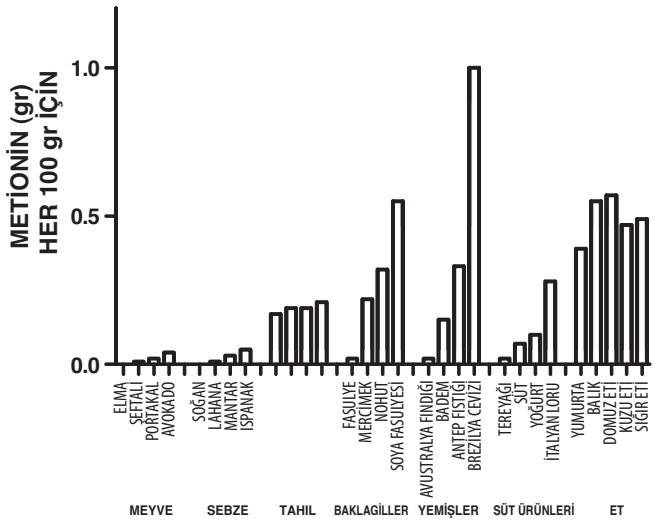
İn vitro nutrient dizi sistemi çeşitli spesifik ve önemli metabolik yolaklar ile ilgili geliştirilmekte olan nutrigenomik matematiksel modellerin [68, 69] doğruluklarının test edilmesinde de ideal bir mekanizma olabilir. Çünkü bu sistemin in vivo insan modellerine kıyasla, diyet girişimlerine uyum, beklenmeyen hayat tarzları, stres ve uyuşturucu kullanımı gibi sorunlardan ve genom hasarı ölçümlerini etkileyebilen çevresel genotoksik etkenlerden daha az etkilenmesi olasıdır. Ayrıca multipl mikrobesinlerin in vivo ortamda test edilmesi oldukça pahalıdır.

5 Kanser Büyümesinin Kontrolü İçin Nutrient Kısıtlaması

Yaşlanmakta olan popülasyonlardaki en önemli problemlerden birisi yaşla artan kanserlerin proliferasyonlarının engellenmesi gereksinimidir. Günümüzde kanser teşhisi alan bireylerde kullanılabilecek valide diyet önerileri mevcut değildir. Çünkü kanserde nutrient-gen ilişkisi ile ilgili bilgilerimiz çok sınırlıdır. Ayrıca genom koruması ve hücre büyümesi (örn. folat, metionin) için takviye amaçlı kullanılan bazı nutrientlerin kanser büyümesini stimüle edebilecekleri yönünde endişeler de mevcuttur. Her kanser türünün büyümesini engelleyebilecek nutriomların tanımlanması mümkün müdür?

Nutriomlar ve nutrient dizi sistemleri ideal olarak, sadece bir bireydeki normal hücrelerde büyüme ve genom koruması için gerekli nütrisyonel gereksinimleri incelemekle kalmamalıdır. Aynı zamanda bu tür bir nutriomun bireyde mevcut olma ihtimali olan kanser hücrelerinin büyümesini stimüle etmediği de doğrulanmalıdır. Kanser hücrelerinin genotiplerinin konağın diğer normal hücrelerine göre farklılıklar göstermesi olasıdır. Bu nedenle aynı nutriomlara farklı cevaplar verebilirler. Örneğin bazı kanser hücreleri folik asit reseptörlerine yüksek afinitelerini artırarak [68] normal hücrelere göre potansiyel olarak avantajlı hale gelirler. Ortamdaki folat miktarı kısıtlandığında çevre sıvılardaki folatı kullanabilirler. Yaşlanmakta olan veya kansere duyarlı bireylerdeki ideal nutriom, normal hücrelerin yenilenmelerinin korunmasını genetik bütünlük içinde sağlarken, kanser hücrelerinin büyümelerini de inhibe etmelidir. Bir bireyde bulunan hem normal hem de kanser hücrelerinin eş zamanlı olarak aynı tek-nutrient dizi sisteminde test edilmesi mantıklı bir yaklaşımdır.

Kanser büyümesinin engellenmesi için nutrigenetik diyet kısıtlaması uygun olabilir. Önerdiğim strateji aşağıdaki basamakları içermektedir:



Şekil 3 Tipik meyveler, sebzeler, tahıllar, baklagiller, sert kabuklu yemişler, süt ve etin her 100 gramında bulunan metionin içeriği: Metionin içerikleri USDA Nutrient Veri Tabanı (http://www.nal.usda.gov/fnic/foodcomp/search/) ile McCance ve Widdowson Kompozisyonu (6. Özet Baskı) gibi gıda içerik tabloları kullanılarak belirlenmiştir.

1. DNA tamir ve büyümesi için gereken mikrobesinlerle spesifik ve güçlü olarak bağlantılı olan kansere yol açan genetik defektin tanımlanması.
2. Nutriom-nutrient dizi sistemi kullanarak mikrobesin kısıtlamasına karşı oluşan duyarlılığın test edilmesi.
3. (1) Genotoksik ilaçlarla yapılan tedavinin tedavi edebilme oranını artırabilmek için bireysel diyet kısıtlamalarının dizaynı, veya (2) Tedavi sonrası kalan kanser kalıntılarındaki hücre büyümesini inhibe edebilecek veya hücre ölümünü indükleyebilecek bireysel diyet kısıtlamalarının dizayn edilmesi.

Sağlıklı hayat süresini uzatabilmek ve kanserlerin büyümelerini kontrol edebilmek amacıyla uygulanan metionin kısıtlaması son zamanlarda önemli derecede ilgi çeken bir konudur (Güncel incelemesi Cavuoto ve Fenech tarafından yapılmıştır [70]). Bu ihtimalin nedeni birçok kanserin metionine bağımlı fenotipe sahip olmasıdır. Kanserlerin metionin metabolizma genlerindeki yan yolaklardaki veya yeni oluşan yolaklardaki mutasyonlardan kaynaklandığı düşünülmektedir. Bu mutasyonların en sık görülen ve en iyi tanımlanmış örneği yan yolaktaki MTAP geninin silinmesidir. Bu mutasyon sıklıkla, kanserlerin tipine bağlı olarak %8-60'ında görülen CDKN2A (p16INK4) silinmesi ile birlikte görülür. Bu iki önemli genetik olayın birlikte görülmesi iki genin 9. kromozomun p koluna çok yakın konumda olmalarından kaynaklanmaktadır. Yüksek metionin düzeyleri hücre büyümesini artırma eğilimi gösterir. Çünkü poliamin sentezi için metionin gereklidir. Kanser hücrelerindeki MTAP silindiği zaman, metionini rejenere edemez hale geldikleri, için tamamen diyetle metionin tedarikine bağımlı hale gelirler. Kanserin

metionine bağımlı olduğu bilgisi, (yukarıda tanımlanan kritik mutasyona sahip olduğu durumlarda) kanserin kontrolü amacıyla diyet metionin kısıtlamasının önerilebileceği düşüncesini doğurmaktadır. Bu yaklaşımın fizibilitesi şu anda laboratuarımızda test edilmektedir. Metionin kısıtlamasının bireysel kanser büyüme kontrolünde (özellikle MTAP silinmesi olan bireylerde) rol oynama ihtimali diyet metionin kaynaklarına daha fazla konsantre olunması gereksinimini doğurmaktadır.

Şekil 3 incelendiğinde en zengin metionin kaynaklarının et, yumurta, bazı süt ürünleri (örn. peynir), bazı sert kabuklu yemişler (örn. Brezilya cevizi) ve bazı baklagiller (örn. soya fasulyesi) olduğu görülmektedir. En fakir kaynaklar ise meyve ve sebzelerdir. Dikkatli olarak düzenlenen meyve ve sebze yönünden zengin vegan diyetlerinin metionin alımını en çok kısıtlayan diyet olacağı açıktır.

6 Sonuçlar

Sonuç olarak nutriomların incelenmesi ve multipl nutrient dozlarına ve kombinasyonlarına verilen genomik cevapların araştırılması makul bir yaklaşım olup aynı zamanda takviye ve kısıtlamaları da içeren tüm nütrisyonel gereksinimlerin eksiksiz olarak tanımlanmasında çok ümit vadeden bir yöntemdir. Bu şekilde normal şekilde farklılaşan propenitor hücrelerin ve kök hücrelerinin büyüme veya çoğalmalarının genetik olarak stabil bir şekilde korunması ve kanser hücrelerinin büyümelerinin baskılanarak yok edilmeleri mümkün olabilecektir.

Referanslar

1. Fenech MF (2010) Dietary reference values of individual micronutrients and nutriomes for genome damage prevention: current status and a road map to the future. Am J Clin Nutr 91(5):1438S–1454S
2. Hoeijmakers JH (2009) DNA damage, aging, and cancer. N Engl J Med 361:1475–1485
3. Larsson NG (2010) Somatic mitochondrial DNA mutations in mammalian aging. Annu Rev Biochem 79:683–706
4. Behrens MI, Lendon C, Roe CM (2009) A common biological mechanism in cancer and Alzheimer's disease? Curr Alzheimer Res 6:196–204
5. Coppede F, Migliore L (2009) DNA damage and repair in Alzheimer's disease. Curr Alzheimer Res 6:36–47
6. Iarmarcovai G, Bonassi S, Botta A, Baan RA, Orsiere T (2008) Genetic polymorphisms and micronucleus formation: a review of the literature. Mutat Res 658:215–233
7. Jiang J, Zhang X, Yang H, Wang W (2009) Polymorphisms of DNA repair genes: ADPRT, XRCC1, and XPD and cancer risk in genetic epidemiology. Methods Mol Biol 471:305–333
8. Mocellin S, Verdi D, Nitti D (2009) DNA repair gene polymorphisms and risk of cutaneous melanoma: a systematic review and meta-analysis. Carcinogenesis 30:1735–1743
9. Ames BN (2003) The metabolic tune-up: metabolic harmony and disease prevention. J Nutr 133:1544S–1548S
10. Ames BN, Wakimoto P (2002) Are vitamin and mineral deficiencies a major cancer risk? Nat Rev Cancer 2:694–704

11. Claycombe KJ, Meydani SN (2001) Vitamin E and genome stability. Mutat Res 475:37–44
12. Dreosti IE (2001) Zinc and the gene. Mutat Res 475:161–167
13. Fenech M (2001) Recommended dietary allowances (RDAs) for genomic stability. Mutat Res 480–481:51–54
14. Fenech M (2001) The role of folic acid and Vitamin B12 in genomic stability of human cells. Mutat Res 475:57–67
15. Fenech M (2003) Nutritional treatment of genome instability: a paradigm shift in disease prevention and in the setting of recommended dietary allowances. Nutr Res Rev 16:109–122
16. Fenech M (2008) Genome health nutrigenomics and nutrigenetics–diagnosis and nutritional treatment of genome damage on an individual basis. Food Chem Toxicol 46:1365–1370
17. Fenech M, Ferguson LR (2001) Vitamins/minerals and genomic stability in humans. Mutat Res 475:1–6
18. Fenech M (2010) Folate, DNA damage and the aging brain. Mech Ageing Dev 131(4):236–241
19. Ferguson LR, Philpott M (2008) Nutrition and mutagenesis. Annu Rev Nutr 28:313–329
20. Hageman GJ, Stierum RH (2001) Niacin, poly (ADP-ribose) polymerase-1 and genomic stability. Mutat Res 475:45–56
21. Halliwell B (2001) Vitamin C and genomic stability. Mutat Res 475:29–35
22. Hartwig A (2001) Role of magnesium in genomic stability. Mutat Res 475:113–121
23. Ho E, Ames BN (2002) Low intracellular zinc induces oxidative DNA damage, disrupts p53, NFkappa B, and AP1 DNA binding, and affects DNA repair in a rat glioma cell line. Proc Natl Acad Sci USA 99:16770–16775
24. Keen CL, Zidenberg-Cherr S (2003) Manganese. In: Zeigler EE, Filer LJ (eds) Present knowledge in nutrition. ILSI Press, Washington DC
25. Lovell MA (2009) A potential role for alterations of zinc and zinc transport proteins in the progression of Alzheimer's disease. J Alzheimers Dis 16:471–483
26. Park S, Johnson MA (2006) What is an adequate dose of oral vitamin B12 in older people with poor vitamin B12 status? Nutr Rev 64:373–378
27. van Ommen B, El-Sohemy A, Hesketh J, Kaput J, Fenech M, Evelo CT, McArdle HJ, Bouwman J, Lietz G, Mathers JC, Fairweather-Tait S, van Kranen H, Elliott R, Wopereis S, Ferguson LR, Meplan C, Perozzi G, Allen L, Rivero D (2010) The micronutrient genomics project: a community-driven knowledge base for micronutrient research. Genes Nutr 5:285–296
28. Crott JW, Mashiyama ST, Ames BN, Fenech M (2001) The effect of folic acid deficiency and MTHFR C677T polymorphism on chromosome damage in human lymphocytes in vitro. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 10:1089–1096
29. Kimura M, Umegaki K, Higuchi M, Thomas P, Fenech M (2004) Methylenetetrahydrofolate reductase C677T polymorphism, folic acid and riboflavin are important determinants of genome stability in cultured human lymphocytes. J Nutr 134:48–56
30. Holzwarth C, Vaegler M, Gieseke F, Pfister SM, Handgretinger R, Kerst G, Muller I (2010) Low physiologic oxygen tensions reduce proliferation and differentiation of human multipotent mesenchymal stromal cells. BMC Cell Biol 11:11
31. Vukicevic V, Jauch A, Dinger TC, Gebauer L, Hornich V, Bornstein SR, Ehrhart-Bornstein M, Muller AM (2010) Genetic instability and diminished differentiation capacity in long-term cultured mouse neurosphere cells. Mech Ageing Dev 131:124–132
32. Fenech M, Baghurst P, Luderer W, Turner J, Record S, Ceppi M, Bonassi S (2005) Low intake of calcium, folate, nicotinic acid, vitamin E, retinol, beta-carotene and high intake of pantothenic acid, biotin and riboflavin are significantly associated with increased genome instability–results from a dietary intake and micronucleus index survey in South Australia. Carcinogenesis 26:991–999
33. Bowman GL, Silbert LC, Howieson D, Dodge HH, Traber MG, Frei B, Kaye JA, Shannon J, Quinn JF (2012) Nutrient biomarker patterns, cognitive function, and MRI measures of brain aging. Neurology 78:241–249

34. Nishida C, Uauy R, Kumanyika S, Shetty P (2004) The joint WHO/FAO expert consultation on diet, nutrition and the prevention of chronic diseases: process, product and policy implications. Public Health Nutr 7:245–250
35. Fenech M (2012) Folate (vitamin B9) and vitamin B12 and their function in the maintenance of nuclear and mitochondrial genome integrity. Mutat Res 733:21–33
36. Stover PJ (2009) One-carbon metabolism-genome interactions in folate-associated pathologies. J Nutr 139:2402–2405
37. de Lange T (2010) How shelterin solves the telomere end-protection problem. Cold Spring Harb Symp Quant Biol 75:167–177
38. Sfeir A, de Lange T (2012) Removal of shelterin reveals the telomere end-protection problem. Science 336:593–597
39. Bull C, Fenech M (2008) Genome-health nutrigenomics and nutrigenetics: nutritional requirements or 'nutriomes' for chromosomal stability and telomere maintenance at the individual level. Proc Nutr Soc 67:146–156
40. Paul L (2011) Diet, nutrition and telomere length. J Nutr Biochem 22:895–901
41. Bull CF, O'Callaghan NJ, Mayrhofer G, Fenech MF (2009) Telomere length in lymphocytes of older South Australian men may be inversely associated with plasma homocysteine. Rejuvenation Res 12:341–349
42. Cassidy A, De Vivo I, Liu Y, Han J, Prescott J, Hunter DJ, Rimm EB (2010) Associations between diet, lifestyle factors, and telomere length in women. Am J Clin Nutr 91:1273–1280
43. Farzaneh-Far R, Lin J, Epel ES, Harris WS, Blackburn EH, Whooley MA (2010) Association of marine omega-3 fatty acid levels with telomeric aging in patients with coronary heart disease. JAMA 303:250–257
44. Nettleton JA, Diez-Roux A, Jenny NS, Fitzpatrick AL, Jacobs DR Jr (2008) Dietary patterns, food groups, and telomere length in the multi-ethnic study of atherosclerosis (MESA). Am J Clin Nutr 88:1405–1412
45. O'Callaghan NJ, Clifton PM, Noakes M, Fenech M (2009) Weight loss in obese men is associated with increased telomere length and decreased abasic sites in rectal mucosa. Rejuvenation Res 12:169–176
46. Richards JB, Valdes AM, Gardner JP, Paximadas D, Kimura M, Nessa A, Lu X, Surdulescu GL, Swaminathan R, Spector TD, Aviv A (2007) Higher serum vitamin D concentrations are associated with longer leukocyte telomere length in women. Am J Clin Nutr 86:1420–1425
47. Xu Q, Parks CG, DeRoo LA, Cawthon RM, Sandler DP, Chen H (2009) Multivitamin use and telomere length in women. Am J Clin Nutr 89:1857–1863
48. Hou L, Zhang X, Gawron AJ, Liu J (2012) Surrogate tissue telomere length and cancer risk: shorter or longer? Cancer Lett 319:130–135
49. Atkuri KR, Herzenberg LA (2005) Culturing at atmospheric oxygen levels impacts lymphocyte function. Proc Natl Acad Sci USA 102:3756–3759
50. Atkuri KR, Herzenberg LA, Niemi AK, Cowan T (2007) Importance of culturing primary lymphocytes at physiological oxygen levels. Proc Natl Acad Sci USA 104:4547–4552
51. Bull CF, Mayrhofer G, Zeegers D, Mun GL, Hande MP, Fenech MF (2012) Folate deficiency is associated with the formation of complex nuclear anomalies in the cytokinesis-block micronucleus cytome assay. Environ Mol Mutagen 53:311–323
52. de Vogel S, Bongaerts BW, Wouters KA, Kester AD, Schouten LJ, de Goeij AF, de Bruine AP, Goldbohm RA, van den Brandt PA, van Engeland M, Weijenberg MP (2008) Associations of dietary methyl donor intake with MLH1 promoter hypermethylation and related molecular phenotypes in sporadic colorectal cancer. Carcinogenesis 29:1765–1773
53. Sharif R, Thomas P, Zalewski P, Graham RD, Fenech M (2011) The effect of zinc sulphate and zinc carnosine on genome stability and cytotoxicity in the WIL2-NS human lymphoblastoid cell line. Mutat Res 720:22–33
54. Wu J, Lyons GH, Graham RD, Fenech MF (2009) The effect of selenium, as selenomethionine, on genome stability and cytotoxicity in human lymphocytes measured using the cytokinesis-block micronucleus cytome assay. Mutagenesis 24:225–232

55. Chango A, Abdel Nour AM, Niquet C, Tessier FJ (2009) Simultaneous determination of genomic DNA methylation and uracil misincorporation. Med Princ Pract 18:81–84
56. Bistulfi G, Vandette E, Matsui S, Smiraglia DJ (2010) Mild folate deficiency induces genetic and epigenetic instability and phenotype changes in prostate cancer cells. BMC Biol 8:6
57. Decordier I, Papine A, Plas G, Roesems S, Vande Loock K, Moreno-Palomo J, Cemeli E, Anderson D, Fucic A, Marcos R, Soussaline F, Kirsch-Volders M (2009) Automated image analysis of cytokinesis-blocked micronuclei: an adapted protocol and a validated scoring procedure for biomonitoring. Mutagenesis 24:85–93
58. Varga D, Johannes T, Jainta S, Schuster S, Schwarz-Boeger U, Kiechle M, Patino Garcia B, Vogel W (2004) An automated scoring procedure for the micronucleus test by image analysis. Mutagenesis 19:391–397
59. Zhao H, Albino AP, Jorgensen E, Traganos F, Darzynkiewicz Z (2009) DNA damage response induced by tobacco smoke in normal human bronchial epithelial and A549 pulmonary adenocarcinoma cells assessed by laser scanning cytometry. Cytometry A 75:840–847
60. Zhao H, Traganos F, Darzynkiewicz Z (2010) Kinetics of the UV-induced DNA damage response in relation to cell cycle phase correlation with DNA replication. Cytometry A 77:285–293
61. Teo T, Fenech M (2008) The interactive effect of alcohol and folic acid on genome stability in human WIL2-NS cells measured using the cytokinesis-block micronucleus cytome assay. Mutat Res 657:32–38
62. Ishikawa H, Ishikawa T, Yamamoto H, Fukao A, Yokoyama K (2007) Genotoxic effects of alcohol in human peripheral lymphocytes modulated by ADH1B and ALDH2 gene polymorphisms. Mutat Res 615:134–142
63. Kim JS, Kim YJ, Kim TY, Song JY, Cho YH, Park YC, Chung HW (2005) Association of ALDH2 polymorphism with sensitivity to acetaldehyde-induced micronuclei and facial flushing after alcohol intake. Toxicology 210:169–174
64. Beetstra S, Salisbury C, Turner J, Altree M, McKinnon R, Suthers G, Fenech M (2006) Lymphocytes of BRCA1 and BRCA2 germ-line mutation carriers, with or without breast cancer, are not abnormally sensitive to the chromosome damaging effect of moderate folate deficiency. Carcinogenesis 27:517–524
65. Beetstra S, Suthers G, Dhillon V, Salisbury C, Turner J, Altree M, McKinnon R, Fenech M (2008) Methionine-dependence phenotype in the de novo pathway in BRCA1 and BRCA2 mutation carriers with and without breast cancer. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 17:2565–2571
66. Fenech M (2006) Cytokinesis-block micronucleus assay evolves into a “cytome” assay of chromosomal instability, mitotic dysfunction and cell death. Mutat Res 600:658–666
67. Fenech M (2007) Cytokinesis-block micronucleus cytome assay. Nat Protoc 2:1084–1104
68. Kelemen LE (2006) The role of folate receptor alpha in cancer development, progression and treatment: cause, consequence or innocent bystander? Int J Cancer 119:243–250
69. Nijhout HF, Gregory JF, Fitzpatrick C, Cho E, Lamers KY, Ulrich CM, Reed MC (2009) A mathematical model gives insights into the effects of vitamin B-6 deficiency on 1-carbon and glutathione metabolism. J Nutr 139:784–791
70. Cavuoto P, Fenech MF (2012) A review of methionine dependency and the role of methionine restriction in cancer growth control and life-span extension. Cancer Treat Rev 38:726–736

Melanomun Önlenmesi ve Tedavisinde Özgün Yaklaşımlar

Antonio M. Grimaldi, Pamela B. Cassidy, Sancy Leachmann ve Paolo A. Ascierto

Özet

Kutanöz melanom insidansı diğer malignitelere göre anlamlı olarak daha yüksek oranlarda artmaktadır. Bu artış popülasyonların hem güneş hem de solaryum kaynaklı aşırı ultraviyole (UV) radyasyonu maruziyetlerinin tehlikeleri hakkında bilgilendirilme çabalarına rağmen sürmektedir. Melanom görece daha genç popülasyonları etkileyen ve metastaz yapma eğilimi ile mevcut terapötik rejimlere zayıf cevap vermesi ile tanınan bir hastalıktır. Bu faktörler melanomun önlenmesini, hastalık ile ilişkili mortalitenin azaltılması için gösterilen çabaların vazgeçilmez bir komponenti haline getirmiştir. Melanositlerin malign melanoma dönüşmesinde genetik faktörler, ultraviyole radyasyon ve tümör mikroçevresi arasındaki etkileşimler rol oynar. UV radyasyonunun melanom etyolojisindeki rolü hem foto ürünlerinin formasyonu ile oluşan DNA hasarından hem de reaktif oksijen türlerinin üretiminden kaynaklanmaktadır. Melanomun önlenmesi amacıyla geliştirilmekte olan ümit verici antioksidan ajanların çoğu gıda kaynaklıdır. Serin/treonin-spesifik protein kinazlar içeren Raf kinaz ailesinin bir üyesi olan B-Raf, MAP kinaz/ERK sinyal yolağının regülasyonunda rol oynamaktadır. Melanomların yaklaşık %50'sinde BRAF mutasyonları mevcuttur. Melanomlarda bulunan BRAF mutasyonları gövde ve kol-

A. M. Grimaldi · P. A. Ascierto (✉)
Unit of Melanoma, Immunotherapy and Innovative Therapies, Istituto Nazionale per lo Studio e la Cura dei Tumori Fondazione G. Pascale, Via Mariano Semmola, 80131, Naples, Italy
e-mail: paolo.ascierto@gmail.com

P. B. Cassidy · S. Leachmann
Huntsman Cancer Institute, University of Utah, Melanoma and Cutaneous Oncology Program, Salt Lake, UT, USA

V. Zappia et al. (eds.), *Advances in Nutrition and Cancer,*
Cancer Treatment and Research 159, DOI: 10.1007/978-3-642-38007-5_25,
© Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2014

ları aralıklı olarak güneşe maruz kalanların %59'unda oluşurken, aynı mutasyon akral melanomların sadece %23'ünde, mukozal melanomların %11'inde mevcuttur. Üveal melanomlarda bu mutasyon görülmez. İki yeni ajan olan ipilimumab ve vemurafenibin ileri melanomun sonuçlarında iyileşmelere yol açtığı Amerikan Klinik Onkoloji Derneği'nin 2011 yılındaki yıllık toplantısında sunulmuştur. Vemurafenib BRAFV600 mutasyonu olan metastatik melanomda progresyonsuz sağkalımda ve genel sağkalımda iyileşmeye yol açtığı gösterilen ilk bileşiktir. Aynı zamanda antiproliferatif etkisini yüksek oranda spesifik moleküler bir hedefin inhibisiyonu ile gösteren ilk ilaç sınıfına ait ilk ilaçtır. GSK2118436 (dabrafenib) faz I ve faz II çalışmalarda vemurafenib ile benzer sonuçlar veren ikinci BRAF inhibitörüdür. Bir faz III çalışması şu anda sürmektedir. Vemurafenib ve dabrafenibin klinik geliştirme süreçlerinde, BRAF inhibitörlerinin bu mutasyonu taşıyan melanomların progresyonlarını durdurabildiği veya tersine çevirebildiği net olarak gösterilmiştir. BRAF inhibitörleri tarihsel standart tedavilere göre de sağkalım zamanlarını artırmıştır (kemoterapi ve interlökin-2). RAF265 ve LGX818 gibi BRAF inhibitörlerinin klinik geliştirme süreçleri de devam etmektedir. BRAF inhibitörlerinin ipilimumab, bir anti-CTLA-4 antikoru ve/veya MEK inhibitörleri veya metformin ile kombinasyon stratejileri klinik çalışmalarda araştırılmaktadır.

Anahtar Kelimeler

Melanom • BRAF • İpilimumab • Vemurafenib • Dabrafenib

Kısaltmalar

GTE	Yeşil çay ekstresi
EGCG	Epigallokateçin-3-gallat
CSD	kronik güneş hasarı
CTLA-4	sitotoksik T lenfosit ile ilişkili antijen 4
cSCC	Kutanöz skuamöz hücreli karsinom
VEGFR-2	vasküler endotelyal büyüme faktörü reseptörü 2

İçindekiler

1 Giriş 445
2 Melanom Önleme Stratejileri 445
2.1 Diyet ve Melanom 446
2.2 BRAF Proteininin Melanomdaki Rolü 447
2.3 İleri Melanom Tedavisi 449
3 Sonuçlar 452
Referanslar 453

1 Giriş

Kutanöz melanom insidansı diğer malignitelere göre anlamlı olarak daha yüksek oranlarda artmaktadır. Son 30 yıl içinde beyaz ırkta yıllık yaklaşık %3'lük artış görülmüştür. Bu artış halkın, hem güneş hem de solaryum kaynaklı aşırı ultraviyole radyasyonu maruziyetlerinin tehlikeleri hakkında bilgilendirilme çabalarına rağmen sürmektedir [1]. Melanom ile ilişkili diğer risk faktörleri arasında açık renkli ve bronzlaşamayan cilt, kızıl saç, açık göz rengi, çok sayıda veya atipik benler, >50 yaş, erkek cinsiyet ve kişisel veya ailesel hikaye mevcuttur [2]. Erken evrelerde tespit edilen kutanöz melanom vakalarının %90'ından fazlası cerrahi eksizyon ile kesin tedavi edilir. Ancak bölgesel metastaz varlığındaki 5 yıllık sağkalım %60'a, uzak metastaz varlığında ise %16'nın altına düşmektedir [3]. Melanom görece daha genç popülasyonları etkileyen ve metastaz yapma eğilimi ile mevcut terapötik rejimlere zayıf cevap vermesi ile tanınan bir hastalıktır. Bu faktörler melanomun önlenmesini, hastalık ile ilişkili mortalitenin azaltılması için gösterilen çabaların vazgeçilmez bir komponenti haline getirmiştir.

Epidemiyolojik veriler UV radyasyonunun melanom için majör çevresel karsinojen olduğunu göstermektedir. B (UV-B; 260–320 nm) ve A (UV-A; 320–400 nm) dalga boylarında UV maruziyeti sporadik melanom gelişimi ile biyolojik olarak en ilişkili çevresel risk faktörüdür. Ancak UV radyasyonunun melanomu indükleme mekanizması henüz tam olarak anlaşılamamıştır. Melanositlerin malign melanoma dönüşmesinde genetik faktörler, ultraviyole radyasyon ve tümör mikroçevresi arasındaki etkileşimlerin rol oynadığı günümüzde anlaşılmıştır [4].

Dokuz farklı ülkeden 20 araştırmacı solaryum kullananlarda görülen cilt kanseri insidansları ile ilişkili 20'den fazla epidemiyolojik çalışmanın analizini yapmıştır. Verilerin incelenmesi ile 30 yaşından önce solaryum kullanmaya başlayanlardaki melanom riskinin %75 arttığı bulunmuştur. Bu metaanalizin ayrıntılı makalesi "The Lancet Oncology" dergisinde yayınlanmıştır [5]. Makale Dünya Sağlık Örgütünün (WHO) solaryumdan ve aşırı güneş ışığından kaçınılması yönündeki önerisini desteklemektedir. Uluslararası Kanser Araştırma Ajansı (IARC) UV ışınları yayan bronzlaşma cihazlarını "muhtemel karsinojen" kategorisinden "insanlar için karsinojen" kategorisine yükseltmiştir (WHO IARC Çalışma Grubu) [6]. Bu yeni sınıflandırma solaryum ve güneş ışığı lambalarını asbest, radon, sigara, alkol ve hepatitin de bulunduğu faktörleri içeren kanser risk faktörleri grubuna sokmuştur.

2 Melanom Önleme Stratejileri

Melanomun önlenmesi primer, sekonder ve tersiyer stratejilerden oluşur. Primer önleme stratejileri karsinogenezin en erken evresinde yani kanserin ilk etkisinin görülmesinden önce uygulanır. Güneş kremleri gibi primer önleme stratejileri "normal" bir hücrenin maruz kaldığı ilk mutasyonları azaltmaktadır. Sekonder korumayı oluşturan,

tarama protokolleri kullanılan önleme rejimleri, premalign lezyonları erkenden tespit etmeyi veya bu lezyonların kansere dönüşmesini engelleyen ajanlarla tedaviyi içerir. Tersiyer koruma kanser tedavisi gören hastalardaki reküransların önlenmesi ve sağkalım süresinin uzatılmasını amaçlar.

UV radyasyonuna maruziyet foto ürünlerinin formasyonu ile direkt DNA hasarına yol açarken, reaktif oksijen türleri de indirekt oksidatif hasara neden olur. Her iki etki de UV ile indüklenen karsinogeneze ve foto yaşlanmaya neden olur [7]. Melanomdan koruma amaçlı geliştirilmekte olan ümit verici antioksidan ajanların büyük bölümü gıda kaynaklarından elde edilir ve oksidatif DNA hasarını azaltarak etki gösterir.

2.1 Diyet ve Melanom

2.1.1 Likopen

Likopen sıklıkla domateste bulunan kırmızı renkli bir bileşiktir. Tüm karotenoidlerin en etkili oksijen söndürücü (ve antioksidan) olanıdır. İngiltere'de yayınlanan yeni bir makalede UV ile indüklenen ışın hasarı, 12 hafta boyunca günlük olarak zeytinyağı içinde 55 gram domates salçası (16 mg likopen) tüketen kadınlarda sadece zeytinyağı tüketenlere göre anlamlı olarak azalmıştır [8]. Ancak primer melanomun önlenmesinde likopen kullanımı için hala fare melanom modellerinde preklinik değerlendirme yapılmasına ihtiyaç vardır.

2.1.2 Sulforafan

Brokoli filizlerinden izole edilen küçük moleküllü bir antioksidan olan sulforafan (SF), turpgiller ailesine ait sebzelerin büyük oranda tüketiminin kanser riskini azalttığı gözlemini açıklamak amacıyla dizayn edilen bir çalışmada tespit edilen kimyasal maddelerden biridir. Reaktif oksijen türlerini direkt olarak etkileyen karotenoidlerin aksine, SF antioksidan kapasitesini dokulardaki doğal antioksidan enzimleri yukarı regüle ederek gösterir. SF'nin topikal olarak uygulanması ile antioksidan enzimlerin indüklendiği ve insan cildindeki UV radyasyonuna karşı oluşan MED'i (minimal eritem dozu) artırdığı bulunmuştur [9]. İkinci bir çalışmada farelerin brokoli filizlerinden oluşan takviye ile oral yoldan beslenmesinin UV ile indüklenen skuamoz hücreli karsinomları azalttığı gösterilmiştir [10]. Ancak SF'nin melanomdan primer korunmadaki kullanımı henüz fare modelinde test edilmemiştir.

2.1.3 Yeşil çay ekstresi

Yeşil çayın antikanser özelliklerinin içerdiği polifenollerden (özellikle (-) epigallokateçin-3-gallat (EGCG)) kaynaklandığı düşünülmektedir. EGCG'nin kimyasal özellikleri hem güneş kremi hem de serbest radikal söndürücüsü olarak etki yapabileceğini göstermektedir. Ancak bu özelliklerin tek başına biyolojik aktivite göstermesi için yetip yetmediği

şüphelidir [11]. Yeşil çay ekstresi ve EGCG fare modellerindeki UV kaynaklı melanom üzerinde test edilmemiştir. EGCG'nin eşgenetikli fare melanom modelinde kuyruk venine B16 melanom hücrelerinin enjekte edilmesi sonrasında akciğer metastazlarını azalttığı bulgusu sekonder önleme modalitesinde kullanılabileceğini göstermiştir [12]. Topikal EGCG uygulaması UV radyasyonuna maruz kalan insan cildinde eritem, oksidatif stres ve enflamatuar lökositlerin infiltrasyonunu azaltmış ve DNA'daki pirimidin dimer tamirini iyileştirmiştir. Güneş kremlerini de içeren birçok cilt bakımı ürünü yeşil çay ekstresi içermektedir. Ancak birçoğunun polifenol içeriği standardize değildir. Yeşil çay ekstresinin ve EGCG'nin melanomu da kapsayan cilt kanserlerinin önlenmesini araştıran daha ileri klinik çalışmalara kesinlikle ihtiyaç vardır.

2.2 BRAF Proteininin Melanomdaki Rolü

B-Raf, serin/treonin-spesifik protein kinazlar içeren Raf kinaz ailesinin bir üyesidir. Bu protein MAP kinaz/ERK sinyal yolağının regülasyonunda hücre bölünme, farklılaşma ve sekresyonunu etkileyerek rol oynar [13]. Bu gendeki mutasyonlar melanom, papiler tiroid karsinomu, kolorektal kanser, non-Hodgkin lenfoma, küçük hücreli olmayan akciğer karsinomu ve akciğer adenokarsinomu gibi farklı kanser türlerinde görülür [14].

İnsan kanserlerinde BRAF geninin otuzdan fazla mutasyonu tespit edilmiştir. BRAF mutasyonlarının sıklığı insanlardaki kanserin türüne göre büyük farklılıklar gösterir. Melanomların yaklaşık %50'sinde BRAF mutasyonları mevcuttur. Bu mutasyonların %90'ı kodon 600 düzeyindedir (örn. V600E mutasyonu). En sık görülen ikinci mutasyon BRAFV600 K'dır [15]. Kutanöz melanomlardaki yüksek BRAF mutasyonu prevalansı ve UV ile melanom arasındaki epidemiyolojik link, BRAFV600E mutasyonunun UV hasarına bağlı olarak ortaya çıktığı spekülasyonunu doğurmuştur. Melanomlarda bulunan BRAF mutasyonları gövde ve kolları aralıklı olarak güneşe maruz kalanların %59'unda oluşurken, aynı mutasyon akral melanomların sadece %23'ünde, mukozal melanomların %11'inde [16] mevcuttur. Üveal melanomlarda bu mutasyon görülmez [17, 18]. UV-BRAF arasındaki bağlantı kronik olarak güneşe maruz kalan (solar elastoza işaret eden histopatolojik kanıtlar ile tanımlanır) bölgelerdeki BRAFV600E mutasyonunun sadece %11 olduğunun tespit edilmesiyle komplike hale gelmiştir [19]. Bu çelişkili gözlemler BRAF mutasyonlarının oluşumunda rol oynayan ve özellikle güneş maruziyetini de içeren moleküler faktörlerle ilgili belirsizlikleri vurgulamaktadır. BRAFV600E, melanom progresyonu ile ilişkili farklı mekanizmalar da rol oynamaktadır: Aşağı yönlü MEK/ERK yolağının aktivasyonu, senesans ve apoptozdan sakınma, kontrolsüz replikatif potansiyel, anjiogenez (MEK'ye bağımlı HIF-1α ve VEGF aktivasyonu yoluyla), doku invazyonu, metastaz (migrasyon, integrin sinyali, hücre kontraktilitesi, tümör ve mikroçevre kaynaklı interlökin-8 gibi çeşitli proteinlerin yukarı regülasyonu), immun cevaptan sakınma [20]. Primer melanomların klinikopatolojik özellikleri şu bulgularla tutarlı olarak ilgilidir: Genç yaşlarda da görülen mutant BRAF,

çevre dokularda kronik güneş hasarının daha az sayıda markeri, daha yüksek total vücut beni sayısı, spesifik histopatolojik bulgular (büyük epiteloid kriptomorfoloji, ağır melanizasyon ve melanositlerin belirgin yukarı yönlü epidermal yayılımı). Bir Avustralya araştırma grubu [21] metastatik melanomdaki onkogenik BRAF mutasyonlarının sıklık ve tiplerini araştıran çalışmanın sonuçlarını ve BRAF statüsünün klinikopatolojik özellikler ve sonuçlarla ilişkisini yayınlamıştır. Cerrahi olarak çıkarılması mümkün olmayan AJCC evre IIIC ve evre IV melanomu olan 197 hasta çalışmaya alınmıştır. 95 hastada mutasyonlu BRAF tespit edilmiştir (%48). Mutant BRAF melanomu olan hastalar normal (wild-type) BRAF melanomu olan hastalara gör hem uzak metastaz tanısı esnasında (medyan yaş, sırasıyla 55.8'e karşı 63.1) hem de primer melanom tanısı esnasında (medyan yaş, sırasıyla 55.8'e karşı 63.1) daha genç yaştaydı. Metastatik melanomu olan hastaların hastalıksız intervali de içeren diğer özellikleri, mutant BRAF veya normal BRAF olan hastalar arasında anlamlı farklılıklar göstermemiştir. Bu çalışma BRAF mutant metastatik melanomu olan hastaların genel prognozunun hastalıksız sağkalım yönünden normal BRAF olan hastalardan daha iyi olmadığını göstermiştir. Buna rağmen çalışma periyodu sırasında yeni teşhis edilen melanomu olan BRAF mutant hastaların üçte ikisine BRAF inhibitörü tedavisi verilmemiş ve bu hastalardaki genel sağkalım normal BRAF olan hastalara göre tutarlı olarak daha kötü bulunmuştur. Primer melanomdaki mutant BRAF ile bağlantılı olan faktörler kanserin bölgesi (gövde), kronik güneş hasarı, nodüler ve yüzeysel yayılan histopatolojik alt tipler, ve mitoz sayılarıdır. Bu bulgular mutant BRAF olan melanomun biyolojik olarak heterojen olduğu ve özel bir fenotip oluşturacak şekilde diğer genetik değişimlerle birlikte etki yaptığı görüşünü desteklemektedir. BRAF onkogeninde aktive edici mutasyon varlığı uzak ve rezeke edilemeyen metastazların gelişim zamanı üzerinde bir etki yapmamıştır. Ancak devamında daha kötü sonuçlar ile ilişkilidir. Uzak metastaz teşhisi sonrası yapılan sağkalım analizlerinde, BRAF inhibitörü kullanan BRAF mutant hasta alt kümesinden dolayı iki nedenle karışıklık oluşmuştur. Birincisi BRAF inhibitörlerinin genel sağkalımı uzatmasıdır; ikincisi klinik çalışmalarda yer almak üzere seçilen hastaların daha iyi performans statüsü, semptomatik beyin metastazlarının yokluğu ve diğer ölçülemeyen faktörleri de kapsayan daha iyi prognostik faktörlere sahip olma ihtimalleridir. Metastatik melanom olan hastalarda mutant BRAF varlığı, ilk melanomun teşhisinden ilk uzak metastaz teşhisine kadar olan interval üzerinde bir etki yapmamıştır (ilk rezeke edilemeyen lokorejyonal rekürans dahil). BRAF inhibitörlerinin BRAF mutant hastalardaki sağkalım analizinde karışıklığa neden olması kısmen bu gruptaki hastaların diğer hastalara göre daha uzun sağkalıma sahip olmalarından kaynaklanmaktadır. BRAF mutasyonunun varlığı metastatik melanom hastalarında daha kısa sağkalım ile ilişkili gözükmektedir. Ancak bu bulgu BRAF inhibitörlerinin henüz mevcut olmadığı zamanlardaki hasta kohortlarında konfime edilmelidir.

2.3 İleri Melanom Tedavisi

2.3.1 2011'den Önce İleri Melanom Tedavisi

ABD Gıda ve İlaç İdaresi (FDA) tarafından 2011 öncesinde metastatik melanom tedavisinde onaylı olan tek kemoterapötik ajan olan dakarbazin ile yapılan faz III çalışmalardaki cevap oranı %7-12, medyan genel sağkalım ise tedavi başlangıcından itibaren 5.6-7.8 ay bulunmuştur [22].

2.3.2 2011'den Sonra İleri Melanom Tedavisi

İpilimumab ve vemurafenibın ileri melanom tedavisinde kullanıldığı iki farklı çalışmanın sıradışı ilerlemeler içeren pozitif sonuçları yayınlanmıştır. ipilimumab CTLA-4'e bağlanan (sitotoksik T lenfosit ile ilişkili antijen 4) tam bir insan antikoru olan ve doğal immun cevapların regülasyonunda kritik rol oynadığına inanılan sitotoksik T lenfositleri etkileyen bir moleküldür [23]. CTLA-4'ün varlığı immun sistemin hastalıklarla savaşan T-hücre cevabının zayıflamasına neden olurken, yokluğu ise bu cevabın güçlenmesine neden olur. İpilimumab CTLA-4 aktivitesini bloke edecek şekilde dizayn edildiği için melanom hücrelerine saldırırken aynı zamanda aktif immun cevabın ortaya çıkmasına da neden olur. İpilimumabın melanomda görülen immun toleransı tersine çevirici etkisi bir hasta popülasyondan uzun süreli yanıt alınmasına neden olmuştur. Aynı zamanda otoimmun yan etkiler de indüklenmiştir [24].

Onkogenik mutant BRAF'ın selektif ve potent inhibitörü [25] olan vemurafenib (PLX4032/RG7204/RO5185426) klinik çalışmalarda çok iyi sonuçlar vermiştir. Daha önce melanom tedavisi gören ve BRAFV600E mutasyonu olan hastalarda yapılan faz II çalışmada vemurafenibin aktivitesi, genel cevap oranı (tedavi edilen hastalardaki tümör cevabını ölçen primer sonlanım noktası), cevabın süresi ve genel sağkalım ölçülerek tespit edilmiştir. Çalışmaya alınan 132 hasta günde iki kez 960 mg oral vemurafenib ile (kabul edilemeyen yan etkiler veya progresyon görülene kadar) tedavi edilmiştir. Çalışmada konfirme cevap oranının %53, cevabın süresinin 6.7 ay, medyan genel sağkalımın 15.9 ay bulunmuş olması melanom hastaları için eşi görülmemiş sonuçlar anlamına geliyordu [26].

Takip süresi boyunca (medyan 12.9 ay, aralık 0.6-20.1) vemurafenib kullanırken progresyon görülen hastaların %24'üne ipilimumab tedavisi uygulanmıştır. Planlanmamış bir post hoc analizde medyan genel sağkalım 15.9 ayda kalmıştır (%95 CI %11.6-%18.3) [27].

2.3.3 BRIM-3 Sonuçları

İki kollu, randomize, faz III BRIM-3 (melanomda BRAF inhibitörü-3) çalışmasında günde iki kez 960 mg oral vemurafenib ile 1000 mg/m^2 dozunda her üç haftada bir kullanılan dakarzabin kemoterapisinin birinci basamak tedavi olarak kullanımları metastatik melanom hastalarında karşılaştırılmıştır. Progresyonsuz sağkalım ve genel sağkalım çalışmanın primer sonlanım noktasını oluşturuyordu. Daha önce tedavi görmemiş, rezeke edilemeyen evre IIIC veya evre IV metastatik melanomu ve BRAFV600E mutasyonu

olan 675 hasta çalışmaya alınmıştır. Çalışmanın sonuçları BRAFV600E mutasyonu olan hastalardaki ölüm riskinin %63, tümör progresyonu riskinin ise %74 azaldığını göstermiştir. Uzun süreli takipte vemurafenib kolundaki genel sağkalım 13.2 ay, dakarzabin kolunda ise 9.9 ay bulunmuştur. Vemurafenib kolundaki hastaların %38'inin doz azaltımına ihtiyaç duymuş olması dikkat çekicidir [28]. Vemurafenib ile en sık görülen advers olaylar kutanöz olaylar, artralji ve yorgunluktur. BRIM-3 çalışmasında fotosensitiviteye bağlı 2 ve 3. derecede deri reaksiyonları hastaların %12'sinde görülmüştür. Su toplama ile karakterize 3. derece reaksiyonlar sıklıkla güneş kremi ile engellenebilmiştir. BRIM-3 çalışmasındaki vemurafenib grubundaki 336 hastanın 129'unda (%38) doz modifikasyonu veya tedavinin kesilmesi gerekmiştir. 61 hastada (%18) kutanöz skuamöz hücreli karsinom (cSCC), keratoakantom veya her iki rahatsızlık birlikte görülmüştür Tüm lezyonlar basit eksizyon ile tedavi edilmiştir. Vemurafenib bugüne kadar tamamlanan tüm klinik çalışmalarda iyi tolere edilmiştir. BRIM-3 çalışmasında, 1-2 derece ve 3-4 derece advers olayların oranı daha önce yapılan çalışmalar ile benzer bulunmuştur.

Vemurafenib BRAFV600 mutasyonu olan metastatik melanomda progresyonsuz sağkalım ve genel sağkalımı artırdığı gösterilen ilk bireyselleştirilmiş bileşiktir. BRIM-3 çalışmasının sonuçları metastatik melanom tedavisinde bugüne kadar elde edilen en dramatik ilerlemelerin gösterildiği çalışmadır. ABD Gıda ve İlaç İdaresi (FDA) 17 Ağustos 2011'de rezeke edilemeyen veya BRAFV600E mutasyonu (FDA tarafından onaylı bir test ile tespit edilen) olan metastatik melanomun birinci ve ikinci basamak tedavisinde vemurafenib kullanımını onaylamıştır. Avrupa İlaç Ajansının (EMA) İnsan İlaç Ürünleri Komitesi (CHMP) 15 Aralık 2011'de vemurafenibin metastatik veya rezeke edilemeyen BRAFV600 mutasyonlu melanom tedavisinde kullanım için pazara verilmesine izin verilmesini tavsiye etmiştir. Avrupa komisyonu 17 Şubat 2012'de 27 Avrupa Birliği ülkesinde pazarlama izni vermiştir (Patient W.A.I.T. Indicator EFPIA 2010).

2.3.4 BRAF İnhibitörü Tedavisinin Geleceği

İkinci BRAF inhibitörü olan GSK2118436 (dabrafenib) ile yapılan faz I ve faz II çalışmalarda [29] vemurafenib çalışmalarına benzer sonuçlar elde edilmiştir. Dabrafenib mutant V600EBRAF'ın (mt BRAF) yüksek oranda spesifik bir inhibitörüdür. Dabrafenib melanom hücre dizilerindeki mutant BRAF'ı vemurafenibden dört kat daha güçlü inhibe ederken, mutant BRAF olan selektivitesi de (doğal BRAF'a göre) vemurafenib ile benzer düzeydedir. Faz I sonuçları hem güvenlik hem de etkinlik anlamında en az vemurafenib ile yapılan faz I çalışmaların sonuçları kadar etkileyicidir. Dabrafenib ile yapılan faz I çalışmasının dizaynı vemurafenib çalışmasının dizaynına benzerdir. Elde edilen sonuçlar ise daha çarpıcıdır. Çalışmanın doz artırma fazında kaydedilen 93 hastanın 85'inde metastatik melanom mevcuttu. Melanom hastalarının 76'sında aktive edici BRAF mutasyonları vardı. En yüksek iki dozla tedavi edilen 16 hastanın 10'unda ölçülebilir cevap elde edilmiştir (%63 cevap oranı). Bir faz III çalışma ise hala sürmektedir. Ayrıca beyin metastazı olan melanom hastalarında da cevaplar görülmüştür. Vemurafenib ve dabrafenibin klinik geliştirme süreçleri BRAF inhibitörlerinin bu mutasyonu taşıyan

melanomların progresyonlarını durdurabildiği veya tersine çevirebildiği (en azından geçici olarak) net olarak gösterilmiştir. BRAF inhibitörleri ayrıca standart tarihsel tedavilere kıyasla sağkalım zamanlarını da artırmıştır (kemoterapi ve interlökin-2).

RAF265 ise BRAF, CRAF ve mutant BRAF'ı da inhibe edebilen oral kullanılan bir başka selektif RAF inhibitörüdür. RAF265 vasküler endotelyal büyüme faktörü reseptörü 2'yi (VEGFR-2) inhibe ederek antianjiogenik aktivite de gösterir. RAF265 BRAF mutant ksenogreft fare modelinde doza bağlı tümör regresyonuna yol açmıştır ([30] Stuart ve ark. 2001). RAF265 ileri malign melanomlu hastalarda yapılmakta olan faz I çalışmada araştırılmaktadır.

LGX818 [31] mükemmel bir farmakolojik profile imkan veren özgün biyokimyasal özelliklere sahip potent ve selektif RAF kinaz inhibitörüdür. LGX818, BRAFV600E eksprese eden hücreler üzerinde selektif antiproliferatif ve apoptotik etkiye sahiptir. LGX818, A375 (BRAFV600E) insan melanom hücre dizilerinde fosfo-ERK'i (EC_{50} = 3 nM) suprese ederek potent proliferasyon inhibisyonuna yol açar. LGX818 bağışıklık sistemi zayıflatılmış fare ve sıçanlardaki multipl insan ksenogreft modellerinde tümör regresyonunu 1 mg/kg gibi düşük dozlarda indükleyebilmektedir. BRAF mutant tümörleri olan hastalarda yapılan faz I çalışma halen sürmektedir (http://cancertrialaustraliaa.com/Clinical-Trials-Register.aspx.Cancer Trials Australia).[32]

2.3.5 Kombinasyon Stratejileri

Vemurafenib ile ipilimumab kombinasyonunun güvenlik, tolerabilite ve etkinliğini araştıran faz I/II çalışma dizayn edilmiştir [33]. Bu tedavi hedefe yönelik ve immunoterapi yaklaşımlarını kombine etmektedir. İki ilacın etki mekanizmaları farklıdır. İpilimumab (ABD'de birinci ve ikinci basamak tedavide, Avrupa'da ikinci basamak tedavide 3 mg/kg dozunda ileri evre rezeke edilemeyen melanom hastalarının tedavisinde kullanılır) aktif immun cevabın sürdürülmesini sağlar. Vemurafenib ve ipilimumab farklı etki paterni de gösterirler: Vemurafenib hızlı etki göstererek metabolizmayı durdurur. Ancak hastalık medyan olarak 6-8 ay sonra progresyon gösterir. İpilimumab ise daha yavaş etki gösterir ve hastalığı kronik hale getirme yeteneği vardır.

Başka bir kombinasyon da BRIM-7 çalışmasında test edilmektedir [34]. Bu faz Ib, doz yükseltme çalışması tek başına vemurafenib tedavisi ile progresyon görülen BRAFV600E pozitif metastatik melanom hastalarında, vemurafenib ile GDC-0973 kombinasyonunun güvenlik, tolerabilite ve farmakokinetiklerini araştırmayı amaçlamaktadır. GDC-0973, BRAF'ın aşağı yönlü hedefi olan MEK1/2'nin potent ve yüksek oranda selektif inhibitörüdür. Bu kombine tedavinin altında yatan mantık iki aşamalıdır: Birincisi progresyonsuz sağkalım üzerinde aditif ve muhtemelen de sinerjistik etki beklentisidir; ikincisi ise BRAF inhibitörleri tek başlarına kullanıldığında MEK yolağının paradoksik olarak stimüle olabilmesi ile ortaya çıkabilen muhtemel toksisitenin engellenmesidir. BRAF inhibitörlerinin tek başlarında kullanıldığı çalışmaların çoğunda bildirilen kutanöz skuamöz hücreli karsinom ve keratoakantomaların ortaya çıkmalarının nedeni bu paradoksik etki olabilir. Güncel faz I ve faz II çalışmalarda bu yaklaşımın güvenli olduğu ve her iki ajanın tek

başlarına kullanımları ile oluşan toksisiteyi azalttığı gösterilmiştir. Faz I çalışmasına 43 BRAF mutasyonlu melanom hastası (tümü BRAF inhibitörü naif) kaydedilmiştir. 3. derece advers etkiler olarak generalize döküntü (%2.4) ve nötropeni (%2.4) görülmüştür. 2. derece ve daha ileri cilt toksisiteleri 9 hastada (%20) görülmüştür. Bunlar arasında 2. derece döküntü (%4.8) ve maküler döküntü mevcuttur (n=1). Herhangi bir doz düzeyinde kutanöz skuamöz hücreli karsinom ve hiperproliferatif cilt lezyonları görülmemiştir. Değerlendirilen 16 hastadan 13'ü parsiyel cevap verirken, 3'ünde hastalık stabil hale gelmiştir. Objektif cevap oranı (ORR) %81'dir (%95CI %54.4-96.0). İki hasta dışındaki tüm hastalar tamamlamıştır. Bir başka kombinasyon çalışmasında günde iki kez 150 mg dabrafenib + günde bir kez ≥1 mg trametinib uygulanan 10 hastanın, 9'u parsiyel cevap verirken, 1'inde de hastalık stabil hale gelmiştir. Günde bir kez 2 mg uygulanan trametinib, günde iki kez 150 mg dabrafenib ile güvenle kombine edilmiştir. Şu ana kadar skuamöz hücreli karsinom vakasına rastlanmamıştır. Ayrıca bu kombinasyon ile daha önce tek başına dabrafenib veya trametinib kullanılan çalışmalarda görülen deri döküntüleri de azalmıştır [35]. Preliminer antitümör aktivitesi için daha ileri çalışmalara ihtiyaç vardır. Şu anda faz II randomize bir çalışma (3. bölüm) sürmektedir.

Tek başına metformin tedavisi 19 hücre dizisinden 12 tanesindeki proliferasyonu BRAF mutasyon statüsünden bağımsız olarak inhibe etmiştir. Ancak bir $NRAS^{Q61K}$ mutant hücre dizisindeki hücre büyümesini güçlü bir şekilde stimüle etmiştir [36]. Metformin ile vemurafenib kombinasyonunun sinerjistik antiproliferatif etkisi 11 BRAFV600E mutantının 6 tanesinde gözlenmiştir. Bunlar arasında 2 BRAFV600E mutant melanom hücre dizisindeki yüksek oranda sinerjistik etki de mevcuttur. Özellikle tek ajan olarak uygulanan vemurafenibe dirençli BRAFV600E mutant hücre dizilerini de kapsayan bazı hücre dizilerinde antagonistik etkiler gözlenmiştir. Kombinasyon tedavisi ile 8 mutasyonsuz BRAF hücre dizisinin yedisinde marjinal sinerjistik antiproliferatif etki görülmüştür. Bu hücre dizilerinden bir tanesi kombinasyon ile yüksek düzeyde antagonistik etki göstermiştir. Bu farklı sonuçlar sadece her bir ilaca karşı olan sensitiviteye bağlı olmayıp, hücre döngüsü veya sinyal yolakları üzerindeki etkilerden de kaynaklanmaktadır. Vemurafenib ile metformin kombinasyonunun BRAFV600E mutant hücre dizileri üzerinde daha güçlü antiproliferatif etki gösterme eğilimi vardır [36]. Ancak bu kombinasyonun potansiyel klinik kullanımı test edilmeden önce vemurafenib ve metformin sinerjizminin veya antagonizminin belirleyicilerinin daha detaylı anlaşılması gerekmektedir.

3 Sonuçlar

UV radyasyonu melanom gelişimi için majör bir çevresel karsinojendir. UV radyasyonunun melanoma yol açma mekanizması belirlenememiştir. Ancak melanositlerin malign melanoma dönüşümünün genetik faktörler, UV maruziyeti ve tümör mikroçevresi arasındaki etkileşimden kaynaklandığı artık bilinmektedir. Cilt kanseri ile ilgili 20'den fazla epidemiyolojik çalışmanın analizinde 30 yaşından önce solaryum kullanan bireylerdeki melanom riskinin %75 arttığı tespit edilmiştir. Bu sonuçlara bağlı olarak UV ışınları yayan bronzlaşma cihazlarının kategorisi "muhtemel karsinojen" kategorisinden

"insanlar için karsinojen" kategorisine yükseltilmiştir. Bu yeni sınıflandırma solaryum ve güneş ışığı lambalarını asbest, radon, sigara, alkol ve hepatitin de bulunduğu faktörleri içeren kanser risk faktörleri grubuna sokmuştur. UV radyasyonunun melanom etyolojisindeki rolü foto ürünlerinin formasyonu ile oluşan DNA hasarından ve reaktif oksijen türlerinin üretiminden (UV ile indüklenen oksidatif stres, enflamasyon ve fotoyaşlanmaya katkı yaparlar) kaynaklanmaktadır. Melanomun önlenmesi amaçlı geliştirilmekte olan ümit vadeden antioksidan ajanların çoğu gıda kaynaklıdır. Primer, sekonder ve tersiyer önleme stratejilerinin geliştirilmelerinin, kansere neden olan mutasyonların ve devamında malignite oluşumunun güvenli bir şekilde önlenebilme potansiyeli vardır. Başarılı önleme stratejilerinin melanom kaynaklı morbidite ve mortaliteyi azaltmakta çok büyük potansiyeli mevcuttur.

Metastatik melanomun prognozu geleneksel kemoterapötiklere (dakarzabin) cevap alınamaması nedeniyle oldukça kötüdür. Tüm melanomların yaklaşık %50'si aktive edici BRAF mutasyonuna sahiptir. BRAF inhibitörleri sahip oldukları çok iyi klinik etkinlik ve iyi güvenlik profili nedeniyle hedefe yönelik antikanser tedavisine mükemmel bir örnek oluşturmaktadırlar. Metastatik melanom hastalarındaki BRAF'ın mutasyonlu veya normal alt kümelere ayrılarak sınıflandırılması, hastalığın prognoz ve tedavine yaklaşımın değişmesine neden olmuştur. Diğer kanser tiplerine benzer şekilde, moleküler bir hedefin keşfi, terapötik hedefin tanımlanmasına yol açmaktadır (örn. meme kanseri için HER2, NH lenfomalar için CD20, kolorektal ve rektal kanserler için EGFR). Aynı patern BRAF mutant melanomlar için de geçerlidir. Bu mutasyonun varlığı daha genç yaşta başlangıç ve agresif seyir ile ilişkilidir. Ancak spesifik inhibitörlerin geliştirilmesi ile bu melanomlu hasta grubundaki prognoz dramatik bir şekilde iyileşmiştir. Gerçekten de BRAF inhibitörlerinin ipilimumab gibi diğer aktif ajanlarla veya aynı yolağı hedefleyen MEK inhibitörleri gibi diğer sinerjistik ajanlarla kombinasyonları, etkinliğin daha da artması ve toksisitenin veya yan etkilerin azalması potansiyeline sahiptir. Tek ajanla yapılan bu çalışmaların ümit vadeden sonuçlarına dayanarak melanom hastalarının geleceğini farklı şekilde dizayn etme zamanı olabilir: Kombinasyon stratejileri [37].

Referanslar

1. Lazovich DA, Vogel RI, Berwick M, Weinstock MA, Anderson KE, Warshaw EM (2010). Indoor tanning and Risk of Melanoma: A case-control study in a highly exposed population. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 19(6):1557–1568.
2. Pho L, Grossman D, Leachman SA (2006) Melanoma genetics: a review of genetic factors and clinical phenotypesin familian melanomas. Curr Opin Oncol 18(2):173–179
3. Balch CM, Buzaid AC, Soong SJ, Atkins MB, Cascinelli N, Coit DG, Fleming ID, Gershenwald JE, Houghton A Jr, Kirkwood JM, McMasters KM, Mihm MF, Morton DL, Reintgen DS, Ross MI, Sober A, Thompson JA, Thompson JF (2001) Final version of the American joint committee on cancer staging system for cutaneous melanoma. J Clin Oncol 19:3635–3648
4. Gruijl FR (2003) IL-40 UV carcinogenesis and melanocytes. Pigment Cell Res 16:591
5. Ghissassi F, Baan R, Straif K, Grosse Y, Secretan B, Bouvard V, Benbrahim-Tallaa L, Guha N, Freeman C, Galichet L, Cogliano V (2009) On behalf of the WHO international agency for

research on cancer monograph working group. Special report: policy a review of human carcinogens—Part D: radiation. Lancet Oncol, 10(8):751–752
6. WHO (2006) International agency for fresearch on cancer. exposure to artificial UV radiation and skin cancer. IARC working group reports. Vol 1
7. Meyskens FL, Jr McNulty SE, Buckmeier JA, Tohidian NB, Spillane TJ, Kahlon RS, Gonzalez RI (2001) Aberrant redox regulation in human metastatic melanoma cells compared to normal melanocytes. Free Radic Biol Med 31:799–808
8. Rizwan M, Rodriguez-Blanco I, Harbottle A, Birch-Machin MA, Watson RE, Rhodes LE (2011) Tomato paste rich in lycopene protects against cutaneous photo damage in humans in vivo: a randomized controlled trial. Br J Dermatol 164:154–162
9. Talalay P, Fahey JW, Healy ZR, Wehage SL, Benedict AL, Min C, Dinkova-Kostova AT (2007) Sulforaphane mobilizes cellular defenses that protect skin against damage by UV radiation. Proc Natl Acad Sci USA 104: 17500–17505
10. Dinkova-Kostova AT, JW Fahey, AL Benedict, SN Jenkins, L Ye, SL Wehage, P Talalay (2010) Dietary glucoraphanin-rich broccoli sprout extracts protect against UV radiation-induced skin carcinogenesis in SKH-1 hairless mice. Photochemical and Photobiological Sciences 9: 597–600
11. Nichols JA, Katyar SK (2010) Skin photoprotection and natural polyphenol:anti-inflammatory, antioxidant and DNA repair mechanisms. Arch Dermatol Res 302(2):71–83
12. Taniguchi S, Fujiki H, Kobayashi H, Go H, Miyado K, Sadano H, Shimokawa R (1992) Effect of (-)-epigallocatechin gallate, the main constituent of green tea, on lung metastasis with mouse B16 melanoma cell lines. Cancer Lett 65:51–54
13. Wellbrock C, Karasarides M, Marais R (2004) The RAF proteins take centre stage. Nat Rev Mol Cell Biol 5:875–885
14. Namba H, Nakashima M, Hayashi T, Hayashida N, Maeda S, Rogounovitch TI, Ohtsuru A, Saenko VA, Kanematsu T, Yamashita S (2003) Clinical implication of hot spot BRAF mutation, V599E, in papillary thyroid cancers. J Clin Endocrinol Metab 88(9):4393–4397. doi:10.1210/jc.2003-030305.PMID12970315
15. Curtin JA, Fridlyand J, Kageshita T, Patel HN, Busam KJ, Kutzner H, Cho KH, Aiba S, Bröcker EB, LeBoit PE, Pinkel D, Bastian BC (2005) Distinct sets of genetic alterations in melanoma. N Engl J Med, 353:2135–2147
16. Edwards RH, Ward MR, Wu H, Medina CA, Brose MS, Volpe P, Nussen-Lee S, Haupt HM, Martin AM, Herlyn M, Lessin SR, Weber BL (2004) Absence of BRAF mutations in UV-protected mucosal melanomas. J Med Genet 41:270–272
17. Cohen Y, Goldenberg-Cohen N, Parrella P, Chowers I, Merbs SL, Pe'er J, Sidransky D (2003) Lack of BRAF mutation in primary uveal melanoma invest. Ophthalmol Vis Sci, 44:72876–2878
18. Cruz F, Rubin BP, Wilson D, Town A, Schroeder A, Haley A, Bainbridge T, Heinrich MC, Corless CL (2003) Absence of *BRAF* and *NRAS* mutations in uveal melanoma. cancer res, 63(18):5761–5766
19. Maldonado JL, Fridlyand J, Patel H, Jain AN, Busam K, Kageshita T, Ono T, Albertson DG, Pinkel D, Bastian BC (2003) Determinants of BRAF Mutations in Primary Melanomas. J Natl Cancer Inst 95(24):1878–1890
20. Maurer G, Tarkowski B, Baccarini M (2011) Raf kinases in cancer-roles and therapeutic opportunities. Oncogene 30:3477–3488
21. Long GV, Menzies AM, Nagrial AM, Haydu LE, Hamilton AL, Mann GJ, Hughes TM, Thompson JF, Scolyer RA, Kefford RF (2011) Prognostic and clinicopathologic associations of oncogenic BRAF in metastatic melanoma. JCO April 1, 29(10):1239–1246
22. Huncharek M, Caubet JF, McGarry R (2001) Single-agent DTIC versus combination chemotherapy with or without immunotherapy in metastatic melanoma: a meta-analysis of 3,273 patients from 20 randomized trials. Melanoma Res, 11(1):75–81
23. Tarhini AA, Iqbal F (2010) CTLA-4 blockade: therapeutic potential in cancer treatments. Onco Targets Ther 3:15–25

24. Robert C, Ghiringhelli F (2009) What is the role of cytotoxic T lymphocyte-associated antigen 4 blockade in patients with metastatic melanoma? Oncologist 8:848–861
25. Bollag G, Hirth P, Tsai J, Zhang J, Ibrahim PN, Cho H, Spevak W, Zhang C, Zhang Y, Habets G et al (2010) Clinical efficacy of a RAF inhibitor needs broad target blockade in BRAF-mutant melanoma. Nature 467:596–599
26. Flaherty KT, Puzanov I, Kim KB, Ribas A, McArthur GA, Sosman JA, O'Dwyer PJ, Lee RJ, Grippo JF, Nolop K, Chapman PB (2010) Inhibition of mutated, activated BRAF in metastatic melanoma. N Engl J Med 363:809–819
27. Sosman JA, Kim KB, Schuchter L, Gonzalez R, Pavlick AC, Weber JS, McArthur GA, Hutson TE, Moschos SJ, Flaherty KT et al (2012) Survival in BRAF V600-mutant advanced melanoma treated with Vemurafenib. N Engl J Med 366:707–714
28. Chapman PB, Hauschild A, Robert C, Haanen JB, Ascierto P, Larkin J, Dummer R, Garbe C, Testori A, Maio M et al (2011) Improved survival with vemurafenib in melanoma with BRAF V600E mutation. N Engl J Med 364:2507–2516
29. Kefford R et al (2010) Phase I/II study of GSK2118436, a selective inhibitor of oncogenic mutant BRAF kinase, in patients with metastatic melanoma and other solid tumors. J Clin Oncol 28:15 s, (suppl; abstr 8503)
30. Amiri P, Aikawa ME, Dove J et al (2006) CHIR-265 is a potent selective inhibitor of c-Raf/B-Raf/$_{mut}$B-Raf that effectively inhibits proliferation and survival of cancer cell lines with RAS/RAF pathway mutations. Proc Am Assoc Cancer Res, 47 (Abstract 4855)
31. Stuart DD, Li N, Poon DJ, Aardalen K, Kaufman S, Merritt H, Salangsang F, Lorenzana E, Li A, Ghoddusi M, Caponigro G, Sun F, Kulkarni S, Kakar S, Turner N, Zang R, Tellew J, Pryer N. Preclinical profile of LGX818: a potent and selective RAF kinase inhibitor.#3790
32. http://www.cancertrialsaustralia.com/Clinical-Trials-Register.aspx. Cancer Trials Australia
33. http://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01400451?term=Vemurafinib&rank=5.U.S. NIH
34. Halaban R, Zhang W, Bacchiocchi A, Cheng E, Parisi F, Ariyan S, Krauthammer M, McCusker JP, Kluger Y, Sznol M (2010) PLX4032, a selective BRAF (V600E) kinase inhibitor, activates the ERK pathway and enhances cell migration and proliferation of BRAF melanoma cells. Pigment Cell Melanoma Res 23:190–200
35. Infante JR et al (2011) Phase I/II study to assess safety, pharmacokinetics, and efficacy of the oral MEK 1/2 inhibitor GSK1120212 (GSK212) dosed in combination with the oral BRAF inhibitor GSK2118436 (GSK436). J Clin Oncol 29: (suppl; abstr CRA8503)
36. Niehr et al (2011) Combination therapy with Vemurafinib (PLX4032/RG7204) and Metformin in melanoma cell lines with distinct driver mutations. J Trans Med, 9:76
37. Ascierto PA, Streicher HZ, Sznol M (2010) Melanoma: a model for testing new agents in combination therapies. J Trans Med 8:38

Sonsöz

Rodolfo Saracci

İçindekiler

Referanslar..... 459

Mayıs 2012'de Napoli'de yapılan 3. Nütrisyon ve Kanserdeki İlerlemeler Konferasında sunulan ve bu kitapta yer alan çok çeşitli konuları ve araştırma perspektiflerini özetlemeye çalışma çabası en iyi ihtimalle tekrar, en kötü ihtimalle de kafa karıştırıcı olacaktır. Bu nedenle, burada yapacağımız özet Ekim 1998'de Napoli'de yapılan 2. Nütrisyon ve Kanserdeki İlerlemeler Konferansında ortaya çıkan veya ortaya çıkmakta olan birkaç önemli konuyu kapsayacaktır.

Kesin olan birşey varsa o da dünyanın ve özellikle de insan sağlığına ilişkin nütrisyon dünyasının 1998 yılından itibaren ciddi anlamda değişime uğramış olmasıdır. İnsanoğlunun sayı, ağırlık ve boyları artmaktadır. Dünya nüfusu altı milyardan yedi milyara doğru büyüdükçe, fazla kilo ve obezite sadece ekonomik anlamda gelişmiş ülkelerde değil, dünyanın daha az zengin bölgelerinde de hızla yayılmaktadır. Ortalama insan boyunun azaldığı bir ülke yoktur. Aksine ortalama boylar ya artmakta ya da sabit seyretmektedir. Bu majör ve hala devam etmekte olan trendlerin ana belirleyicisi gıda tüketimidir. Dünya çapında nütrisyona yönelik etkili önlemler alınmadığı sürece bu trendler gelecekte de sürerek mutlak kanser rakamlarının artışına yol açacaktır.

R. Saracci
Institute of Clinical Physiology, National Research Council, via Trieste 41, 56100, Pisa, Italy

R. Saracci (✉)
Istituto di Fisiologia Clinica, CNR, via Trieste 41, 56100, Pisa, Italy
e-mail: saracci@hotmail.com

V. Zappia et al. (eds.), *Advances in Nutrition and Cancer,*
Cancer Treatment and Research 159, DOI: 10.1007/978-3-642-38007-5_26,
© Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2014

Ayrıca fazla kilo (hayat boyu süren kalorik dengesizliğin göstergesi) ile veya boy (erken yaşamdaki nütrisyonun göstergesi) ile ilgili olduğu gösterilen kanser türlerinde de muhtemel artışlar olacaktır. Nütrisyonun intrauterin hayat, çocukluk ve adolesan dönemdeki rolü ile erişkin yaşamdaki uzun dönemli sağlık ve kanseri de içeren hastalıklar üzerindeki etkilerini verimli bir şekilde "hayat seyri" boyunca araştıran çalışma alanı gelişmiştir [1].

Ayrıca biyolojide de devrim niteliğinde gelişmeler olmuştur. İnsan genomunun tümünün yapısı 2003 yılında belirlenmiştir. Bu başarı, şaşırtıcı bir hızla gelişen genomik ve sonrasında da epigenomik bilimleri nedeniyle adeta çok uzun süre önce yapılmış bir keşif hissi vermektedir. Hem genomik hem epigenomik bilimleri, son iki dekaddaki kayda değer teknolojik gelişmelerle hızla büyüyerek günümüzdeki biyolojik araştırmalara sistematik ve global yaklaşımı mümkün kılmıştır. Bu araştırma konularına örnek olarak, intestinal floranın seçilmiş mikroorganizmaları yerine intestinal mikrobik topluluğun kollektif genomları adı verilen insan intestinal mikrobiyom "evreninin" diyet bileşenlerini etkileyerek karsinogenezde çeşitli rolleri olan bileşikler oluşturma yetenekleri verilebilir [2]. Benzer şekilde çeşitli bitki ekstrelerinin tüm metabolitlerinde (metabolom) mevcut olan ve (onkolojiyi de içeren) insan farmakolojisi ile potansiyel olarak ilişkili bileşikler günümüzde mevcut olan nükleer manyetik rezonans teknikleriyle ölçülebilmektedir. DNA'nın lezyonlara karşı korunma düzeyini optimize edebilecek veya karsinogenezde potansiyel epigenetik yolaklar olan DNA metilasyon paternlerini etkileyebilecek bireysel düzeydeki mikrobesinlerin optimal kombinasyonunu (bireysel "nütriom") belirlemekte genom boyunca yapılan metilasyon testleri kullanılmaktadır [4]. Bu yaklaşımların gelecek 10 yıl içinde nütrisyonel faktörlerin kanserin oluşumunda rol oynayan ana mekanizmaları ile ilgili anlayışımızı nasıl değiştireceğini görmek en fazla ilgi çeken alan olacaktır. Bu yaklaşımlar ile ortaya çıkan çok büyük miktardaki veriyi analiz etmek için yaratıcı yöntemlere ihtiyaç olduğu kesindir.

Genomik ve epigenomik (bu yeni sistemik yaklaşımlara ek olarak), kanser hücrelerine özgü ölümü indükleyen epigenetik dönüştürücülerden [5], normal ve kanseröz insan hücrelerinin hayat sürelerini belirleyen telomeraz üzerindeki epigenetik etkileri oluşturan nütrientler ile ilgili araştırmalara kadar olan hedefe yönelik çalışmaların boyutlarını ve derinliklerini büyük oranda artırmıştır [6].

Bu kadar hızla ilerleyen alanların mevcudiyetine karşın, diğer bazı araştırma konuları görece olarak yavaş ilerlemektedir. Bazı konular ile ilgili 15 yıl önce hatırladıklarımı hala bugün de hatırlıyor olmam, ilerlemenin umulandan çok daha yavaş olduğunun göstergesidir. Bu konuların en başta geleni, iyileşme, konsantrasyon ve yer değiştirme kategorileri ile ilgili nutrient ve gıdalara spesifik maruziyet biyomarkerlerine olan ihtiyaçtır. Örneğin altın standart olarak kabul edilen iyileşme biyomarkerleri kategorisinde, enerji alımını ve idrardaki nitrojen, potasyum ve sodyumu ölçmek için hala ciddi anlamda kısıtlı olan çift etiketli su yöntemini kullanıyoruz. İnsanların bugün , dün ve geçmişte neyi ne şekilde yedikleri konusu, araştırma ajandasında sürekli yer alan bir problem olmaya devam etmektedir. Yukarıda bahsettiğimiz sistemik yaklaşımlarla korelasyon halindeki

kapsamlı gıda ve besin öğesi tüketim paternleri, bu tür profillerin spesifik gıda tüketimleri için güvenilir biyomarkerler olup olmadığını inceleyen yeni araştırma alanlarıdır. Gıda ve besin öğesi alımının sağlık üzerindeki erken ve geç etkilerinin biyomarkerleri arasındaki nedensel bağlantıları değerlendiren kontrollü randomize çalışmalar yapılmaya devam etmektedir. Ancak bunlar çeşitli pratik uygulamalar yönünden sıklıkla zahmetli ve problemli çalışmalar olup sayıları giderek azalmaktadır.

Bu çok hızlı ve yavaş ilerleyen araştırma konuları arasında, insanların yemek yeme alışkanlıklarının nütrisyonel analizi mevcuttur. Bu konuda 1998 yılından beri bazı yeni bulgular bildirilmiş, eskiden bildirilen bazı sonuçlar da konfirme edilmiştir. Bir diyette bulunan multipl besin öğelerinin birlikte etki göstererek absorpsiyon, metabolizma ve biyolojik etkileri modifiye ettikleri uzun süredir bilinmektedir. Bu nedenle sadece besin öğelerinin değil, belirli gıdaların, gıda sınıflarının ve gıda paternlerinin araştırılması gerekmektedir. Antioksidan içerikleri yönünden zengin olan sebze ve meyvelerin kolorektal kanseri de içeren çeşitli kanser türlerini engelleyici etkileri olduğu kabul edilmektedir. 2010 yılının sonuna kadar yayınlanan tüm prospektif çalışmaları içeren güncel bir metaanaliz bu koruyucu etkiyi sadece kısmen konfirme etmektedir [7]. Fark sadece yüksek miktarda meyve ve sebze tüketen bireylerle çok az tüketen bireyler arasında gösterilebilmiştir. Ancak uygun miktarda sebze ve meyve tüketen bireylerin tüketimlerinin günlük 100 gramın üstüne yükseltilmesi ilave bir koruma sağlamamaktadır. 1990'lardan itibaren "Akdeniz diyetlerinin" sadece kardiyovasküler hastalıklara karşı değil, aynı zamanda metabolik hastalıklara ve kanserlere karşı da koruyucu olduğunu gösteren kanıtlar farklı platformlarda konfirme edilmiştir [8]. Alınan kalori ile harcanan kalori arasındaki temel ve ince ayar gerektiren dengeyi sağlayabilen bu diyetler (formda kalmaya yardımcı olan düzenli fiziksel aktivite yardımıyla) İtalya'daki makarna tüketimi gibi bazı lokal farklılıklar içermelerine rağmen ortak komponentler içerirler. Ortak komponentler şunlardır: Yüksek tahıl, baklagiller, sebze ve balık tüketimi; düşük kırmızı et, işlenmiş et ve alkol tüketimi; diyet kombinasyonunda önemli bir faktör olan zeytinyağı ile yüksek monoansatüre yağ oranı.

Bu kalitatif ve kantitatif özellikler şu genel tavsiye ile hoş bir uyum sergilemektedir: "Her şeyi aşırıya kaçmadan kararında tüketiniz. Aşırıya kaçmamada da aşırıya kaçmayınız". Bu sadece iyi bir sağlık için değil, Aristo'nun da çok önceden bildiği gibi "iyi bir yaşam" için de gereken dengeli ve dinamik bir reçetedir.

Referanslar

1. Lillycrop KA, Burdge GC (2013) Breast cancer and the importance of early life nutrition. In: Zappia V, Russo GL, Panico S, Budillon A, Della Ragione F (eds) Advances in nutrition and cancer 3. Springer-Verlag GmbH, Heidelberg
2. Hullar MAJ, Burnett-Hartman AN, Lampe JW (2013) Gut microbes, diet and cancer. In: Zappia V, Russo GL, Panico S, Budillon A, Della Ragione F (eds) Advances in nutrition and cancer 3. Springer-Verlag GmbH, Heidelberg

3. Fenech MF (2013) Nutriomes and personalised nutrition for DNA damage prevention, telomere integrity maintenance and cancer growth control. In: Zappia V, Russo GL, Panico S, Budillon A, Della Ragione F (eds) Advances in nutrition and cancer 3. Springer-Verlag GmbH, Heidelberg
4. van Veldhoven K, Rahman S, Vineis P (2013) Epigenetics and epidemiology: models of study and examples. In: Zappia V, Russo GL, Panico S, Budillon A, Della Ragione F (eds) Advances in nutrition and cancer 3. Springer-Verlag GmbH, Heidelberg, Germany
5. Conte M, Altucci L (2013) Functions, aberrations and advances for chromatin modulation in cancer. In: Zappia V, Russo GL, Panico S, Budillon A, Della Ragione F (eds) Advances in nutrition and cancer 3. Springer-Verlag GmbH, Heidelberg
6. Tollefsbol TO (2013) Dietary Epigenetics in cancer and aging. In: Zappia V, Russo GL, Panico S, Budillon A, Della Ragione F (eds) Advances in nutrition and cancer 3. Springer-Verlag GmbH, Heidelberg
7. Norat T, Aune D, Chan D, Romaguera D (2013) Fruits and vegetables. Updating the epidemiologic evidence for the WCRF-AICR lifestyle recommendations for cancer prevention. In: Zappia V, Russo GL, Panico S, Budillon A, Della Ragione F (eds) Advances in nutrition and cancer 3. Springer-Verlag GmbH, Heidelberg
8. Panico S, Mattiello A, Panico C, Chiodini P (2013) Mediterranean dietary pattern and chronic diseases. In: Zappia V, Russo GL, Panico S, Budillon A, Della Ragione F (eds) Advances in nutrition and cancer 3. Springer-Verlag GmbH, Heidelberg

Türkiye Kanserle Savaş Vakfı'nın hekimlere armağanıdır.

www.nobeltip.com

ISBN 978-975-96147-3-7

9 789759 614737

Kanser Tedavisi ve Araştırmaları

Cilt 159

Seri Editörü

Steven T. Rosen, Chicago, IL, USA

Türkiye Kanserle Savaş Vakfı'nın hekimlere armağanıdır.

Editörler

Vincenzo Zappia
Fulvio Della Ragione
Department of Biochemistry and Biophysics
Second University of Naples
Naples
Italy

Salvatore Panico
Clinical and Experimental Medicine
University of Naples "Federico II"
Naples
Italy

Gian Luigi Russo
Institute of Food Sciences
National Research Council
Avellino
Italy

Alfredo Budillon
Department of Experimental Oncology
National Cancer Institute
Naples
Italy

Diğer bölümler için:
http://www.springer.com/series/5808

Vincenzo Zappia · Salvatore Panico
Gian Luigi Russo · Alfredo Budillon
Fulvio Della Ragione
Editörler

Nütrisyon ve Kanser Tedavisindeki Gelişmeler

Çeviri Editörleri

Prof. Dr. Gül Başaran
Acıbadem Üniversitesi Tıp Fakültesi
Medikal Onkoloji

Prof. Dr. Mert Başaran
İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesi
Onkoloji Enstitüsü, Medikal Onkoloji

NOBEL TIP KİTABEVLERİ

© 2015
Türkiye Kanserle Savaş Vakfı adına sahibi:
Prof. Dr. Metin Ertem

Nütrisyon ve Kanser Tedavisindeki Gelişmeler
Çeviri Editörleri: Prof. Dr. Gül Başaran, Prof. Dr. Mert Başaran
ISBN: 978-975-96147-3-7

Advances in Nutrition and Cancer
Vincenzo Zappia • Salvatore Panico
Gian Luigi Russo • Alfredo Budillon
Fulvio Della Ragione

ISBN: 978-3-642-38006-8
© Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2014

Bu kitabın Türkçeye çeviri hakkı ©Springer-Verlag Berlin Heidelberg tarafından Nobel Tıp Kitabevleri Tic. Ltd. Şti.'ne verilmiştir. 5846 ve 2936 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri yasası hükümleri gereğince herhangi bir bölümü, resmi veya yazısı, yazarların ve yayınlayıcısının yazılı izni alınmadan tekrarlanamaz, basılamaz, kopyası çıkarılamaz, fotokopisi alınamaz veya kopya anlamı taşıyabilecek hiçbir işlem yapılamaz.

Yayımcı	:	Nobel Tıp Kitabevleri Tic. Ltd. Şti. Millet Cad. No:111 34104 Fatih-İstanbul
Yayımcı Sertifika No	:	15710
Baskı / Cilt	:	No-bel Matbaacılık San. Tic. Ltd. Şti. Kurtini Mevki, General Şükrü Kanatlı Cad. Ömerli - Hadımköy - İstanbul
Matbaa Sertifika No	:	12565
Sayfa Tasarımı - Düzenleme	:	Nobel Tıp Kitabevleri, Hakkı Çakır
Kapak Tasarım	:	Hakkı Çakır
Baskı Tarihi	:	Aralık 2014 - İstanbul

Önsöz

Bu kitap Mayıs 2012'de Napoli İtalya'da yapılan Üçüncü Uluslararası Nütrisyon ve Kanserde İlerlemeler Konferansında sunulan 26 makaleyi içermektedir.

Konferansın başlıca amacı bu alandaki en güncel ve yaratıcı projelerin sunulması ve hem kemoprevensiyon hem de moleküler epidemiyoloji ve diyet girişimi programları ile ilgili özgün stratejilerin sunulmasını sağlamaktı. Konferansta farklı alanlardaki uzmanlardan oluşan bir grup bilim adamı, insanda nütrisyon ve maligniteler arasındaki etkileşimlerle ilgili önemli ve güncel konuları tartışmıştır.

Bu konferansta tartışılan konular ile daha önce yapılan iki toplantının (1992, 1998) konuları karşılaştırıldığında, en önemli bilimsel ilerlemelerin moleküler biyoloji, moleküler epidemiyoloji ve nütrisyon araştırmalarındaki çeşitli epigenetik yaklaşımların yoğun biçimde kullanılmasından kaynaklandığı kesindir.

Günümüzde dünya çapında 24 milyon insanı etkileyen kanser, yılda altı milyonun üzerinde ölüme neden olmaktadır. Erken teşhis ile belirli faydalar sağlanmasına rağmen, birçok tümör vakasının hala ileri evrelerde tedavi edilmeleri ile elden edilen başarı düzeyi kısıtlıdır. Bundan dolayı bu ciddi pandemi ile savaşmanın başlıca yolu hastalığın önlenmesidir. Doll ve Peto'nun (1981) hala geçerli olan, tüm kanserlerin en az %30'unun diyet uygulamaları ile önlenebileceği yönündeki önemli çıkarımları farklı çalışmalardaki birçok sonuç ile konfirme edilmiştir: Diyet, nütrisyon ve kanser riski arasındaki ilişki şüpheye yer vermeyecek şekilde kesindir.

Kitabın ilk bölümü hayata tarzı, diyet ve kanser ile ilgili genel özelliklere odaklanmaktadır. Obezite, enerji dengesi, fiziksel aktivite ve kanser riski ile progresyonunun altında yatan moleküler mekanizmalar ile tuz kullanımı ile alkollü ve gazlı içeceklerin sindirim kanalı kanserleriyle ilgisi detaylı olarak incelenmektedir.

Özellikleri gayet iyi tanımlanmış olan çok çeşitli bitkisel kaynaklı kimyasallar ve doğal antioksidanlar potansiyel kemopreventif/kemoterapötik ajanlar olarak önerilmiştir. Resveratrol, kuersetin, sulforafanın etkileri ve etki mekanizmaları ile selenyum ve selenoproteinler hakkındaki çelişkili sonuçlar ikinci bölümde yer almaktadır.

Diyetin farklı dokulardaki hücrelerin metilasyonlarını etkileyebildiği iyi bilinmekte ve diyet tarafından etkilenen epigenetik faktörler kanserin önlenmesinde ve terapötik hedefler olarak ciddi anlamda ilgi çekmektedir. Üçüncü bölüm bu hayati ve en çok ümit

vadeden konulara atfedilmiştir. Yeni ve önemli bir başka alan da maternal diyetin intrauterin yaşam üzerindeki advers etkileri ile ilgilidir. Diyet DNA metilasyonunu etkileyerek bireyi erişkinlik dönemindeki hastalıklara predispozan hale getirmektedir.

Dördüncü bölümde fonksiyonel bir gıda olan zeytin yağının kanserin önlenmesindeki yararlı etkileri incelenmektedir. Akdeniz diyetindeki majör yağ kaynağı olan natürel sızma zeytin yağının kemopreventif etkilerinin, kardiyovasküler hastalığın ve meme kanseri gibi bazı tümörlerin düşük insidansı ile ilişkili olduğunu gösteren kanıtlar incelenmektedir. Antioksidanların insan hepatom hücreleri üzerindeki etkileri ve diğer gıda içerikleri ile kimyasal etkileşimlerinin nütrisyonel ve duyusal kalite üzerindeki etkileri özel olarak vurgulanmaktadır.

Son iki bölümde hayat tarzı değişimlerinin (diyeti de kapsayan) kanserin reküransını efektif olarak engelleyebildiğini gösteren epidemiyolojik kanıtları da içeren önemli sonuçlara odaklanılmıştır.

Antianjiogeneze de yer ayrılmıştır: Çeşitli preklinik, kimyasal ve epidemiyolojik veriler anjiogenez İnhibisyonunun kanserin önlenmesinde kullanılabileceğini göstermektedir. Diyet kaynaklı çeşitli kemopreventif komponentler de anjiogenezi genel olarak hedefleyebilmektedir. İnsan intestinal mikrobiyomu ile gastrointestinal maligniteler arasındaki ilişki de tartışılmıştır; intestinal mikrobiyom, immun sistem ve diyete maruziyet arasındaki dinamik etkileşimler gelecekteki kanser önleme stratejilerine katkı yapabilir.

Bu kitapta vurgulandığı üzere, kanser gelişimi ile ilgili temel bilgilerimize ciddi katkılar yapan disiplinler arası yaklaşım, gelecekte dönüm noktası olacak klinik gelişmelerin temelini atacaktır. Kitabımız bu çok önemli ve sağlam temelli araştırma alanındaki yüksek teknolojik uygulamalar hakkında, okuyuculara genel bir bakış açısı sağlamayı amaçlamaktadır. Bu toplantının multidisipliner yapısının katılımcıları olduğu kadar okuyucuyu da bilgilendirip stimüle etmesinden mutluluk duyacağız. Kitabın bu ilgi çekici ve kompleks alanın tüm yönlerini kapsayan daha ileri araştırmalara ilham kaynağı olması en büyük dileğimizdir.

Vincenzo Zappia

Sunuş

Türkiye Kanserle Savaş Vakfı olarak son iki yıldır eğitime ağırlık vermeyi kararlaştırdı. Vakıf olarak onkoloji alanında genç uzman hekim arkadaşlarımızın, geliştirdikleri projeler kapsamında verdiğimiz karşılıksız burs ile yurt dışında eğitimlerine katkı sağlamaktayız. Amacımız ülkemizde onkoloji alanında dünya standartlarında hizmet sağlayacak bilgi birikimini oluşturmaktır.

Yine onkoloji alanındaki çalışmaları teşvik etmek amacıyla gelenek haline gelen ve yıllardır sürdürdüğümüz, onkolojinin üç dalında, radyasyon onkolojisi, medikal onkoloji ve cerrahi onkoloji dallarında bilimsel çalışmalara vermekte olduğumuz ödüllere bir yenisini ilave ederek '2014 Bilim Ödülü' başlığında ülkemizde onkoloji alanına katkılarından dolayı bir bilim adamımıza ödül verdik. Bu saygın ödülü her yıl tekrarlayarak sürdürmeyi uygun gördük.

Türkiye Kanserla Savaş Vakfı olarak yılda dört sayı olarak 'Kanser Gündemi' isimli periyodik dergimizi çıkartmaya devam ediyoruz. Hekimlerimize yönelik her bir sayısında bir kanser konusunun işlendiği güncel bilgilerin aktarıldığı bu dergi arşivimize ve halkımızı bilinçlendirmeye yönelik sanat ve tıbbi bilgilerin yer aldığı 'Menekşe ve Yaşam' dergilerine www.kanservakfi.com'dan ulaşabilirsiniz.

Kanser konusunda öne çıkan güncel, yabancı dilde yazılmış bilimsel kitapları türkçeye kazandırmayı ve hekimlerimize ulaştırmayı kararlaştırdık. Bu amaçla ilkini 2013 yılında 'Kanser Evreleme Atlası' olarak gerçekleştirdik ve bin adet basılan bu kitabı ücretsiz olarak Ulusal Kanser Kongresi'nde hekimlerimize ulaştırdık.

Bu yıl, oldukça güncel olan kanser ve beslenme konusunda bir kitabın çevirisini tercih ettik. Kanser ve beslenme konusu bildiğiniz gibi her zaman suistimal edilmiştir. Bu konuda maalesef bilimsel temelleri olmayan değişik görüşler ileri sürülmüş ve sürülmektedir. Bu konuda hekimlerimize referans oluşturacak 'Nütrisyon ve Kanser tedavisindeki gelişmer' Başlıklı kitabı iki değerli hocamızı katkılar ile Türkçe'ye kazandırdık.

Kanser ve beslenme kitabımızın çeviri editörlüğünü gerçekleştiren sayın Prof. Dr. Gül Başaran ve sayın Prof. Dr. Mert Başaran'a ve kitabın baskı aşamalarını gerçekleştiren Nobel Tıp kitap evine teşekkür ederiz.

Bu kitabı bilgilerimize katkı oluşturacağını düşünerek hekimlerimize hediye ediyoruz.

Türkiye Kanserle Savaş Vakfı
Yönetim Kurulu Başkanı
Prof. Dr. Metin Ertem

Çeviri Editörlerinin Önsözü

Bu kitabın tercümesini yapmamızdaki en önemli neden, son yıllarda basılı ve sözlü medyada kanser tedavisi ve önleminde çok sayıda görüş ve tedavi yöntemlerinden bahsedilmesidir. Ne yazık ki, çoğu akademisyen, diyetisyen ve konu üzerine eğitim ve bilgisi olmayan kişi, ilgi çekmesi sebebi ile konu hakkında fikir verir ve toplumu yönlendirir olmuştur.

Kitabın bu konuda bir eksikliği gidereceği fikrini sayın Prof. Dr. Metin Erten vermiş ve kitabın seçiminde öncü olmuştur.

Kanserin etyolojisinde genetik, edinsel faktörler yanında çevresel faktörler de rol oynamaktadır. Kanserojen gazlar, kimyasal bileşimler, radyasyon gibi faktörlerin yanı sıra kanser gelişiminde insanın aklını karıştıran en önemli faktörlerden biri yediği içtiği olmuştur. Bazı gıdaların aşırı tüketilmesi, mineral eksikliği, ya da fazlalığı ile kanser arasında ilişkilendirme hep kurulmuştur. Ancak direk olarak bir gıdanın kesinlikle kanser yaptığını söylemek mümkün olmamaktadır. Bugün tüm kanser olgularının üçte birinin etyolojisinde beslenme alışkanlıklarının olduğu öngörülmektedir.

Doğum öncesi anne karnında başlayan ve hayatımızın sonuna kadar geçen süre sadece beslenme içeriği ile değil, bunun yanında obeziteye kadar giden aşırı beslemenin de kanser gelişiminde risk yarattığı bilinmektedir.

Daha sağlıklı bir hayat için fazla kilodan kaçınmak, düzenli egzersiz yapmak, doğal üretilen ve kontrolü yapılan gıdalarla beslenmek, tüm besinlerden yeterli ve dengeli şekilde almaya özen göstermek kanserle savaşmada en önemli yöntemlerdir.

Asbest, radon gazı, sigara gibi bilinen kanserojenler yanında bazı gıda ve çevresel faktörlerin kanser gelişiminde daha düşük de olsa risk yarattığı bilinmektedir. Farklı gıdalardan alınan vitamin, mineral veya moleküllerin de kanserden koruyabileceği düşünülmektedir. Bazen bir gıdayla ilgili, olduğundan daha fazla yarar sağlayacağına dair yanlış kanılar da oluşmaktadır.

Bu kitapta gıdaların içeriği ve toplumların beslenme alışkanlıklarına göre kanser gelişimi ve önlenmesi, bilimsel veriler ışığında irdelenmiştir.

Kitabın bütününde kişilerin kendi inandıklarını ifade etmekten öte; bilimsel veriler ışığında yapılan yayınların derlemesi ile yorumlar yapılmış, meta-analizler oluşturulmuştur.

Bir yayından veya bir gözlemden oluşan bilgiyi tüm topluma uyarlamaya çalışmak ve bunu medya önünde farklı bir alternatifi yokmuş gibi göstermek, toplumu yanlış bilinçlendirebilmektedir. Bu kitapta bu tarzda yorumlardan kaçınılmış olması güncel beslenme ve kanser arasındaki ilişkiyi bilimsel ortamda değerlendirmesi referans danışma kitabı olmasını sağlamaktadır.

Kanserde yeni yolakların ortaya konulması, gıdaların ve minerallerin bu yolaklar üzerindeki etkilerinin hızlanıp yavaşlaması üzerine etkilerinin bilinmesi ile belki ilerleyen yıllar içerisinde daha doğru beslenmenin detayları da ortaya çıkacaktır.

Tercümesinde bulunduğumuz bu kitabın beslenme ve kanser gelişimi hakkında doğru bilgiye daha hızlı ulaşmada herkes için faydalı ve yararlı olacağına inanıyoruz.

Prof. Dr. Gül Başaran
Acıbadem Üniversitesi Tıp Fakültesi
Medikal Onkoloji

Prof. Dr. Mert Başaran
İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesi
Onkoloji Enstitüsü, Medikal Onkoloji

Teşekkürler

Mayıs 2012'de düzenlenen Üçüncü Uluslararası Nütrisyon ve Kanserde İlerlemeler Konferansının sponsorları: Ulusal Kanser Araştırma Enstitüsü "Fondazione G. Pascale", Napoli; Kar amacı gütmeyen Arfacid Onlus, Napoli; Mercogliano Onkoloji Araştırma Merkezi; Napoli İkinci Üniversitesi Biyokimya ve Genel Patoloji Departmanları; Napoli Üniversitesi Klinik Tıp ve Moleküler Onkoloji Departmanları, Ulusal Araştırma Konseyi "Federico II" Gıda Bilim Enstitüsü, Avellino; İtalya Napoli'deki İtalyan Filozofik Çalışmalar Enstitüsü.

Toplantıya saygın destekleri ile katkıda bulunan kurumlar: Accademia Nazionale dei Lincei, Consiglio Nazionale delle Ricerche, Regione Campania, Comune di Napoli, Provincia di Napoli, Seconda Università degli Studi di Napoli, Università degli Studi di Napoli "Federico II," Lega Italiana per la Lotta contro i Tumori— Sezione di Napoli, Associazione Italiana di Oncologia Medica, Società Italiana di Biochimica, Società Italiana di Cancerologia, ve Ordine dei Medici di Napoli.

Konferansa destek olanlar diğer kurumlar: Banca di Credito Popolare, Roche, Acen, Biorad, DBA Italia, Delchimica, Diasorin, Euroclone, Farmacia Morrica, Istituto Varelli, Life Technologies, Microtech, Strategies Consulting, Vinci Biochem ve Carl Zeiss.

Editörler, yazarlar ve Springer Verlag arasındaki editoryal koordinasyon Janet Gates ve Paola Colonna ve Pina Carfora yönetimindeki organizasyon sekreterliği tarafından yürütülmüştür.

Editörler olarak Dr. Giuseppe Lacomino'ya konferansın organizasyonundaki değerli katkıları için teşekkür ediyoruz. Ayrıca yazarlara makaleleri için, Springer Verlag'a bu kitabın basımını mümkün kıldığı için teşekkürü borç biliriz.

İçindekiler

1. Bölüm Hayat Tarzı, Diyet ve Kanser

Kanserin Oluşumunda ve Önlenmesinde Metabolik Karsinogenezin Rolü: Prospektif Avrupa Çalışmasından Kanser ve Nütrisyonla İlgili Kanıtlar 3
Elio Riboli

Obezite, Enerji Dengesi ve Kanser: Mekanik Perspektif 21
Stephen D. Hursting

Meyve ve Sebzeler: WCFR/AICR Kanserin Önlenmesi İçin Hayat Tarzı Önerilerindeki Epidemiyolojik Kanıtların Güncellenmesi 35
Teresa Norat, Dagfinn Aune, Doris Chan ve Dora Romaguera

İnsanda Prostat Kanseri Nedeni Olarak Diyet 51
William G. Nelson, Angelo M. DeMarzo ve Srinivasan Yegnasubramanian

Akdeniz Diyet Paterni ve Kronik Hastalıklar 69
Salvatore Panico, Amalia Mattiello, Camilla Panico ve Paolo Chiodini

Diyetle Tuz Tüketimi ve Mide Kanseri Riski. 83
Lanfranco D'Elia, Ferruccio Galletti ve Pasquale Strazzullo

Alkollü İçkiler ve Gazlı İçecekler: Tüketim ve Gastrointestinal Kanser Riski 97
Rosario Cuomo, Paolo Andreozzi ve Francesco Paolo Zito

2. Bölüm Doğal Diyet Molekülleri

Doğal Antienflamatuar ve Antikanser İlaçlar 123
Barbora Orlikova, Noémie Legrand, Jana Panning, Mario Dicato ve Marc Diederich

Selenyum ve Kanser: Unutulmaması Gereken Bir Hikaye-Genom Biliminden Örnekler 145
Catherine Méplan ve John Hesketh

Resveratrol: Temel Çalışmalardan Yatak Başına 167
Adriana Borriello, Debora Bencivenga, Ilaria Caldarelli, Annunziata Tramontano, Alessia Borgia, Vincenzo Zappia ve Fulvio Della Ragione

Kuersetin: Kansere Karşı Pleiotropik Kinaz İnhibitörü 185
Gian Luigi Russo, Maria Russo, Carmela Spagnuolo, Idolo Tedesco, Stefania Bilotto, Roberta Iannitti ve Rosanna Palumbo

Sulforafan: Kanserle Savaşta Ümit Vadeden Bir Molekül 207
Monia Lenzi, Carmela Fimognari ve Patrizia Hrelia

3. Bölüm Genetik ve Epigenetik

Kanserde Kromatin Modülasyonunun Fonksiyonları, Anormallikleri ve Gelişmeler 227
Mariarosaria Conte ve Lucia Altucci

Epigenetik ve Epidemiyoloji: Çalışma Modelleri ve Örnekler 241
Karin van Veldhoven, Shati Rahman ve Paolo Vineis

Kanser ve Yaşlanmada Diyet Epigenetiği 257
Trygve O. Tollefsbol

Meme Kanseri ve Erken Yaşlardaki Beslenmenin Önemi 269
Karen A. Lillycrop ve Graham C. Burdge

4. Bölüm Zeytinyağı ve Kanserin Önlenmesi

Meme Kanserinde Zeytinyağı ve Diğer Diyet Lipidleri 289
Eduard Escrich, Montserrat Solanas ve Raquel Moral

Doğal Antioksidanların Enflamasyon ve Karaciğer Kanseri Üzerindeki Etkilerinin Araştırılmasına Holistik Bir Yaklaşım 311
Susan Costantini, Giovanni Colonna ve Giuseppe Castello

Natürel Sızma Zeytinyağı: Kompozisyondan Moleküler Gastronomiye . . . 325
Raffaele Sacchi, Antonello Paduano, Maria Savarese, Paola Vitaglione ve Vincenzo Fogliano

5. Bölüm Kanserin Hayat Tarzı Değişimleri ile Önlenmesi

Kanser Reküransının Hayat Tarzı Değişimleri ile Önlenmesi: Yin ve Yang 341
Franco Berrino

6. Bölüm Çığır Açan Yenilikler

Eski Bir Antidiyabetik İlaca Yeni Yaklaşım: Antikanser Ajan Olarak Metformin 355
Alessandra Leone, Elena Di Gennaro, Francesca Bruzzese, Antonio Avallone ve Alfredo Budillon

İntestinal Mikroplar, Diyet ve Kanser 377
Meredith A. J. Hullar, Andrea N. Burnett-Hartman ve Johanna W. Lampe

Kanserin Tedavisinde ve Önlenmesinde Enflamatuar Anjiogenez ve Tümör Mikroçevresinin Hedeflenmesi 401
Antonino Bruno, Arianna Pagani, Elena Magnani, Teresa Rossi, Douglas M. Noonan, Anna Rita Cantelmo ve Adriana Albini

DNA Hasarının Önlenmesinde, Telomer Bütünlüğünün Korunmasında ve Kanser Büyümesinin Kontrolünde Nutriomlar ve Bireyselleştirilmiş Beslenme 427
Michael F. Fenech

Melanomun Önlenmesi ve Tedavisinde Özgün Yaklaşımlar 443
Antonio M. Grimaldi, Pamela B. Cassidy, Sancy Leachmann ve Paolo A. Ascierto

Sonsöz 457
Rodolfo Saracci

Yazarlar

Adriana Albini, IRCCS Multimedica, Milan, Italy, e-mail: adriana.albini@multimedica.it

Lucia Altucci Department of Biochemistry, Biophysics and General Pathology, Second University of Naples, Naples, Italy, e-mail: lucia.altucci@unina2.il

Paolo A. Ascierto Unit of Medical Oncology and Innovative Therapies, National Cancer Institute "G. Pascale" Foundation, Naples, Italy, e-mail: paolo.ascierto@gmail.com

Franco Berrino Department of Preventive and Predictive Medicine, Istituto Nazionale Tumori Milano, Milan, Italy, e-mail: franco.berrino@istitutotumori.mi.it

Alfredo Budillon Experimental Pharmacology Unit, Department of Research, National Cancer Institute "G. Pascale" Foundation, Naples, Italy, e-mail: abudillon@yahoo.com

Susan Costantini, Cancer Research Center Mercogliano, CROM, Mercogliano, Italy, e-mail: susan.costantini@cro-m.eu

Rosario Cuomo Department of Clinical and Experimental, University of Naples "Federico II", Naples, Italy, e-mail: rcuomo@unina.it

Fulvio Della Ragione Department of Biochemistry, Biophysics and General Pathology, Second University of Naples, Naples, Italy, e-mail: fulvio.dellaragione@unina2.it

Marc Diederich Laboratoire de Biologie Moléculaire et Cellulaire du Cancer, "Fondation de Recherche Cancer et Sang", Hôpital Kirchberg, Kirchberg, Luxembourg, e-mail: marc.diederich@lbmcc.lu

Eduard Escrich Department of Cell Biology, Physiology and Immunology Medicine School, Universitat Autònoma de Barcelona, Barcelona, Spain, e-mail: Eduard.Escrich@uab.es

Michael F. Fenech, CSIRO Food and Nutritional Sciences, Adelaide, Australia, e-mail: Michael.Fenech@csiro.au

John E. Hesketh Institute for Cell and Molecular Biosciences, University of Newcastle Medical School, Newcastle Upon Tyne, UK, e-mail: j.e.hesketh@newcastle.ac.uk, j.e.hesketh@ncl.ac.uk

Patrizia Hrelia Department of Pharmacology, Alma Mater Studiorum-University of Bologna, Bologna, Italy, e-mail: patrizia.hrelia@unibo.it

Steven D. Hursting Department of Nutritional Sciences, Dell Pediatric Research Institute, University of Texas, Smithville, USA, e-mail: shursting@austin.utexas.edu

Johanna W. Lampe, Fred Hutchinson Cancer Research Center, Seattle, USA, e-mail: jlampe@fhcrc.org

Karen A. Lillycrop School of Biological Sciences, Institute of Developmental Sciences, University of Southampton, Southampton, UK, e-mail: K.A.Lillycrop@soton.ac.uk

William G. Nelson Environmental Health Sciences, The Sidney Kimmel Comprehensive Cancer Center, Johns Hopkins University, Baltimore, USA, e-mail: bnelson@jhmi.edu

Teresa Norat Department of Epidemiology and Biostatistics, School of Public Health, Imperial College, London, UK,

Salvatore Panico Department of Clinical and Experimental, University of Naples "Federico II", Naples, Italy, e-mail: spanico@unina.it

Elio Riboli School of Public Health, Imperial College, London, UK, e-mail: e.riboli@imperial.ac.uk

Gian Luigi Russo Institute of Food Sciences, National Research Council, Avellino, Italy, e-mail: gianluigi.russo@gmail.com

Raffaele Sacchi Department of Food Science, Faculty of Agriculture, Portici, Naples, Italy, e-mail: raffaele.sacchi@unina.it

Rodolfo Saracci, IFC-National Research Council, Pisa, Italy, e-mail: saracci@hotmail.com

Montserrat Solanas Department of Cell Biology, Physiology and Immunology Medicine School, Universitat Autònoma de Barcelona, Barcelona, Spain, e-mail: Montserrat.Solanas@uab.es

Pasquale Strazzullo Department of Clinical and Experimental, University of Naples "Federico II", Naples, Italy, e-mail: strazzul@unina.it

Trygve O. Tollefsbol Department of Biology, The University of Alabama, Birmingham, USA, e-mail: trygve@uab.edu

Paolo Vineis School of Public Health, MRC/HPA Centre for Environment and Health, Imperial College, London, UK, e-mail: p.vineis@imperial.ac.uk

Kanserin Oluşumunda ve Önlenmesinde Metabolik Karsinogenezin Rolü: Prospektif Avrupa Çalışmasından Kanser ve Nütrisyonla İlgili Kanıtlar

Elio Riboli

Özet

Nütrisyonun kanserin oluşmasında ve kanserden korunmada rol oynayabileceği teorisi 100 yıldan uzun süre önce diyetin tümör büyümesindeki etkilerini inceleyen laboratuvar çalışmalarından doğmuştur. Yirminci yüzyılın ortalarında ise kanser epidemiyolojisinin ana odak noktası tütün ve alkolün rolüydü. Doll ve Peto 1980'lerin ilk yıllarında kanser nedenleri ile ilgili orijinal makaleyi yayınlayana kadar kanser ve beslenme ile ilgili majör araştırma programları başlatılmamıştı. Avrupa Prospektif Kanser ve Nütrisyon Araştırması (EPIC) IARC-WHO tarafından diyet, nütrisyonel faktörler, antropometri ve fiziksel aktivitenin kanser riskiyle ilişkisini araştırmak amacıyla özel olarak dizayn edilen büyük ölçekli, prospektif, kohort çalışmasıdır. EPIC bu faktörlerin kanser riski üzerindeki etkilerinin anlaşılmasında 1990'ların ilk yıllarından itibaren büyük katkılar yapmıştır. Bu bölümde nütrisyonel kanser epidemiyolojisinin gelişimi ile kanser ve nütrisyon ilişkisini araştıran EPIC çalışmasının dizaynı özetlenmektedir. EPIC Çalışmasının nütrisyonel ve metabolik faktörlerin kanserdeki rolü ile ilgili ana bulguları vurgulanmaktadır.

Anahtar Kelimeler

Nütrisyon • Diyet • Metabolik faktörler • Steroid hormonlar • Kanser • Epidemiyoloji • Büyük ölçekli prospektif kohort çalışması • Avrupa Prospektif Kanser ve Nütrisyon Araştırması

E. Riboli (✉)
School of Public Health, Imperial College, London, UK
e-mail: e.riboli@imperial.ac.uk

V. Zappia et al. (eds.), *Advances in Nutrition and Cancer,*
Cancer Treatment and Research 159, DOI: 10.1007/978-3-642-38007-5_1,
© Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2014

İçindekiler

1 Tarihsel Arkaplan 4
2 EPIC Projesinin Dizaynı ve Hayata Geçirilmesi 8
3 Nütrisyon, Metabolik Faktörler ve Kanser ile İlgili Araştırma Bulguları 10
3.1 Gıdalar ve Besin Öğeleri 10
3.2 Obezite 11
3.3 Boy 12
3.4 İnsülin Rezistansı 13
3.5 Seks Steroid Hormonları 14
4 Sonuçlar 14
Referanslar 16

1 Tarihsel Arkaplan

Nütrisyonun kanserin oluşumunda ve kanserden korunmada rol oynayabileceği teorisinin gelişimine, 1900'lü yılların başlarında farklı diyetlerin, tümörlerin gelişim ve büyümeleri üzerindeki etkilerini araştıran laboratuvar çalışmaları yol açmıştır. Bu ilk araştırmalarda kemirgenlerdeki spontan ya da transplante tümörlerin iyi beslenenlerde büyüdüğü, kısıtlı kalori alanlarda ise bu büyümenin inhibe olduğu gözlenmiştir. Tümör büyümesini inhibe etmek için, kalori alımının dilediği kadar kalori alan gruba göre ciddi oranda kısıtlanması gerekiyordu. Daha sonraki çalışmalarda kalori kısıtlamasının eksizyon sonrası transplante edilen spontan tümörlerin reküransını da önlediği gösterilmiştir [30, 36, 42].

Albert Tannenbaum ve çalışma arkadaşları kemirgen modellerinde yüksek kalorili, yüksek yağlı ve yüksek proteinli diyetlerin kanserle ilişkisini otuz yıl boyunca araştırdıkları laboratuar çalışmalarına 1930'larda başlamışladır [44, 46, 47]. Özellikle meme bezleri, karaciğer ve akciğerde görülenleri de içeren bazı tümör tiplerinin yüksek kalorili veya yüksek yağlı diyetlerden (ya da her ikisinden) daha fazla etkilendiğini tespit etmişlerdir. Bu veriler yüksek yağlı diyetin tümör gelişimine katkısının (en azından bir kısmının) yağ artışı ile yükselen kalori miktarına bağlı olduğunu gösteren Baumann tarafından bildirilmiştir [29].

İnsanlarda diyet ve kanser epidemiyolojisi ile ilgili bilinen ilk çalışma 1933 yılında yayınlanmıştır. 462 kanser hastası ve 435 kontrol deneği ile gerçekleştirilen çalışmada sebze tüketimindeki artışın kanser riskini azalttığı, fazla bira içenlerde ise üst gastrointestinal sistem kanserlerinin arttığı bulunmuştur [41].

Tannenbaum obezitenin kanser ve diğer hastalıklara bağlı mortalite ile ilişkisini araştıran ve muhtemelen ilk kez yapılan retrospektif kohort çalışmasını yönetmiştir. Çalışmada Kuzey Amerika hayat sigortası şirketlerinden alınan veriler kullanılmıştır. İlk kez hayat sigortası satın aldığı esnada obez olan bireylerdeki kansere bağlı mortalitenin %30-50 oranında arttığı bulunmuştur [45].

Bu sonuçlar kanser araştırmalarında kullanılan yaygın yaklaşımlar üzerinde önemli bir değişime yol açmamıştır. O dönemde kanserin hava, içme suyu, besinler (kontami-

nantlar veya kimyasal katkılar) veya iş ortamında mevcut olan kimyasal veya fiziksel bileşiklerin etkisi ile oluştuğu hipotezine yaygın olarak inanılıyordu. Bu nedenle kanser ile ilgili çalışmaların çoğu yeni karsinojenlerin tanımlanması ile kimyasal ve fiziksel karsinogenezin mekanizmasının anlaşılmasına yönelik olarak dizayn ediliyordu.

O dönemde araştırma konusu olan majör faktörler, yaşam tarzı ile ilişkili iki potansiyel karsinojen olan tütün ve alkol kullanımı idi. 1950'lerde İngiltere'de Richard Doll ve Bradford Hill [5–8], ABD'de ise Ernst Wynder [51] tarafından yapılan çalışmalarda tütünün rolü net olarak belirlenmişti. Bu çalışmalarda yaşamları boyunca sigara içenlerde çok yüksek oranda karsinojenik etki tespit edilmişti. Örneğin sigaraya 18-20 yaşında başlayan ve günde 20-30 sigara içen bir bireydeki akciğer kanseri riskinin 30 ile 40 kat arttığı bulunmuştu. Sigarada bulunan kimyasal bileşiklerin tanımlanarak laboratuar karsinogenez modellerinde test edilmeleri ile epidemiyolojik çalışmalar için hızlı ve güçlü destek sağlanmıştır.

Bu çerçevede ortaya çıkan bilimsel kanıtlar alkol tüketimi ile kanser arasında doğrusal ilişkinin çok daha az olduğunu ortaya koymuştur. Bu durum alkol tüketimi ile kanser arasındaki ilişkinin gücü gibi birçok nedenden kaynaklanır. Gerçekte alkol tüketimi rölatif kanser riskini önemli oranda artırmaktadır. Ancak bu artış sigara ile akciğer kanseri ilişkisindeki kadar güçlü değildir. Artan alkol tüketimi (örn. günde 70-80gr alkol, bir şişe şarap veya dört büyük şişe bira eşdeğeridir) üst sindirim ve solunum yolu kanserlerini (ağız, farenks, larenks ve özofagus) tipik olarak 5 ila 6 kat artırmaktadır. Aynı zamanda sigara kullanımı da mevcutsa bu artış birkaç kat daha yükselir. Ancak diğer birçok kanser türündeki rölatif risk artışı (örn. kolorektal, karaciğer ve meme kanserleri) 1.5 kat gibi çok daha düşük seviyelerdedir.

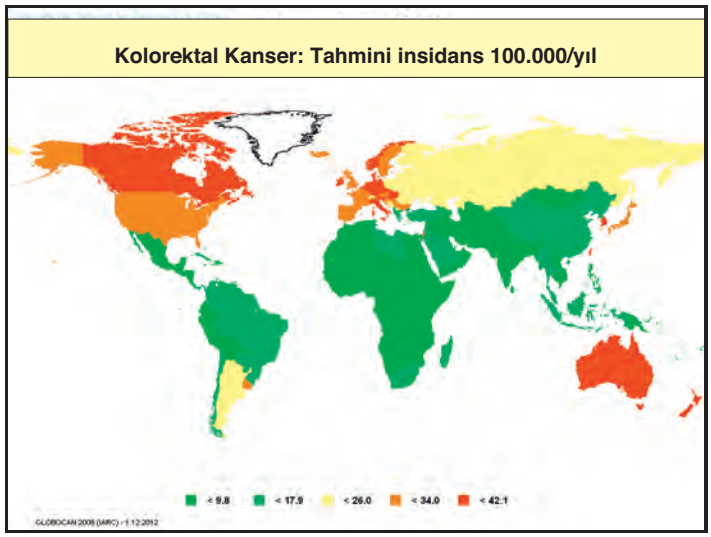
Deneysel hayvan modellerinden elde edilen ve alkolün kansere neden olduğunu gösteren kanıtların toplanabilmesi sigaradaki kimyasalların tespitinden çok daha uzun sürmüştür. Alkolün kanser riski üzerindeki etkisi ile ilgili olarak tanımlanabilen mekanizmalar arasında [19], özellikle üst gastrointestinal sistem ve karaciğerle ilişkili olarak asetaldehite bağlı DNA hasarı; meme kanseriyle ilişkili olarak östrojen sekresyon ve biyoyararlanımında artış; reaktif oksijen ve nitrojen türlerinin üretimi ve folat metabolizmasındaki değişimler sayılabilir.

Diyetin kanser gelişimindeki muhtemel rolünü araştırmak amacıyla modern epidemiyolojik yöntemlerle dizayn edilen ilk vaka kontrol çalışmaları ise 1960'lı ve 1970'li yıllara kadar yapılamamıştır. İlk çalışmalarda çoğunlukla gastrointestinal (mide, kolon, rektum) ve respiratuar (larenks, akciğer) sistemlerle ilgili kanserler araştırılmıştır [31]. Nütrisyona ilginin tekrar artmasını, farklı global popülasyonlardaki kanser insidanslarının yayınlanması tetiklemiştir [9, 10].

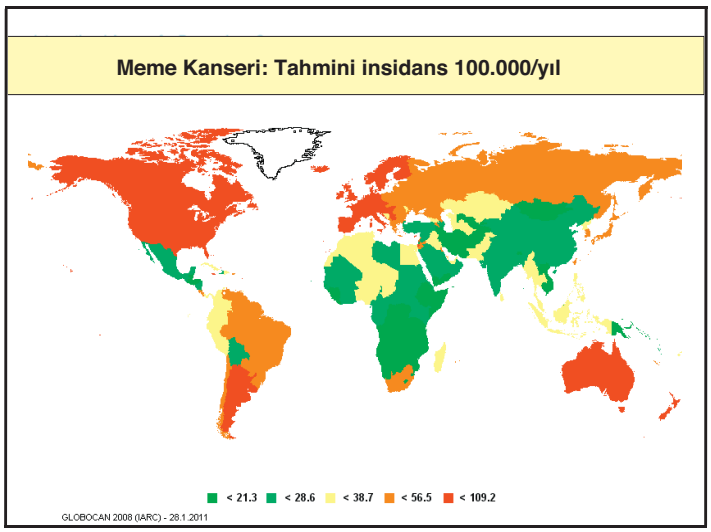
Popülasyon tabanlı kanser kayıt çalışmaları verileri birçok kanserin global insidanslarının ciddi anlamda farklı olduğunu ortaya koydu. Dünya'daki farklı popülasyonlardaki bazı kanserlerin insidansları arasında 15 ila 20 kata varan farklar mevcuttur (Şekil 1).

Tütün kullanım hikayesi ve prevalansındaki farklılıklar veya son zamanlarda gösterildiği üzere hepatit B ve C insidans ve prevalansı veya küf ile kontamine olmuş yiyecek veya alkollü içki kullanımı ile aflatoksinlere maruz kalınması akciğer ve karaciğer kanse-

(a)



(b)



Şekil 1 GLOBOCAN 2008 Dünya genelinde tahmini kanser insidansları 100.000/yıl (**a**) Kolorektal (**b**) Meme kanseri. [14] nolu referanstan uyarlanmıştır.

ri gibi bazı kanser türlerinde görülen varyasyonların ortaya çıkmasında rol oynayan en muhtemel nedenlerdir. Meme, kolon ve rektum, prostat ve mide kanserleri gibi birçok diğer kanser türündeki büyük varyasyonların nedenlerinin bilinmiyor oluşu etyolojilerinde diyetin rol oynayabileceği hipotezini doğurmuştur.

İlk yapılan epidemiyolojik çalışmalarda belirli bazı besinlerle kanser riski arasındaki ilişki araştırılmıştır. Zaman içinde özellikle meyve, sebze ve zengin lifli tahıllar gibi belirli bazı yiyeceklerin tüketilmesi ile kanser riskinin azalabileceğini gösteren bazı kanıtlar ortaya konulmuştur. Buna karşın çok tuz içeren (sebze turşuları, korum amaçlı tuzlanmış et), kırmızı et ve hayvan yağları (bitkisel yağların aksine) kanser riskini artırabilir.

Bu çalışma ile diyet ile kanser riski arasındaki ilişki daha iyi anlaşılmış da olsa, araştırma tüketilen gıdaların toplam tüketim miktarının, alınan besin ve enerji içeriğinin kesin bir ölçümüne değil gıdanın tipine odaklanmıştır. Ayrıca vücut ağırlığı ve fiziksel aktivitenin kanser riskindeki potansiyel önemini incelemeye yönelik bir girişim de yapılmamıştır. O dönemde yağ alımının toplam kalori alımını aşırı düzeyde artırabildiği için değil sadece kimyasal ve nütrisyonel özellikleri nedeniyle kanser riskini artırdığı düşünülüyordu. Obezite majör risk faktörü olarak görülmüyordu. Yapılan çalışmaların hiçbirinde kalori alımının etkileri ile tüketilen yağ miktarının etkisi birbirinden ayrılmamıştı.

1981 yılında Richard Doll ve Richard Peto tarafından kanser nedenleri hakkında yayınlanan dönüm noktası sayılan makalede ABD'deki kanser türlerinin tahmini olarak %35'inin beslenme kaynaklı olabileceği bilgisi mevcuttu. Ancak %10 ila %70 arasında çok geniş bir güven aralığı mevcuttu [11]. Bu makalenin ABD Ulusal Bilim Akademisi'nin (National Academy of Science 1982) diyet ve kanser hakkında yayınladığı başka bir makale ile kombinasyon halinde yayınlanması IARC-WHO'yu harekete geçirerek Dr. Rodolfo Saracci direktörlüğündeki Analitik Epidemiyoloji Ünitesi'nde nütrisyon ve kanser konulu yeni araştırma programının başlatılmasını sağlamıştır.

Diyet, nütrisyonel faktörler, antropometri ve fiziksel aktivitenin kanser riski ile ilişkisini araştırmak üzere özel dizayn edilmiş büyük ölçekli, prospektif, kohort çalışmaları kanser epidemiyolojisinde yeni bir dönemin başlamasına katkı sağlamıştır. Bu çalışmaların ilki Kuzey Amerika'da başlamıştır. Özellikle Harvard Üniversitesi'nden Walter Willett çok büyük kohort çalışmalarında kullanıma uygun anketlerin geliştirilmesinde, makrobesinlerin tüketim ve enerjilerinin hesaplanma ve ayarlanmalarında kullanılan yöntemlerin formülize edilmesinde çok önemli çalışmalar yapmıştır.

Avrupa'da İsveç Lund Üniversitesi IARC kolaborasyonu, Malmö'de prospektif kohort çalışması dizayn etmeye başlamıştır. Paralel olarak Danimarka Kanser Derneği de Kopenhag ve Aarhus'ta benzer bir projenin planlamasına başlamıştır.

Hollanda, İngiltere (Cambridge), İtalya (Milan) ve Fransa'daki (Paris) farklı araştırmacılar da nütrisyon ile ilgili prospektif çalışmaların dizaynlarını yapmaktadır.

Bu yeni ilgi alanında IARC bünyesinde geliştirilen nütrisyon ve kanser araştırma programı, çok merkezli Avrupa prospektif kohort çalışmasının planlamasının temelini oluşturmuş ve sonuç olarak Avrupa Prospektif Kanser ve Nütrisyon Araştırması (EPIC) ortaya çıkmıştır.

2 EPIC Projesinin Dizaynı ve Hayata Geçirilmesi

1989 yılında başlatılan EPIC projesi büyük ölçekli, çok merkezli ve çok dilli kohort çalışmalarında kullanılmak üzere dizayn edilen diyet ölçüm yöntemlerinin rölatif geçerlilik ve tekrarlanabilirliklerini test etmeyi amaçlayan bir dizi metodolojik çalışma ile birlikte başlatılmıştır.

Bu metodolojik çalışmalar bir yıllık periyodun başlangıcında ve bitiminde yeni geliştirilen diyet değerlendirme anketi kullanılarak iki ölçüm yapmayı hedefleyen basit bir dizayna sahiptir. Diyet anketlerinin sonuçları, çalışma süresince aylık olarak yapılan ve 12 kez tekrar edilen 24 saatlik hatırlama (hastaya sorarak görüşmeden önceki gün içindeki yiyecek alımını tanımlama ve oranını saptama) yöntemi ile diyetle ortalama enerji alımını tahmin eden referans yöntemle karşılaştırılmıştır.

Dörder kez tekrar edilen kan ve idrar örneklerinde ölçülen biyomarkerler ile diyetle alınan tahmini besin öğeleri ve gıdalar karşılaştırılmıştır.

Aynı zamanda çok sayıda çalışma deneğinden maliyet etkin bir yöntem ile toplanan yaşam tarzı ve medikal hikaye bilgileri ile alınan biyolojik örneklerin de fizibilitesi test edilmiştir. Bu metodolojik ve pilot fazın başarılı bir şekilde tamamlanması ile Avrupa Komisyonu'nun "Kansere Karşı Avrupa" programı ve birçok ulusal enstitüden sağlanan ve tam ölçekli projenin başlaması için gereken maddi desteğin de önü açılmış oldu.

EPIC kayıtları 7 ana EPIC ülkesindeki (Fransa, Almanya, Yunanistan, İtalya, Hollanda, İspanya ve İngiltere) 17 merkezde 1992 yılında başladı. Devamındaki 2-3 yıl içinde Danimarka, Norveç ve İsveç'te benzer çalışmalar yapan araştırma merkezleri de EPIC konsorsiyumuna katıldı.

Kayıtların büyük bölümü 1993-1999 yılları arasında gerçekleştirildi. Çalışmaya çoğu belirli coğrafi bölgelerde yaşayan genel popülasyondan, 35-70 yaşları arasındaki bireyler davet edildi. Bazı istisnalar da mevcuttu. Örneğin Utrecht kohortu meme kanseri taraması yapılan kadınlardan, Oxford kohortu hem genel popülasyon hem de vejeteryan ve veganlardan, Fransız kohortu da ulusal sağlık sigortası kapsamındaki okul çalışanlarından oluşuyordu.

EPIC, çalışmaya kayıt fazının sona erdiği 1999 yılında 10 Avrupa ülkesindeki 23 çalışma merkezinden 521.330 katılımcı ile kanser ve nütrisyon arasındaki ilişkiyi incelemek üzere dizayn edilen en büyük prospektif kohort çalışması olmuştur (Şekil 2).

Prospektif kohort yaklaşımı diyet ve hayat tarzı faktörleri ile ilgili başlangıç anketlerini, antropometrik karakteristiklerin standardize protokollere göre ölçümünü (vücut ağırlığı, boy, oturma yüksekliği, bel ve kalça çevresi), kan basıncı ve nabız değerlerinin toplanmasını kapsar. EPIC aynı zamanda çok fazla sayıda katılımcıdan kan örneklerinin toplanarak saklandığı ilk çalışmaydı: Her biri 30 ml olan 388.467 kan örneği alındıktan sonra her örnek sitratlı plazma ve serum içeren 28 plastik pipete bölünerek, sıvı nitrojen içinde saklandı. Örnekler güvenlik amacıyla bölünerek IARC'nin ana deposunda ve her ulusal merkezde depolandı.

Avrupa Prospektif Kanser ve Nütrisyon Araştırması (EPIC): Sorumlu Araştırmacılar ve Katılımcı Merkezler

Imperial College Londra (ICL)
• Elio Riboli (EPIC Koordinatörü), Gwyneth Davey†, Marc Gunter, Teresa Norat.

Uluslararası Kanser Araştırmaları Ajansı Dünya Sağlık Örgütü (IARC, Lyon)
• Isabelle Romieu, Paul Brennan, Pietro Ferrari, Mazda Jenab, Nadia Slimani, Rodolfo Saracci.

Danimarka
• Kim Overvad, Aarhus Üniversitesi
• Anne Tjønneland, Danimarka Kanser Derneği, Kopenhag.

Fransa
• Marie-Christine Boutron-Ruault, Françoise Clavel-Chapelon, Laure Dossus, INSERM U1018, Paris South Üniversitesi and Gustave Roussy Enstitüsü, Villejuif.

Almanya
• Heiner Boeing, Alman İnsan Nütrisyon Enstitüsü, Potsdam.
• Rudolf Kaaks, DKFZ, Heidelberg.

Yunanistan
• Antonia Trichopoulou, Hellenic Sağlık Vakfı; Atina Üniversitesi Tıp Fakültesi
• Dimitrios Trichopoulos, Harvard Halk Sağlığı Fakültesi Atina Akademisi
• Pagona Lagiou, Atina Üniversitesi Tıp Fakültesi

İtalya
• Franco Berrino and Vittorio Krogh, Ulusal Kanser Enstitüsü, Milan.
• Domenico Palli, Giovanna Masala, Kanser Araştırma ve Önleme Merkezi-CSPO, Floransa
• Salvatore Panico, Federico II Üniversitesi, Napoli.
• Rosario Tumino, Kanser Kayıt, Associazione Iblea Ricerca Epidemiologica - ONLUS and ASP, Ragusa.
• Paolo Vineis, Turin Üniversitesi ve HuGeF Vakfı.

Hollanda
• Bas Bueno-de-Mesquita, Ulusal Halk Sağlığı ve Çevre Enstitüsü, Bilthoven
• Petra Peeters, Julius Sağlık Bilimleri ve Birinci Basamak Merkezi, Üniversite Medikal Merkezi, Utrecht.

Norveç
• Eiliv Lund,Guri Skeie, Elisabete Weiderpass, Toplum Sağlığı Departmanı, Tromsø Üniversitesi



İspanya
• Carlos A. González, Antonio Agudo, Eric Duell, Katalan Onkoloji Enstitüsü, Barcelona
• Aurelio Barricarte, Navarre Halk Sağlığı Enstitüsü, Pamplona.
• Miren Dorronsoro, Guipuzcoa Halk Sağlığı Ofisi, San Sebastian.
• Carmen Navarro, Murcia Bölgesel Sağlık Konseyi, Murcia
• María José Sánchez Pérez, Andalusian Halk Sağlığı Okulu, Granada.
• J. Ramon Quirós Halk Sağlığı Direktörlüğü, Asturias.

İsveç
• Göran Berglund, Jonas Manjer, Malmö Diyet ve Kanser Çalışması, Lund Üniversitesi, Malmö.
• Göran Hallmans, Mattias Johannson, Malin Sund, Umeå Üniversitesi.

İngiltere
• Nicholas E Day, Kay-Tee Khaw, Sheila Bingham†, Nicolas Wareham, John Danesh, Cambridge Üniversitesi.
• Timothy J Key, Ruth C Travis, Oxford Üniversitesi.

Şekil 2 EPIC konsorsiyumunda yer alan Avrupa merkezleri ve sorumlu araştırmacıları.

EPIC Çalışmasının ana özelliklerinden birisi geniş coğrafi kapsama alanı sayesinde değişken diyet ve hayat tarzı alışkanlıkları ile farklı kanser insidanslarına sahip popülasyonlardan oluşmasıdır. Çalışma dizaynındaki maruziyet ve hastalık sonuçları ile ilgili heterojeniteler, diyet ile hastalıklar arasındaki ilişkilerin belirlenmesindeki genel istatistiksel gücü artırması yönünden önemlidir.

Ancak çalışma merkezleri arasındaki diyet ve dil farklılıkları, belirli gıda ve besin öğelerinin alım miktarlarının sistematik olarak gerçekte olandan daha az ya da daha çok tahmin edilmesine yol açabilir. Bu metodolojik zorluğun üstesinden gelebilmek amacıyla içerdiği kalibrasyon alt çalışması ile diyet ölçümünü iyileştirmeyi amaçlayan bir araştırma programı geliştirildi. Her EPIC ülkesinde tüm kohortun %7'sini (38.000 kişi) kapsayan

detaylı 24 saatlik diyet hatırlama değerlendirmeleri yapıldı. Bu veriler kullanılarak her merkezden alınan veriler kalibre edildi. Böylece çalışmanın başlangıcındaki diyet değerlendirmelerindeki olası sistematik tahmin hatalarının düzeltilmesi amaçlandı.

Katılımcılar başlangıç verilerinin toplanmasından sonra diyet ve hayat tarzlarında olabilecek majör değişiklikler ile sık görülen hastalıklar ve medikal problemler yönünden takip edildiler.

Takibin amacı EPIC kohortunda gelişen kanser vakalarının popülasyon kanser kayıt verilerinden faydalanarak belirlenmesiydi. Yaşadıkları bölge itibarı ile kayıt çalışmaları kapsamına girmeyen deneklerin mevcut olduğu bazı EPIC ülkelerinde (örn. Fransa, Almanya, Yunanistan) kanser insidans bilgilerine çalışma deneklerinin ve yakınlarının aktif takibi, sağlık sigortası kayıtları, klinik ve patolojik kayıtlar gibi yöntemler ile ulaşıldı.

IARC-WHO bünyesindeki güvenli merkezi veri tabanında saklanan bu veriler spesifik çalışmalar için EPIC araştırmacılarının hizmetine sunulmaktadır. Şu ana kadar 60.000'in üzerinde yeni kanser vakası bildirilmiştir. Bunlar arasında yaklaşık 14.000 meme, 3600 akciğer, 5200 kolorektal, 1180 pankreas ve 1400 endometrium kanseri vakası mevcuttur. Bu veriler kanser nedenlerini araştıracak yeterli güce sahip çalışmalar için altyapı oluşturmaktadır.

3 Nütrisyon, Metabolik Faktörler ve Kanser ile İlgili Araştırma Bulguları

EPIC kanser etyolojisi ile ilgili epidemiyolojik çalışmalar için gelişmiş ve büyük ölçekli bir kaynaktır. Diyet, fiziksel aktiviteler, antropometri ve biyomarker ölçümü ile ilgili çalışma verileri, nütrisyonun ve metabolik faktörlerin kanserde oynadığı rol ile ilgili büyük resmi oluşturabilmek amacıyla entegre edilebilir. Aşağıda EPIC kapsamındaki araştırmanın bazı önemli noktaları özetlenmiştir.

3.1 Gıdalar ve Besin Öğeleri

Belirli gıda ve besin öğelerinin kanser riski ile ilişkisi hakkında EPIC kapsamında gerçekleştirilen spesifik araştırma projelerinde spesifik kanser türlerinin gelişimi ile ilgili birçok ilişki belirlemiştir. Bunlar aşağıda kısaca özetlenmektedir.

Özellikle tahıl kaynaklı lif tüketiminin kolorektal kanser gelişim riskini istikrarlı ve yüksek oranda anlamlı olarak azalttığı bulunmuştur [2, 3]. Kırmızı et ve işlenmiş et ürünleri mide, kolon ve rektumu da kapsayan sindirim kanalı kanserlerinde artışla ilişkilidir [17, 32].

Bazı besin öğelerinin belirli kan düzeylerinde bulunmaları anlamlı olarak azalmış kanser riski ile ilişkili bulunmuştur. B vitaminlerinin kolorektal kanserler [12] ile akciğer kanserine [23], askorbik asit ve bazı karotenoidlerin mide kanserine [20], D vitamininin kolorektal kanserlere [22] karşı koruyucu etkileri ile ilgili kayda değer bağlantılar bulunmuştur.

Ancak bu makalenin ana odak noktası antropometrik ve metabolik faktörler ile kanser riski arasındaki ilişkiyle ilgili majör bulgulardır.

3.2 Obezite

Vücut kütle indeksi (VKİ) ile diğer antropometrik ölçütler ve kanser riski arasındaki ilişki EPIC popülasyonundaki birçok kanser tipi için araştırılmıştır. Vücut ağırlığı ve VKİ erkeklerdeki kolon kanseri riskiyle pozitif ilişkili bulunmuştur. Aynı ilişki kadınlarda zayıftır ya da mevcut değildir. Ancak abdominal obezitenin göstergesi olan bel çevresi ve bel-kalça oranı (BKO) analizlerinin hem kadın hem de erkeklerdeki kolon kanserini tahmin etmekte kullanılabilecekleri bulunmuştur. En yüksek BKO'ya sahip beşte birlik dilim ile en düşük BKO'ya sahip beşte birlik dilim arasındaki rölatif risk erkeklerde 1.51 (%95 CI = 1.06-2.15); kadınlarda ise 1.52 (%95 CI = 1.12-2.05) bulunmuştur [33].

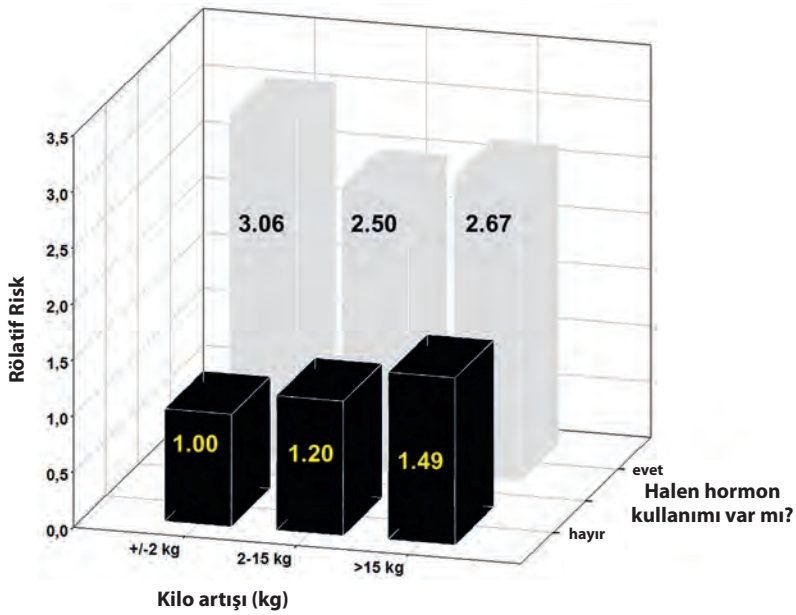
Postmenopozal kadınlardaki abdominal obezitenin kolon kanseri ile ilişkisi hormon replasman tedavisi (HRT) kullanımına bağlı olarak değişimler gösterir. Hiç HRT uygulanmamış kadınlarda daha sıklıkla ortaya çıkıyor görünmektedir. Bu konunun incelenmesi için ilave çalışmalara ihtiyaç vardır [33].

Bel çevresi ≥88 cm olan kadınlarda kolon kanserinin rölatif riski bel çevresi <80 cm olanlara göre 1.76'dır (%95 CI = 1.42-2.19); kilo, bel, kalça çevresi ve BKO ile artmış endometrial kanser riski arasında da güçlü bir ilişki mevcuttur [16].

Fazla kilolu olmanın (VKİ ile gösterilir) HRT uygulanmayan postmenopozal kadınlardaki meme kanseri riskinin anlamlı bir göstergesi olduğu bulunmuştur. Analiz başlangıçta veya başlangıçtan birkaç yıl önce HRT kullanan kadınlar ile sınırlandığında VKİ ile meme kanseri arasındaki ilişkinin gözle görülür şekilde zayıfladığı gözlenmiştir [27]. Diğer bazı kohort çalışmalarında da benzer sonuçlar bildirilmiştir [18]. Ancak bu sonuçlar yorumlanırken her iki risk faktörünün gerçek zamanlı sıralaması göz önüne alınmamıştır. Gerçekte bu kadınlar önce kilo almış, daha sonra da HRT tedavisi kullanmaya başlamışlardır (veya başlamamışlardır). Bu nedenle HRT ile normal kilolu kadınlardaki meme kanseri riski daha fazla artarken, fazla kilolu ve obez kadınlarda progresif olarak daha az artış görüldüğü yönünde yorumlanmalıdır (Şekil 3.).

Premenopozal kadınlarda meme kanseri ile vücut ağırlığı ve VKİ arasında zayıf bir ters orantı mevcuttur. EPIC çalışmasında bu ilişki anlamlı bulunmamıştır. Ancak bazı çalışmaların sonuçlarının da benzer yönde olması beklenmeyen bir araştırma sorusunun doğmasına neden olmuştur. Fazla kilolu ve obez kadınlardaki meme kanseri riskinin 45-50 yaşlarından önce niçin azaldığını açıklayabilecek bir mekanizma mevcut değildir.

Bu beklenmeyen bağlantı, EPIC çalışmasında bir insülin rezistansı markeri olan C-peptid düzeylerinin artmasının meme kanseri riski ile ters orantılı olduğunun bulunması ile desteklenmiştir. Bu markerin artışı menopoz öncesi meme kanserinde hafif azalmanın, menopoz sonrasındaki riskte de artışın göstergesidir.[49].



Şekil 3 EPIC çalışmasındaki postmenopozal kadınlarda çok değişkenli, düzeltilmiş, rölatif meme kanseri riskinin kilo alımı ve hormon kullanımı yönünden değerlendirilmesi.

Popülasyonun çeşitli segmentlerdeki etki farklılıkları göz önüne alındığında obezitenin hangi mekanizmalarla kanser riskini etkilediğinin anlaşılması önem kazanmaktadır. Meme kanseri etyolojisinde hormonal mekanizmaların rol oynadığı teorisini destekleyen çok önemli kanıtlar mevcuttur.

Orta ve yüksek düzeyde fiziksel aktivite ile eğlence ve ev aktivitelerinin kombinasyonunun fazla kilodan bağımsız olarak meme kanseri riskini azalttığı bulunmuştur. Meme kanseri ile hormon reseptör durumu arasındaki heterojen bağlantılar, hormonlarla ilgili mekanizmaların rol oynadığını göstermektedir [28, 40].

Benzer şekilde artan fiziksel aktivitenin kolorektal kanser riskini de azalttığı bulunmuştur. Fiziksel olarak aktif ve zayıf olan bireylerdeki bu risk fazla kilolu ve sedanter bireylere göre yarı yarıya azalmıştır [15].

Fiziksel aktivite ile lenfoid neoplazmaları da içeren diğer birçok kanser tipi arasında bir ilişki tespit edilememiştir [48].

3.3 Boy

Erken boy uzamasının hayatın ilerleyen dönemlerindeki kanser riskini artırabileceği teorisi ile uyumlu olarak, boyun bazı kanserlerin riskinde ve genel kanser insidansı ile kanser mortalitesinde artış ile ilişkili olduğu gösterilmiştir [50].

Bu ilişkinin özellikle kolorektal ve meme kanseri için geçerli olduğu EPIC çalışmasında gösterilmiştir. Uzun boylu erkek (≥180.5 cm) ve kadınlardaki (≥167.5 cm) kolorektal kanser rölatif riski (RR) kısa boylu erkek (<168 cm) ve kadınlara (<156 cm) göre sırasıyla 1.40 (95% CI = 0.99–1.98) ve 1.79 (%95 CI = 1.30–2.46)bulunmuştur. Boy farkları arasında lineer bir ilişki mevcuttur [33].

Uzun boylu kadınlarda kısa boylu kadınlara göre meme kanseri riski premenopozal kadınlarda 1.33 (%95 CI 0.96–1.84) postmenopozal kadınlarda ise 1.40 (%95 CI 1.16–1.69) bulunmuştur.

Burada da boy farkları arasında lineer ilişki mevcuttur. Her 5 cm daha uzun boy premenopozal kadınlarda 1.05 (%95 CI 1.00–1.16) postmenopozal kadınlarda ise 1.10 (%95 CI 1.05–1.16) risk artışına yol açmaktadır.

Boy uzunluğunun kanser üzerindeki etkilerinin mekanizması bilinmemekle birlikte, muhtemelen genetik, çevresel, hormonal ve nütrisyonel faktörlerin bir kombinasyonundan kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Burada ilgi çekici olan nokta metabolik faktörlerin erken yaşlarda, birey en uzun boyuna ulaşmadan önce etki ederek hayatın ilerleyen dönemlerinde etkisini gösterecek kalıcı bir "damga" bırakmasıdır. Hem büyümeyi hem de hayatın devamında ortaya çıkan bulaşıcı olmayan kanser, kardiyovasküler ve respiratuar hastalıkları etkileyen faktörlerin anlaşılması henüz bilinmeyen hastalık mekanizmalarının anlaşılması için gelecekte yapılacak araştırmalarda incelenecek önemli konular olmalıdır.

3.4 İnsülin Rezistansı

Kompleks bir metabolik durum olan insülin rezistansında hücrelere glukoz girişi için normalden daha yüksek insülin düzeyleri gerekmektedir. Pankreas bozukluğun hafif seviyelerinde insülin sentezini artırarak artan ihtiyaca cevap verebilir. İnsülin rezistansı ilerledikçe pankreas gereken insülin miktarını sağlayamaz hale gelir. Böylece yüksek insülin seviyeleri ile hiperglisemi birlikte görülür. Bu bozukluk yıllar içinde ilerleyerek belirgin tip 2 diyabet gelişimine yol açabilir ya da bireyin hayatı boyunca hafif düzeyde seyrederek diyabete yol açmaz.

İnsülin rezistansının tespiti için en yaygın kullanılan serum markerleri C-peptid ve glikolize hemoglobindir (HbA1c). Yükselen C-peptid düzeyleri insülin rezistansını HbA1c'ye göre daha erken gösteren bir markerdir. Glikolize hemoglobin ancak periferik insülin rezistansını kompanse etmek ve glisemiyi kontrol etmek için gereken yüksek insülin sekresyonu yeterli olmadığı zaman normal seviyelerin üzerine yükselir. Buna karşın insülin sekresyonunun bir markeri olan C-peptid ise glisemi ve HbA1c henüz normal değer aralığında iken bile yükselebilir. Bu nedenle EPIC çalışmasındaki insülin rezistansının kanser riski ile ilişkisini inceleyen birçok araştırmada C-peptid değerlerini kullanmayı tercih ettik.

İlk olarak New York Üniversitesi Kadın Sağlığı Çalışmasında serum C-peptid düzeyleri ile kolon ve rektum kanserinin rölatif riski arasında güçlü bir ilişki bildirdik. C-peptid değerleri yönünden en yüksek ve düşük beşte birlik dilimler arasındaki olasılık oranını 2.92 (%95 CI 1.26-6.75) olarak tespit ettik [24]. Aynı ilişki EPIC çalışmasındaki çok daha fazla sayıdaki kolon ve rektum kanser vakaları için de tespit edilmiş olsa da aradaki ilişkinin gücü daha düşük bulunmuştur [21].

Tüm yaşlardaki endometrium kanseri için de pozitif bir ilişki gözlenmiştir [4]. Meme kanseri için premenopozal ve postmenopozal kadınlarda ise birbirinin karşıtı etkiler tespit edilmiştir (aşağıda tanımlanmıştır, [49]). Meme kanseri tanısı sırasında 50 yaşından genç olan ve başlangıç C-peptid düzeyleri yüksek olan hastalardaki meme kanseri riskinin anlamlı olarak azaldığı tespit edilmiştir [49].

3.5 Seks Steroid Hormonları

Kanserin yukarıda tanımlanan antropometrik özellikleri ile ilgili altta yatan hormonal mekanizmalar mevcuttur. Bu durum EPIC çalışmasının meme kanseri araştırmaları gibi hormonal faktörler ile kanser riskini araştıran birçok detaylı çalışmanın doğmasına yol açmıştır.

VKİ ile meme kanseri riski arasında doğru orantı bulunan postmenopozal kadınlarda VKİ ile östron, serbest östradiol ve serbest testosteron düzeyleri arasında da doğru orantı mevcuttur [25]. Seks hormonu bağlayıcı globülin (SHBG) düzeyleri ile VKİ arasında ters orantı mevcuttur. Bu glikoprotein androjen ve östrojenleri tecrit ederek hücre reseptörlerine bağlanmalarına engel olur. Bu gözlemlere ek olarak, bir grup hormonun seviyelerindeki artmanın artan meme kanseri riski ile güçlü ilişkisi mevcuttur. SHBG meme kanseri riskinde azalma ile ilişkili olan tek faktördür (Şekil 4.) [25].

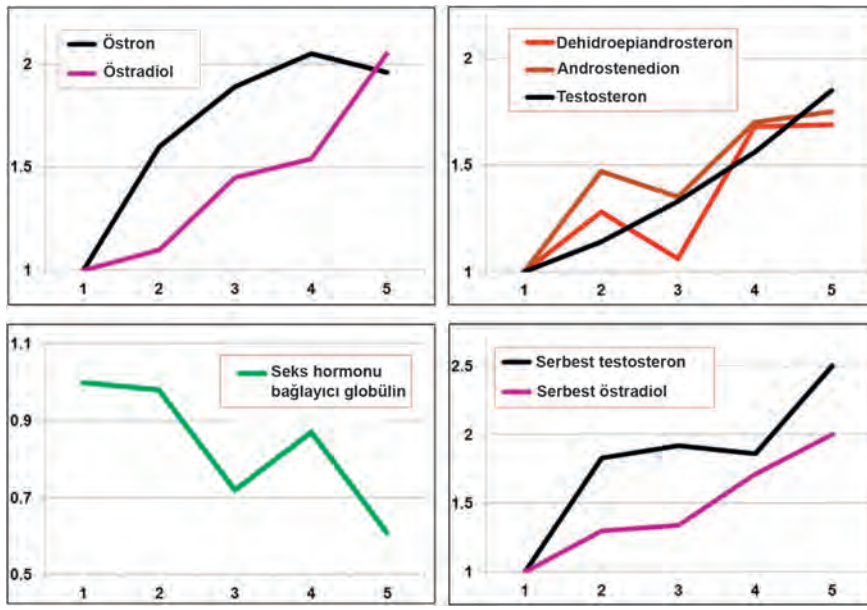
Buna karşın (VKİ ile meme kanseri arasında ters orantı mevcut olan) premenopozal kadınlardaki östrojen veya SHBG ilişkileri gözlenmemiştir. Ancak artmış androjen düzeyleri meme kanseri riskinde artış ile ilişkilidir [26].

4 Sonuçlar

Kanserin oluşumunda bir dizi kimyasal, fiziksel ve biyolojik karsinojenlerin rol oynadığı kesindir. Bu faktörler bazı durumlarda Dünya'daki kanser insidanslarındaki varyasyonların çoğundan da sorumludur. Ancak bu faktörler dünyadaki kanser yükünün önemli bir kısmını oluşturan birçok kanser türündeki global varyasyonları açıklayamamaktadırlar.

Geçmiş dekadlarda gerçekleştirilen özellikle EPIC gibi büyük ölçekli prospektif çalışmaları da içeren araştırmalarda diyet, nütrisyon, fiziksel aktivite ve antropometrinin popülasyonlardaki kanser riski üzerinde majör rol oynadıkları tespit edilmiştir.

Bilimsel bir bakış açısı ile Batı tipi diyet ve hayat tarzının bazı komponentleri ile ilişkili olan yüksek kanser riskinin altında yatan mekanik etkilerin anlaşılması oldukça zordur. Bu etki genel bir bozukluktan ziyade normal fizyolojik prosesin ince modülasyonu veya hafif bozukluğundan kaynaklanabilir. Bu durum bazı güçlü eksojen karsinojenler için geçerli olabilir.



Şekil 4 EPIC çalışmasında ortalama 8 yıl takip edilen 300.000 postmenopozal kadındaki serum seks steroid düzeylerine göre (beşte birlik dilimlere ayrılmış) rölatif meme kanseri riski Çalışma merkezinde koşullu lojistik regresyon ile hesaplanan olasılık oranı, kan alımı sırasındaki yaş, zaman ve açlık durumu, meme kanseri olan vakalar ile kontroller arasında eşleştirme faktörleri olarak kullanılarak tahmin edilmiştir. x ekseni: düşükten [45] yükseğe [10] beşte birlik hormon konsantrasyon dilimleri; y ekseni: rölatif risk

Bu metabolik hayat tarzı faktörleri halk sağlığı açısından bakıldığında bilinen majör kardiyovasküler ve diyabet risk faktörleri ile büyük oranda örtüştükleri için büyük ilgi çekmekte ve aynı halk sağlığı girişimlerinin kullanılarak birçok bulaşıcı olmayan hastalığın önlenebilmesine imkân sunmaktadırlar [13].

Claire Westwood'da metnin hazırlanmasındaki yardımları için teşekkür ederim. Aşağıdakilere EPIC çalışmasına yaptıkları finansal destekler için teşekkür ederim: European Commission (DG-SANCO); International Agency for Research on Cancer; Danish Cancer Society (Denmark); Ligue Contre le Cancer, Institut Gustave Roussy, Mutuelle Générale de l'Education Nationale, Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale (INSERM) (France); Deutsche Krebshilfe, Deutsches Krebsforschungszentrum and Federal Ministry of Education and Research (Germany); Ministry of Health and Social Solidarity, Stavros Niarchos Foundation and Hellenic Health Foundation (Greece); Italian Association for Research on Cancer (AIRC) and National Research Council (Italy); Dutch Ministry of Public Health, Welfare and Sports (VWS), Netherlands Cancer Registry (NKR), LK Research Funds, Dutch Prevention Funds, Dutch ZON (Zorg Onderzoek Nederland), World Cancer Research Fund (WCRF), Statistics Netherlands (The Netherlands); ERC-2009-AdG 232997 and Nordforsk, Nordic Centre of Excellence programme on Food, Nutrition and Health. (Norway); Health Research Fund (FIS), Regional Governments of Andalucía, Asturias, Basque Country, Murcia and Navarra, ISCIII RETIC (RD06/0020) (Spain); Swedish Cancer Society, Swedish Scientific Council and

Regional Government of Skåne and Västerbotten (Sweden); Cancer Research UK, Medical Research Council, Stroke Association, British Heart Foundation, Department of Health, Food Standards Agency, and Wellcome Trust (United Kingdom).

Referanslar

1. Belanger C, Speizer FE, Hennekens CH, Rosner B, Willett W, Bain C (1980) The nurses' health study: current findings. Am J Nurs 80:1333
2. Bingham SA, Day NE, Luben R, Ferrari P, Slimani N, Norat T, Clavel-Chapelon F, Kesse E, Nieters A, Boeing H, Tjonneland A, Overvad K, Martinez C, Dorronsoro M, Gonzalez CA, Key TJ, Trichopoulou A, Naska A, Vineis P, Tumino R, Krogh V, Bueno-De-Mesquita HB, Peeters PH, Berglund G, Hallmans G, Lund E, Skeie G, Kaaks R, Riboli E (2003) Dietary fibre in food and protection against colorectal cancer in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC): an observational study. Lancet 361:1496–1501
3. Bingham SA, Norat T, Moskal A, Ferrari P, Slimani N, Clavel-Chapelon F, Kesse E, Nieters A, Boeing H, Tjonneland A, Overvad K, Martinez C, Dorronsoro M, Gonzalez CA, Ardanaz E, Navarro C, Quiros JR, Key TJ, Day NE, Trichopoulou A, Naska A, Krogh V, Tumino R, Palli D, Panico S, Vineis P, Bueno-De-Mesquita HB, Ocke MC, Peeters PH, Berglund G, Hallmans G, Lund E, Skeie G, Kaaks R, Riboli E (2005) Is the association with fiber from foods in colorectal cancer confounded by folate intake? Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 14:1552–1556
4. Cust AE, Allen NE, Rinaldi S, Dossus L, Friedenreich C, Olsen A, Tjonneland A, Overvad K, Clavel-Chapelon F, Boutron-Ruault MC, Linseisen J, Chang-Claude J, Boeing H, Schulz M, Benetou V, Trichopoulou A, Trichopoulos D, Palli D, Berrino F, Tumino R, Mattiello A, Vineis P, Quiros JR, Agudo A, Sanchez MJ, Larranaga N, Navarro C, Ardanaz E, Bueno-De-Mesquita HB, Peeters PH, van Gils CH, Bingham S, Khaw KT, Key T, Slimani N, Riboli E, Kaaks R (2007) Serum levels of C-peptide, IGFBP-1 and IGFBP-2 and endometrial cancer risk; results from the European prospective investigation into cancer and nutrition. Int J Cancer 120:2656–2664
5. Doll R, Hill AB (1950) Smoking and carcinoma of the lung; preliminary report. Br Med J 2:739–748
6. Doll R, Hill AB (1952) A study of the aetiology of carcinoma of the lung. Br Med J 2:1271–1286
7. Doll R, Hill AB (1954) The mortality of doctors in relation to their smoking habits; a preliminary report. Br Med J 1:1451–1455
8. Doll R, Hill AB (1956) Lung cancer and other causes of death in relation to smoking; a second report on the mortality of British doctors. Br Med J 2:1071–1081
9. Doll R, Payne P, Waterhouse JAH (eds) (1966) Cancer Incidence in Five Continents: a Technical Report Union Internationale Contre le Cancer, Geneva
10. Doll R, Muir CS, Waterhouse JAH (eds) (1970) Cancer Incidence in Five Continents, vol II. Union Internationale Contre le Cancer, Geneva
11. Doll R, Peto R (1981) The causes of cancer: quantitative estimates of avoidable risks of cancer in the United States today. J Natl Cancer Inst 66:1191–1308
12. Eussen SJ, Vollset SE, Hustad S, Midttun O, Meyer K, Fredriksen A, Ueland PM, Jenab M, Slimani N, Boffetta P, Overvad K, Thorlacius-Ussing O, Tjonneland A, Olsen A, Clavel-Chapelon F, Boutron-Ruault MC, Morois S, Weikert C, Pischon T, Linseisen J, Kaaks R, Trichopoulou A, Zilis D, Katsoulis M, Palli D, Pala V, Vineis P, Tumino R, Panico S, Peeters PH, Bueno-de-Mesquita HB, van Duijnhoven FJ, Skeie G, Munoz X, Martinez C, Dorronsoro M, Ardanaz E, Navarro C, Rodriguez L, VanGuelpen B, Palmqvist R, Manjer J, Ericson U, Bingham S, Khaw KT, Norat T, Riboli E (2010) Plasma vitamins B2, B6, and B12, and

related genetic variants as predictors of colorectal cancer risk. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 19:2549–2561
13. Ezzati M, Riboli E (2012) Can noncommunicable diseases be prevented? Lessons from studies of populations and individuals. Science 337:1482–1487
14. Ferlay J, Shin HR, Bray F, Forman D, Mathers C and Parkin DM. GLOBOCAN 2008 v2.0, Cancer Incidence and Mortality Worldwide: IARC CancerBase No. 10 [Internet]. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer; 2010. Available from: http://globocan.iarc.fr. accessed on 01 Dec 12 (colorectum); 28 Jan 2011 (breast)
15. Friedenreich C, Norat T, Steindorf K, Boutron-Ruault MC, Pischon T, Mazuir M, Clavel-Chapelon F, Linseisen J, Boeing H, Bergman M, Johnsen NF, Tjonneland A, Overvad K, Mendez M, Quiros JR, Martinez C, Dorronsoro M, Navarro C, Gurrea AB, Bingham S, Khaw KT, Allen N, Key T, Trichopoulou A, Trichopoulos D, Orfanou N, Krogh V, Palli D, Tumino R, Panico S, Vineis P, Bueno-De-Mesquita HB, Peeters PH, Monninkhof E, Berglund G, Manjer J, Ferrari P, Slimani N, Kaaks R, Riboli E (2006) Physical activity and risk of colon and rectal cancers: the European prospective investigation into cancer and nutrition. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 15:2398–2407
16. Friedenreich C, Cust A, Lahmann PH, Steindorf K, Boutron-Ruault MC, Clavel-Chapelon F, Mesrine S, Linseisen J, Rohrmann S, Boeing H, Pischon T, Tjonneland A, Halkjaer J, Overvad K, Mendez M, Redondo ML, Garcia CM, Larranaga N, Tormo MJ, Gurrea AB, Bingham S, Khaw KT, Allen N, Key T, Trichopoulou A, Vasilopoulou E, Trichopoulos D, Pala V, Palli D, Tumino R, Mattiello A, Vineis P, Bueno-De-Mesquita HB, Peeters PH, Berglund G, Manjer J, Lundin E, Lukanova A, Slimani N, Jenab M, Kaaks R, Riboli E (2007) Anthropometric factors and risk of endometrial cancer: the European prospective investigation into cancer and nutrition. Cancer Causes Control 18:399–413
17. Gonzalez CA, Jakszyn P, Pera G, Agudo A, Bingham S, Palli D, Ferrari P, Boeing H, Del GG, Plebani M, Carneiro F, Nesi G, Berrino F, Sacerdote C, Tumino R, Panico S, Berglund G, Siman H, Nyren O, Hallmans G, Martinez C, Dorronsoro M, Barricarte A, Navarro C, Quiros JR, Allen N, Key TJ, Day NE, Linseisen J, Nagel G, Bergmann MM, Overvad K, Jensen MK, Tjonneland A, Olsen A, Bueno-De-Mesquita HB, Ocke M, Peeters PH, Numans ME, Clavel-Chapelon F, Boutron-Ruault MC, Trichopoulou A, Psaltopoulou T, Roukos D, Lund E, Hemon B, Kaaks R, Norat T, Riboli E (2006) Meat intake and risk of stomach and esophageal adenocarcinoma within the European Prospective Investigation Into Cancer and Nutrition (EPIC). J Natl Cancer Inst 98:345–354
18. Huang Z, Hankinson SE, Colditz GA, Stampfer MJ, Hunter DJ, Manson JE, Hennekens CH, Rosner B, Speizer FE, Willett WC (1997) Dual effects of weight and weight gain on breast cancer risk. JAMA 278:1407–1411
19. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans (2010) Alcohol Consumption and Ethyl Carbamate, vol 96. IARC, Lyon, France
20. Jenab M, Riboli E, Ferrari P, Sabate J, Slimani N, Norat T, Friesen M, Tjonneland A, Olsen A, Overvad K, Boutron-Ruault MC, Clavel-Chapelon F, Touvier M, Boeing H, Schulz M, Linseisen J, Nagel G, Trichopoulou A, Naska A, Oikonomou E, Krogh V, Panico S, Masala G, Sacerdote C, Tumino R, Peeters PH, Numans ME, Bueno-de-Mesquita HB, Buchner FL, Lund E, Pera G, Sanchez CN, Sanchez MJ, Arriola L, Barricarte A, Quiros JR, Hallmans G, Stenling R, Berglund G, Bingham S, Khaw KT, Key T, Allen N, Carneiro F, Mahlke U, Del GG, Palli D, Kaaks R, Gonzalez CA (2006) Plasma and dietary vitamin C levels and risk of gastric cancer in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC-EURGAST). Carcinogenesis 27:2250–2257
21. Jenab M, Riboli E, Cleveland RJ, Norat T, Rinaldi S, Nieters A, Biessy C, Tjonneland A, Olsen A, Overvad K, Gronbaek H, Clavel-Chapelon F, Boutron-Ruault MC, Linseisen J, Boeing H, Pischon T, Trichopoulos D, Oikonomou E, Trichopoulou A, Panico S, Vineis P, Berrino F, Tumino R, Masala G, Peters PH, van Gils CH, Bueno-De-Mesquita HB, Ocke MC, Lund E, Mendez MA, Tormo MJ, Barricarte A, Martinez-Garcia C, Dorronsoro M, Quiros JR, Hallmans G, Palmqvist R, Berglund G, Manjer J, Key T, Allen NE, Bingham S,

Khaw KT, Cust A, Kaaks R (2007) Serum C-peptide, IGFBP-1 and IGFBP-2 and risk of colon and rectal cancers in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition. Int J Cancer 121:368–376

22. Jenab M, Bueno-De-Mesquita HB, Ferrari P, van Duijnhoven FJ, Norat T, Pischon T, Jansen EH, Slimani N, Byrnes G, Rinaldi S, Tjonneland A, Olsen A, Overvad K, Boutron-Ruault MC, Clavel-Chapelon F, Morois S, Kaaks R, Linseisen J, Boeing H, Bergmann MM, Trichopoulou A, Misirli G, Trichopoulos D, Berrino F, Vineis P, Panico S, Palli D, Tumino R, Ros MM, van Gils CH, Peeters PH, Brustad M, Lund E, Tormo MJ, Ardanaz E, Rodriguez L, Sanchez MJ, Dorronsoro M, Gonzalez CA, Hallmans G, Palmqvist R, Roddam A, Key TJ, Khaw KT, Autier P, Hainaut P, Riboli E (2010) Association between pre-diagnostic circulating vitamin D concentration and risk of colorectal cancer in European populations:a nested case-control study. BMJ 340:b5500
23. Johansson M, Relton C, Ueland PM, Vollset SE, Midttun O, Nygard O, Slimani N, Boffetta P, Jenab M, Clavel-Chapelon F, Boutron-Ruault MC, Fagherazzi G, Kaaks R, Rohrmann S, Boeing H, Weikert C, Bueno-de-Mesquita HB, Ros MM, van Gils CH, Peeters PH, Agudo A, Barricarte A, Navarro C, Rodriguez L, Sanchez MJ, Larranaga N, Khaw KT, Wareham N, Allen NE, Crowe F, Gallo V, Norat T, Krogh V, Masala G, Panico S, Sacerdote C, Tumino R, Trichopoulou A, Lagiou P, Trichopoulos D, Rasmuson T, Hallmans G, Riboli E, Vineis P, Brennan P (2010) Serum B vitamin levels and risk of lung cancer. JAMA 303:2377–2385
24. Kaaks R, Toniolo P, Akhmedkhanov A, Lukanova A, Biessy C, Dechaud H, Rinaldi S, Zeleniuch-Jacquotte A, Shore RE, Riboli E (2000) Serum C-peptide, insulin-like growth factor (IGF)-I, IGF-binding proteins, and colorectal cancer risk in women. J Natl Cancer Inst 92:1592–1600
25. Kaaks R, Rinaldi S, Key TJ, Berrino F, Peeters PH, Biessy C, Dossus L, Lukanova A, Bingham S, Khaw KT, Allen NE, Bueno-De-Mesquita HB, van Gils CH, Grobbee D, Boeing H, Lahmann PH, Nagel G, Chang-Claude J, Clavel-Chapelon F, Fournier A, Thiebaut A, Gonzalez CA, Quiros JR, Tormo MJ, Ardanaz E, Amiano P, Krogh V, Palli D, Panico S, Tumino R, Vineis P, Trichopoulou A, Kalapothaki V, Trichopoulos D, Ferrari P, Norat T, Saracci R, Riboli E (2005) Postmenopausal serum androgens, oestrogens and breast cancer risk: the European prospective investigation into cancer and nutrition. Endocr Relat Cancer 12:1071–1082
26. Kaaks R, Berrino F, Key T, Rinaldi S, Dossus L, Biessy C, Secreto G, Amiano P, Bingham S, Boeing H, Bueno de Mesquita HB, Chang-Claude J, Clavel-Chapelon F, Fournier A, van Gils CH, Gonzalez CA, Gurrea AB, Critselis E, Khaw KT, Krogh V, Lahmann PH, Nagel G, Olsen A, Onland-Moret NC, Overvad K, Palli D, Panico S, Peeters P, Quiros JR, Roddam A, Thiebaut A, Tjonneland A, Chirlaque MD, Trichopoulou A, Trichopoulos D, Tumino R, Vineis P, Norat T, Ferrari P, Slimani N, Riboli E (2005) Serum sex steroids in premenopausal women and breast cancer risk within the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC). J Natl Cancer Inst 97:755–765
27. Lahmann PH, Hoffmann K, Allen N, van Gils CH, Khaw KT, Tehard B, Berrino F, Tjonneland A, Bigaard J, Olsen A, Overvad K, Clavel-Chapelon F, Nagel G, Boeing H, Trichopoulos D, Economou G, Bellos G, Palli D, Tumino R, Panico S, Sacerdote C, Krogh V, Peeters PH, Bueno-De-Mesquita HB, Lund E, Ardanaz E, Amiano P, Pera G, Quiros JR, Martinez C, Tormo MJ, Wirfalt E, Berglund G, Hallmans G, Key TJ, Reeves G, Bingham S, Norat T, Biessy C, Kaaks R, Riboli E (2004) Body size and breast cancer risk: findings from the European Prospective Investigation into Cancer And Nutrition (EPIC). Int J Cancer 111:762–771
28. Lahmann PH, Friedenreich C, Schuit AJ, Salvini S, Allen NE, Key TJ, Khaw KT, Bingham S, Peeters PH, Monninkhof E, Bueno-De-Mesquita HB, Wirfalt E, Manjer J, Gonzales CA, Ardanaz E, Amiano P, Quiros JR, Navarro C, Martinez C, Berrino F, Palli D, Tumino R, Panico S, Vineis P, Trichopoulou A, Bamia C, Trichopoulos D, Boeing H, Schulz M, Linseisen J, Chang-Claude J, Chapelon FC, Fournier A, Boutron-Ruault MC, Tjonneland A, Fons JN, Overvad K, Kaaks R, Riboli E (2007) Physical activity and breast cancer risk: the

European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 16:36–42
29. Lavik PS, Baumann CA (1943) Further studies on the tumor-promoting action of fat. Cancer Res 3:749–756
30. Moreschi C (1909) Beziehungen zwischen Ernahrung und Tumorwachstum. Z fur Immunitatsforsch. 2:661–675
31. National Academy of Sciences (1982) Diet nutrition and cancer. National Academy Press, Washington DC
32. Norat T, Bingham S, Ferrari P, Slimani N, Jenab M, Mazuir M, Overvad K, Olsen A, Tjonneland A, Clavel F, Boutron-Ruault MC, Kesse E, Boeing H, Bergmann MM, Nieters A, Linseisen J, Trichopoulou A, Trichopoulos D, Tountas Y, Berrino F, Palli D, Panico S, Tumino R, Vineis P, Bueno-De-Mesquita HB, Peeters PH, Engeset D, Lund E, Skeie G, Ardanaz E, Gonzalez C, Navarro C, Quiros JR, Sanchez MJ, Berglund G, Mattisson I, Hallmans G, Palmqvist R, Day NE, Khaw KT, Key TJ, San JM, Hemon B, Saracci R, Kaaks R, Riboli E (2005) Meat, fish, and colorectal cancer risk: the European Prospective Investigation into cancer and nutrition. J Natl Cancer Inst 97:906–916
33. Pischon T, Lahmann PH, Boeing H, Friedenreich C, Norat T, Tjonneland A, Halkjaer J, Overvad K, Clavel-Chapelon F, Boutron-Ruault MC, Guernec G, Bergmann MM, Linseisen J, Becker N, Trichopoulou A, Trichopoulos D, Sieri S, Palli D, Tumino R, Vineis P, Panico S, Peeters PH, Bueno-De-Mesquita HB, Boshuizen HC, Van GB, Palmqvist R, Berglund G, Gonzalez CA, Dorronsoro M, Barricarte A, Navarro C, Martinez C, Quiros JR, Roddam A, Allen N, Bingham S, Khaw KT, Ferrari P, Kaaks R, Slimani N, Riboli E (2006) Body size and risk of colon and rectal cancer in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC). J Natl Cancer Inst 98:920–931
34. Riboli E (1992) Nutrition and cancer: background and rationale of the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC). Ann Oncol 3:783–791
35. Riboli E, Kaaks R (1997) The EPIC Project: rationale and study design. European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition. Int J Epidemiol 26 Suppl 1:S6-14
36. Rous P (1914) The influence of diet on transplanted and spontaneous mouse tumors. J Exp Med 20:433–451
37. Slimani N, Deharveng G, Charrondiere RU, van Kappel AL, Ocke MC, Welch A, Lagiou A, van LM, Agudo A, Pala V, Brandstetter B, Andren C, Stripp C, van Staveren WA, Riboli E (1999) Structure of the standardized computerized 24-h diet recall interview used as reference method in the 22 centers participating in the EPIC project. European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition. Comput Methods Programs Biomed 58:251–266
38. Slimani N, Ferrari P, Ocke M, Welch A, Boeing H, Liere M, Pala V, Amiano P, Lagiou A, Mattisson I, Stripp C, Engeset D, Charrondiere R, Buzzard M, Staveren W, Riboli E (2000) Standardization of the 24-hour diet recall calibration method used in the european prospective investigation into cancer and nutrition (EPIC): general concepts and preliminary results. Eur J Clin Nutr 54:900–917
39. Slimani N, Kaaks R, Ferrari P, Casagrande C, Clavel-Chapelon F, Lotze G, Kroke A, Trichopoulos D, Trichopoulou A, Lauria C, Bellegotti M, Ocke MC, Peeters PH, Engeset D, Lund E, Agudo A, Larranaga N, Mattisson I, Andren C, Johansson I, Davey G, Welch AA, Overvad K, Tjonneland A, van Staveren WA, Saracci R, Riboli E (2002) European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC) calibration study: rationale, design and population characteristics. Public Health Nutr 5:1125–1145
40. Steindorf K, Ritte R, Eomois PP, Lukanova A, Tjonneland A, Johnsen NF, Overvad K, Ostergaard JN, Clavel-Chapelon F, Fournier A, Dossus L, Teucher B, Rohrmann S, Boeing H, Wientzek A, Trichopoulou A, Karapetyan T, Trichopoulos D, Masala G, Berrino F, Mattiello A, Tumino R, Ricceri F, Quiros JR, Travier N, Sanchez MJ, Navarro C, Ardanaz E, Amiano P, Bueno-De-Mesquita HB, van DF, Monninkhof E, May AM, Khaw KT, Wareham N, Key TJ, Travis RC, Borch KB, Sund M, Andersson A, Fedirko V, Rinaldi S, Romieu I, Wahrendorf J, Riboli E, Kaaks R (2012) Physical activity and risk of breast cancer overall

and by hormone receptor status: The European prospective investigation into cancer and nutrition. Int J Cancer
41. Stocks P, Karn MN (1933) A cooperative study of the habits, home life, dietary and family histories of 45 cancer patients and of an equal number of control patients. Ann Eugenics 5(3–4): 237–280
42. Sugiura K, Benedict SR (1926) The influence of insufficient diets upon tumor recurrence and growth in rats and mice. J Cancer Res 10(309–31):8
43. Supplement 1, 1997 Int. J. Epidemiol. Feb; 26(Suppl 1): S1-S189
44. Tannenbaum A (1940a) The initiation and growth of tumours—Introduction: effects of undernutrition. Am J Cancer 38:335–350
45. Tannenbaum A (1940b) Relationship of body weight to cancer incidence. Arch Pathol 30:509–517
46. Tannenbaum A (1942a) The genesis and growth of tumors II effects of caloric restriction per se. Canc Res 2:460–467
47. Tannenbaum A (1942b) The genesis and growth of tumors III effects of a high fat diet. Canc Res 2:468–475
48. van Veldhoven CM, Khan AE, Teucher B, Rohrmann S, Raaschou-Nielsen O, Tjonneland A, Overvad K, Vigl M, Boeing H, Benetou V, Trichopoulou A, Trichopoulos D, Masala G, Mattiello A, Krogh V, Tumino R, Vermeulen R, Monninkhof E, May AM, Bueno-de-Mesquita B, Lund E, Ardanaz E, Huerta JM, Jakszyn P, Dorronsoro M, Arguelles M, Sanchez MJ, Hallmans G, Manjer J, Borgquist S, Allen NE, Travis RC, Khaw KT, Wareham N, Boffetta P, Vineis P, Riboli E (2011) Physical activity and lymphoid neoplasms in the European Prospective Investigation into Cancer and nutrition (EPIC). Eur J Cancer 47:748–760
49. Verheus M, Peeters PH, Rinaldi S, Dossus L, Biessy C, Olsen A, Tjonneland A, Overvad K, Jeppesen M, Clavel-Chapelon F, Tehard B, Nagel G, Linseisen J, Boeing H, Lahmann PH, Arvaniti A, Psaltopoulou T, Trichopoulou A, Palli D, Tumino R, Panico S, Sacerdote C, Sieri S, van Gils CH, Bueno-de-Mesquita BH, Gonzalez CA, Ardanaz E, Larranaga N, Garcia CM, Navarro C, Quiros JR, Key T, Allen N, Bingham S, Khaw KT, Slimani N, Riboli E, Kaaks R (2006) Serum C-peptide levels and breast cancer risk: results from the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC). Int J Cancer 119:659–667
50. Wiseman M (2008) The second World Cancer Research Fund/American Institute for Cancer Research expert report. Food, nutrition, physical activity, and the prevention of cancer: a global perspective. Proc Nutr Soc 67:253–256
51. Wynder EL, Graham EA (1950) Tobacco smoking as a possible etiologic factor in bronchiogenic carcinoma; a study of 684 proved cases. J Am Med Assoc 143:329–336

Obezite, Enerji Dengesi ve Kanser: Mekanik Perspektif

Stephen D. Hursting

Özet

ABD'de yaşayan erişkinlerin yaklaşık %36'sı, çocukların ise %20'si obezdir. Obezite vücut kütle indeksinin (VKİ) ≥30 kg/m^2 olmasıdır. Metabolik regülasyon bozukluğu ile seyreden obezite sıklıkla birçok kanser türü için bilinen bir risk faktörü olan metabolik sendrom ile birlikte seyreder. Obezitenin büyümeyi uyaran, proenflamatuar ortamında kanser riskini ve/veya progresyonunu uyarabilen obezite ile ilgili hormonlar, sitokinler ve diğer medyatörlerin etkileri ile makrofajlar, adipozitler ve epitel hücreleri birbirleri ile etkileşime girerler. Bu bölümde obezite ile kanser arasındaki bağlantıda rol oynayan biyolojik mekanizmalarla ilgili kanıtları inceleyeceğiz. Özellikle obezitenin hızlandırdığı büyüme faktörü sinyali, enflamasyon, vasküler entegrasyon prosesleri gibi faktörlere ve obeziteye bağlı olarak epitelyal mezenkimal geçişi de içeren mikroçevre bozukluklarına odaklanacağız. Birbiri ile ilgili bu mekanizmalar obezite kanser bağlantısını kırmaya yardımcı olabilecek muhtemel mekanik hedefler olabilirler.

Anahtar Kelimeler

Obezite • Enflamasyon • Büyüme faktörü sinyali • Vasküler bozukluklar • İnsülin rezistansı

S. D. Hursting (✉)
Department of Nutritional Sciences, Dell Pediatric Research Institute, University of Texas at Austin, 1400 Barbara Jordan Blvd, Austin, TX 78723, United States
e-mail: shursting@austin.utexas.edu

V. Zappia et al. (eds.), *Advances in Nutrition and Cancer,*
Cancer Treatment and Research 159, DOI: 10.1007/978-3-642-38007-5_2,
© Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2014

Kısaltmalar

AMPK	AMP-aktive kinaz
COX-2	Siklooksijenaz-2
DIO	Diyetle indüklenen obezite
EMT	Epitelyal mezenkimal geçiş
FGF-2	Fibroblast büyüme faktörü-2
IGF-1	İnsüline benzer büyüme faktörü
JAK	Janus kinaz
mTOR	Rapamisin memeli hedefi
MCP-1	Monosit kemoatraktan protein-1
NF-κB	Aktive B hücrelerinde nükleer faktör kappa hafif zincir güçlendirici
PAI-1	Plazminojen aktivatör inhibitörü-1
PI3K	Fosfatidilinositol 3-kinaz
STAT	Sinyal ileticisi transkripsiyon aktivatörü
TNF-α	Tümör nekroz faktörü-α
tPA	Doku tipi plazminojen aktivatörleri
uPA	Ürokinaz tipi plazminojen aktivatörleri
VEGF	Vasküler endotelyal büyüme faktörü
VKİ	Vücut kütle indeksi
ZEB1	Zinc finger E-box-binding homeobox

İçindekiler

1 Giriş 23
2 Disregüle Büyüme Sinyalleri 24
2.1 İnsülin ve IGF-1 24
2.2 Aşağı Yönlü İnsülin Reseptörü ve IGF-1R Sinyal Yolakları 24
2.3 Leptin, Adiponektin ve Oranları 24
3 Kronik Enflamasyon 2
3.1 Sitokinler ve Adipositlerin, Makrofajların ve Epitel Hücrelerinin Etkileşimi (Cross Talk) 25
3.2 Enflamasyon ve Kanser 26
4 Mikroçevresel Faktörler 26
4.1 Vasküler Bozukluklar 26
4.2 Epitelyal Mezenkimal Geçiş 27
5 Özet ve Sonuçlar 29
Referanslar 30

1 Giriş

Vücut kütle endeksinin (VKİ, vücut ağrılığının [kg] boy uzunluğunun [metre] karesine bölümü) ≥30/m^2 olması ile ifade obezite son dekadlarda dramatik olarak artmıştır. ABD'deki yetişkinlerin yaklaşık %36'sı ile çocukların %20'sinde obezite mevcuttur [1]. Obez erişkinlerin yaklaşık %60'ı insülin rezistansı, hiperglisemi, dislipidemiler (özellikle hipertrigliseridemi) ve hipertansiyondan oluşan metabolik sendrom kriterlerine sahiptir [2]. Obezite ve/veya metabolik sendromda dolaşımdaki insülin, biyolojik olarak kullanılabilir insülin benzeri büyüme faktörü (IGF-1), adipokinler (örn. leptin ve adiponektin), enflamatuar faktörler (örn. sitokinler) ve vasküler entegrasyonla ilgili faktörler (örn. vasküler endotelyal büyüme faktörü [VEGF] ve plazminojen aktivatör inhibitörü [PAI]-1) düzeylerinde değişimler olur [3, 4]. Obezite ve metabolik sendrom bu medyatörler vasıtası ile kardiyovasküler hastalık, tip 2 diyabet ve bu incelemenin konusu olan kanser gibi çeşitli kronik hastalıklar [3, 5] ile bağlantılıdır.

Kanıta dayalı kanser önleme kılavuzlarında obezitenin önlenmesi gerektiği net olarak vurgulanmaktadır [6]. Erkeklerdeki kanser ölümlerinin %14'ü, kadınlardaki kanser ölümlerinin ise %20'si fazla kilo ve obezite ile ilişkilidir [7] Obezite erkeklerdeki prostat ve mide kanseri ölümlerini artırır. Kadınlarda ise meme (postmenopozal), endometrium, serviks, uterus ve ovaryum kanserlerinden ölümü artırır. Böbrek (renal hücreli), kolon, özofagus (adenokarsinom), pankreas, safra kesesi ve karaciğer kanseri ise her iki cinsiyette artar [7]. Metabolik sendrom ile spesifik kanser türleri arasındaki ilişki bu kadar net değildir. 580.000 erişkini kapsayan bir Avrupa kohortunda gerçekleştirilen Metabolik Sendrom ve Kanser Projesi metabolik sendromdaki obezite (veya VKİ) ile kolorektal, tiroid ve servikal kanser arasındaki ilişkiyi göstermiştir [8]. Obezite ve metabolik sendrom prevalanslarının sürekli arttığı bir ortamda bu bozukluklar ile kanser arasındaki ilişkiyi ortadan kaldıracak stratejilere acil olarak ihtiyaç vardır [3].

Bu bölümde obezite, metabolik sendrom ve kanser arasındaki ilişkinin mekanizmasını, obezitenin birçok kanser türündeki büyüme sinyalizasyonu, enflamasyon, anjiogenik prosesler ile makrofaj, adiposit, endotel hücreleri arasındaki etkileşimi (cross talk) artırıcı etkisine odaklanacağız. Özellikle obezite mevcudiyetinde kanser süreçlerine multifaktöryel katkı yapabilen büyüme sinyallerinin (insülin, IGF-1, aşağı yönlü sinyal yolakları ve adipokinler), sitokinlerin, hücresel etkileşimin ve vasküler entegrasyon faktörlerinin disregülasyonunu tanımlayacağız. Muhtemelen, birbirleriyle ilişkili olan bu yolakların komponentleri aşırı vücut ağırlığı veya metabolik sendrom nedeniyle oluşan (veya ilgili olan) kanserlerin önlenmelerini ve kontrol edilmelerini sağlayabilecek, mekanizmaya dayalı hedefler sunabilirler. Ancak obezite, metabolik sendrom ve kanser arasındaki ilişkiyi ve bu ilişkiyi ortadan kaldırma ihtimali olan varsayımsal stratejilerle ilgili henüz cevaplanamamış soruları da tartışacağız.

2 Disregüle Büyüme Sinyalleri

2.1 İnsülin ve IGF-1

İnsülin pankreasın beta hücrelerinde üretilen ve kan glukozundaki artışa cevap olarak salgılanan peptid hormondur. Metabolik sendromun önemli bir özelliği olan hiperglisemi, insülin rezistansı, anormal glukoz metabolizması, kronik enflamasyon ve IGF-1, leptin ve adiponektin gibi diğer metabolik hormonların salgılanması ile ilişkilidir [9]. İnsülin ile yaklaşık %50 homolog olan IGF-1 primer olarak büyüme hormonu tarafından stimüle edilen karaciğer tarafından salgılan bir peptid büyüme faktörüdür. IGF-1 özellikle prenatal dönemde birçok dokunun büyüme ve gelişimlerini regüle eder [10]. Dolaşımdaki IGF-1 tipik olarak IGF bağlayıcı proteinlere (IGFBP) bağlıdır. Bu protein biyolojik olarak kullanılabilir serbest IGF-1 miktarını regüle ederek IGF-1 reseptörüne (IGF-1R) bağlanmasını, büyümeyi ve sağkalım sinyalini sağlar [10]. Metabolik sendromda muhtemelen hiperglisemi tarafından indüklenen IGFBP sentezinin supresyonu ve/veya hiperinsülinemi tarafından indüklenen hepatik büyüme hormonu reseptör ekspresyonu ve IGF-1 sentezi ile dolaşımdaki IGF-1 miktarı artar [9]. Dolaşımdaki IGF-1 düzeylerinin artışı birçok kanser riski için bilinen risk faktörüdür [10, 11].

2.2 Aşağı Yönlü İnsülin Reseptörü ve IGF-1R Sinyal Yolakları

İnsülin reseptörünün ve IGF-1R'nin aşağı yönlü yolağı fosfatidilinositol 3-kinaz (PI3K)/Akt epitel kanserlerinde en çok değişime uğrayan yolaklardan biridir. Bu yolak hücresel sağkalımı, proliferasyonu, protein dönüşümünü ve metabolizmayı regüle edebilmek için büyüme faktörü konsantrasyonları ve besin öğeleri mevcudiyeti gibi intraselüler ve çevresel işaretleri entegre eder. İnsülin reseptörü veya IGF-1R gibi reseptör tirozin kinazların aktivasyonu Akt kaskadının aktivasyonunu kolaylaştıran lipid habercilerinin üretimi için PI3K'yı stimüle eder. Akt hücre büyümesini, hücre proliferasyonunu aşağı yönlü medyatörler ile regüle eden rapamisin memeli hedefini (mTOR) regüle eder[13]. mTOR aktivasyonu AMP aktive kinaz (AMPK) tarafından düşük derecede besin öğeleri mevcudiyetinde inhibe olur [13]. Artmış mTOR aktivasyonu tümörlerde ve obez ve/veya diyabetik farelerdeki birçok normal dokuda sıklıkla görülür [15]. Spesifik mTOR inhibitörleri obezitenin fare modellerindeki tümör geliştirici etkilerini inhibe eder.

2.3 Leptin, Adiponektin ve Oranları

Adipositler tarafından salgılanan bir peptid hormon olan leptin, adipöz depoları ve nutrisyonel durum ile pozitif korelasyona sahiptir. Beyine iştahı azaltma sinyali gönderen enerji sensörü olarak görev yapar. Obez durumda adipoz dokunun aşırı derecede leptin

sağlaması sonucu beyin sinyale cevap vermez hale gelir. İnsülin, glukokortikoidler, tümör nekroz faktörü alfa (TNF-α) ve östrojenler leptin salınımını stimüle ederler[18]. Leptin periferik dokuları direkt, hipotalamik yolakları indirekt olarak etkileyerek immun fonksiyonu, sitokin üretimini, anjiogenezi, karsinogenezi ve diğer biyolojik prosesleri modüle eder [18]. Leptin reseptörü, Janus kinaz ve sinyal ileticisi transkripsiyon aktivatörü (JAK/STAT) yoluyla sinyal veren klas 1 sitokinlere benzer homolojiye sahiptir. Bu yolak kanserde sıklıkla disregüle olur [19].

Adiponektin başlıca viseral adipoz dokudan salgılanan bir hormondur. Adiponektin düzeyleri, leptinin aksine adipozite ile negatif korelasyona sahiptir. Adiponektin obezite ve hiperleptinemi ile ilişkili metabolik programı engellemek için glukoz metabolizmasını modüle eder, yağ asidi oksidasyonunu ve insülin sensitivitesini artırır ve enflamatuar sitokinlerin üretimini azaltır [20]. Adiponektinin antikanser etkisinin muhtemel mekanizmaları arasında insülin sensitivitesini artırması ve AMPK aktivasyonu ile de insülin/IGF-1 ve mTOR sinyalizasyonunu azaltması mevcuttur. Adiponektin proenflamatuar sitokin ekspresyonunu aktive B hücrelerindeki nükleer faktör kappa hafif zincir güçlendiriciyi de (NF-κB) inhibe ederek azaltır [21-23].

Leptin [23-25] veya adiponektinin [21, 26-28] kanser riski ile ilişkisi hakkında farklılıklar gösteren in vitro, hayvan ve epidemiyolojik kanıtlar vardır. Adiponektinin leptine oranı ile metabolik sendrom [29-31] ve bazı kanser türleri [32--34] arasında ilişkiler bildirilmiştir. Bu ilişkilerin daha ileri araştırmalara ihtiyaç vardır

3 Kronik Enflamasyon

3.1 Sitokinler ve Adipositlerin, Makrofajların ve Epitel Hücrelerinin Etkileşimi (Cross Talk)

Obezite ve metabolik sendrom, dolaşımda serbest yağ asitlerinin artışı ve immun hücrelerin (örn. enflamatuar medyatörler salgılayan makrofajlar) lokal ortama kimyasal çekimleri ile karakterize düşük dereceli ve kronik enflamasyon ile ilişkilidir [35-37]. Bu etkiler interlökin (IL)-1β, IL-6, TNF-α ve monosit kemoatraktan protein (MCP)-1 gibi enflamatuar sitokinlerin salgılanması ile daha da güçlenir. Adipositler efektif oksijen difüzyonunu bozarak hipoksiye ve nihayetinde nekroza neden olabilirler. Serbest yağ asitleri tıkanmış/nekrotik adipositlerden kaçarak diğer dokularda birikirler ve insülin rezistansı, diyabet (insülin reseptörlerinin ve glukoz taşıyıcılarının aşağı regülasyonu ile), hipertansiyon ve yağlı karaciğer hastalığını artırırlar. Aynı zamanda NF-κB gibi epitel karsinogenezinde rol oynayan sinyalizasyon moleküllerini aktive ederler [38].

NF-κB bakteryel ve viral stimülasyon, büyüme faktörleri ve enflamatuar moleküller (örn. Tnf-α, IL-6 ve IL-1β) ile aktive olan bir transkripsiyon faktörüdür. Hücre proliferasyonu, apoptoz, enflamasyon, metastaz ve anjiogenez ile ilişkili gen ekspresyonu-

nu indüklerler. Birçok tümörün genel karakteristiği olan NF-κB aktivasyonu, insülin rezistansı, dolaşımdaki leptin, insülin ve/veya IGF-1 düzeylerinin artışı ile ilişkilidir [39, 40].

3.2 Enflamasyon ve Kanser

Kronik enflamasyon ile kanser arasındaki bağlantı ilk olarak yaklaşık 150 yıl önce neoplastik dokularda aşırı miktarda lökosit olduğunu gözleyen Rudolph Virchow tarafından fark edildi [41]. Günümüzde kanserin ana özelliklerinden biri olan enflamasyonun kanser riskinde artışa yol açtığını gösteren kanıtlar giderek artmaktadır [42-44]. Çeşitli dokuların spesifik enflamatuar lezyonlarının invazif kanserin neoplastik prekürsorları olduğu tespit edilmiştir. Gastrik kanser için gastrit, kolon kanseri için enflamatuar barsak hastalığı ve pankreatik kanser için pankreatit bu prekürsorlardan bazılarıdır [45-46].

Tümör mikroçevreleri epitel hücreleri, fibroblastlar, mast hücreleri ve immun sistemin kalıtsal ve adaptif hücreleri gibi birçok hücre tipinden oluşmaktadır [46, 47]. Yukarıda da anlatıldığı üzere, obezlerde aktive olan makrofajlar tümörlere infiltre olarak çoğunlukla NF-κB'ye bağımlı sitokin ve anjiogenik faktörlerin üretimi ile enflamatuar tümör mikroçevresini şiddetlendirirler [46]. Birçok tümör tipinde yukarı regüle olan kanserle ilişki başka bir önemli enflamatuar medyatör olan siklooksijenaz (COX)-2, potent enflamatuar lipid metaboliti prostoglandin E2 sentezini katalize eder. COX-2'nin aşırı ekspresyonu birçok kanser tipi için kötü prognoz göstergesidir [48].

Bazı kanserlerde enflamatuar şartlar malign değişikliklerin (yukarıda da bahsedildiği üzere) öncüsü iken diğer bazı kanser tiplerinde ise genetik değişimler ve premalign değişimler enflamatuar mikroçevre ve neoplaziden önce görülür [44]. Bundan dolayı enflamasyon maligniteleri başlatabilir veya şiddetlendirebilir. Enflamasyon markerlerinin artması kanserin nedeni ve/veya sonucu olabilir [43, 44]. Enflamatuar mikroçevre her iki senaryoda da, genetik instabilite ve kanserle ilgili hücre proliferasyonu ve sağkalımı, anjiogenez ve metastazla ilgili olan disregüle enflamasyon yolakları ile tümörlerin gelişimine katkı yapar [42, 43, 49].

4 Mikroçevresel Faktörler

4.1 Vasküler Bozukluklar

Adipositler ve tümör hücreleri tarafından üretilen bir heparin bağlayıcı protein olan VEGF endotel hücrelerine spesifik olarak anjiogenik, mitojenik ve vasküler permeabilite artıcı aktiviteye sahiptir [50]. Obezlerde VEGF'nin dolaşımdaki düzeyleri normal kilolu insanlar ve hayvanlara göre artmıştır. VEGF'nin tümöral ekspresyonunun artma-

sı, obezite ile ilişkili bazı kanser türlerindeki kötü prognoz ile ilişkilidir [51]. Besinler ve oksijen tümör hücrelerinin VEGF üretimini tetikleyerek hızlı büyüyen tümörü besleyen yeni kan damarlarının oluşumuna yol açarak tümör hücrelerinin metastatik yayılımını kolaylaştırabilirler [50].

Adipositler endotel hücreleri ile bir dizi proanjiogenik ve vasküler permeabilite artırıcı faktör üreterek iletişime geçerler. Bunlar arasında VEGF, IGF-1, PAI-1, leptin, hepatosit büyüme faktörü ve fibroblast büyüme faktörü-2 mevcuttur [52]. Bu faktörler tümör bulunmayan obezlerde artan yağ kütlesini destekleyebilmek için neovaskülarizasyonu stimüle edebilirler. Adipoz doku kaynaklı bu faktörler obezite ile bağlantılı tümör anjiogenezine de katkı yapabilirler. Konvansiyonel kemoterapi ile kombine edilen bevakizumab bazlı tedavi (örn. anti-VEGF tedavi) ileri kolorektal kanseri olan hastalarda birinci basamak tedavi opsiyonudur. Ancak tedavi etkisinin obez hastalarda azaldığı bildirilmiştir. Bu durumun viseral beyaz adipoz doku tarafından üretilen VEGF düzeylerinde (ve/veya proanjiogenik faktörlerde) artış ile ilişkili olduğu speküle edilmiştir [53, 54]. Tümör kaynaklı ve adiposit kaynaklı proanjiogenik faktörlerin tümör gelişimi, progresyonu ve metastazı üzerindeki rölatif katkı düzeyleri henüz netleşmemiştir.

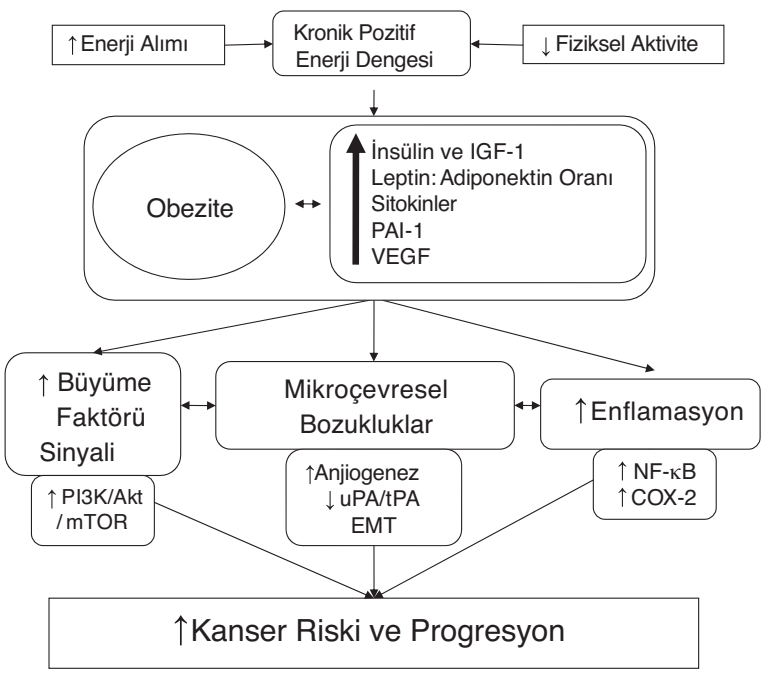
PAI-1 endotel hücreleri, stroma hücreleri ve viseral beyaz adipoz doku tarafından salgılanan serin proteaz inhibitörüdür [55]. Obez bireylerde sıklıkla görülen dolaşımdaki PAI-1 düzeylerinin yükselmesinin aterojenez, kardiyovasküler hastalık, diyabet ve çeşitli kanser risklerinde artış ile ilişkili olduğu bulunmuştur [4, 55]. PAI-1 ürokinaz tipi ve doku tipi plazminojen aktivatörlerini inhibe ederek fibrinolizi ve ekstraselüler matriksin entegrasyonunu regüle eder. PAI-1 aynı zamanda anjiogenez ile de ilgili olduğu için tümör hücrelerinin büyüme, invazyon ve metastazlarına katkı yapabilir [4]. Obez bireylerdeki PAI-1 düzeyleri kilo kaybı veya Tnf-α blokajı ile azaltılabiliyor da olsa [56, 57], tümör gelişimindeki rolü hala tartışmalıdır [55].

4.2 Epitelyal Mezenkimal Geçiş

Kanserle ilgili fare modeli çalışmaları tipik olarak insan tümör hücrelerinin immun yetmezlikli fareye ksenotransplantasyonu ile yapılır [58, 59]. Ancak ksenogreft modelleri normal tümör mikroçevresinden yoksun olmaları nedeniyle son derece kısıtlıdır. Meme bezi gelişimleri bozulmuş olan immun yetmezlikli fareler normal immun/enflamatuar cevap oluşturamazlar. Diyetle indüklenen obezite ve kalori kısıtlaması fenotiplerinin geliştirilmesine karşı dirençli olmaları, bu sistemdeki enerji dengesi ile kanser gelişimi ve progresyonu arasındaki ilişkinin aydınlatılmasına engel olmaktadır. Bu kısıtlamaları aşmanın bir yolu immunolojik yönden normal olan farelerde eş genetiğe sahip transplant modelleri oluşturarak enerji dengesi-kanser ilişkisinin incelenmesini sağlamaktır. Örneğin laboratuvarımızın güncel bir yayınında klaudin-düşük ve bazal hücreli benzeri meme kanserinde transplant modelinin geliştirilmesi ve karakteristikleri tanımlanmaktadır. Bu model ile mevcut ksenograft modellerinin kısıtlamaları aşılmıştır: (a) MMTV-Wnt-1 faresinin spontan meme tümöründen alınan hücreler kadınlardaki bazal hücreli benzeri meme kanserleri gibi kalori kısıtlamasına ve obeziteye cevap verir, ve (b) Doğal

türden üretilmiş eş genetiğe sahip farelerin immun fonksiyonları, meme bezi gelişimi ve enerji dengesi modülasyonuna verdikleri cevaplar normaldir [60].

Bu modeldeki bulgularımız enerji dengesi ile epitelyal mezenkimal geçiş (EMT) ve meme kanseri progresyonundaki tümör başlatıcı hücreler arasında mekanik bir link olduğunu göstermektedir [60]. Diyetle indüklenen obezitenin verimli toprağı (tümör mikroçevresi) EMT, intratümöral adipositler, lokal ve sistemik hormonlar, büyüme faktörleri ve sitokinlerdeki değişimleri de kapsayacak şekilde hazırlayabileceğini spekülе ettik. Hazırlanan bu ortamdaki büyümenin belirleyicileri arasında bitki çeşitliliği (intrinsik meme kanseri alt tipi) ve/veya tohum dansitesi (tümör başlatıcı hücrelerin kapsamı) mevcuttur. Buna karşın kalori kısıtlaması ile (diyetle indüklenen obezitenin aksine etki ile) epitel farklılaşmasının artışı, EMT'nin engellenmesi, intratümöral adiposit infiltrasyonunun engellenmesi, sistemik hormonların, büyüme faktörlerinin ve sitokinlerin azaltılması ile tümör gelişimi yavaşlatılabilir. Diyetle indüklenen obezitenin meme kanserinin farklı alt tipleri ile diğer epitel kanserlerindeki tümör geliştirici etkisinin, tümör başlatıcı hücrelerin kapsamına bağlı olup olmadığının anlaşılması ve kalori kısıtlamasının meme kanseri progresyonunda diyetle indüklenen obeziteye göre farklı bir yolağı (belki de tümör başlatıcı hücrelerden bağımsız olarak) hedefleyip hedeflemediğinin tespiti için yeni çalışmalara ihtiyaç vardır.



Şekil 1. Obezite ve kanser: Mekanizmalara genel bakış Metindeki oklar etkinin yönünü gösterir (örn. aktivite veya konsantrasyon). Kısaltmalar: *IGF-1* İnsülin benzeri büyüme faktörü-1; *uPA* ürokinaz tipi plazminojen aktivatörü; *VEGF* vasküler endotelyal büyüme faktörü; *EMT* epitelyal mezenkimal geçiş.

Bundan dolayı EMT komponentleri kanserin önlenmesinde ve kontrolünde yeni ve özgün bir hedef olabilir. Ayrıca özellikle obez kadınlarda enerji denge modülasyonu ve diğer girişimler için özgün bir yanıt biyomarkeri olabilir. Enerji modülasyonuna cevap veren büyüme sinyalizasyon yolaklarının tümör hücrelerinin farklılaşmalarını ve tümör başlatıcı hücrelerin proliferasyonunu, obezite ile ilişkili serum hormonları ve sitokinlerin (bu inceleme de sözü geçenler de dahil) yukarı regülasyonu ile kontrol etmeleri akla yakın bir varsayımdır. Örnek olarak dolaşımdaki IGF-1 düzeylerinin artmasının pre- ve postmenopozal kadınlarda meme kanseri riskinde artışla ilgili olması [61, 62] ve hayvan modellerinde tümör büyümesini hızlandırması verilebilir [16, 17, 63]. IGF-1 meme bezinin gelişimi sırasında normal meme kök hücrelerinin büyümelerinin stimüle edilmesinde de önemli rol oynamaktadır [64]. Ayrıca IGF-1 reseptör sinyali hepatositlerdeki SLUG-aracılığı ile gerçekleşen EMT'yi güçlendirir [65] ve prostat kanseri hücrelerinde ZEB1 aracılığı ile gerçekleşen EMT'yi artırır [66]. Ancak IGF-1 reseptörünün meme kanseri hücrelerindeki EMT ile ilişkisi hakkında bilgi yoktur. Diyabette kullanılan standart bir ilaç olan ve insülin sensitivitesini artıran metformin tümör başlatıcı hücrelerin proliferasyon ve sağkalımlarını efektif olarak inhibe etmektedir [67, 68]. Obezite ile ilişkili olarak serum leptin seviyelerinin artışının, meme kanseri riski ve prognoz ile ilişkili olduğu daha önce gösterilmiştir [69]. Leptin hücrelerin kaderine ve hepatik stellat hücrelerdeki EMT'ye katkı yapan Hedgedhog sinyalini aktive ederek gen ekspresyon programlarını değiştirir [70].

5 Özet ve Sonuçlar

Obezite sıklıkla aşırı enerji alımı ve/veya azalmış enerji harcaması sonucunda ortaya çıkan kronik pozitif enerji dengesinden kaynaklanır (Şekil 1). Metabolik sonuçları arasında, dolaşımdaki insülin ve biyolojik olarak kullanılabilir IGF-1 düzeylerini artırması ile adipokin, sitokin ve proanjiogenik/vasküler entegrasyon faktörlerinde değişimlere yol açması vardır. Bu kritik sistem regülatörlerinin yolaklarının aşağı yönlü aktivasyonu ile büyüme faktörü sinyallerinde artış, vasküler bozukluklar, enflamasyon, mikroçevrenin kanser lehine değişimi (örn. EMT) görülür. Bu nedenle kanser gelişimi ve/veya progresyonu hızlanabilir. **Birbiri ile ilişkili olan bu yolakların komponentleri, obez veya metabolik regülasyonu bozuk bireylerdeki kanserin önlenmesi veya kontrolünde uygulanabilecek hayat tarzı veya farmakolojik girişimler için mekanizmaya dayalı ümit verici hedefler ortaya koymaktadır.** Obeziteyle ilgili kanserlerin önlenmesi ve kontrolü amacıyla kullanılacak mekanizmaya dayalı yeni girişim hedeflerinin belirlenebilmesini hızlandırmak için obeziteye cevap veren büyüme sinyali, enflamasyon, mikroçevre regüle edici yolaklar ile kanserin spesifik komponentleri arasındaki ilişkiyi tespit edecek çalışmalara ihtiyaç vardır.

Teşekkürler: Dr. S. Hursting'e kısmi maddi destek sağlayanlar: the National Cancer Institute (R01CA129409 and R01CA135306), the Breast Cancer Research Foundation (UTA09-001068), ve the National Institute of Environmental Health Sciences (P30ES007784).

Referanslar

1. Flegal KM, Carroll MD, Ogden CL, Curtin LR (2010) Prevalence and trends in obesity among US adults, 1999–2008. JAMA 303:235–241
2. Ford ES, Li C, Zhao G (2010) Prevalence and correlates of metabolic syndrome based on a harmonious definition among adults in the US. J Diabetes 2:180–193
3. Hursting SD, Berger NA (2010) Energy balance, host-related factors, and cancer progression. J Clin Oncol 28:4058–4065
4. Carter JC, Church FC (2009) Obesity and breast cancer: the roles of peroxisome proliferator-activated receptor-gamma and plasminogen activator inhibitor-1. PPAR Res 345320:13
5. Poirier P, Giles TD, Bray GA, Hong Y, Stern JS, Pi-Sunyer FX, Eckel RH (2006) Obesity and cardiovascular disease: pathophysiology, evaluation, and effect of weight loss. Arterioscler Thromb Vasc Biol 26:968–976
6. World Cancer Research Fund/American Institute for Cancer Research (2007) Food, nutrition, physical activity and the prevention of cancer: a global perspective. AICR, Washington, DC
7. Calle EE, Rodriguez C, Walker-Thurmond K, Thun MJ (2003) Overweight, obesity, and mortality from cancer in a prospective studied cohort of U.S. adults. N Engl J Med 348:1625–1638
8. Stocks T, Borena W, Strohmaier S, Bjorge T, Manjer J, Engeland A, Johansen D, Selmer R, Hallmans G, Rapp K, Concin H, Jonsson H, Ulmer H, Stattin P (2010) Cohort profile: the metabolic syndrome and cancer project (Me-Can). Int J Epidemiol 39:660–667
9. Braun S, Bitton-Worms K, LeRoith D (2011) The link between the metabolic syndrome and cancer. Int J Biol Sci 7:1003–1015
10. Pollak M (2008) Insulin and insulin-like growth factor signalling in neoplasia. Nat Rev Cancer 8:915–928
11. Hursting SD, Smith SM, Lashinger LM, Harvey AE, Perkins SN (2010) Calories and carcinogenesis: lessons learned from 30 years of calorie restriction research. Carcinogenesis 31:83–89
12. Wong KK, Engelman JA, Cantley LC (2010) Targeting the PI3K signaling pathway in cancer. Curr Opin Genet Dev 20:87–90
13. Memmott RM, Dennis PA (2009) Akt-dependent and -independent mechanisms of mTOR regulation in cancer. Cell Signal 21:656–664
14. Lindsley JE, Rutter J (2004) Nutrient sensing and metabolic decisions. Comp Biochem Physiol B: Biochem Mol Biol 139:543–559
15. Moore T, Beltran LD, Carbajal S, Strom S, Traag J, Hursting SD, DiGiovanni J (2008) Dietary energy balance modulates signaling through the Akt/mammalian target of rapamycin pathway in multiple epithelial tissues. Cancer Prev Res 1:65–76
16. De Angel RE, Conti CJ, Wheatley KE, Brenner AJ, deGraffenried LA, Hursting SD. The enhancing effects of obesity on mammary tumor growth and Akt/mTOR pathway activation persist after weight loss and are reversed by Rad001. Mol Carcinog Jan 30 [epub ahead of print]
17. Nogueira LM, Dunlap SM, Ford NA, Hursting SD (2012) Calorie restriction and rapamycin inhibit MMTV-Wnt-1 mammary tumor growth in a mouse model of postmenopausal obesity. Endocr Relat Cancer 19:57–68
18. Gautron L, Elmquist JK (2011) Sixteen years and counting: an update on leptin in energy balance. J Clin Invest 121:2087–2093
19. Villanueva EC, Myers MG (2008) Leptin receptor signaling and the regulation of mammalian physiology. Int J Obes (Lond). 32(Suppl 7):S8–S12
20. Vaiopoulos AG, Marinou K, Christodoulides C, Koutsilieris M (2012) The role of adiponectin in human vascular physiology. Int J Cardiol 155:188–193
21. Barb D, Williams CJ, Neuwirth AK, Mantzoros CS (2007) Adiponectin in relation to malignancies: a review of existing basic research and clinical evidence. Am J Clin Nutr 86:s858–s866

22. Stofkova A (2009) Leptin and adiponectin: from energy and metabolic dysbalance to inflammation and autoimmunity. Endocr Regul 43:157–168
23. Stattin P, Lukanova A, Biessy C, Soderberg S, Palmqvist R, Kaaks R, Olsson T, Jellum E (2004) Obesity and colon cancer: does leptin provide a link? Int J Cancer 109:149–152
24. Wu MH, Chou YC, Chou WY, Hsu GC, Chu CH, Yu CP, Yu JC, Sun CA (2009) Circulating levels of leptin, adiposity and breast cancer risk. Br J Cancer 100:578–582
25. Fenton JI, Hord NG, Lavigne JA, Perkins SN, Hursting SD (2005) Leptin, insulin-like growth factor-1, and insulin-like growth factor-2 are mitogens in ApcMin/+ but not Apc+/+ colonic epithelial cells. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 14:1646–1652
26. Grossmann ME, Nkhata KJ, Mizuno NK, Ray A, Cleary MP (2008) Effects of adiponectin on breast cancer cell growth and signaling. Br J Cancer 98:370–379
27. Rzepka-Gorska I, Bedner R, Cymbaluk-Ploska A, Chudecka-Glaz A (2008) Serum adiponectin in relation to endometrial cancer and endometrial hyperplasia with atypia in obese women. Eur J Gynaecol Oncol 29:594–597
28. Tian YF, Chu CH, Wh MH, Chang CL, Yang T, Chou YC, Hsu GC, Yu CP, Yu JC, Sun CA (2007) Anthropometric measures, plasma adiponectin, and breast cancer risk. Endocr Relat Cancer 14:669–677
29. Jung CH, Rhee EJ, Choi JH, Bae JC, Yoo SH, Kim WJ, Park CY, Mok JO, Kim CH, Lee WY, Oh KW, Park SW, Kim SW (2010) The relationship of adiponectin/leptin ratio with homeostasis model assessment insulin resistance index and metabolic syndrome in apparently healthy Korean male adults. Korean Diabetes J 34:237–243
30. Mirza S, Qu HQ, Li Q, Martinez PJ, Rentfro AR, McCormick JB, Fisher-Hoch SP (2011) Adiponectin/leptin ratio and metabolic syndrome in a Mexican American population. Clin Invest Med 34:E290
31. Labruna G, Pasanisi F, Nardelli C, Caso R, Vitale DF, Contaldo F, Sacchetti L (2011) High leptin/adiponectin ratio and serum triglycerides are associated with an "at-risk" phenotype in young severely obese patients. Obesity 19:1492–1496
32. Cleary MP, Ray A, Rogozina OP, Dogan S, Grossman ME (2009) Targeting the adiponectin:leptin ratio for postmenopausal breast cancer prevention. Front Biosci 1:329–357
33. Ashizawa N, Yahata T, Quan J, Adachi S (2010) Yoshihara, Tanaka K. Serum leptin-adiponectin ratio and endometrial cancer risk in postmenopausal female subjects. Gynecol Oncol 119:65–69
34. Chen DC, Chung YF, Yeh YT, Chaung HC, Kuo FC, Fu OY, Chen HY, Hou ME, Yuan SS (2006) Serum adiponectin and leptin levels in Taiwanese breast cancer patients. Cancer Lett 237:109–114
35. Harvey AE, Lashinger LM, Hursting SD (2011) The growing challenge of obesity and cancer: an inflammatory subject. Ann NY Acad Sci 1229:45–52
36. Subbaramaiah K, Howe LR, Bhardway P, Du B, Gravaghi C, Yantiss RK, Zhou XK, Blaho VA, Hia T, Yang P, Kopelovich L, Hudis CA, Dannenberg AJ (2011) Obesity is associated with inflammation and elevated aromatase expression in the mouse mammary gland. Cancer Prev Res 4:329–346
37. Olefsky JM, Glass CK (2010) Macrophages, inflammation, and insulin resistance. Annu Rev Physiol 72:219–246
38. O'Rourke RW (2009) Inflammation in obesity-related diseases. Surgery 145:255–259
39. Renehan AG, Roberts DL, Dive C (2008) Obesity and cancer: pathophysiological and biological mechanisms. Arch Physiol Biochem 114:71–83
40. Karin M (2006) Nuclear factor-kappaB in cancer development and progression. Nature 441:431–436
41. Virchow R (1863) Die Krankenhasften Geschwulste. Verlag von August Hirchwald; Berlin, Germany. Aetologie der neoplastichen Geschwelste/Pathogenie der neoplastischen Geschwulste p 58
42. Aggarwal BB, Gehlot P (2009) Inflammation and cancer: how friendly is the relationship for patients? Curr Opin Pharmacol 9:351–369

43. Ono M (2008) Molecular links between tumor angiogenesis and inflammation: inflammatory stimuli of macrophages and cancer cells as targets for therapeutic strategy. Cancer Sci 99:1501–1506
44. Del Prete A, Allavena P, Santoro G, Fumarulo R, Corsi MM, Mantovani A (2011) Molecular pathways in cancer-related inflammation. Biochem Med 21:264–275
45. Foltz CJ, Fox JG, Cahill R, Murphy JC, Yan L, Shames B, Schauer DB (1998) Spontaneous inflammatory bowel disease in multiple mutant mouse lines: association with colonization by Helicobacter hepaticus. Helicobacter 3:69–78
46. Coussens LM, Werb Z (2002) Inflammation and cancer. Nature 420:860–867
47. Allavena P, Sica A, Garlanda C, Mantovani A (2008) The Yin-Yang of tumor-associated macrophages in neoplastic progression and immune surveillance. Immunol Rev 222:155–161
48. Koki A, Khan NK, Woerner BM, Dannenberg AJ, Olson L, Seibert K, Edwards D, Hardy M, Isakson P, Masterrer JL (2002) Cyclooxygenase-2 in human pathological disease. Adv Exp Med Biol 507:177–184
49. Kunku JK, Surh YJ (2008) Inflammation: gearing the journey to cancer. Mutat Res 659:15–30
50. Byrne AM, Bouchier-Hayes DJ, Harmey JH (2005) Angiogenic and cell survival functions of vascular endothelial growth factor (VEGF). J Cell Mol Med 9:777–794
51. Liu Y, Tamimi RM, Collins LC, Schnitt SJ, Gilmore HL, Connolly JL, Colditz GA (2011) The association between vascular endothelial growth factor expression in invasive breast cancer and survival varies with intrinsic subtypes and use of adjuvant systemic therapy: results from the Nurses' Health Study. Breast Cancer Res Treat 129:175–184
52. Cao Y (2007) Angiogeneis modulates adipogenesis and obesity. J Clin Invest 117:2362–2368
53. Renehan AG (2010) Body fatness and bevacizumab-based therapy in metastatic colorectal cancer. Gut 59:280–290
54. Simkens LH, Koopman M, Mol L, Veldhuis GJ, Ten Huinink Bokkel D, Muller EW, Derleyn VA, Teerenstra S, Punt CJ (2011) Influence of body mass index on outcome in advanced colorectal cancer patients receiving chemotherapy with or without targeted therapy. Eur J Cancer 47:2560–2567
55. Iwaki T, Urano T, Umemura K (2012) PAI-1, progress in understanding the clinical problem and its aetiology. Br J Haematol 157:291–298
56. Skurk T, Hauner H (2004) Obesity and impaired fibrinolysis: role of adipose production of plasminogen activator inhibitor-1. Int J Obes Relat Metab Disord 28:1357–1364
57. Muldowney JA, Chen Q, Blakemore DL, Vaughan DE (2012) Pentoxifylline lowers plasminogen activator inhibitor 1 levels in obese individuals: a pilot study. Angiology 21 Feb [epub ahead of print]
58. de Jong M, Maina T (2010) Of mice and humans: are they the same?–implications in cancer translational research. J Nucl Med 51:501–504
59. Charafe-Jauffret E, Monville F, Ginestier C, Dontu G, Birnbaum D, Wicha MS (2008) Cancer stem cells in breast: current opinion and future challenges. Pathobiology 75:75–84
60. Dunlap SM, Chiao LJ, Nogueira L, Usary J, Perou CM, Varticovski L, Hursting SD (2012) Obesity enhances epithelial-to-mesenchymal transition, cancer stem cell enrichment, and tumor progression in a novel Wnt-1 mammary cancer model. Cancer Prev Res 15 May (Epub ahead of print)
61. DeLellis K, Ingles S, Kolonel L, McKean-Cowdin R, Henderson B, Stanczyk F et al (2003) IGF1 genotype, mean plasma level and breast cancer risk in the Hawaii/Los Angeles multiethnic cohort. Br J Cancer 88:277–282
62. Baglietto L, English DR, Hopper JL, Morris HA, Tilley WD, Giles GG (2007) Circulating insulin-like growth factor-I and binding protein-3 and the risk of breast cancer. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 16:763–768
63. Nunez NP, Perkins SN, Smith NC, Berrigan D, Berendes DM, Varticovski L, Barrett JC, Hursting SD (2008) Obesity accelerates mouse mammary tumor growth in the absence of ovarian hormones. Nutr Cancer 60:534–541

64. Ruan W, Kleinberg DL (1999) Insulin-like growth factor I is essential for terminal end bud formation and ductal morphogenesis during mammary development. Endocrinology 140:5075–5081
65. Sivakumar R, Koga H, Selvendiran K, Maeyama M, Ueno T, Sata M (2009) Autocrine loop for IGF-I receptor signaling in SLUG-mediated epithelial-mesenchymal transition. Int J Oncol 34:329–338
66. Graham TR, Zhau HE, Odero-Marah VA, Osunkoya AO, Kimbro KS, Tighiouart M et al (2008) Insulin-like growth factor-I-dependent up-regulation of ZEB1 drives epithelial-to-mesenchymal transition in human prostate cancer cells. Cancer Res 68:2479–2488
67. Wysocki PJ, Wierusz-Wysocka B (2010) Obesity, hyperinsulinemia and breast cancer: novel targets and a novel role for metformin. Expert Rev Mol Diagn 10:509–519
68. Hirsch HA, Iliopoulos D, Tsichlis PN, Struhl K (2009) Metformin selectively targets cancer stem cells, and acts together with chemotherapy to block tumor growth and prolong remission. Cancer Res 69:7507–7511
69. Wu MH, Chou YC, Chou WY, Hsu GC, Chu CH, Yu CP et al (2009) Circulating levels of leptin, adiposity and breast cancer risk. Br J Cancer 100:578–582
70. Choi SS, Syn WK, Karaca GF, Omenetti A, Moylan CA, Witek RP et al (2010) Leptin promotes the myofibroblastic phenotype in hepatic stellate cells by activating the hedgehog pathway. J Biol Chem 285:36551–36560

Meyve ve Sebzeler: WCFR/AICR Kanserin Önlenmesi İçin Hayat Tarzı Önerilerindeki Epidemiyolojik Kanıtların Güncellenmesi

Teresa Norat, Dagfinn Aune, Doris Chan ve Dora Romaguera

Özet

Dünya Kanser Araştırma Fonu/Amerikan Kanser Araştırma Enstitüsü (WCRF/AICR) tarafından yayınlanan kanserden korunma amaçlı güncel diyet önerileri "günde en az 5 porsiyon çeşitli nişastasız sebze ve/veya meyve tüketilmesi gereklidir" cümlesini içermektedir. WCRF/AICR'nin en güncel yayınında (2007) meyve ve sebzelerin kanserden koruyucu etkileri ile ilgili ağız, farenks ve larenks, özofagus, mide, akciğer kanseri için "muhtemel", nasofarenks, akciğer, kolorektum, over, endometrium, pankreas, karaciğer kanserleri için de "sınırlı anlamlı" ifadeleri yer almaktadır. WCRF/AICR tarafından 1997 yılında yayınlanan daha önceki bir bildiride ise meyve ve sebzelerin kanser riskiyle ilişkileri hakkındaki kanıtların ikna edici olduğu belirtilmiştir. Bu yargı esas olarak vaka kontrol çalışmalarına dayanmaktaydı. Meyve ve sebze tüketiminin kolorektal, meme ve pankreas kanseri ile ilişkisi Sürekli Güncelleme Projesi (CUP) tarafından tekrar incelenmiştir. Elde edilen sonuçlar metaanalizlerde kantitatif olarak özetlenmiştir. CUP elindeki yeni verilerle WCRF/AICR'nin meyve ve sebzelerin kanser etyolojisindeki rolleri hakkında ikna edici kanıtlar olmadığını bildiren ikinci uzman raporunu konfirme etmiştir. Ancak diyet lif tüketiminin kolorektal kanserdeki rolü ile ilgili CUP tarafından toplanan veriler daha tutarlıdır. CUP uzman paneli diyet lifinin kolorektal kanser etyolojisindeki rolünü kısa süre önce "muhtemel" düzeyinden "ikna edici" düzeyine yükseltmiştir.

T. Norat (✉) · D. Aune · D. Chan · D. Romaguera
Department of Epidemiology and Biostatistics, School of Public Health, Imperial College London, St. Mary's Campus, Norfolk, Place, Paddington, UK W2 1PG, London
e-mail: t.norat@imperial.ac.uk

V. Zappia et al. (eds.), *Advances in Nutrition and Cancer,*
Cancer Treatment and Research 159, DOI: 10.1007/978-3-642-38007-5_3,
© Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2014

Anahtar Kelimeler
Hayat Tarzı Tavsiyeleri • Kanserin önlenmesi • Kanser riski

Kısaltmalar

WCRF/AICR	Dünya Kanser Araştırma Fonu/Amerikan Kanser Araştırma Enstitüsü
CUP	Sürekli Güncelleme Projesi
RR	Rölatif Risk
EPIC	Avrupa Kanser ve Nütrisyon Araştırması

İçindekiler

1 Giriş 36
2 Sürekli Güncelleme Projesi 39
3 Meyve, Sebze ve Kanser Riskinin ilişkisi ile İlgili Epidemiyolojik Kanıtlar 40
4 Sürekli Güncelleme Projesinden Bitkisel Gıdaların Meme, Kolorektal ve Pankreas Kanserleri ile İlişkisi Hakkında Güncel Kanıtlar 41
5 WCRF/AICR Önerilerine Uyum Bir Popülasyondaki Kanser Riskini Azaltır mı? 46
5 Sonuç Değerlendirmesi 48
Referanslar 49

1 Giriş

Dünya Kanser Araştırma Fonu (WCRF) ve Amerikan Kanser Araştırma Enstitüsü (AICR) 2007 yılında "Gıda, Nütrisyon, Fiziksel Aktivite ve Kanserin Önlenmesi: Global bir Perspektif" başlıklı İkinci Uzman Raporu'nu yayınladı [24]. İkinci Uzman Raporu kanserin önlenmesi için bu alandaki bilimsel kanıtların kapsamlı incelemesine dayanan on adet öneri içermektedir. Bu raporu "Kanser Önleme Politikası ve Faaliyetleri: Gıda, Nütrisyon ve Fiziksel Aktivite - Global bir Perspektif" başlıklı ikinci yayın [25] takip etti. Rapor politikalar ve politikacılar ile ilgili faaliyetler, politika yapıcılar, sağlık profesyonelleri ve diğer partiler ile ilgili öneriler içeriyordu. Öneriler gıda tüketimi ve fiziksel aktivite paternlerinin sosyal, kültürel, politik ve ekonomik faktörlerden etkilendiği prensibinden yola çıkarak hazırlanmıştı.

İkinci Uzman Raporu bu konuda yayınlamış en otoriter analiz olma özelliğini de taşıyordu. İkinci Uzman Raporunun yazılma süreci bir grup uzmanın (Çalışma Grubu) sistematik analizler, gözlemsel epidemiyolojik çalışmalar ve kanser etyolojisinin gıda, nütrisyon ve fiziksel aktivite ile ilişkisini araştıran girişimsel çalışmalarda kullanılan detaylı metodolojileri değerlendirilmesi ile başlamıştır [23, http://www.dietandcancerreport.org/cancer_resource_center /downloads/SLR_Manual.pdf]. Kullanılan spesifikasyon kılavuzunun fizibilitesi, kullanışlılığı ve çoğaltılabilirlik düzeyi endometrium kanserini test konusu olarak kullanan iki bağımsız akademik enstitü tarafından test edildi [22]. Gıda, nütrisyon ve fiziksel aktivitenin on yedi kanser türü ve kanser sağkalımı ile ilişkisi hakkındaki epidemiyolojik kanıtlar ve obezitenin belirleyici faktörleri Avrupa ve ABD'deki dokuz akademik araştırma kurumunda sistematik olarak incelendi.

Epidemiyolojik, deneysel ve laboratuvar araştırmalarının sistematik analizi WCRF/AICR tarafından atanan uluslararası uzman panelinin gıdaların, nütrisyonun, fiziksel aktivitenin ve şişmanlığın kanser etyolojisindeki rolüyle ilgili kanıtları değerlendirip kategorilendirerek kanserin önlenmesi ile ilgili öneriler ve halk sağlığı hedefleri belirlemelerinin temelini oluşturmuştur. Diğer hastalıkların önlenmesi ile ilgili önerilerde bulunan ulusal ve uluslararası raporlarda göz önüne alınarak kanserin önlenmesi ile ilgili önerilerin geniş bir halk sağlığı bakış açısıyla oluşturulması amaçlanmıştır. Panel kanıtları sunmadan önce her kategori için gerekli olan minimum kriterler üzerinde fikir birliğine varmıştır. Kategoriler ikna edici, muhtemel, sınırlı ve risk üzerinde anlamlı etki yapma olasılığı az olarak belirlenmiştir. Sınırlı kategorisi, nedensel ilişki düşünülen durumlar için "sınırlı anlamlı", çıkarım yapılamayan durumlar için de "sınırlı - çıkarım yok" olarak ikiye ayrılmıştır. Bunlara ek olarak esneklik sağlamak amacıyla, kanıtların belirli özellikleri çıkarımların derecesini yükseltmek veya düşürmek amacıyla kullanılmıştır. Önerilerin temelini çıkarımlar oluşturmuştur. Önerilerin oluşturulmasında sadece muhtemel veya ikna edici olarak sınıflandırılan çıkarımlar kullanılmıştır.

İkinci uzman raporu sekiz genel ve iki özel öneri içermektedir (Tablo 1). Öneriler halk sağlığına hitap edebilmek amacıyla geniş tabanlı bir yaklaşım kullanmıştır. Kanseri önlemeyi amaçlayan gıda ve diyet tavsiyeleri spesifik besin öğeleri ve kanser türlerine odaklanmak yerine genel bir yaklaşımla hazırlanmıştır.

Ancak bilimsel kanıtlar sürekli olarak artmaya devam etmektedir. Mevcut kanıtların ışığında yeni çalışmaların yapılması gerekmektedir. WCRF/AICR kanıtların sürekli olarak güncellenmesini sağlayabilmek için Londra Imperial College araştırmacıları ile işbirliği içinde Sürekli Güncelleme Projesini (CUP) yürütmektedir.

Tablo 1 2007 Dünya Kanser Araştırma Fonu/Amerikan Kanser Araştırma Enstitüsü Kanserin Önlenmesinde Bireysel Öneriler

Öneriler
ŞİŞMANLIK
Normal sınırlar içindeki vücut ağırlığına mümkün olduğu kadar yakın olunuz
Çocukluk ve adolesan dönemdeki vücut ağırlığından tahmin edilen 21 yaşındaki olası VKİ'nin normalin alt sınırına yakın olmasını sağlayınız
Vücut ağırlığının 21 yaşından itibaren normal sınırlar içinde kalmasını sağlayınız
Erişkin yaşam boyunca kilo alımını ve bel çevresi artışını engelleyiniz
FİZİKSEL AKTİVİTE
Fiziksel aktiviteyi günlük yaşamın bir parçası haline getirerek aktif kalınız
Günde en az 30 dakika tempolu yürüyebilecek şekilde orta derecede aktif kalınız
Egzersiz faydalı olduğu için hergün ≥ 60 dakika orta düzeyde veya ≥ 30 dakika hızlı tempolu egzersiz yapınız.
Televizyon seyretmek gibi sedanter alışkanlıkları azaltınız
KİLO ALIMINA YOL AÇAN YİYECEK VE İÇECEKLER
Enerji yoğun besinlerin tüketimini azaltınız Şekerli içeceklerden kaçınız
Enerji yoğun yiyecekleri az miktarda tüketiniz
Şekerli içeceklerden kaçınınız
"Fast food" ürünlerini az miktarda tüketiniz
BİTKİSEL BESİNLER
Çoğunlukla bitkisel kaynaklı gıdalar tüketiniz
Günde en az beş porsiyon (400 gr veya 14 oz) farklı çeşitlerde nişastasız sebze ve/veya meyve tüketiniz
Her öğünle görece olarak az işlenmiş tahil (taneli) ve/veya bakliyat tüketiniz
Rafine nişastalı besinleri azaltınız
Nişastalı kök ve yumru sebzeleri tüketenlerin nişastasız sebze, meyve ve baklagilleri de yemeleri gereklidir
HAYVANSAL GIDALAR
Kırmızı et tüketimini azaltınız ve işlenmiş et ürünlerinden kaçınınız
Kırmızı etin haftada 500 gr'dan (18oz) az tüketilmesi, işlenmiş et ürünlerinin de çok az miktarda yenilmesi uygundur
ALKOLLÜ İÇKİLER
Alkollü içecekleri azaltınız
Alkollü içkiler kullanılıyorsa, erkekler için günde iki kadeh, kadınlar için de günde bir kadeh ile sınırlayınız.
KORUMA, İŞLEME, HAZIRLAMA

*(*devam ediyor*)*

Tablo 1 (devam ediyor)

Öneriler
Tuz tüketimini azaltınız
Küflü tahıl (taneli) ve baklagillerden sakınınız
Koruma amaçlı tuz eklenen, tuzlanmış veya tuzlu gıdalardan sakınınız. Besinleri tuz kullanmadan koruyunuz
Tuz eklenerek işlenmiş gıdaları azaltınız. Günde 6 gr'dan (2.4 gr sodyum) tuz tüketiniz
Küflü tahıl (taneli) ve baklagilleri yemeyiniz
DİYET TAKVİYELERİ
Nütrisyonel hedefleri sadece diyet ile karşılamaya çalışınız
Diyet takviyeleri kanserin önlenmesinde tavsiye edilmemektedir
EMZİRME
Anneler emzirmeli; çocuklar emzirilmelidir
Bebek altı ay boyunca sadece anne sütü ile emzirilmelidir. Sonrasında ilave gıdalar ile devam edilir
KANSER HASTALARI
Kanser hastalığı ile ilişkili önerilere uyunuz
Her kanser hastası uygun eğitimli bir profesyonelden nütrisyon desteği almalıdır.
Yapılabiliyorsa farklı tavsiye edilmediği sürece diyet, sağlıklı kilo ve fiziksel aktivite ile ilgili önerilere uyulması hedeflenmelidir.
[24] nolu referanstan uyarlanmıştır

2 Sürekli Güncelleme Projesi

CUP gıda, nütrisyon, fiziksel aktivite, şişmanlık ve kanser riski ile ilgili literatürlerin sürekli olarak değerlendirildiği projedir [http://www.wcrf.org/cancer_ research/cup/index.php]. CUP yayınlanan kanıtlarla ilgili sistematik literatür analizini WCRF/AICR ikinci uzman raporunda kullanılan yönteme benzer şekilde gerçekleştirerek kanıtların incelenmesinde tutarlı bir yaklaşım sağlamayı hedeflemektedir. Ayrıca WCRF/AICR'nin atadığı diyet, fiziksel aktivite, obezite ve kanser konusunda lider bilim adamlarından oluşan bağımsız uzmanlar paneli de (CUP paneli) önerilerin yayınlanmasından önce CUP'ın ürettiği sistematik literatür analiz sonuçlarını mekanik çalışmaların kanıtları ile birlikte değerlendirerek gereken sonuçları çıkarmaktadır. Verileri toplayan ve özetleyenler ile bu verileri değerlendirenlerin farklı uzmanlar olmasının amacı, CUP'ın yaptığı veri analiz ve yorumlarının bağımsız bir şekilde gerçekleşmesini sağlayarak 2007 WCRF/ AICR kanser önleme önerilerinin gözden geçirilmesini ve gerektiğinde güncellenmesini sağlayacak temeli oluşturmaktır.

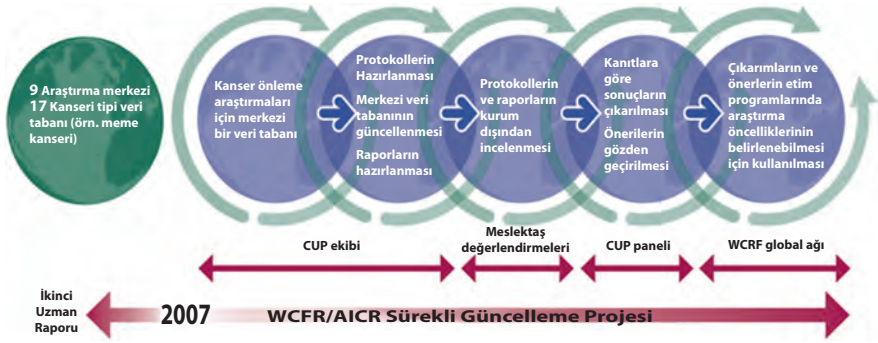
İkinci uzman raporundaki önerilerin çoğu prospektif ve randomize kontrollü çalışmaların sonuçları baz alınarak geliştirilmiştir. Bu süreçte yer alan iki çalışmanın dizaynları kanıt hiyerarşisinin üst basamağında yer almıştır [15]. Nütrisyon ve kanserle ilgili vaka kontrol ve kohort çalışmalarının birbirleri ile uyumlu sonuçlar vermediğini gösteren yaygın kanıtlar da mevcuttur [20]. Bu nedenle kohort ve randomize kontrollü çalışmalardan elde edilen kanıtlar CUP tarafından sürekli olarak incelenmektedir. Analizlerde vaka kontrol çalışmaları, kesitsel çalışmalar ve ekolojik çalışmalar yer almamaktadır.

CUP'ın bir özelliği de gıda, nütrisyon, fiziksel aktivite ve obezitenin kanser riski ile ilişkisini araştıran tüm kohort ve randomize kontrollü çalışmaların sonuçlarını içeren büyük veri tabanının sürekli olarak güncellenmesidir (Şekil 1). CUP veri tabanının sürekli güncellenmesinin ilk adımı sistematik kanser analizleri ile oluşturulan veri tabanlarının tek bir özgün veri tabanı içinde kombine edilerek toplanan tüm verilerin aynı formatla standardize edilmesidir. CUP nütrisyon ve kanser ile ilgili epidemiyolojik verileri içeren bilinen en büyük veri tabanına sahiptir. Bu veri tabanı uzman panelini bilgilendirmekte kullanılan CUP metaanalizlerinin kaynağıdır.

3 Meyve, Sebze ve Kanser Riskinin ilişkisi ile İlgili Epidemiyolojik Kanıtlar

2003 yılında meyve ve sebze tüketiminin kanser ile ilişkisini konu alan büyük ölçekli sistematik analizde vaka kontrol çalışmalarından alınan genel veriler meyve ve sebze tüketiminin özofagus, akciğer, mide ve kolorektal kanser riskini azalttığı görüşünü desteklemektedir. Meme kanseri riski sebze tüketimi ile ters orantılıdır. Ancak bu ilişki meyve tüketimi için geçerli değildir. Meyve tüketimi mesane kanseri ile ilişkili bulunurken bu ilişki sebze tüketimi için geçerli değildir. Ancak meyve ve sebze tüketiminin birçok kanser türünden koruyucu etkilerini araştıran kohort çalışmalarından elde edilen veriler, vaka kontrol çalışmaları verileri kadar ikna edici değildir. Kohort çalışmalarında sadece akciğer ve mesane kanserinin meyve tüketimi ile anlamlı bir bağlantısı tespit edilmiştir [20]. Vaka kontrol ve kohort çalışmalarının genel sonuçları arasındaki bu çelişkiler hatırlama veya seçim sapmalarından kaynaklanıyor olabilir. Diğer yandan bazı prospektif çalışmalarda da her kohorttaki diyet ölçümlerinin yanlış yapılmasından veya diyetle alınan gıda miktarlarındaki varyasyonların sınırlı olmasından kaynaklanan bazı ilişkilerin yeterince dikkate alınmamış olması mümkündür.

2007 yılında kohort çalışmalarından alınan daha kapsamlı kanıtlarla yayınlanan WCRF/AICR ikinci uzman raporunda meyve ve sebze kullanımının kanser riskini modifiye edebileceği yönündeki kanıtların tatminkar olmadığı sonucuna varılmıştır (Tablo 2). Raporda meyve ve sebze tüketiminin ağız, farenks, özofagus ve mide kanserleriyle muhtemelen ilişkili olduğu ifadesi de yer almıştır. Meyve tüketiminin akciğer kanseriyle,



Şekil 1 Sürekli Güncelleme Projesinin İşleyişi.

karoten içeren gıdaların prostat kanseriyle, folat içeren gıdaların da pankreas kanseriyle muhtemel ilişkisi olduğu bildirilmiştir.

Bu yargıların büyük bölümü vaka kontrol çalışmalarının sonuçlarına dayanmaktadır. Kanser riskinde azalmaya yol açan diyetlerin çoğunun bitkisel gıdalardan oluştuğu yönündeki entegre bir yaklaşımı [24] değerlendiren uzman paneli, farklı çeşitlerdeki nişastasız sebzelerin ve meyvelerin her gün tüketilmesini önermiştir. Ayrıca işlenmemiş tahıl ve baklagiller tüketimini önerirken nişastalı gıdaların tüketiminin de sınırlanmasını tavsiye etmiştir.

4 Sürekli Güncelleme Projesinden Bitkisel Gıdaların Meme Kolorektal ve Pankreas Kanserleri ile İlişkisi Hakkında Güncel Kanıtlar

CUP meme, kolorektal ve pankreas kanserleri ile ilgili sistematik literatür analizleri Londra Imperial College'deki araştırıcılar tarafından gerçekleştirilmektedir. WCRF/AICR ikinci uzman raporu için yapılan sistematik literatür analizinde (Haziran 2006'ya kadar) yayınlanmış makalelerin araştırılması ve verilerin toplanması işlemi Milan İtalya'daki İstituo Nazionale Tumori (meme kanseri), Hollanda'daki Wageningen Üniversitesi (kolorektal kanser) ve İngiltere'deki Leeds Üniversitesi (pankreas kanseri) araştırmacıları tarafından gerçekleştirilmiştir. Bu merkezlerde toplanan veriler güncel CUP analizlerinde kullanılmıştır.

CUP metaanalizlerinde kullanılan yöntemlerden bu bölümün farklı yerlerinde bahsedilmektedir [11]. En yüksek tüketim miktarları ile en düşük tüketim miktarları ve doz cevap analizinin risk oranlarının (RR) ve güven aralıklarının (%95 CI) hesaplanmasında kısa rastgele etki modelleri kullanılmıştır.[13]. Risk oranının doğal logaritması tahmin edilmiştir. Her çalışmanın risk oranı varyansının karşıtı ile dengelenmiştir. Greenland ve Longnecker [14] tarafından tanımlanan yöntem, tüketim kategorileri boyunca risk oranlarının ve güven aralıklarının doğal logaritmalarından lineer trendleri ve %95 güven aralıklarını hesaplamak amacıyla doz cevap analizlerinde kullanılmıştır. WCRF/

Tablo 2 WCRF/AICR ikinci uzman raporunda meyve, sebze ve kanser riski ilişkisindeki kanıtların uzman paneli tarafından sınıflandırılması

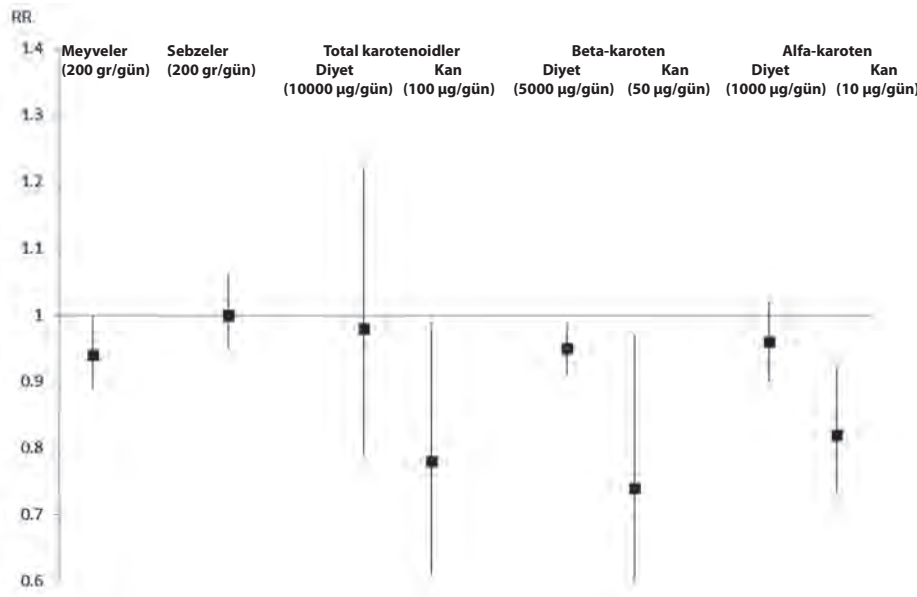
Kanıt Düzeyi	Risk azalması	
	Maruziyet	Kanser bölgesi
İkna edici	Meyve ve sebzelerin kanser riskini modifiye etmeleri ile ilgili ikna edici kanıt yoktur	
Muhtemel	Nişastasız sebzeler	Ağız, farenks, larenks
		Özofagus
		Mide
	Alyum bitkileri	Mide
	Sarımsak	Kolorektum
	Meyveler	Ağız, farenks, larenks
		Özofagus
		Akciğer
		Mide
	Folat içeren besinler	Pankreas
Sınırlı anlamlı	Nişastasız sebzeler	Nazofarenks
		Akciğer
		Kolorektum
		Over
		Endometrium
	Havuç	Serviks
	Meyveler	Nazofarenks
		Pankreas
		Karaciğer
		Kolorektum

[24] nolu referanstan adapte edilmiştir

AICR ikinci uzman raporu için yapılan literatür araştırmasında ortaya çıkan eksik veriler için eldeki verilerden doz cevap eğrilerinin ve güven aralığının tahmin edilmesinde birkaç farklı yaklaşım kullanılmıştır [8]. İkinci uzman raporu için meyve ve sebze tüketiminin kanser riskiyle ilişkisi hakkında daha önce yapılan literatür analizlerinde kullanıldığı üzere, tüketimi frekans olarak bildiren çalışmalardaki tüketimlerin ortak bir ölçek üzerinde [gram/gün] yeniden hesaplanabilmesi için porsiyon miktarı olarak 8 gr kullanılmıştır [7]. Çalışmalar arasındaki heterojenite Q ve I^2 istatistikleri ile değerlendirildi [17]. İstatistiksel analizler için STATA programı kullanıldı.

- Meme kanseri, meyve ve sebzelerle ilgili sürekli güncelleme

2007 WCRF/ AICR raporunda meyve ve sebze ile meme kanseri arasındaki ilişki ile ilgili kanıtların bir sonuç çıkarabilmek için çok kısıtlı veya tutarsız oldukları bildirilmiştir.



Şekil 2 Meme ve kolorektal kanserlerin diyetle total lif alımına ve gıda kaynağına göre lineer doz cevaplarını inceleyen metaanaliz sonuçlarının özeti. Rölatif riskler ve güven aralıkları 10 gr/gün artışa göre hesaplanmıştır (şekiller CUP verilerini baz almaktadır [1, 2]).

Nisan 2011'e kadar yayınlanan 15 prospektif çalışmanın sonuçlarını içeren güncel CUP analizinde meyve ve sebze tüketiminin meme kanserini azalttığı yönünde kanıt mevcut değildir [3, 4]. En yüksek meyve tüketim kategorisi ile en düşük meyve tüketim kategorisinin karşılaştırılmasında heterojenite kanıtı olmaksızın zayıf bir ters orantı gözlenmiştir (rölatif risk [RR] = 0.92; %95 CI=0.86-0.98). Lineer doz cevap eğrilerinde meyve tüketimindeki 200 gr artış ile meme kanserinde görülen %6'lık hafif azalma istatistiksel olarak (sınırda) anlamlıdır ([RR] = 0.94; %95 CI=0.89-1.00). Doz cevap modellerindeki sebze tüketimi (sebze tüketiminde 200 gr artış için [RR] = 1.00; %95 CI = 0.95-1.06) ile veya en yüksek tüketim kategorisi ile en düşük kategorinin karşılaştırılmasında (RR = 1.00; %95 CI = 0.95–1.06) bir ilişki gösterilememiştir [4].

Diyet biyomarkerlerinin kullanıldığı farklı gözlemsel çalışmalarda (diyet anket verileri ile tahmin edilen ilişkilere göre) diyet ve hastalık sonlanım noktaları arasında daha güçlü ilişkiler bildirilmiştir [9, 16, 18]. Bu sonuçlar bazı diyet hastalık ilişkilerinin diyet ölçüm hataları nedeniyle eksik değerlendirildiğini düşündürmektedir [12]. CUP kapsamındaki diyetle alınan karotenoidler ve kan karotenoid düzeyleri ile ilgili metaanalizler bu gözlemi desteklemektedir (Şekil 2). CUP metaanalizlerinde meme kanseri ile diyet karotenoidleri arasında bir ilişki bulunmamıştır (10,000 için RR = 0.98; %95 CI = 0.79–1.22). Ancak kan karotenoid düzeyleri ile meme kanseri anlamlı bir ilişki gözlenmiştir

(100 μg/dl için RR = 0.78; %95 CI = 0.61–0.99) [3]. Kandaki alfa ve beta-karoten seviyeleri ile gözlenen anlamlı ters orantılı ilişkiler, aynı makrobesinleri kullananlardaki anketlerin sonuçlarından daha güçlü bulunmuştur. Karotenoidlerin kan konsantrasyonları diyet ile orta derecede korele olduğu için, sıklıkla meyve ve sebze tüketimi ile ilgili biyomarkerler olarak kullanılmaktadırlar (korelasyon aralığı 0.2 değerinden 0.5 değerinin üstüne kadar değişmektedir). Karotenoidler yağda çözündükleri için biyoyararlanımları diyetin yağ içeriği veya diğer kişisel faktörler ve muhtemelen de genetik farklılıklardan etkilenebilir. Karoteinlerin kandaki düzeyleri, farklı popülasyonlardaki biyoyararlanımları veya vücudun tamamındaki maruziyet hakkında iyi bir tahmin aracı olabilir ([19] nolu referansta incelenmiştir).

Meme tümörlerinin karakteristik özelliklerine göre mevye ve sebze tüketimi ile ilişkisinin de farklılıklar gösterebilme ihtimali mevcuttur. CUP kapsamında meme kanserini tümör özelliklerine göre sınıflandıran metaanalizlerin yapılabilmesi için gerekli olan sayıda çalışma mevcut değildir. 18 prospektif kohort çalışmasındaki 33.380 hastayı içeren Kohort Çalışmaları Havuzu Projesi, alfakaroten, betakaroten ve lutein/zeaksantin tüketiminin östrojen reseptörü negatif meme kanseri ile ters orantılı olduğunu ancak östrojen reseptörü pozitif meme kanseri ile bu ilişkinin mevcut olmadığını bildirmiştir. Projede yer alan çalışmalardaki karoteinod tüketimi anket verileri kullanılarak tahmin edilmiştir [26].

Meyve, sebze ve tahıllar birçok toplumdaki diyet lifinin ana kaynağıdır. Güncel CUP meme kanseri analizinde diyetle lif tüketimi ile meme kanseri arasında ters orantı bulunmuştur (her 10 gr/gün için RR = 0.95 CI = %95 = 0.91–0.98). Meyve lifi (RR = 0.88; %95 CI = 0.75–1.03) veya tahıl lifi tüketimi (RR = 0.91; %95 CI = 0.79–1.04) ile ters orantılı ancak anlamlı olmayan ilişkiler bulunmuştur. Ancak sebzelerden alınan lifler ile ilgili bir ilişki tespit edilmemiştir (RR = 0.97; %95 CI = 0.55–1.12) [1].

- Kolorektal kanser, meyve ve sebzelerle ilgili sürekli güncelleme

2007 WCRF/AICR raporunda meyve ve sebzelerin kolorektal kansere karşı koruyuculukları hakkında sınırlı kanıt olduğu yönünde panel kararı vardır. Meyve, sebze ve kolorektal kanser ilişkisi hakkında birçok çalışma mevcut olsa da sonuçları tam olarak tutarlı değildir.

Kolorektal kanser hakkındaki güncel CUP analizi için 31 Aralık 2010'a kadar yayınlanmış 19 prospektif çalışma belirlemiştir. Bu kohort çalışmalarının genel sonuçları (en yüksek ve en düşük tüketimler karşılaştırıldığında) kolorektal kanser ile meyve tüketimi arasında zayıf bir ilişki göstermiştir (RR = 0.90; %95 CI = 0.83–0.98). Ancak doz cevap ilişkisi mevcut değildir (Her 100 gr/gün için RR = 0.98; %95 CI = 0.94–1.01). Sebze tüketimi ile ters orantılı doz cevap ilişkisi gözlenmiştir (Her 100 gr/gün için RR = 0.98; 95 %CI = 0.97–0.99). Aynı ilişki en yüksek ve en düşük tüketimlerin karşılaştırılmasında da mevcuttur (RR = 0.91; 95 %95 CI = 0.86–0.96). Meyve, sebze ve kolorektal kanser ilişkisi fraksiyonel polinominal modeller ile de incelenmiştir [6]. Nonlineer modeller doz cevap ilişkilerinin çok düşük tüketim düzeylerinde daha belirgin olduğunu göstermiştir. Bu bulgu çok az meyve ve sebze tüketen bireylerin orta derecede artmış kolorektal kanser riski altında olduğunu ve meyve, sebze tüketimini

Tablo 3 Sürekli güncelleme projesinin kolorektal kanserle ilgili "ikna edici" ve "muhtemel" sonuçları

Gıda, nütrisyon, fiziksel aktivite ile kolon ve rektum kanserlerinin ilişkisi		
	Risk azalması	Risk artışı
İkna edici	Fiziksel aktivite	Kırmızı et
	Diyet lifi içeren besinler İşlenmiş et	İşlenmiş et
		Alkollü içkiler (erkek)
		Obezite
		Abdominal obezite
		Erişkin boyu
Muhtemel	Sarımsak	Alkollü içkiler (kadın)
	Süt	
	Kalsiyum	

WCRF/AICR Sürekli Güncelleme Projesi 2011, http://www.wcrf.org/cancer_research/cup/colorectal_cancer.php

100gr/gün düzeyinin üzerine çıkarmanın da az miktarda fayda sağladığını düşündürmektedir [5].

Diyet lifiyle ilgili WCRF/AICR ikinci uzman raporunda lif içeren gıdaların yüksek miktarda tüketiminin kolorektal kansere karşı muhtemel koruyucu etkisi değerlendirilmiştir. Lif tüketimi ve kolorektal kanser ile ilgili çalışmalarda tutarsız sonuçlar görüldüğü ve lif tüketimi sağlıklı yaşam tarzı ile ilişkili olma eğilimi gösterdiği için, gözlenen ilişkilerin (en azından kısmen) sağlıklı hayat tarzının rezidüel etkisi ile ilişkili olabileceği panel tarafından bildirilmiştir.

16 prospektif çalışmanın güncel CUP metaanalize kolorektal kanser riskinin diyetle lif tüketimi ile ters orantılı olduğunu konfirme etmiştir (10 gr/gün için RR = 0.90; %95 CI = 0.86–0.94) [2]. Gıda kaynağı ile ilgili CUP metaanalizleri bu ters orantılı ilişkinin tahıllardan alınan lif ile sınırlı olduğunu göstermiştir (10 gr/gün için RR = 0.90; 95 %CI = 0.83–0.97); meyvelerden alınan lif miktarı ile de ters orantılı bir ilişki gözlense de anlamlılık düzeyine ulaşılamamıştır (10 gr/gün için RR = 0.93; 95 %CI = 0.82–1.05). Sebzelerden alınan lif ile ilgili bir ilişki tespit edilmemiştir (10 gr/gün için RR = 0.98; %95 CI = 0.91–1.06) (Şekil 2). Diyet lifi ve kolorektal kanser ile ilgili veriler genel olarak tutarlıdır; çalışma sonuçları içinde anlamlı bir heterojenite tespit edilmemiştir (I^2 = %0). CUP uzman paneli 2011 yılındaki CUP sonuçlarının ışığında 2007 yılındaki WCRF/AICR ikinci uzman raporu panelinin çıkarımlarını modifiye etmiştir. Diyet lifi içeren gıdaların kolorektal kanserden koruyuculuk statüsü muhtemelden ikna edici seviyesine çıkarılmıştır (Tablo 3).

- Pankreas kanseri, meyve ve sebzelerle ilgili sürekli güncelleme

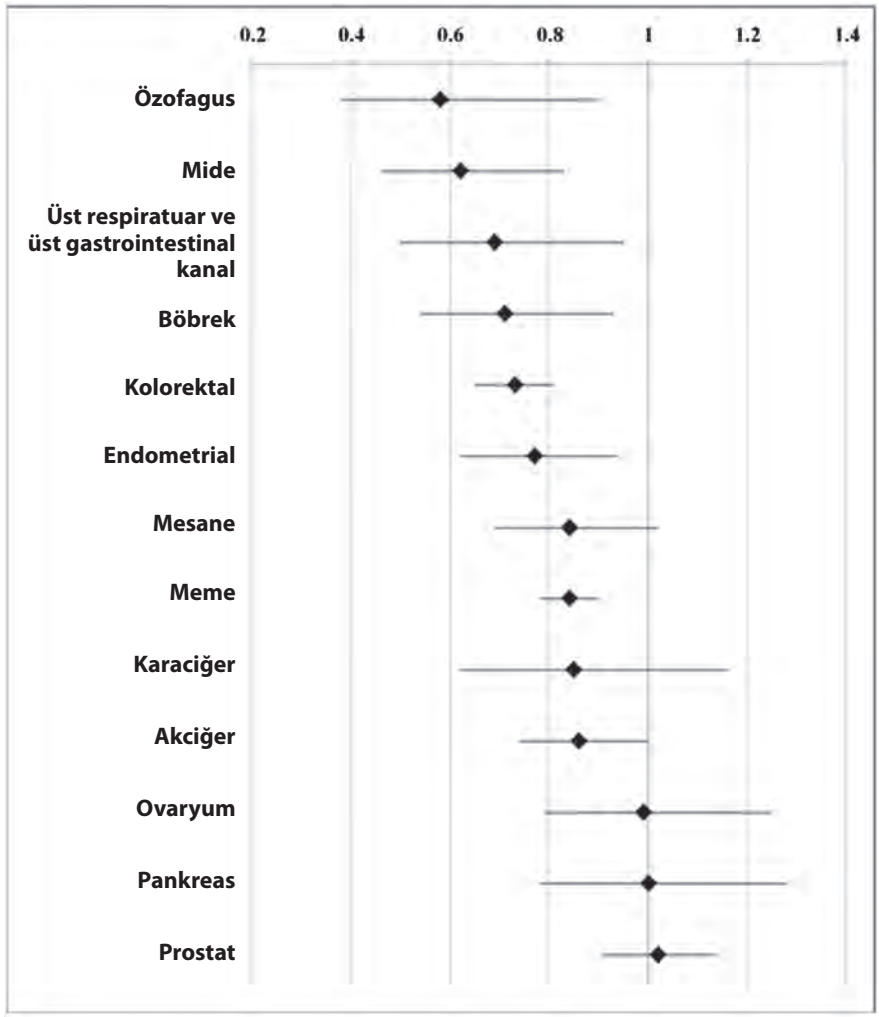
Pankreas kanseri ile ilişkili CUP analizi 31 Aralık 2011'e kadar yayınlanan çalışmaların sonuçları ile güncellenmiştir. İkinci uzman raporunun yayınlandığı 2007 yılından sonra pankreas kanseri hakkındaki prospektif çalışmalarla ilgili yayınların sayısında ciddi bir artış olmuştur. Pankreas kanseri insidansı ile mortalite ve sebzelerle ilgili 10, meyvelerle ilgili 12 çalışma belirlenmiştir. Bu çalışmaların 8 tanesi ikinci uzman raporundan sonra yayınlanmıştır.

CUP metaanalizleri meyve ve sebze tüketiminin pankreas kanseri ile ilişkisi hakkında herhangi bir kanıt içermemektedir. 100 gr'lık tüketim artışının rölatif riski sebzeler için 1.00 (%95 CI = 0.96–1.03), meyveler için de 1.00 (%95 CI = 0.95–1.05) bulunmuştur (yayınlanmamış veriler).

5 WCRF/AICR Önerilerine Uyum Bir Popülasyondaki Kanser Riskini Azaltır mı?

WCRF önerilerine uymanın bir popülasyondaki kanser riskini modifiye edebileceği varsayımındaki olası nedensel ilişkiye direkt kanıt sağlayabilecek araştırmalar randomize kontrollü çalışmalardır. Ancak bu tür çalışmalar sadece çalışma popülasyonu için gereken sayıdaki deneğin toplanmasında harcanacak zaman ve kaynak nedeniyle değil, aynı zamanda girişimin uygulanması ve sürdürülebilmesindeki metodolojik zorluklar, uyum ölçümü, girişim sırasında modifiye olabilen faktörlerin kontrolü ve etkilerin sapmalara meydan vermeksizin ölçümlerinin zorluğu gibi nedenler yüzünden her zaman uygulanabilir değildir. Bunun yerine gözlemsel prospektif çalışmalardan alınan indirekt kanıtlar kullanılarak WCRF/AICR önerilerine uygun hayat tarzı süren bireylerin daha düşük kanser riski taşıyıp taşımadıkları belirlenebilir. Bu görüş 1992-2000 yılları arasında kaydedilen 25-70 yaşları arasındaki, 521.330 kadın ve erkek ile gerçekleştirilen Avrupa Prospektif Kanser ve Nütrisyon Araştırması (EPIC) ile test edilmiştir. Çalışmaya 10 Avrupa ülkesi katılmıştır: Danimarka, Fransa, Almanya, Yunanistan, İtalya, Hollanda, Norveç, İspanya, İsveç ve İngiltere. Katılımcılar çalışmaya kayıt esnasında alkol kullanımı, sigara, fiziksel aktivite, eğitim, üreme geçmişi, emzirme, ekzojen hormon kullanımı ve geçirilmiş hastalık detaylarını da kapsayan medikal, diyet ve hayat tarzı anketleri doldurdular. Merkezlerin çoğunda vücut ağırlığı ve boy ölçümü ile ülkelere spesifik olarak valide edilmiş anketlerle rutin gıda tüketimleri belirlendi. EPIC çalışmasının detayları diğer bölümlerde anlatılmıştır [10].

WCRF/AICR önerileri ile uyum derecesinin değerlendirilmesi için önerilere uyum skorlaması geliştirilmiş ve çalışmaya kayıt esnasında toplanan veriler kullanılarak 386.355 EPIC katılımcısına uygulanmıştır. Başlangıçtaki skor ile devamında gelişebilecek kanser riski arasındaki ilişki araştırılmıştır. Medyan 11 yıllık takip süresi sonunda 36.994 EPIC katılımcısında kanser tespit edilmiştir. Sonuçlarda WCRF/AICR'nin kanseri önleme amaçlı diyet, nütrisyon, fiziksel aktivite ve kilo kontrolü ile ilgili öne-



Şekil 3 EPIC popülasyonundaki WCRF-AICR önerilerine en yüksek ve en düşük uyum skorları ile ilişkili spesifik kanser tiplerinin risk oranları (%95 CI). [21] nolu referanstan alınmıştır.

rilerine uymanın kanserin birçok türünün gelişme riskini azalttığı tespit edilmiştir. En yüksek WCRF/AICR uyum skoru grubunda (erkekler için ≥5 puan, kadınlar için ≥6 puan) alan katılımcıların herhangi bir kanser gelişme riski en düşük skor grubuna göre (erkekler için ≤2 puan, kadınlar için ≤3 puan) %18 daha az bulunmuştur. WCRF-AICR önerileri ile uyumun üst respiratuar sistem, üst gastrointestinal sistem, özofagus, mide, kolorektum, endometrium ve meme kanserini tahmin etmekte kullanılabileceği tespit edilmiştir (Şekil 3). WCRF-AICR skoru ile prostat, over, pankreas

ve mesane kanserleri tespit edilememektedir. Bu ilişkiler ikinci uzman raporundaki çıkarımlarla da uyumludur.

Skoru oluşturan komponentler arasında bitkisel gıdalarla ilgili önerilere uyum derecesinin kanser tahminindeki en güçlü gösterge olduğu bulunmuştur. Bitkisel gıda önerilerine en yüksek uyum skoru alan gruptaki (erkekler için ≥5 puan, kadınlar için ≥6 puan) herhangi bir kanser gelişme riski en düşük skor grubuna göre (erkekler için ≤2 puan, kadınlar için ≤3 puan) %11 (%95 CI = %6-16) daha az bulunmuştur [21]. Diğer komponentler ile ilişkili rölatif risk azalmaları %4 ile %6 arasında değişmektedir. Kilo artışına yol açan gıdalar ve emzirme ile ilgili önerilerin genel kanser riski ile ilişkili olmadığı (skorun diğer komponentlerine göre düzeltildikten sonra) bulunmuştur. Analizler sigara, eğitim durumu, kadınlarda (herhangi bir zamanda) oral kontraseptif kullanımı, hormon replasman tedavisi, ilk menarş yaşı, ilk hamilelik yaşı ve menopozal duruma göre düzeltilmiştir.

6 Sonuç Değerlendirmesi

2007 WCRF-AICR ikinci uzman raporu meyve ve sebzelerin kansere karşı koruyuculukları hakkındaki kanıtların ikna edici olmadığı sonucuna varmıştır. Daha fazla veriyi analiz eden CUP, WCRF-AICR ikinci uzman raporunun sonuçlarını konfirme etmiştir.

Buna karşın CUP öncesinde ve sırasına toplanan kanıtlar yüksek kan karotenoid düzeylerinin meme kanseri riskinde azalma ile ilişkili olduğunu göstermiştir. Ancak bu ilişki diyet karotenoidleri ile yapılan birçok çalışmada gözlenememiştir. Diyet ölçümündeki hatalardan kaynaklanma ihtimali olan bu çelişki diyet değerlendirme yöntemlerinin geliştirilebilmesi için daha fazla biyomarkera ihtiyaç olduğunu göstermektedir. Diğer taraftan diyetle az miktarda meyve ve sebze tüketen bireylerdeki kolorektal kanser ihtimalinin artabileceği CUP sonuçları tarafından desteklenmektedir. CUP lif tüketiminin kolorektal kanseri önlemedeki rolünü gösteren ikna edici veriler toplamış ve özetlemiştir.

EPIC çalışmasında yer alan bir popülasyonda WCRF/AICR önerilerine uyum skorunun belirlenmesi ile bu önerilere uymanın popülasyondaki kanser riskini azaltabileceği gösterilmiştir. Bitkisel gıdaların tüketimi ile ilgili önerilere uyum skorunun en önemli kanser tahmin öğesi olduğu bildirilmiştir.

Randomize kontrollü çalışmalar dizaynları gereği kanserin diyet modifikasyonları ile önlenip önlenemeyeceğini gösterebilmek için gereken neden sonuç ilişkisini inceleyen çalışmalardır. Ancak metodolojik problemler bu amaçla yapılabilecek randomize kontrollü çalışmaların yapılmasını sıklıkla uygulanabilir olmaktan çıkarmaktadır. Hayata geçirilebilmeleri için besin öğelerinin mevcudiyetini ölçecek biyomarkerlerin ve ara sonlanım noktalarının tanımlanması, spesifik besin öğeleri ile ilgili biyolojik yolakların ve mekanizmaların incelenmesinde önemli olabilir.

Diyet ve kanseri araştıran prospektif çalışmaların da diyet anketlerinin ölçüm hataları, valide biyomarkerlerin kısıtlı sayıları ve takip sürecinde tekrar değerlendirmelerin yapılmaması gibi kısıtlamaları mevcuttur. Ancak CUP tarafından gerçekleştirilen kapsamlı literatür analizleri ve daha önce yayınlanan makalelerde de görüldüğü gibi kanser riskinin gıda, nütrisyon, fiziksel aktivite ve obezite ile ilişkisi hakkındaki en önemli güncel veri kaynağı prospektif çalışmalardır.

Referanslar

1. Aune D, Chan DS, Greenwood DC, Vieira AR, Rosenblatt DA, Vieira R, Norat T (2012) Dietary fiber and breast cancer risk: a systematic review and meta-analysis of prospective studies. Ann Oncol 23:1394–1402
2. Aune D, Chan DS, Lau R, Vieira R, Greenwood DC, Kampman E, Norat T (2011) Dietary fibre, whole grains, and risk of colorectal cancer: systematic review and dose-response meta-analysis of prospective studies. BMJ 343:d6617. doi:10.1136/bmj.d6617.D6617
3. Aune D, Chan DS Vieira, AR, Navarro-Rosenblatt DA, Vieira R, Greenwood D, Norat T (2012) Dietary compared with blood concentrations of carotenoids and breast cancer risk: a systematic review and meta-analysis of prospective studies. Am J Clin Nutr 96:356
4. Aune D, Chan DS Vieira AR, Rosenblatt DA Vieira R, Greenwood DC, Norat T (2012) Fruits vegetables and breast cancer risk: a systematic review and meta-analysis of prospective studies. Breast Cancer Res Treat 134:479
5. Aune D, Lau R, Chan DS, Vieira R, Greenwood DC, Kampman E, Norat T (2011) Nonlinear reduction in risk for colorectal cancer by fruit and vegetable intake based on meta-analysis of prospective studies. Gastroenterology 141:106–118
6. Bagnardi V, Zambon A, Quatto P, Corrao G (2004) Flexible meta-regression functions for modeling aggregate dose-response data, with an application to alcohol and mortality. Am J Epidemiol 159:1077–1086
7. Bandera EV, Kushi LH, Moore DF, Gifkins DM, McCullough M (2007) Fruits and vegetables and endometrial cancer risk: a systematic literature review and meta-analysis. Nutr Cancer 58:6–21
8. Bekkering GE, Harris RJ, Thomas S, Mayer AM, Beynon R, Ness AR, Harbord RM, Bain C, Smith GD, Sterne JA (2008) How much of the data published in observational studies of the association between diet and prostate or bladder cancer is usable for meta-analysis? Am J Epidemiol 167:1017–1026
9. Bingham S, Luben R, Welch A, Low YL, Khaw KT, Wareham N, Day N (2008) Associations between dietary methods and biomarkers, and between fruits and vegetables and risk of ischaemic heart disease, in the EPIC Norfolk Cohort Study. Int J Epidemiol 37:978–987
10. Bingham S, Riboli E (2004) Diet and cancer—the European prospective investigation into cancer and nutrition. Nat Rev Cancer 4:206–215
11. Chan DS, Lau R, Aune D, Vieira R, Greenwood DC, Kampman E, Norat T (2011) Red and processed meat and colorectal cancer incidence: meta-analysis of prospective studies. PLoS ONE 6:e20456
12. Day NE, Wong MY, Bingham S, Khaw KT, Luben R, Michels KB, Welch A, Wareham NJ (2004) Correlated measurement error–implications for nutritional epidemiology. Int J Epidemiol 33:1373–1381
13. DerSimonian R, Laird N (1986) Meta-analysis in clinical trials. Control Clin Trials 7:177–188
14. Greenland S, Longnecker MP (1992) Methods for trend estimation from summarized dose-response data, with applications to meta-analysis. Am J Epidemiol 135:1301–1309

15. Guyatt GH, Sackett DL, Sinclair JC, Hayward R, Cook DJ, Cook RJ (1995) Users' guides to the medical literature. IX. A method for grading health care recommendations. Evidence-based medicine working group. JAMA 274:1800–1804
16. Harding AH, Wareham NJ, Bingham SA, Khaw K, Luben R, Welch A, Forouhi NG (2008) Plasma vitamin C level, fruit and vegetable consumption, and the risk of new-onset type 2 diabetes mellitus: the European prospective investigation of cancer–Norfolk prospective study. Arch Intern Med 168:1493–1499
17. Higgins JP, Thompson SG (2002) Quantifying heterogeneity in a meta-analysis. Stat Med 21:1539–1558
18. Jenab M, Riboli E, Ferrari P, Friesen M, Sabate J, Norat T, Slimani N, Tjonneland A, Olsen A, Overvad K, Boutron-Ruault MC, Clavel-Chapelon F, Boeing H, Schulz M, Linseisen J, Nagel G, Trichopoulou A, Naska A, Oikonomou E, Berrino F, Panico S, Palli D, Sacerdote C, Tumino R, Peeters PH, Numans ME, Bueno-de-Mesquita HB, Buchner FL, Lund E, Pera G, Chirlaque MD, Sanchez MJ, Arriola L, Barricarte A, Quiros JR, Johansson I, Johansson A, Berglund G, Bingham S, Khaw KT, Allen N, Key T, Carneiro F, Save V Del G.G, Plebani M, Kaaks R, Gonzalez CA (2006). Plasma and dietary carotenoid, retinol and tocopherol levels and the risk of gastric adenocarcinomas in the European prospective investigation into cancer and nutrition. Br J Cancer 95:406–415
19. Jenab M, Slimani N, Bictash M, Ferrari P, Bingham SA (2009) Biomarkers in nutritional epidemiology: applications, needs and new horizons. Hum Genet 125:507–525
20. Riboli E, Norat T (2003) Epidemiologic evidence of the protective effect of fruit and vegetables on cancer risk. Am J Clin Nutr 78:559S–569S
21. Romaguera D, Vergnaud AC, Peeters PH, Van Gils CH, Chan DS, Ferrari P, Romieu I, Jenab M, Slimani N, Clavel-Chapelon F, Fagherazzi G, Perquier F, Kaaks R, Teucher B, Boeing H, Von RA, Tjonneland A, Olsen A, Dahm CC, Overvad K, Quiros JR, Gonzalez CA, Sanchez MJ, Navarro C, Barricarte A, Dorronsoro M, Khaw KT, Wareham NJ, Crowe FL, Key TJ, Trichopoulou A, Lagiou P, Bamia C, Masala G, Vineis P, Tumino R, Sieri S, Panico S, May AM, Bueno-de-Mesquita HB, Buchner FL, Wirfalt E, Manjer J, Johansson I, Hallmans G, Skeie G, Benjaminsen BK, Parr CL, Riboli E, Norat T (2012) Is concordance with World Cancer Research Fund/American Institute for Cancer Research guidelines for cancer prevention related to subsequent risk of cancer? Results from the EPIC study. Am J Clin Nutr 96:150–163
22. Thompson R, Bandera E, Burley V, Cade J, Forman D, Freudenheim J, Greenwood D, Jacobs D, Kalliecharan R, Kushi L, McCullough M, Miles L, Moore D, Moreton J, Rastogi T, Wiseman M (2008) Reproducibility of systematic literature reviews on food, nutrition, physical activity and endometrial cancer. Public Health Nutr 11:1006–1014
23. Wiseman M (2008) The second World Cancer Research Fund/American Institute for Cancer Research expert report. Food, nutrition, physical activity, and the prevention of cancer: a global perspective. Proc Nutr Soc 67:253–256
24. World Cancer Research Fund/American Institute for Cancer Research (2007) Food, nutrition, physical activity and the prevention of cancer: a global perspective. AICR, Washington DC
25. World Cancer Research Fund/American Institute for Cancer Research (2009) Policy and action for cancer prevention food, nutrition and physical activity: a global perspective. AICR, Washington DC
26. Zhang X, Spiegelman D, Baglietto L, Bernstein L, Boggs DA, Van den Brandt PA, Buring JE, Gapstur SM, Giles GG, Giovannucci E, Goodman G, Hankinson SE, Helzlsouer KJ, Horn-Ross PL, Inoue M, Jung S, Khudyakov P, Larsson SC, Lof M, McCullough ML, Miller AB, Neuhouser ML, Palmer JR, Park Y, Robien K, Rohan TE, Ross JA, Schouten LJ, Shikany JM, Tsugane S, Visvanathan K, Weiderpass E, Wolk A, Willett WC, Zhang SM, Ziegler RG, Smith-Warner SA (2012) Carotenoid intakes and risk of breast cancer defined by estrogen receptor and progesterone receptor status: a pooled analysis of 18 prospective cohort studies. Am J Clin Nutr 95:713–725

İnsanda Prostat Kanseri Nedeni Olarak Diyet

William G. Nelson, Angelo M. DeMarzo ve Srinivasan Yegnasubramanian

Özet

Asemptomatik prostat enflamasyonu ve prostat kanseri gelişmiş dünyadaki erkeklerde epidemik boyutlara ulaşmıştır. Hayvan deneylerinde fazla pişirilmiş etlerdeki heterosiklik aminler gibi diyet kaynaklı karsinojenler, başta östrojen olmak üzere seks steroid hormonları prostat kanserine aday etyolojiler olarak gösterilmektedir. Herbiri kronik veya reküran bir hal alabilen enflamatuar cevabı tetikleyerek epitel hücre hasarına yol açmaktadır. Bu ortamda prostat kanserinin prekürsor lezyonlarının ilkini temsil eden bir tür fokal atrofi olan proliferatif enflamatuar atrofinin (PİA) gelişimi kolaylaşmaktadır. Yüksek c-Myc ekspresyonu, kısalmış telomer segmentleri, GSTP1 gibi bazı genlerin epigenetik olarak sessizleştirilmesi, π-sınıfı glutatyon S-transferazın kodlanması gibi prostatik intraepitelyal neoplazi (PİN) ve prostat kanserinin tüm özelliklerini taşıyan hücreler içeren PİA lezyonları nadir olarak görülür. Devamında görülen gen translokasyonları/silinmeleri gibi genetik değişimler androjenle regüle olan genlerle (örn. TMPRSS2) ETS ailesine ait transkripsiyon faktörlerini şifreleyen genler arasında (örn. ERG1) füzyon transkriptleri oluşturarak PİN lezyonlarının oluşumuna yol açarak prostatik adenokarsinom hücrelerinin invazif karakteristiğini artırabilirler. Letal prostat kanserleri belirgin olarak bozulmuş genomlar ve epigenomlar içerirler. Diyet karsinojenlerinin ve/veya östrojenlerin etkisiyle yüzlerce geni etkileyen ve klonal evrimleşmeyi metastatik yayılım yoluyla yöneten epigenetik "facianın" bir parçası olarak ortaya çıkan epigenetik sessizleştirme iltihaplı mikroçevreye bir cevap olarak ortaya çıkıyor görünmektedir. İlk epigene-

W. G. Nelson (✉) · A. M. DeMarzo · S. Yegnasubramanian
Departments of Oncology, Pathology, and Urology, Sidney Kimmel Comprehensive Cancer Center, Johns Hopkins University School of Medicine, Weinberg Bldg 1100, 1650 Orleans Street, Baltimore, MD 21231, USA
e-mail: bnelson@jhmi.edu

V. Zappia et al. (eds.), *Advances in Nutrition and Cancer,*
Cancer Treatment and Research 159, DOI: 10.1007/978-3-642-38007-5_4,
© Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2014

tik facianın nedeni belirlenememiş olmasına rağmen, muhtemelen aşırı DNA metilasyonu veya histon modifikasyonunun yol açtığı kromatin yapının korunmasında defektler içermektedir. Gelişmiş ülkelerdeki diyet karsinojenlerinin ve östrojenlerin indüklediği prokarsinojenik enflamasyon varlığında, diyetle ilgili komponentlerin prostat kanserini azaltabileceği ile ilgili spekülasyonlar caziptir. Özellikle domates ve turpgillerin kronik ve reküran enflamatuar prosesleri düzeltebilme potansiyellerini de içeren meyve ve sebze kullanımı bunlara örnek olarak verilebilir. Nütrisyonel ajanlar PIA lezyonlarının gelişimini önleyebilir veya PIA lezyonlarının epigenom bozulması ile oluşan genetik facia eğilimini azaltabilirler.

Anahtar Kelimeler

Prostat · Proliferatif enflamatuar atrofi · Heterosiklik aminler · Epigenetik · DNA metilasyonu

Kısaltmalar

PSA	Prostat spesifik antijen
BPH	Benign prostat hiperplazisi
PIA	Proliferatif enflamatuar atrofi
PIN	Prostatik intraepitelyal neoplazi
PhIP	Fenilimidazopiridin
GST	Glutatyon S-transferaz
TLRs	Toll benzeri reseptörler
COX	Siklooksijenaz
NSAİD	Nonsteroid antienflamatuar ilaç

İçindekiler

1 Proliferatif Enflamatuar Atrofi: Prostat Kanseri ile İlişkili Epitel Hasarı 53
2 Diyet: Prostat Epitel Hasarına ve PİA'ya yol Açabilen Karsinojen Kaynağı 55
3 Prostat Epitel Hasarına, Prostat Enflamasyonuna ve PİA'ya Yol Açabilen Diyet Dışı Faktörler 57
4 Enflamasyon, PİA ve Prostat Kanserinin Moleküler Patojenezi 59
5 Prostat Kanserini Önlemede Rasyonel Girişimler 61
6 Özet ve Sonuçlar 63
Referanslar 64

Prostat kanseri ABD ve Batı Avrupa'daki erkeklerde en sık teşhis edilen kanser türüdür. Geçmişte dünyanın geri kalan kısmında nadir görülen prostat kanseri, Asya ülkeleri ile diğer birçok gelişmekte olan ülkede artmaya başlamıştır. Diyet ve hayat tarzının yaş, aile

hikayesi, seks steroidleri gibi faktörlerle beraber prostatik karsinogenezisde rol oynadığı uzun süredir düşünülmektedir [57]. Ancak daha yakın zamanda yapılan moleküler patoloji çalışmaları, prostat kanseri gelişiminin erken basamaklarında kronik ve reküran epitel hücre hasarı ile birlikte seyreden kalıtsal ve adaptif enflamatuar cevapların sorumlu olduğunu düşündürmektedir [18]. Çok pişirilmiş etlerde oluşan heterosiklik aminler gibi bu tür bir hasara yol açabilen diyet komponentlerinin prostat kanseri karsinojeni olma ihtimalleri ağır basmaktadır. Bazı diyet komponentleri de hücre ve genom hasarını sınırlayarak ve/veya prostat enflamasyonunu azaltarak prostat kanserinden korunmaya yardımcı olabilirler. Diyet komponentleri, genetik yatkınlık ve seks steroidlerinin epitel hasarına yol açmaları ve/veya enflamatuar prosesleri yönlendirmelerinin altında yatan mekanizmaların daha iyi anlaşılması prostat kanserinden korunmada, kanser tarama stratejilerinin gelişmesinde ve belki de tedavi sonuçlarının iyileştirilmesinde yeni fırsatlar sunabilir.

1 Proliferatif Enflamatuar Atrofi: Prostat Kanseri ile İlişkili Epitel Hasarı

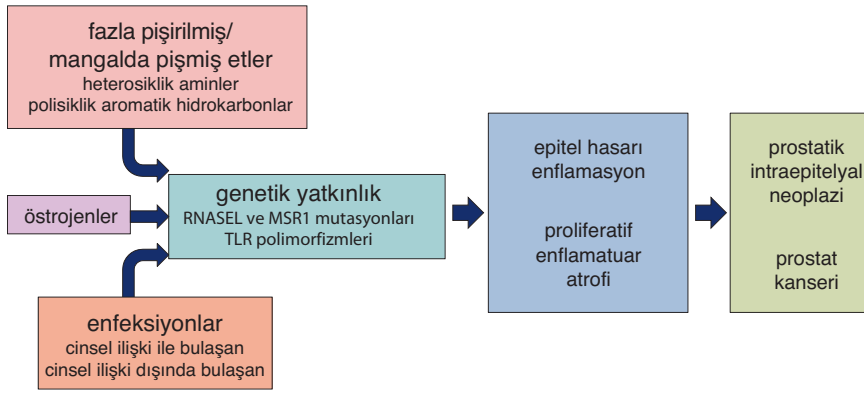
Dünyada prostat kanseri insidansının yüksek olduğu bölgelerde prostat enflamasyonu oldukça yaygın görülür [18]. Özellikle kanserin sık görüldüğü bölge olan periferik zonu etkileyen ve sıklıkla asemptomatik seyreden prostatitin serum prostatik antijeni (PSA) yükseltme özelliğinin olması nedeniyle prostat kanseri teşhisini yönlendirdiği (prostat kanserine yol açabilme eğiliminden bağımsız olarak) bilinmektedir. Enflamasyonlu prostatta, epitelin bariyer fonksiyonunun bozulması PSA gibi proteinleri de içeren prostat salgılarının geriye doğru akışına neden olur. Bu da salgıların prostat parankimine ve sonrasında da kan dolaşımına geçmesine yol açar. PSA'nın serumda tespiti prostat kanseri teşhisinde kullanılan prostat biyopsisini tetikler. Prostat enflamasyonu ABD'de her yıl gerçekleştirilen 30 milyon PSA testinden ve bir milyondan fazla biyopsiden sorumludur [36]. Bununla birlikte 40'lı yaşlar civarında serum PSA artışlarının görülmesi ilerleyen yaşlardaki prostat kanserinde artışla ilişkilidir [23, 24].

Prostat enflamasyonunun PSA düzeylerini artırma eğilimi popülasyon çalışmalarında prostatit ile prostat kanseri arasındaki ilişkinin test edilmesini büyük oranda zorlaştırmaktadır. Kanserle ilişkilendirme çalışmalarının sadece semptomatik prostatit ile sınırlandırılması da çok yardımcı olmamıştır. Semptomatik prostatit tipik olarak üretra yakınında benign prostat hiperplazisinin de (BPH) görüldüğü transizyon zonunda görülür. ABD'de her birinde PSA testi de uygulanan yıllık 2 milyon doktor başvurusuna yol açan irritatif idrar yapma problemleri yapar [50]. Sonuç olarak, epidemiyolojik çalışmalarda semptomatik prostatit ve prostat kanseri arasında tespit

edilen birçok korelasyonun, aslında prostatit hastalarına çok daha fazla biyopsi uygulanmasının yarattığı yanılgıdan (bias) kaynaklandığı düşünülmektedir [19]. Ayrıca semptomatik prostatit prostat kanserinin görüldüğü periferik zondaki enflamasyonu yansıtmadığı için, prostatitin prokarsinojenik enflamatuar prosesin zayıf bir göstergesi olduğu söylenebilir. Bu sınırlamaların üstesinden gelmek ve periferik zon enflamasyonunun prostat kanseri ile korele olup olmadığını anlayabilmek için serum PSA düzeyleri <3ng/ml olan asemptomatik hastalarda yapılan (finasterid ile) Prostat Kanseri Önleme Çalışmasının sonunda plasebo kullanan hastalardan alınan biyopsiler analiz edilmiştir [83]. Sonuçlarının yakın zamanda açıklanması beklenen çalışmanın prostattaki enflamasyonun kanser ile direkt olarak ilgili olup olmadığının kesin olarak anlaşılmasını sağlaması beklenmektedir.

Prostat enflamasyonunun en büyük nedeni diyet karsinojenleri, östrojenler ve enflamatuar oksidanların neden olduğu epitel hasarıdır [18]. Özellikle prostat kanseri olan prostat dokularının mikroskobik analizinde kronik olarak tekrarlanan doku hasarlarının ve yerleşik immün cevapların uzun süreli mevcudiyetleri ile ilgili kanıtlar bulunmuştur. Örneğin çok sayıda korpora amilasea, kalprotektin içeren mikroskobik lamine cisimler, miyeloperoksidaz ve nötrofil granüllerinden α-defensinler sıklıkla prostat bezi boyunca yaygın halde bulunurlar [71]. Bu cisimler akut enflamasyon sırasında nötrofil deşarjı ile oluşur ve enflamasyon hafifledikten sonra da kalırlar (kullanılmış mermi kovanları gibi). Sıçan prostat dokusunun prostat enflamasyonuna ve kanserine yatkın olması ve bol miktarda korpora amilasea içermesi de ilginçtir [32]. Prostat epiteli hasar gördüğünde dilate glandular lümenler ve immatür epitel hücreleri ile karakterize fokal atrofi lezyonları oluşur [16, 17]. Strese cevap olarak salgılanan α- ve π- sınıfı glutatyon S-transferazlar, siklooksijenaz-2 ve genom hasar savunması ve hücresel sağkalımla ilgili diğer medyatörlerin de indüklenmesi ile epitel hücreleri normal sekretuar hücre farklılaşma yolağı devre dışı kalmış gibi davranırlar [60, 86, 94]. Korpora amilasea ile çevrelenmiş fokal atrofik lezyonlar hücre ve organ hasarı olan prostat dokusunu işaretler ve prokarsinojenik bir ortam oluşur.

Prostattaki fokal atrofik tip hasar cevaplarından oluşan proliferatif enflamatuar atrofi (PİA) lezyonları (Şekil 1) enflamatuar hücrelerin çok yüksek epitel proliferasyonu ve infiltrasyon göstermeleri ile oluşur [67]. Epitel hasarına verilen cevabın tipi, diğer organlarda görülen atrofik gastrik, hepatit ve siroz gibi kanser oluşumuna yol açtığı bilinen bir dizi hastalıktaki cevapları andırır. PİA lezyonlarının prekürsor kanser lezyonları olarak prostatik intraepitelyal neoplaziye (PİN) ya da direkt olarak prostat kanserine yol açmaları şaşırtıcı değildir [64]. PİA gelişimine yol açan epitel hasarının prostat kanserini başlatabileceği yönündeki kanıtlar son dekadda artmıştır: (1) PİN ve prostat kanserinde görülenler ile tıpatıp aynı olan somatik genom ve epigenom defektlerinin bulunması, (2) PİA ve PİN ile PİA ve prostat kanseri arasında direkt morfolojik geçişlerin görülmesi, (3) PİN ve PİA lezyonlarındaki kanserde somatik genetik ve epigenetik değişimlerin sıklıkla gözlenmesi. Bunlar çoğunlukla normal ve neoplazi arasında bir derecededir, (4) prostat periferik zonundaki yüksek PİA lezyon prevalansının dünyada yüksek prostat kanseri



Şekil 1 Prostat kanserinin etyolojik faktörleri Prostat karsinogenezi, proliferatif enflamatuar atrofik lezyonlara yol açan prostat epitel hasarı, rejeneratif proliferasyon ve kronik/reküran enflamasyonu takip eder. c-Myc aktivasyonunun, telomer kısalmasının ve epigenetik aktivasyonun prostatik intraepitelyal neoplaziye ve prostat kanserine yol açabilme etkisi nedeniyle, bu lezyonlar, yeniden yapılanmış hedef genler, mutasyonlar ve ileri düzeyde bozulmuş epigenoma sahip hücrelerin oluşmasına neden olurlar.

riski olan bölgelerde görülmesi, (5) Diyet karsinojenlerini de içeren preklinik prostatik karsinogenez modellerinde kanserden önce PİA lezyonlarının ortaya çıktığının gösterilmiş olması [18].

Bozulmuş kalıtsal immün cevap ve doku hasarı cevabının takip ettiği prostat hasarı, diyetten prostat kanseri gelişimine kadar olan süreçleri de içeren ve çevresel maruziyetleri birbirine bağlayan bir yolak olabilir. Hem popüler çalışmalarda hem de moleküler patolojik analizlerde prostat enflamasyonu, PIA ve prostat kanseri arasındaki ilişki gayet nettir. Ancak diyet alışkanlıklarının ve diğer maruziyetlerin prostat kanseri oluşumuna yol açma mekanizmaları henüz tam olarak anlaşılamamıştır.

2 Diyet: Prostat Epitel Hasarına ve PİA'ya yol Açabilen Karsinojen Kaynağı

Prostat kanseri ile ilgili epidemiyoloji çalışmalarında diyetin prostat kanserini modüle eden majör bir faktör olduğu gösterilmiştir. Prostat kanseri insidansı ve mortalite çeşitli coğrafi bölgeler arasında farklılıklar gösterir. ABD ve Avrupa'da yüksek, Asya'da düşük prostat kanser riski mevcuttur. Ancak düşük riski bölgelerden yüksek riskli bölgelere göç edenlerdeki risk özellikler kültürel asimilasyonun etkisi ile tipik olarak artmaktadır [27, 73]. Bu durum muhtemelen diyet farklılıklarının yansımasıdır: Yüksek riskli bölgelerdeki diyet alışkanlıkları prostat kanseri riskini artırmakta ve/veya düşük riskli bölgelerdeki diyet alışkanlıkları bu riski azaltmaktadır. Detaylı incelemede prostat kanseri riskiyle kırmızı et ve/veya hayvan yağlarının tüketimi arasındaki ilişki, riski artıran

en tutarlı diyet faktörü olarak görünmektedir [26, 43]. Kırmızı etlerin yüksek ısılarda veya mangalda pişirilmesi ile aromatik amin ve polisiklik hidrokarbon yapısında karsinojenler oluşmaktadır [39, 44]. Bu pişirme alışkanlıkları prostat kanseri riskinde artış ile de ilişkili olup ABD'de yaşayan Afrika-Amerikalılardaki prostat kanseri gelişim riskinin beyazlara göre niçin daha fazla olduğunu da kısmen açıklayabilir [37, 82].

Bu karsinojenlerin en iyi araştırılmış olanı olan 2-amino-1-metil6-fenilimidazopiridin (PhIP), fazla pişirilen etlerde oluşabilen >20 heteroksiklik amin arasında en çok bulunanıdır [8, 85, 87]. Hayvan modellerinde PHIP alımının PİA ve prostat kanserine yol açtığı gösterilmiştir [74]. PhIP nontoksik ve nonmutajeniktir. Ancak aktivasyon sonrası ilk olarak karaciğerde veya diğer bölgelerde CYP1A1 veya CYP1A2 ile N-OH-PhIP'ye sonra da prostattaki epitel hücrelerinde sülfoniltransferaz veya kinaz fosfataz ile farklı reaktif türlere dönüşen PhIP, belirgin prostat epitel hasarı ve enflamatuar cevaplara yol açarak DNA ile promutajenik katım bileşikleri oluşturabilir [51]. Enflamatuar cevabın eşlik ettiği epitel hasarı sıçanlardaki PhIP prostat karsinogenezinin kritik bir özelliğidir. PhIP ile beslenen sıçanlardaki ventral, dorsolateral ve anterior prostat loblarında genom mutasyonları oluştuğu gösterilmiştir. Ancak epitel hücre hasarı, enflamasyon ve PİA sadece ventral loblarda oluşmaktadır [51]. Epidemiyolojik çalışmalarda kullanılan ve yemek hazırlama tercihleri ile ilgili sorular da içeren yemek yeme sıklığı anketleri ile kesin bir PhIP maruziyet tahmini yapmak zordur. Bu durum muhtemelen pişirme şekillerinin birçok heterosiklik amin oluşturmasından kaynaklanmaktadır. Ancak yine de sıklıkla et tüketen ve tam pişmiş, tavada kızartılmış veya ızgara olarak yemeyi tercih eden erkeklerdeki prostat kanseri riskinin artabileceği düşünülmektedir [15]. Daha güncel çalışmalarda ise P450 enzimleri, sülfoniltransferazlar ve UDP-glukuronid transferazları da içeren PhIP'leri metabolize eden enzimlerdeki germline varyantlarının çok pişirilmiş et tüketimine bağlı hasar ile ilişkili olabileceği gösterilmiştir. [40].

Et tüketiminin etkisi sadece prostat kanserinin başlangıç aşaması ile sınırlı olmayabilir. İnsandaki prostat kanserinin doğal gelişim süreci yıllar sürmektedir. ABD'de 20-30 yaşlarındaki bireylerde yapılan otopsi çalışmalarında bile küçük prostat kanserleri tespit edilebilmekte veya 60-70 yaşlarında lokalize kanser teşhisi koyulabilmektedir. Prostat kanserinden ölüm 70 yaş ve üstünde gerçekleşmektedir. Bu veri kronik PhIP alımının prostat kanseri patojenezini etkileyebilme potansiyeli için geniş bir fırsat penceresi sağlamaktadır. PhIP kullanılan sıçan modellerinde, karsinojen puberte esnasında kısa süreli uygulandıktan sonra aylar boyunca takip edilmiştir. PhIP'nin karsinogenezin sadece başlangıç ve erken evrelerinde etkili olduğu tespit edilmiştir [74]. Ancak insan prostat kanserinin patojenezinde en sık tespit edilen somatik gen defekti GSTP1'in epigenetik olarak sessizleştirilmesidir. Bu da π-sınıfı glutatyon S-transferaz (GST) ekspresyonunun kaybına yol açar. Bu fenotip PhIP'nin aracılığı ile gerçekleşen hücre ve genom hasarına belirgin olarak duyarlı olabilir [56]. İlk olarak PİA lezyonlarında görülen bu değişim prostat karsinom hücrelerinin metasatik diseminasyonu boyunca devam eder [52, 91]. Bu nedenle PhIP sadece PİA formasyonuna yol açan epitel hasarı yapmakla kalmayıp hücre ve genom hasarını birçok dekad boyunca destekleyerek malign prostat kanseri progresyonuna yol açabilir.

3 Prostat Epitel Hasarına, Prostat Enflamasyonuna ve PİA'ya Yol Açabilen Diyet Dışı Faktörler

Seks steroid hormonları, enfeksiyonlar ve kalıtsal faktörlerin prostat kanseri gelişiminde etkili oldukları düşünülmektedir. Testosteron ve dihidrotestosteron gibi android hormonlar ve androjen reseptörleri, prostat ve seminal vezikülleri de içeren aksesuar üreme glandlarının normal büyüme ve gelişimleri için gereklidir. Ancak androjenlerin tek başlarına prostat kanserine yol açtıklarını gösteren kanıtlar çok azdır. 21 yaşında en yüksek düzeye ulaşan androjen düzeyleri erişkin hayat boyunca düşmeye devam eder. Prostat kanseri de bu süreçte oluşur [66, 88]. ABD'deki Afrika-Amerikalı erkeklerde beyaz ırk ile benzer androjen düzeylerine karşın (yaşa göre düzeltilmiş) daha sık prostat kanseri görülür [66]. Ayrıca erişkin erkeklerde kolumnar epitelyal hücre fenotipinin terminal farklılaşması için androjen sinyali gerekir. Böylece PSA ve TMPRSS2 genlerinin transkripsiyon ve translasyonunun indüklenmesi ile ejakülattaki sekresyonların üretimi desteklenir. Androjenler bu etkileri ile epitel hücre proliferasyonunu baskılama eğilim gösterirler.

Androjen sinyalinin yerleşik prostat kanserlerinin progresyonunda önemli bir rol oynadığı kesindir. Bunun mekanizması androjenlerle regüle edilen TMPRSS2 gibi transkripsiyon genleri ve ETS transkripsiyon faktör ailesinden ERG ve ETV1 gibi onkojenlerden meydana gelen füzyon transkriptlerini oluşturan somatik genom translokasyonlarının ve silinmelerinin kazanımını kapsar [84]. Bu somatik gen defektlerine sahip olan prostat kanser hücreleri neoplastik fenotipin sürdürülebilmesi için gereken androjen sinyalini oluşturur. Bu durum ileri prostat kanserlerinin androjen deprivasyonuna veya antiandrojenlere sıklıkla verdiği cevapların mekanik temeli olabilir: Androjen sinyali ile etkileşim prostat kanser hücrelerindeki TMPRSS2-ERG veya diğer füzyon transkriplerinin düzeylerinde azalmaya yol açarak hücre büyümesini zayıflatır ve hücre sağkalımını sınırlar. Androjenlerin prostat kanserini başlatmaktan ziyade mevcut prostat kanserini etkiledikleri bilinmesine rağmen, yeni verilerde androjen hedef gen transkripsiyonunun başlatılmasının, DNA'daki düğümleri çözme yeteneği olan androjen reseptörü ile ilişkili TOP2B'nin TMPRSS2'deki sıklıkla translokasyonlar ve silinmeler ile ilişkili olan bölgelere yönlendirilmesi ile DNA çift sarmallarında kırılmalardan kaynaklanabileceğinin bildirilmesi dikkat çekicidir [28]. TMPRSS2-ERG füzyonlarına yol açan bu kırıkların PİA lezyonlarının oluşumundan sonra ortaya çıkmaları muhtemel olup, PİN hücrelerinin daha invazif karsinom hücreleri haline dönüşmelerini indükleme ihtimalleri mevcuttur. Topoizomerazlar sarmal geçişini sağlayabilmek amacıyla kırılma/tekrar birleşme reaksiyonlarını katalizleyerek DNA düğümlenmesini engellemektedirler. Bu enzimlerin tekrar birleşme reaksiyonlarını bozabilen ve rekombinojenik DNA çift sarmal kırıklarına yol açan birçok bileşiğe duyarlı oldukları bilinmektedir. Ancak diyet faktörlerinin, prostat kanseri patojenezinde TOP2B medyatörlüğünde oluşan DNA çift sarmal kırıklarından sorumlu olup olmadığı konusunda bilgi yoktur.

Östojenler androjenlerin aksine prostat epiteline hasar vererek prostat kanserinin erken evrelerinde rol oynayabilirler. Dünyadaki meme ve prostat kanserlerinin benzer dağılımı, östrojenlerin her iki hastalığa da neden olabileceği hipotezini doğurmuştur [14]. Kemirgen modelleri ile büyük oranda desteklenen bu hipotez östrojene maruziyetin hem prostat enflamasyonuna hem de prostat kanserine yol açabileceği öne sürülmektedir [59]. Erişkin erkek Wistar sıçanlarının 17ß-östradiole maruz bırakılmaları ile dihidrotestosteron uygulanıp uygulanmadığından bağımsız olarak prostat enflamasyonu gelişmesi örnek olarak verilebilir [55]. Neonatal dönemde östrojene maruz kalan erkek kemirgenler erişkinliğe ulaştıklarında prostatit görülmektedir [55, 75, 76]. Östrojenler kemirgen prostatında otoimmünite indüksiyonu ile enflamasyonu tetikleyebilirler. Çünkü 17ß-östradiol uygulanan erişkin erkek farelerden transer edilen adoptif T-hücreleri ile nonöstrojen uygulanan sıçanlarda prostatit indüklenebilir [69]. Östrojenlerin otoimmün prostat enflamasyonuna neden olma mekanizmaları henüz tam olarak anlaşılamamıştır. Ancak pitütier prolaktin sekresyonu, östrojenik hormonların prostattaki östrojen reseptör izoformları üzerinde farklı etkiler göstermeleri ve/veya östrojen redoks döngüsü ile reaktif oksijen türlerinin oluşumu gibi nedenleri kapsayabilir. Ayrıca erkeklerde büyük oranda yağ dokusundaki aromatazların androjenler üzerindeki etkisi sonucu oluşan östrojen düzeylerinin diyet alışkanlıkları ile ilişkisi henüz belirlenememiştir. Ancak, ABD'de daha yüksek prostat kanseri riski altındaki Afrika-Amerikalılardaki östrojen düzeylerinin beyaz ırka göre daha yüksek olma eğiliminde olduğu da dikkate alınmalıdır [66].

Prostat kanserine yol açan enfeksiyöz nedenlerin saptanması daha zordur. Prostat doku örneklerinde veya prostat sekresyonlarında birçok enfeksiyöz ajan tespit edilmiş olmasına rağmen, bunların hangilerinin gerçekten prostat hasarına yol açarak prostatın enflamatuar cevaplarını tetikledikleri henüz sistematik olarak tespit edilememiştir [70]. En iyi araştırılan enfeksiyonlar cinsel yolla bulaşanlardır. Gonore ve klamidya enfeksyonlarında prostattaki epitelyal bariyer fonksiyonunun bozulduğunu gösteren serum PSA düzeylerinin artışı vakaların en az %32'sinde mevcuttur [78]. Efektif antibiyotik tedavisi sonrasında, kronik epitel hasarı ve disfonksiyonunun göstergesi olan PSA düzeylerinin aylar boyunca yüksek seyretmesi dikkat çekicidir. Bu bulgu popülasyon çalışmalarında erken yaşta serum PSA yüksekliği ve/veya cinsel yolla bulaşan hastalık hikayesi olanlarda artan prostat kanseri riski ile uyumludur [23, 24, 79]. Bu durum kohort çalışmalarında prostat kanserinin enfeksiyöz etyolojilerinin araştırılmasını komplike hale getirmektedir. Prostat enfeksiyonu genç erkeklerde prostat epitel hasarı oluşturarak, yaşla birlikte kalıcı kolonizasyon olmaksızın PİA ve kronik prostat enflamasyonuna yol açabiliyorsa, hangi enfeksiyöz patojenin bu "vur ve kaç" fenomenine yol açtığını tespit etmek çok güçtür. Ancak kemirgen prostatlarına direkt bakteri veya virüs inokülasyonu ile belirgin enflamatuar cevaplar ve devamında prostat kanserinin prekürsor lezyonları tetiklenmektedir [21, 22].

Ayrıca prostat kanseri gelişimi ile ilgili kalıtsal yatkınlık yerleşik enflamatuar cevapların aktivasyonunu ve yoğunluğunu yönlendiren genlerin varlığı ile açıklanabilir. Bu genlerden ikisi olan RNASEL ve MSR1'in prostat kanseri ile ilişkili bazı ailesel kümelerden sorumlu olduğu düşünülmektedir [11, 90]. RNASEL viral enfeksiyon veya diğer hücre hasarına yol açan stresler ile aktive olan, interferon ile indüklenen RNA yıkım

yolağında rol alan bir ribonükleazı kodlar; MSR1 ise bakteryel liposakarid ve lipoteikoik asidi bağlayan makrofaj süpürücü bir reseptörün alt ünitelerini kodlar. Farelerde her iki proteinin fonksiyonlarının kaybı çeşitli enfeksiyonları tam olarak temizleyebilme yeteneğinin azalmasına yol açar [80, 86]. Popülasyon çalışmalarında prostat kanseri ile TLR ve TLR1-TLR6-TLR10 kümesi gibi toll benzeri reseptörleri kodlayan genlerin polimorfik varyantları arasında oldukça tutarlı ilişkiler tespit edilmiştir [77, 95]. Birçok patojen türünü ve/veya hasarlı hücre komponentlerini bağlayabilen TLR'ler, NF-jB sinyali ile etki göstererek güçlü kalıtsal immün cevapları desteklerler [12].

Diyet ile ilişkili etkilerin yokluğunda, östrojen ve enfeksiyonların PİA'ya yol açabilen prostat epitel hasarına neden oldukları gözlenmiş olsa da, bu süreçlerin her biri dünyada prostat kanseri riskinin yüksek olduğu bölgelerdeki diyet alışkanlıklarından etkilenmiş olabilir. Yağ dokusu fazla olan erkeklerdeki östrojen miktarının daha yüksek olma eğilimi vardır. Enfeksiyon veya enfeksiyonlara karşı kolonizasyon direnç kaynağı olan mikrobiyomlar, diyet alışkanlıklarına bağlı olarak büyük değişiklikler göstermektedirler. Diyet, östrojen ve enfeksiyonların prostat hasarına yol açma eğilimlerini etkileyerek prostat kanserini indirekt olarak destekleyebilir. Benzer şekilde diyetle alınan heterosiklik aminlerin yol açtıkları prostat hasarının derecesi de muhtemelen, konağın prostat enfeksiyonlarına verdiği cevabın yoğunluğunu regüle eden aynı genetik faktörler tarafından belirlenmektedir. RNASEL hem insan RNA'sını hem de viral RNA'yı degrade ederek apoptoza yol açabilir [89]. MSR1 serumdaki okside düşük dansiteli lipoproteinlerin temizlenmesine yardım eder [41]. TLR'ler hasarlı insan hücre komponentleri tarafından aktive edilir [12]. Bu nedenle, diyetin insandaki prostat kanserinin gelişimi üzerinde direkt ve indirekt etkilere sahip olması muhtemeldir.

4 Enflamasyon, PİA ve Prostat Kanserinin Moleküler Patojenezi

Hayatı tehdit eden prostat kanseri hücreleri 3866 mutasyon (20 sessiz olmayan gen kodlayan mutasyon), 108 yeniden yapılanma, 5408 DNA hipermetilasyon bölgesi, kısalmış telomer sekansları ve aktive olmuş c-Myc protein içerirler [7, 58, 92]. Somatik mutasyonların, prostatik karsinogenezi tetikleyen tek bir faktörü veya bir karsinojenin diğer bir karsinojene göre daha tutarlı bir genetik kod değişimine yol açtığını işaret etmemeleri ilginçtir. Bunun yerine gen tamir anormalliklerinden ve/veya promutajenik tedavilerin kullanımından etkilenen bireysel kanserlerdeki mutasyonların, zaman içinde akümüle oldukları düşünülmektedir. Daha tutarlı somatik defektler yukarıda tanımlanan translokasyonlardan kaynaklanır. Özellikle TMPRSS2-ERG gibi kanser genlerine tutunan androjen sinyal gen hedeflerini içeren ve androjen etkisine cevap olarak oluşan transkripsiyon hatalarının başlatılmasına yol açarak TOP2B ile ilişkili DNA çift sarmal kırıklarına yol açanlar önemlidir [28]. PİN lezyonlarında oluştuğu düşünülen somatik genom defektleri muhtemelen karsinomun invazif karakteristiğinden sorumludur. Prostat kanser hücrelerindeki tüm somatik değişimler arasında en tutarlısı ve en erken ortaya çıkanının epigenetik gen sessizleştirmesi, telomer kısalması ve c-Myc indüksiyonu olduğu düşünülmektedir [58].

Genleri regüle eden sekanslardaki DNA metilasyonunun artması ile ortaya çıkan gen sessizleştirilmesi insanda prostat kanserini başlatabilen bir olay olmaya adaydır. Örnek vermek gerekirse, p-sınıfı GST kodlayan ve oksidan ve karsinojenleri detoksifiye eden bir enzim olan GSTP1'in, PİA lezyonlarının %5-10'unda epigenetik olarak sessizleştirildiği bulunmuştur [9, 52, 58]. GSTP1'in sessizleştirilmesi, genin 50 regüle edici bölgesindeki yeni bir DNA hipermetilasyonuna atfedilmiştir [45]. DNA metilasyonu potansiyel olarak reversibl olduğu için DNA sekansı bozulmadan korunur; prostat kanserinin progresyonu sırasındaki GSTP1 inaktivasyonunun inatçı bir şekilde devam etmesi prostatik karsinogenezin selektif büyüme veya sağkalım avantajının öncül kanıtıdır. Bu selektif avantajın mekanizması henüz anlaşılmamıştır. GSTP1'in karsinogenez esnasındaki gen fonksiyonunun genel bir koruyucusu olduğu kesindir. GSTP1'siz insan prostat kanser hücreleri, hücre ve genom hasarına yol açan PhIP'yi daha kolay aktive ederken, bozulmuş Gstp 1/2 genleri taşıyan farelerde (normal farelere göre) topikal karsinojenlere yanıt olarak daha fazla cilt tümörü görüldüğü ve yoğun enflamasyon varlığında daha fazla intestinal tümör oluştuğu tespit edilmiştir [30, 65]. Pbc-Myc transgenlerini taşıyan ve prostat kanseri gelişen fareler seçilmiş fenotip için bir ipucu olabilir [33]. Ön veriler bu farelerdeki p-sınıfı GST fonksiyon kaybının hızlanmış prostat karsinogenezini tetiklediğini düşündürmektedir.

GSTP1 muhtemelen prostatik karsinogenez sırasında epigenetik olarak sessizleştirilen ve bazı proseslerle prostat enflamasyonu ve PİA ile ilişkilendirilen birçok genden birisidir [58]. Bu genlerin prostatın enflamasyonlu mikroortamındaki veya kanser gelişebilen diğer organlardaki epigenetik sessizleştirilmelerinin mekanizması şu ana kadar maalesef anlaşılamamıştır. Ancak yine de enflamasyon ve epigenetik sessizleştirmenin epitelyal karsinogenezin erken basamaklarına katkı yapan majör faktörler oldukları düşünülmektedir. Prostattaki PİA lezyonlarına ek olarak, enflamatuar barsak hastalığı, hepatit, gastrit ile ilgili net örnekler bu görüşü desteklemektedir [81]. Enflamasyonlu mikroçevre, epigenetik gen sessizleştirmeyi ve anormal DNA metilasyonunu desteklediği varsayılmaktadır. Bunu kromatin yapısının regülasyonunu etkileyerek, DNA metilasyon paterninin korunmasını bazı belirli gen bölgelerindeki aşırı metilasyonu desteklemek suretiyle engelleyerek veya hem kromatin yapısını hem de DNA metilasyonunun sürdürülmesini bozarak sağlamaktadır. İntestinal tümörijenezi araştıran bir fare modelinde enflamasyonlu dokulardaki 250 gen lokusunda yeni DNA metilasyon değişimleri tespit edilmiştir. Bu genlerin %70'inin represyona yol açan polikomb kompleksler tarafından hedef alındığı bilinmektedir [29]. Bu gözlem polikomb kompleks represyonunun, proneoplastik enflamasyon varlığında yeni DNA metilasyon değişimlerinde rol oynayan faktörlerden biri olduğunu düşündürmektedir. Bu tür bir mekanizmadaki DNA metilasyonu polikomb kompleks represyonunu, epigenetik gen sessizleştirmesini sürdürebilmek için bir şekilde sağlamlaştırır. Tamamlayıcı olduğu düşünülen bir mekanizmada rol oynayan enflamatuar sitokin interlökin 1b'nin DNA metiltransferazın aşırı aktivasyonuna yol açan nitrik oksit üretimini destekleyerek belirli bazı hücrelerde gen sessizleştirilmesini tetiklediği bulunmuştur [31]. Prostattaki PİA lezyonlarındaki epigenetik faciayı yöneten mekanizmalar net olarak anlaşılamamıştır. GSTP1'in ekspresyonu, stres yanıtı oluşturan diğer genlerle birlikte PİA lezyonlarında yüksek derecede indüklenme

eğilimindedir. Sadece az sayıda PİA hücresinde GSTP1 ekspresyonu ve yeni metilasyon görülmez [52]. Bu nedenle transkripsiyonal transaktivasyona rağmen epigenetik sessizleştirme ve DNA metilasyonu oluşmak zorundadır.

DNA metilasyonuna ek olarak ortaya çıkan telomer kısalması ve cMyc proteininin aşırı ekspresyonu, insan prostat karsinogenezine sıklıkla eşlik ederler [33, 49]. Telomeraz enzimindeki 50-TTAGGG-30 sekansının ~2000 tekrarını içeren özel yapılar olan kromozom telomerleri, replikasyon sırasında DNA sarmal sentezindeki gecikmelere bağlı DNA sekans kaybını ve uygun olmayan rekombinasyonları azaltma görevi yaparlar [48]. Telomeraz enziminin veya bir tür telomer sekans hasarının kritik bir göstergesi olan kısa telomerler PİN lezyonlarının ve prostat kanser hücrelerinin özelliğidir [49]. Kısa telomer sekanslarının aynı zamanda hepatit ve enflamatuar barsak hastalığı ile de ilgili olabileceği akılda tutulmalıdır [2, 38]. Enflamasyon bölgelerindeki oksidanların prostattaki telomerlere hasar verebilme ve kısaltabilmeleri de mümkündür. İnsan prostat kanser hücrelerinde de yaygın olarak rastlanan c-Myc ekspresyonu farelerdeki prostat tümörijenezini de yönlendirebilir: Fare prostatındaki forse cMyc ekspresyonu ile nükleer ve nükleolar boyutları artmış, farklılaşması bozulmuş ve prostata spesifik homeodomain transkripsiyon faktörü ve tümör supresörü olan Nkx3.1'in ekspresyonu azalmış neoplastik hücrelerin oluştuğu tespit edilmiştir [33]. c-Myc'nin aşırı ekspresyonunun, telomer kısalması gibi enflamatuar ortamdan etkilenme ihtimali vardır. Defektif Apc geni taşıyan fareler intestinal mikrofloradaki TLR ligandlarına maruz kaldıkları için c-Myc fosforilasyonu ve stabilizasyonu ile karakterize tümörijenezise eğilimlidirler [42].

Doku ve hücre hasarına cevap olarak oluşan PİA lezyonları, enflamatuar lezyonların indüklenmesi ve diyet karsinojenlerine ve östrojenlerine maruz kalma sonucu prostat kanserine dönüşebilir. PİA lezyonlarında en erken stereotipik moleküler olaylar olan epigenetik gen sessizleştirilmesi, telomer kısalması ve c-Myc aktivasyonu görülür. Ancak bu moleküler olaylara yol açan kesin mekanizmalar tam olarak açıklanamamıştır. Her biri farklı bir nedenden kaynaklanabilir ya da diyet karsinojenleri veya enflamatuar cevap gibi hasar verici olaylardan en azından kısmen etkilenebilirler. Prostat karsinogenezi bu yolla bir çok organdaki maruziyete bağlı kanser gelişimine benzer bir seyir gösterebilir.

5 Prostat Kanserini Önlemede Rasyonel Girişimler

Gelişmiş ülkelerdeki prostat kanseri epidemisi kronik prostat enflamasyonuna yol açabilen diyet karsinojenlerine ve/veya östrojenlere maruziyet ile açıklanabilir. Prostat kanserinin önlenmesindeki rasyonel yaklaşım şunları içermelidir: (1) Maruziyetlerin engellenmesi, (2) Karsinojenler tarafından oluşturulan prostat hücre ve doku hasarının hafifletilmesi, ve/veya (3) Prostattaki enflamasyonun yoğunluk ve süresinin azaltılması. Bu yaklaşımları destekleyen epidemiyolojik ve klinik çalışma verilerinin ortaya çıkıyor olması sürpriz değildir.

Diyette bulunan heterosiklik aminlere maruziyetin azaltılması sadece bireylerin aşırı pişmiş et tüketmeme yönünde eğitilmesinden değil, aynı zamanda yemek pişirme şe-

killerinin toplum bazında modifiye edilmesinden de geçmektedir. Buharda ve mikrodalgada pişirme ve marine etme yöntemlerinin, daha az heterosiklik amin oluşumunda yağda kızartma, mangal ve kızartma yağının tekrar kullanımı gibi yöntemlerden daha faydalı olduğu bilinmektedir [85]. Uygun önlemlerle birlikte, pişmiş olarak satılan gıdalardaki heterosiklik amin içeriğinin ölçülmesi restoran ve marketlerin daha güvenli pişirme şekillerine yönelmelerini sağlayabilir. Bu ortam sağlanana kadar, fazla pişirilmiş etlerin devam eden tüketimine rağmen, karsinojenlere bağlı prostat hasarının azaltılması mümkün olabilir. PhIP gibi heterosiklik amin yapısındaki karsinojenlerin hücre ve genom hasarını tetikleyebilmeleri için metabolizma tarafından aktive edilmeleri gerektiği için, karsinogenezin azaltımı için biyoaktivasyonun engellenmesi cazip bir strateji olabilir. Keap1-Nrf2 yolağını aktive eden faz 2 metabolik enzim ekspresyonu indükleyicilerinden zengin diyetler hayvan modellerindeki karsinojen hasarı genel olarak azaltırlar. Ayrıca epidemiyolojik çalışmalarda insan prostat kanseri riskini de azaltırlar [1, 13, 20]. İzotiosiyanat sulforafan gibi en fazla faz 2 metabolik enzim indükleyici içeren gıdalar turpgillerden brokoli, brüksel lahanası, karnıbahar ve diğerleridir. İnsan gönüllülerde yapılan bir çalışmada pişmiş et yemeği tüketimine cevap olarak oluşan PhIP'nin DNA'ya eklenmesinin turpgiller tarafından engellendiği bildirilmiştir [88]. Östrojene maruziyetin azaltılması daha zordur. Östrojenler yağ dokusunda aromataz ve androjenlerin etkisi ile üretilir. Bu ABD ve diğer gelişmiş ülkelerdeki artan obezite epidemisi göz önüne alındığında endişe verici bir gelişmedir. Afrika-Amerikalı erkeklerdeki östrojen düzeylerinin (androjen düzeyleri benzerdir) beyaz erkeklerden daha yüksek olması nedeniyle prostat kanseri riski daha yüksektir [66]. Obezitenin kontrol altına alınması muhtemelen prostat kanseri riskinde azalmaya yol açacaktır.

Prostat kanserini önlemede kullanılan antienflamatuar yaklaşımlardan farklı sonuçlar alınmıştır. Kronik ve reküran enflamasyon, hücre ve doku hasarına yol açabilen reaktif oksijen ve nitrojen türlerinin oluşmasına neden olabilir [3, 34]. Bu nedenle diyetle alınan antioksidan ve antienflamatuar ajanların (PİA lezyonları oluşmuş olsa bile) prostat hücrelerini süregelen hasardan koruyabilmesi mümkündür. Örneğin Asya'da daha sık ve bol miktarda tüketilen soya gibi diyet komponentlerinin prostatla ilgili antienflamatuar etkileri olması mümkündür; soyadan zengin diyetlerin sıçan modellerindeki prostat enflamasyonunu azalttığı gösterilmiştir [72]. Ayrıca gelişmiş ülkelerdeki kohortlara odaklanan prostat kanser epidemiyolojisi çalışmalarında, vitamin E, selenyum, domatesteki likopenler gibi bir dizi antioksidan mikrobesinin yetersiz alımının prostat kanseri riskinde artışa yol açmasının kuvvetle muhtemel olduğunu bildirilmektedir [10, 25, 93]. Ancak yakın zamanda yapılan SELECT çalışmasında (Selenyum ve Vitamin E Kanser Önleme Araştırması) sadece selenyumun (risk oranı (HR) 1.04; %99 güven aralığı; 0.87–1.24) veya sadece E vitamininin (risk oranı (HR) 1.13; %99 güven aralığı; 0.95–1.35) ya da her ikisinin kombinasyonunun (risk oranı (HR) 1.05; %99 güven aralığı; 0.88–1.25) prostat kanseri insidansını azaltmadığı gösterilmiştir [46]. Bu çalışmanın halen antioksidan tüketimi yetersiz (ya da yeterli) olan erkeklerde yapılıp yapılmadığı belirtilmemiştir.

Diyet ve antienflamatuar ilaçlar prostat kanseri riskini azaltmakta farklı bir strateji sunabilirler [6]. Aspirini de içeren siklooksijenaz (COX) inhibitörleri ve nonsteroid an-

tienflamatuar ilaçlar (NSAİD'ler) insanlardaki bir çok kanserin insidansında ve mortalitesinde azalma ile ilişkilidir [5]. Bu ilaçlar nadir de olsa gastrointestinal kanama ve kardiyovasküler olaylara yol açtıkları için kanserin önlenmesinde ne yazık ki yaygın olarak kullanılmazlar. Bu ilaçların prostat kanserine karşı koruma amaçlı kullanılmaları birçok probleme neden olmuştur. Selekoksib ve rofekoksibi de içeren selektif COX-2 inhibitörleri ile (kemirgen prostat kanseri modellerinde ümit verici olmakla beraber) şu ana kadar yapılan insan çalışmalarında özel bir etki tespit edilememiştir [4, 53, 54]. İnsan ve kemirgenler arasındaki farklardan birisi, insanlardaki COX-2'yi kodlayan PTGS2'nin hemen tüm prostat kanserlerinde genetik olarak sessizleştirilmiş olması olabilir. Bu durum kemirgenler için geçerli değildir [91, 94]. COX inhibitörlerinin prostat kanseri riskinin azaltılmasındaki etkinliği ile ilgili veriler zayıf olmasına rağmen, düzenli aspirin kullanımı ile prostat kanseri arasında tutarlı bir ters korelasyon tespit edilmiştir [35, 47, 61]. Bu potansiyel faydanın aspirinin nonselektif COX inhibisyonundan mı yoksa diğer antienflamatuar etkilerinden mi kaynaklandığı henüz çözülememiştir. Antienflamatuar etkilerde gösterebilen statinlerin prostat kanseri riskindeki azalma ile ilişkili bulunmuş olması da henüz tam olarak açıklanamamıştır [62, 63].

6 Özet ve Sonuçlar

Diyetteki karsinojenlere veya aşırı östrojen miktarına ya da her ikisine de cevap olarak ortaya çıkan prostat epitel hasarı gelişmiş ülkelerdeki prostat karsinogenezinin epidemik düzeye ulaşmasına katkı yapmaktadır. Bu patojenez mekanizmanın PİN ve prostat kanserinin öncü lezyonu olan PİA'nın oluşumunda devreye girdiği bulunmuştur. PİA lezyonlarındaki hücrelerin süregelen enflamatuar streslere rağmen prostat epitelini rejenere etmeye çalışırlar. Bu hücrelerin GSTP1'in sessizleştirilmesi, yeni DNA metilasyonu, telomer kısalması ve c-Myc aktivasyonunu ile tespit edilen epigenom hasarından muzdarip oldukları düşünülmektedir. Bu hücrelerdeki androjen sinyali, prostat kanseri farklılaşma genlerinin lokuslarındaki TOP2B bağlanma bölgelerinde androjen tutulumu ile aktive olur. Bu da malign prostat kanser progresyonunu indükleyen TMPRSS2-ERG gibi gen transkript füzyonlarının oluşumuna yol açar. Toplum bazındaki diyet alışkanlıklarına odaklanarak pişirme yöntemlerinin değiştirilmesi ile karsinojen üretimi kısıtlanabilir. Turpgillerin tüketimlerinin artırılması ile karsinojen biyoaktivasyonu, antienflamatuar ve antioksidan mikrobesinlerin tüketimlerinin artırılması ile de prostat enflamasyonu azaltılarak prostat kanserinin toplumsal yükünün azaltılmasına katkı yapılabilir.

Referanslar

1. Ahn YH, Hwang Y, Liu H et al (2010) Electrophilic tuning of the chemoprotective natural product sulforaphane. Proc Natl Acad Sci USA 107:9590–9595

2. Aikata H, Takaishi H, Kawakami Y et al (2000) Telomere reduction in human liver tissues with age and chronic inflammation. Exp Cell Res 256:578–582
3. Ames BN, Gold LS, Willett WC (1995) The causes and prevention of cancer. Proc Natl Acad Sci USA 92:5258–5265
4. Antonarakis ES, Heath EI, Walczak JR et al (2009) Phase II, randomized, placebo-controlled trial of neoadjuvant celecoxib in men with clinically localized prostate cancer: evaluation of drug-specific biomarkers. J Clin Oncol 27:4986–4993
5. Bardia A, Ebbert JO, Vierkant RA et al (2007) Association of aspirin and nonaspirin nonsteroidal anti-inflammatory drugs with cancer incidence and mortality. J Natl Cancer Inst 99:881–889
6. Bardia A, Platz EA, Yegnasubramanian S et al (2009) Anti-inflammatory drugs, antioxidants, and prostate cancer prevention. Curr Opin Pharmacol 9:419–426
7. Berger MF, Lawrence MS, Demichelis F et al (2011) The genomic complexity of primary human prostate cancer. Nature 470:214–220
8. Bordas M, Moyano E, Puignou L et al (2004) Formation and stability of heterocyclic amines in a meat flavour model system. Effect of temperature, time and precursors. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci 802:11–17
9. Brooks JD, Weinstein M, Lin X et al (1998) CG island methylation changes near the *GSTP1* gene in prostatic intraepithelial neoplasia (PIN). Cancer Epid Biom Prev 7:531–536
10. Brooks JD, Metter EJ, Chan DW et al (2001) Plasma selenium level before diagnosis and the risk of prostate cancer development. J Urol 166:2034–2038
11. Carpten J, Nupponen N, Isaacs S et al (2002) Germline mutations in the ribonuclease L gene in families showing linkage with HPC1. Nat Genet 30:181–184
12. Caruso C, Balistreri CR, Candore G et al (2009) Polymorphisms of pro-inflammatory genes and prostate cancer risk: a pharmacogenomic approach. Cancer Immunol Immunother 58:1919–1933
13. Cohen JH, Kristal AR, Stanford JL (2000) Fruit and vegetable intakes and prostate cancer risk. J Natl Cancer Inst 92:61–68
14. Coffey DS (2001) Similarities of prostate and breast cancer: evolution, diet, and estrogens. Urology 57:31–38
15. Cross AJ, Peters U, Kirsh VA et al (2005) A prospective study of meat and meat mutagens and prostate cancer risk. Cancer Res 65:11779–11784
16. De Marzo AM, Marchi VL, Epstein JI et al (1999) Proliferative inflammatory atrophy of the prostate: implications for prostatic carcinogenesis. Am J Pathol 155:1985–1992
17. De Marzo AM, Platz EA, Epstein JI et al (2006) A working group classification of focal prostate atrophy lesions. Am J Surg Pathol 30:1281–1291
18. De Marzo AM, Platz EA, Sutcliffe S et al (2007) Inflammation in prostate carcinogenesis. Nat Rev Cancer 7:256–269
19. Dennis LK, Lynch CF, Torner JC (2002) Epidemiologic association between prostatitis and prostate cancer. Urology 60:78–83
20. Dinkova-Kostova AT, Talalay P (2008) Direct and indirect antioxidant properties of inducers of cytoprotective proteins. Mol Nutr Food Res 52(Suppl 1):S128–S138
21. Elkahwaji JE, Zhong W, Hopkins WJ et al (2007) Chronic bacterial infection and inflammation incite reactive hyperplasia in a mouse model of chronic prostatitis. Prostate 67:14–21
22. Elkahwaji JE, Hauke RJ, Brawner CM (2009) Chronic bacterial inflammation induces prostatic intraepithelial neoplasia in mouse prostate. Br J Cancer 101:1740–1748
23. Fang J, Metter EJ, Landis P et al (2001) Low levels of prostate-specific antigen predict long-term risk of prostate cancer: results from the Baltimore longitudinal study of aging. Urology 58:411–416
24. Gann PH, Hennekens CH, Stampfer MJ (1995) A prospective evaluation of plasma prostate-specific antigen for detection of prostatic cancer. JAMA 273:289–294

25. Gann PH, Ma J, Giovannucci E et al (1999) Lower prostate cancer risk in men with elevated plasma lycopene levels: results of a prospective analysis. Cancer Res 59:1225–1230
26. Giovannucci E, Rimm EB, Colditz GA et al (1993) A prospective study of dietary fat and risk of prostate cancer [see comments]. J Natl Cancer Inst 85:1571–1579
27. Haenszel W, Kurihara M (1968) Studies of Japanese migrants. I. Mortality from cancer and other diseases among Japanese in the United States. J Natl Cancer Inst 40:43–68
28. Haffner MC, Aryee MJ, Toubaji A et al (2010) Androgen-induced TOP2B-mediated double-strand breaks and prostate cancer gene rearrangements. Nat Genet 42:668–675
29. Hahn MA, Hahn T, Lee DH et al (2008) Methylation of polycomb target genes in intestinal cancer is mediated by inflammation. Cancer Res 68:10280–10289
30. Henderson CJ, Smith AG, Ure J et al (1998) Increased skin tumorigenesis in mice lacking pi class glutathione S- transferases. Proc Natl Acad Sci USA 95:5275–5280
31. Hmadcha A, Bedoya FJ, Sobrino F et al (1999) Methylation-dependent gene silencing induced by interleukin 1beta via nitric oxide production. J Exp Med 190:1595–1604
32. Isaacs JT (1984) The aging ACI/Seg versus Copenhagen male rat as a model system for the study of prostatic carcinogenesis. Cancer Res 44:5785–5796
33. Iwata T, Schultz D, Hicks J et al (2010) MYC overexpression induces prostatic intraepithelial neoplasia and loss of Nkx3.1 in mouse luminal epithelial cells. PLoS ONE 5:e9427
34. Jackson AL, Loeb LA (2001) The contribution of endogenous sources of DNA damage to the multiple mutations in cancer. Mutat Res 477:7–21
35. Jacobs EJ, Rodriguez C, Mondul AM et al (2005) A large cohort study of aspirin and other nonsteroidal anti-inflammatory drugs and prostate cancer incidence. J Natl Cancer Inst 97:975–980
36. Jemal A, Siegel R, Ward E, Hao Y, Xu J, Thun MJ (2009) Cancer statistics, 2009. CA Cancer J Clin 59:225–249
37. Kidd LC, Stillwell WG, Yu MC et al (1999) Urinary excretion of 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine (PhIP) in White, African–American, and Asian–American men in Los Angeles county. Cancer Epidemiol Biomarkers Prevent 8:439–445
38. Kinouchi Y, Hiwatashi N, Chida M et al (1998) Telomere shortening in the colonic mucosa of patients with ulcerative colitis. J Gastroenterol 33:343–348
39. Knize MG, Salmon CP, Mehta SS et al (1997) Analysis of cooked muscle meats for heterocyclic aromatic amine carcinogens. Mutat Res 376:129–134
40. Koutros S, Berndt SI, Sinha R et al (2009) Xenobiotic metabolizing gene variants, dietary heterocyclic amine intake, and risk of prostate cancer. Cancer Res 69:1877–1884
41. Krieger M, Herz J (1994) Structures and functions of multiligand lipoprotein receptors: macrophage scavenger receptors and LDL receptor-related protein (LRP). Annu Rev Biochem 63:601–637
42. Lee SH, Hu LL, Gonzalez-Navajas J et al (2010) ERK activation drives intestinal tumorigenesis in Apc(min/+) mice. Nat Med 16:665–670
43. Le Marchand L, Kolonel LN, Wilkens LR et al (1994) Animal fat consumption and prostate cancer: a prospective study in Hawaii. Epidemiology 5:276–282
44. Lijinsky W, Shubik P (1964) Benzo(a)pyrene and other polynuclear hydrocarbons in charcoal-broiled meat. Science 145:53–55
45. Lin X, Tascilar M, Lee W-H et al (2001) *GSTP1* CpG island hypermethylation is responsible for the absence of GSTP1 expression in human prostate cancer cells. Am J Pathol 159:1815–1826
46. Lippman SM, Klein EA, Goodman PJ et al (2009) Effect of selenium and vitamin E on risk of prostate cancer and other cancers: the selenium and vitamin E cancer prevention trial (SELECT). JAMA 301:39–51
47. Mahmud S, Franco E, Aprikian A (2004) Prostate cancer and use of nonsteroidal anti-inflammatory drugs: systematic review and meta-analysis. Br J Cancer 90:93–99
48. Maser RS, DePinho RA (2002) Connecting chromosomes, crisis, and cancer. Science 297:565–569

49. Meeker AK, Hicks JL, Platz EA et al (2002) Telomere shortening is an early somatic DNA alteration in human prostate tumorigenesis. Cancer Res 62:6405–6409
50. Murphy AB, Macejko A, Taylor A et al (2009) Chronic prostatitis: management strategies. Drugs 69:71–84
51. Nakai Y, Nelson WG, De Marzo AM (2007) The dietary charred meat carcinogen 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine acts as both a tumor initiator and promoter in the rat ventral prostate. Cancer Res 67:1378–1384
52. Nakayama M, Bennett CJ, Hicks JL et al (2003) Hypermethylation of the human glutathione S-transferase-pi gene (GSTP1) CpG island is present in a subset of proliferative inflammatory atrophy lesions but not in normal or hyperplastic epithelium of the prostate: a detailed study using laser-capture microdissection. Am J Pathol 163:923–933
53. Narayanan BA, Condon MS, Bosland MC et al (2003) Suppression of N-methyl-N-nitrosourea/testosterone-induced rat prostate cancer growth by celecoxib: effects on cyclooxygenase-2, cell cycle regulation, and apoptosis mechanism(s). Clin Cancer Res 9:3503–3513
54. Narayanan BA, Narayanan NK, Pittman B et al (2004) Regression of mouse prostatic intraepithelial neoplasia by nonsteroidal anti-inflammatory drugs in the transgenic adenocarcinoma mouse prostate model. Clin Cancer Res 10:7727–7737
55. Naslund MJ, Strandberg JD, Coffey DS (1988) The role of androgens and estrogens in the pathogenesis of experimental nonbacterial prostatitis. J Urol 140:1049–1053
56. Nelson CP, Kidd LC, Sauvageot J et al (2001) Protection against 2-hydroxyamino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5- b]pyridine cytotoxicity and DNA adduct formation in human prostate by glutathione S-transferase P1. Cancer Res 61:103–109
57. Nelson WG, De Marzo AM, Isaacs WB (2003) Prostate cancer. N Engl J Med 349:366–381
58. Nelson WG, De Marzo AM, Yegnasubramanian S (2009) Epigenetic alterations in human prostate cancers. Endocrinology 150:3991–4002
59. Palapattu GS, Sutcliffe S, Bastian PJ et al (2005) Prostate carcinogenesis and inflammation: emerging insights. Carcinogenesis 26:1170–1181
60. Parsons JK, Nelson CP, Gage WR et al (2001) GSTA1 expression in normal, preneoplastic, and neoplastic human prostate tissue. Prostate 49:30–37
61. Platz EA, Rohrmann S, Pearson JD et al (2005) Nonsteroidal anti-inflammatory drugs and risk of prostate cancer in the Baltimore longitudinal study of aging. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 14:390–396
62. Platz EA, Leitzmann MF, Visvanathan K et al (2006) Statin drugs and risk of advanced prostate cancer. J Natl Cancer Inst 98:1819–1825
63. Platz EA, Till C, Goodman PJ et al (2009) Men with low serum cholesterol have a lower risk of high-grade prostate cancer in the placebo arm of the prostate cancer prevention trial. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 18:2807–2813
64. Putzi MJ, De Marzo AM (2000) Morphologic transitions between proliferative inflammatory atrophy and high-grade prostatic intraepithelial neoplasia. Urology 56:828–832
65. Ritchie KJ, Walsh S, Sansom OJ et al (2009) Markedly enhanced colon tumorigenesis in ApcMin mice lacking glutathione S-transferase Pi. Proc Natl Acad Sci USA 106:20859–20864
66. Rohrmann S, Nelson WG, Rifai N et al (2007) Serum estrogen, but not testosterone, levels differ between black and white men in a nationally representative sample of Americans. J Clin Endocrinol Metab 92:2519–2525
67. Ruska KM, Sauvageot J, Epstein JI (1998) Histology and cellular kinetics of prostatic atrophy. Am J Surg Pathol 22:1073–1077
68. Sakr WA, Grignon DJ, Crissman JD et al (1994) High grade prostatic intraepithelial neoplasia (HGPIN) and prostatic adenocarcinoma between the ages of 20–69: an autopsy study of 249 cases. In Vivo 8:439–443
69. Seethalakshmi L, Bala RS, Malhotra RK et al (1996) 17 beta-estradiol induced prostatitis in the rat is an autoimmune disease. J Urol 156:1838–1842

70. Sfanos KS, Sauvageot J, Fedor HL et al (2008) A molecular analysis of prokaryotic and viral DNA sequences in prostate tissue from patients with prostate cancer indicates the presence of multiple and diverse microorganisms. Prostate 68:306–320
71. Sfanos KS, Wilson BA, De Marzo AM et al (2009) Acute inflammatory proteins constitute the organic matrix of prostatic corpora amylacea and calculi in men with prostate cancer. Proc Natl Acad Sci USA 106:3443–3448
72. Sharma OP, Adlercreutz H, Strandberg JD et al (1992) Soy of dietary source plays a preventive role against the pathogenesis of prostatitis in rats. J Steroid Biochem Mol Biol 43:557–564
73. Shimizu H, Ross RK, Bernstein L et al (1991) Cancers of the prostate and breast among Japanese and white immigrants in Los Angeles County. Br J Cancer 63:963–966
74. Shirai T, Sano M, Tamano S et al (1997) The prostate: a target for carcinogenicity of 2-amino-1-methyl-6- phenylimidazo[4,5-b]pyridine (PhIP) derived from cooked foods. Cancer Res 57:195–198
75. Stoker TE, Robinette CL, Britt BH et al (1999) Prepubertal exposure to compounds that increase prolactin secretion in the male rat: effects on the adult prostate. Biol Reprod 61:1636–1643
76. Stoker TE, Robinette CL, Cooper RL (1999) Perinatal exposure to estrogenic compounds and the subsequent effects on the prostate of the adult rat: evaluation of inflammation in the ventral and lateral lobes. Reprod Toxicol 13:463–472
77. Sun J, Wiklund F, Zheng SL et al (2005) Sequence variants in Toll-like receptor gene cluster (TLR6-TLR1-TLR10) and prostate cancer risk. J Natl Cancer Inst 97:525–532
78. Sutcliffe S, Zenilman JM, Ghanem KG et al (2006) Sexually transmitted infections and prostatic inflammation/cell damage as measured by serum prostate specific antigen concentration. J Urol 175:1937–1942
79. Sutcliffe S, Platz EA (2008) Inflammation and prostate cancer: a focus on infections. Curr Urol Rep 9:243–249
80. Suzuki H, Kurihara Y, Takeya M et al (1997) A role for macrophage scavenger receptors in atherosclerosis and susceptibility to infection. Nature 386:292–296
81. Suzuki H, Toyota M, Kondo Y et al (2009) Inflammation-related aberrant patterns of DNA methylation: detection and role in epigenetic deregulation of cancer cell transcriptome. Methods Mol Biol 512:55–69
82. Tang D, Liu JJ, Bock CH et al (2007) Racial differences in clinical and pathological associations with PhIP-DNA adducts in prostate. Int J Cancer 121:1319–1324
83. Thompson IM, Goodman PJ, Tangen CM et al (2003) The influence of finasteride on the development of prostate cancer. N Engl J Med 349:215–224
84. Tomlins SA, Rhodes DR, Perner S et al (2005) Recurrent fusion of TMPRSS2 and ETS transcription factor genes in prostate cancer. Science 310:644–648
85. Turesky RJ (2007) Formation and biochemistry of carcinogenic heterocyclic aromatic amines in cooked meats. Toxicol Lett 168:219–227
86. van Leenders GJ, Gage WR, Hicks JL et al (2003) Intermediate cells in human prostate epithelium are enriched in proliferative inflammatory atrophy. Am J Pathol 162:1529–1537
87. Wakabayashi K, Ushiyama H, Takahashi M et al (1993) Exposure to heterocyclic amines. Environ Health Perspect 99:129–134
88. Walters DG, Young PJ, Agus C et al (2004) Cruciferous vegetable consumption alters the metabolism of the dietary carcinogen 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine (PhIP) in humans. Carcinogenesis 25:1659–1669
89. Xiang Y, Wang Z, Murakami J et al (2003) Effects of RNase L mutations associated with prostate cancer on apoptosis induced by 2′, 5′-oligoadenylates. Cancer Res 63:6795–6801
90. Xu J, Zheng SL, Komiya A et al (2002) Germline mutations and sequence variants of the macrophage scavenger receptor 1 gene are associated with prostate cancer risk. Nat Genet 32:321–325

91. Yegnasubramanian S, Kowalski J, Gonzalgo ML et al (2004) Hypermethylation of CpG islands in primary and metastatic human prostate cancer. Cancer Res 64:1975–1986
92. Yegnasubramanian S, Wu Z, Haffner MC et al (2011) Chromosome-wide mapping of DNA methylation patterns in normal and malignant prostate cells reveals pervasive methylation of gene-associated and conserved intergenic sequences. BMC Genomics 12:213
93. Yoshizawa K, Willett WC, Morris SJ et al (1998) Study of prediagnostic selenium level in toenails and the risk of advanced prostate cancer. J Natl Cancer Inst 90:1219–1224
94. Zha S, Gage WR, Sauvageot J et al (2001) Cyclooxygenase-2 is up-regulated in proliferative inflammatory atrophy of the prostate, but not in prostate carcinoma. Cancer Res 61:8617–8623
95. Zheng SL, Augustsson-Balter K, Chang B et al (2004) Sequence variants of toll-like receptor 4 are associated with prostate cancer risk: results from the cancer prostate in Sweden study. Cancer Res 64:2918–2922
96. Zhou A, Paranjape J, Brown TL et al (1997) Interferon action and apoptosis are defective in mice devoid of 2′,5′- oligoadenylate-dependent RNase L. EMBO J 16:6355–6363

Akdeniz Diyet Paterni ve Kronik Hastalıklar

Salvatore Panico, Amalia Mattiello, Camilla Panico ve Paolo Chiodini

Özet

Akdeniz tipi beslenme ile ekonomik olarak gelişmiş ülkelerde tipik olarak görülen hastalıkların ilişkisinin araştırılması nütrisyonel epidemiyolojinin başlangıç noktası olarak kabul edilir. 1950'lerde yapılan Yedi Ülke Çalışmasından günümüzdeki EPIC kolaborasyonuna kadar kardiyovasküler hastalık ve kanser gibi diyetten etkilenen hastalıkların komponentlerinin değerlendirilmesi esas olarak Akdeniz diyet alışkanlıklarını oluşturan gıda ve besin öğelerinin analizine dayanıyordu. Bu uzun araştırma geçmişi zaman içinde tek besin öğesi/gıda gruplarının veya daha kompleks diyet paternlerinin analizlerinin sonucunda tutarlı verilerin ortaya çıkmasına neden oldu: Akdeniz tipi beslenme kardiyovasküler hastalıklar ve birçok kanser türünden koruyucu özelliğe sahiptir. İtalya 1950'lerden başlamak üzere kardiyovasküler hastalıklarla başlayan ve majör kanserlerle devam eden araştırmaların doğal merkezi olmuştur. İtalyan toplumunun sağlıksız alışkanlıkların globalizasyonu nedeniyle (daha zengin diyet ve daha düşük fiziksel aktivite) hayat tarzında oluşan istenmeyen değişikliklere rağmen, Akdeniz diyet tarzını izleyenler hala anlamlı oranda koruma altındadırlar. EPIC çalışmasındaki İtalyan kohortlarında yer alan 50.000 kişiden elde edilen güncel veriler bu bulguları onaylar nitelikte olup diğer Avrupa toplumları ve bazı durumlarda da Kuzey Amerika toplumlarının verileri ile

S. Panico (✉) · A. Mattiello
Department of Clinical and Experimental Medicine, Federico II University, Naples, Italy
e-mail: spanico@unina.it

C. Panico
School of Medicine, Federico II University, Naples, Italy

P. Chiodini
Medical Statistics Unit, Department of Public, Clinical and Preventive Medicine,
Second University, Naples, Italy

V. Zappia et al. (eds.), *Advances in Nutrition and Cancer,*
Cancer Treatment and Research 159, DOI: 10.1007/978-3-642-38007-5_5,
© Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2014

de uyum içindedir. Ayrıca çeşitli çalışmalar bu tür bir diyetin kronik hastalıklardaki metabolik risk durumunu düzelttiğini hastalıkların ortaya çıkmasını engellediğini göstermiştir. Sonuç olarak Akdeniz diyet paternlerinden esinlenen beslenme şekilleri sadece kronik hastalık epidemilerine karşı koruyucu olmayıp aynı zamanda lezzetli seçeneklerdir.

Anahtar Kelimeler

Akdeniz diyeti • Kronik hastalık • Nütrisyonel epidemiyoloji

Kısaltmalar

EPIC Avrupa Kanser ve Nütrisyon Araştırması

İçindekiler

1 Avrupa'da Son Birkaç Dekaddaki Diyet Alışkanlıkları ... 71
2 Keys Diyet- Kalp Hipotezi ... 71
3 Sadece Basit Bir Diyet Yağ ve Lipid Problemi mi? ... 72
4 Diyet Göstergeleri: Gıda, Besin Öğeleri ve Kronik Hastalıkların Etyolojisini Araştıran Çalışmaların Paternleri ... 73
5 Akdeniz Skorları ve Kronik Hastalıklar ... 74
6 Akdeniz Diyet Paternleri ve İtalya'daki Güncel Popülasyon Çalışmalarındaki Kronik Hastalıklar ... 75
7 Son Yorumlar ... 77
Referanslar ... 78

Yemek kültürü her uygarlığın önemli bir özelliğidir; tarihsel kimliği çeşitli popülasyonların günlük yaşamlarından gelişmiştir. Avrasya insan gelişim konsepti çerçevesinde Akdeniz havzası içinde üç önemli gıda (şarap, zeytin yağı ve ekmek) kültürün temel unsurları olmuş ve bu miras Santral-Kuzey Avrupa yemek kültürleri (et, domuz yağı ve tereyağı) ile karışana kadar korunmuştur [40]. Yüzyıllar boyunca süregelen kültürel gıda değişimine rağmen Avrupa'daki farklılıklar ortadan kalkmamıştır. Globalize Avrupa'da bile tipik Akdeniz diyetini uygulayan bireyleri belirleyen spesifik gıda markerları mevcuttur.

Tablo 1 EPIC çalışmasında yer alan 4 ülkede en sık tüketilen diyet komponentleri

Almanya	Tereyağı, işlenmiş etler, meyve suları
İngiltere	Çay, kekler, alkolsüz içkiler, süt, tereyağı
Yunanistan	Bitkisel yağlar, baklagiller ve sebzeler, balık
İtalya	Bitkisel yağlar, tahıllar ve tahıl ürünleri, meyve

1 Avrupa'da Son Birkaç Dekaddaki Diyet Alışkanlıkları

Yirminci yüzyıl Avrupa istatistiklerinden 1950'ler ve 1960'larda dünyadaki en uzun yaşam beklentisine Yunanlıların (özellikle Girit halkı) sahip olduğunu biliyoruz. Yunanlıları Güney İtalya, İspanya ve Fransa halkları takip etmekteydi [61]. Ancel Keys ve çalışma arkadaşları 1950'lerden itibaren koroner kalp hastalığının Santral ve Kuzey Avrupa ile Kuzey Amerika'ya göre çok daha az görüldüğü Akdeniz havzasındaki toplumların diyetleri hakkında araştırma yapmaya başlamışlardır. O zaman tespit edilen Akdeniz diyeti yüksek miktarda tahıl, sebze, kuru fasulye, zeytin yağı, sarımsak, taze baharatlar, deniz ürünleri, meyve ile ölçülü miktarda şarap içeriyordu. Et ve kümes hayvanları tüketimi de ölçülüydü. Kümes hayvanları kırmızı ete göre daha fazla tüketiliyordu. Tereyağı, krema ve domuz yağını içeren hayvan yağları diyette yer almıyordu [10]. Akdeniz bölgesi ile diğer bölgeler arasındaki gıda tüketim farklarının çarpıcı bir şekilde azalmasına yol açan diyet alışkanlıklarının tüm Avrupa'da değişmiş olmasına rağmen, EPIC çalışması bazı spesifik özellikleri belirleyebilmiştir (Tablo 1). Bu özellikler belirli bazı Avrupa popülasyonlarının tipik gıda tüketim alışkanlıklarını göstermektedir [53].

Avrupa'da yürütülen nütrisyon ile kronik hastalıkları inceleyen majör çalışma olan EPIC, kanser ve kardiyovasküler hastalıklar ile ilgili özgün bir bilimsel kaynaktır. Çoğunluğu 35-69 yaşları arasında olan 370.000 kadın ve 150.000 erkekten oluşan EPIC kohortunun kayıtları 1992 ile 1998 yılları arasında 10 Avrupa ülkesindeki 23 merkezde yapılmıştır (Danimarka, Fransa, Almanya, Yunanistan, İtalya, Norveç, İspanya, İsveç, Hollanda ve İngiltere). Başlangıç anketleri mevcut diyet alışkanlıkları hakkında detaylı sorular içeriyordu. Ayrıca ölçüm hatalarına engel olabilmek amacıyla tüm kohortu temsil eden örnek bir grupta ek diyet araştırması da yapılmıştır [47, 48].

2 Keys Diyet-Kalp Hipotezi

Ancel Keys 2. Dünya Savaşı sırasında ABD ordusunda görev yaparken, ABD ile Akdeniz bölgesinde yaşayan İtalyan ve Yunanlılar arasındaki miyokard enfarktüsü oranlarında farklılıklar olduğunu gözlemlemişti. Popülasyon düzeyinde derinlemesine

araştırma yapma inisiyatifini alan Keys, "zengin" diyetin (Akdeniz dışındaki ülkelerin tipik diyeti), daha yüksek plazma kolesterol düzeylerine ve sinsi koroner kalp hastalığı eğilimine yol açabilme ihtimalini inceledi: Sonuç gerçek bir dönüm noktasıydı. Çalışmasını tartışmak amacıyla 1954 yılında İtalya'nın Napoli kentinde farklı ülkelerden seçkin araştırmacıların katıldığı bir toplantı düzenledi [34]. Amaç diyet-kalp konseptini farklı popülasyonlarda karşılaştıracak bir araştırmanın organize edilmesiydi. Bu toplantı Finlandiya, Yunanistan, İtalya, Japonya, Hollanda, ABD ve Yugoslavya'dan popülasyon örnekleri ile gerçekleştirilen "Yedi Ülke Çalışmasının" başlangıcı olmuştu. Çalışmanın amacı hastalığın gelecek yıllardaki gelişim sıklığını araştırmaktı. 50 yıldan uzun süren analizlerin yapıldığı çalışmadan elde edilen veriler hala değerlidir. Diyet-kalp konsepti Yedi Ülke Çalışmasının sonuçları ile net olarak konfirme edilmişti [32, 33]. Popülasyonlar arası analizlerde 10 yıllık koroner mortalitenin diyetle alınan ortalama doymuş yağ asidi miktarıyla anlamlı olarak ilişkili olduğu bulunmuştu. Serum kolesterol düzeyleri için de benzer sonuçlar bulunmuştu. Ortalama örnek kolesterol seviyesi arttıkça koroner mortalite oranı da artmaktaydı. Ayrıca diyetle alınan doymuş yağ asitlerinin serum kolesterol düzeyleri ile yakından ilişkili olduğu da bulunmuştu. Üç yönlü ilişkiye dayanan temel konsept şu gözlemler tarafından kuvvetle desteklenmiştir: Bulunan kanıtlar diyetle alınan lipid miktarının serum kolesterolünü, serum kolesterolünün ise kalp hastalığını belirlediğini göstermiştir. Keys ve çalışma arkadaşlarının yaptığı dönüm noktası oluşturan çeşitli (metabolik koğuş) besleme çalışmalarının sonuçları, geliştirdikleri kritik öneme sahip (izokalorik koşullarda diyet lipidlerindeki değişimlerin serum total kolesterolündeki değişim ile ilişkisi hakkındaki) denklemin alt yapısını oluşturan verileri sağlamıştır: ATC=1.35 (2 ΔSFA- ΔPFA) +1.5 ΔCHOL 1/2. ATC serum kolesterolündeki değişimi, ΔSFA ve ΔFPA sırasıyla satüre ve poliansatüre yağ asitlerinin total diyet kalorisi içindeki yüzdesinin değişimini, ΔCHOL de diyet kolesterolündeki değişimi (mg/1000 kcal) göstermektedir. Nütrisyon araştırmalarında sürekli olarak kullanılmakta olan bu denklem araştırmacılar arasında "Keys denklemi" olarak bilinmektedir [20, 31]. Keys grubunun yaptığı diğer tarihi (metabolik koğuş) çalışmalarında "Batı" diyetindeki kalori dengesinin kan kolesterolünü etkilediği, kilo alımının serum kolesterolünü artırdığı, obez hastalardaki kilo kaybının serum kolesterolünü azalttığı ve diyetteki suda çözünebilen liflerin serum kolesterolünü azalttığı gösterilmiştir [7, 30]. 1970 yılından önce yapılan tüm bu bilimsel katkılar zaman içinde dünya genelindeki araştırmacıların çalışmalarında tekrarlanmıştır. Bu katkılar toplum düzeyinde epidemik kardiyovasküler hastalıktan korunmanın temelini oluşturan majör koroner risk faktörlerinin tanımlanmasında kritik öneme sahiptir [25]. Bu önemli çalışma Akdeniz diyetinin kardiyovasküler hastalıklardan koruyan standart diyet haline gelmesine katkı yapmıştır.

3 Sadece Basit Bir Diyet Yağ ve Lipid Problemi mi?

Koroner kalp hastalığının az veya çok görüldüğü toplumlar arasındaki diyetle alınan lipid ve kan kolesterolü düzeylerinin farklılığı ile ilgili bariz kanıtlar, kardiyovasküler hastalıkların etyolojisi ile ilgili çalışmalar üzerinde tarihi bir etki yapmıştır: Yıllar boyunca diyet komponentlerinin bütünsel olarak değerlendirilmesi bir şekilde ihmal edilmiştir.

1980'lerde İtalya'da (tüm ülkeden seçilen randomize örneklerle) yapılan toplum tabanlı bir çalışmanın diyet ve kardiyometabolik risk faktörleri ile ilgili ilk sonuçları Akdeniz tipi diyetin koruyucu etkisini açıklamanın karmaşıklığını ortaya koymuştur. Daha fazla "aterojenik" gıda tüketimi ile serum kolesterol ve kan basıncı arasında bulunan ilişkiye ek olarak daha yüksek kan glukoz düzeyleri ile de ilişkili bulunmuştur [55]. Yaygın olarak zeytin yağı tüketen bireylerin yaygın olarak tereyağı tüketenlerle karşılaştırmasında da kan glukoz düzeyleri ile ilişkili sonuçlar bulunmuştur [56]. Akdeniz bölgesinde yaşayanlarla Kuzey Avrupa ve Avustralya'da yaşayan bireylerin karşılaştırıldığı kültürler arası bir çalışmada, diyetteki monoansatüre yağ asitlerinin satüre yağ asitleri ile değiştirilmesinin insülin sensitivitesini bozduğu tespit edilmiştir [60].

Bu çalışmaların sonuçları diyet ve kardiyovasküler hastalıkla ilişkili diğer metabolik yolakların önemini ortaya koymuştur; diyet komponentlerinin kardiyovasküler hastalıkları sadece lipid metabolizması yoluyla değil karbonhidratlar yoluyla da etkilediği ortaya koyulmuştur. Bir çok metabolik çalışma kardiyovasküler hastalık etyolojisi ile ilişkili bu gözlemleri konfirme etmiştir. Ayrıca karbonhidrat metabolizmasının birçok kanser türünün etyoloji ve patojenezindeki önemini gösteren bazı güncel çalışmalar, özellikle insülinin büyüme faktörleri üzerindeki proliferatif etkiyi regüle edici etkisine odaklanmaktadır. Bu gözlemler diyetin kardiyovasküler hastalılar ve kanser gibi kronik hastalıklardan koruyucu etkilerinin anlaşılabilmesi için daha kompleks bir yaklaşım gerektiğini ortaya koymaktadır.

4 Diyet Göstergeleri: Gıda, Besin Öğeleri ve Kronik Hastalıkların Etyolojisini Araştıran Çalışmaların Paternleri

Nütrisyonel epidemiyoloji ile ilgili geleneksel analizlerde bir veya az sayıda besin öğesi ve gıdanın hastalıklarla ilgileri araştırılmaktadır. Bu yaklaşımla elde edilen önemli miktarda kanıta rağmen bazı kavramsal ve metodolojik kısıtlamaları olduğu da göz önünde bulundurulmalıdır. İnsanlar izole besin öğeleri tüketmezler. Yemekler interaktif ve sinerjistik olabilen farklı besin öğelerinin kompleks kombinasyonlarından oluşurlar [41]. Bu nedenle tek besin öğesinin değerlendirilmesi doğru olmayabilir. Ancak çok sayıda besin öğesi veya gıda ile yapılan analizlerde istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunma ihtimali de şansa bağlı bir durumdur [15]. Aynı zamanda bazı besin öğelerinin birbirleri ile yüksek oranda ilişkili olması etkilerinin ayrı ayrı incelenmesini çok zorlaştırmakta-

dır; bu durum besin öğelerinin aynı modelde kullanılması ile bağımsız varyasyon oranlarının azalmasına bağlıdır [36].

Bir diyet paterninde yer alan multipl besin öğelerinin kümülatif etkileri yeterince büyük olduğu için muhtemelen tespit edilebilirken, tek bir besin öğesinin etkisi çok küçük olduğu için fark edilemeyebilir [50]. Bazı önemli diyet girişim çalışmaları ile ilgili literatürleri incelediğimizde, kan basıncı düşürme çalışmalarında görüldüğü gibi tek bir besin öğesi yerine diyet paternlerini değiştirmenin daha efektif olabileceğini gözlemledik [8].

Sonuç olarak belirli besin öğelerinin tüketimi genel olarak belirli diyet tipleri ile ilişkili oldukları için [27, 46], besin öğelerinin tek olarak analizleri diyet paternlerinden etkilenerek sonuçlarda karışıklık meydana gelebilir. Düşük diyet yağı; meyve, sebze, fiber, folat ve tam tahıl tüketimi ile ilişkili ise, bu durum her birinin bağımsız olarak koroner kalp hastalığı riskini azaltmasından kaynaklanıyor olabilir. Bu da diyet yağı ve koroner hastalık arasındaki ilişki değerlendirildiğinde potansiyel karışıklığa yol açabilecekleri anlamına gelir [59]. Diyet komponentleri arasındaki etkileşim nedeniyle oluşan karmaşanın ortadan kaldırılması zor olduğu için bu durumun istatistiksel analizle kontrol edilmeye çalışılması da başarısızlıkla sonuçlanabilir. Bu durumu çözmenin bir yolu gıda ve besin öğelerinin kombinasyonlar halinde nasıl tüketildiğini değerlendirmek amacıyla genel diyet paterninin kullanılmasıdır [2, 13, 21, 23, 24, 26, 28, 57]. Diyet paternleri kullanılarak yapılan analizlerde, paternler yemek yeme alışkanlıklarına göre belirlendiği için gıda ve besin öğeleri arasındaki eş bağlantıların kullanılması avantajlı olabilir [22].

5 Akdeniz Skorları ve Kronik Hastalıklar

Önceki paragrafta vurgulandığı üzere diyet paternlerinin belirlenebilmesi amacıyla kompleks bir indeksin kullanılması bireylerin yemek yeme kategorilerine göre gruplanabilmesini sağladığı için diyet alışkanlıkları daha iyi karakterize edilebilir. Bilimsel literatürde diyet patern göstergeleri ile ilgili farklı örnekler mevcuttur; bu makalede Akdeniz paterninin göstergeleri ve kronik hastalıklara odaklanacağız.

Yedi Ülke Çalışmasının araştırıcıları diyetlerin sağlığa uygunluk derecesini incelemek için geliştirdikleri Akdeniz Uygunluk İndeksini (MAİ) 1960 yılında pilot çalışma bölgesi olarak seçilen Güney İtalya'nın kırsal kesimindeki Nicotera'da test ettiler [4, 5, 17].

Yedi Ülke Çalışmasının 25 yıllık takibinde MAİ ile koroner kalp hastalığına bağlı mortalite arasında güçlü ters orantılı ilişki tespit edilmiştir [18]. Yedi Ülke Çalışmasındaki iki kırsal İtalyan kohortundaki sağlıklı Akdeniz diyet paterni 20. ve 40. yıllardaki kardiyovasküler olay gelişimini azaltmıştır [39].

MEDSCORE'u (Yunan diyetinin komponentlerini baz alan Akdeniz uygunluk indeksi) geliştiren araştırmacılar yaşlı bir Yunan kohortundaki sağkalımın Akdeniz-Yunan diyetine uyum sağlandığı oranda arttığını bulmuşlardır [57]. Yunan indeksinin modifiye bir versiyonu (m-MEDSCORE) EPIC çalışmasındaki çeşitli analizlerde kul-

lanılmaktadır. Modifikasyon Santral ve Kuzey Avrupa toplumlarının diyet özellikleri dikkate alınarak yapılmıştır. Ancak indeksin Akdeniz tipi diyete uyumun derecesini ölçebilme yeteneği korunmuştur. Yüksek m-MEDSCORE değerlerinin Avrupa ülkelerindeki yaşam sürelerine pozitif katkı yapmada tekli besin öğelerinden daha önemli olduğu bulunmuştur [58]. Skorun İspanyol EPIC kohortunda kullanımı ile başlangıçta sağlıklı olan orta yaşlı bireylerdeki fatal ve nonfatal kardiyovasküler hastalık insidansı ile Akdeniz diyetine uyum arasında ters orantılı ilişki tespit edilmiştir [37].

EPIC Çalışması m-MEDSCORE ile ölçülen Akdeniz diyetine uyum derecesi ile tüm kanser tipleri arasındaki ilişki ile ilgili önemli bir kanıt sağlamıştır: Skor ne kadar yükselirse kanser riski o kadar azalmıştır [11]. m-MEDSCORE'un Asya-Amerikalı kadınlardan oluşan kohorta uygulanması ile Akdeniz diyetine yüksek uyumun meme kanserine karşı koruyucu etkisi olduğu tespit edilmiştir [63]. Ayrıca m-MEDSCORE kullanılan popülasyonlarda diyet ve kognitif bozulma ilişkisi hakkında güncel kanıtlar mevcuttur: Yüksek indeks skorlarının manyetik rezonans kullanılarak ölçümlenen beyaz maddede görülen bozulmaları da azalttığı bulunmuştur [19].

EPIC çalışmasının Avrupa kohortlarında m-MEDSCORE skoru ile metabolik sendrom gibi yüksek insülin rezistansı ile karakterize rahatsızlıkları da kapsayan bazı metabolik özelliklerin ilişkisi analiz edilmiştir. Yüksek m-MEDSCORE düzeylerinin zaman içinde bel çevresinde daha az artış görülmesi ile ilişkili olduğunun bulunmuş olması [49], Akdeniz popülasyonlarında son yıllarda görülen kilo artışının [16, 42], yüksek enerji alımından (gıdanın kalitesinde değil miktarındaki artış) kaynaklandığının ve bazı diyet alışkanlıklarının değişerek Batı tarzı diyete yaklaştığının [35] ve Akdeniz avantajını azalttığının [45] göstergesidir. Ayrıca daha düşük metabolik sendrom prevalansı da azalmış endometrial [12], kolorektal [6] ve meme kanseri [1] riski ile ilişkili bulunmuştur. Bu bulgu Akdeniz diyetinin bu kanser türlerinin riskleri üzerindeki etkisini indirekt olarak konfirme edebilir. Güncel metaanalizlerde Akdeniz diyeti ile metabolik sendrom komponentlerinin düşük yağlı diyete göre [43], anlamlı olarak azaldığı ve Akdeniz diyeti ile beslenenlerde daha az metabolik sendrom görüldüğü yönünde ikna edici kanıtlar mevcuttur [29].

6 Akdeniz Diyet Paternleri ve İtalya'daki Güncel Popülasyon Çalışmalarındaki Kronik Hastalıklar

İtalya'daki en büyük ölçekli kronik hastalık etyoloji araştırması (başlıca kanser ve kardiyovasküler hastalıklar ile ilgili) EPIC çalışmasının İtalyan kohortunda sürdürülmektedir. İtalya'daki beş merkezde 1993-1998 yılları arasında 47.749 gönüllü (15.171 erkek; 32.578 kadın) kaydedilmiştir: Kuzey İtalya'da iki merkez (Varese, n=12.083; Turin, n=10.604), Orta İtalya'da bir merkez (Floransa, n=13.597), ve Güney İtalya'da iki merkez (Ragusa, n=6403; Napolis, n=5062) mevcuttur. Tüm maruziyet değişkenleri ile kanser insidansını ve mortaliteyi belirlemekte kullanılan tüm prosedürler Avrupa Araştırmasında olduğu

Tablo 2 İtalyan Akdeniz İndeksi: Skoru oluşturan komponentler

Yüksek oranda tüketim ile pozitif skor	Makarna
Yüksek oranda tüketim ile pozitif skor	Tipik Akdeniz sebzeleri (örn. çiğ ya da pişmiş yeşil yapraklı sebzeler, çiğ domates, soğan ve sarımsak, lahana ve kök bitkiler dışındaki diğer tüm sebzeler)
	Meyve
	Bakliyat
	Zeytin yağı
	Balık
Az miktarda tüketim ile pozitif skor	Alkolsüz
	Tereyağ
	Kırmızı et
	Patates

WCRF/AICR Sürekli Güncelleme Projesi 2011, http://www.wcrf.org/cancer_research/cup/colorectal_cancer.php

gibi belirlenmiştir [48]. Diyet lokal yeme alışkanlıklarını tespit etmeyi amaçlayan semi-kantitatif yeme sıklığı anketleri ile değerlendirilmiştir [44]. EPICOR, EPIC İtalya'nın kardiyovasküler hastalıklarla ilgili bölümüdür. Koroner ve serebrovasküler olayların insidanslarının belirlenmesinde spesifik olarak valide edilen prosedürler dizayn edilmiş ve uygulanmıştır [2, 9, 14, 51].

Diyet paternlerinin kronik hastalıklardaki rolünü değerlendirebilmek amacıyla İtalyan Akdeniz Diyet İndeksi geliştirilmiştir. Bu indeksin analizinde ortaya 11 gıdanın tüketimine dayanan bir skor çıkmıştır: 6 tipik Akdeniz gıdası yüksek miktarda tüketilmektedir (makarna, tipik Akdeniz sebzeleri olan çiğ ya da pişmiş yeşil yapraklı sebzeler, çiğ domates, soğan ve sarımsak ile lahana ve kök bitkiler dışındaki tüm diğer sebzeler, meyve, bakliyat, zeytin yağı ve balık); Akdeniz için tipik olmayan 4 gıda düşük miktarda tüketilmektedir (alkolsüz içkiler, tereyağı, kırmızı et ve patates) ve alkol. Tipik Akdeniz gıdalarının tüketim miktarı dağılımın üçüncü üçte birlik diliminde ise 1 puan, diğer tüm tüketimler için 0 puan verildi. Akdeniz için tipik olmayan gıdaların tüketimi dağılımın birinci üçte birlik diliminde ise 1 puan verildi. Etanole 12 $g \cdot d^{-1}$ dozuna kadar 1 puan, hiç kullanmayanlar ile >12 $g \cdot d^{-1}$ dozları için de 0 puan verildi.

İtalyan indeksi Yunan MEDSCORE indeksinden biraz farklıdır. Majör farklardan biri tipik İtalyan gıdası olan makarnanın komponentleri arasındadır [2]. Antropoloji bağlayıcıdır: İtalyanların yemek kültürü belirgin olarak makarna tarafından karakterize edilir. Bu durum ülkenin özellikle Akdeniz'deki kısmı için geçerlidir. İtalya'nın yeniden birleşmesi sırasında (1860-1861), Savoia Krallığı Başbakanı (Camillo Benso di Cavour, Kuzey

İtalya'daki Turin'de yaşıyordu) Güney İtalya'nın Giuseppe Garibaldi tarafından fethedilmesini beklerken Paris'teki elçisine şu şifreli sözleri yazmıştı: "Kısa süre sonra hepimiz makarna yiyeceğiz" [40]. EPIC'te yer alan yüksek kaliteli diyet verilerine paralel olarak diğer hayat tarzı değişkenleri ile ilgili veriler de yüksek kalitededir. Bu veriler analiz için önem arz etmektedir. Bu değişkenlerin bazıları göz önüne alındığında Akdeniz diyet paterninin kardiyovasküler hastalıklar ve kansere karşı potansiyel koruyucu rolü hakkında elde edilen sonuçlar oldukça etkileyicidir. İtalyan Akdeniz İndeksi kullanılarak yapılan analizler diğer gruplardaki tipik Akdeniz diyet komponentlerinin analizleri ile paralellik göstermektedir.

Yeşil yapraklı sebzelerin ve zeytin yağının yüksek oranda tüketiminin (düşük tüketime göre) kadınlardaki koroner kalp hastalığına karşı koruyucu olduğu bulunmuştur [9]. Bilimsel bir toplantıda sunulan preliminer veriler İtalyan Akdeniz İndeksinin koroner kalp hastalığı (fatal ve nonfatal) insidansı ile ters orantılı olduğunu göstermiştir. Kadınlardaki fark istatistiksel anlamlılığa yakındır. Ayrıca izokalorik Akdeniz diyeti için tipik olmayan şekilde glisemik indeksi yüksek olan karbonhidratlar yönünden zengin diyetin (yüksek glisemik yük) koroner kalp hastalığı riskinde %50'den daha fazla anlamlı risk artışına yol açtığı tespit edilmiştir [51].

İtalyan Akdeniz İndeksi yüksek olan bireylerdeki inme riskinin skoru düşük olanlara göre azaldığı bulunmuştur: Anlamlı rölatif risk tüm inme tipleri için 0.47, iskemik inme için 0.37 bulunmuştur [2]. Gıdaların total antioksidan kapasitelerinin koruyucu olduğu indirekt olarak konfirme edilmiştir: Üst ve alt üçte birlik dilimler karşılaştırıldığında bulunan 0.57'lik rölatif risk anlamlıdır [14].

İtalyan Akdeniz İndeksi yüksek olan bireylerdeki kolorektal kanser riski düşük skorlu bireylere göre anlamlı olarak azalmıştır: Erkeklerdeki rölatif risk 0.54; kadınlardaki rölatif risk 0.46 [3].

Meme kanseri için de bir dizi tutarlı sonuç açıklanmıştır. Kohortun bir bölümü (Milano kohortu) ile ilgili verilerin sunulduğu bilimsel toplantıda İtalyan Akdeniz indeksinin anlamlı derecede azalmış riskle ilişkili olduğu bildirilmiştir (üst ve alt üçte birlik dilimler arasındaki rölatif risk 0.64). Glisemik yük ile koroner kalp hastalığı arasında da anlamlı ilişki mevcuttur (yüksek glisemik yük ile düşük glisemik yük karşılaştırılmasındaki rölatif risk 1.46) [52]. Sebze tüketimi ile ilgili analizler de tüm sebze tiplerinin anlamlı koruma sağladığını göstermiştir (tüm sebzeler için 0.65; yeşil yapraklı sebzeler için 0.70) [38].

7 Son Yorumlar

Uzun bir tarihe sahip olan Akdeniz diyeti ile kardiyovasküler hastalık etyolojisi arasındaki ilişki güncel veriler tarafından da desteklenmektedir. Bu durum özellikler İtalya için geçerlidir. İtalyan popülasyonunun diyet alışkanlıklarındaki olumsuz değişimlere rağmen, hala Akdeniz tipi diyete yakın olan bireyler anlamlı düzeyde korunmaktadır.

Bir diğer iyi haber de aynı diyet paterninin sık görülen kanser türlerine karşı da koruyucu olmasıdır (örn. meme ve kolorektal kanserler). İtalyan verileri diğer Avrupa toplumlarından ve kısmen de Kuzey Amerika toplumlarından elde edilen verilerle uyumludur: Kapsamlı bir metaanaliz bu verileri desteklemektedir [54]. WHO bu kanıtların ışığında, kronik hastalıkların önlenebilmesi için uygulanan diyetlerin Akdeniz diyetine göre modifiye edilmesini kuvvetle desteklemektedir [62]. Sonuç olarak Akdeniz diyet paternlerinden esinlenen beslenme şekilleri kronik hastalık epidemilerine karşı koruyucu olan lezzetli seçeneklerdir.

Referanslar

1. Agnoli C, Berrino F, Abagnato CA, Muti P, Panico S, Crosignani P, Krogh V (2010) Metabolic syndrome and postmenopausal breast cancer in the ORDET cohort: a nested case-control study. Nutr Metab Cardiovasc Dis 20(1):41–48
2. Agnoli C, Krogh V, Grioni S, Sieri S, Palli D, Masala G, Sacerdote C, Vineis P, Tumino R, Frasca G, Pala V, Berrino F, Chiodini P, Mattiello A, Panico S (2011) A priori-defined dietary patterns are associated with reduced risk of stroke in a large Italian cohort. J Nutr 141(8):1552–1558
3. Agnoli C, Grioni S, Sieri S, Palli D, Masala G, Sacerdote C, Vineis P, Tumino R, Giurdanella MC, Pala V, Berrino F, Mattiello A, Panico S, Krogh V (2012) Italian mediterranean index and risk of colorectal cancer in the Italian section of the EPIC cohort. Int J Cancer. doi: 10.1002/ijc.27740
4. Alberti-Fidanza A, Fidanza F, Chiuchiu MP, Verducci G, Fruttini D (1999) Dietary studies on two Italian population groups of the seven countries study. 3. Trends in food and nutrient intake from 1960 and 1991. Eur J Clin Nutr 53:854–860
5. Alberti-Fidanza A, Fidanza F (2004) Mediterranean adequacy index of Italian diets. Public Health Nutr 7:937–941
6. Aleksandrova K, Boeing H, Jenab M, Bas Bueno-de-Mesquita H, Jansen E, van Duijnhoven FJ, Fedirko V, Rinaldi S, Romieu I, Riboli E, Romaguera D, Overvad K, Østergaard JN, Olsen A, Tjønneland A, Boutron-Ruault MC, Clavel-Chapelon F, Morois S, Masala G, Agnoli C, Panico S, Tumino R, Vineis P, Kaaks R, Lukanova A, Trichopoulou A, Naska A, Bamia C, Peeters PH, Rodríguez L, Buckland G, Sánchez MJ, Dorronsoro M, Huerta JM, Barricarte A, Hallmans G, Palmqvist R, Khaw KT, Wareham N, Allen NE, Tsilidis KK, Pischon T (2011) Metabolic syndrome and risks of colon and rectal cancer: the European prospective investigation into cancer and nutrition study. Cancer Prev Res (Phila) 4(11):1873–1883
7. Anderson JT, Lawer A, Keys A (1957) Weight gain from simple overeating. Serum lipids and blood volume. J Clin Invest 36:81–88
8. Appel L, Moore TJ, Obrazanek E, for the DASH collaborative research group (1997) A clinical trial of the effects of dietary patterns on blood pressure. N Engl J Med 336:1117–1124
9. Bendinelli B, Masala G, Saieva C, Salvini S, Calonico C, Sacerdote C, Agnoli C, Grioni S, Frasca G, Mattiello A, Chiodini P, Tumino R, Vineis P, Palli D, Panico S (2011) Fruit, vegetables, and olive oil and risk of coronary heart disease in Italian women: the EPICOR Study. Am J Clin Nutr 93(2):275–283
10. Contaldo F, Pasanisi F, Mancini M (2003) Beyond the traditional interpretation of mediterranean diet. Nutr Metab Cardiovasc Dis 13:117–119.)
11. Couto E, Boffetta P, Lagiou P, Ferrari P, Buckland G, Overvad K, Dahm CC, Tjønneland A, Olsen A, Clavel-Chapelon F, Boutron-Ruault M-C, Cottet V, Trichopoulos D, Naska A,

Benetou V, Kaaks R, Rohrmann S, Boeing H, von Ruesten A, Panico S, Pala V, Vineis P, Palli D, Tumino R, May A, Peeters PH, Bueno-de-Mesquita HB, Buchner FL, Lund E, Skeie G, Engeset D, Gonzalez CA, Navarro C, Rodrıguez L, Sanchez M-J, Amiano P, Barricarte A, Hallmans G, Johansson I, Manjer J, Wirfart E, Allen NE, Crowe F, Khaw K-T, Wareham N, Moskal A, Slimani N, Jenab M, Romaguera D, Mouw T, Norat T, Riboli E, Trichopoulou A (2001) Mediterranean dietary pattern and cancer risk in the EPIC cohort. Br J Cancer 104:1493–1499

12. Cust AE, Kaaks R, Friedenreich C, Bonnet F, Laville M, Tjønneland A, Olsen A, Overvad K, Uhre Jakobsen M, Chajes V, Clavel-Chapelon F, Boutron-Ruault M-C, Linseisen J, Lukanova A, Boeing H, PischonT Trichopoulou A, Bamia C, Trichopoulos D, Palli D, Berrino F, Panico S, Tumino R, Sacerdote C, Gram IT, Lund E, Quiros JR, Travier N, Martınez-Garcıa N, Larranaga N, Chirlaque MD, Ardanaz E, Berglund G, Lundin E, Bueno-de-Mesquita HB, van Duijnhoven FJB, Peeters PHM, Bingham S, Khaw K-T, Allen NE, Key T, Ferrari P, Rinaldi S, Slimani N, Riboli E (2007) Metabolic syndrome, plasma lipid, lipoprotein and glucose levels, and endometrial cancer risk in the European prospective investigation into cancer and nutrition (EPIC). Endocr Relat Cancer 14:755–767
13. Department of Health and Human Services and USDA (2005) Dietary guidelines for Americans. Government Printing Office, Washington, DC
14. Del Rio D, Agnoli C, Pellegrini N, Krogh V, Brighenti F, Mazzeo T, Masala G, Bendinelli B, Berrino F, Sieri S, Tumino R, Rollo PC, Gallo V, Sacerdote C, Mattiello A, Chiodini P, Panico S (2011) Total antioxidant capacity of the diet is associated with lower risk of ischemic stroke in a large italian cohort. J Nutr 141:118–123
15. Farchi G, Mariotti S, Menotti A et al (1989) Diet and 20-year mortality in two rural population groups of middle-aged men in Italy. Am J Clin Nutr 50:1095–1103
16. Ferro-Luzzi A, James WP, Kafatos A (2002) The high-fat Greek diet: a recipe for all? Eur J Clin Nutr 56:796–809
17. Fidanza F (1991) The mediterranean Italian diet; keys to contemporary thinking. Proc Nutr Soc 50:519–526
18. Fidanza F, Alberti A, Lanti M, Menotti A (2004) Mediterranean adequacy index: correlation with 25-year mortality from coronary heart disease in the seven countries study. Nutr Metab Cardiovasc Dis 14:254–258
19. Gardener H, Scarmeas N, Gu Y, Boden-Albala B, Elkind MS, Sacco RL, DeCarli C, Wright CB (2012) Mediterranean diet and white matter hyperintensity volume in the Northern Manhattan study. Arch Neurol 69(2):251–256
20. Grande F, Anderson JT, Chlouverakis C, Proja M, Keys A (1965) Effect of dietary cholesterol on man's serum lipids. J Nutr 87(1):52–62
21. Guenther PM, Reedy J, Krebs-Smith SM (2008) Development of the healthy eating index-2005. J Am Diet Assoc 108:1896–1901
22. Hu FB (2002) Dietary pattern analysis: a new direction in nutritional epidemiology. Curr Opin Lipidol 13:3–9
23. Huijbregts PPCW, Feskens EJM, Kromhout D (1995) Dietary patterns and cardiovascular risk factors in elderly men: the Zutphen Elderly study. Int J Epidemiol 24:313–320
24. Huijbregts P, Feskens E, Rasanen L et al (1997) Dietary pattern and 20 year mortality in elderly men in Finland, Italy, and the Netherlands: longitudinal cohort study. BMJ 315:13–17
25. Inter-Society Commission for Heart Disease Resources, Atherosclerosis Study Group and Epidemiology Study Group (1970) Primary prevention of the atherosclerotic diseases. Circulation 42:A55–A95
26. Jacobson HN, Stanton JL (1986) Pattern analysis in nutrition. Clin Nutr 5:249–253
27. Kant AK, Schatzkin A, Block G et al (1991) Food group intake patterns and associated nutrient profiles of the US population. J Am Diet Assoc 91:1532–1537
28. Kant AK (1996) Indexes of overall diet quality: a review. J Am Diet Assoc 96:785–791

29. Kastorini KM, Milionis HJ, Esposito K, Giugliano D, Goudevenos JA, Panagiotakos DB (2011) The effect of mediterranean diet on metabolic syndrome and its components: A meta-analysis of 50 Studies and 534,906 individuals. J Am Coll Cardiol 57:1299–1313
30. Keys A, Grande F, Anderson JT (1961) Fiber and pectin in the diet and serum cholesterol concentration in man. Proc Soc Exp Biol Med 106:555–562
31. Keys A, Anderson JT, Grande F (1965) Serum cholesterol response to changes in the diet (I-IV). Metabolism 14:776
32. Keys A (1970) Coronary heart disease in seven countries. Circulation 41(Suppl. 1):1–2
33. Keys A et al (1980) Seven countries. A multivariate analysis of death and coronary heart disease. A commonwealth fund book. Harvard University Press, Cambridge
34. Keys A (1993) The inception and pilot surveys. In: Kromhout D, Menotti A, Blackburn H (eds) The Seven Countries Study. Brower, Utrecht
35. Keys A (1995) Mediterranean diet and public health: personal reflections. Am J Clin Nutr 61(6 Suppl):1321S–1323S
36. Lee CN, Reed DM, MacLean CJ et al (1988) Dietary potassium and stroke. N Engl J Med 318:995–996
37. Martınez-Gonzalez MA, Garcıa-Lopez M, Bes-Rastrollo M, Toledo E, Martınez-Lapiscina EH, Delgado-Rodriguez M, Vazquez Z, Benito S, Beunza JJ (2011) Mediterranean diet and the incidence of cardiovascular disease: a Spanish cohort nutrition. Metab Cardiovasc Dis 21:237–244
38. Masala G, Assedi M, Bendinelli B, Ermini I, Sieri S, Grioni S, Sacerdote C, Ricceri F, Panico S, Mattiello A, Tumino R, Giurdanella MC, Berrino F, Saieva C, Palli D (2012) Fruit and vegetables consumption and breast cancer risk: the EPIC Italy study. Breast Cancer Res Treat 132(3):1127–1136
39. Menotti A, Alberti-Fidanza A, Fidanza F (2012) The association of the mediterranean adequacy index with fatal coronary events in an Italian middle-aged male population followed for 40 years. Nutr Metab Cardiovasc Dis 22:369–375
40. Montanari M (2010) L'identità italiana in cucina—Laterza Editore
41. National Research Council—Committee on Diet and Health. Diet and health (1989) Implications for reducing chronic disease risk. National Academy Press, Washington, DC
42. Newby PK, Muller D, Hallfrisch J, Qiao N, Andres R, Tucker KL (2003) Dietary patterns and changes in body mass index and waist circumference in adults. Am J Clin Nutr 77:1417–1425
43. Nordmann AJ, Suter-Zimmermann K, Bucher HC, Shai I, Tuttle KR, Estruch R, Briel M (2011) Meta-analysis comparing mediterranean to low-fat diets for modification of cardiovascular risk factors. Am J Med 124:841–851
44. Palli D, Berrino F, Vineis P, Tumino R, Panico S, Masala G et al (2003) A molecular epidemiology project on diet and cancer: the EPIC-Italy prospective study. Design and baseline characteristics of participants. Tumori 89:586–593
45. Panico S, Palmieri L, Donfrancesco C, Vanuzzo D, Chiodini P, Cesana G, Ferrario M, Mattiello A, Pilotto L, Sega R, Giampaoli S, Stamler J (2008) Preventive potential of body mass reduction to lower cardiovascular risk: the Italian progetto CUORE study. Prev Med 47(1):53–60
46. Randall E, Marshall JR, Graham S, Brasure J (1990) Patterns in food use and their associations with nutrient intakes. Am J Clin Nutr 52:739–745
47. Riboli E, Kaaks R. (1997) The EPIC project: rationale and study design. European prospective investigation into cancer and nutrition. Int. J. Epidemiol 26(suppl. 1):S6–S14
48. Riboli E, Hunt KJ, Slimani N et al (2002) European prospective investigation into cancer and nutrition (EPIC): study populations and data collection. Public Health Nutr 5:1113–1124
49. Romaguera D, Norat T, Mouw T, May AM, Bamia C, Slimani N, Travier N, Besson H, Luan J, Wareham N, Rinaldi S, Couto E, Clavel-Chapelon F, Boutron-Ruault MC, Cottet V, Palli P, Agnoli C, Panico S, Tumino R, Vineis P, Agudo A, Rodriguez L, Sanchez MJ, Amiano P, Barricarte A, Huerta JM, Key TJ, Spencer EA, Bueno-de-Mesquita HB, Buchner FL, Orfanos P, Naska A, Trichopoulou A, Rohrmann S, Kaaks R, Bergmann M, Boeing H, Johansson J,

Hellstrom V, Manjer J, Wirfalt E, Uhre Jacobsen M, Overvad K, Tjonneland A, Halkjaer J, Lund E, Braaten T, Engeset D, Odysseos A, Riboli E, Peeters PHM (2009) Adherence to the Mediterranean diet is associated with lower abdominal adiposity in European men and women. J Nutr 139:1728–1737

50. Sacks FM, Obarzanek E, Windhauser MM, for the DASH investigators (1994) Rational and design of the dietary approaches to stop hypertension trial (DASH): a multicenter controlled-feeding study of dietary patterns to lower blood pressure. Ann Epidemiol 5:108–118
51. Sieri S, Krogh V, Berrino F, Evangelista A, Agnoli C, Brighenti F, Pellegrini N, Palli D, Masala G, Sacerdote C, Veglia F, Tumino R, Frasca G, Grioni S, Pala V, Mattiello A, Chiodini P, Panico S (2010) Dietary glycemic load and index and risk of coronary heart disease in a large Italian cohort: the EPICOR study. Arch Intern Med 170(7):640–647
52. Sieri S, Pala V, Brighenti F, Agnoli C, Grioni S, Berrino F, Scazzina F, Palli D, Masala G, Vineis P, Sacerdote C, Tumino R, Giurdanella MC, Mattiello A, Panico S, Krogh V (2012) High glycemic diet and breast cancer occurrence in the Italian EPIC cohort. Nutr Metab Cardiovasc Dis 23(7):650–657 [Epub ahead of print]
53. Slimani N, Fahey M, Welch AA, Wirfält E, Stripp C, Bergström E, Linseisen J, Schulze MB, Bamia C, Chloptsios Y, Veglia F, Panico S, Bueno-de-Mesquita HB, Ocké MC, Brustad M, Lund E, González CA, Barcos A, Berglund G, Winkvist A, Mulligan A, Appleby P, Overvad K, Tjønneland A, Clavel-Chapelon F, Kesse E, Ferrari P, Van Staveren WA, Riboli E (2002) Diversity of dietary patterns observed in the European prospective investigation into cancer and nutrition (EPIC) project. Public Health Nutr 5(6B):1311–1328
54. Sofi F, Cesari F, Abbate R, Gensini GF, Casini A (2008) Adherence to mediterranean diet and health status: meta-analysis. BMJ 337:a1344
55. Trevisan M, Krogh V, Freudenheim JL, Blake A, Muti P, Panico S, Farinaro E, Mancini M, Menotti A, Ricci G (1990) Diet and coronary heart disease risk factors in a population with varied intake. The research group ATS-RF2 of The Italian National Research Council. Prev Med 19(3):231–241
56. Trevisan M, Krogh V, Freudenheim J, Blake A, Muti P, Panico S, Farinaro E, Mancini M, Menotti A, Ricci G (1990) Consumption of olive oil, butter, and vegetable oils and coronary heart disease risk factors. The Research Group ATS-RF2 of the Italian National Research Council. JAMA 263(5):688–692
57. Trichopoulou A, Kouris-Blazos A, Wahlqvist ML, Gnardellis C, Lagiou P, Polychronopoulos E et al (1995) Diet and overall survival in elderly people. BMJ 311:1457–1460
58. Trichopoulou A, Orfanos P, Norat T, Bueno-de-Mesquita B, Ocke MC, Peeters PH et al (2005) Modified Mediterranean diet and survival: EPIC-elderly prospective cohort study. BMJ 330:991
59. Ursin G, Ziegler RG, Subar AF et al (1993) Dietary patterns associated with a low-fat diet in the National Health Examination follow-up study: identification of potential confounders for epidemiologic analyses. Am J Epidemiol 137:916–927
60. Vessby B, Uusitupa M, Hermansen K, Riccardi G, Rivellese AA, Tapsell LC, Nälsén C, Berglund L, Louheranta A, Rasmussen BM, Calvert GD, Maffetone A, Pedersen E, Gustafsson IB, Storlien LH; KANWU Study (2001) Substituting dietary saturated for monounsaturated fat impairs insulin sensitivity in healthy men and women: The KANWU Study. Diabetologia 44(3):312–319
61. Willett WC, Sacks F, Trichopoulou A, Drescher G, Ferro-Luzzi A, Helsing E et al (1995) Mediterranean diet pyramid: a cultural model of healthy eating. Am J Clin Nutr 61:1402S–1406S
62. World Health Organization Study Group (2003) Diet, nutrition, and the prevention of chronic disease. WHO Tech Rep Ser, p 9166
63. Wu AH, Yu MC, Tseng CC, Stanczyk FZ, Pike MC (2009) Dietary patterns and breast cancer risk in Asian American women. Am J Clin Nutr 89(4):1145–1154

Diyetle Tuz Tüketimi ve Mide Kanseri Riski

Lanfranco D'Elia, Ferruccio Galletti ve Pasquale Strazzullo

Özet

İnsanlar yaklaşık 5000 yıl önce gıdaların korunması amacıyla büyük miktarda tuz kullanmaya başladılar. Günümüzde gelişen teknolojiler gıdaların saklaması için gereken tuz miktarının büyük oranda azaltılabilmesine olanak verdiği halde diyetle aşırı tuz tüketimi hala yaygındır. Sık görülen bir neoplazi olan mide kanserinin oluşumunda tuz tüketimini de içeren diyetle ilgili faktörlerin rol oynadığı düşünülmektedir. Bir dizi deneysel çalışmanın sonuçları tuzun Helicobacter pylori enfeksiyonu ile sinerjistik etki göstererek kokarsinojen etki yaptığı görüşünü desteklemektedir. Tuz ayrıca hücre proliferasyonu ve endojen mutasyonları artırıcı bağımsız etkiye de sahiptir. Birçok epidemiyolojik çalışmada aşırı tuz tüketimi ile mide kanseri arasındaki ilişki incelenmiştir. Hem kesitsel hem de prospektif çalışmalarda doza bağlı bir ilişki olabileceği gösterilmiştir. Özellikle longitudinal çalışmaları inceleyen kapsamlı bir metaanalizde toplam tuz tüketimi ve tuzdan zengin yiyeceklerin genel popülasyondaki gastrik kanser riski üzerinde olumsuz etkileri olduğu gösterilmiştir. Epidemiyolojik, klinik ve deneysel kanıtlar bir araya geldiğinde popülasyondaki tuz tüketiminin progresif olarak azaltımının gastrik kanser oranlarını da önemli oranda azaltabileceği ihtimalini desteklemektedir.

L. D'Elia · F. Galletti · P. Strazzullo
Department of Clinical and Experimental Medicine, "Federico II" University of Naples, Naples, Italy

P. Strazzullo (✉)
Department of Clinical and Experimental Medicine ESH—Excellence Center of Hypertension, "Federico II" University Medical School, via S. Pansini, 5, 80131, Naples, Italy
e-mail: strazzul@unina.it

V. Zappia et al. (eds.), *Advances in Nutrition and Cancer,*
Cancer Treatment and Research 159, DOI: 10.1007/978-3-642-38007-5_6,
© Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2014

Anahtar Kelimeler

Tuz tüketimi · Gastrik kanser · Risk · Gıda depolama · Helicopbacter pylori · Risk faktörü

Kısaltmalar

HP	*Helicobacter pylori*
COX-2	Siklooksijenaz-2
iNOS	İndüklenebilir nitrik oksit sentetaz
CagA	Sitotoksin ile ilişkili A geni
MNNG	Metilnitronitrozo guanidin
MNU	N-nitrozo-N-metilüre

İçindekiler

1 Giriş 84
2 Tuz Tüketimi ve Gastrik Kanser: Epidemiyolojik Kanıtlar 85
3 Tuz Tüketimi ve Helicobacter Pylori Enfeksiyonu 88
4 Diğer Biyolojik Mekanizmalar ve Deneysel Kanıtlar 91
5 Perspektifler 92
Referanslar 92

1 Giriş

Ekstraselüler sıvıda en fazla bulunan elektrolit olan sodyum vücut sıvı hacmi, plazma ozmolaritesi ve hücre membran potansiyelinin regülasyonunda majör rol oynamaktadır. İnsan vücudu evrim esnasında sodyum ve klorür miktarlarını korumak ve ekstraselüler sıvıdaki sodyum konsantrasyonunu rölatif olarak dar bir aralıkta tutabilmek için güçlü mekanizmalar geliştirmiştir [1]. Yaklaşık 5000 yıl önce doğal gıdalardaki sodyum miktarları oldukça düşük olduğu için insanların diyetindeki sodyum oranları son derece düşüktü [2]. Yüksek tuz tüketimine geçiş birçok gıdaya tuz eklenmesi ile çabuk bozulmalarının engellenebileceğinin keşfedilmesi ile başlamıştı [3]; bu yüksek tuz tüketimi yiyeceklerin korunmasında kullanılan modern teknolojilerin yaygın olarak mevcudiyetine rağmen hala devam etmektedir. Günümüzdeki tuz tüketiminin kabul edilemeyecek biçimde artmış olması ile tüm dünyada majör bir sağlık problemi olduğu anlaşılan tuz tüketimi hipertansiyon [4, 5], kardiyovasküler olaylar [6],renal disfonksiyon [8] ve osteoporoz [9] gibi epidemik rahatsızlıkların gelişimi ile ilişkilidir.

Yaygın bir neoplazi olan gastrik kanser tüm dünyadaki kanser ölümlerinin üçüncü en sık nedenidir [10, 11, 12]. Mide kanseri insidansının büyük coğrafi ve etnik farklılıklar göstermesine ve son dekadlardaki görülme oranı yavaşça azalmasına rağmen hala önemli bir halk sağlığı yüküdür. Tüm dünyada en azından kısmen engellenebilir bir halk sağlığı problemidir [10, 11, 12]. Kanıtlar diyetteki tuz miktarı ve çok tuzlu gıdaların tüketilme alışkanlıklarını da içeren bir dizi diyet faktörü ile gastrik kanser arasında az ya da çok ilişki olduğunu ortaya koymaktadır. Bu bağlamda yüksek tuz tüketiminin gastrik kanser riski üzerindeki advers etkileri birçok vaka kontrol çalışması tarafından ortaya konulmuştur [13]. Ayrıca tuz ve tuzlu gıdaların tüketimi ile mide kanseri riski arasındaki ilişkiyi araştırmak amacıyla birkaç prospektif çalışma da gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmaların güncel bir metaanalizinde diyetle alınan tuzun gastrik kanser riski ile direkt olarak ilişkili olduğu ve habitüel tüketim miktarı arttıkça riskin de progresif olarak arttığı gösterilmiştir [14]. Epidemiyolojik kanıtlar yüksek tuz tüketiminin koruyucu gastrik mukus bariyerinin viskozitesini değiştirdiğini [15] ve gastrik kanseri için risk faktörü olduğu kabul edilen Helicobacter pylori (HP) kolonizasyonunu artırdığını [16] gösteren klinik ve deneysel çalışmalar tarafından desteklenmektedir. Yüksek intragastrik sodyum konsantrasyonlarının mukoza hasarı ve enflamasyonu yaptığı gösterilmiştir. Bu durumun da hücre proliferasyonunu ve endojen mutasyonları artırdığı bildirilmiştir [17, 18].

Esas olarak aşırı tuz tüketimi ile gastrik kanser riski arasındaki ilişkiyle ilgili güncel epidemiyolojik gelişmelere odaklanan bu bölümde, aşırı tuz tüketiminin gastrik kanser gelişimine yol açma ihtimali olan mekanizmaları ile ilgili bilgiler de mevcuttur.

2 Tuz Tüketimi ve Gastrik Kanser: Epidemiyolojik Kanıtlar

Gastrik kanserin insidans oranları coğrafi bölgelere göre farklılıklar göstermektedir. Bu farklılıklar genetik faktörlere ek olarak hayat tarzı ve/veya çevresel faktörlere bağlı olarak ortaya çıkıyor olabilir. Göçmen çalışmaları tuz ve gastrik kanser arasındaki ilişkiye odaklanmaktadır. Japon göçmenlerin analizinde Hawaii'de yaşayan Japonlardaki gastrik kanserin azalma oranlarının Brezilya'ya yerleşen Japonlardan daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Analizin devamında Brezilya'daki Japonlardaki gastrik kanser oranlarının Japonya'da kalanlarla benzer düzeyde olduğu da bulunmuştur [19]. Bu farklılıklar yüksek tuz tüketme alışkanlığının göç edilen ülkelerde sürdürülme düzeyleri ile açıklanabilir.

Daha eski ekolojik araştırmalarda da yüksek tuz tüketiminin gastrik kanser riski üzerindeki olumsuz etkileri gösterilmiştir: 24 ülkede gerçekleştirilen INTERSALT çalışmasında 24 saatlik üriner sodyum atılımı (diyet tuz tüketiminin geçerli bir göstergesi) ile gastrik kansere bağlı mortalite arasında anlamlı bir direkt ilişki gösterilmiştir [20]. Çin'in 65 kırsal eyaletinde yapılan bir analizde de tuz kullanılarak muhafaza edilen sebzelerin tüketimi ile mide kanserine bağlı mortalite arasında pozitif ilişki gösterilmiştir

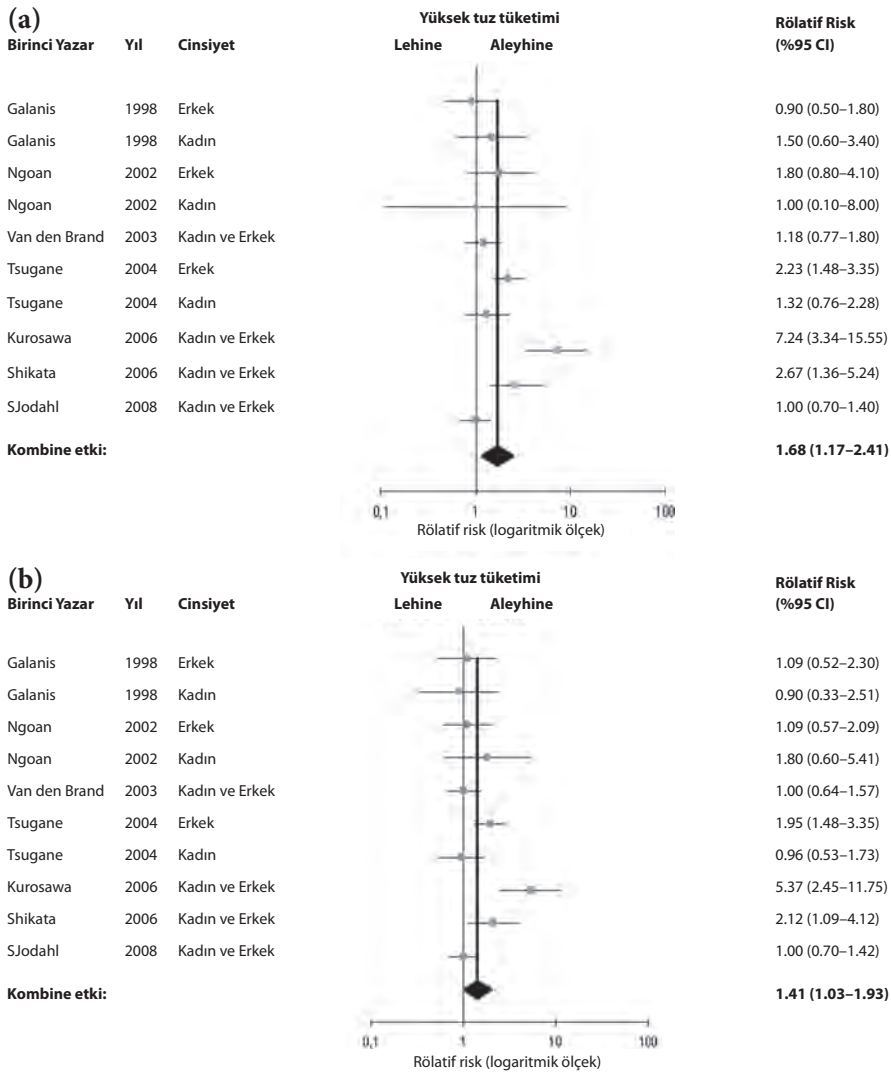
[21]. Benzer sonuçlar araştırmacıların 24 saatlik üriner sodyum atılımı ile gastrik kanser mortalitesi arasındaki pozitif ilişki tespit ettiği Japonya'nın 5 bölgesinde elde edilmiştir [22, 23].

Farklı ülkelerdeki gastrik kanser prevalansı büyük farklılıklar göstermektedir. Ancak çok sayıda vaka kontrol çalışmasında diyetle yüksek miktarda tuz alımının veya tuzlu gıdaların fazla tüketiminin sadece Asya ülkelerinde [24, 25] değil, Amerika [26, 27] ve Avrupa [28, 29, 30] ülkelerindeki gastrik kanser riskini de olumsuz etkilediği gösterilmiştir. En güncel Avrupa vaka kontrol çalışması da yüksek tuz tüketiminin, HP enfeksiyonu, tümörün bölgesi ve histolojik tipinden bağımsız olarak gastrik kanser riskini artıran önemli bir faktör olduğu sonucunu desteklemektedir [31]. Dünya Kanser Araştırma Fonunun 2007 yılında yayınladığı konsensus da tuz tüketimi ile gastrik kanser riski arasındaki ilişkiyi desteklemekte olup o esnada mevcut olan vaka kontrol çalışmalarının metaanaliz sonuçlarını da yayınlamıştır [13]. Bu analizde özellikle tuzlu gıdaların tüketim alışkanlığının gastrik kanser ile doğru orantılı ilişkiye sahip olduğu ve günlük tüketilen her porsiyon ile riskin beş kat arttığı gösterilmiştir.

Sonuç olarak, daha önce de bahsedildiği üzere çok sayıda prospektif çalışmada diyetle tuz alımının gastrik kanser riskini tahmin etmede önemli rol oynadığı bildirilmiştir. Bu çalışmaların çoğu Japonya'da gerçekleştirilmiştir. Ortalama 11 yıl boyunca takip edilen 39.065 kadın ve erkek Japon katılımcıdan oluşan büyük kohort çalışmasında anket soruları ile tespit edilen toplam tuz tüketimi ile gastrik kanser arasındaki ilişki erkeklerde anlamlı olarak yüksek bulunmuştur (RR=2.23). Kadınlarda da pozitif bir ilişki bulunmuş olsa da anlamlılık seviyesine ulaşılamamıştır (RR=1.32) [32]. Ayrıca yine Japonya'da yapılan ve 11 ve 14 yıllık takip sürelerine sahip iki farklı araştırmada da yüksek tuz tüketimi ile gastrik kanser arasında benzer bir ilişki bulunmuştur [33, 34]. Bu sonuçların aksine 12.000 kadın ve erkeğin 15 yıl süreyle takip edildiği Hawai kohortunda ise sadece kadınlarda pozitif bir ilişki tespit edilmiştir [35]. Hollanda'da gerçekleştirilen büyük bir popülasyon çalışmasında da bildirilen tuz tüketimi ile gastrik kanser arasında anlamlı bir ilişki tespit edilememiştir (RR=1.18) [36].

Çok tuzlu gıdaların tüketimine odaklanan prospektif çalışmalarda genel olarak tuz tüketiminin artmasının mide kanseri riskini olumsuz yönde etkilediği gösterilmiştir. 520.000 kadın ve erkeği içeren bir Avrupa kohortunda ise işlenmiş et tüketimi ile gastrik kanser arasında güçlü bir pozitif ilişki tespit edilmiştir. Çalışmada daha yüksek oranda işlenmiş et tüketenlerdeki risk (daha az tüketenlere göre %68 daha fazla bulunmuştur [37]. Yüksek oranda işlenmiş et tüketimi ile görülen benzer bir etki 970.000 Amerikalının ortalama 14 yıl süreyle takip edildiği büyük ölçekli prospektif araştırmada da tespit edilmiştir [38].

Tuzlu balık tüketimi ile de benzer sonuçlar elde edilmiştir. 17.600 Amerikalı erkeği içeren bir çalışmada daha fazla tuzlu balık tüketiminin daha yüksek gastrik kanser mortalitesi ile korele olduğu gösterilmiştir (RR=1.90) [39]. Bir Japon kohortunda yapılan araştırmada erkeklerdeki daha yüksek tuzlu balık tüketiminin gastrik kanser insidansını anlamlı olarak artırdığı bulunmuştur (RR=1.77). Kadınlardaki artış ise anlamlılık düzeyine ulaşamamıştır (RR = 1.17) [32].



Şekil 1 *Diyet Tuz Tüketimi ve Mide Kanseri Riski* **a** "*Yüksek" tuz tüketimi*: "Yüksek" veya "düşük" tuz tüketimi ile ilişkili gastrik kanser riskinin karşılaştırıldığı 7 yayınlanmış prospektif çalışmadaki 10 popülasyon kohortunun meta analiz diyagramı **b** *"Orta-yüksek" tuz tüketimi*: "Orta-yüksek" veya "düşük" tuz tüketimi ile ilişkili gastrik kanser riskinin karşılaştırıldığı 7 yayınlanmış prospektif çalışmadaki 10 popülasyon kohortunun meta analiz diyagramı Total popülasyon n=268.718; olay sayısı n=1474; Sonuçlar rölatif risk (RR) ve %95 güven aralığı (%95 CI) ile gösterilmektedir. ([14] nolu referanstan adapte edilmiştir).

Ancak yazarlar yüksek salamura gıda tüketiminin de hem kadın hem de erkeklerde daha yüksek gastrik kanser ile ilişkili olduğunu da bildirmiştir [32]. Atom bombası sonrası sağ kalan 55.000 Japon'dan oluşan bir kohorttaki 20 yıllık takipte yüksek sa-

lamura gıda tüketiminin gastrik kanser riskini artırma eğilimine sahip olduğu gösterilmiştir. Ancak bu farklılık istatistiksel anlamlılık düzeyine ulaşmamıştır (RR = 1.11) [40].

Ayrıca yine Asya diyetinde sık tüketilen çok tuzlu bir gıda olan miso çorbasının analizinde de artmış tüketimin hem küçük bir Amerikan kohortunda [35] hem de büyük bir Japon popülasyonunda [41] görülen gastrik kanser olaylarında anlamlı olmayan bir yükselişe neden olduğu tespit edilmiştir.

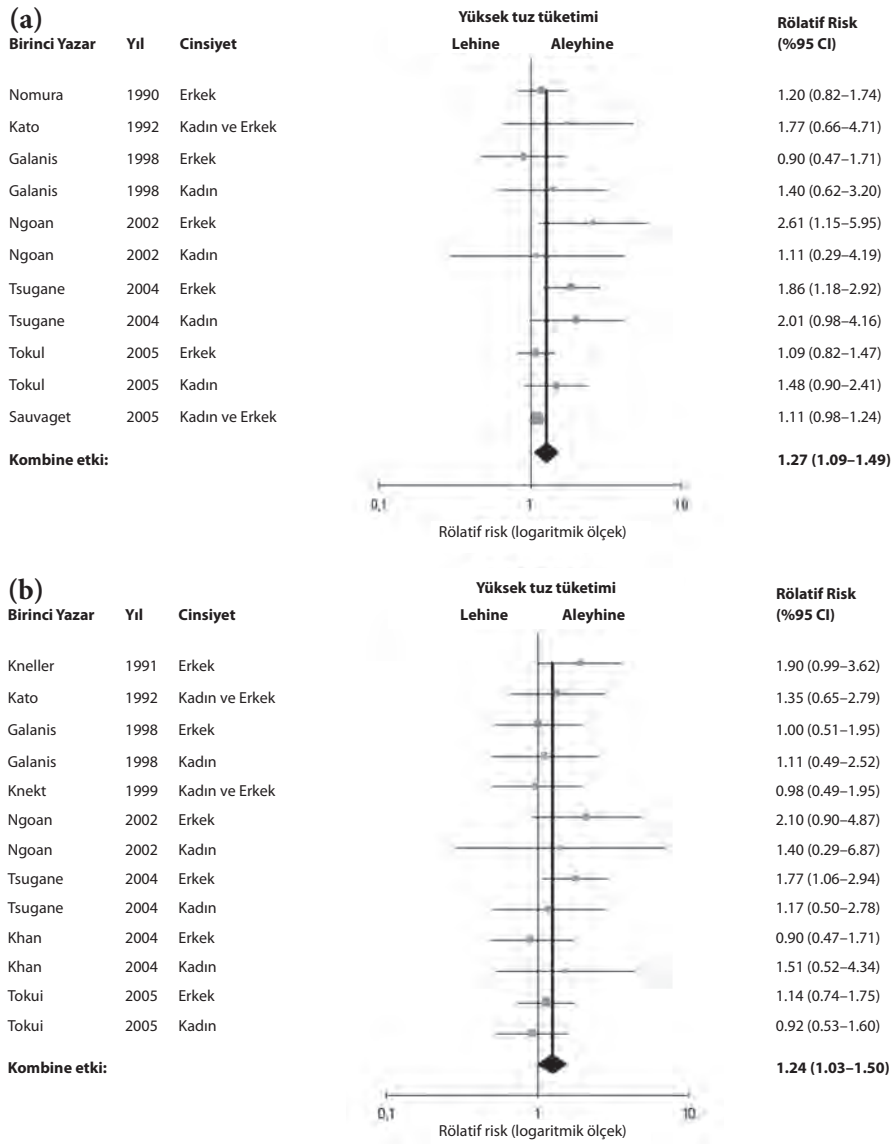
Tüm prospektif çalışmaları içeren güncel bir sistematik analizde de yüksek tuz tüketimi ile gastrik kanser arasında tartışmasız direkt ve anlamlı bir ilişki olduğunu gösterilmiştir [14]. Bu metaanaliz 1998 ile 2008 yılları arasında 270.000 hasta ile yapılan (1474 olay görülen), çalışmaların sonuçlarını kapsamaktadır. 6-15 yıl süre ile takip edilen hastalardan elde edilen verilerin ortak analizinde tuz tüketim alışkanlıkları ile gastrik kanser insidansı arasında kademeli pozitif ilişki olduğu gösterilmiştir. "Yüksek" ve "orta-yüksek" tuz tüketimin "düşük" tuz tüketimine göre sırasıyla %68 ve %41 daha fazla kanser riski ile ilişkili olduğu bulunmuştur (Şekil 1). Bu ilişki kadın ve erkekler arasında anlamlı farklılık göstermediği gibi takibin süresi, yayın yılı ve kayıt esnasındaki yaş gibi faktörlerden de etkilenmemiştir. Özellikle Japon popülasyonlarda gerçekleştirilen çalışmalardaki tuz tüketiminin gastrik kanser için güçlü bir gösterge olduğu tespit edilmiştir. Farklı analizlerde zengin tuz içeren gıdaları tüketme alışkanlığı olanlardaki gastrik kanser riskinin daha yüksek olduğu gösterilmiştir: Özellikle salamura gıdalar, tuzlu balık ve işlenmiş et tüketiminin gastrik kanser riskinde sırasıyla %27, %24 ve %24 artış ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Ancak miso çorbası ile görülen artış anlamlılık düzeyine ulaşamamıştır (RR = 1.05) (Şekil 2).

Son olarak Dias-Neto ve ark. [42] tarafından yapılan analizde de tuzlu gıda tüketimi ve tuzlu gıda tercihi (veya tuzluk kullanımı) ile gastrik intestinal metaplazi arasındaki ilişki incelenmiştir. Kohort, vaka kontrol ve kesitsel analizleri içeren çalışmada yüksek tuz tüketimi ile görülen artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır.

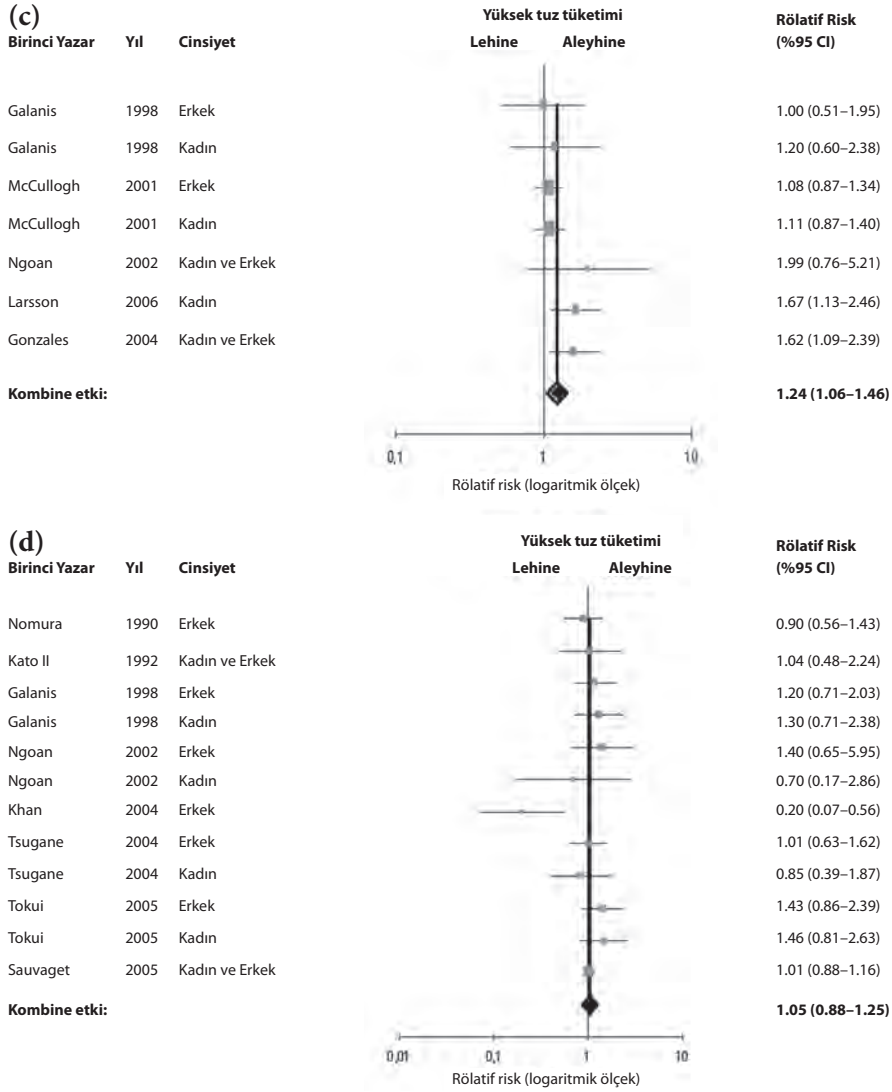
3 Tuz Tüketimi ve Helicobacter Pylori Enfeksiyonu

Helicobakter pylori (HP) enfeksiyonu gastrik kanser gelişiminin ana göstergelerinden birisidir. Yüksek tuz tüketimi HP kolonizasyonunu artırırken [16], inatçı HP enfeksiyonu da mukoza hasarını indüklemiştir [16]. Birkaç çalışmada da aşırı tuz tüketimi, HP enfeksiyonu ve karsinogenez arasında muhtemel bir ilişki olabileceği bildirilmiştir [34, 43, 44].

40-49 yaşları arasındaki 634 Japon erkekle gerçekleştirilen kesitsel çalışmada yüksek oranda tuz içeren gıdaların (özellikle miso çorbası ve salamura sebzeler) tüketim alışkanlıklarının yüksek HP enfeksiyonu prevalansı ile ilişkili olduğu bulunmuştur [45]. 24 saatlik üriner sodyum atılımını ulusal HP oranları ile ilişkilendiren uluslararası INTERSALT projesinde tespit edilen benzer bir ilişki EUROGAST tarafından



Şekil 2 *Yüksek oranda tuz içeren gıdalar ve gastrik kanser riski* **a** *Salamura gıdalar*: "Yüksek" veya "düşük" salamura gıda tüketimi ile ilişkili gastrik kanser riskinin karşılaştırıldığı 7 yayınlanmış prospektif çalışmadaki 11 popülasyon kohortunun meta analiz diyagramı. Total popülasyon, n=242.568; olay sayısı, n=2858 **b** *Tuzlanmış balık*: "Yüksek" veya "düşük" tuzlanmış balık tüketimi ile ilişkili gastrik kanser riskinin karşılaştırıldığı 8 yayınlanmış prospektif çalışmadaki 13 popülasyon kohortunun meta analiz diyagramı. Total popülasyon, n=209.704; olay sayısı, n=1447 **c** İşlenmiş et: "Yüksek" veya "düşük" işlenmiş tüketimi ile ilişkili gastrik kanser riskinin karşılaştırıldığı 5 yayınlanmış prospektif çalışmadaki 7 popülasyon kohortunun meta analiz diyagramı. Total popülasyon, n=1.578.092; olay sayısı, n=2002 Salamura gıdalar: "Yüksek" salamura gıda tüketimi ve "düşük" salamura gıda tüketimi ile ilişkili gastrik kanser riskinin karşılaştırıldığı 7 yayınlanmış prospektif çalışmadaki 11 popülasyon kohortunun meta analiz diyagramı. Total popülasyon, n=242.568; olay sayısı, n=2858 **d** *Miso çorbası*: "Yüksek" veya "düşük" miso çorbası tüketimi ile ilişkili gastrik kanser riskinin karşılaştırıldığı 8 yayınlanmış prospektif çalışmadaki 12 popülasyon kohortunun meta analiz diyagramı. Total popülasyon, n=249.931; olay sayısı, n=3022. Sonuçlar rölatif risk (RR) ve %95 güven aralığı (%95 CI) ile gösterilmektedir. ([14] nolu referanstan adapte edilmiştir).



Şekil 2 (Devamı)

da bildirilmiştir. HP enfeksiyonu oranları ile üriner sodyum atılımı arasında hemen hemen tüm yaş ve cinsiyet kategorilerini kapsayan pozitif bir ilişki tespit edilmiştir [46].

Japon [44] ve Korelilerde [34] gerçekleştirilen iki küçük vaka kontrol çalışmasında gastrik kanser gelişenlerde HP enfeksiyonu ve tuz tüketiminin ilişkisi incelenmiştir. Yazarlar yüksek tuz tüketimi ile HP enfeksiyonunun kombinasyonunun düşük tuz tüketi-

mi ve negatif HP enfeksiyonuna göre daha yüksek gastrik kanser riski taşıdığını tespit etmişlerdir. Ayrıca Japonlardaki yüksek tuz tüketimi ve HP enfeksiyonu varlığının, düşük tuz tüketimi ve HP enfeksiyonu pozitif olanlara göre daha yüksek gastrik kanser riski ile ilişkili olduğu gösterilmiştir [44].

İnsanlardaki tuz tüketimi ile HP enfeksiyonu arasındaki potansiyel ilişkiyi inceleyen Japon prospektif çalışmasında sadece HP enfeksiyonu pozitif olan gruptaki yüksek tuz tüketimi ile gastrik kanser arasında bir ilişki bulunmuştur [34]. Sonuçlarda hem atrofik gastrit hem de HP enfeksiyonu olan bireylerdeki yüksek tuz tüketiminin gastrik karsinogenez üzerinde güçlü bir etki yaptığı da gösterilmiştir.

Diyetle yüksek tuz tüketimi ve HP enfeksiyonunun gastrik karsinogenez üzerindeki sinerjistik etkileri hayvan deneylerinde de tespit edilmiştir. Helicobacter pylori (HP) enfeksiyonu tuzlu diyet uygulanan farelerdeki gastrik mukoza hasarını artırmaktadır [47]. Ayrıca HP enfeksiyonu olan Moğol çöl farelerinde yapılan bir çalışmada yüksek tuz tüketiminin kokarsinojenik etkisi teyit edilmiştir. Yüksek tuz tüketiminin anti HP antikorların titresinde artış, hipergastrinemi ve enflamatuar hücre infiltrasyonu ile de ilişkili olduğu gösterilmiştir [43].

4 Diğer Biyolojik Mekanizmalar ve Deneysel Kanıtlar

Bir dizi deneysel çalışmada aşırı tuz tüketiminin gastrik kanser eğilimi üzerindeki olumsuz etkisinin muhtemel mekanizmaları araştırılmıştır. Daha önce de bahsettiğimiz gibi, aşırı tuz tüketimi ile HP enfeksiyonu arasında güçlü bir etkileşim mevcuttur. Yüksek tuz tüketimi gastrik mukozadaki HP kolonizasyonunu artırır [16], yüzeydeki mukus hücrelerini çoğaltır ve mukus bez hücrelerinden salgılanan müsini azaltır [43]. Sıçanlarda yapılan bir çalışmada yüksek tuz tüketiminin hücre salgısını azalttığı ve mutajeneze duyarlı S faz hücrelerinin sayısını artırdığı gösterilmiştir [17]. Aynı türde tuz uygulanması ile yüzey mukus hücre katmanında doza bağlı hasar ve replikatif DNA sentezinde artış olmaktadır [18]. Ayrıca HP enfeksiyonu olan çöl farelerinde yüksek tuz tüketiminin etkisi ile COX-2 ve İNOS yukarı regüle olurken [48], HP enfeksiyonunun etkileri güçlenerek gastrik kanser progresyonuna neden olmuştur [49]. Yüksek tuz tüketimi CagA ekspresyonunu (HP geni) güçlendirirerek bu genin gastrik epitel hücrelerinin için doğru yer değiştirme kapasitesini artırır. HP enfeksiyonunun epitel hücrelerinin fonksiyonlarını değiştirme kapasiteleri de artar [50].

Ek olarak HP enfeksiyonu varlığında yüksek tuz tüketimi ile indüklenen hipergastrinemi [43] ile kronik hipergastrinemi ve HP enfeksiyonunun sinerjistik etkisi parietal hücre kaybına ve gastrik kanser progresyonuna katkıda bulunabilir [51].

Birçok çalışmada tuz tüketimindeki artışın gıda kaynaklı karsinojenlerin etkilerini desteklediği veya artırdığı gösterilmiştir. Örneğin farklı bölgelerde tümör oluşumuna

yol açabilen [53] potent karsinojen olan N-nitrozo bileşikleri [1, 15, 52] koruyucu mukus bariyerinin [43] viskozitesini etkileyerek gastrik epitel hasarına yol açar.

Sonuç olarak hayvan modellerinde yapılan bazı deneysel araştırmalardaki yüksek tuz tüketiminin kimyasal karsinojenlerle (MNNG ve MNU) sinerjistik etki göstererek gastrik kanser gelişiminde rol oynadığı gösterilmiştir [54, 55].

5 Perspektifler

Dünya çapında en yaygın görülen kanser türlerinden olan gastrik kanser yılda yaklaşık 870.000 yeni vaka [56, 57] ile tüm yeni kanser vakalarının %9.9'unu oluşturmaktadır [58]. Gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde (benzer oranlarda görülen) 628.000'den fazla ölüm vakası (%12.1) ile seyreden mortalite oranları da yüksek seyretmeye devam etmektedir [59]. Mide kanserinin dünya çapındaki insidansı son dekadlar içinde hızla azalmaktadır. Bu azalma Batı ülkeleri, Çin ve diğer Doğu Asya ülkelerinde diğer ülkeler kadar yüksek değildir. İnsidans artışı en yaşlı ve en genç yaş gruplarında gözlenmiştir [60]. Gastrik kanser Çin toplumunda Batı'ya göre daha erken yaşlarda başlamaktadır. Bu da yeni çevresel faktörlerin bir göstergesi olabilir.

Dünyadaki erişkin popülasyonların çoğundaki tuz tüketimi günde 6 gr'dan daha fazladır [1, 61, 62]. Birçok Doğu Avrupa ve Asya ülkesindeki tüketim de günde 12 gr'ın üstündedir [63]. WHO ortalama popülasyon tuz tüketim oranlarının günde 5 gr'ın altında olmasını tavsiye etmektedir [64]. Hem gelişmiş hem de gelişmekte olan ülkelerdeki tuz tüketiminin azaltılması yüksek maliyetli kardiyovasküler hastalık epidemilerinin engellenebilmesi için global öncelik olarak kabul edilmiştir [1, 65, 66, 67, 68, 69]. Bu politikanın kardiyovasküler hastalıklar üzerindeki olumlu etkilerine ek olarak farklı faydalar sunduğu yönünde de çok sayıda kanıt mevcuttur [70].

Referanslar

1. Antunes-Rodrigues J, de Castro M, Elias LL et al (2004) Neuroendocrine control of body fluid metabolism. Physiol Rev 84(1):169–208
2. Cordain L, Eaton SB, Miller JB et al (2002) The paradoxical nature of huntergatherer diets: meat-based, yet non-atherogenic. Eur J Clin Nutr 56 Suppl1:S42–S52
3. Eaton SB, Konner M (1985) Paleolithic nutrition. A consideration of its nature and current implications. N Engl J Med 312:283–289
4. Elliott P, Stamler J, Nichols R et al (1996) Intersalt revisited: further analysis of 24 hour sodium excretion and blood pressure within and across populations. Intersalt Coop Res Group. BMJ 312:1249–1253
5. Kupari M, Koskinen P, Virolainen J (1994) Correlates of left ventricular mass in a population sample aged 36 to 37 years. Focus on lifestyle and salt intake. Circulation 89:1041–1050
6. Strazzullo P, D'Elia L, Kandala NB et al (2009) Salt intake, stroke, and cardiovascular disease: meta-analysis of prospective studies. BMJ. doi:10.1136/bmj.b4567
7. Cianciaruso B, Bellizzi V, Minutolo R et al (1998) Salt intake and renal outcome in patients with progressive renal disease. Miner Electrolyte Metab 24(4):296–301

8. Cappuccio FP, Kalaitzidis R, Duneclift S et al (2000) Unravelling the links between calcium excretion, salt intake, hypertension, kidney stones and bone metabolism. J Nephrol 13:169–177
9. Devine A, Criddle RA, Dick IM et al (1995) A longitudinal study of the effect of sodium and calcium intakes on regional bone density in postmenopausal women. Am J Clin Nutr 62:740–745
10. Stewart BW, Kleihues P (2003) World cancer report. IARC Press, Lyon
11. Kamangar F, Dores GM, Anderson WF (2006) Patterns of cancer incidence, mortality, and prevalence across five continents: defining priorities to reduce cancer disparities in different geographic regions of the world. J Clin Oncol 24:2137–2150
12. Parkin DM (2006) The global health burden of infection associated cancers in the year 2002. Int J Cancer 118:3030–3044
13. World Cancer Research Fund/American Institute for Cancer Research (2007) Food, nutrition, physical activity, and the prevention of cancer: a global perspective. AICR, Washington DC
14. D'Elia L, Rossi G, Ippolito R et al (2012) Habitual salt intake and risk of gastric cancer: a meta-analysis of prospective studies. Clin Nutr. doi:10.1016/j.clnu.2012.01.003
15. Tatematsu M, Takahashi M, Fukushima S et al (1975) Effects in rats of sodium chloride on experimental gastric cancers induced by N-methyl-N-nitro-N-nitrosoguanidine or 4-nitroquinoline-1-oxide. J Natl Cancer Inst 55:101–106
16. Fox JG, Dangler CA, Taylor NS et al (1999) High-salt diet induces gastric epithelial hyperplasia and parietal cell loss, and enhances Helicobacter pylori colonization in C57BL/6 mice. Cancer Res 59:4823–4828
17. Charnley G, Tannenbaum SR (1985) Flow cytometric analysis of the effect of sodium chloride on gastric cancer risk in the rat. Cancer Res 45:5608–5616
18. Furihata C, Ohta H, Katsuyama T (1996) Cause and effect between concentration-dependent tissue damage and temporary cell proliferation in rat stomach mucosa by NaCl, a stomach tumor promoter. Carcinogenesis 17:401–406
19. Tsugane S, de Souza JM, Costa ML Jr et al (1990) Cancer incidence rates among Japanese immigrants in the city of Sao Paulo, Brazil, 1969–78. Cancer Causes Control 1:189–193
20. Joossens JV, Hill MJ, Elliott P et al (1996) Dietary salt, nitrate and stomach cancer mortality in 24 countries. European cancer prevention (ECP) and the INTERSALT cooperative research group. Int J Epidemiol 25:494–504
21. Kneller RW, Guo WD, Hsing AW et al (1992) Risk factors for stomach cancer in sixty-five Chinese counties. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 1:113–118
22. Tsugane S, Gey F, Ichinowatari Y et al (1992) Cross-sectional epidemiologic study for assessing cancer risks at the population level. I. Study design and participation rate. J Epidemiol 2:75–81
23. Tsugane S, Gey F, Ichinowatari Y et al (1992) Cross-sectional epidemiologic study for assessing cancer risks at the population level. II. Baseline data and correlation analysis. J Epidemiol 2:83–89
24. Ji BT, Chow WH, Yang G et al (1998) Dietary habits and stomach cancer in Shanghai, China. Int J Cancer 76:659–664
25. Lee JK, Park BJ, Yoo KY et al (1995) Dietary factors and stomach cancer: a case-control study in Korea. Int J Epidemiol 24:33–41
26. Graham S, Haughey B, Marshall J et al (1990) Diet in the epidemiology of gastric cancer. Nutr Cancer 13:19–34
27. López-Carrillo L, López-Cervantes M, Ward MH et al (1999) Nutrient intake and gastric cancer in Mexico. Int J Cancer 83:601–605
28. Coggon D, Barker DJ, Cole RB et al (1989) Stomach cancer and food storage. J Natl Cancer Inst 81:1178–1182
29. La Vecchia C, Negri E, Franceschi S et al (1997) Case-control study on influence of methionine, nitrite, and salt on gastric carcinogenesis in northern Italy. Nutr Cancer 27:65–68

30. Ramón JM, Serra-Majem L, Cerdó C et al (1993) Nutrient intake and gastric cancer risk: a case-control study in Spain. Int J Epidemiol 22:983–988
31. Peleteiro B, Lopes C, Figueiredo C et al (2011) Salt intake and gastric cancer risk according to Helicobacter pylori infection, smoking, tumour site and histological type. Brit J Cancer. doi:10.1038/sj.bjc.6605993
32. Tsugane S, Sasazuki S, Kobayashi M et al (2004) Salt and salted food intake and subsequent risk of gastric cancer among middle-aged Japanese men and women. Br J Cancer 90:128–134
33. Kurosawa M, Kikuchi S, Xu J et al (2006) Highly salted food and mountain herbs elevate the risk for stomach cancer death in a rural area of Japan. J Gastroenterol Hepatol 21:1681–1686
34. Shikata K, Kiyohara Y, Kubo M et al (2006) A prospective study of dietary salt intake and gastric cancer incidence in a defined Japanese population: the Hisayama study. Int J Cancer 119:196–201
35. Galanis DJ, Kolonel LN, Lee J et al (1998) Intakes of selected foods and beverages and the incidence of gastric cancer among the Japanese residents of Hawaii: a prospective study. Int J Epidemiol 27:173–180
36. Van den Brandt PA, Botterweck AA, Goldbohm RA (2003) Salt intake, cured meat consumption, refrigerator use and stomach cancer incidence: a prospective cohort study (Netherlands). Cancer Causes Control 14:427–438
37. González CA, Jakszyn P, Pera G et al (2006) Meat intake and risk of stomach and esophageal adenocarcinoma within the European prospective investigation into cancer and nutrition (EPIC). J Natl Cancer Inst 98(5):345–354
38. McCullough ML, Robertson AS, Jacobs EJ et al (2001) A prospective study of diet and stomach cancer mortality in United States men and women. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 10(11):1201–1205
39. Kneller RW, McLaughlin JK, Bjelke E et al (1991) A cohort study of stomach cancer in a high-risk American population. Cancer 68(3):672–678
40. Sauvaget C, Lagarde F, Nagano J et al (2005) Lifestyle factors, radiation and gastric cancer in atomic-bomb survivors (Japan). Cancer Causes Control 16(7):773–780
41. Tokui N, Yoshimura T, Fujino Y et al (2005) Dietary habits and stomach cancer risk in the JACC study. J Epidemiol 15(Suppl. 2):S98–108
42. Dias-Neto M, Pintalhao M, Ferreira M et al (2010) Salt intake and risk of gastric intestinal metaplasia: systematic review and meta-analysis. Nutr Cancer 62:133–147
43. Kato S, Tsukamoto T, Mizoshita T et al (2006) High salt diets dose-dependently promote gastric chemical carcinogenesis in Helicobacter pylori-infected Mongolian gerbils associated with a shift in mucin production from glandular to surface mucous cells. Int J Cancer 119:1558–1566
44. Machida-Montani A, Sasazuki S, Inoue M et al (2004) Association of Helicobacter pylori infection and environmental factors in non-cardia gastric cancer in Japan. Gastric Cancer 7:46–53
45. Tsugane S, Tei Y, Takahashi T et al (1994) Salty food intake and risk of Helicobacter pylori infection. Jpn J Cancer Res 85:474–478
46. Beevers DG, Lip GY, Blann AD (2004) Salt intake and Helicobacter pylori infection. J Hypertens 22:1475–1477
47. Shimizu N, Kaminishi M, Tatematsu M et al (1998) Helicobacter pylori promotes development of pepsinogen-altered pyloric glands, a preneoplastic lesion of glandular stomach of BALB/c mice pretreated with N-methyl-N-nitrosourea. Cancer Lett 123:63–69
48. Toyoda T, Tsukamoto T, Hirano N et al (2008) Synergistic upregulation of inducible nitric oxide synthase and cyclooxygenase-2 in gastric mucosa of Mongolian gerbils by a high-salt diet and Helicobacter pylori infection. Histol Histopathol 23:593–599
49. Nozaki K, Shimizu N, Inada K et al (2002) Synergistic promoting effects of Helicobacter pylori infection and high-salt diet on gastric carcinogenesis in Mongolian gerbils. Jpn J Cancer Res 93:1083–1089

50 Loh JT, Torres VJ, Cover TL (2007) Regulation of Helicobacter pylori cagA expression in response to salt. Cancer Res 67:4709–4715
51. Wang TC, Dangler CA, Chen D et al (2000) Synergistic interaction between hypergastrinemia and Helicobacter infection in a mouse model of gastric cancer. Gastroenterology 118:36–47
52. Takahashi M, Nishikawa A, Furukawa F et al (1994) Dose-dependent promoting effects of sodium chloride (NaCl) on rat glandular stomach carcinogenesis initiated with N -methyl-N'-nitro- N -nitrosoguanidine. Carcinogenesis 15:1429–1432
53. Tricker AR, Preussmann R (1991) Carcinogenic N-nitrosamines in the diet: occurrence, formation, mechanisms and carcinogenic potential. Mutat Res 259:277–289
54. Takahashi M, Hasegawa R (1985) Enhancing effects of dietary salt on both initiation and promotion stages of rat gastric carcinogenesis. Princess Takamatsu Symp 16:169–182
55. Leung WK, Wu KC, Wong CY et al (2008) Transgenic cyclooxygenase-2 expression and high salt enhanced susceptibility to chemical-induced gastric cancer development in mice. Carcinogenesis 29:1648–1654
56. Ferlay J, Bray F, Parkin DM, Pisani P (eds) (2001) Gobocan 2000: cancer incidence and mortality worldwide (IARC cancer bases no. 5). IARC Press, Lyon
57. Lau M, Le A, El-Serag HB (2006) Noncardia gastric adenocarcinoma remains an important and deadly cancer in the United States: secular trends in incidence and survival. Am J Gastroenterol 101:2485–2492
58. Parkin DM (1998) Epidemiology of cancer: global patterns and trends. Toxicol Lett 102–103:227–234
59. Parkin DM, Pisani P, Ferlay J (1999) Global cancer statistics. CA Cancer J Clin 49:33–64
60. Jemal A, Siegel R, Ward E et al (2006) Cancer statistics. CA Cancer J Clin 56(2):106–130
61. Donfrancesco C, Ippolito R, Lo Noce C et al (2012) Excess dietary sodium and inadequate potassium intake in Italy: results of the MINISAL study. Nutr Metab Cardiovasc Dis. doi: 10.1016/j.numecd.2012.04.004
62. MRC, Human Nutrition Research, National Centre for Social Research (2008) An assessment of dietary sodium levels among adults (aged 19–64) in the UK general population in 2008, based on analysis of dietary sodium in 24 hour urine samples. 2008/0730 http://www.food.gov.uk/news/pressreleases/2008/jul/sodiumrep08. Accessed 22 July 2008
63. Brown IJ, Tzoulaki I, Candeias V et al (2009) Salt intakes around the world: implications for public health. Int J Epidemiol 38:791–813
64. World Health Organization (2003) Diet, nutrition and the prevention of chronic diseases: report of a joint WHO/FAO expert consultation
65. Campbell N, Correa-Rotter R, Neal B et al (2011) New evidence relating to the health impact of reducing salt intake. Nutr Metab Cardiovasc Dis 21(9):617–619
66. Cappuccio FP, Capewell S, Lincoln P et al (2011) Policy options to reduce population salt intake. BMJ 343:d4995
67. Geneau R, Stuckler D, Stachenko S et al (2010) Raising the priority of preventing chronic diseases: a political process. Lancet 376(9753):1689–1698
68. Strazzullo P, Cairella G, Campanozzi A et al (2012) Population based strategy for dietary salt intake reduction: Italian initiatives in the European framework. Nutr Metab Cardiovasc Dis 22(3):161–166
69. World Health Organization (2007) Reducing salt intake in populations. Report of a WHO Forum and Technical Meeting, Geneva
70. Capewell S, O'Flaherty M (2011) Rapid mortality falls after risk-factor changes in populations. Lancet. doi:10.1016/S0140-6736(10)62302-1

Alkollü İçkiler ve Gazlı İçecekler: Tüketim ve Gastrointestinal Kanser Riski

Rosario Cuomo, Paolo Andreozzi ve Francesco Paolo Zito

Özet

Alkollü içkiler (Aİ) ve gazlı içecekler (Gİ) Dünya çapında yaygın olarak tüketilmektedir. Bu içeceklerin yüksek tüketimi bilim camiasının dikkatini sağlık üzerindeki etkilerine çekmiştir. Alkollü içkilerin tüketimi ile sindirim sistemi kanserleri arasındaki nedensel ilişki ile ilgili epidemiyolojik veriler mevcuttur. Ancak alkolün kanserdeki rolü tam olarak belirlenmemiştir. Deneysel çalışmalarda karsinogenezde rol alan çeşitli mekanizmalar belirlenmiştir; etanol karsinojenik olmamasına rağmen her ikisi de etanol metabolizmasının ürünü olan asetaldehit (AA) ve reaktif oksijen türleri karsinogenezi indükleyen genotoksik etkiye sahiptir. Diğer karsinogenetik mekanizmalar arasında nutrisyonel defisitler, DNA metilasyonunda değişimler ve bozulmuş immun gözetim mevcuttur. Alkollü içkilerin sıklıkla belirli gastrointestinal bozuklara yol açtığından şüphelenildiği için bazı araştırıcılar gastrointestinal kanserlerde rol oynadıkları hipotezini ortaya atmıştır. Karbondioksit gastrointestinal fizyolojiyi direkt mukozal etki ile değiştirmesi ve gaz olmasının yarattığı mekanik basınç ile oluşan indirekt etkisi ile diğer tüm bileşenler arasında ön plana çıkmaktadır. Şeker ve yapay tatlandırıcıların da karsinojenik proseste rol oynayabileceği yönünde tartışmalar mevcuttur. Ancak yapılan çeşitli araştırmalarda gazlı içecekler ile özofagus, gastrik ve kolon kanserleri arasında herhangi bir ilişki gösterilememiştir. Diğer yandan gazlı içeceklerin tüketimi ile pankreas kanseri arasında hafif bir korelasyon bulunmuştur.

R. Cuomo (✉) · P. Andreozzi · F. P. Zito
Department of Clinical & Experimental Medicine, Hospital School of Medicine, Federico II University, Via S. Pansini 5, Building no. 6, 80131, Naples, Italy
e-mail: rcuomo@unina.it

P. Andreozzi
e-mail: paoloandre.85@gmail.com

V. Zappia et al. (eds.), *Advances in Nutrition and Cancer,*
Cancer Treatment and Research 159, DOI: 10.1007/978-3-642-38007-5_7,
© Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2014

Anahtar Kelimeler

Etanol • Gazlı içecekler • Gastrointestinal kanser

Kısaltmalar

AA	Asetaldehit
Aİ	Alkollü İçkiler
ADH	Alkol dehidrogenaz
ALDH	Aldehit dehidrogenaz
CI	Güven aralığı
Gİ	Gazlı içecekler
CYP2E1	Sitokrom P450 2E1
EGJAC	Özofagogastrik bileşimin adenokarsinomu
GCA	Gastrik kardiya adenokarsinomu
Gİ	Gastrointestinal
HCC	Hepatoselüler karsinom
MNNG	N-metil-N0-nitro-N-nitrozoguanidin
NCGA	Kardiya dışı gastrik adenokarsinom
NIH-AARP	Ulusal Sağlık Enstitüleri-Amerikan Emekliler Birliği
RR	Rölatif risk
SAMe	S-adenozil metionin

İçindekiler

1 Giriş 99
2 Alkollü İçkiler ve Gastrointestinal Kanser 100
2.1 İnsan Çalışmaları 101
2.2 Alkol Hasarı: Hayvan Deneyleri 103
2.3 Alkollü İçkiler ve Gastrointestinal Kanserler: Muhtemel Mekanizmalar 104
3 Gazlı içecekler ve Gastrointestinal Kanser 106
3.1 Gazlı içecekler ve Gastrointestinal Kanser: İnsan Çalışmaları 108
3.2 Gazlı içecekler ve Gastrointestinal Kanser: Hayvan Deneyleri 113
3.3 Muhtemel Mekanizmalar 113
4 Sonuçlar Referanslar 115
Referanslar 116

1 Giriş

Alkollü içkiler (Aİ) ve gazlı içecekler (Gİ) Dünya çapında yaygın olarak tüketilmektedir. Dünya Sağlık Örgütü'nün son raporunda 2005 yılındaki yetişkin başına yıllık alkol tüketimi 6.13 litredir. Bu rakam batı uygarlıklarında ve ekonomisi büyüyen ülkelerde daha yüksektir. Etanol tüketimi 1990 yılında beri sabit kalmış olsa da gençler arasında tüketim artışı görülmektedir [26]. Gazlı içecekler son birkaç dekadda hızla yaygınlaşarak Aİ tüketimini geçmiştir. Gazlı içecekler günümüzdeki en popüler meşrubat tipidir. Birçok insanın bunları günlük olarak tüketmeleri enerji alımının majör komponentlerinden birisi haline gelmelerini sağlamıştır [67]. 2006 yılındaki kişi başına yıllık Gİ tüketimi 30.2 litredir. Tüketimleri gelişmekte olan ülkelerde artarken Kuzey Amerika ve Avrupa'da sabit seyretmekte veya azalmaktadır [74]. Alkollü içkiler ve gazlı içeceklerin insan sağlığı üzerindeki etkilerini araştıran çeşitli çalışmalarda ortaya farklı sonuçlar çıkmıştır. Alkol nedeniyle oluşan sağlık yükü çok yüksektir: Önemli kronik hastalıklara yol açmakta ve dünyadaki ölüm nedenleri arasında üçüncü sırada yer almaktadır (global ölümlerin %3-8'i). Alkollü İçecekler nöropsikiyatrik, kardiyovasküler, gastrointestinal ve karaciğer hastalığı ile ilişkilidir. Aynı zamanda intihar, şiddet ve yaralanmalara da yol açarlar [58]. Ayrıca başta gastrointestinal kanal kanserleri olmak üzere çeşitli kanser tiplerinin etanol tüketimi ile ilişkisi alkol tüketimi ile ilişkili global ve spesifik kanser riskini araştıran çok sayıda insan çalışması ile konfirme edilmiştir.

Gazlı içeceklerin kompleks içerikleri nedeniyle insan sağlığı üzerindeki etkilerini tespit etmek çok zordur. Şeker veya yapay tatlandırıcılar içeren hem düşük hem yüksek kalorili gazlı içecekler mevcuttur. Gazlı içeceklerde farklı yapay tatlandırıcılar kullanılmaktadır: aspartam, sakarin, sukraloz, sorbitol, mannitol ve diğer birçok çeşit. Uluslararası bilim camiası bu içeceklerin metabolik etkileri ile ilgili olarak alarm halindedir. Ana endişe yüksek kalorili gazlı içeceklerin çocuk ve adolesanlar tarafından tüketilmesidir. Çünkü çeşitli çalışmalarda gazlı içeceklerin sıklıkla daha besleyici olan süt ve meyve suyunun yerini aldığını göstermektedir [39]. Gazlı içecekler ile obezite ve metabolik sendrom arasındaki ilişki olduğu hipotezi mevcuttur. Ayrıca dental, pulmoner ve kardiyovasküler hastalıklar da bu içeceklerin tüketimi ile ilişkilidir. Gazlı içeceklerin bazı bileşenlerinin direkt ve indirekt etkisi olduğu varsayılmış olsa da tüketimleri ile çeşitli kanser türleri arasındaki ilişki hala net değildir. Bu makalede etanol ve Gİ tüketiminin neoplastik hastalıklarla ilişkilerini incelerken esas olarak gastrointestinal kanserlere odaklanacağız. Bu ilişkinin doğru bir şekilde değerlendirilebilmesi için Aİ ve gazlı içecekleri ayrı ayrı değerlendireceğiz. Amacımız bu içeceklerin tüketimiyle ilişkili kanser riski ile ilgili epidemiyolojik verilere ve olası karsinojenik mekanizmalara odaklanmaktır. Gazlı içecekler çok sayıda bileşen içerdikleri için başlıca karbondioksit, şeker, tatlandırıcı ve katkı maddelerinin insan sağlığı üzerindeki etkilerini değerlendireceğiz.

2 Alkollü İçkiler ve Gastrointestinal Kanser

Alkol ve kanser ilişkisine ilginin giderek artması bu içeceklerin tüm dünyada yaygın olarak kullanılmasından kaynaklanmaktadır. Alkollü İçeceklerin çeşitli kanserler için risk faktörü olduğunu gösteren çok miktarda kanıt mevcuttur. Orta derecede tüketilse bile, alkolün sindirim sistemi, oral kavite, larenks ve meme kanseri ile ilişkisi vardır [10]. Bu korelasyon etanolün (veya metabolitlerinin) insanda karsinogenezise katkı yapan bir faktör olduğunu gösteren çok sayıda epidemiyolojik ve hayvan çalışmasıyla desteklenmektedir.

Güncel bir makalede tüm kanser vakalarının %3.6'sının alkol ile ilişkili olduğu tespit edilmiştir. Bu oran dünyanın farklı coğrafi bölgelerindeki tüketim farklılıkları nedeniyle büyük değişkenlikler göstermektedir [10]. Bu veriler alkol tüketimi ile ilişkili büyük sağlık yükünü konfirme etmektedir. Alkolün karsinojenik etkileri ilgili artan kanıtlar Uluslararası Kanser Araştırma Ajansının alkollü içkilerde bulunan etanol ve asetaldehiti (AA) insanlar için kesinlikle karsinojen olarak sınıflamasına neden olmuştur [79]. Ancak alkol karsinogenezinin mekanizması henüz kesin olarak belirlenememiştir. Bu süreçte rol oynayan mekanizmalar muhtemelen çeşitli hedef organlara göre farklılıklar göstermektedir [10].

Tablo 1 Alkollü içki tüketimi ile ilişkili rölatif gastrointestinal kanser riski

Organ	Alkol tüketimi	RR	CI	Sinerji
Özofagus				
Skuamoz hücreli karsinom	210-420 gr/hafta	1.93	1.08–3.45	Sigara
Pandeya ve ark.[71]	>420 gr/hafta	4.67	2.28–9.55	
Adenokarsinom	210-420 gr/hafta	0.67	0.37–1.21	
Pandeya ve ark.[71]	>420gr/hafta	0.89	0.42–1.89	
Mide	>25gr/gün	1.07	1.04–1.10	Sigara
Bagnardi ve ark.[3]	>100gr/gün	1.32	1.18–1.49	
	1-4 kez/14 gün	1.30	0.78–2.16	
Sjodahl ve ark.[81]	>4 kez/14 gün	1.49	0.78–2.83	
Kolon ve rektum	30-45 gr/gün	1.16	0.99–1.36	Folat eksikliği
Cho ve ark.[14]	>45gr/gün	1.41	1.16–1.72	
Karaciğer	>0 gr/gün	2.4	1.3–4.4	Viral hepatit
Hassan ve ark.[40]	>80 g/gün	4.5	1.4–14.8	
Pankreas	>60 g/gün	1.38	0.86–2.23	Sigara-alkol-kadın cinsiyet
Michaud ve ark.[62]				

2.1 İnsan Çalışmaları

Çeşitli epidemiyolojik çalışmalarda kanser ve alkol tüketimi arasındaki korelasyon incelenmiştir. Kanada'da yapılan popülasyon tabanlı, vaka kontrol çalışmasında alkol tüketenlerdeki çeşitli kanser türlerinin (özofagus, mide, kolon, karaciğer, pankreas, akciğer, prostat) rölatif riskinin (RR) alkol kullanmayanlara veya ara sıra kullananlara göre daha yüksek olduğu gösterilmiştir [7].

Ancak mevcut veriler, özellikle bazı kanser türleri için (mide, pankreas ve kolon) çelişkilidir. Bu farklılıklar kısmen güvenli alkol kullanımı ile ilgili kabul edilen bir eşik değer olmamasından kaynaklanmaktadır [97]. Bu eşik değerin yokluğu bireylerin kanser riskine maruz kalıp kalmadığını anlamamıza engel olmaktadır. Bir başka neden de bir bireyin alkol tüketiminin tahmin edilmesindeki güçlüktür. Diğer taraftan birçok çalışmada kanser gelişiminde etkili olma ihtimali olan çeşitli tiplerdeki içecekler (şarap, sert içkiler, bira vs.) ve sigara gibi diğer risk faktörleri göz önüne alınmamaktadır. Ayrıca çalışmalara kaydedilen denek sayılarının farklı olması alkol kullanımına bağlı kanser riski ile ilgili çelişkili sonuçların bir başka nedeni olabilir.

Bu makalede sadece alkollü içecekler ile gastrointestinal kanal kanserleri arasındaki ilişkiyi araştıran epidemiyolojik çalışmalara odaklanacağız (bkz. Tablo 1).

2.1.1 Özofagus Kanseri

Çeşitli epidemiyolojik çalışmalarda kronik alkol tüketimi ile skuamoz hücreli özofagus karsinomu (ESCC) arasında nedensel bir ilişki gösterilmiştir; tüketim dozuna bağlı olan bu ilişki sigara kullanımı ile de sinerjistik etkiye sahiptir. Büyük bir vaka kontrol çalışmasında özofagus kanseri ile alkol kullanımı arasındaki ilişki değerlendirilmiştir; veriler ESCC'nin rölatif riskinin 210-419.9 gr/hafta alkol tüketenlerde 1.93 (CI 1.08-3.45), 420 gr/hafta'dan daha fazla tüketenlerde de 4.67 (CI 2.28-9.55) seviyesine yükseldiğini göstermiştir. 420 gr/hafta'dan daha fazla alkol tüketen ve sigara kullananlardaki rölatif risk 21.87 (CI 3.90-122.49) bulunmuştur [71]. Çeşitli çalışmalar da bulunan bu ilişkiyi konfirme etmektedir: Boffetta ve ark. [9] günde 12 gr (RR=1.37) alkol tüketenlerde tespit ettikleri risk artışının günde 72 gr alkol tüketenlerde (RR=5.8) daha da arttığını tespit etmişlerdir.

Eski çalışmalarda da özofagus adenokarsinomu riskinin alkol tüketimi ile anlamlı olarak arttığı ortaya koyulmuştur [98]. Ancak popülasyon tabanlı çalışmalara alkol tüketimi ile Barrett özofagusu ve özofagus adenokarsinomu arasında bir ilişki gösterilememiştir [2, 47, 71].

2.1.2 Mide Kanseri

Alkol tüketiminin mide kanserini etkilediği yönünde tutarlı veriler mevcut değildir. Epidemiyolojik çalışmaların verileri alkolün mide kanseri gelişimindeki zararlı etkilerini kesin olarak desteklememektedir.

Vaka kontrol ve kohort çalışmalarının bir metaanalizinde 25 gr/gün ve 100 gr/gün alkol tüketimi ile rölatif riskin hafifçe arttığı bulunmuştur. 25 gr/gün tüketim için RR=1.07

(CI 1.04-1.10); 100 gr/gün tüketim için RR=1.32 (CI 1.18-1.49) [3]. Devamında yapılan büyük ölçekli kohort çalışmasında bira, şarap ve sert içki tüketimi ile gastrik kanser arasında bir ilişki gösterilememişken, orta-sert/sert bira tüketiminin rölatif riski 2.09 (CI 1.11-3.93) bulunmuştur [50]. Çalışmanın yazarları alkolden ziyade biranın içindeki bileşenlerin mide kanseri riskinde artış ile ilişkili olabileceğini bildirmişlerdir.

Ek olarak Norveç'te yapılan güncel bir kohort çalışmasında tek başına alkol tüketiminin kanser risk ile anlamlı ilişkisi olmadığı, ancak yüksek sigara (>20 adet/gün) ve alkol (>5 kez/ 14 gün) kullanımı ile görülen gastrik kanser riskinin sigara içmeyen veya alkol kullanmayan bireylere göre yükseldiği bildirilmiştir (RR = 4.38 CI 1.72–11.17) [81].

2.1.3 Kolorektal Kanser

Alkolün kolon ve rektum üzerindeki karsinojenik etkileri tartışmalıdır. Kronik alkoliklerde bozulan metabolizma ve diyetle yetersiz alım sonucu oluşan düşük folat seviyeleri kolorektal kanserde artışa yol açabilmektedir. Breslow ve Enstrom 1974 yılında bira tüketimi ile rektal kanser ilişkisini ilk kez araştıran bilim adamlarıdır [13]. Devamında gerçekleştirilen bazı çalışmalar ve metaanalizler alkol tüketiminin kolorektal kanser riskini hafifçe artırdığı hipotezini desteklemiştir [17, 27]. Kohort çalışmalarının güncel bir toplu analizi de alkol ve kolorektal kanser arasındaki ilişkiyi desteklemektedir. 30-45 gr/gün ve 45 gr/gün'den daha yüksek etanol tüketenlerdeki rölatif riskler içki içmeyenler ile kıyaslandığında sırasıyla 1.16 (CI 0.99-1.36) ve 1.41 (CI 1.16-1.72) şeklindedir. Farkı alkollü içeceklerin kolon ve rektum kanseri riskini etkileme dereceleri arasında bir fark gözlenmemiştir [14].

2.1.4 Hepatoselüler Karsinom

Alkol ve karaciğer kanseri arasındaki ilişki özellikle hepatoselüler kanser (HCC) bazında iyi bilinmektedir [72]. Alkol tüketiminin ABD ve Kuzey Avrupa gibi hepatit A ve B virüs enfeksiyonlarının prevalanslarının düşük olduğu popülasyonlarda HCC gelişimi için en önemli risk faktörü olduğu kabul edilmektedir. Alkole bağlı HCC gelişiminde rol oynayan ana karsinojenik mekanizmanın karaciğer sirozu gelişimine bağlı olması muhtemeldir. Ancak reaktif oksijen türleri veya AA ve karsinojenlerin hepatik metabolizmalarının artışı ile indüklenen DNA hasarının da bir rolü olabilir. Ayrıca tütün ve hepatit B veya C virüsü gibi eşlik eden diğer faktörler de HCC riskini artırabilir. Global alkol tüketimi için rölatif risk 2.4 (CI 1.3-4.4) seviyesinde iken, bu oran aşırı alkol tüketenlerde (>80 gr/gün) 4.5 (CI 1.4-14.8) bulunmuştur. Kronik viral hepatit ve ağır alkol tüketimi birlikteliğindeki rölatif risk ise 53.9 (CI 7.0-415.7) bulunmuştur [40].

2.1.5 Pankreas Kanseri

Alkol tüketimine bağlı olarak gelişen kronik pankreatit, alkollü içkilerin pankreatik karsinogenezde de rol oynayabileceği düşüncesini doğurmuştur. Bazı çalışmalarda alkol

tüketiminin pankreatik adenokarsinom için muhtemel bir risk faktörü olduğu belirlenmiştir. Ancak bu ilişkinin geçerliliği hala tartışılmaktadır.

14 kohort çalışmasını değerlendiren güncel bir metaanalizde >30 gr/gün alkol tüketen kadınlardaki pankreas kanseri riskinin alkol kullanmayanlara göre arttığı (RR 1.41, CI 1.07–1.85) bulunurken erkeklerde bir ilişki tespit edilememiştir ve çeşitli alkollü içkilerin kanser riski üzerinde farklı etkileri bulunmamıştır. Bu veriler maruz kalınan yıl sayısı, yaş, sigara, vücut kütle indeksi ve diyabete göre düzeltilmiştir [32]. İkinci bir metaanalizde de karıştırıcı faktörlere göre düzeltilen veriler alkol tüketimi ile kanser arasında anlamlı bir ilişki göstermemiştir (RR 1.38, CI 0.86–2.23). Ancak ciddi içki tüketen erkeklerdeki risk artmıştır (>45 gr/gün) (RR 2.23, CI 1.02–4.87) [62].

Pankreas kanseri ile alkol tüketimi arasındaki muhtemel ilişkinin netleştirilebilmesi için yeni çalışmalara ihtiyaç vardır.

2.2 Alkol Hasarı: Hayvan Deneyleri

Deneysel hayvan çalışmalarında alkol karsinogenezinde rol oynayan bazı mekanizmaların rolü gösterilebilmiştir. Alkolün hayvanlardaki karsinojenik etkisi kullanılan deney yöntemine bağlıdır. Alkolün lokal uygulanması ile oluşan tümör irritan etkiye bağlıdır. Ancak sistemik uygulamada kimyasal yolla indüklenen karsinogenezi stimüle edici etki göstermektedir [72]. Alkolün tek başına bir karsinojen olmadığı ile ilgili kanıtlar uzun süredir mevcuttur: Alkol farelere transplante edilen tümörlerdeki DNA mutasyonlarını, tümör büyümesini veya metastatik yayılımı stimüle edemez [46]. Alkol tek başına kanser gelişimine yol açamıyor da olsa direkt karsinojenlerin etkilerini artırdığı için kokarsinojen olarak değerlendirilir. Ayrıca deneysel çalışma verileri alkolün karsinojenik etkilerinin kendisinden değil, yol açtığı AA üretiminden kaynaklandığı görüşünü desteklemektedir [80].

Sıçanlara AA uygulanması ile üst gastrointestinal kanal epitelinde hiperplastik ve hiperproliferatif değişimlerin indüklenebildiği gösterilmiştir [42]. Çeşitli bakterilerin alkolü AA'ya metabolize edebilmesini değerlendiren bazı araştırmacılar alkolle ilişkili üst gastrointestinal sistem kanserlerinde oral bakterilerin olası rolü ile ilgili bir hipotez geliştirmişlerdir [80].

Alkolün gastrik kanserdeki rolü ile ilgili hayvan deneyi verileri çelişkilidir. Alkolün bilinen gastrik karsinojenlerin etkisini artırıcı özelliği ile ilgilenen bazı araştırmacılar birlikte uygulama yaparak olası sinerjistik etkileri araştırmışlardır. Ancak N-metil-N0-nitro-N-nitrozoguanidin (MNNG) uygulanan sıçanlara içme suyu içinde verilen %10'luk kronik etanol ile görülen gastrik tümör gelişimi kontrol grubundan bir farklılık göstermemiştir [94].

Ayrıca deney hayvanlarından elde edilen veriler alkolün karaciğer kanserini tek başına indükleyemediğini göstermektedir. Tümör indükleyici bileşik olarak nitrozamin uygulaması yapılan hayvan deneylerinde tek başına etanolün hepatokarsinogenezi inhibe edebildiği gösterilmiştir [72]. Sadece, alkol ile hepatektomi [86] veya düşük metil donör

diyeti [92] gibi diğer karsinojenik faktörlerin kombinasyonunun hayvan modellerindeki karaciğer tümörlerinin gelişimi ile ilişkili olduğu gösterilmiştir.

2.3 Alkollü İçkiler ve Gastrointestinal Kanserler: Muhtemel Mekanizmalar

Alkol karsinogenezisinin altında yatan faktörler tam olarak anlaşılamamıştır. Muhtemelen birçok farklı bölgede etki yapabilen diğer karsinojenlere bağlı olarak hedef organ bazında farklılıklar gösterebilir. Eldeki kanıtlar etanolün tek başına karsinojen olmadığını göstermektedir [46]. Ancak mukozanın karsinojenlere maruziyetini artıran lokal bir etkiye sahip olabilir. Ancak etanol metabolizması (AA üretimi veya sitokrom P450 2E1'in indüksiyonu), nutrisyonel defisitler ve bozulmuş gen ekspresyonu ya da immun gözetim sistemi, alkol ile ilişkili karsinogenezde rol oynadığı düşünülen ana mekanizmalardır [72] (bkz. Tablo 2).

Ayrıca alkol ve folat metabolizması ile ilişkili genlerdeki varyantlar alkol kullananlardaki kanser gelişimini etkileyebilmektedir. Etanole maruziyet sonucunda oluşan hücresel toksik etkiler ile kişisel duyarlılık derecesi arasındaki ilişkinin sonucunda kanser gelişiminin etkilendiğini gösteren kanıtlar mevcuttur [22].

2.3.1 Lokal Etkiler

Akut etanol uygulamasının solvent etkisi göstererek biyolojik membranların geçirgenliğini artırdığını ve karsinojenik moleküllerin hücre içine girişini kolaylaştırdığını gösteren güçlü kanıtlar mevcuttur [96].

Tablo 2 Alkollü içkilere bağlı karsinogenezin olası mekanizmaları

	Etanol etkisi	Karsinojenik mekanizma
Lokal etkiler	Etanolün solvent etkisi	Karsinojenlerin epitel hücrelerine girişlerinin kolaylaşması
	Tükürük bezlerinin morfolojik ve fonksiyonel değişimleri	
	Reaktif oksijen ve nitrojen türlerinin üretimi	Oksidatif stres, lipid peroksidasyonu ve DNA hasarı
Etanol metabolizması	Asetaldehit üretimi	Stabil katım ürünlerinin DNA ile üretimi
	Sitokrom CYP2E1 indüksiyonu	Prokarsinojen metabolizmanın bozulması
Gen ekspresyon değişimleri	Folat eksikliği, metioninsentetaz ve DNA metilaz inhibisyonu	Tümör yapıcı genlerin azalmış metilasyonu
İmmun gözetim	Doğal katil hücrelerin bazı aktivitelerinin inhibisyonu	Kanser büyümesinin kolaylaşması
Nutrisyonel bozukluklar	Folat, vitamin A ve beta karoten eksiklikleri	DNA metilasyonunun bozulması ve oksidatif stres artışı

Bu etkiler alkol ve sigaranın baş ve boyun kanserlerindeki sinerjistik etkisini açıklayabilir. Aynı etki sigara içmeyenlerde mevcut değildir. Diğer yandan oral kavitenin kronik alkole maruz kalması ile spesifik bir savunma mekanizmasında bir dizi morfolojik ve fonksiyonel değişimler oluşabilmektedir: Parotis ve submaksiller bezlerin alkole bağlı atrofileri sonucunda tükürük miktarının azalması ve vizkozitesinin artışı oral kavitedeki karsinojenlerin temizlenmelerinin azalmasına yol açar. Böylece epitel hücreleri daha yüksek konsantrasyonda karsinojene maruz kalmış olur [55].

2.3.2 Etanol Metabolizması

Etanol metabolizması alkol karsinogenezinde önemli bir rol oynar: Etanol primer olarak karaciğer hücrelerinde alkol dehidrogenaz (ADH) veya sitokrom P450 2E1 (CYP2E1) etkisiyle etanol metabolizmasının ana ürünü olan AA'ya okside olur. AA devamında aldehit dehidrogenaz (ALDH) tarafından asetata dönüştürülür. AA ve reaktif oksijen türleri DNA hasarı yaparak karsinogenezi indükleyebilirler.

Etanolün ana metaboliti olan AA'nın direkt mutajenik ve karsinojenik etkileri çok sayıda deney tarafından gösterilmiştir. AA özellikle DNA'ya bağlanarak ve stabil katım ürünleri üreterek replikasyon hatalarını ve onkojen veya onkolojik baskılayıcılardaki mutasyonları tetikleyebilir [24]. AA üretimi multipl genler tarafından kodlanan ADH ve ALDH aktivitesine bağlıdır. Bazı polimorfizmler, bu genlerin sahip oldukları çeşitli varyantlar nedeniyle AA düzeylerini artırarak alkolle ilişkili kanserlere karşı predispozisyonu indükleyebilirler. Giderek artan sayıda çalışmada insanlardaki genetik duyarlılık ile alkol tüketiminin kanser riski ile ilişkili olduğu bildirilmektedir. Mevcut verilerin çoğu alkol karsinogenezinde ADH1B ve ALDH2 polimorfizmlerinin güçlü, CYP2E1 polimorfizminin ise daha az güçlü rol oynadığını desteklemektedir [22].

Ayrıca reaktif oksijen ve nitrojen türlerinin üretimleri de alkol ile ilişkili karsinogenez de rol oynayan bir mekanizmayı harekete geçiriyor olabilir: Etanol metabolizması oksidatif stresi artırırken lipid peroksidasyonunu indükler. Lipid peroksidasyon ürünlerinin ekzosiklik DNA katım ürünleri oluşturmak amacıyla DNA ile etkileştiği bilinmektedir. Bu karaciğer karsinogenezinde özel rol oynayan mekanizmalardan birisidir [23, 41, 64].

Sonuç olarak alkollü içkilerin kronik tüketimi ile sitokrom CYP2E1 indüklenir. CYP2E1 nitrozaminler, aflatoksin ve vinil klorid gibi düşük alkol tüketimiyle (40 gr/gün) bile oluşabilen prokarsinojen özelliğe sahip çeşitli ksenobiyotiklerin metabolizmalarında rol oynamaktadır [70]. Etanol ve prokarsinojen metabolizma arasındaki ilişki karmaşık olup CYP2E1 indüksiyonunun derecesine, prokarsinojenin kimyasal yapısına ve prokarsinojen metabolizması sırasında vücutta alkol bulunup bulunmamasına bağlı olabilir [80].

2.3.3 Nütrisyonel Bozukluklar

Alkolizm dünyadaki malnütrisyonun ana nedenlerinden birini oluşturur. Kronik tüketime bağlı olarak oluşabilen çeşitli vitamin ve mikrobesin eksiklikleri kanser gelişimine katkı yapabilir. Ancak bu süreçteki rolleri henüz net olarak anlaşılamamıştır. Ağır alkol tüketiminin folat metabolizmasını hem az tüketim hem de AA tarafından parçalanması

nedeniyle etkilediği düşünülmektedir. Folat eksikliği transmetilasyonun inhibisyonunu etkileyerek karsinogenezde potansiyel rol oynayabilen gen ekspresyon değişimine yol açabilir [85]. Ayrıca kronik alkoliklerde görülen B12 ve B6 vitaminlerinin alım ve metabolizmalarındaki bozukluklar DNA metilasyonunun bozulmasına katkı yapabilir [10]. Çeşitli çalışmalarda A vitamini ve beta-karoten eksikliğinin alkol karsinogenezinde önemli olabileceği vurgulanmıştır [93]. Uzun süreli alkol kullanımının retinoid ve karotenoid alımında azalmaya neden olduğu ve reaktif oksijen türlerinin üretimi ile de retinolun yıkılmasına katkı yaptığı gösterilmiştir [53].

2.3.4 Gen Ekspresyon Değişimleri

DNA metilasyonu gen ekspresyonunu engeller. Metilasyon azaldığında ise gen ekspresyonu artar. Tümör indükleyici genlerin metilasyonlarının azalmasının alkol ile ilişkili kanser gelişiminde rol oynayan bir mekanizma olduğu hipotezi geliştirilmiştir. Bu mekanizmanin karaciğer kanseri gelişiminde kritik bir rol oynadığı düşünülmektedir. Bazı kanıtlar kronik alkol tüketiminin DNA metilasyon düzeyinde önemli değişiklikleri indüklediğini doğrulamaktadır [15].

Deneysel çalışmalarda alkol tüketiminin DNA metilasyonunu farklı şekillerde etkilediği gösterilmiştir: Folat eksikliği, metil gruplarını DNA'ya transfer eden metionin sentetazın (homosisteini metionine remetile eden ve DNA metilazı inhibe eden enzim) aktivitesinin azalması [72]. Kronik alkol kullananlarda DNA metiltransferaz enzimlerinin inhibisyonuyla ilgili homosistein artışı ve metiladenoziltransferaz aktivitesinin azalması sonucunda S-adenozil metioninin (SAMe: DNA metilasyon reaksiyonlarının metil donörü) azaldığını gösteren kanıtlar mevcuttur. SAMe eksikliği DNA hipometilasyonunu indükleyip, DNA instabilitesini artırdığı için kanser riskinde artış ile ilişkilidir [65].

2.3.5 Alkol ve İmmun Gözetim

Alkolün kötüye kullanımının immun yetmezlikle ilişkisi ve kronik alkoliklerin enfeksiyonlara karşı daha duyarlı oldukları iyi bilinmektedir. Alkol tüketiminin hem doğal hem de spesifik immun cevabı bozabildiğini ve kanser hücre gelişimini kolaylaştırabildiğini gösteren kanıtlar mevcuttur [16]. Hayvan deneylerinde tek bir etanol dozu sonrasında doğal katil hücrelerin sayı ve litik aktivitelerinin azalarak immun gözetimin bozulduğu gösterilmiştir [99]. Kronik alkol tüketiminde görülen malnütrisyon ve vitamin eksikliği gibi faktörlerin de immun gözetimi bozabildiği ve kanser gelişimini indükleyebildiği bilinmektedir.

3 Gazlı içecekler ve Gastrointestinal Kanser

Gazlı içecekler dünyadaki en popüler meşrubatlardır. Tüm gazlı içecekler arasında en sık tüketileni normal Cola'dır. 1886 yılında Atlanta'da yaşayan bir eczacı tarafından karbonatlı su, şeker şurubu, fosforik asit, kafein ve diğer doğal bazı aromaların tesadüf eseri karıştırılması ile dünyadaki en popüler alkolsüz içecek ortaya çıkmıştır. Gazlı içeceklerin

Tablo 3 Gazlı içecek tüketimi ile ilişkili gastrointestinal kanserlerin rölatif riskleri

Organ	Gazlı içecek tüketimi	RR	CI
Özofagus			
Skuamöz hücreli karsinom	1 kutu/hafta	0.70	0.41–1.18
	2-6 kutu/hafta	0.66	0.39–1.11
Ren ve ark.[75]	>6 kutu/hafta	0.85	0.46–1.56
	1-6 içecek/hafta	0.68	0.45–1.03
	7-20 içecek/hafta	0.67	0.45–1.01
Ibiebele ve ark.[44]	>20 içecek/hafta	0.40	0.20–0.78
Adenokarsinom	1 kutu/hafta	1.52	0.97–2.38
	2-6 kutu/hafta	1.36	0.88–2.12
Ren ve ark. [75]	>6 kutu/hafta	1.11	0.66–1.85
	1-6 içecek/hafta	1.12	0.74–1.70
	7-20 içecek/hafta	1.01	0.65–1.58
Ibiebele ve ark.[44]	>20 içecek/hafta	0.94	0.53–1.66
Mide			
Kardiya adenokarsinomu	12-103 içecek/yıl toplam gazlı içecek	0.86	0.52–0.40
	104-364 içecek/yıl toplam gazlı içecek	0.97	0.62–1.51
Mayne ve ark.[59]	>365 içecek/yıl toplam gazlı içecek	0.74	0.46–1.16
Kardiya dışı adenokarsinom	12-103 içecek/yıl toplam gazlı içecek	0.79	0.52–1.21
	104-364 içecek/yıl toplam gazlı içecek	0.78	0.52–1.16
Mayne ve ark.[59]	>365 içecek/yıl toplam gazlı içecek	0.65	0.43–0.98
Kolon ve rektum	0-250 gr/gün	0.96	0.90–1.02
	250-550 gr/gün	1.08	0.87–1.34
Zhang ve ark.[100]	>550 gr/gün	0.94	0.66–1.32
Pankreas	≤3/hafta	1.05	0.84–1.31
Schernhammer ve ark.[77]	>3/hafta	1.13	0.81–1.58
	≤2/hafta	0.73	0.40–1.33
Muelleretal.[66][a]	>2/hafta	1.87	1.10–3.15

[a] Çin populasyonu

bileşenleri çok çeşitli olduğu için sağlık üzerindeki etkilerini analiz etmek güçtür. Bu nedenle birçok çalışmada tek bir bileşenin değil içeceğin tamamının hastalık riski üzerindeki etkileri tanımlanmaktadır.

Gazlı içeceklerin gastrointestinal sistem üzerindeki etkisi ile ilişkili farklı görüşler mevcuttur. Bazı görüşler zararlı olduğunu savunurken bazıları da belirli bazı durumlarda tüketildiğinde faydalı olabileceklerini savunmaktadırlar. Bu eğilimin tüketimlerindeki artışa paralel olarak arttığı gözlenmektedir. Gazlı içeceklerin reflü veya özofagus adenokarsinomu riskini artırdıkları hipotezi mevcuttur. Ancak bazı vaka kontrol çalışmalarında larenks ve özofagus kanserleri ile gazlı içecek tüketimi ters orantılı ya da ilişkisiz bulunmuştur [44, 48, 59, 101].

Alkolsüz içecekler ABD halkının diyetindeki en önemli ilave şeker kaynağıdır [37]. Bu durum hiperglisemi ve hiperinsülinemiye büyük oranda katkı yapar [12]. Bazı çalışmalarda yüksek oranda alkolsüz meşrubat tüketenlerde obezite [33, 56, 78], tip 2 diyabet [20, 21] ve pankreas kanserine yol açabilme ihtimali olan bozuklukların [43, 51, 97] görülme riskinin artmış olduğu gösterilmiştir (bkz. Tablo 3).

3.1 Gazlı içecekler ve Gastrointestinal Kanser: İnsan Çalışmaları

3.1.1 Özofagus Kanseri

Gazlı içecekler özofagus adenokarsinomu gelişimi için bilinen bir risk faktörü olan gastroözofageal reflü ile ilişkilidir. ABD'nin üç coğrafi bölgesinde gerçekleştirilen çok merkezli, popülasyon tabanlı, vaka kontrol çalışmasında gazlı içecek tüketimi ile özofagus karsinomu arasındaki ilişki incelenmiştir [59]. Çalışmaya katılan hastalara teşhisten önceki 3-5 yıl içindeki "diyet meşrubat veya diyet kola" ve "normal meşrubat veya normal kola" tüketimlerinin sıklığı (her gün, hafta, ay, yıl) sorulmuştur. Aynı bilgi içecekler kontrol deneklerinden de alınmıştır. Bu içeceklerin sıklığı toplam tüketimi tahmin etmekte kullanılmıştır. Elde edilen sonuçlar dörtte birlik dilimlere bölünmüştür. Analizde 687 kontrol ile 282 özofagus adenokarsinom, 255 gastrik kardiya adenokarsinom, 352 de kardiya dışı gastrik adenokarsinom hastası yer almıştır. Öne sürülen hipoteze aykırı olarak gazlı içecek tüketiminin (primer olarak düşük kalorili gazlı içeceklerin) özofagus adenokarsinomu ile ters orantılı olduğu tespit edilmiştir. Yüksek gazlı içecek tüketimi kadın ve erkeklerdeki herhangi bir özofagus kanseri alt tipinin artışına neden olmamıştır. Bu bulgular gazlı içeceklerin (özellikle düşük kalorili olanların) özofagus kanseri riski ile ters orantılı oldukları için insidans oranlarının artmasına katkı yapmalarının küçük bir ihtimal olduğunu göstermiştir.

Mayne ve ark. tarafından bu çalışma için yapılan yorumda kontrol deneklerinin özofagus kanseri hastalarına göre daha genç oldukları ifade edilmiştir [57]. Ayrıca kontrol hastalarının özofagus adenokarsinomu olan hastalara göre anlamlı olarak daha yüksek gelire sahip oldukları da yorumda yer almıştır. Devam etmekte olan gıda tüketim araştırmasında gazlı içecek tüketiminin gelir düzeylerine göre önemli farklılıklar gösterdiği bildirilmiştir [89]. Mayne çalışmasını hedef alan bir başka eleştiri de gazlı içecek tüketim sürelerinin çalışmada yer almamasıdır. Gerçekten de çalışmadaki gazlı içecek tüketimi kanser teşhisinden 3-5 yıl öncesine kadar soruşturulmuş olmasına rağmen gazlı içecek-

lerin oluşturdukları gastroözofageal reflünün birkaç dekad sürerek özofagus adenokarsinomuna etki yaptığı hipotezi geliştirilmiştir.

Ulusal Sağlık Enstitüleri ve Amerikan Emekliler Birliği (NIH-AARP) Diyet ve Sağlık Çalışmasından alınan verileri inceleyen bazı araştırmacılar sıcak çay, buzlu çay, kahve ve gazlı içecek tüketimi ile üst gastrointestinal kanser riski arasındaki ilişkiyi incelemiştir [75]. Sekiz ABD eyaletinde oturan (Kaliforniya, Florida, Louisiana, New Jersey, Kuzey Carolina, Pennsylvania, Georgia ve Michigan) 50-71 yaşlarındaki AARP üyelerine diyet ve sağlıkla ilgili davranışları içeren anketler postalanmıştır. Veri tabanından elde edilen bilgiler araştırıcıların 428 kanser vakasındaki alkolsüz içecek tüketimi ile kanser gelişimi arasındaki ilişkiyi tanımlamalarına olanak vermiştir (özofagus skuamöz hücreli karsinomu ve özofagus adenokarsinomu). Çalışma kutu sayısına göre tespit edilen tüketim miktarları göz önüne alınarak yapılmıştır (hiç, >1 kutu/hafta, 2–6 kutu/hafta, ≥1 kutu/gün). ≤ 1 kutu/hafta tüketenlerde özofagus adenokarsinomu ile (sınırda) anlamlı olmayan bir ilişki bulunmuştur (RR 1.52, CI o.97-1.58). Ancak ≥ 1 kutu/gün (en yüksek grup) tüketenlerdeki RR 1.11'dir (CI 0.66-1.85).

Bir başka çalışmada gazlı içecekler ile özofagus adenokarsinomu (EA), özofagogastrik bileşimin adenokarsinomu (EGJAC) ve ESCC arasındaki ilişki AE insidansının hızla arttığı bir ülke olan Avustralya'da araştırılmıştır [44]. Bu çalışmada gazlı içeceklerin tüketimi ile ilgili veriler gıda sıklığı anketi ile toplanmıştır; demografik, sosyoekonomik ve hayat tarzını ilgilendiren faktörlerle ilgili anket 1484 kontrol, 294 EA, 325 EGJAC ve 238 ESCC hastası tarafından doldurulmuştur. Çalışmanın sonuçları yüksek gazlı içecek tüketiminin EA (RR 0.94, CI 0.53–1.66, trend için p = 0.85) veya EGJAC (RR 1.07, CI 0.67–1.73, trend için p = 0.89) riski ile bir ilişkisi olmadığını, ESCC (RR 0.40, CI 0.20–0.78, trend için p= 0.04) riski ile de ters orantılı bir ilişkisi olduğunu göstermiştir. Araştırıcılar çalışmaya katılan Avustralyalı popülasyondaki ESCC ve diğer özofagus kanseri vakalarının kontrollere göre daha az gazlı içecek tüketme eğiliminde olduklarını gözlemişlerdir. ESCC hastaları aynı zamanda daha yaşlı, daha az obez ve daha nadir reflü görülen grubu oluşturuyordu. Araştırıcılar bu faktörleri düzelterek analizlerinde kullanmış olmalarına rağmen bulgularda bir miktar yanıltıcı verinin kalmış olma ihtimali dışlanamamıştır. Her durumda, gazlı içecek tüketimi ile hiçbir özofagus kanseri tipi arasında bir ilişki bulunmamıştır.

ESCC riski ile gazlı içecek tüketimi arasındaki ters orantılı ilişkiyi gösteren bir başka çalışma da 1992-1997 yılları arasında Kuzey İtalya'daki hastane tabanlı vaka kontrol çalışması verilerini analiz eden Gallus ve ark [29] tarafından yapılmıştır. Çalışmaya histolojik olarak konfirme edilmiş ESCC tanısı olan 304 hasta alınmıştır. Kontrol hastaları ise aynı hastanelere neoplastik, sigara, alkol tüketimi ve uzun süreli diyet modifikasyonu dışındaki çeşitli akut rahatsızlıklarla başvuran 743 hastadan oluşuyordu. Kontrol hastaları ile kanser hastaları yaş, cinsiyet, görüşme yılı ve oturulan bölge yönünden eşleştirilmiştir. Bu çalışmada da gazlı içecek tüketiminin özofagus kanseri riskini artırmadığı ve ESCC riski ile gazlı içecek tüketimi arasında orta derecede ters orantı olduğu bulunmuştur.

İsveç'te yapılan popülasyon tabanlı, vaka kontrol çalışmasında gazlı içecek tüketimi ile EA veya gastrik kardiya adenokarsinomu (GCA) arasındaki ilişki analiz edilmiştir [48]. 1995-1997 yılları arasında EA olan 189, GCA olan 262 hasta ve 820 kontrol hastası ile kişisel görüşme yapılmıştır. Tüm kanserler histolojik olarak sınıflandırılmıştır. Bu çalışmada da gazlı içecek tüketimi ile EA riski ilişkili bulunmamıştır; yüksek oranda tüketenlerdeki (haftada altı kezden fazla) risk hiç gazlı içecek tüketmeyenlere göre anlamlı olmayan düzeyde daha düşük bulunmuştur (RR 0.89, CI 0.49–1.64; p = 0.77). Ayrıca gazlı düşük alkollü bira ve gazlı içeceklerin birlikte tüketiminin de EA ile ilişkili olmadığı ifade edilmiştir.

Farklı popülasyonlardan elde edilen bu tutarlı bulgular [29, 44, 48, 75] gazlı içecek tüketimi ile EA arasındaki riski dışlamaktadır. ESCC ile ilgili veriler, bu kanserin riskinin gazlı içecek tüketimi ile ters orantılı olduğu sonucunu doğrulamaktadır. Ancak bu ilişkinin mekanizmasının tanımlanması güçtür.

3.1.2 Gastrik Kanser

Gastrik kanser ile gazlı içecek tüketimi arasındaki ilişkinin analizi Ulusal Sağlık Enstitüleri ve Amerikan Emekliler Birliği (NIH-AARP) Diyet ve Sağlık Çalışmasından alınan verilerle yapılmıştır [75]. Çalışma kohortu 286.402'si erkek, 195.161'i kadın olan 481.563 katılımcıdan oluşuyordu. Araştırmacılar 455 gastrik kanser hastasında (231 gastrik kardiya; 224 gastrik kardiya dışı) gazlı içecek tüketimi ile gastrik kanser arasında doza bağlı bir ilişki gözlemlememişlerdir.

Mayne ve ark. 255 gastrik kardiya ve 352 kardiya dışı gastrik adenokarsinomu olan hasta ile görüşmüştür [59]. Hastalara diyet veya normal gazlı içecekleri teşhisten önceki (kanser hastaları) veya görüşmeden önceki (kontroller) 3-5 yıl içindeki rutin tüketme sıklıkları sorulmuştur. Bu çalışmada da gastrik kanser ile gazlı içecek tüketimi arasında bir ilişki bulunmamıştır.

Benzer veriler gastrik kardiya adenokarsinomu olan 262 hastayı inceleyen Lagergren ve ark. tarafından da bildirilmiştir [48]. Yüksek gazlı içecek tüketimi ile (haftada >6 kez) gastrik kanserin bu tipi arasında bir ilişki bulamamışlardır (RR 1.09, CI 0.64–1.85; p = 0.64).

3.1.3 Pankreas Kanseri

Şekerli meşrubatlar hızla absorbe edilen şekerlerin çok sık kullanılan bir kaynağıdır. Aynı zamanda yüksek obezite ve diyabet riski ile de ilişkileri vardır. Diabetes mellitus ve glisemik yükü yüksek diyetler pankreas kanseri gelişimi için risk faktörüdür. Bazı çalışmalarda gazlı içecek tüketimi ile pankreas kanseri arasındaki ilişki araştırılmıştır.

Hemşire Sağlık Çalışması ve Sağlık Profesyonelleri Takip Çalışmasının veri tabanının analizinde başlangıçta kanser olmayan 88.794 kadın ve 49.364 erkek arasından pankreas kanseri gelişen 392 hasta seçilmiştir [77]. Çalışma başlangıcında tespit edilen alkolsüz meşrubat tüketimi 1980-1988 yılları arasında periyodik olarak güncellenmiştir. Haftada

üç adetten fazla şekerli meşrubat tüketen hastalardaki pankreas kanserinde anlamlı olmayan bir rölatif risk artışı gözlenmiştir. En fazla şekerli meşrubat tüketen kadınlardaki (3 içecek/hafta) risk anlamlı olarak artmıştır (RR 1.57; CI 1.02–2.41; trend için p = 0.05); ancak şekerli meşrubat tüketen erkeklerdeki pankreas kanserinde bir artış olmamıştır. Yüksek oranda şekerli meşrubat tüketen kadınlarda gözlenen sınırda risk artışı vücut kütle endeksi yüksek olanlarla (>25 kg/m^2; RR 1.89, CI 0.96–3.72; p = 0.10) ve düşük fiziksel aktiviteye sahip (RR 2.02, CI 1.06–3.85; p = 0.05) olanlarla sınırlıydı. Buna karşın diyet meşrubatların tüketimi her iki kohorttaki pankreas kanserinde bir artış bulunmamıştır.

Başka bir ankette meşrubat tüketimi ile pankreas kanseri arasında sınırda pozitif ilişki bulunmuştur [49]. 131 pankreas kanseri vakasındaki en yüksek ile en düşük tüketim kategorilerinin karşılaştırılmasında elden edilen çok değişkenli RR 1.69'dur (CI 0.97–2.36, trend için p= 0.05).

Çinlilerde yapılan prospektif kohort çalışmasında 14 yıl süre ile takip edilen 60.254 bireyde pankreas kanseri riski takip edilmiştir. Pankreas kanseri vakaları kohort veritabanı kayıtlarının Singapur Kanser Kayıt ve Singapur Doğum ve Ölüm Kayıt veritabanları verileri ile karşılaştırılması ile tespit edilmiştir [66]. Analizde 142 pankreas kanseri vakası tespit edilmiştir. Tüketimi ≥2 içecek/hafta olan bireylerdeki pankreas kanseri kanseri riski meşrubat kullanmayanlara göre anlamlı olarak daha yüksek bulunmuştur (RR 1.87, CI 1.10–3.15; p = 0.02).

Ayrıca, güncel bir analizde de gazlı içecek tüketimi ile pankreas kanseri arasındaki risk incelenmiştir. Dünya'daki çeşitli ülkelerde büyük ölçekli uluslararası konsorsiyum tarafından gerçekleştirilen Diyet ve Kanserle İlgili Prospektif Çalışmaların Toplu Analizi Projesinde 14 kohort çalışmasının toplu analizi gerçekleştirilmiştir [31]. Çalışmada 7 ila 20 yıl süre ile takip edilen 853.894 bireyde gelişen 2185 kanser vakası tespit edilmiştir. Pankreas kanseri riski ile gazlı içecek tüketimi arasında anlamlı bir ilişki bulunmamıştır (RR 1.19, CI 0.98–1.46 vs. >250–0 gr/gün). Ancak gazlı içecek tüketimi sürekli bir değişken olarak modellendiğinde, ortaya pankreas kanseri riski ile pozitif bir ilişki çıkmıştır (RR 1.06, CI 1.02–1.12).

Gazlı içecek tüketimi ile pankreas kanseri riski arasındaki ilişki 1991-2008 yılları arasında 328 pankreas kanseri hastası ve 652 eşleştirilmiş kontrol hastası ile gerçekleştirilen İtalyan vaka kontrol çalışmasında da araştırılmıştır [30]. Çalışmada gazlı içecek tüketiminin pankreas kanseri riski ile ilişkili olmadığı sonucuna varılmıştır.

Farklı iki çalışmada da meşrubat tüketimi ile pankreas kanseri arasında herhangi bir ilişki bulunamamıştır [4, 68].

3.1.4 Kolon Kanseri

Şekerli meşrubat tüketiminin kolon kanseri riskini artırdığını gösteren tek çalışma mevcuttur [100]. Bu çalışma uluslararası kohort çalışmaları konsorsiyumu tarafından Diyet ve Kanserle İlgili Prospektif Çalışmaların Toplu Analizi Projesi kapsamında yapılmıştır. Bu toplu analizde yer alan 13 çalışmada 6-20 yıl süreyle takip edilen 239.193

erkek ve 492.248 kadın arasından 5604 invazif kolon kanseri (1858 erkek ve 3746 kadın) vakası tespit edilmiştir. Şekerli meşrubat tüketimi kolon kanseri riski ile ilişkili bulunmamıştır (toplu çok değişkenli RR 0.94, CI 0.66-1.32, >550 gr/gün tüketim ile meşrubat tüketmeyenler karşılaştırılmıştır) Diyet meşrubatların incelenmesinde her 375 gr/gün tüketim artışı için bulunan toplu çok değişkenli RR değeri 1.01'dir (CI = 0.94-1.08; dört çalışmada ölçülmüştür, n=1928 kanser hastası). Gazlı içecekler Cola ve Cola dışı olarak kategorize edildiklerinde de kolon kanseri riski ile herhangi bir ilişki tespit edilememiştir.

3.1.5 Diğer Gastrointestinal Kanserler

Gazlı içecekler ile gastrointestinal kanser riski hakkında yukarıda bahsedilenler dışında literatür verisi mevcut değildir.

3.1.6 Aspartam ve Gastrointestinal Kanser

Endüstri ülkelerinde kısmen fast food ve meşrubat tüketimine bağlı olarak artan obezite oranları düşük kalorili gıdalara talebin artmasına neden olmuştur. Diyet ya da hafif (light) olarak adlandırılan ürünlerin pazarındaki büyümeye paralel olarak aspartamı da içeren yeni jenerasyon tatlandırıcılar geliştirilmiştir. Aspartamın insanlardaki rolü ile ilgili epidemiyolojik veriler yetersizdir [95]. Aspartamın potansiyel karsinojen etkisi ile ilgili uyarılar, beyin kanseri insidansında görülen artışların yapay tatlandırıcıların piyasaya sürülmesi ile ilişkili olduğunu bildiren bir çalışmadan kaynaklanmaktadır [69]. Bu çalışma sonrasında, beyin kanseri trendlerindeki belirsizlikler yüzünden eleştirilmiştir [90]. Ayrıca bu çalışmadan sonra yapılan vaka kontrol çalışmalarında aspartamın beyin kanserinde artışa yol açtığını gösteren tutarlı kanıtlar bulunamamıştır [36].

İtalya'da entegre vaka kontrol çalışmaları ağını kullanarak gerçekleştirilen bir çalışmada sakarin ve diğer tatlandırıcılar ile oral kavite, farenks, özofagus, kolorektal ve vücudun diğer bölgelerinde görülen kanser riskleri arasında ilişki bulunmamıştır [28]. Bu çalışmanın temeli olan entegre vaka kontrol çalışmaları ağı 1991-2004 yılları arasında İtalya'da gerçekleştirilmiştir. Histolojik olarak konfirme edilen üst gastrointestinal kanser vakaları 598 oral kavite ve farenks, 304 özofagus, 1225 kolon, 728 rektum kanseri hastasından oluşuyordu. 7028 kontrol hastası (3301 erkek ve 3727 kadın) ise aynı hastaneye akut, kanser dışı rahatsızlıklarla kabul edilmişti. Aspartam tüketimine bağlı rölatif risk oral kavite ve farenks kanserleri için 0.77 (CI 0.39–1.53), özofagus kanseri için 0.77 (CI 0.34–1.75), kolon kanseri için 0.90 (CI 0.70–1.16), rektal kanser için de 0.71 (CI 0.50–1.02) bulunmuştur. Bu sonuçlar aspartam ile sık görülen gastrointestinal kanserler arasında bir ilişki olmadığını göstermiştir.

İki yıl sonra bu çalışmanın güncel versiyonu yayınlanmıştır [11]. Çalışmada histolojik olarak konfirme mide kanseri olan 230 hasta ve 547 eşleştirilmiş kontrol hastası ile 326 pankreas kanseri hastası ve 652 eşleştirilmiş kontrol hastası yer almıştır. Tüm kontroller aynı hastaneye akut, kanser dışı nedenlerden dolayı kabul edilen bireylerden

oluşmaktaydı. Tatlandırıcı kullananlarla hiç tatlandırıcı kullanmayanların karşılaştırılmasının rölatif riski, gastrik kanser için 0.80 (CI 0.45–1.43), pankreas kanseri için ise 0.62 (CI 0.37–1.04) bulunmuştur.

3.2 Gazlı içecekler ve Gastrointestinal Kanserler: Hayvan Deneyleri

Belpoggi ve ark. [6] en iyi bilinen gazlı içecek olan Coca Cola'nın uzun süreli etkilerini içme suyu yerine Coca Cola verilen Sprague Dawley sıçanları üzerinde test etmiştir. Projenin amacı Coca Cola'nın test hayvanlarındaki tümör gelişimini (tümorigram) etkileyip etkilemediğinin tespit edilmesiydi. Embriyonik hayattan veya 7 haftalıktan itibaren veya 30, 39, 55 haftalıktan itibaren içeceğe maruz kalan çeşitli yaşlardaki dişi ve erkek sıçanlara biyoanalizler uygulanmıştır Hayvanlar spontan ölüme kadar gözlenmiş, sonrasında da otopsiye alınmışlardır. Sonuçlara bakıldığında (a) tüm hayvanların vücut ağırlıklarında artış; (b) hem damızlık hem de yavru dişilerde malign meme tümörü insidansında istatistiksel olarak anlamlı artış, (c) hem damızlık hem de yavru erkek ve dişilerde pankreas ekzokrin adenomlarının insidanslarında istatistiksel olarak anlamlı artış görülürken, (d) gastrointestinal sistem de dahil olmak üzere tüm vücut bölgelerindeki diğer tümörlerde artış görülmemiştir. İnsanlar bu içeceği deneysel ortamdaki gibi son derece paradoksal şekilde tüketmemektedir. Ancak normal meşrubatlar gibi yüksek kalorili içeceklerin aşırı kullanımının kilo artımında anlamlı artışa yol açmasının, kanser riskini de artırabileceği çalışma tarafından konfirme edilmiştir.

Hayvan çalışmalarında aspartam ve diğer tatlandırıcılar ile ilgili karsinojenik aktivite gösterilememiştir [35, 95]. Sadece üç hayvan çalışmasında (Sprague Dawley sıçanları ve İsviçre fareleri) farklı aspartam dozları uygulanan hayvanların ölene kadar takiplerinde, dişi sıçanlarda başlıca lenfomalar ve lösemilerde, erkek farelerde ise hepatoselüler karsinomlarda artış görülmüştür [82–84]. Ancak bu bariz artışlar aspartam uygulanan hayvanların daha uzun süre yaşamaları ve çalışma hayvanlarında görülen daha yüksek enfeksiyon oranları ile açıklanabilir [87]. Hiçbir hayvan çalışmasında gastrointestinal kanser riskinde bir artış gösterilememiştir [54].

3.3 Muhtemel Mekanizmalar

Gazlı içeceklerin özellikleri incelenirken şu üç önemli nokta göz önünde bulundurulmalıdır: (a) içeceklerde bulunan karbondioksit; (b) şeker veya tatlandırıcı; (c) hazırlanmalarında kullanılan diğer maddeler. Bunlar arasında en ilginç ve muhtemelen de en değerli olanı karbondioksittir. Gazlı içeceklerin gastrointestinal sistem hasarına yol açarak potansiyel karsinojenik etki gösterebilmeleri ile ilgili çeşitli mekanizmalar önerilmiştir

Tablo 4 Gazlı içeceklerle ilgili karsinogenezin olası mekanizmaları

	Meşrubatların etkileri	Olası karsinojenik mekanizma
CO_2 içeriği	Gastrik basınç artışı	Özofageal reflünün kolaylaşması ve intestinal metaplazinin indüksiyonu (Barrett özofagusu)
	HCl sekresyonunda artış	
Şeker	Yüksek insülin düzeyleri insülin benzeri büyüme faktörünü artırır	Pankreatik kanser hücrelerinin proliferasyonu
Aspartam	Formaldehit gibi direkt karsinojenlerin üretimi	DNA hasarı (formaldehit katım ürünlerinin üretimi) ve kromozomal aberasyon artışı

[18] (bkz. Tablo 4). Gazlı içecekler ile gastrointestinal hasar arasındaki ilişki hakkındaki bilgilerin çoğu gastroözofageal reflü hastalığı (GERD) ile ilişkilidir. Reflünün ana semptomu özofagus gastrik içeriğe maruz kalınca oluşan mide yanmasıdır. Hekim tavsiyeleri kilo kaybı, gerektiğinde hayat tarzı değişiklikleri, vücut postürü, diyet alışkanlıkları ile ilgilidir. Gazlı içeceklerini tüketimlerinin genel olarak azaltılması önerilmektedir. Çok az sayıda çalışmada gazlı içeceklerin GERD nedeni olduğu kabul edilmektedir [25, 38, 61]. Fass ve ark. [25] çok değişkenli bir analizde gazlı içecek tüketiminin GERD semptomları ile ilişkili olduğunu tespit etmişlerdir. Sağlıklı bireylerde yapılan bir başka çalışmada ise gazlı (karbonatlı) su içilmesinden hemen sonra manometrik değerlendirme ile ölçülen alt özofagus sfinkter basıncı normal su içilmesi ile oluşandan daha düşük bulunmuştur [38]. Ancak sağlıklı bireylerde yapılan daha güncel bir çalışmada şekerli (sukroz %10) suya giderek artan konsantrasyonlarda karbondioksit eklenmesi ile yapılan ölçümlerde gazlı (karbonatlı) su ile normal su arasında gastroözofageal reflü yönünden bir fark olmadığı gösterilmiştir [19].

Gazlı içeceklerin mide fonksiyonunu hem mekanik hem de kimyasal yolla etkilediği düşünülmektedir. Farklı çalışmalardan alınan veriler gaz ve sıvı tarafından mide duvarına uygulanan basınç üzerine yoğunlaşmaktadır [19, 73]. Bu çalışmalarda gastrik distresin sadece 300 ml'nin üzerinde gazlı içecek alımı ile oluştuğu gösterilmiştir [1]. Diğer yandan karbondioksit kimyasal etki ile hidroklorik asitte hafif bir artışa yol açarak sindirim prosesini etkiler ve asitle ilişkili hastalıkları kötüleştirebilir [60]. Karbondioksitin hem mekanik hem de kimyasal etkiyle karsinojeniteyi etkilediğini gösteren herhangi bir çalışma mevcut değildir.

İnsülin ve glukoz seviyelerini artırarak obeziteye ve diyabete yol açabilen şekerli gazlı içecekler [78] gibi faktörler pankreas kanseri riski ile ilişkili olabilirler. Yüksek insülin konsantrasyonları IGF-bağlayıcı proteinleri azaltarak insülin benzeri büyüme faktörü (IGF) düzeylerini artırır [34]. Eldeki veriler IGF'ye maruz kalmanın pankreatik kanser hücre dizilerinin proliferasyonuna neden olduğunu göstermektedir [8]. Yüksek insülin konsantrasyonlarının IGF reseptörlerini aktive ederek kanser hücrelerinin proliferasyonuna yol açabileceği düşünülmektedir [52]. Yükleme sonrası ve açlık plazma glukozu-

nun [5, 45] ve tokluk plazma C-peptid düzeylerinin [63] artışı pankreas kanseri riskinde artış ile ilişkilidir. Bu mekanizma yüksek glisemik yüke sahip şekerli meşrubatların pankreas kanseri riskini artırabileceği hipotezini doğrulamaktadır [66].

İncelenecek son konu son yıllarda gazlı içeceklerde giderek daha fazla kullanılmaya başlanan aspartam gibi tatlandırıcılardır. Bunların güvenlikleri ile ilgili bazı uyarılar mevcuttur. Son yıllarda aspartamın hayvanlardaki neoplaziyi indükleyici etkisi hakkında aynı araştırıcılar tarafından üç farklı makale yayınlanmıştır [82–84]. Araştırmacıların aspartamın potansiyel karsinojen etkisi üzerindeki ilgisi genotoksisite ile ilgili in vitro testlerden doğmuştur. İn vitro kromozomal aberasyon testi ile değerlendirilen aspartam anormal (aberant) hücrelerin yüzdesinde veya hücre başına düşen kromozom anormalliklerinin sayısında test edilen tüm dozlarda anlamlı artışa yol açmış (kontrol değerlerine göre 2.5-4.2 kat), ancak mutajenik özellik göstermemiştir [76]. Yazarlar İsviçre farelerindeki karaciğer karsinojenitesi ile ilgili olarak aspartamın gastrointestinal kanalda fenilalanin, aspartik asit ve metanole tamamen metabolize olması nedeniyle, karsinojen etkinin aspartamdan değil daha ziyade metabolitlerinden kaynaklanabileceği hipotezini geliştirmiştir [83]. Özellikle metanolün karaciğerde formaldehite dönüşmesi ile formaldehit katım ürünleri oluşabilir [91]. Bu mekanizma erkek faredeki hepatokarsinojenik etkiyi açıklayan makul bir neden olabilir. Diğer yandan Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi bilimsel camiada ciddi kanıtlarla desteklenen genel bir konsensusa göre farelerde nongenotoksik bileşikler ile indüklenen hepatik tümörlerin, insandaki riskin değerlendirilmesinde kullanılamayacağını bildirmiştir [88].

4 Sonuçlar

Alkollü içkilerin ve gazlı içeceklerin yüksek oranda tüketilmeleri, son birkaç yıl içindeki dikkatlerin insan sağlığı ve gastrointestinal kanserler üzerindeki etkilerine odaklanmasına neden olmuştur. Ancak bu alandaki çalışmaların çoğu klinik, epidemiyolojik ve deneysel anlamda yeterli değildir. Mevcut veriler alkol tüketimi ile bazı kanser tipleri arasında pozitif korelasyon olduğunu göstermektedir. Doza bağımlı olan bu bağlantı sigaranın sinerjistik etkisi ile güçlenmektedir. Bu doğrultuda alkolle ilgili kanserlerin önlenmesindeki ana hedef ağır alkol ve sigara tüketiminin engellenmesidir.

Diğer yandan gazlı içeceklerin heterojen yapıları nedeniyle gastrointestinal karsinogenez üzerindeki etkilerini araştırmak oldukça zordur. Çeşitli çalışmalarda gazlı içecek tüketimi ile özofageal ve gastrik kanser arasında bir ilişki gösterilememişken, az sayıda bazı çalışmada da gazlı içecekler ile pankreas kanseri arasındaki pozitif ilişki vurgulanmıştır. Bu bulgular tek başına gazlı içecek tüketiminden ziyade muhtemelen kalori alımı ve glukoz metabolizmasındaki hasara bağlıdır. Ancak gazlı içeceklerin gastrointestinal karsinogenezisteki rolünü tamamen dışlamak için yeni çalışmalara ihtiyaç vardır.

Referanslar

1. Almiron-Roig E, Drewnowski A (2003) Hunger, thirst, and energy intakes following consumption of caloric beverages. Physiol Behav 79(4–5):767–773
2. Anderson LA, Cantwell MM, Watson RG et al (2009) The association between alcohol and reflux esophagitis, Barrett's esophagus, and esophageal adenocarcinoma. Gastroenterology 136(3):799–805
3. Bagnardi V, Blangiardo M, La Vecchia C et al (2001) Alcohol consumption and the risk of cancer: a meta-analysis. Alcohol Res Health 25:263–270
4. Bao Y, Stolzenberg-Solomon R, Jiao L et al (2008) Added sugar and sugar-sweetened foods and beverages and the risk of pancreatic cancer in the National Institutes of Health-AARP diet and health study. Am J Clin Nutr 88:431–440
5. Batty GD, Shipley MJ, Marmot M et al (2004) Diabetes status and post-load plasma glucose concentration in relation to site-specific cancer mortality: findings from the original Whitehall Study. Cancer Causes Control 15:873–881
6. Belpoggi F, Soffritti M, Tibaldi E et al (2006) Results of long-term carcinogenicity bioassays on Coca-Cola administered to Sprague-Dawley rats. Ann NY Acad Sci 1076:736–752
7. Benedetti A, Parent ME, Siemiatycki J (2009) Lifetime consumption of alcoholic beverages and risk of 13 types of cancer in men: results from a case-control study in Montreal. Cancer Detect Prev 32(5–6):352–362
8. Bergmann U, Funatomi H, Yokoyama M et al (1995) Insulin-like growth factor I overexpression in human pancreatic cancer: evidence for autocrine and paracrine roles. Cancer Res 55:2007–2011
9. Boffetta P, Garfinkel L (1990) Alcohol drinking and mortality among men enrolled in an American Cancer Society prospective study. Epidemiology 1:342–348
10. Boffetta P, Hashibe M (2006) Alcohol and cancer. Lancet Onco l7(2):149–156
11. Bosetti C, Gallus S, Talamini R et al (2009) Artificial sweeteners and the risk of gastric, pancreatic, and endometrial cancers in Italy. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 18(8):2235–2238
12. Bray GA, Nielsen SJ, Popkin BM (2004) Consumption of high-fructose corn syrup in beverages may play a role in the epidemic of obesity. Am J Clin Nutr 79:537–543
13. Breslow NE, Enstrom JE (1974) Geographic correlations between mortality rates and alcohol, tobacco consumption in the US. J Natl Cancer Inst 53:631–639
14. Cho E, Smith-Warner SA, Ritz J et al (2004) Alcohol intake and colorectal cancer: a pooled analysis of 8 cohort studies. Ann Intern Med 140:603–613
15. Choi SW, Stickel F, Baik HW et al (1999) Chronic alcohol consumption induces genomic but not p53-specific DNA hypomethylation in rat colon. J Nutr 129:1945–1950
16. Cook RT (1998) Alcohol abuse, alcoholism, and damage to the immune system—a review. Alcohol Clin Exp Res 22:1927–1942
17. Corrao G, Bagnardi V, Zambon A et al (1999) Exploring the dose-response relationship between alcohol consumption and the risk of several alcohol-related conditions: a meta-analysis. Addiction 94:551–573
18. Cuomo R, Sarnelli G, Savarese MF et al (2009) Carbonated beverages and gastrointestinal system: between myth and reality. Nutr Metab Cardiovasc Dis 19(10):683–689
19. Cuomo R, Savarese MF, Sarnelli G et al (2008) Sweetened carbonated drinks do not alter upper digestive tract physiology in healthy subjects. Neurogastroenterol Motil 20(7):780–789
20. Daly M (2003) Sugars, insulin sensitivity, and the postprandial state. Am J Clin Nutr 78:865S–872S
21. Dhingra R, Sullivan L, Jacques PF et al (2007) Soft drink consumption and risk of developing cardiometabolic risk factors and the metabolic syndrome in middle-aged adults in the community. Circulation 116:480–488

22. Druesne-Pecollo N, Tehard B, Mallet Y et al (2009) Alcohol and genetic polymorphisms: effect on risk of alcohol-related cancer. Lancet Oncol 10(2):173–180
23. el Ghissassi F, Barbin A, Nair J et al (1995) Formation of 1, N6- ethenoadenine and 3, N4-ethenocytosine by lipid peroxidation products and nucleic acid bases. Chem Res Toxicol 8:278–283
24. Fang JL, Vaca CE (1997) Detection of DNA adducts of acetaldehyde in peripheral white blood cells of alcohol abusers. Carcinogenesis 18:627–632
25. Fass R, Quan SF, O'Connor GT et al (2005) Predictors of heartburn during sleep in a large prospective cohort study. Chest 127:1658–1666
26. Fleischmann A, Fuhr D, Poznyak V et al (2011) Global status report on alcohol and health. WHO Press, Geneva (www.who.int)
27. Franceschi S, La Vecchia C (1994) Alcohol and the risk of cancers of the stomach and colon-rectum. Dig Dis 12:276–289
28. Gallus S, Scotti L, Negri E et al (2007) Artificial sweeteners and cancer risk in a network of case-control studies. Ann Oncol 18:40–244
29. Gallus S, Talamini R, Fernandez E Et al (2006) Re: carbonated soft drink consumption and risk of esophageal adenocarcinoma. J Natl Cancer Inst 98(9):645–646
30. Gallus S, Turati F, Tavani A et al(2011) Soft drinks, sweetened beverages and risk of pancreatic cancer. Cancer Causes Control 22(1):33–39
31. Genkinger JM, Li R, Spiegelman D, Anderson KE et al (2012) Coffee, tea, and sugar-sweetened carbonated soft drink intake and pancreatic cancer risk: a pooled analysis of 14 cohort studies. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 21(2):305–318
32. Genkinger JM, Spiegelman D, Anderson KE et al (2009) Alcohol intake and pancreatic cancer risk: a pooled analysis of fourteen cohort studies. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 18:765–776
33. Gibson S (2008) Sugar-sweetened soft drinks and obesity: a systematic review of the evidence from observational studies and interventions. Nutr Res Rev 21:134–147
34. Giovannucci E (2003) Nutrition, insulin, insulin-like growth factors and cancer. Horm Metab Res 35:694–704
35. Gunnels SR, Carver PH, Coker KK et al(2003) National toxicology program USDoHaHS. Toxicity studies of aspartame (CAS No. 22839-47-0) in FVB/N-TgN (v-Ha-ras) Led(Tg.AC) hemizygous mice and carcinogenicity studies of aspartame in B6.129-Trp53tm1Brd (N5) haploinsufficient mice. NTP Technical Report (NIH Publication No. 03-4459 http://ntp.niehs.nih.gov/ntp/htdocs/GMM_rpts/GMM1.pdf
36. Gurney JG, Pogoda JM, Holly EA et al (1997) Aspartame consumption in relation to childhood brain tumor risk: results from a case-control study. J Natl Cancer Inst 89:1072–1074
37. Guthrie JF, Morton JF (2000) Food sources of added sweeteners in the diets of Americans. J Am Diet Assoc 100:43–51
38. Hamoui N, Lord RV, Hagen JA et al (2006). Response of the lower esophageal sphincter to gastric distention by carbonated beverages. J Gastrointest Surg 10(6):870–877
39. Harnack L, Stang J, Story M (1999) Soft drink consumption among US children and adolescents: nutritional consequences. J Am Diet Assoc 99(4):436–441
40. Hassan MM, Hwang LY, Hatten CJ et al (2002) Risk factors for hepatocellular carcinoma: synergism of alcohol with viral hepatitis and diabetes mellitus. Hepatology 36(5):1206–1213
41. Hoek JB, Pastorino JG (2002) Ethanol, oxidative stress, and cytokine-induced liver cell injury. Alcohol 27:63–68
42. Homann N, Kärkkäinen P, Koivisto T, Nosova T, Jokelainen K, Salaspuro M (1997) Effects of acetaldehyde on cell regeneration and differentiation of the upper gastrointestinal tract mucosa. J Natl Cancer Inst 89(22):1692–1697
43. Huxley R, Ansary-Moghaddam A, Berrington de Gonzalez A et al (2005) Type-II diabetes and pancreatic cancer: a meta-analysis of 36 studies. Br J Cancer 92:2076–2083

44. Ibiebele TI, Hughes MC, O'Rourke P et al (2008) Australian cancer study. Cancers of the esophagus and carbonated beverage consumption: a population-based case-control study. Cancer Causes Control 19(6):577–584
45. Jee SH, Ohrr H, Sull JW et al (2005) Fasting serum glucose level and cancer risk in Korean men and women. JAMA 293:194–202
46. Ketcham AS, Wexler H, Mantel N (1963) Affects of alcohol in mouse neoplasia. Cancer Res 23:667–670
47. Kubo A, Levin TR, Block G et al (2009) Alcohol types and sociodemographic characteristics as risk factors for Barrett's esophagus. Gastroenterology 136(3):806–815
48. Lagergren J, Viklund P, Jansson C (2006). Carbonated soft drinks and risk of esophageal adenocarcinoma: a population-based case-control study. J Natl Cancer Inst 16 98(16):1158–1161
49. Larsson SC, Bergkvist L, Wolk A (2006) Consumption of sugar and sugar sweetened foods and the risk of pancreatic cancer in a prospective study. Am J Clin Nutr 84:1171–1176
50. Larsson SC, Giovannucci E, Wolk A et al (2007) Alcoholic beverage consumption and gastric cancer risk: a prospective population-based study in women. Int J Cancer 120:373–377
51. Larsson SC, Orsini N, Wolk A (2007) Body mass index and pancreatic cancer risk: a meta-analysis of prospective studies. Int J Cancer 120:1993–1998
52. Le Roith D (1997) Seminars in medicine of the Beth Israel Deaconess Medical Center: insulin-like growth factors. N Engl J Med 336:633–640
53. Leo MA, Lieber CS (1999) Alcohol, vitamin A, and beta-carotene: adverse interactions, including hepatotoxicity and carcinogenicity. Am J Clin Nutr 69:1071–1085
54. Magnuson BA, Burdock GA, Doull J et al (2007) Aspartame: a safety evaluation based on current use levels, regulations, and toxicological and epidemiological studies. Crit Rev Toxicol 37:629–727
55. Maier H, Born IA, Veith S, Adler D, Seitz HK (1986) The effect of chronic ethanol consumption on salivary gland morphology and function in the rat. Alcohol Clin Exp Res 10:425–427
56. Malik VS, Schulze MB, Hu FB (2006) Intake of sugar-sweetened beverages and weight gain: a systematic review. Am J Clin Nutr 84:274–288
57. Mallath MK (2006) Re: carbonated soft drink consumption and risk of esophageal adenocarcinoma. J Natl Cancer Inst 3 98(9):644–645
58. Mathers C, Stevens G, Mascarenhas M (2009) Global health risks: mortality and burden of disease attributable to selected major risks. WHO Press, Geneva (www.who.int)
59. Mayne ST, Risch HA, Dubrow R et al (2006) Carbonated soft drink consumption and risk of esophageal adenocarcinoma. J Natl Cancer Inst 4 98(1):72–75
60. McCloy RF, Greenberg GR, Baron JH (1984) Duodenal pH in health and duodenal ulcer disease: effect of a meal, Coca-Cola, smoking, and cimetidine. Gut 25(4):386–392
61. Meining A, Classen M (2000) The role of diet and lifestyle measures in the pathogenesis and treatment of gastroesophageal reflux disease. Am J Gastroenterol 95:2692–2697
62. Michaud DS, Vrieling A, Jiao L et al (2010) Alcohol intake and pancreatic cancer: a pooled analysis from the pancreatic cancer cohort consortium (PanScan). Cancer Causes Control 21:1213–1225
63. Michaud DS, Wolpin B, Giovannucci E et al (2007) Prediagnostic plasma C-peptide and pancreatic cancer risk in men and women. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 16:2101–2109
64. Molina PE, Hoek JB, Nelson S et al (2003) Mechanisms of alcohol induced tissue injury. Alcohol ClinExp Res 27:563–575
65. Morgan TR, Mandayam S, Jamal MM (2004) Alcohol and hepatocellular carcinoma. Gastroenterology 127:S87–S96

66. Mueller NT, Odegaard A, Anderson K et al (2010) Soft drink and juice consumption and risk of pancreatic cancer: the Singapore Chinese Health Study. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 19(2):447–455
67. Nielsen SJ, Siega-Riz AM, Popkin BM (2002) Trends in energy intake in U.S. between 1977 and 1996: similar shifts seen across age groups. Obes Res 10(5):370–378
68. Nothlings U, Murphy SP, Wilkens LR et al (2007) Dietary glycemic load, added sugars, and carbohydrates as risk factors for pancreatic cancer: the Multiethnic Cohort Study. Am J Clin Nutr 86:1495–1501
69. Olney JW, Farber NB, Spitznagel E et al (1996) In creasing brain tumor rates: is there a link to aspartame? J Neuropathol Exp Neurol 55:1115–1123
70. Oneta CM, Lieber CS, Li JJ et al (2002) Dynamics of cytochrome P4502E1 activity in man: induction by ethanol and disappearance during withdrawal phase. J Hepatol 36:47–52
71. Pandeya N, Williams G, Green AC et al (2009) Australian cancer study. Alcohol consumption and the risks of adenocarcinoma and squamous cell carcinoma of the esophagus. Gastroenterology 136(4):1215–1224
72. Pöschl G, Seitz HK (2004) Alcohol and cancer. Alcohol Alcohol 39:155–165
73. Pouderoux P, Friedman N, Shirazi P et al (1997) Effect of carbonated water on gastric emptying and intragastric meal distribution. Dig Dis Sci 42:34–39
74. Reda A, Pattison J (2007) The global carbonates report. Canadean Ltd, England (www.candean.com)
75. Ren JS, Freedman ND, Kamangar F et al (2010) Tea, coffee, carbonated soft drinks and upper gastrointestinal tract cancer risk in a large United States prospective cohort study. Eur J Cancer 46(10):1873–1881
76. Rencüzoğullari E, Tüylü BA, Topaktaş M et al (2004) Genotoxicity of aspartame. Drug Chem Toxicol 27(3):257–268
77. Schernhammer ES, Hu FB, Giovannucci E et al (2005) Sugar-sweetened soft drink consumption and risk of pancreatic cancer in two prospective cohorts. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 14(9):2098–2105
78. Schulze MB, Manson JE, Ludwig DS et al (2004) Sugar-sweetened beverages, weight gain, and incidence of type 2 diabetes in young and middle-aged women. JAMA 292:3455–3457
79. Secretan B, Straif K, Baan R et al (2009) A review of human carcinogens—part E: tobacco, areca nut, alcohol, coal smoke, and salted fish. Lancet Oncol 10(11):1033–1034
80. Seitz HK, Meier P (2007) The role of acetaldehyde in upper digestive tract cancer in alcoholics. Transl Res 149(6):293–297
81. Sjodahl K, Lu Y, Nilsen TI et al (2007) Smoking and alcohol drinking in relation to risk of gastric cancer: a population-based, prospective cohort study. Int J Cancer 120:128–132
82. Soffritti M, Belpoggi F, Degli Esposti D et al (2006) First experimental demonstration of the multipotential carcinogenic effects of aspartame administered in the feed to Sprague-Dawley rats. Envir Health Perspect 114:379–385
83. Soffritti M, Belpoggi F, Manservigi M et al (2010) Aspartame administered in feed, beginning prenatally through life span, induces cancers of the liver and lung in male Swiss mice. Am J Ind Med 53(12):1197–1206
84. Soffritti M, Belpoggi F, Tibaldi E et al (2007) Life-span exposure to low doses of aspartame beginning during prenatal life increases cancer effects in rats. Environ Health Perspect 115:1293–1297
85. Stickel F, Seitz HK (2004) Ethanol and methytransfer: its role in liver disease and hepatocarcinogenesis. In: Watson RR, Preedy VR (eds) Nutrition and alcohol: linking nutrient interactions and dietary intake. CRC Press, London
86. Takada A, Nei J, Takase S, Matsuda Y (1986) Effects of ethanol on experimental hepatocarcinogenesis. Hepatology 6:65–72
87. The European Food Safety Authority (2006) Opinion of the scientific panel AFC related to new long-term carcinogenicity study on aspartame. EFSA J 356:1–44

88. The European Food Safety Authority (2011) EFSA statement on the scientific evaluation of two studies related to the safety of artificial sweeteners. EFSA J 9(2):2089
89. Tippett KS, Cypel YS (1998) Food and nutrient intakes by income. In: Design and operation: the continuing survey of food intakes by individuals and the diet and health knowledge survey, 1994–1996. United States Department of Agriculture, Agricultural Research Service, Washington, D.C. Data Table available at: www.ars.usda.gov/SP2UserFiles/Place/12355000/pdf/Income.pdf
90. Trichopoulos D (1999) Response to Schwartz GR. Aspartame and breast and other cancers. West J Med 171:301
91. Trocho C, Pardo R, Rafecas I (1998) Formaldehyde derived from dietary aspartame binds to tissue components in vivo. Life Sci 63:337–349
92. Wainfan E, Dizik M, Stender M, Christman JK (1989) Rapid appearance of hypomethylated DNA in livers of rats fed cancerpromoting, methyl-deficient diets. Cancer Res 49(4094–4097):164
93. Wang XD (2003) Retinoids and alcohol-related carcinogenesis. J Nutr 133:287S–290S
94. Watanabe H, Takahashi T, Okamoto T, Ogundigie PO, Ito A (1992) Effects of sodium chloride and ethanol on stomach tumorigenesis in ACI rats treated with N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine: a quantitative morphometric approach. Jpn J Cancer Res 83:588–593
95. Weihrauch MR, Diehl V (2004) Artificial sweeteners—do they bear a carcinogenic risk? Ann Oncol 15:1460–1465
96. Wight AJ, Ogden GR (1998) Possible mechanisms by which alcohol may influence the development of oral cancer—a review. Oral Oncol 34:441–447
97. Wiseman M (2008) the second world cancer research fund/American Institute for Cancer Research expert report. Food, nutrition, physical activity, and the prevention of cancer: a global perspective. Proc Nutr Soc 67:270–271
98. Wu AH, Wan P, Bernstein L (2001) A multiethnic population-based study of smoking, alcohol and body size and risk of adenocarcinomas of the stomach and esophagus (United States). Cancer Causes Control 12(8):721–732
99. Wu WJ, Wolcott RM, Pruett SB (1994) Ethanol decreases the number and activity of splenic natural killer cells in a mouse model for binge drinking. J Pharmacol Exp Ther 271:722–729
100. Zhang X, Albanes D, Beeson WL et al (2010) Risk of colon cancer and coffee, tea, and sugar-sweetened soft drink intake: pooled analysis of prospective cohort studies. J Natl Cancer Inst 2 102(11):771–783
101. Zvrko E, Gledovic Z, Ljaljevic A (2008) Risk factors for laryngeal cancer in Montenegro. Arh Hig Rada Toksikol 59(11–8):9

Doğal Antienflamatuar ve Antikanser İlaçlar

Barbora Orlikova, Noémie Legrand, Jana Panning, Mario Dicato ve Marc Diederich

Özet

Bitki ekstreleri çeşitli hastalıkların tedavisinde yüzyıllar boyunca kullanılmıştır. Bugüne kadar toprak ve deniz bitkilerinden veya mikroorganizmalarından elde edilen ve antioksidan, antiproliferatif ve antianjiogenik özelliklere sahip oldukları için tümör büyümesini azaltabilen beşyüzden fazla bileşik kanser tedavisinde önemli bir rol oynamıştır. Günümüzde bitki, hayvan, deniz organizmaları ve mikroorganizmaların verimli ve hızlı bir biçimde incelenebilmesine olanak veren özgün teknolojiler ile yeni doğal ürünlerin keşif süreçleri hızlanmıştır. Bitkilerden elde edilen bileşikler olan vinkristin, irinotekan, etopozid ve paklitaksel kanser tedavisinde kullanılan örneklerdir. Aktinomisin D, mitomisin C, bleomisin, doksorubisin ve lasparaginaz da mikroorganizmalardan benzer şekilde elde edilen ilaçlardır. Bu incelemede antienflamatuar ve antikanser aktiviteye sahip doğal bileşiklerin moleküler mekanizmalarını tanımlayacağız.

Anahtar Kelimeler

Doğal bileşikler · Kanser · Enflamasyon · Siklooksijenaz · Nükleer faktör kappa B · Kemoterapi · Kemoprevensiyon

B. Orlikova · N. Legrand · J. Panning · M. Dicato · M. Diederich (✉)
Laboratoire de Biologie Moléculaire et Cellulaire du Cancer, Fondation de Recherche Cancer et Sang, Hôpital Kirchberg, 9, rue Edward Steichen, L-2540, Luxembourg, Luxembourg
e-mail: marc.diederich@lbmcc.lu

M. Diederich
College of Pharmacy, Seoul National University, Seoul, 151-742, South Korea

V. Zappia et al. (eds.), *Advances in Nutrition and Cancer,*
Cancer Treatment and Research 159, DOI: 10.1007/978-3-642-38007-5_8,
© Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2014

Kısaltmalar

VEGF	Vasküler endotelyal büyüme faktörü
ROS	Reaktif oksijen türleri
NF-κB	Transkripsiyon faktörü nükleer faktör κB
N-pirazinekarbonil-L-fenil-alanin-L-lösin boronik asit	Bortezomib
BAFF	B-hücresi aktive edici faktör
NIK	NF-κB-indükleyici kinaz
STAT	Sinyal dönüştürücü ve transkripsiyon aktivatörü
COX-2	Siklooksijenaz-2
CDK	Sikline bağımlı kinaz
EEF2	Ökaryotik uzama faktörü 2
PKC	Protein kinaz C
PI3K	Fosfoinositid 3-kinaz
MAPK	Mitojen aktive protein kinaz
MLCK	Miyozin hafif zincirli kinaz
ATM	Ataksi telanjiektazi mutasyonu
PAL	Fenilalanin amonyak-liyaz
EGCG	Epigallokateşin gallat
IKK	IκB kinazı inhibe eder
DHA	Dokosaheksaenoik asit
EPA	Eikosapentaenoik asit
ETA	11, 14, 17-eikosatrienoik asit

İçindekiler

1 Giriş 125
2 Kanser ve Lösemi 126
2.1 Giriş 126
2.2 Kanserin Özellikleri 127
3 Etkinleştirici Özellikler: Enflamasyon 129
3.1 Giriş 129
3.2 Nükleer Faktör Kappa B Hücresi Sinyal Yolakları 129
3.3 Siklooksijenaz-2: Enflamasyonun Önemli bir Medyatörü 132
4 Antikanser Ajanı Olarak Doğal Bileşikler 132
4.1 Kara Bitkilerinden Elde Edilen Antikanser Bileşikler 132
4.2 Deniz Organizmalarından Elde Edilen Bileşikler 133
4.3 Mikroorganizmalardan Elde Edilen Bileşikler 133
4.4 Diyet Bileşikleri 134

4.5 Kalkonlar 134
5 Siklooksijenaz-2'nin Doğal Ürünlerle Modülasyonu 135
5.1 Transkripsiyonel Düzeyde Regülasyon 135
5.2 Posttranskripsiyonel Düzeyde Regülasyon 136
5.3 Posttranslasyonel Regülasyon 137
6 Sonuçlar 138
Referanslar 138

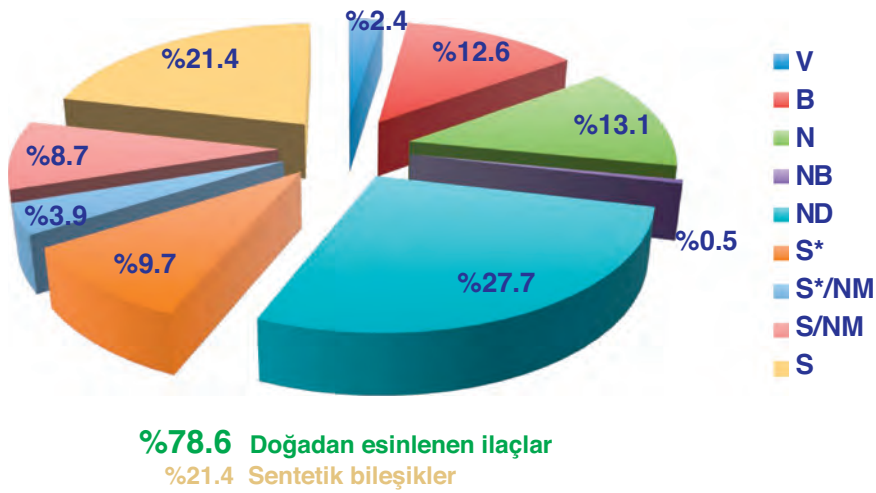
1 Giriş

Doğal bir bileşiğin tanımlanması çok karmaşıktır. Doğal ürünler geleneksel olarak yaşayan organizmalar tarafından üretilen ve biyolojik veya farmakolojik aktiviteye sahip kimyasal bileşikler olarak tanımlanırlar. Doğal bir ürün kimyasal olarak doğal ürünle özdeş olarak sentezlenebilir. Newman ve Cragg tarafından doğal ürünlerin kemoterapötik ilaç keşfi ve gelişimine katkılarını açıklamak amacıyla 1940-2010 yılları arasında onaylanan tüm antikanser ilaçların değerlendirilmesi sonucunda bir ilaç sınıflandırması geliştirilmiştir. Analizlerinde onaylı 206 antikanser ajanını net olarak tanımlayıp gruplara sınıflamışlardır [1].

İlk 8 kategorideki bileşikler doğal olarak üretilen veya doğadan esinlenen ürünlerden oluşurken, son kategorideki ürünler ise herhangi bir doğal yöntem kullanılmadığı için tamamen sentetik olan tek grubu oluşturmaktadırlar. Onaylı antikanser ajanlarının %78.6'sı ya doğal ya da doğal ürünlerden kaynaklanan ya da doğal ürünleri farklı şekillerde taklit eden ajanlardır (Şekil 1). Bu ajanların sadece %24.1'i doğada prototipi veya konsepti mevcut olmayan tamamen sentetik ürünlerdir. Bu veriler göz önüne alındığında Tabiat Ana'nın modern tedavilerdeki predominant rolü net olarak anlaşılmaktadır. Bu sınıflandırma doğal kaynaklar kullanılarak üretilen ilaçların önemini de vurgulamaktadır.

Ancak canlı organizmaların aslında dikkat çekici olan biyoaktif bileşikleri bazı durumlarda çok az miktarlarda sentezleyebilmeleri ve natürel ürünlerin sınırlı biyoaktiviteleri nedeniyle kullanımlarına yönelik kısıtlamalar mevcuttur. Molekülün polaritesi hücre içine alımını sıklıkla komplike hale getirerek aktivitesini azalmaktadır.

Buna karşın aktif ürün yapısına fonksiyonel grupların eklenmesi, çıkartılması veya modifiye edilmeleri ile natürel ürünlerin optimize edilebilmeleri mümkündür. Diğer taraftan, natürel ürünlerden esinlenen kombine sentezler kısa zamanda çok sayıda bileşiğin ortaya çıkmasına neden olmuştur. Gelecekte kuvvetli ilaç geliştirilebilmesi adına ümit vadeden stratejiler mevcuttur.



Şekil 1 Newman ve Cragg'e göre kanser ilaçlarının sınıflandırılması [1]. Bu sınıflandırma 9 kategori içermektedir. *N* modifiye edilmemiş doğal ürünler *ND* doğal bir üründen elde edilen (genellikle natürel bir ürünün yarı sentetik modifikasyonu ile) ürünler *NB* Amerikan Gıda ve İlaç idaresi (FDA) veya benzer bir organizasyon tarafından onaylı, tanımlı natürel-botanik karışım *V* Aşılar *B* Genel olarak büyük bir peptid veya proteinden oluşan biyolojik ajanlar *S** Doğal bir üründen esinlenen farmakora sahip, sentetik bileşikler *S*/NM* Doğal bir üründen esinlenen farmakora sahip, doğal ürün substratını yarışmalı olarak inhibe eden (doğal ürünü taklit eden) sentetik bileşikler *S/NM* Doğal ürün substratını yarışmalı olarak inhibe eden sentetik bileşikler *S* Doğal ürünler ile ilişkisi olmayan bileşikler.

2 Kanser ve Lösemi

2.1 Giriş

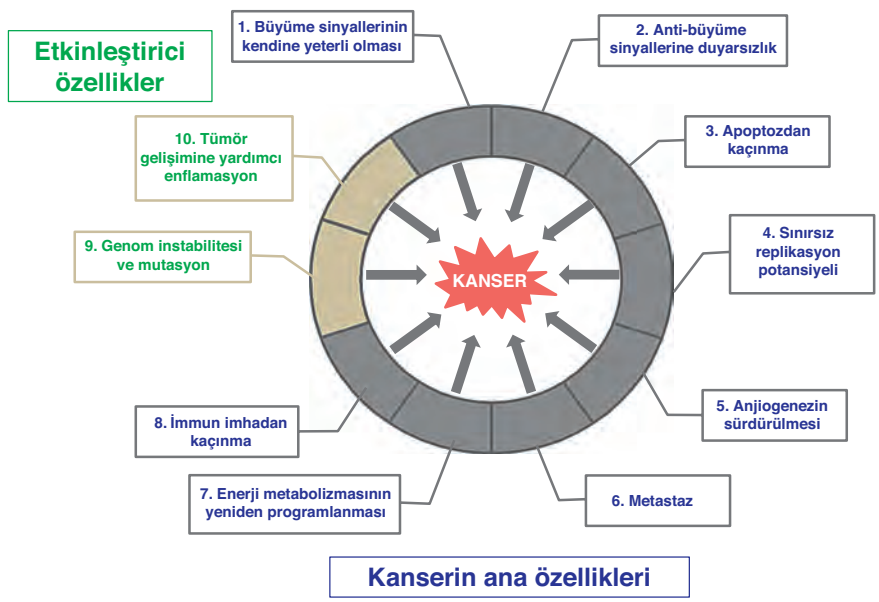
2008 yılında Avrupa'da yaşayan 2.46 milyon kişi kansere yakalanmıştır. Ortalama morbidite yaşı hem erkek hem de kadınlar için 69'dur. Kadınlarda en sık meme kanseri görülürken, erkeklerde prostat kanseri birinci sıradadır. Kanserle ilgili bilinen risk faktörleri sigara, obezite, diyet ve fiziksel inaktivitedir. Ayrıca UV ışınlarının ve viral enfeksiyonların da zararlı oldukları kabul edilir. Kanser yaşla artan ve kontrolsüz hücre üremesi ve yayılımı ile karakterize bir hastalıktır. Günümüzde genetik bir hastalık olarak kabul edilen kanserin gelişimi komplike ve çok aşamalı bir prosestir. Kanser gelişimine yol açan birkaç tane önemli neden vardır. Birincisi kanserin onkogenlerin aktivasyonu ile oluşabilmesidir. Sigara, iyonize radyasyon ve UV ışınları ile ortaya çıkabilen DNA mutasyonları onkogenlerin aktivasyonuna yol açarak büyüme faktörleri ve sekonder haberciler gibi anormal hücre büyümesinin promotörlerini kodlarlar. Onkogenlerin aktivasyonu kromozomal translokasyonlar ile de gerçekleşebilir. Bu durumda bir genin son kısmı diğer bir genin başlangıç kısmına transloke olarak bir onkogen olabilen füzyon geninin gelişimine yol açar. Son olarak viral RNA, revers trankriptazın etkisi ile insan hücre

DNA'sına entegre olabilen cDNA'ya kopyalanabilir. Bu entegrasyon bir onkogenin içinde gerçekleşirse onkogen aktive olabilir. Ayrıca hücre siklusunu, hücre farklılaşmasını ve apoptozisi kontrol eden tümör baskılayıcı genlerin deaktivasyonu da kanser başlangıcına neden olabilir. İnaktivasyonları kontrolsüz büyümeye yol açabilir. Tümör baskılayıcı genlerin fonksiyonlarının baskılanması sıklıkla kopyalanan proteinin deaktivasyonu ile gerçekleşir. Örneğin viral proteinlerin tümör baskılayıcı proteinlere bağlanmaları bu inhibisyonu aktive edebilir.

2.2 Kanserin Ana Özellikleri

Düzenleyici devrelerin etkisizleşmesi kanser hücrelerini karakterize eden özelliktir. Normal hücrelerden farklı olarak kanser hücrelerindeki proliferasyon ve homeostaz artık kontrol altında değildir [2]. Hanahan ve Weinberg yakın zamanda güncelledikleri kanserin özellikleri ile ilgili öncü makalelerinde sekiz ana özellik ve iki etkinleştirici özellikten oluşan on tane moleküler değişimin malign hücre büyümesine katkı yaptığını belirtmişlerdir (Şekil 2) [3].

Büyüme sinyallerinin kendine yeterli olması Kanser hücreleri kronik proliferasyonu sürdürebilirler. Diğer taraftan kanser hücreleri otokrin stimülasyona yol açan kendi büyüme faktörlerini de sentezlerler. Ayrıca büyüme faktörlerinden faydalanabilmek için çevrelerindeki normal hücreleri de stimüle edebilirler. Hücre yüzeyindeki reseptörlerin artan ekspresyonu veya mutasyonu ile kanser hücrelerinin büyüme faktörlerinin sinyallerine aşırı duyarlı hale gelmesine de neden olabilirler.



Şekil 2 Karsinogenez on farklı moleküler değişime dayanır; [3] nolu referanstan modifiye edilmiştir.

Tümör baskılayıcı genlerin büyümeyi inhibe edici sinyallerine duyarsızlık Hücre büyümesi ve proliferasyonun sınırlı olmasını sağlar. Yukarıda da anlatıldığı üzere kanser hücrelerindeki tümör baskılayıcı genlerin sıklıkla deaktive olmaları sürekli hücre proliferasyonuna yol açmaktadır.

Apoptozdan kaçınma Apoptoz kanser gelişiminin önünde doğal bir bariyerdir. Ancak kanser hücreleri tarafından inhibe edilebilir veya hücreler apoptozun etkisinden kaçınabilirler. Bu durum tümör baskılayıcı genlerdeki mutasyonlara, antiapoptotik Bcl-2 ve Bcl-xL genlerinin aşırı ekspresyonuna veya Bax gibi proapoptotik faktörlerin aşağı regülasyonuna bağlı olarak oluşur.

Sınırsız replikasyon potansiyeli Kromozom uçlarındaki tandem heksanükleotid kopyaları olan telomerler sınırlı sayıda hücre döngüsüne izin verirler. Proliferasyonun ilerlemesi ile kromozomların uçlarına kadar kısalan telomerler artık korunamazlar. Kromozomlar uçtan uca füzyonlar ile kararsız hale gelirler. Hücre apoptoz döngüsüne girer. Telomeraz ekspresyonu özelleşmiş bir DNA polimerazın telomer kopya segmentlerini telomerik DNA'ya eklemesini sağlar. Kanser hücreleri bu kısıtlamanın üstesinden gelerek ölümsüzlük özelliği kazanırlar.

Anjiogenezin korunması Vasküler endotelyal büyüme faktörü (VEGF) gibi proanjiogenik faktörlerin aşırı ekspresyonu veya trombospondin-1 gibi inhibitörlerin aşağı regülasyonu sonucu tümörün beslenmesi ve oksijen kullanımı düzelirken, metabolik atık ve karbondioksiti atması da kolaylaşır.

Metastaz Bu tehlikeli özellik E-kaderin gibi hücreler arası adezyon moleküllerinin kaybı ile ortaya çıkar. Metastaz, invazyon-metastaz kaskadı adı verilen bir dizi aşama ile ilerler. Birinci aşama invazyonu hücrelerin kan damarlarına intravazasyonunun takip etmesidir. Hücreler daha sonra lenfatik ve hematojen sistemler ile taşınmaya başlarlar. Kanser hücreleri bir sonraki ekstravazasyon aşamasında parenkime taşınarak mikrometastazları oluştururlar. Son olarak mikrometastazlar büyüyerek kolonizasyon adı verilen bir proses ile makroskopik tümörleri oluştururlar.

Son zamanlarda iki yeni özellik daha tanımlanmıştır:

Enerji metabolizmasının yeniden programlanması Kanser hücreleri kontrolsüz hücre proliferasyonunu sağlayabilmek için metabolizmalarını yeterli enerji kazanacak şekilde ayarlamak zorundadırlar. Onkogenlerin ve hipoksinin etkisi altındaki hücre metabolizmasının bazı durumlarda glikolitik ara ürünlerin akümülasyonuna yol açan anaerobik glikolize değiştiği bulunmuştur. Bu enerji yolağı için gereken glukoz ihtiyacı arttığı için, kanser hücreleri glukoz taşıyıcılarını sıklıkla aşırı miktarda eksprese ederek hücre içine glukoz girişini artırırlar.

İmmun imhadan kaçınma immun sistem tümör gelişimine karşı doğal bir bariyer oluşturur. Ancak kanser hücreleri tespit ve imha edilmekten immun hücreleri engelleyerek kaçınırlar. Örneğin immunosupresif faktörler salgılayarak veya immunosupresif enflamatuar hücrelerin başka yöne konsantre olmalarını sağlayarak bunu gerçekleştirirler.

Hanahan ve Weinberg'e göre bu özelliklerin kazanılmasını iki etkinleştirici özellik kolaylaştırmaktadır (Şekil 2).

Genomik instabilite ve mutasyon Kanser hücrelerinin mutasyon kapasiteleri, mutajenik bileşiklere daha yüksek duyarlı olmaları, doğal genomik tamir sisteminin ve genomun bütünlüğünü kontrol eden takip sistemlerinin bozulması nedeniyle artmıştır. Yukarıda açıklanan bu özelliklerin gelişimi büyük oranda genomdaki değişimlere bağlıdır [3].

Kronik enflamasyon Tümöre biyoaktif büyüme faktörleri, sağkalım faktörleri ve proanjiogenik faktörler gibi biyoaktif moleküller ile reaktif oksijen türleri sağlayan enflamasyon kanser, özelliklerinin gelişim sürecine katkı yapmaktadır [3].

Bu özellikler ve etkinleştirici karakteristikler modern antikanser tedavinin hedefi olarak değerlendirilebilir. Doğal bileşikler bu moleküler hedeflerin incelenmesinde kullanılabilecek mükemmel araçlardır. Biyomedikal uygulamalarda kullanılabilen özgün terapötik ve kemopreventif bileşikleri de sağlayabilirler [4–8].

3 Etkinleştirici Özellikler: Enflamasyon

3.1 Giriş

Kanserin özelliklerinden ve etkinleştirici karakteristiklerinden birisi olan enflamasyon ve ilgili hücre sinyal mekanizmaları son yıllarda ciddi anlamda ilgi çekmektedir. Enflamatuar bir ortamın kanser gelişimine yol açabileceği Mantovani ve ark. tarafından gayet iyi dökümante edilmiştir (Şekil 3) [9]. DNA hasarı nedeniyle etkinleşen proliferasyon özelliği ile prolifere olmaya devam eden hücrelerin büyümeleri, salgılanan sitokinler, kemokinler ile değişime uğrayan enflamatuar hücreler tarafından üretilen büyüme faktörleri tarafından desteklenir [9, 10]. Doğal bileşikler bu özelliği etkin bir şekilde inhibe edebilirler [11].

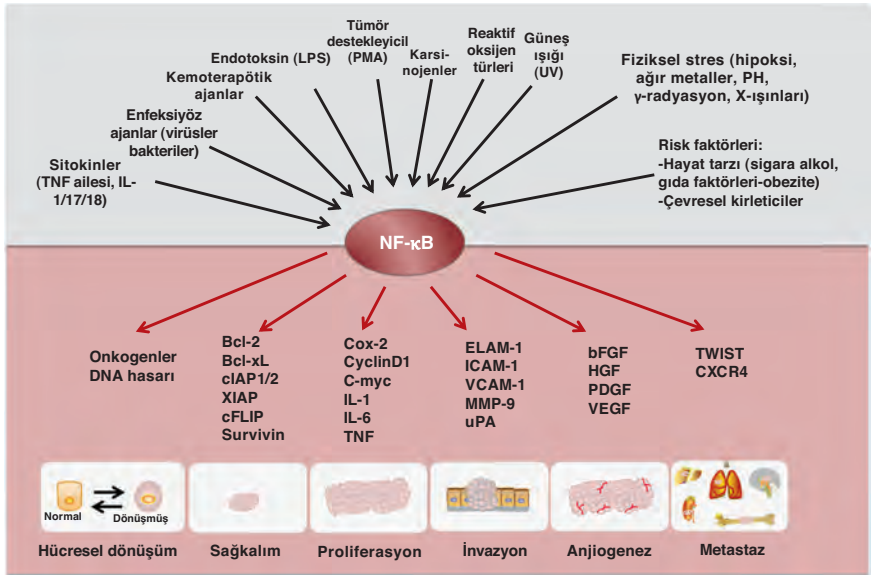
3.2 Nükleer Faktör Kappa B Hücresi Sinyal Yolakları

Enflamatuar ve yerleşik immun cevapta rol oynayan santral bir moleküler mekanizma transkripsiyon faktörü nükleer faktör κB'dir (NF-κB) [12]. NF-κB'nin yukarıda bahsedilen değişimlerin hepsini değilse bile çoğunu kontrol eden 550'den fazla geni transaktive ettiği gösterilmiştir [13, 14]. Bu nedenle bortezomib (N-pirazinkarbonil-L-alanin-L-lösin boronik asit) gibi proteazomu inhibe eden NF-κB inhibitörlerinin kanser tedavisinde ümit vadeden yeni bir yaklaşım getirdiği düşünülmektedir [14, 15].

NF-κB ailesi beş üyeden oluşur: relA (p65), relB, cRel, NF-κB1 (p50), ve NF-κB2 (p52) [14]. Bu proteinler homodimer ve heterodimerleri oluşturur [10, 14].

NF-κB aktivasyonuna yol açan dört yolak mevcuttur (Şekil 4).

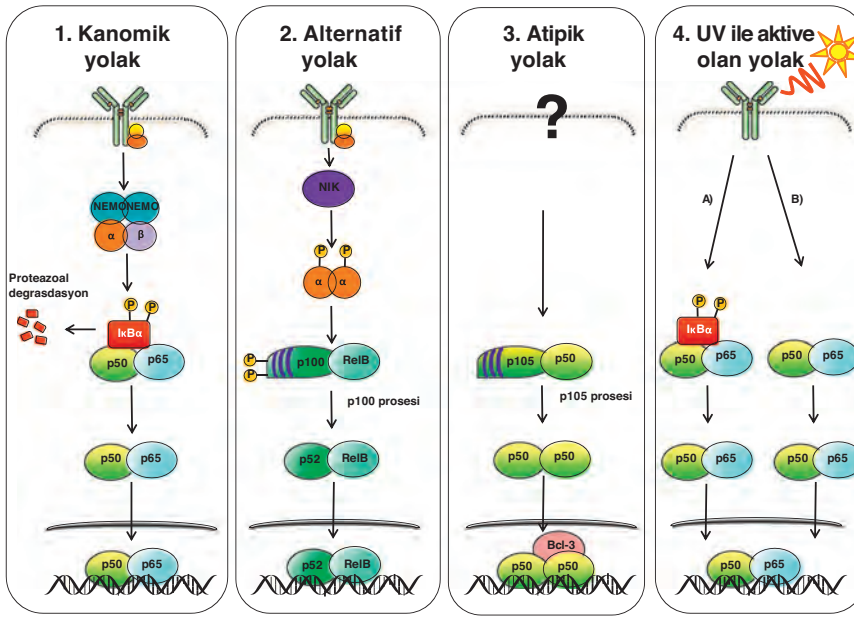
1. Birincisine kanonik NF-κB aktivasyon yolağı adı verilir. ReIA-p50 dimerleri nonstimüle şartlarda κB İnhbitörü (IκB) adı verilen inhibitör protein ile ilişkili oldukları için sitoplazmada inaktif formda kalırlar. Hücre yüzey reseptörlerinin TNF-α stres



Şekil 3 Enflamasyon, NF-κB ve kanser arasındaki ilişki; [10] nolu referanstan modifiye edilmiştir.

sinyalleri gibi proenflamatuar sitokinlerle veya lipopolisakaridler gibi patojenle ilişkili moleküler paternler (PAMP'ler) ile stimülasyonu sonrası IκB kinaz (IKK) aktive olarak IκB'yi fosforlar. Devamında IκB'ye ubikutin eklendikten sonra proteazom tarafından degrade edilir. Serbest bırakılan NF-κB transkripsiyon faktörü çekirdeği transloke ederek kanserin başlamasında, desteklenmesinde ve progresyonunda rol oynayan birçok hedef genin transkripsiyonunu aktive eder [14, 16, 17].

2. Nonkanonik ve alternatif NF-κB sinyal yolağı adı verilen ikinci yolak p100-ReIB kompleksini aktive eder. Bu durumda B-hücresi aktive edici faktör (BAFF) gibi TNF-üst ailesinin üyeleri veya CD40 ligandı, NF-κB indükleyici kinazı (NIK) reseptörlerine bağlanarak aktive eder. NIK devamında IKKα'yı aktive eder. IKKα p100'ün IκB benzeri bölgesinin iki serin kalıntısını fosforlar. Sonuçta p100 proteazom tarafından kısmen degrade edilir ve p52-ReIB kompleksi serbest kalır [10, 14, 17].
3. Üçüncü NF-κB aktivasyon yolağı (atipik yolak) IκB degradasyonunda bağımsızdır. Bu aktivasyonu regüle eden uyarıcılar hala net olarak bilinmemektedir. p105 stimülasyon sonrası p50 ile birlikte komplekste bulunur ve bir IκB benzeri bölgedeki serin kalıntılarındaki IKK'lar tarafından fosforillenir. Daha sonra ubikutin eklenen ve kısmen proteazom tarafından degrade edilen p105, p50 formasyonuna yol açar. Bcl-3 devamında p50 homodimere bağlanarak trimerik bir kompleks oluşturur. Kompleks daha sonra Bcl-3'ün CBP/p300 ile etkileşerek bir transkripsiyon aktivatörü görevi yaptığı ortamda çekirdeğe transloke olur [17, 18].



Şekil 4 NF-κB aktivasyonunun dört yolağı **a** Toll benzeri, TNF veya T hücre reseptörü tarafından aktive edilen klasik veya kanonik NF-κB aktivasyon yolağı. **b** BAFF reseptörü ve CD40 tarafından aktive edilen alternatif veya nonkanonik NF-κB sinyal yolağı. **c** Atipik yolak. **d** UV ile indüklenen yolak A erken faz yolağı ile B geç faz yolağı ile ([17] nolu referanstan uyarlanmıştır).

4. Dördüncü yolak UV tarafından indüklenen NF-κB aktivasyon yolağıdır. UV ışınları NF-κB'yi iki farklı mekanizma ile aktive eder: (a) erken faz IκB'ye bağımlı yolak, IκBa fosforilasyonuna ve proteazomal degradasyona yol açar (b) geç faz IκB'den bağımsız yolakta NF-κB bilinmeyen bir mekanizma ile serbest kalır [19, 20].

Sağlıklı hücrelerdeki NF-κB aktivasyonu regüle bir prosestir. Doğal NF-κB inhibitörü olan IκB de bu transkripsiyon faktörünün kontrolü altındadır [10]. Bu otoregüle döngüdeki NF-κB aktivasyonunun zaman ve yoğunluğu sınırlanmıştır [15]. Tümör hücrelerindeki moleküler değişimler NF-κB aktivasyonunun patolojik ve anlamlı yukarı regülasyonuna yol açarak kanser gelişiminde rol oynayan genlerin ekspresyonunu sağlar [10, 13]. Birçok tümörde NF-κB aktivasyonu tanımlanmıştır [10].

Ancak çeşitli kaynaklardan elde edilen doğal bileşikler NF-κB aktivasyonu ve ilgili hücre sinyal mekanizmaları ile etkili bir biçimde savaşabilir. Yakın zamanda, doğanın sunduğu mükemmel NF-κB inhibitörler ile ilişkili kanıtları sunmuş bulunuyoruz: kurkumin [21–23]; β-lapakon ve emodin, sanguinarin, ve kapsaisin [24]; kawainler [25]; naftopironlar [26]; kardenolidler [27, 28]; heteronemin [29]; poliketid türevleri [30]; kalkonlar [31, 32]; ve maun yaprağı ekstresinin [33] NF-κB hücre sinyal yolaklarını etkili olarak inhibe ettiklerini gösterdik. Güncel makalelerde bu konunun dünya çapında çok

aktif bir araştırma konusu olduğundan bahsedilmektedir [6, 22, 34–39]. Dikkate değer bir nokta da NF-κB'nın çok sık olarak sinyal dönüştürücü ve transkripsiyon aktivatörü (STAT) sinyal kaskadlarıyla ko-regüle olduğu ve doğal bileşiklerin bu yolakları etkili bir şekilde inhibe ettikleridir [40, 41].

3.3 Siklooksijenaz-2: Enflamasyonun Önemli bir Medyatörü

NF-κB yolağına ek olarak, siklooksijenaz ailesinin indüklenebilir bir formu olan siklooksijenaz-2'nin (COX-2) meme, kolon ve prostatı da içeren birçok kanser türünde ciddi oranda eksprese olduğu bulunmuştur [42]. Birçok çalışmada COX-2'nin erken preneoplastik evrelerden itibaren sabit bir şekilde eksprese olduğu gösterilmiştir. Bu bulgu birçok araştırıcının COX-2'yi kemoprevensiyon ve kanser tedavisinde potansiyel hedef olarak belirlemeye teşvik etmiştir. Enzimatik aktiviteyi hedefleyen sentetik COX-2 inhibitörleri COX-2'yi etkisizleştirebilen tek klinik stratejidir. Ancak bu bileşiklerin ciddi yan etkileri kemoprevensiyon veya kanser tedavisi için gerekli olan uzun süreli kullanımlarını kısıtlamaktadır. Doğal COX-2 inhibitörlerinin keşfi yan etkilerin önlenmesini sağlayabileceği için, günümüzde aktif araştırmalar yapılan bir alan haline gelmiştir [43].

4 Antikanser Ajanı Olarak Doğal Bileşikler

4.1 Kara Bitkilerinden Elde Edilen Antikanser Bileşikler

Bitkiler hayatta kalabilmek ve kendilerini savunabilmek için alkaloidler gibi bileşiklere dayanan ve diğer bitkilerin büyümelerine engel olan multipl mekanizmalar geliştirmişlerdir. Örnek olarak Catharantus roseus'dan (Cezayir Menekşesi) elde edilen bir Vinca alkaloidi olan vinkristin verilebilir. Serbest tubulin dimerlerini bağlayıp mikrotubul polimerizasyonuna engel olarak metafazı durdurur. Bir diğer iyi bilinen bileşik ise Mayıs Elmasının (Podophyllum peltatum) doğal bir podofilotoksini olan etopoziddir. Etopozid mitozdaki tümör hücrelerinin girişini topoizomeraz II aktivitesini inhibe edip çift sarmalı DNA'nın kırılmasını sağlayarak engeller. Ayrıca taksan ailesine ait moleküller olan paklitaksel ve dosetaksel de meme ve ovaryum kanserlerine karşı antitümör aktivite gösterirler. Paklitaksel Pasifik Okyanusu bölgesindeki Porsuk Ağacının (Taxus brevifolia) kabuğundan, dosetaksel ise aynı ağacın iğne yapraklarından elde edilir. Tubulin dimerlerindeki mikrotubullerin birleşimini stimüle ederek, mikrotubulleri depolimerizasyonu önleyerek stabilize ederler. Bu stabilite mikrotubuler ağın dinamik reorganizasyonunu engelleyrek mitozun durmasına yol açar. Flavopiridol ise ilk bulunan sikline bağımlı kinaz (CDK) inhibitörüdür [44]. Semisentetik bir flavono-

iddir. CDK'ların fosforilasyonuna müdahil olup G1 ve G2 fazlarındaki progresyonu engelleyerek hücre bölünmesini inhibe eder ve tümör hücrelerinin apoptozunu indükler. Flavopiridol ayrıca meme kanseri hücrelerinde aşırı eksprese olan siklin D1'in [45] ekspresyonunu azaltır. Bu bileşik diğer CDK'ların fosforilasyonunda rol oynayan kompleks cdk7/siklin H'nın da aktivitesini engeller. Bu bileşik ile yapılan klinik çalışmalar ve paklitaksel ve sisplatin gibi diğer doğal bileşiklerle yapılan kombinasyon testleri halen sürmektedir [46, 47].

4.2 Deniz Organizmalarından Elde Edilen Bileşikler

Deniz bitkileri büyük kimyasal çeşitlilik gösterirler. Deniz kaynaklarından elde edilen ürünler birçok kanser türüne karşı sitotoksik aktiviteye sahiptir [5, 29, 34, 35, 38, 48–51].

Didemnin B 1981'de Karayip Zarlısından (Tridemnum solidum) izole edilen ilk deniz kaynaklı bileşiktir. Ökaryotik uzama faktörü 2'nin (EEF2) translokasyonunu engelleyerek protein sentezini inhibe eder [52]. Didemnin B kaspazları aktive ederek hücre apoptozuna yol açar [53].

Dolastatinler Hint Okyanusu yumuşakçası Dollabella auriculariadan elde edilen peptidlerdir. Antineoplastik özellik taşırlar. Örneğin dolastatin 15 mikrotübül formasyonuna müdahil olup, metafazdaki hücre bölünmesini bloke ederek mitozu engeller [54].

Bryostatinler yosun türü olan Bugula neritinadan izole edilmiştir. Bu tür, aktif bir biyomolekül olan bryostatin salgılayan bir bakteri ile simbiyoz halinde yaşarlar. Bileşik bryozoaların larvalarını yırtıcı balıkları kaçırarak korur. Makrolid olan bryostatinler 15 farklı türevi olan bir ailedir. Bryostatin 1 en iyi bilinen antikanser ajandır. Bu bileşikler lenfoblastik lösemide Bcl-2'ye ubikutin eklenmesini ve proteazom degradasyonunu indükler ve kemik iliği hücrelerinde progenitör hücrelerin üremesine izin verir [55]. Bryostatinler protein kinaz C'nin (PKC) potent aktivatörleridir. Hücrelerin aktivasyon, büyüme ve farklılaşmalarını regüle ederler [46, 47].

4.3 Mikroorganizmalardan Elde Edilen Bileşikler

Mikroorganizmalar tehlikeli ortamlarda ve doku/organlarda sağ kalabilmek çok gelişmiş immun sistemlerini de içeren sofistike mekanizmalar geliştirmişlerdir. Bu nedenle bir dokuyu istila ederken farklı stratejiler kullanırlar. İmmun sistem hücrelerini yok eden toksinlerin salgılanması ve savunma sistemleri tarafından tanınmalarına engel olan kamuflaj özelliği örnek olarak verilebilir. Mikroorganizmalar elde edilen bileşikler bu multipl özellikleri nedeniyle kanser tedavisi için ilgi çekici bir konu oluşturmaktadır.

Streptomyces hygroscopicusdan izole edilen rapamisinin antifungal ve antiproliferatif özellikleri vardır. Rapamisin hücre büyüme ve proliferasyonunu kontrol eden mTOR

yolağını inhibe eder [56]. mTOR aktivasyonu hücrelerin hücre döngüsü içine girmelerine izin verir. Rapamisin transplantasyon sonrası allogreft reddini engeller. İn vivo ve in vitro ortamda çok sayıda tümör üzerinde antiproliferatif etki gösterir [56]. T ve B hücrelerindeki G1, osteosarkom ve diğer tümör hücrelerinin hücre döngüsündeki progresyonlarını bloke eder.

Wortmannin, Penicillium fumiculosumdan izole edilen fosfoinositid 3-kinaz (PI3K), mitojen aktive protein kinaz (MAPK) ve düz kas hücre kontraksiyonunda rol oynayan hafif miyozin zincirlerini fosforlayan bir serin treonin kinaz olan miyozin hafif zincirli kinazı (MLCK) inhibe eder [57]. Wortmannin DNA hasarı ile oluşan kinaz ataksi telenjiektazi mutasyonunu (ATM) bloke eder. Ayrıca sitokinlerin antiapoptotik etkilerini ve p53 stabilizasyonunu da inhibe eder [46, 47].

4.4 Diyet Bileşikleri

Sinnamik asit 1834 yılında Peligot ve Dumas tarafından keşfedilen ve saflaştırılan bir fenolik asittir. Cinnamomum cassiadan izole edilir ve antiseptik ve antifungal özellikleri ile tanınır. Sinnamik asit, şikimik asit ve tüm fenilpropanoidlerin biyosentetik yolağının aracısıdır. Fenilalanin amonyak-liyaz (PAL) enzimi ile fenilalaninden elde edildikten sonra sinnamat 4-hidroksilaz tarafından parakumarik aside dönüştürülür. Sinnamik asit, hidroksisinnamik asitler (kafeik asit, ferulik asit ve sinapik asit), dahili siklizasyon ile kumarinler (p-kumarik asit), flavonoidler (kuersetin) ve ligninler (koniferil alkol) gibi bileşiklere de dönüşebilir. Sinnamik asit ayrıca benzoik asit, salisilik asit ve gallik asitinde prekürsorudur. Sinnamik asitin melanom, glioblastom ile akciğer ve karaciğer adenokarsinomuna karşı antitümör etkisi olduğu gösterilmiştir [58]. Sinnamik asit kolorektal kanser hücreleri (Caco-2) üzerinde de antiproliferatif etki ve doza bağımlı DNA sentezi inhibisyonu yapar [59].

4.5 Kalkonlar

Polifenoller her molekülde birden fazla fenol içeren önemli besin bileşiklerindendir [60]. Bu aile bitki, meyve ve sebzelerde bulunan ve ultraviyole radyasyonuna ve patojen agresyonuna karşı koruyan mekanizmalarda rol alan binlerce molekülden oluşur. Hücreleri serbest radikallerin ve kanser, enflamasyon ve kardiyovasküler hastalık gibi patolojilerin hasarlarına karşı korurlar [61]. Kalkonlar antioksidan, antibakteryel, antienflamatuar, antikanser, sitotoksik ve immunosupresif potansiyeli olan önemli bir polifenolik alt gruptur. Kalkonlar özellike turunçgiller, elma gibi meyvelerde ve bitkisel tıpta geleneksel olarak kullanılan sebzelerde bol miktarda bulunurlar [62]. Kalkonların (spesifik olmamalarına rağmen) aşağı yönlü sinyal yolaklarını modüle eden belirgin regülatuar proteinleri hedefledikleri bildirilmiştir. Spesifik yapı gereksinimleri önemli rol

oynamakta olup, gözlenen biyoaktiviteleri ile korele olabilir [63-67]. Doğal kalkonların nütrasötik veya özgün terapötik ajanlar olarak tanımlanmaları ve karakterize edilmeleri enflamasyon ve kanser tedavisinde ümit verici bir yaklaşım olabilir [31, 32, 39].

5 Siklooksijenaz-2'nin Doğal Ürünlerle Modülasyonu

COX-2'yi transkripsiyon, posttranskripsiyon ve posttranslasyon düzeyinde modüle edebilen birçok doğal ürün mevcuttur (Şekil 5) [43].

5.1 Transkripsiyonel Düzeyde Regülasyon

Polifenoller kemoterapi ve kemoprevensiyonda kullanılan çok sayıda bileşiğin kaynağıdır. Bu bileşikler ilginç antienflamatuar ve antikanser özelliklere sahiptir. Bu bileşiklerin hedeflerinin bir tanesi faktör NFκB'dir. Birçok çalışmada bu bileşiklerin COX'un transkripsiyon düzeyindeki ekspresyonunu regüle ederek fonksiyonunu azaltma yetenekleri araştırılmıştır (Şekil 5).

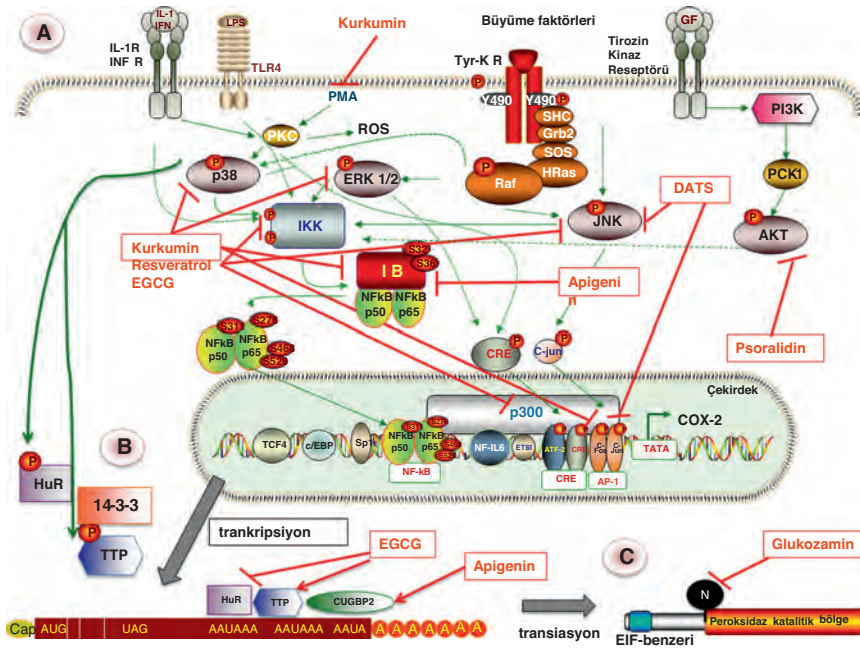
Birçok bileşik COX-2'nin ekspresyonunu MAPK sinyal yolaklarını etkileyerek modüle eder. Gerçekten de Curcuma longa kökünden ekstrakte edilen ve antienflamatuar ve antikanser etkileri olan kurkumin p38 ve ERK'nın fosforilasyonunu engelleyebilir [68]. Aynı etkiyi yapan resveratrol esas olarak kırmızı şarap ve üzümde bulunurken [69], epigallokateşin gallat (EGCC) ise yeşil çaydan elde edilen bir polifenoldür [70].

JNK'nın aktivasyonu ile transkripsiyon faktörü AP-1 aktive olur. Bu aktivasyon sarımsak ve soğandan elde edilen dialil polisülfidler tarafından inhibe edilir [71]. Ek olarak Psoralea corylifolia tohumlarından elde edilen bir bileşik olan psoralidin, PI3K/Akt yolağını inhibe eder [72].

MAPK'lerin aktivasyonlarının inhibe edilmesi COX-2 promotörünün spesifik bölgelerine bağlanan transkripsiyon faktörlerinin aktivasyon ve nükleer translokasyonlarını engelleyerek COX-2 ekspresyonunu inhibe eder.

Doğal ürünler transkripsiyon faktörlerinin direkt aktivasyonunda da rol oynayabilirler. Örneğin papatyada bulunan bir flavon olan apigenin, IκBa'yı fosforlayan ve inhibe eden IκB kinazı (IKK) inhibe eder. IκBa NF-κB'yi tecrit ederek çekirdeğe transportuna ve alt ünitelerinin (p65, p50) promotör ile iletişimine engel olur.

Diğer transkripsiyon faktörleri de doğal ürünlerin hedefleri arasındadır. c-jun ve c-FOS alt ünitelerinden oluşan AP-1 endometrium karsinomunda kurkumin tarafından inhibe edilir. Bu faktör nonkarsinojenik LDC'ler [73], dialil trisülfitleri [71] ve flavonoid kuersetin [74] ile stimüle edilen memeli epitel hücrelerindeki resveratrol ile inhibe edilir. AP-1 aktivasyonu enflamasyon, hücre transformasyonu ve immun cevaba yol açar. AP-1 metastaz formasyonunun erken bir evresi olan epitelyal mezenkimal transisyona izin



Şekil 5 COX-2 ekspresyonunun doğal bileşiklerle modülasyonu **a** Transkripsiyonal regülasyon: Kurkumin, resveratrol ve EGCG, p38, ERK ve JNK aktivasyonunu ve IκBa degradasyonunu ve IKK aktivasyonunu inhibe eder. Kurkumin, PMA ve ETS-1 nükleer translokasyonunun etkilerini inhibe eder. Dialil trisülfitler JNK aktivasyonunu ve c-Fos ve c-Jun'un nükleer translokasyonunu engellerler. Apigenin IκBa degradasyonunu engeller. Psoralidin AKT aktivasyonunu engeller. **b** Posttranskripsiyonel regülasyon: EGCG ARE'lere HuR bağlanmasını inhibe eder ve TTP ekspresyonunu destekler. Apigenin ARE'lere CUGBP2 bağlanmasına ve HuR ile iletişimine izin verir. **c** Posttranslasyonel regülasyon: Glukozamin COX-2 proteininin transformasyonunun N-glikozilasyonunu ve immün cevabı engeller.

verir [75]. Transkripsiyon faktörü Ets-1, anjiogenezde rol oynayan VEGF gibi faktörlerin ekspresyonlarını regüle eder. İnsandaki endometrium karsinomlarındaki ekspresyonu kurkumin ile inhibe edilebilir [68]. PMA COX-2 ekspresyonunun indükleyicisidir. PKC'nin diasilgliserol bölgesine (DAG) bağlanarak aktive olmasını sağlar. PKC reaktif oksijen türlerinin formasyonunu destekler. Kurkumin PMA etkinliğini bloke eden antioksidan özelliklere sahiptir [75].

5.2 Posttranskripsiyonel Düzeyde Regülasyon

mRNA stabilite ve translasyon etkinliğinin modülasyonu immun hastalıklar ve kanserde COX-2 stabilitesi için çok önemlidir. Kolorektal kanserdeki COX-2 mRNA yüksek oranda stabildir. Birkaç çalışmada doğal ürünlerin posttranskripsiyonel seviyedeki COX-2 ekspresyonu üzerindeki etkileri araştırılmıştır (Şekil 5).

HuR ve TTP'yi de içeren çeşitli moleküller COX-2'nin stabilitesini modüle eder. Ayrıca 30 translasyona uğramayan bölgede (UTR) miR-199 ve miR-16 gibi AUUUUA yönünden zengin elemanları (ARE) bağlayan mikro RNA'lar, mRNA kodlayan COX-2'yi regüle ederler. Bazı doğal ürünler mRNA'yı stabilize veya destabilize etmek amacıyla regüle ederler. Örneğin EGCG, mRNA stabilizasyonunda rol oynayan HuR proteinini inhibe ederken, mRNA COX-2'yi destabilize eden TTP proteinini indükler [70]. Kurkumin çeşitli miRNA'ların ekspresyonlarını aşağı veya yukarı regüle edebilir. Gerçekten de kurkumin miR-199'u aşağı regüle ederken miR-22'yi ise yukarı regüle eder [76].

P38 MAPK, mRNA stabilitesinin regülasyonunda önemlidir. p38, HuR ve TTP'yi fosforilleme yeteneğine sahiptir. HuR fosforilasyonunun aktivasyonu sitoplazmaya transportuna ve ARE sekanslarına bağlanmasına izin verir [77]. Buna karşın TTP fosforilasyonu proteine bağlanan 14-3-3 kompleksi tarafından tanınarak ARE'lere bağlanması engellenir [78]. Kurkumin [79] ve resveratrol [69], p38 aktivasyonunu engeller.

Diğer bileşikler, ARE'lerdeki TIA-1, TIAR gibi bazı proteinlerin bağlanmalarını modüle ederek COX-2'nin mRNA'sının translasyon etkinliğinde rol oynarlar. Örneğin apigenin COX-2 transkriptini stabilize ederken translasyonu inhibe eden HuR ve CUGBP2 ile etkileşimi nedeniyle de proteine translasyonunu engeller [80]. Tarçın, glukokortikoidler ve yeşil çayın TTP transkripsiyonunu desteklediği gösterilmiştir [81].

p38'in aktivasyonu COX-2'nin transkripsiyonel ve posttranskripsiyonel seviyelerdeki ekspresyonunun regülasyonunda önemlidir. Transkripsiyon düzeyinde NF-κB veya AP-1 gibi transkripsiyon faktörlerini aktive ederek COX-2'nin transkripsiyonunu sağlar. Posttranskripsiyonel seviyede HuR fosforilasyonunu destekleyerek ve nükleositoplazmik transportuna izin vererek COX-2 mRNA'yı stabilize eder.

Bazı bileşikler COX-2'yi sadece posttranskripsiyonel düzeyde etkilemektedir. Bu durum COX-2'nin mRNA stabilitesini, mikroglial hücrelerde liposakaridler ile stimüle edilen COX-2'nin transkripsiyon etkinliğini etkilemeden azaltan mango ağacından (Mangifera indica) elde edilen glukozilksanton ekstresi mangiferin için geçerlidir [82].

5.3 Posttranslasyonel Regülasyon

COX-2'nin posttranslasyonel modifikasyonları güncel bir araştırma alanının konusudur. İlk sonuçlar kemopreventif ajanların COX-2'nin bu seviyedeki ekspresyonunda rol oynadığını düşündürmektedir (Şekil 5).

Balıktan veya keten tohumundan elde edilen omega-3 gibi poliansatüre yağ asitlerinin kardiyovasküler hastalıklardan koruyucu ajanlar olduğu düşünülmektedir. Başlıca iki omega-3 yağ asidi türü olan dokosaheksaenoik asit (DHA) ve eikosapentaenoik asit (EPA) kolon kanseri [83], prostat kanseri [84] ve hepatoselüler karsinomda [85] antiproliferatif etki gösterirler. Prostat kanserinin agresif formlarının gelişme olasılığı ile düzenli omega-3 yağ asidi tüketimi arasında ters bir korelasyon olduğu gösterilmiştir [84]. Ek olarak DHA, EPA veya 11, 14, 17-eikostrienoik asit (ETA) ve diğer omega-3 yağ asitlerinin uygulaması in vivo cilt kanseri modellerinde proenflamatuar medyatörlerin eks-

presyonunu engellemektedir [86]. Omega 3, COX-2 ekspresyonunu azatır ve aktivitesini inhibe eder [87]. Kabukluların iskeletlerinde doğal olarak bulunan bir diğer omega-3 yağ asidi olan glukozamin çoğunlukla osteoartrit tedavisinde kullanılmaktadır. Güncel veriler glukozaminin akciğer kanseri hücrelerindeki COX-2'nin N-glikolizasyonunu azaltarak [88] COX-2 aktivitesini azalttığını göstermektedir. Bu molekülün COX-2'nin aktivitesini ve stabilitesini bloke etme özelliği kanser tedavisindeki ilginç bir antienflamatuar etkiyi ortaya koymaktadır.

6 Sonuçlar

En büyük medikal tedavi kaynağı olan doğa, sofistike geleneksel tedavilerin temeli haline gelmiştir. Mısır Tıbbı, Çin İlaç Bilimi, Hindistan Ayurveda Tıbbı ile birlikte antik Batı dünyasındaki Yunan ve Roma Tıpları genel olarak bitki kaynaklı tedavilere dayanmaktadır. Modern kanser ilaç keşfinde doğal ürünlerin önemi günümüzde de sürmektedir. Organizmalar tarafından üretilen sekonder metabolitler başlıca koruma, predasyon ve komünikasyon işlevine sahip aktif bileşikler içermektedirler. Bu nedenle, biyolojik olarak yüksek oranda aktif olan bu bileşikler modern tıp tarafından doğal olarak adapte edilmektedir. Bu bileşiklerin enflamasyon ve kanserde rol oynayan moleküler mekanizmalara karşı olan aktiviteleri günümüzde aktif bir araştırma alanı haline gelmiştir. Bu nedenle doğal kaynaklardan elde edilen bileşiklerin, hem koruma hem de tedavide kullanılabilen değerli ajanlar olduğunu düşünüyoruz.

Teşekkürler: BO and NL Télévie-Luxembourg doktora bursunu kullanmıştır. Laboratoire de Biologie Moléculaire et Cellulaire du Cancer'de yapılan araştırma "Recherche Cancer et Sang" vakfı, "Recherches Scientifiques Luxembourg" birliği, "Een Haerz fir kriibskrank Kanner" birliği, the Action Lions "Vaincre le Cancer" birliği and Télévie Luxembourg tarafından desteklenmiştir. Diğer destekler Avrupa Birliği'nden alınmıştır (ITN "RedCat" 215009, Interreg IVa project "Corena").

Referanslar

1. Newman DJ, Cragg GM (2012) Natural products as sources of new drugs over the 30 years from 1981 to 2010. J Nat Prod 75(3):311–335
2. Hanahan D, Weinberg RA (2000) The hallmarks of cancer. Cell 100:57–70
3. Hanahan D, Weinberg RA (2011) Hallmarks of cancer: the next generation. Cell 144:646–674
4. Trecul A, Morceau F, Dicato M, Diederich M (2012) Dietary compounds as potent inhibitors of the signal transducers and activators of transcription (STAT) 3 regulatory network. Genes Nutr 7:111–125

5. Schumacher M, Kelkel M, Dicato M, Diederich M (2011) Gold from the sea: marine compounds as inhibitors of the hallmarks of cancer. Biotechnol Adv 29:531–547
6. Schumacher M, Juncker T, Schnekenburger M, Gaascht F, Diederich M (2011) Natural compounds as inflammation inhibitors. Genes Nutr 6:89–92
7. Orlikova B, Diederich M (2012) Power from the garden: plant compounds as inhibitors of the hallmarks of cancer. Curr Med Chem 19:2061–2087
8. Kelkel M, Jacob C, Dicato M, Diederich M (2010) Potential of the dietary antioxidants resveratrol and curcumin in prevention and treatment of hematologic malignancies. Molecules 15:7035–7074
9. Balkwill F, Mantovani A (2001) Inflammation and cancer: back to Virchow? Lancet 357:539–545
10. Prasad S, Ravindran J, Aggarwal BB (2010) NF-kappaB and cancer: how intimate is this relationship. Mol Cell Biochem 336:25–37
11. Folmer F, Dicato M, Diederich M (2012) From the deepest sea shelf to the uppermost kitchen cabinet shelf: the quest for novel TNF-alpha inhibitors. Curr Top Med Chem 12(3):1392–1407
12. Delhalle S, Blasius R, Dicato M, Diederich M (2004) A beginner's guide to NF-kappaB signaling pathways. Ann NY Acad Sci 1030:1–13
13. Meteoglu I, Erdogdu IH, Meydan N, Erkus M, Barutca S (2008) NF-KappaB expression correlates with apoptosis and angiogenesis in clear cell renal cell carcinoma tissues. J Exp Clin Cancer Res 27:53
14. Baud V, Karin M (2009) Is NF-kappaB a good target for cancer therapy? Hopes and pitfalls. Nat Rev Drug Discov 8:33–40
15. Nishikori M (2005) Classical and alternative NF-kB activation pathways and their roles in lymphoid malignancies. J Clin Exp Hematopathol 45:15–24
16. Li Q, Verma IM (2002) NF-kappaB regulation in the immune system. Nat Rev Immunol 2:725–734
17. Gilmore TD (2006) Introduction to NF-kappaB: players, pathways, perspectives. Oncogene 25:6680–6684
18. Heissmeyer V, Krappmann D, Wulczyn FG, Scheidereit C (1999) NF-kappaB p105 is a target of IkappaB kinases and controls signal induction of Bcl-3-p50 complexes. EMBO J 18:4766–4778
19. Wu S, Tong L (2010) Differential signaling circuits in regulation of ultraviolet C light-induced early- and late-phase activation of NF-kappaB. Photochem Photobiol 86:995–999
20. Muthusamy V, Piva TJ (2010) The UV response of the skin: a review of the MAPK, NFkappaB and TNFalpha signal transduction pathways. Arch Dermatol Res 302:5–17
21. Duvoix A, Blasius R, Delhalle S, Schnekenburger M, Morceau F, Henry E, Dicato M, Diederich M (2005) Chemopreventive and therapeutic effects of curcumin. Cancer Lett 223:181–190
22. Duvoix A, Morceau F, Delhalle S, Schmitz M, Schnekenburger M, Galteau MM, Dicato M, Diederich M (2003) Induction of apoptosis by curcumin: mediation by glutathione S-transferase P1–1 inhibition. Biochem Pharmacol 66:1475–1483
23. Reuter S, Schnekenburger M, Cristofanon S, Buck I, Teiten MH, Daubeuf S, Eifes S, Dicato M, Aggarwal BB, Visvikis A, Diederich M (2009) Tumor necrosis factor alpha induces gamma-glutamyltransferase expression via nuclear factor-kappaB in cooperation with Sp1. Biochem Pharmacol 77:397–411
24. Duvoix A, Delhalle S, Blasius R, Schnekenburger M, Morceau F, Fougere M, Henry E, Galteau MM, Dicato M, Diederich M (2004) Effect of chemopreventive agents on glutathione S-transferase P1–1 gene expression mechanisms via activating protein 1 and nuclear factor kappaB inhibition. Biochem Pharmacol 68:1101–1111
25. Folmer F, Blasius R, Morceau F, Tabudravu J, Dicato M, Jaspars M, Diederich M (2006) Inhibition of TNFalpha-induced activation of nuclear factor kappaB by kava (Piper methysticum) derivatives. Biochem Pharmacol 71:1206–1218

26. Folmer F, Harrison WT, Tabudravu JN, Jaspars M, Aalbersberg W, Feussner K, Wright AD, Dicato M, Diederich M (2008) NF-kappaB-inhibiting naphthopyrones from the Fijian echinoderm Comanthus parvicirrus. J Nat Prod 71:106–111
27. Juncker T, Schumacher M, Dicato M, Diederich M (2009) UNBS1450 from Calotropis procera as a regulator of signaling pathways involved in proliferation and cell death. Biochem Pharmacol 78:1–10
28. Juncker T, Cerella C, Teiten MH, Morceau F, Schumacher M, Ghelfi J, Gaascht F, Schnekenburger M, Henry E, Dicato M, Diederich M (2011) UNBS1450, a steroid cardiac glycoside inducing apoptotic cell death in human leukemia cells. Biochem Pharmacol 81:13–23
29. Schumacher M, Cerella C, Eifes S, Chateauvieux S, Morceau F, Jaspars M, Dicato M, Diederich M (2010) Heteronemin, a spongean sesterterpene, inhibits TNF alpha-induced NF-kappa B activation through proteasome inhibition and induces apoptotic cell death. Biochem Pharmacol 79:610–622
30. Aly AH, Debbab A, Clements C, Edrada-Ebel R, Orlikova B, Diederich M, Wray V, Lin W, Proksch P (2011) NF kappa B inhibitors and antitrypanosomal metabolites from endophytic fungus Penicillium sp. isolated from Limonium tubiflorum. Bioorg Med Chem 19:414–421
31. Orlikova B, Tasdemir D, Golais F, Dicato M, Diederich M (2011) The aromatic ketone 4′-hydroxychalcone inhibits TNFalpha-induced NF-kappaB activation via proteasome inhibition. Biochem Pharmacol 82:620–631
32. Orlikova B, Schnekenburger M, Zloh M, Golais F, Diederich M, Tasdemir D (2012) Natural chalcones as dual inhibitors of HDACs and NF-kappaB. Oncol Rep 28(3):797
33. Schumacher M, Cerella C, Reuter S, Dicato M, Diederich M (2011) Anti-inflammatory, pro-apoptotic, and anti-proliferative effects of a methanolic neem (Azadirachta indica) leaf extract are mediated via modulation of the nuclear factor-kappaB pathway. Genes Nutr 6:149–160
34. Folmer F, Jaspars M, Dicato M, Diederich M (2008) Marine natural products as targeted modulators of the transcription factor NF-kappaB. Biochem Pharmacol 75:603–617
35. Folmer F, Jaspars M, Solano G, Cristofanon S, Henry E, Tabudravu J, Black K, Green DH, Kupper FC, Aalbersberg W, Feussner K, Dicato M, Diederich M (2009) The inhibition of TNF-alpha-induced NF-kappaB activation by marine natural products. Biochem Pharmacol 78:592–606
36. Teiten MH, Eifes S, Dicato M, Diederich M (2010) Curcumin-the paradigm of a multi-target natural compound with applications in cancer prevention and treatment. Toxins (Basel) 2:128–162
37. Teiten MH, Gaascht F, Eifes S, Dicato M, Diederich M (2010) Chemopreventive potential of curcumin in prostate cancer. Genes Nutr 5:61–74
38. Schumacher M, Kelkel M, Dicato M, Diederich M (2011) A survey of marine natural compounds and their derivatives with anti-cancer activity reported in 2010. Molecules 16:5629–5646
39. Orlikova B, Tasdemir D, Golais F, Dicato M, Diederich M (2011) Dietary chalcones with chemopreventive and chemotherapeutic potential. Genes Nutr 6:125–147
40. Blasius R, Reuter S, Henry E, Dicato M, Diederich M (2006) Curcumin regulates signal transducer and activator of transcription (STAT) expression in K562 cells. Biochem Pharmacol 72:1547–1554
41. Aggarwal BB, Kunnumakkara AB, Harikumar KB, Gupta SR, Tharakan ST, Koca C, Dey S, Sung B (2009) Signal transducer and activator of transcription-3, inflammation, and cancer: how intimate is the relationship? Ann NY Acad Sci 1171:59–76
42. Sobolewski C, Cerella C, Dicato M, Ghibelli L, Diederich M (2010) The role of cyclooxygenase-2 in cell proliferation and cell death in human malignancies. Int J Cell Biol 2010:215158

43. Cerella C, Sobolewski C, Dicato M, Diederich M (2010) Targeting COX-2 expression by natural compounds: a promising alternative strategy to synthetic COX-2 inhibitors for cancer chemoprevention and therapy. Biochem Pharmacol 80:1801–1815
44. Zhai S, Senderowicz AM, Sausville EA, Figg WD (2002) Flavopiridol, a novel cyclin-dependent kinase inhibitor, in clinical development. Ann Pharmacother 36:905–911
45. Carlson BA, Dubay MM, Sausville EA, Brizuela L, Worland PJ (1996) Flavopiridol induces G1 arrest with inhibition of cyclin-dependent kinase (CDK) 2 and CDK4 in human breast carcinoma cells. Cancer Res 56:2973–2978
46. da Rocha AB, Lopes RM, Schwartsmann G (2001) Natural products in anticancer therapy. Curr Opin Pharmacol 1:364–369
47. Nobili S, Lippi D, Witort E, Donnini M, Bausi L, Mini E, Capaccioli S (2009) Natural compounds for cancer treatment and prevention. Pharmacol Res 59:365–378
48. Abdel-Mageed WM, Milne BF, Wagner M, Schumacher M, Sandor P, Pathom-aree W, Goodfellow M, Bull AT, Horikoshi K, Ebel R, Diederich M, Fiedler HP, Jaspars M (2010) Dermacozines, a new phenazine family from deep-sea dermacocci isolated from a Mariana trench sediment. Org Biomol Chem 8:2352–2362
49. Folmer F, Jaspars M, Schumacher M, Dicato M, Diederich M (2010) Marine natural products targeting phospholipases A2. Biochem Pharmacol 80:1793–1800
50. Rateb ME, Houssen WE, Schumacher M, Harrison WT, Diederich M, Ebel R, Jaspars M (2009) Bioactive diterpene derivatives from the marine sponge Spongionella sp. J Nat Prod 72:1471–1476
51. Teiten MH, Gaascht F, Dicato M, Diederich M (2012) Targeting the wingless signaling pathway with natural compounds as chemopreventive or chemotherapeutic agents. Curr Pharm Biotechnol 13:245–254
52. Ahuja D, Vera MD, SirDeshpande BV, Morimoto H, Williams PG, Joullie MM, Toogood PL (2000) Inhibition of protein synthesis by didemnin B: how EF-1 alpha mediates inhibition of translocation. Biochemistry 39:4339–4346
53. Grubb DR, Wolvetang EJ, Lawen A (1995) Didemnin B induces cell death by apoptosis: the fastest induction of apoptosis ever described. Biochem Biophys Res Commun 215:1130–1136
54. Bai R, Friedman SJ, Pettit GR, Hamel E (1992) Dolastatin 15, a potent antimitotic depsipeptide derived from Dolabella auricularia. Interaction with tubulin and effects of cellular microtubules. Biochem Pharmacol 43:2637–2645
55. Wall NR, Mohammad RM, Reddy KB, Al-Katib AM (2000) Bryostatin 1 induces ubiquitination and proteasome degradation of Bcl-2 in the human acute lymphoblastic leukemia cell line, Reh. Int J Mol Med 5:165–171
56. Geerts AM, Vanheule E, Van Vlierberghe H, Leybaert L, Van Steenkiste C, De Vos M, Colle I (2008) Rapamycin prevents mesenteric neo-angiogenesis and reduces splanchnic blood flow in portal hypertensive mice. Hepatology Res Official J Jpn Soc Hepatology 38:1130–1139
57. Nakanishi S, Kakita S, Takahashi I, Kawahara K, Tsukuda E, Sano T, Yamada K, Yoshida M, Kase H, Matsuda Y et al (1992) Wortmannin, a microbial product inhibitor of myosin light chain kinase. J Biol Chem 267:2157–2163
58. Liu L, Hudgins WR, Shack S, Yin MQ, Samid D (1995) Cinnamic acid: a natural product with potential use in cancer intervention. Int J Cancer 62:345–350
59. Ekmekcioglu C, Feyertag J, Marktl W (1998) Cinnamic acid inhibits proliferation and modulates brush border membrane enzyme activities in Caco-2 cells. Cancer Lett 128:137–144
60. Ullah MF, Khan MW (2008) Food as medicine: potential therapeutic tendencies of plant derived polyphenolic compounds. Asian Pac J Cancer Prev 9:187–195
61. Tapiero H, Tew KD, Ba GN, Mathe G (2002) Polyphenols: do they play a role in the prevention of human pathologies? Biomed Pharmacother 56:200–207
62. Di Carlo G, Mascolo N, Izzo AA, Capasso F (1999) Flavonoids: old and new aspects of a class of natural therapeutic drugs. Life Sci 65:337–353

63. Cabrera M, Simoens M, Falchi G, Lavaggi ML, Piro OE, Castellano EE, Vidal A, Azqueta A, Monge A, de Cerain AL, Sagrera G, Seoane G, Cerecetto H, Gonzalez M (2007) Synthetic chalcones, flavanones, and flavones as antitumoral agents: biological evaluation and structure-activity relationships. Bioorg Med Chem 15:3356–3367
64. De Vincenzo R, Scambia G, Benedetti Panici P, Ranelletti FO, Bonanno G, Ercoli A, Delle Monache F, Ferrari F, Piantelli M, Mancuso S (1995) Effect of synthetic and naturally occurring chalcones on ovarian cancer cell growth: structure-activity relationships. Anticancer Drug Des 10:481–490
65. Jin YL, Jin XY, Jin F, Sohn DH, Kim HS (2008) Structure activity relationship studies of anti-inflammatory TMMC derivatives: 4-dimethylamino group on the B ring responsible for lowering the potency. Arch Pharm Res 31:1145–1152
66. Loa J, Chow P, Zhang K (2009) Studies of structure-activity relationship on plant polyphenol-induced suppression of human liver cancer cells. Cancer Chemother Pharmacol 63:1007–1016
67. Srinivasan B, Johnson TE, Lad R, Xing C (2009) Structure-activity relationship studies of chalcone leading to 3-hydroxy-4,3′,4′,5′-tetramethoxychalcone and its analogues as potent nuclear factor kappaB inhibitors and their anticancer activities. J Med Chem 52:7228–7235
68. Yu Z, Shah DM (2007) Curcumin down-regulates Ets-1 and Bcl-2 expression in human endometrial carcinoma HEC-1-A cells. Gynecol Oncol 106:541–548
69. Kundu JK, Chun KS, Kim SO, Surh YJ (2004) Resveratrol inhibits phorbol ester-induced cyclooxygenase-2 expression in mouse skin: MAPKs and AP-1 as potential molecular targets. BioFactors 21:33–39
70. Peng G, Dixon DA, Muga SJ, Smith TJ, Wargovich MJ (2006) Green tea polyphenol (-)-epigallocatechin-3-gallate inhibits cyclooxygenase-2 expression in colon carcinogenesis. Mol Carcinog 45:309–319
71. Shrotriya S, Kundu JK, Na HK, Surh YJ (2010) Diallyl trisulfide inhibits phorbol ester-induced tumor promotion, activation of AP-1, and expression of COX-2 in mouse skin by blocking JNK and Akt signaling. Cancer Res 70:1932–1940
72. Chiou WF, Don MJ, Liao JF, Wei BL (2011) Psoralidin inhibits LPS-induced iNOS expression via repressing Syk-mediated activation of PI3K-IKK-IκB signaling pathways. Eur J Pharmacol 650(1):102–109
73. Kundu JK, Shin YK, Surh YJ (2006) Resveratrol modulates phorbol ester-induced pro-inflammatory signal transduction pathways in mouse skin in vivo: NF-kappaB and AP-1 as prime targets. Biochem Pharmacol 72:1506–1515
74. Crespo I, Garcia-Mediavilla MV, Gutierrez B, Sanchez-Campos S, Tunon MJ, Gonzalez-Gallego J (2008) A comparison of the effects of kaempferol and quercetin on cytokine-induced pro-inflammatory status of cultured human endothelial cells. Br J Nutr 100:968–976
75. Aggarwal BB, Shishodia S (2006) Molecular targets of dietary agents for prevention and therapy of cancer. Biochem Pharmacol 71:1397–1421
76. Sun M, Estrov Z, Ji Y, Coombes KR, Harris DH, Kurzrock R (2008) Curcumin (diferuloylmethane) alters the expression profiles of microRNAs in human pancreatic cancer cells. Mol Cancer Ther 7:464–473
77. Fernau NS, Fugmann D, Leyendecker M, Reimann K, Grether-Beck S, Galban S, Ale-Agha N, Krutmann J, Klotz LO (2010) Role of HuR and p38MAPK in ultraviolet B-induced post-transcriptional regulation of COX-2 expression in the human keratinocyte cell line HaCaT. J Biol Chem 285:3896–3904
78. Sandler H, Stoecklin G (2008) Control of mRNA decay by phosphorylation of tristetraprolin. Biochem Soc Trans 36:491–496
79. Cho JW, Park K, Kweon GR, Jang BC, Baek WK, Suh MH, et al. (2005) Curcumin inhibits the expression of COX-2 in UVB-irradiated human keratinocyte (HaCaT) by inhibiting activation of AP-1: p38 MAP kinase and JNK a potential upstream targets. Exp Mol Med 37:186–192

80. Tong X, Van Dross RT, Abu-Yousif A, Morrison AR, Pelling JC (2007) Apigenin prevents UVB-induced cyclooxygenase 2 expression: coupled mRNA stabilization and translational inhibition. Mol Cell Biol 27:283–296
81. Sanduja S, Blanco FF, Dixon DA (2011) The roles of TTP and BRF proteins in regulated mRNA decay. Wiley Interdisciplinary Rev RNA 2:42–57
82. Bhatia HS, Candelario-Jalil E, de Oliveira AC, Olajide OA, Martinez-Sanchez G, Fiebich BL (2008) Mangiferin inhibits cyclooxygenase-2 expression and prostaglandin E2 production in activated rat microglial cells. Arch Biochem Biophys 477:253–258
83. Bommareddy A, Zhang X, Schrader D, Kaushik RS, Zeman D, Matthees DP, Dwivedi C (2009) Effects of dietary flaxseed on intestinal tumorigenesis in Apc(Min) mouse. Nutr Cancer 61:276–283
84. Fradet V, Cheng I, Casey G, Witte JS (2009) Dietary omega-3 fatty acids, cyclooxygenase-2 genetic variation, and aggressive prostate cancer risk. Clin Cancer Res Official J Am Assoc Cancer Res 15:2559–2566
85. Lee CY, Sit WH, Fan ST, Man K, Jor IW,Wong LL, et al. (2010) The cell cycle effects of docosahexaenoic acid on human metastatic hepatocellular carcinoma proliferation. Int J Oncol 36:991–998
86. Jin XJ, Kim EJ, Oh IK, Kim YK, Park CH, Chung JH (2010) Prevention of UV-induced skin damages by 11,14,17-eicosatrienoic acid in hairless mice in vivo. J Korean Med Sci 25:930–937
87. Gluszko P, Bielinska A (2009) Non-steroidal anti-inflammatory drugs and the risk of cardiovascular diseases: are we going to see the revival of cyclooxygenase-2 selective inhibitors? Pol Arch Med Wewn 119:231–235
88. Jang BC, Sung SH, Park JG, Park JW, Bae JH, Shin DH, Park GY, Han SB, Suh SI (2007) Glucosamine hydrochloride specifically inhibits COX-2 by preventing COX-2 N-glycosylation and by increasing COX-2 protein turnover in a proteasome-dependent manner. J Biol Chem 282:27622–27632

Selenyum ve Kanser: Unutulmaması Gereken Bir Hikaye-Genom Biliminden Örnekler

Catherine Méplan ve John Hesketh

Özet

Selenyum (Se) selenoproteinlerde bulunan önemli bir mikrobesindir. Epidemiyolojik çalışmalarda düşük Se tüketiminin çeşitli kanser türleri ile ilişkili olduğu gösterilmiş olsa da, Se takviyesi uygulanan çalışmaların sonuçları kafa karıştırıcıdır. Bu çelişkili sonuçlar başlangıçtaki Se düzeyine ve/veya genetik faktörlere bağlı olabilir. Ayrıca Se alımı, selenoproteinler ve karsinogenez arasındaki mekanik bağlantılar da net değildir. Bu bölümde selenoprotein genlerindeki tek nükleotid polimorfizmlerinin (SNP) fonksiyonel önemini ve kolorektal, prostat, akciğer ve meme kanseri riskini etkileyip etkilemediklerini tartışacağız. Hem in vitro hem de in vivo çalışmalarda glutatyon peroksidaz 1 ve 4, selenoprotein S ve 15-kDa selenoprotein kodlayan genlerdeki SNP sayısının az olmasının fonksiyonel sonuçları olduğu bildirilmiştir. Vaka kontrol çalışmalarında elde edilen veriler glutatyon peroksidaz 1'de bulun kodon 198'deki bir varyantın selenyumun kanser riski üzerindeki statüsünü değiştirdiğini göstermiştir. Bu varyant ayrıca meme ve akciğer kanseri riski ile de ilişkilidir. Glutatyon peroksidaz 4, selenoprotein P ve selenoprotein S de kolorektal kanseri riskini etkileyebilir. Ayrıca mikrodizi (transkriptomik) çalışmalarının sonuçlarında Se statüsünü gösteren özgün biyomarkerler ve özgün aşağı yönlü Se hedefli yolaklar tanımlanmıştır. Bu çalışma gelecekteki girişim çalışmalarında başlangıç Se statüsünün ve genetik faktörlerin göz önüne alınması gerektiğini vurgulamaktadır.

C. Méplan · J. Hesketh (✉)
Institute for Cell and Molecular Biosciences and Human Nutrition Research Centre,
Newcastle University, Newcastle-upon-Tyne, NE2 4HH, UK
e-mail: j.e.hesketh@ncl.ac.uk

C. Méplan
e-mail: Catherine.Meplan@newcastle.ac.uk

V. Zappia et al. (eds.), *Advances in Nutrition and Cancer,*
Cancer Treatment and Research 159, DOI: 10.1007/978-3-642-38007-5_9,
© Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2014

Anahtar Kelimeler

SNP • Transkriptomikler • Selenoproteinler • Mikrobesin • Kolorektal Kanser • Prostat Kanseri

Kısaltmalar

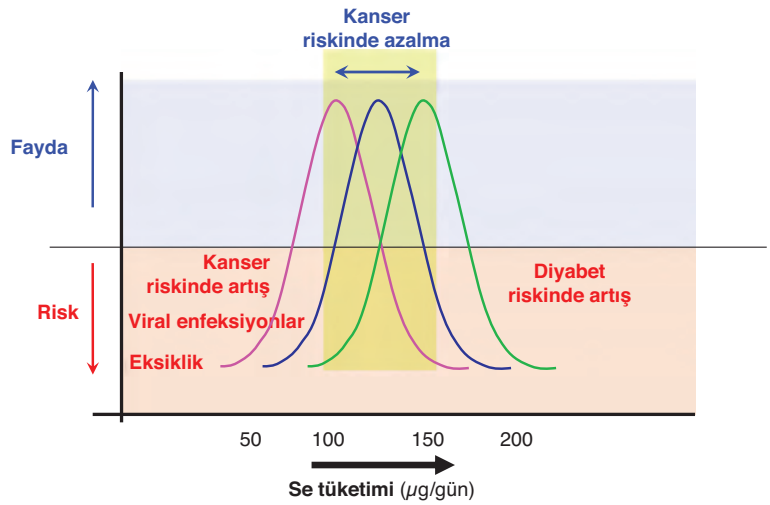
SNP	Tek nükleotid polimorfizmleri
GPX	Glutatyon peroksidaz
TR	Tioredoksin redüktaz
Sec	Selenosistein
SECIS	Selenosistein eklenme sekansı
Sel	Selenoprotein
SePP	Selenoprotein P
CRC	Kolorektal kanser
GWAS	Genomun tamamında ilişkilendirme çalışmaları
mTOR	Memeli rapamisin hedefi

İçindekiler

1 Giriş ... 146
2 Selenoproteinler ... 149
2.1 Selenoprotein Hiyerarşisi ve Etkileri ... 151
3 Selenoprotein Gen Varyantları ... 151
4 Selenoproteinlerin ve Kanserin Genetik Epidemiyolojisi ... 153
4.1 Kolon Kanseri ... 153
4.2 Prostat Kanseri ... 155
4.3 Meme Kanseri ... 155
4.4 Akciğer Kanseri ... 156
4.5 Etkileri ... 156
5 Genom Çalışmaları ... 158
5.1 Diyetle Alınan Selenyumun Transkriptom Üzerindeki Etkisi ... 158
5.2 Kolonda Selenoprotein Fonksiyonu ... 160
6 Sonuç ve Gelecekteki Çalışmalar ... 161
Referanslar ... 162

1 Giriş

Selenyum (Se) insan ve hayvan sağlığı için gerekli önemli bir mikrobesindir [1, 2]. Diyet Se alımı ekinlerin büyüdükleri topraktaki Se konsantrasyonuna ve hayvanların beslenme şekli ile yüksek oranda ilişkilidir. Sonuç olarak diyetle Se tüketimi sonucu oluşan Se



Şekil 1 Selenyum tüketimi ile ilişkili fayda ve riskler. Bu grafik Se alımı ile kanser riskinin artması veya azalması arasında bir ilişkinin varlığını önermektedir. Sarı renk ile vurgulanan pencere daha düşük kanser riski ile ilişkili Se alım düzeylerini göstermektedir. Se alımı ile kanser riski arasındaki potansiyel varyasyonlar üç eğri ile gösterilmektedir. Risk genetik faktörler, yaş ve risk faktörlerinden (örn. alkol alımını da içeren çevresel strese maruziyet) etkilenir.

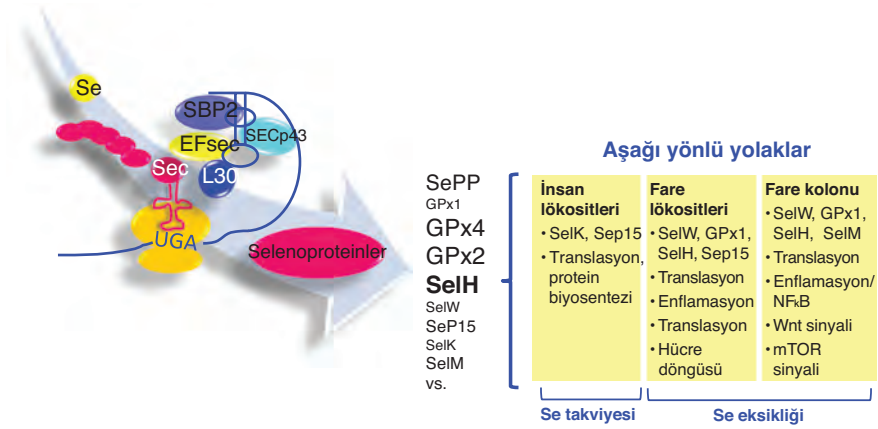
statüsü dünya genelinde büyük farklılıklar göstermektedir. Selenyum eksikliği toprak Se içeriğinin düşük olduğu bölgelerde lokal gıdalarla beslenen toplumlarda görülebilir. Örneğin Çin'in bazı bölgelerinde görülen çok düşük Se alımı (<10 μg/gün) Keshan hastalığı adı verilen viral miyokarditin oluşumuna katkı yapan ana faktörlerdendir. Ancak bu tür ağır eksiklikler nadir görülür. Ancak suboptimal Se alımı daha sık görülür. Örneğin Avrupa'nın bazı bölgelerindeki Se alımının 30-50 μg/gün olduğu tahmin edilmektedir. Kadın ve erkeklerdeki günlük alımın referans değeri ise sırasıyla 75 ve 60 μg/gün'dür. Yeni Zelanda ve Avustralya'nın bazı bölgelerinde de benzer suboptimal alımlar söz konusudur. Bu nedenle Se alımı insanların çoğunda bir hastalığa neden olacak kadar düşük düzeyde olmasa da optimal sağlık için gereken düzeyde olmayabilir [1–3].

Se statüsünün bazı kanser riskleri ile ilişkili olabileceğini ve ABD'deki kanser mortalitesinin ekinlerdeki Se düzeyi yüksek olan yerlerde düşük, düşük olan yerlerde yüksek olduğunu gösteren ilk epidemiyolojik çalışmanın üzerinden yaklaşık 40 yıldan fazla süre geçmiştir [4]. Çin'de ve dünya genelinde de benzer sonuçlar bildirilmiş olmasına ve düşük serum Se düzeylerinin artan kanser riskinin (özellikle gastrointestinal ve prostat kanserleri için) teşhis öncesi göstergesi olduğu bildirilmiş olmasına rağmen (bkz. [3]), daha sonra yapılan çalışmalarda Se statüsü ile kanser riski arasındaki ilişki hakkında çelişkili ve tutarsız bulgulara ulaşılmıştır (incelemeler için bkz. [2, 3]). Bu tutarsızlıklara rağmen düşük ve suboptimal Se alımının kansere karşı olan duyarlılığı artırıp artırmadığı hala büyük ilgi çeken bir konudur. Se ve kanser riski ile ilgili yapılan çeşitli Se takviye çalışmalarının ilk sonuçları bu konudaki araştırmalara ciddi anlamda hız kazandırmıştır. ABD'de yapılan

bir Se takviye çalışmasında 200 µg/gün dozunda selenize maya şeklinde Se kullanımının, çalışma öncesindeki plazma Se düzeyleri en düşük üçte birlik dilimde olanlardaki prostat ve kolorektal kanserleri azalttığı bulunmuştur [5]. Çin'de yapılan bir başka çalışmada 50 µg/gün selenize maya ilavesinin özofagus kanserinin mortalitesini azalttığı bulunmuştur [6]. Se tüketim artışının kanser riski üzerindeki bu belirgin faydalarına rağmen bir dizi vaka kontrol çalışmasında Se statüsü ile kanser riski arasında farklı ilişkiler tespit edilmesi yeniden değerlendirme ihtiyacı doğurmuştur [3]. Güncel SELECT [7, 8] çalışmasında Se ilavesi ile prostat kanserinde azalma görülmemesi ve rölatif olarak yüksek Se tüketimi ile diyabet riskinde artış ihtimali bu sonuçlardan bazılarıdır [9]. Şekil 1'de görüldüğü üzere faydalı olabilen plazma Se düzeyleri ile hastalık riskini artıran daha yüksek veya düşük Se düzeyleri arasında dar bir pencere olduğu aşikardır. Bu nedenle Se tüketimindeki artışın kanser riskini azaltmada etkili olup olmadığı halen tartışılmaktadır.

Artan Se alımının antikanser etkileri ile ilave Se uygulanan çalışmalardan elde edilen çelişkili sonuçların doğurduğu tartışmada üç faktör önemlidir. Birincisi farklı çalışmaların sonuçlarının başlangıçtaki Se düzeylerine göre farklılıklar gösterebilmesidir; bu bağlamda dikkat çekici olan ABD'de gerçekleştirilen iki çalışmanın farklı sonuçlarıdır. SELECT çalışmasındaki başlangıç Se düzeyleri popülasyondaki en düşük üçte birlik dilimdeki Se düzeylerinden daha yüksekti. Daha önce yapılan bir çalışmada ise Se kullanımının kanser riskini azalttığı bulunmuştu [5, 7, 8]. Bu nedenle SELECT çalışmasında (NPC çalışmasının aksine) başlangıç Se düzeylerinin prostat kanserinden korunmak için gereken düzeylere zaten yakın olması da mümkündür. İkinci nokta da insan genetik varyasyonları hakkındaki bilgilerin artışının bireysel arasındaki farklılıkların nasıl oluştuğunun anlaşılmasına yol açmasıdır. Bireylerin besin öğelerini metabolize etmelerinde rol oynayan genetik varyasyonlar diyet-hastalık riski arasındaki ilişkiyi birçok durumda etkileyerek hastalıklara karşı duyarlılıkların farklı olmasına yol açmaktadır; Se metabolizması ile ilişkili genlerde tek nükleotid polimorfizmleri (SNP) mevcuttur [10, 11]. Şekil 1'de bu tür varyasyonların diyetle alınan Se'ye verilen cevabı ve Se alımının faydalı olduğu düzeyleri etkileyebileceği şematik olarak görülmektedir. Üçüncüsü de prostat ve kolon gibi hedef dokularda farklı selenoproteinlerin mekanik etkilerinin bilinmemesidir. Bu nedenle düşük diyet Se alımının fizyolojik etkileri ile ilgili bilgiler kısıtlıdır. Şekil 1 kişisel risk-fayda pencelerinin tanımlanmasının önemini vurgulamaktadır [12]. Se alımı, Se metabolizmasını değiştiren genetik faktörler, selenoprotein fonksiyonu/ekspresyonu, hastalık riskinin derecesi (örn. çevresel karsinojenlere maruziyetin göstergesidir) ve yaşlanan popülasyondaki Se ihtiyacında gözlenen değişimlerin [13] bir popülasyonda Se alımının risk-fayda penceresi tanımlanmadan önce dikkate alınmalıdır.

Genom bilimindeki ilerlemeler yukarıdaki üç maddeden son ikisinin hedeflenmesini sağlayan yöntemler ve yaklaşımlar sunmaktadır: Genotipleme teknikleri genetik faktörlerin Se metabolizması üzerindeki etkilerini ve hastalık riski ile ilişkisini inceleme fırsatı verirken, mikrodizi ve proteomik yaklaşımlar da selenoprotein fonksiyonunun detaylı olarak araştırılmasına olanak tanımaktadır. Bu bölümde bu tür genomik yaklaşımların Se, selenoproteinler ve kanser riski arasındaki ilişkinin tanımlanmasına nasıl katkı yaptığını tartışacağız.



Şekil 2 Selenoproteinlerin sentezi ve hiyerarşisi ile Se tüketimindeki değişimlerin aşağı yönlü yolaklar üzerindeki etkilerini illüstre eden şematik diyagram. Şema Se'nin bazı selenoproteinlere, spesifik proteinlerin selenoproteinlerin 3′ translasyona uğramamış selenoprotein mRNA'sına bağlanmasını sağlayan bir mekanizma ile nasıl entegre olduğunun illüstrasyonudur. Listelenen selenoproteinlerin boyut be fontları selenoprotein sentez hiyerarşisindeki pozisyonlarını illüstre etmektedir (font büyüdükçe veya koyulaştıkça hiyerarşideki yeri yükselir). Selenoprotein aktivitesindeki değişimler aşağı yönlü yolakları etkiler. Deneysel olarak etkilendiği bulunan yolakları gölgeli kutucuklar sembolize etmektedir.

2 Selenoproteinler

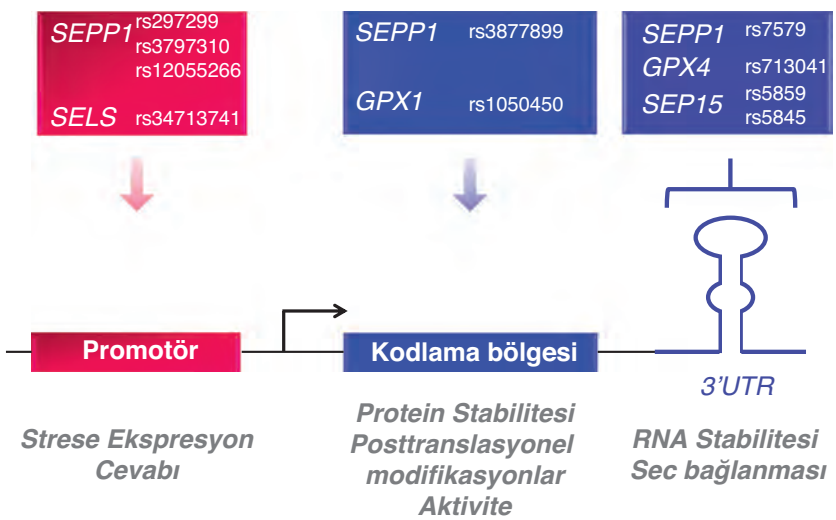
İnsandan bakterilere kadar birçok organizmaların gıdalar ile aldığı Se, selenoproteinler adı verilen bir dizi Se içeren proteinler ile birleşir. Se'nin fizyolojik fonksiyonlarının bu selenoproteinler yoluyla gerçekleştiği düşünülmektedir [1, 14, 15]. SE insanlardaki 25 selenoproteinin tümünün içinde amino asit selenosistein (SEC) halinde bulunur [14]. SEC uygun mRNA'ların translasyonu sırasında bu proteinlerin UGA kodonlarına bağlanır. Bu süreç UGA kodonlarının normal fonksiyonları olan translasyonu sona erdirici STOP kodon sinyali üretmeleri yerine, SEC bağlantısını sağlamak amacıyla yeniden kodlamalarını içerir. Şekil 2 yeniden kodlamaya izin veren özgün biyomekanik mekanizmanın şematik illüstrasyonudur: İçerdiği selenosisteil-tRNA (tRNA-Sec), 3′ translasyona uğramamış bölgedeki (3′ UTR) kök-sap yapısı (SEC eklenme sekansı: SECIS) ve SECIS yapısına bağlanan spesifik proteinler, UGA kodonunun tRNA-Sec'i tanımasına izin verirler. tRNA selenid, ATP ve seril-tRNA'dan sentezlenir.

Sec 5.47'lik bir pKa değerine sahiptir (sisteinden daha düşüktür). Aktif bölgede bulunan Selenoproteinlerin bir çoğunun oksiredüktaz aktivitesine katkı yaptığı düşünülmektedir. Birçok selenoproteinin antioksidan veya redoks fonksiyonları vardır. Glutation peroksidazlar (GPx), GPx1 ve GPx2'nin hücreleri reaktif oksijen türlerin koruduğu gösterilmiştir. GPx3'ün ekstraselüler antioksidan etkiye, GPx4'ün de hücreleri lipid peroksidin etkilerinden korumayı da içeren kompleks bir dizi fonksiyona sahip olduğu öne sürülmüştür. Üç farklı tioredoksin redüktazın (TR1-3) oksidoredüktaz etkileri vardır.

Ancak bu konudaki fonksiyonları sadece redoks durumunun sürdürülmesini değil, aynı zamanda ribonükleotidlerin deoksiribonükleotidlere de dönüştürülmesini kapsamaktadır. İodotironin deiodinazlar tiroid hormon metabolizmasındaki oksiredüktaz reaksiyonlarını gerçekleştirir.

Daha az tanımlanmış selenoproteinlerin aktivitelerinin oksidoredüktaz özelliğe sahip oldukları son zamanlarda anlaşılmıştır. Örneğin selenoproteinler H,L ve W'nun (SelH, SelL, SelT ve SelW) ve 15-kDa selenoproteinin tioredoksin benzeri redoks kıvrımı içerdikleri yapısal çalışmalarda gösterilmiştir [16, 17]. Ek olarak endoplazmik retikulum komponentleri olan SelS, SelN, 15-kDa selenoprotein, SelK ve SelM'nin redoks balansı ve katlanmamış protein cevabında rol oynadıkları düşünülmektedir [13, 16–18]. Selenoproteinlerin fonksiyonları ile ilgili bu ipuçlarına rağmen biyokimyasal rolleri hakkındaki detaylar hala sınırlıdır.

Selenoprotein P (SePP) çok sayıda Sec (insanda 10 adet) içeren özgün bir selenoproteindir. Salgılanan bir proteindir ve total plazma Se içeriğinin %50'ye kadar olan kısmını oluşturur. İki tanesi yaklaşık 50 ve 60 kDa moleküler ağırlığı olan multipl izoformlara sahiptir [19, 20]. SePP faredeki beyin ve testis gibi ekstrahepatik dokulardaki Se içeriğinin korunabilmesi için çok önemlidir [21, 22]. Bu özellik SePP'nin majör fonksiyonunun karaciğerden diğer dokulara Se sağlanması olduğunun öne sürülmesine neden olmuştur. Ancak, SePP'nin aynı zamanda antioksidan olduğu da gösterilmiştir. Bu özellik SePP'nin karaciğerden yüksek oranda salgılanıyor olmasına rağmen aynı zamanda kolonu de içeren farklı hücre tiplerinden de salgılanmasının göstergesi olabilir [19, 23].



Şekil 3 Selenoprotein genlerindeki fonksiyonel SNP'ler Çeşitli selenoprotein genlerinde fonksiyonel tek nükleotid polimorfizmleri bulunmuştur. Şekilde rs numaraları ve gen adları ile tanımlanmışlardır. SNP'lerin farklı bölgelerdeki ilgili mRNA ve selenoprotein ekspresyonu üzerindeki potansiyel etkileri gösterilmiştir.

2.1 Selenoprotein Hiyerarşisi ve Etkileri

Selenoprotein biyosentezi için diyetle Se alımı şarttır ve selenoproteine bağlı olarak sentezlerini farklı bir boyuta regüle eder. Gerçekten de farklı selenoproteinlerin sentezlerinin düşük Se alımından farklı derecede etkilendiğini gösteren çok güçlü kanıtlar mevcuttur [14, 24, 25]. Bu bulgu "selenoprotein hiyerarşisi" konseptini doğurmuştur. Se alımının bazı selenoproteinlerin sentezini diğerlerinden daha fazla etkilediğini öneren bir konsepttir: Örneğin GPx1 proteini ve mRNA seviyeleri birçok dokudaki Se eksikliğine GPx4'den daha fazla duyarlıdır. Ayrıca bu hiyerarşideki selenoproteinlerin rölatif pozisyonları dokular arasında farklılık gösterir. Bu durum Se tedarikine cevap veren selenoproteinlerin çeşitli dokulardaki cevap paternlerlerinde farklılıklara yol açar. Örneğin sıçandaki GPx4 karaciğerdeki Se azalmasına kalpteki azalmadan daha fazla duyarlıdır. Tiroiddeki deiodinaz aktivitesi de Se eksikliğine karaciğerdekine göre daha az duyarlıdır [24]. mRNA düzeylerine göre GPx1, SelW, SelH ve SelM kolon hücrelerindeki Se tedarik miktarına, GPx1 ve SeIK'nın da lenfositlerdeki Se miktarına en fazla duyarlı olduğu görülmektedir [26, 27]. Se proteinlerinin bağlanma mekaniği ile farklı selenoprotein 3′ UTR'si arasındaki iletişimlerin hiyerarşide önemli olduğunu gösteren kanıtlar mevcuttur (örn. [28, 29]). Doku spesifik selenoprotein hiyerarşisine göre düşük Se tedarik miktarının etkileri dokular arasında farklılıklar göstermektedir. Bu durumun farklı selenoproteinlerin tümörijenik proses ve çeşitli dokulardaki koruma mekanizmaları ile ilgisi olabilir.

Her selenoproteinin aktivitelerindeki değişimlerin her protein için spesifik olan aşağı yönlü metabolik etkilere yol açması beklenebilir. Düşük Se alımının çeşitli selenoproteinlerin alımını etkilemesi nedeniyle Se azalmasının bir dizi aşağı yönlü hedefi etkilemesi beklenebilir. Bu mekanizma şekil 2'de şematize edilmiştir. Genomik teknolojilerin ilerlemesi (özellikle mikrodizi) Se alımının aşağı yönlü moleküler yolakların paternleri üzerinde yol açtığı değişimlerin sonuçlarının entegrasyonuna izin vermektedir. Bu selenoprotein sentez paterninin (devamında ilgili proteinin net aktivitesini etkiler) Se tedarik miktarına göre dokuya spesifik hiyerarşik değişim göstermesi nedeniyle Se ile özel olarak ilişkilidir. Bu nedenle aşağı yönlü metabolik etkilerin dokulara göre farklılık göstermesine de yol açar.

3 Selenoprotein Gen Varyantları

SNP gen ekspresyonunda ve devamında proteindeki amino asitleri değiştirerek veya ekspresyonun regülasyonunu etkileyerek protein aktivitesinde fonksiyonel etkilere yol açabilir Ekspresyonun regülasyonunun etkilenmesi SNP gen promotör bölgelerinde meydana gelir. Selenoprotein genlerindeki 3′ UTR bölgelerindeki gen varyantlarının SECIS ve 3′UTR protein etkileşimlerinin Sec bağlanmasındaki anahtar rolleri nedeniyle ekspresyonu etkileme potansiyeli vardır. Gerçekten de selenoprotein genlerindeki, 3'UTR, promotör ve protein kodlayan bölgelerdeki gen alanlarında bulunan SNP'lerin

Se metabolizmasını etkiledikleri bildirilmiştir [10, 13]. Bu mekanizma Şekil 3'de illüstre edilmektedir.

TNF-α, interlökinler, SELS geninin (rs34713741) promotöründeki -105 pozisyonundaki SNP'nin enflamatuar markerler düzeyindeki etkilerinden kaynaklanan fonksiyonel sonuçları olduğu gösterilmiştir [30]. Ayrıca plazma glutatyon peroksidaz (GPX3) aktivitesinin de çeşitli varyantlardan etkilendiği bildirilmiştir [31]. SEPP1 geninin promotöründe, bir varyantında 3 TC tekrarı, diğerinde de 5 TC tekrarı içeren kompleks tekrarlanan sekans (TC)n-T17 bölgesinde bir polimorfizm (SNP değil) belirlenmiştir [23]. Bu motif aktive transkripsiyon faktörünün farzedilen bağlanma bölgesi olan aktive T hücrelerinin nükleer faktörünü (NFAT) değiştirebilir. Ancak bu gözlem henüz konfirme edilmemiş olup bir hastalık riski ile bağlantısı da tespit edilmemiştir.

Selenoprotein genlerinin protein kodlama bölgelerindeki varyantların amino asit değişimlerine ve protein fonksiyonunda potansiyel değişimlere yol açtığı bulunmuştur. Örneğin GPx1 genindeki (rs1050450) kodon 198'in tek nükleotidindeki değişimin prolinden lösine kadar değişime yol açarak Leu varyant proteinindeki enzim aktivitesini azalttığı bulunmuştur [32]. Bu varyantın plazma Se ve eritrosit GPx1 aktivitesi arasındaki ilişkiyi etkilediği [33] ve beyaz kan hücrelerindeki GPx1 aktivitesi ile de ilişkili olduğu bildirilmiştir [34]. Bu SNP farklı etnik gruplarda sıklıkla mevcuttur. Ancak lösin varyanti rölatif olarak daha nadirdir (%7-15). Ayrıca bir G/A SNP'nin (rs3877899) kodon 234'de alaninden treoinine kadar amino asit değişimine yol açarak farklı kan hücrelerinin ve plazma selenoprotein aktivitelerinin Se takviyesine verdikleri cevabı etkilediği bildirilmiştir [35]. Ayrıca plazmadaki SePP izoformlarının oranlarını ve GPx4 düzeyinde lenfositle ilişkilerini etkiler [20].

3′ utr'deki selenoprotein gen bölgelerinde fonksiyonel olarak anlamlı çeşitli SNP'ler tanımlanmıştır. GPx4'teki rs713041 C/T alelik varyantlara sahiptir. Her iki varyantta farklı etnik gruplarda rölatif olarak sık miktarda bulunur [29, 36, 37]. Bu SNP ile yapılan ilk çalışmada iki varyantı taşıyan bireylerin lenfosit lökotrin düzeylerinde farklılıklar gözlenmiştir [36]. Sonrasında, SNP'nin fonksiyonel aktivitesi olduğunu göstermeyi amaçlayan in vitro ve in vivo deneyler ile güçlü kanıtlardan oluşan bir veri tabanı oluşmuştur. Örneğin Caco-2 hücre ekstreleri kullanılan RNA-protein bağlama deneylerinde, C varyantı T varyantından daha güçlü bağlanmıştır [29]. Ayrıca iki varyantlı 3'UTR sekanslarının haberci gene bağlanarak Caco-2 hücrelerine transfekte edilmesi sonrasında T ve C-varyantlarının haberci genin ekspresyonunu yönlendirme oranlarında farklılıklar tespit edilmiştir [37]. Bu transfekte hücrelerin klonları T- ve C-varyant transgenlerindeki ekspresyon düzeylerinin benzer olması amacıyla seçildiğinde, GPx1 ve SeIH gibi diğer selenoproteinlerin ekspresyonunu etkileyebilecek iki 3′ utr varyantının aşırı ekspresyonu tespit edilmiştir [38]. SNP'nin insan gönüllülerdeki kan selenoprotein konsantrasyonlarının Se takviyesine olan cevabını etkilediği gösterilmiştir. Bu etki özellikle lenfosit GPx1 protein düzeylerinde ve çalışmanın arınma dönemindeki GPx1:GPx4 protein konsantrasyon oranlarında farklılıklar gösteren T ve C taşıyıcılarında gözlenmiştir [29]. Bu veriler rs713041'nin selenoprotein sentezini, Se bağlanmasında rolü olan bir veya daha fazla protein için T varyantından daha güçlü

yarışan GPX4'teki C-varyant 3′ utr ile birlikte etkilediğini göstermektedir. Mfold kullanılarak yapılan bilgisayar tahminleri SNP'nin SECIS civarındaki 3'UTR'nin sekonder yapısını etkilediğini göstermiştir. Bu nedenle rs713041'nin Sec'in GPx4 3′ utr'deki 3′ utr'ye bağlanma mekanizmasını değiştirerek selenoprotein sentezinin paternini etkilediği hipotezini geliştirdik [29, 37].

Ayrıca SEPP1 genindeki 3′ utr'deki bir SNP'nin (rs7579) anlamlı fonksiyonu olduğu da gösterilmiştir. Bu G/A varyantının insan lenfosit GPx4 ve GPx1, plazma GPx3, tioredoksin redüktaz 1 (TR1) ve eritrosit TR1'in Se takviyesine verdikleri cevabı etkilediği bulunmuştur [35]. SNP, plazma SePP protein düzeylerinin ve izoform paternlerinin Se takviyesine verdiği yanıtı değiştirir [20, 35]. Ayrıca SEP15'de bulunan ve 3'UTR kodlayan gen bölgesinde, pozisyon 811'de (rs5845) bir C/T yedeği ve pozisyon 1125'de (rs5859) bir G/A olmak üzere iki varyantı mevcuttur. Haberci gen deneylerine dayanılarak bu SNP'lerin fonksiyonel olduğu düşünülmektedir [39].

4 Selenoproteinlerin ve Kanserin Genetik Epidemiyolojisi

Bazı selenoproteinlerin meme, prostat, kolorektal ve akciğer kanserlerindeki azalan aktivite/ekspresyonlarını ve bazı selenoprotein lokuslarındaki heterozigositenin sıklıkla kaybını da içeren (LOH) çeşitli kanıtlar selenoproteinlerin kanserin başlangıcı ve progresyonunda bir rolü olduğunu düşündürmektedir.(örn. [40–43]). Bu çalışmalarda selenoprotein aktivite veya konsantrasyonunu azaltan faktörlerin kanser gelişim ve progresyonuna katkı yapabileceği vurgulanmaktadır. Yukarıda da tanımlandığı gibi fonksiyonel polimorfizmlerin, selenoproteinlerin ekspresyon düzeylerini, stabilite ve aktivitelerini modüle ettikleri gösterilmiştir. Bu polimorfizmler ile kanser arasında ilişkiler gözlenmiştir.

4.1 Kolon Kanseri

Bazı rölatif olarak küçük ölçekli çalışmalarda seçilmiş selenoprotein SNP'ler ile kolorektal kanser arasındaki ilişki araştırılmıştır. İskoç popülasyonunda yapılan bir araştırmada (~300 vaka, 189 kontrol) GPx4 genindeki rs713041'in C varyantının taşıyıcısının kolorektal kanser riski ile ilişkili olduğu ancak adenomatöz poliplerde artışa yol açmadığı bulunmuştur [37]. Ancak daha yakın zamanda, bu ilişkinin Kore popülasyonunda replike olmadığı tespit edilmiştir [44]. Buna karşın Çek popülasyonundaki (832 vaka, 705 kontrol) T varyantının kolorektal kanser riskinde artış ile ilişkili olduğu bulunmuştur [45]. Çek ve Kore popülasyonlarında Se statüsü ölçülemediği için Se düzeylerinin bu SNP'nin hastalık riskindeki etkisini değiştirip değiştirmediği değerlendirilememiştir. Ancak kolorektal kanseri olan hastalarda yapılan bir İngiltere çalışmasının [37] ön verilerinde plazma Se düzeyleri ve eritrosit GPx1 aktivitesi ile değerlendirilen Se statüsünün

CC genotipli bireylerde CT veya TT genotipli bireylerden anlamlı olarak daha düşük olduğu bulunmuştur.

Ek olarak yukarıda bahsedilen çalışmalardaki Çek ve Kore'li hastalarda (827 vaka, 727 kontrol) selenoprotein genlerindeki fonksiyonel SNP'lerin genotiplenmesi sonucunda diğer genetik varyantların da kolorektal kanser riskini etkileyebileceği sonucuna varılmıştır [44, 45]. Her iki popülasyondaki SELS'lerin promotör bölgelerindeki SNP'lerin hastalık riskini modüle edebileceği bulgusu kritiktir. rs34713741'in T aleli Çeklerde kolorektal kanser riskinde artış ile (olasılık oranı 1.68) ilişkili bulunurken Koreli kadınlarda ise çok yakındaki ikinci bir varyantın risk artışına yol açtığı tespit edilmiştir (olasılık oranı 2.25). Bu ilişkinin iki farklı popülasyonda replike olması SELS promotöründeki SNP'nin genetik, hayat tarzı ve diyet faktörlerinden bağımsız olarak kolorektal kanser riskini etkilediğini göstermektedir. rs34713741 ilginç biçimde gastrik kanser riski ile de ilişkilidir [46]. Ayrıca Çek popülasyonunda rs4880 (SOD2), rs713041 (GPX4) ve rs960531 (TXNRD2) arasında ve SEPP1 ile SEP15 veya GPx4 [45] arasında gözlenen anlamlı genetik etkileşimler kolon kanserinde multipl selenoproteinlerin rol oynadığını düşündürmektedir. Bu etkileşimler biyolojik olarak GPx4, TR2 ve MnSOD'nin oksidatif strese ve SePP'nin selenoprotein sentezine Se sağlamasına cevap olarak oluşan kombine metabolik etkileşimlerin yansımasıdır. SEPP1 varyantlarının potansiyel önemi Prostat, Akciğer, Kolorektal ve Ovaryum Kanseri Taraması Çalışmasına [47] alınan bireylerin genotiplemeleri ile elde edilen sonuçlarda vurgulanmaktadır. Çalışmada GPx1, GPx2, GPx4;SEPP1 ve tioredoksin redüktaz 1'de (TXNRD1) bulunan 44 işaretli SNP incelenmiştir. SEPP1'deki 4 varyant ve TXNRD1'deki 1 varyantın ileri distal kolorektal karsinom ile anlamlı olarak ilişkili olduğu bulunmuştur: SEPP1'nin -4166 pozisyonundaki 50 gen bölgesindeki bir C/G varyantı; SEPP1'in 3′ gen bölgesindeki üç varyant; TXNRD'nin -181 pozisyonundaki bir varyant. Çalışmada ayrıca SEPP1 ve TXNRD1'in tüm varyantları ile adenom riski arasında genel olarak anlamlı ilişki tespit edilmiştir.

İşaretli SNP yaklaşımı kullanılarak incelenen GPX1-4 varyantlarının kolorektal kanser riski ile ilişkisi üç tane ABD merkezli kolorektal adenom, rektal veya kolon kanseri çalışmasının kombinasyonu ile değerlendirilmiştir [48]. Veriler yaş ve boya göre düzeltildikten sonra, GPX3 (rs8177447, rs3828599 ve rs736775) ve bir GPX2'deki (rs4902347) SNP'lerin rektal kanser ile anlamlı olarak ilişkili olduğu tespit edilmiştir. Ancak kolon kanseri ve adenom riskleri ile ilgili anlamlı ilişki tespit edilmemiştir. Benzer bir yaklaşım kullanılarak GPX1-4 ve SEPP1'deki varyasyonları içeren SNP'ler ve işaretli SNP'ler Kadın Sağlık İnisiyatif Çalışmasına alınan 804 vaka ve 805 benzer özelliklere sahip kontrolde analiz edilmiştir [49]. Analizde sadece bir SNP'nin (GPX4'deki rs8178974) kolorektal kanser riski ile ilişkili olduğu bulunmuştur. Ancak GPx4'deki genel genetik varyasyon ile bir ilişki tespit edilmemiştir. Ancak çalışmaya katılan bireylerdeki ortalama Se statüsünün yüksek olması (serum Se 135.6 μg/l) genotipin hastalık riskindeki olası etkilerinin tespitini engellemiş olabilir. Gerçekten de selenoprotein sentezinin yüksek Se alımına yüksek oranda bağımlı olması nedeniyle burada tanımlanan SNP'lerin etkilerinin Se alımı ile modifiye olması beklenebilir. Bu nedenle gelecekteki çalışmalarda selenoprotein SNP'lerinin genotiplemelerinin Se statü ölçütleri ile kombine edilerek, Se statüsünün rölatif olarak düşük olduğu popülasyonlarda gerçekleştirilmesi çok önemlidir.

4.2 Prostat Kanseri

Son zamanlarda prostat kanseri riskinde genotip etkisini inceleyen çalışmalarda SEPP1 GPx1 ve SEP15'deki SNP'lerin prostat kanserine karşı olan duyarlılığı modifiye ettiğini bildirilmiştir [50–52]. SEPP1'deki rs7579'un bir Avrupa popülasyonundaki prostat kanseri riskini etkilediği, rs1050450'nin de hastalık riski ile serum Se konsantrasyonu arasındaki ilişkiyi etkilediği gösterilmiştir. Buna karşın Avrupalı popülasyonda yapılan ikinci bir çalışmada ise prostat kanseri riskinin düşük Se statüsü ile birlikte SOD2 genindeki rs4880 ve SEPP1 genindeki rs3877899 genotipleri tarafından modüle edildiği bildirilmiştir [52]. ABD'de yapılan bir çalışmada hem prostat kanseri riskinin hem de sağkalımın SEP15 genindeki genetik bir varyasyonun ve düşük Se statüsünün kombinasyonu ile modifiye edildiğini göstermiştir. Ancak hastalık riski üzerinde bir etki bulunmamıştır [51]. Son zamanlarda tüm selenoprotein genlerindeki SNP'lerin yolakları boyunca analizi prostat kanseri hastalarından oluşan yuvalandırılmış (nested) vaka kontrol kohortunda ve kontrol hastalarında yapılmıştır. Başlangıç taramasından sonra, ikinci faz genotiplemede ileri kanser riskinin Se statüsü ile SELK, TR1 ve TR2'deki SNP'ler tarafından anlamlı olarak modifiye edildiği gösterilmiştir [53].

4.3 Meme Kanseri

Epidemiyolojik çalışmalarda çelişkili sonuçlar alınmış olmasına ve Se alımı/statüsü ile meme kanseri arasındaki ilişki hakkında çok az kanıt bulunmuş olmasına rağmen, seçilmiş selenoprotein SNP'lerinin genotipleri ve hastalık riskini araştıran bazı genotipleme çalışmaları yapılmıştır. Analiz edilen meme tümörlerinin %36'sında GPx1 lokusunda LOH [41] tespit edilirken, GPx1'deki rs1050450 ile meme kanseri riski arasında da ilişki olduğu gözlenmiştir. Devamında bir Danimarka kohortundaki meme kanseri ile bu SNP arasında bir ilişki konfirme edilmiş ve T alelinin kanser riskinde artış ile ilişkili olduğu gösterilmiştir [54]. Buna karşın ABD ve Kanada'da yapılan çalışmalarda [55-57] herhangi bir ilişki tespit edilmemiştir. Bir metaanalizde de Afrikalı kadınlarda görülen risk artışına rağmen, genel bir ilişki bulunamadığı bildirilmiştir [58]. Ancak ilişki bulunamamış olması Se statüsü ile rs1050450 genotipi arasındaki kompleks etkileşimin bir yansıması olabilir. Avrupalı (örn. Danimarka) popülasyonlardaki meme kanseri riski ile rs1050450 genotipi arasında bir ilişki olabileceği görülmektedir. Ancak bu ilişki yüksek Se tüketimi olan kadınlarda mevcut değildir (örn. ABD ve Kanada popülasyonları).

GPX1 genindeki değişken GCG tekrarlarına denk gelen bir başka polimorfizm de değişken sayıda alanin içeren bir protein oluşumuna yol açar. Bir başka çalışmada da ilginç şekilde bu varyantın genotipinin premenopozal kadınlardaki meme kanseri riskinde anlamlı artış ile ilişkili olduğu bildirilmiştir [57].

Hu ve ark [39] Afrikalı kadınlardaki SEP15'deki rs5859 ve meme kanseri arasında bir ilişki bulurken aynı ilişkiyi beyaz ırk için tespit edememiştir. Ayrıca tümör dokusundaki SEP15 lokusunda da LOH gözlemişlerdir. İkinci bir çalışmada da SEP15 alel kaybının

Afrikalı kadınlardaki meme kanseri tümörü ile ilişkili olduğu gösterilmiştir [59]. GPX1 ve SEP15 lokuslarındaki LOH varlığı iki selenoproteinin meme kanseri etyolojisindeki potansiyel tümör baskılayıcı rolü olabileceğini önermektedir.

4.4 Akciğer Kanseri

GPX1'deki rs1050450 de akciğer kanseri riski ile ilişkili bulunmuştur [60-65]. Meme kanseri hakkında yukarıda tanımlananlara ek olarak, akciğer kanserinde de GPX1 lokusunda LOH tespit edilmiştir [66]. Polonyalılardaki akciğer kanseri ile rs5859 genotipi ve selenyum statüsü arasında ilginç ve kompleks bir ilişki gözlenmiştir [33]. Se statüsüne bağlı olarak, sigara içenler arasındaki akciğer kanseri riskinin rs5859 genotipinde farklılıklar gösterdiği bulunmuştur. AA genotipli bireylerdeki plazma Se konsantrasyonunun artması akciğer kanseri riskinde azalmaya yol açmaktadır. Ancak GG ve GA genotiplerinin sadece daha düşük Se statüsü olanlardaki akciğer kanserinde azalma ile ilişkili bulunmuş olması, Se takviyesinin sadece AA genotiplerinde faydalı olduğunu, GG ve GA genotiplerindeki akciğer kanseri riskini ise artırabileceğini önermektedir.

4.5 Etkileri

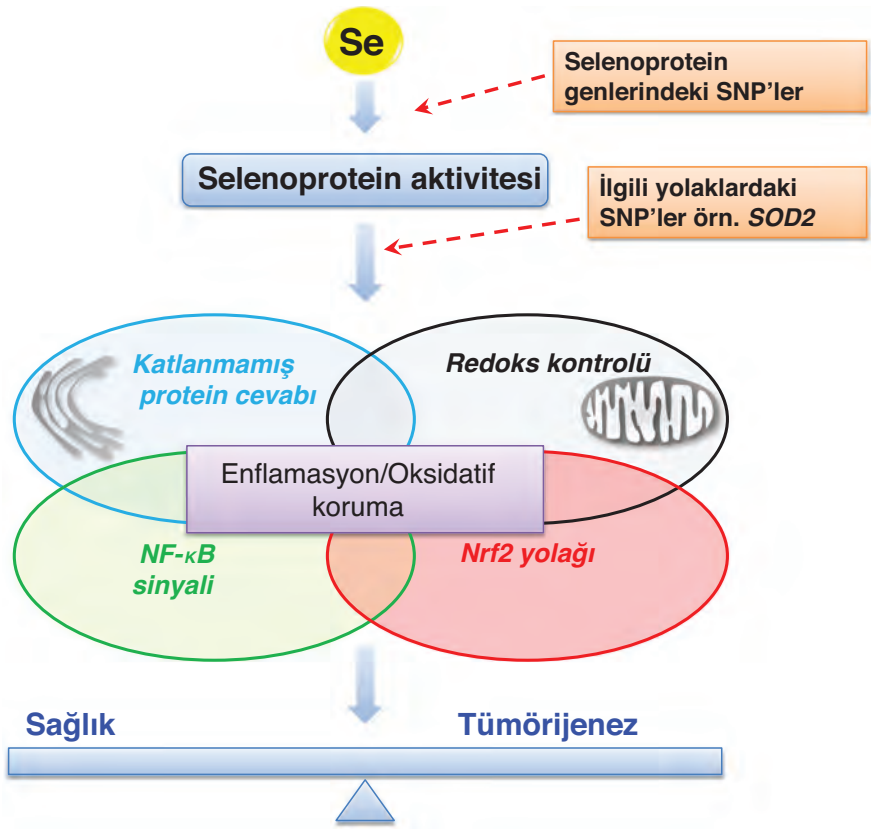
Önceki bölümlerden de anlaşılacağı üzere selenoprotein SNP'leri ve kanser riski ile ilgili çalışmaların görece küçük boyutlara sahip olmaları ve sonuçlarının çoğunlukla replike edilememeleri, üç konuyu karşımıza çıkarmıştır. Birincisi SELS'in promotör bölgesindeki SNP'lerin iki farklı özelliklere sahip kohortta kolorektal veya rektal kanser riskini etkilemesi [67] ve GPX1'deki rs1050450'nin akciğer kanseri riskini etkilemesidir (bkz. Bölüm 4.4).

İkincisi farklı çalışmalarda selenoprotein SNP'lerinin diğer genetik faktörlerle (ikinci bir SNP) veya hayat tarzı faktörleri ile kombinasyon halinde kanser riskini etkilemesidir. Bu nedenle prostat kanseri riski ve serum Se arasındaki ilişki SEP15 [51], GPX1'deki rs1050450 veya SEPP1'deki rs7579 varyantları için modifiye edildiği bildirilmiştir [50]. Farklı bir prostat kanseri çalışmasında SEPP1 (rs3877899) ve SOD2 (rs4880) varyantlarının hastalık riskini etkilediği bildirilmiştir [52]. Benzer şekilde SELS promotörü SNPS'in bir Çek kohortundaki kolorektal kanser riskindeki etkisine ek olarak, rs713041 (GPX4) ve rs4880 (SOD2) veya SEPP1'deki rs7579 arasında kolorektal kanser riskini etkileyen SNP-SNP etkileşimleri tespit edilmiştir [45]. Bir başka örnek te GPX1'deki rs1050450 ve SOD2'deki rs4880 kombinasyonunun meme kanseri riskini modüle ettiğinin gözlenmiş olmasıdır.

Üçüncüsü de farklı selenoprotein genlerindeki SNP'lerin farklı kanser risklerini etkileme trendidir. Örnekler yukarıdaki 4.1-4.4 nolu bölümlerde tartışıldığı üzere,. GPX1'deki rs1050450 meme, mesane, akciğer ve prostat kanserlerinin risklerini etkilerken, kolorektal kanser riskini etkilemediği bildirilmemiştir. GPX4'deki rs713041 kolorektal kanser riski ile ilişkilendirilmiş olsa da farklı çalışmalarda kafa karıştırıcı

sonuçlar bildirilmiştir. Bir çalışmada meme kanseri reküransını etkilediği bildirilirken, prostat kanseri ile ilgili bir ilişki bildirilmemiştir. Ek olarak SELS'lerin promotör bölgelerindeki SNP'ler gastrointestinal kanser riskini etkilemektedir. Ancak bu varyantların diğer kanser risklerini etkilediğini gösteren kanıt yoktur. Bunun aksine SEP15 ve SeIS'in ER stres yolağında fonksiyonları olduğu düşünülürken, SEP15'deki SNP'lerin birçok kanser türünün (prostat, meme, akciğer ve rektum) riski ile ilgili olması şaşırtıcıdır. SEPP'nin Se metabolizmasındaki önemli rolü nedeniyle SEPP1'deki SNP'lerin prostat, kolorektal [45] ve meme kanseri riskleri ile ilgili bulunması şaşırtıcı değildir (Méplan, Hesketh, Vogel yayınlanmamış veriler). Ancak SEPP1 SNP'lerinin etkileri başka varyantlar tarafından modüle edilirler. Bu modülasyonun prostat ve kolorektal kanserler için farklı olduklarının bildirilmiş olması ([44, 49,52] nolu referansları karşılaştırınız), tümörijenezde mekanik farklılıklar olduğunu düşündürmektedir.

SNP'lerin farklı selenoprotein genlerinde gözlenmiş olması farklı dokulardaki kanser riskini etkilediklerini düşündürmektedir. Bu durum selenoproteinlerin farklı dokulardaki spesifik rollerinin ya da farklı tipte karsinojenlere yanıtlarının veya selenoproteinlerin dokuya özgü hiyerarşilerinin bir göstergesi olabilir. Ek olarak selenoprotein SNP'leri arasındaki kanser riskinin genetik etkileşimlerle modülasyonu muhtemelen Se metabolizmasının iki özelliğinin yansımasıdır. Birincisi kısıtlı sayıda selenoproteinlere benzer bir mekanizma ile bağlanmaları, ikincisi ise bir selenoproteinin ekspresyonundaki değişimin bir başkasının ekspresyonunu değiştirebilmesi sonucu ortaya çıkan selenoprotein hiyerarşisidir. Bununla ilgili bir örnek vaka/kontrollü kolorektal kanser çalışmasında illüstre edilen ve ilgili proteinlerin bilinen fonksiyonları ile örtüşen farklı selenoproteinlerdeki SNP'ler arasında gözlediğimiz genetik interaksiyonlardır [44]. Özellikle Se'ye, SePP plazma izoformlarını ve potansiyel olarak Se dağıtımına [19, 34] verilen cevabı modüle eden SEPP1 SNP'leri, SEP15 ve GPX4'teki 3′ utr'de bulunan iki SNP ile etkileşime girmektedir. Bu genetik etkileşimler suboptimal Se düzeyleri ve "zayıf" Se dağıtımı varyantı (SEPP'de) için kombine genotipi ve "zayıf" selenosistein eklenme varyantı olan bir bireydeki GPX4 veya SEP15 sentezi azalarak kolonik hücreleri oksidatif hasara daha duyarlı hale getirerek bireyi kolorektal kansere daha yatkın hale getirebilir. Bu nedenle Se alımı ve Se metabolizmasını etkileyen muhtemel faktörler ve ilgili aşağı yönlü yolaklar göz önüne alındığında ortaya kompleks bir resim çıkmaktadır (Şekil 4'de illüstre edildiği gibi). Bu yüzden gelecekteki epidemiyolojik çalışmalarda fonksiyonel SNP'lerin tüm Se yolaklarının kombinasyon halinde incelenmesi gerekmektedir. Bu inceleme varyantların yolaklar boyunca, Se statü ölçütleri ile kombine halde değerlendirilmelerini kapsar. Gen-diyet etkileşiminin önemi ve sigara gibi potansiyel hayat tarzı ve çevresel etkilerin rolü ve SNP'ler arasındaki kompleks ilişkiler, genom boyunca ilişkilendirme çalışmalarının (GWAS) selenoprotein SNP'lerinin kanser riskindeki rolünü niçin tanımlayamadıklarının muhtemel nedenidir.



Şekil 4 Se alımı ve SNP'ler arasındaki multipl entegre metabolik cevapları etkileyen etkileşimler. Şema hem Se alımını hem de SNP'lerin selenoprotein aktivitelerindeki etkisi ile, devamındaki selenoprotein aktivitesinin metabolik olarak ilişkili aşağı yönlü yolaklar üzerindeki etkilerini illüstre etmektedir. Bu yolakların entegre cevabı Se'nin tümörijenezdeki rolünün altında yatan potansiyel nedendir.

5 Genom Çalışmaları

5.1 Diyetle Alınan Selenyumun Transkriptom Üzerindeki Etkisi

Se kanser ilişkisi hakkındaki tartışmada, selenoproteinlerin biyokimyasal fonksiyonları ve hücresel biyokimyasal fonksiyonun değişen Se alımı ile nasıl değiştiği hakkındaki bilgilerimizin artması hayati rol oynamaktadır. Bölüm 2.1'de anlatıldığı üzere, Se mevcudiyeti tüm selenoproteinlerin seviye ve aktivitelerini aynı düzeyde değiştirmez. Her selenoproteinin aktivitesindeki değişimler devamında aşağı yönlü hedeflerin aktivitesini etkilediği için, selenoprotein ekspresyon paterninde rol oynayan bir başka kompleks mekanizma mevcuttur. Genomik tekniklerin ilerlemesi ile, mikrodizi yöntemi kullanıla-

rak sadece selenoprotein mRNA ekspresyon paternlerindeki değişimler aydınlatılmakla kalmamış, aynı zamanda bu paternin aşağı yönlü hedefler ve yolaklarla olan kompleks ilişkisi de anlaşılmıştır. Bu nedenle değişen Se alımına ve biyokimyasal fonksiyonuna verilen doku ve hücre cevaplarının anlaşılması ile selenoproteinleri entegre bir sistemin bakış açısıyla inceleme fırsatı doğmuştur. Gen mikrodizi kullanarak yaptığımız bu çalışmada Se tedarikindeki değişimlerin fare kolonundaki ve hem insan, hem fare lökositlerindeki global transkriptom paterninin ekspresyonunu nasıl etkilediğini araştırdık. Ana bulgular Şekil 2'de şematik olarak illüstre edilmiştir.

6 hafta boyunca 100 μg/gün sodyum selenit [68] uygulanan bireylerden çalışmanın başında ve sonunda izole edilen insan lenfosit RNA mikrodizi analizleri yapılmıştır. SEP15 ve SELK mRNA ekspresyonlarının Se takviyesinden anlamlı olarak etkilenmeleri nedeniyle insan lenfositlerindeki Se tedarikine en duyarlı selenoproteinler oldukları tespit edilmiştir. Sonrasında yapılan bir çalışmada suboptimal ve marjinal düzeyde Se eksikliği olan diyetle beslenen farelerin transkriptomik kolon analizlerinde, marjinal Se eksikliğinin GPX1, SeIH, SeIW ve SeIM'nin daha düşük ekspresyonuna neden olduğu bulunmuştur. Fare kolonundaki bu selenoproteinlerin en azından mRNA düzeyindeki ekspresyonlarının diyette Se azalmasına duyarlı olduğu gösterilmiştir [27]. GPX1 ve SeIW'nin Se azalmasına duyarlı olduğunun bulunması daha önce kolon epitel hücrelerinde gözlenen selenoprotein hiyerarşisi hakkındaki bulgularla uyumludur [68]. Ancak SeIH ve SeIM'nin kolondaki duyarlılığı daha önce tanımlanmamıştır. İlginç biçimde, aynı farelerde yapılan splenik lökosit RNA çalışmasında da SelW, GPx1, SelH ve SEP15'in Se azalmasına duyarlı olduğunun gösterilmiş olması [69], SeIH ve SeIW ekspresyonunun çeşitli dokudaki Se azalmasına özellikle duyarlı olduğunu düşündürmektedir. İnsan ve hayvan çalışması verilerinin karşılaştırmasında lenfositlerdeki değişimlerin spesifik olabileceği ve insan kolon biyopsilerinden elde edilen RNA'yı kullanarak sürdürmekte olduğumuz deneylerde Se statüsü ile selenoprotein arasındaki ilişkiyi tanımlamada önemli olabileceği ortaya çıkmıştır.

Se alımına duyarlı aşağı yönlü hedeflerin özelliklerini incelemek amacıyla, bu çalışmalardan elde edilen mikrodizi verilerinin yolak analizleri yapılmıştır. Se takviyesi sonrası insan lenfosit ekspresyonunu inceleyen çalışmanın verileri, Se takviyesine en duyarlı bölgenin protein biyosentetik yolakları olduğu tespit edilmiştir [68]. Fare kolonunun benzer bir analizinde de marjinal Se eksikliği ile en fazla değişen yolağın protein translasyonu olduğu gösterilmiştir. Ek olarak protein sentezi ile ilgili yolakların (eiF4e ve p70S6 kinaz, ribozomal proteinler ve mTOR sinyal yolağı), enflamatuar sinyallerin (TNF-α-NF-κB), hücre siklus regülasyonunun (WNT sinyali) ve proteazom degradasyonunun da Se alımı ile modüle edildiği bulunmuştur. Üç NF-κB bağlama bölgesi tarafından yönlendirilen lusiferaz habercisinin Caco-2 bağırsak epitel hücrelerine transfekte edilmesi ile yapılan deneyde, Se tedariğinin NF-κB'nin TNF-α'ya olan cevabını modüle ettiğinin bulunmuş olması [70], Se tedarikinin kolon epitelindeki enflamatuar yolakları modifiye ettiği hipotezine ilave destek sağlamıştır. İlginç biçimde fare splenik lökositlerindeki enflamasyon ile ilişkili yolakların da Se azalmasından etkilendiği bulunmuştur. Gerçek zamanlı PCR analizi ile orta düzeyde Se eksikliğinin 30'dan fazla NF-κB hedefin-

de aşağı regülasyona yol açtığının bulunması, Se azalmasının NF-κB sinyalini etkilediğini konfirme etmiştir [69].

Tüm bu transkriptomik analizler Se tedariğinin kolon ve muhtemelen diğer dokulardaki protein sentezini, katlanmamış protein cevabını, Wnt, Nrf2 ve enflamatuar yolakları modüle ettiğini önermektedir [27, 68, 69]. Bu yolakların çoğu eksternal ve internal sorunlara karşı ortaya çıkan hücresel cevapların regülasyonunda rol oynamaktadır: Örneğin ksenobiyotik ve antioksidanlara verilen cevaplarda Nrf2, viral ve enflamatuar problemlere karşı oluşan cevaplarda katlanmamış cevap yolakları rol oynar. Ek olarak glutatyon peroksidazlar ve tioredoksin redüktazlar gibi çeşitli selenoproteinler de antioksidan koruyucu mekanizmalarda anahtar role sahiptir. Bu nedenle selenoproteinlerin hücrelerin bu proseslerde rol oynayan aşağı yönlü yolakları etkileyen bir dizi probleme cevap verilmesi ve problemin çözülmesinde önemli rol oynadığı hipotezini geliştirdik.

5.2 Kolonda Selenoprotein Fonksiyonu

Kolon ile ilgili mikrodizi ve genotipleme deneylerinde özel öneme sahip çeşitli selenoproteinler vurgulanmıştır; SeIH, SeIM ve SeIW, Se alımına karşı özellikle hassastır. SeIS'in genetik varyasyonlarının da hem kolon sağlığı hem de enflamatuar cevapları etkilediği düşünülmektedir.

Mevcut bilgilerimiz: (1) Bu selenoproteinler endoplazmik retikulumun (ER) katlanmamış protein cevabında, antioksidan korumada ve enflamatuar sinyallerde rol oynar. (2) Endoplazmik retikulum stresi, Nrf2 sinyali, memeli rapamisin hedefi (mTOR) sinyali ve enflamatuar sinyaller arasında biyokimyasal etkileşim (cross talk) mevcuttur. Örneğin mTOR sinyali hücre büyümesi ve protein sentezini kontrol eden yolakları regüle eder; anahtar uzatma ve başlatma faktörleri ve bunların kinazları gibi translasyonda rol oynayan çeşitli faktörleri modüle eder. Ayrıca c-myc'nin (Wnt yolağındaki hedef bir gen) transkripsiyonel regülasyonu ve mTOR besin öğesi algılama özelliği de mTOR'un translasyon, başlatma ve uzatmayı regüle etmesi ile bağlantılıdır. Selenyumun protein sentezi ve translasyon yolaklarında gözlenen etkilerinin Wnt ve/veya mTOR sinyalindeki değişimlerle ilişkili olduğunu düşünüyoruz. Bu da Se alımı ve SNP'ler tarafından değiştirilen bağlantılı biyokimyasal ağın bir yönünü temsil etmektedir.

Selenoprotein sentezinde rol oynayan ikinci bir nodal yolak da ER stres yolağıdır. Bu yolak besin öğesi yoksunluğu ve oksidatif stress gibi problemler ile ER'nin protein katlama kapasitesini bozarak yanlış katlanmış protein birikimine yol açabilir. Bölüm 2.1'de tanımlandığı üzere ER'de bulunan SEP15, SeIM ve SeIS selenoproteinlerin yanlış katlanmış proteinlerin uzaklaştırılmasında ve enflamatuar sinyallerde rol oynadıkları kabul edilmektedir. Ayrıca SeIS ekspresyonu da ER stresi [71] ve enflamatuar yolaklar [72] gibi bir dizi metabolik olaylarla modüle edilmektedir. Bu yolaklar kolorektal karsinogenezde disregüle olduğu için, SeIH, SeIS ve SeIM'nin ekspresyon/aktivitelerinin, Se alımı ve/veya genetik faktörler ile değişime uğraması ER stresini modüle edebilir [13]. Bu da birbiriyle ilişkili bir dizi biyokimyasal yolağı ve devamında tümörijenezi etkileyebilir. Hipotezimiz (bakınız Şekil 4) diyetle Se alımı ve selenoprotein genlerindeki SNP'lerin

oksidatif, endoplazmik retikulum ve enflamatuar streslere verilen hücre cevabında rol alan bir dizi birbiriyle bağlantılı yolağı modüle ettiğini önermektedir [11]. Selenoproteinlerin hücre koruma mekanizmalarındaki rolü ve Se statüsündeki değişimlerden etkilenen aşağı yönlü hedefli metabolik yolaklarla ilgili bilinen ve varsayılan bilgilerin ışığında, kolonik selenoproteinlerin ekspresyonlarındaki değişimlerin kolon epitel hücrelerini hasar verici metabolik problemlerle mücadele edecek şekilde modüle etmesi mümkündür. Bu da bir bireyde kanser gelişme riskini etkileyen bir faktördür. Kolondaki bu selenoproteinlerin rollerinin tanımlanması öncelikli olmalıdır.

siRNA'nın gen ekspresyonunun baskılanması (knock down) için kullanımının selenoproteinlerin fonksiyonlarının incelenmesinde kullanışlı olduğu gösterilmiştir. Kolonik epitel hücre dizisindeki GPX4'in baskılanmasını takip eden transkriptomik analizde, gerçek zamanlı PCR ve Westernblot analizinde mitokondrial respiratuar komplekslerin (I, IV ve V) kodlayıcı komponentlerini kontrol eden genlerde majör etkiler gözlenmiştir [73]. GPX4 baskılanması aynı zamanda mitokondrial reaktif oksijen türlerinin ve okside lipidlerin seviyelerini artırıp, apoptoz indükleyici faktörün (AIF) ekspresyonunu değiştirir. Düşük GPX4 ekspresyonunun lipooksijenaz kaynaklı lipid hidroksiperoksitleri ve AIF tarafından indüklenen apoptozi artırması geçmiş çalışmaların bulguları ile uyumludur. GPX4 ekspresyonu farklılaşmış enterositlerde [75] arttığı için, GPX4'ün AIF ile ilişkili koruyucu rolü farklılaşmış enterositler için özel öneme sahip olabilir. Ayrıca değişen GPX4 aktivitesinin bir sonucu olarak ortaya çıkan mitokondriyal oksidatif fonksiyon ve apoptoz, kolonik hücre proliferasyonunu etkileyebilir [72]. Bu etkiler ile kolorektal kanser riski arasındaki ilişki bilinmemektedir. Ancak mitokondrial fonksiyonun, düşük Se alımı ve selenoprotein genetik varyasyonlarına karşı oluşan hücre cevaplarını belirleyen biyokimyasal ağlarda önemli bir rol oynadığı speküle edilebilir. Bu bağlamda hem baskılama hem de aşırı ekspresyon deneylerinde GPX1'in mitokondri fonksiyonu üzerindeki etkilerinin redoks ile regüle edilen yolakların kontrolünde önemli rol oynadığının [76] ve ER stresinin mitokondrial redoks reaksiyonları ve enflamatuar yolaklarla ilgili olduğunun belirtilmiş olması ilginçtir [77, 78].

6 Sonuçlar ve Gelecekteki Çalışmalar

Se insanda 25 selenoproteinde bulunur. Se düzeylerindeki değişimler selenoprotein sentezini, protein ve dokuya bağlı olarak farklı şekillerde etkiler. Farklı dokulardaki çeşitli selenoproteinlerin rolleri tam olarak anlaşılamamıştır. Bu durum özellikle daha az tanınan proteinler için geçerlidir. Se alımı ve kanser arasındaki ilişkinin daha iyi anlaşılabilmesi için, gelecekteki çalışmalar kanser görülen çeşitli dokulardaki farklı selenoproteinlerin rollerinin tanımlanmasına odaklanmalıdır. Ancak bu entegre bir yaklaşım gerektirir. Se tedariğinin multipl selenoproteinler üzerindeki etkilerinin aşağı yönlü yolaklar ve çevresel stresin göze alınarak incelenmesi ile mümkün olabilir. Böylece Se'nin genel hücre cevapları üzerindeki etkilerini ve kardiyojenik prosesi önleme mekanizmasını anlamamız mümkün olabilir (Şekil 4'de şematik olarak illüstre edilmiştir). Genetik epidemiyolojik çalışmalardan elde edilen veriler farklı varyantların farklı dokulardaki

kanser riskini etkileme ihtimalinin yüksek olduğunu göstermektedir. Bu selenoproteinlerin farklı rollerinin teorik göstergesi olup bu dokularda Se fonksiyonlarını araştıracak mekanik çalışmaların önemini vurgulamayan bir durumdur. Selenyumun hedef dokulardaki rolü ile Se ve selenoproteinlerin hücre büyümesinin kontrolündeki olası etkilerinin anlaşılmasında fonksiyonel genomik yaklaşım esastır.

Günümüzde selenoproteinler içindeki bazı SNP'lerin proteinlerin ekspresyonunda fonksiyonel etkileri olduğunu gösteren güçlü kanıtlar mevcuttur. Ancak bu varyantların veya diğer selenoprotein SNP'lerinin kanser riskini etkileyip etkilemediğinin kesin olarak gösterilmesi gerekmektedir. Bu eksiğe rağmen, hastalıklarla ilişkileri araştıran çalışmalardan elde edilen ön bilgiler selenoprotein genlerindeki SNP'lerin kanser riski ile ilişkili olduğunu düşündürmektedir. Örneğin mevcut bilgilerimiz akciğer kanseri riskinin GPX1'deki rs1050450 genotipi, kolorektal kanser riskinin SELS'deki fonksiyonel bir varyantın genotipi ve muhtemelen GPX4 ile SEPP1 varyantları ile ilişkili olduğunu ancak GPX1'deki rs1050450 ile ilişkisi bulunmadığını göstermektedir. Buna karşın meme kanseri riski ise GPX1'deki rs1050450 ve sigara gibi hayat tarzı faktörlerinin kombinasyonundan etkilenmektedir. Ayrıca GPX1 ve SEPP1'deki SNP'lerin de prostat kanseri riskini etkilediği bildirilmiştir. Çeşitli çalışmalarda kanser riskinin SNP'ler ve/veya SNP'ler ile Se statüsü arasındaki etkileşimlerle modüle edebildiğinin gösterilmiş olması önemlidir. Kanser riskiyle ilişkili selenoprotein genotipleme verileri ümit verici ve motive edicidir. Ancak genotiplemenin selenoprotein yolağında rol oynayan (mümkün olabildiği kadar çok sayıda) SNP'ler ile konfirmasyonu ve replikasyonunun Se statü ölçütleri ile kombinasyon halinde gösterilmesi gerekmektedir. Bu amaç selenoprotein yolağındaki farklı SNP'lerin tek başlarına ve kombine haldeki etkilerinin, etkileşimlerinin ve Se statüsün kanser riskindeki etkisinin sayısal olarak tanımlanmasını gerektirmektedir.

Genotipleme ve mekanik çalışmalarda, Se ve selenoproteinlerin kanser biyolojisi ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. SELECT takviye çalışmasındaki negatif sonuca rağmen "Se ve kanser" çalışmalarının devam etmesi önemlidir. SELECT Çalışmasının sonuçlarında da Se-gen etkileşiminin, potansiyel kanser riski ile ilişkisinin altı çizilmektedir. Rölatif olarak düşük Se statüsü olan bir popülasyonlarda (örn. Avrupa) yapılacak Se takviye çalışmasına ihtiyaç vardır. Yanıltıcı faktörlerin elimine edilmesi adına selenoprotein SNP'lerinin genotiplemelerinin de entegre edilmesi uygun olacaktır.

CM Biotechnology and Biological Sciences Research Council tarafından desteklenmiştir (burs BB/H011471/1). JEH'in laboratuar çalışmaları Biotechnology and Biological Sciences Research Council, Food Standards Agency, Wellcome Trust, European Union, World Cancer Research Fund and Newcastle Healthcare Charity tarafından desteklenmiştir.

Referanslar

1. Fairweather-Tait SJ, BaoY Broadley MR et al (2011) Selenium in human health and disease. Antiox Red Sig 14:1337–1383
2. Rayman MP (2012) Selenium and human health. Lancet 379:1256–1268

3. Whanger PD (2004) Selenium and its relationship to cancer: an update dagger. Br J Nutr 91:11–28
4. Shamberger RJ, Frost DV (1969) Possible protective effect of selenium against human cancer. Can Med Assoc J 104:82–84
5. Duffield-Lillico AJ, Reid ME, Turnbull BW et al (2002) Baseline characteristics and the effect of selenium supplementation on cancer incidence in a randomized clinical trial: a summary report of the nutritional prevention of cancer trial. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 11:630–639
6. Qiao YL, Dawsey SM, Kamangar F et al (2009) Total and cancer mortality after supplementation with vitamins and minerals: follow-up of the Linxian general population nutrition intervention trial. J Natl Cancer Inst 101:507–518
7. Lippman SM, Klein EA, Goodman PJ et al (2009) Effect of selenium and vitamin E on risk of prostate cancer and other cancers: the selenium and vitamin E cancer prevention trial (SELECT). JAMA 301:39–51
8. Dunn BK, Taylor PR (2012) Prostate cancer prevention and the selenium and vitamin E cancer prevention trial (SELECT): a selenium perspective. In: Hatfield D, Berry MJ, Gladyshev VN (eds) Selenium: its molecular biology and role in human health, 3rd edn. Springer, New York
9. Laclaustra M, Navas-Acien A, Stranges S et al (2009) Serum selenium concentrations and diabetes in U.S. adults: national health and nutrition examination survey (NHANES) 2003–2004. Environ Health Perspect 117:1409–1413
10. Hesketh J (2008) Nutrigenomics and selenium: gene expression patterns, physiological targets, and genetics. Annu Rev Nutr 28:157–177
11. Hesketh J, Méplan C (2011) Transcriptomics and functional genetic polymorphisms as biomarkers of micronutrient function: focus on selenium as an exemplar. Proc Nutr Soc epub ahead of print
12. Hesketh J, Wybranska I, Dommels Y, King M, Elliott R, Pico C, Keijer J (2006) Nutrient-gene interactions in benefit-risk analysis. Br J Nutr 95(6):1232–1236
13. Méplan C (2011) Trace elements and ageing, a genomic perspective using selenium as an example. J Trace Elem Med Biol 25:S11–S16
14. Bellinger FP, Raman AV, Reeves MA et al (2009) Regulation and function of selenoproteins in human disease. Biochem J 422:11–22
15. Papp LV, Holmgren A, Khanna KK (2010) Selenium and selenoproteins in health and disease. Antioxid Redox Signal 12:793–795
16. Aachmann FL, Fomenko DE, Soragni A et al (2007) Solution structure of selenoprotein W and NMR analysis of its interaction with 14–3-3 proteins. J Biol Chem 282:37036–37044
17. Dikiy A, Novoselov SV, Fomenko DE et al (2007) SelT, SelW, SelH, and Rdx12: genomics and molecular insights into the functions of selenoproteins of a novel thioredoxin-like family. Biochemistry 46:6871–6882
18. Reeves MA, Bellinger FP, Berry MJ (2010) The neuroprotective functions of selenoprotein M and its role in cytosolic calcium regulation. Antioxid Redox Signal 12:809–818
19. Burk RF, Hill KE (2009) Selenoprotein P-expression, functions, and roles in mammals. Biochim Biophys Acta 1790:1441–1447
20. Méplan C, Nicol F, Burtle BT et al (2009) Relative abundance of selenoprotein P isoforms in human plasma depends on genotype, se intake, and cancer status. Antioxid Redox Signal 11:2631–2640
21. Hill KE, Zhou J, McMahan WJ et al (2003) Deletion of selenoprotein P alters distribution of selenium in the mouse. J Biol Chem 278:13640–13646
22. Schomburg L, Schweizer U, Holtmann B et al (2003) Gene disruption discloses role of selenoprotein P in selenium delivery to target tissues. Biochem J 370:397–402
23. Al-Taie OH, Seufert J, Mork H et al (2002) A complex DNA-repeat structure within the Selenoprotein P promoter contains a functionally relevant polymorphism and is genetically unstable under conditions of mismatch repair deficiency. Eur J Hum Genet 10:499–504

24. Bermano G, Nicol F, Dyer JA et al (1995) Tissue-specific regulation of selenoenzyme gene expression during selenium deficiency in rats. Biochem J 311:425–430
25. Wingler K, Bocher M, Flohe L et al (1999) mRNA stability and selenocysteine insertion sequence efficiency rank gastrointestinal glutathione peroxidase high in the hierarchy of selenoproteins. Eur J Biochem 259:149–157
26. Pagmantidis V, Bermano G, Villette S et al (2005) Effects of Se-depletion on glutathione peroxidase and selenoprotein W gene expression in the colon. FEBS Lett 579:792–796
27. Kipp A, Banning A, van Schothorst EM et al (2009) Four selenoproteins, protein biosynthesis, and Wnt signalling are particularly sensitive to limited selenium intake in mouse colon. Mol Nutr Food Res 53:1561–1572
28. Bermano G, Arthur JR, Hesketh JE (1996) Role of the 3′ untranslated region in the regulation of cytosolic glutathione peroxidase and phospholipid-hydroperoxide glutathione peroxidase gene expression by selenium supply. Biochem J 320:891–895
29. Méplan C, Crosley LK, Nicol F et al (2008) Functional effects of a common single-nucleotide polymorphism (GPX4c718t) in the glutathione peroxidase 4 gene: interaction with sex. Am J Clin Nut 87:1019–1027
30. Curran JE, Jowett JB, Elliott KS et al (2005) Genetic variation in selenoprotein S influences inflammatory response. Nat Genet 37:1234–1241
31. Voetsch B, Jin RC, Bierl C et al (2007) Promoter polymorphisms in the plasma glutathione peroxidase (GPx-3) gene: a novel risk factor for arterial ischemic stroke among young adults and children. Stroke 38:41–49
32. Forsberg L, de Faire U, Marklund SL et al (2000) Phenotype determination of a common Pro-Leu polymorphism in human glutathione peroxidase 1. Blood Cells Mol Dis 26:423–426
33. Jablonska E, Gromadzinska J, Reszka E et al (2009) Association between GPx1 Pro198Leu polymorphism, GPx1 activity and plasma selenium concentration in humans. Eur J Nut 48:383–386
34. Takata Y, King IB, Lampe JW et al (2012) Genetic variation in GPX1 is associated with GPX1 activity in a comprehensive analysis of genetic variations in selenoenzyme genes and their activity and oxidative stress in humans. J Nutr 142:419–426
35. Méplan C, Crosley LK, Nicol F et al (2007) Genetic polymorphisms in the human selenoprotein P gene determine the response of selenoprotein markers to selenium supplementation in a gender-specific manner (the SELGEN study). FASEB J 21:3063–3074
36. Villette S, Kyle JA, Brown KM et al (2002) A novel single nucleotide polymorphism in the 3' untranslated region of human glutathione peroxidase 4 influences lipoxygenase metabolism. Blood Cells Mol Dis 29:174–178
37. Bermano G, Pagmantidis V, Holloway N et al (2007) Evidence that a polymorphism within the 3′ UTR of glutathione peroxidase 4 is functional and is associated with susceptibility to colorectal cancer. Genes Nutr 2:225–232
38. Gautrey H, Nicol F, Sneddon AA et al (2011) A T/C polymorphism in the GPX4 3′ UTR affects the selenoprotein expression pattern and cell viability in transfected Caco-2 cells. Biochim Biophys Acta 1810:584–591
39. Hu YJ, Korotkov KV, Mehta R et al (2001) Distribution and functional consequences of nucleotide polymorphisms in the 3′-untranslated region of the human Sep 15 gene. Cancer Res 61:2307–2310
40. Pawlowicz Z, Zachara BA, Trafikowska U et al (1991) Blood selenium concentrations and glutathione peroxidase activities in patients with breast cancer and with advanced gastrointestinal cancer. J Trace Elem Electrolytes Health Dis 5:275–277
41. Hu YJ, Diamond AM (2003) Role of glutathione peroxidase 1 in breast cancer: loss of heterozygosity and allelic differences in the response to selenium. Cancer Res 63:3347–3351
42. Gresner P, Gromadzinska J, Jablonska E et al (2009) Expression of selenoprotein-coding genes SEPP1, SEP15 and hGPX1 in non-small cell lung cancer. Lung Cancer 65:34–40

43. Reszka E, Gromadzinska J, Jablonska E et al (2009) Level of selenoprotein transcripts in peripheral leukocytes of patients with bladder cancer and healthy individuals. Clin Chem Lab Med 47:1125–1132
44. Sutherland A, Kim DH, Relton C et al (2010) Polymorphisms in the selenoprotein S and 15-kDa selenoprotein genes are associated with altered susceptibility to colorectal cancer. Genes Nutr 5:215–223
45. Méplan C, Hughes DJ, Pardini B et al (2010) Genetic variants in selenoprotein genes increase risk of colorectal cancer. Carcinogenesis 31:1074–1079
46. Shibata T, Arisawa T, Tahara T et al (2009) Selenoprotein S (SEPS1) gene -105G>A promoter polymorphism influences the susceptibility to gastric cancer in the Japanese population. BMC Gastroenterol 9:2
47. Peters U, Chatterjee N, Hayes RB et al (2008) Variation in the selenoenzyme genes and risk of advanced distal colorectal adenoma. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 17:1144–1154
48. Haug U, Poole EM, Xiao L et al (2012) Glutathione peroxidase tagSNPs: associations with rectal cancer but not with colon cancer. Genes Chromosomes Cancer 51:598–605
49. Takata Y, Kristal AR, King IB et al (2011) Serum selenium, genetic variation in selenoenzymes, and risk of colorectal cancer: primary analysis from the women's health initiative observational study and meta-analysis. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 20:1822–1830
50. Steinbrecher A, Méplan C, Hesketh J et al (2010) Effects of selenium status and polymorphisms in selenoprotein genes on prostate cancer risk in a prospective study of European men. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 19:2958–2968
51. Penney KL, Schumacher FR, Li H et al (2010) A large prospective study of SEP15 genetic variation, interaction with plasma selenium levels, and prostate cancer risk and survival. Cancer Prev Res 3:604–610
52. Cooper ML, Adami HO, Grönberg H et al (2008) Interaction between single nucleotide polymorphisms in selenoprotein P and mitochondrial superoxide dismutase determines prostate cancer risk. Cancer Res 68:10171–10177
53. Méplan C, Rohrmann S, Steinbrecker A et al (2012) Polymorphisms in thioredoxin reductase and selenoprotein K genes and selenium status moderate risk of prostate cancer. PLOS One 7:e48709
54. Ravn-Haren G, Olsen A, Tjønneland A et al (2006) Associations between GPX1 Pro198Leu polymorphism, erythrocyte GPX activity, alcohol consumption and breast cancer risk in a prospective cohort study. Carcinogenesis 27:820–825
55. Cox DG, Hankinson SE, Kraft P et al (2004) No association between GPX1 Pro198Leu and breast cancer risk. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 13:1821–1822
56. Ahn J, Gammon MD, Santella RM et al (2005) No association between glutathione peroxidase Pro198Leu polymorphism and breast cancer risk. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 14:2459–2461
57. Knight JA, Onay UV, Wells S et al (2004) Genetic variants of GPX1 and SOD2 and breast cancer risk at the ontario site of the breast cancer family registry. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 13:146–149
58. Hu J, Zhou GW, Wang N et al (2010) GPX1 Pro198Leu polymorphism and breast cancer risk: a meta-analysis. Breast Cancer Res Treat 124:425–431
59. Nasr MA, Jun Y, Hu J et al (2003) Allelic loss at the SEP15 locus in breast cancer. Cancer Ther 1:293–298
60. Ratnasinghe D, Tangrea JA, Andersen MR et al (2000) Glutathione peroxidase codon 198 polymorphism variant increases lung cancer risk. Cancer Res 60:6381–6383
61. Yang P, Bamlet WR, Ebbert JO et al (2004) Glutathione pathway genes and lung cancer risk in young and old populations. Carcinogenesis 25:1935–1944
62. Skuladottir H, Autrup H, Autrup J et al (2005) Polymorphisms in genes involved in xenobiotic metabolism and lung cancer risk under the age of 60 years. A pooled study of lung cancer patients in Denmark and Norway. Lung Cancer 48:187–199

63. Lee CH, Lee KY, Choe KH et al (2006) Effects of oxidative DNA damage and genetic polymorphism of the glutathione peroxidase 1 (GPX1) and 8-oxoguanine glycosylase 1 (hOGG1) on lung cancer. J Prev Med Public Health 39:130–134
64. Raaschou-Nielsen O, Sørensen M, Hansen RD et al (2007) GPX1 Pro198Leu polymorphism, interactions with smoking and alcohol consumption, and risk for lung cancer. Cancer Lett 247:293–300
65. Rosenberger A, Illig T, Korb K et al (2008) Do genetic factors protect for early onset lung cancer? A case control study before the age of 50 years. BMC 8:60
66. Moscow JA, Schmidt L, Ingram DT et al (1994) Loss of heterozygosity of the human cytosolic glutathione peroxidase I gene in lung cancer. Carcinogenesis 15:2769–2773
67. Méplan C, Hesketh J (2012) The influence of selenium and selenoprotein gene variants on colorectal cancer risk. Mutagenesis 27:177–186
68. Pagmantidis V, Méplan C, Van Schothorst EM et al (2008) Supplementation of healthy volunteers with nutritionally-relevant levels of selenium increases expression of lymphocyte protein biosynthesis genes. Amer J Clin Nutr 87:181–189
69. Kipp AP, Banning A, van Schothorst EM et al (2011) Marginal selenium deficiency down-regulates inflammation-related genes in splenic leukocytes of the mouse. J Nutr Biochem [Epub ahead of print]
70. Gong G, Méplan C, Gautrey H et al (2012) Differential effects of selenium and knock-down of glutathione peroxidases on TNFα and flagellin inflammatory responses in gut epithelial cells. Genes Nutr 7:167–178
71. Gao Y, Feng HC, Walder K et al (2004) Regulation of the selenoprotein SelS by glucose deprivation and endoplasmic reticulum stress—SelS is a novel glucose-regulated protein. FEBS Lett 563:185–190
72. Zhang K, Kaufman RJ (2008) From endoplasmic-reticulum stress to the inflammatory response. Nature 454:455–462
73. Cole-Ezea P, Swan D, Shanley D et al (2012) Glutathione Peroxidase 4 has a major role in protecting mitochondria from oxidative damage and maintaining oxidative phosphorylation complexes in gut epithelial cells. Free Rad Biol Med 53:488–497
74. Seiler A, Schneider M, Forster H et al (2008) Glutathione peroxidase 4 senses and translates oxidative stress into 12/15-lipoxygenase dependent- and AIF-mediated cell death. Cell Metab 8:237–248
75. Speckmann B, Bidmon HJ, Pinto A et al (2011) Induction of glutathione peroxidase 4 expression during enterocytic cell differentiation. J Biol Chem 286:10764–10772
76. Handy DE, Lubos E, Yang Y et al (2009) Glutathione peroxidase-1 regulates mitochondrial function to modulate redox-dependent cellular responses. J Biol Chem 284:11913–11921
77. Malhotra JD, Kaufman RJ (2007) Endoplasmic reticulum stress and oxidative stress: a vicious cycle or a double-edged sword? Antioxid Redox Signal 9:2277–2293
78. Kitamura M (2011) Control of NF-κB and inflammation by the unfolded protein response. Int Rev Immunol 30:4–15

Resveratrol: Temel Çalışmalardan Yatak Başına

Adriana Borriello, Debora Bencivenga, Ilaria Caldarelli, Annunziata Tramontano, Alessia Borgia, Vincenzo Zappia ve Fulvio Della Ragione

Özet

Bitkilerden elde edilen çok sayıda düşük molekül ağırlıklı doğal ürünlerin birçok önemli biyolojik aktivitesi vardır. Bu moleküller arasında bulunan ve hücre fenotipinin önemli bir modülatörü olan resveratrol (3,5,4'-trihidroksistilben) kompleks ve pleiotropik bir etki mekanizmasına sahiptir. Aktivitesi ile ilgili olarak genel olarak hücresel modellere yapılan birçok çalışmada, bu polifenolün hücre proliferasyonunu kontrol ettiği, farklılaşmayı indüklediği, apoptoz ve otofajiyi aktive ettiği belirtilmektedir. Bileşik aynı zamanda anjiogenez ve enflamasyonu da kontrol eder. Benzer şekilde, implante kanserler ve kimyasal yolla indüklenen tümörlerde yapılan çalışmalarda da bileşiğin potansiyel kemoterapötik etkisi konfirme edilmiştir. Bileşiğin hayvan modellerindeki tip 2 diyabet, obezite, koroner kalp hastalığı, metabolik sendrom ve nörodejeneratif patolojileri de kapsayan birçok kronik hastalığın gelişim ve evrimini pozitif etkileyebileceği de farklı makalelerde net olarak gösterilmiştir. Ayrıca molekülün toksisitesinin de son derece düşük olduğu farklı incelemelerde bildirilmiştir. Bu ümit vadeden gözlemlere karşın, molekülün insanlardaki kronik hastalıkların önlenme ve tedavisindeki etkinliğini inceleyen az sayıda klinik çalışma mevcuttur. Öncül veriler daha geniş kapsamlı klinik araştırmalara ihtiyaç olduğu göstermektedir.

Anahtar Kelimeler

Resveratrol • AMPK • PGC-1α • Sirtuin • Kanser tedavisi

A. Borriello · D. Bencivenga · I. Caldarelli · A. Tramontano · A. Borgia · V. Zappia · F. Della Ragione (✉)
Department of Biochemistry, Biophysics and General Pathology, Second University of Naples, Via De Crecchio 7, 80138, Naples, Italy
e-mail: fulvio.dellaragione@unina2.it

V. Zappia et al. (eds.), *Advances in Nutrition and Cancer,* Cancer Treatment and Research 159, DOI: 10.1007/978-3-642-38007-5_10,
© Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2014

Kısaltmalar

AKT	Transforme olan v-Akt proteininin hücresel homoloğu
AMP	Adenozin monofosfat
AMPK	AMP-aktive protein kinaz
VYA	Vücut yüzey alanı
CD95	Farklılaşma kümesi 95
cdc2 kinaz	Hücre büyümesini kontrol eden protein 2 kinaz
Egr-1	Erken büyüme cevap proteini 1
FOXO	Forkhead box class O
HIF	Hipoksi ile indüklenebilir faktör
IGF-1	İnsülin benzeri büyüme faktörü 1
MAP kinaz	Mitojen aktive protein kinaz
NAD	Nikotinamid adenin dinükleotid
NF-κB	Aktive B hücrelerinin, nükleer faktör kappa hafif zincir güçlendiricisi
$p21^{Cip1}$	21 kDA protein sikline bağımlı kinaz inhibitörü protein 1
PDE	Fosfodiesteraz
PGC-1α	Peroksizom proliferatör-aktive reseptör gamma koaktivatör 1 alfa
PI3K	Fosfatidilinositol 3-kinazlar
PKC	Protein kinaz C
Sirt-1	Sirtuin 1
TRAIL	TNF-ile ilişkili apoptoz indükleyici ligand

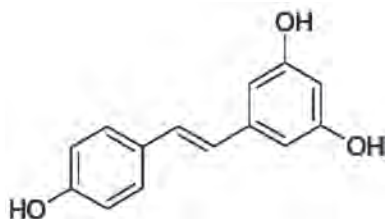
İçindekiler

1 Giriş 168
2 Yerleşik Hücre Dizilerinde Resveratrol Etkisi 170
3 Resveratrol Aktivitesinin Moleküler Temeli 171
4 Resveratrolun Farmakokinetiği 173
5 Resveratrol ile İlgili Klinik Çalışmalar 175
6 Sonuçlar ve Perspektifler 177
Referanslar 178

1 Giriş

Resveratroldan (Şekil 1) ilk kez 1939 yılında molekülü *Veratram album'dan* izole eden Takaoka bahsetmiştir [89]. Bu polifenolün adı muhtemelen Veratrum türlerinin reçinesinde bulunmasından kaynaklanmaktadır. Pezzuto ve çalışma arkadaşları1997 yılında

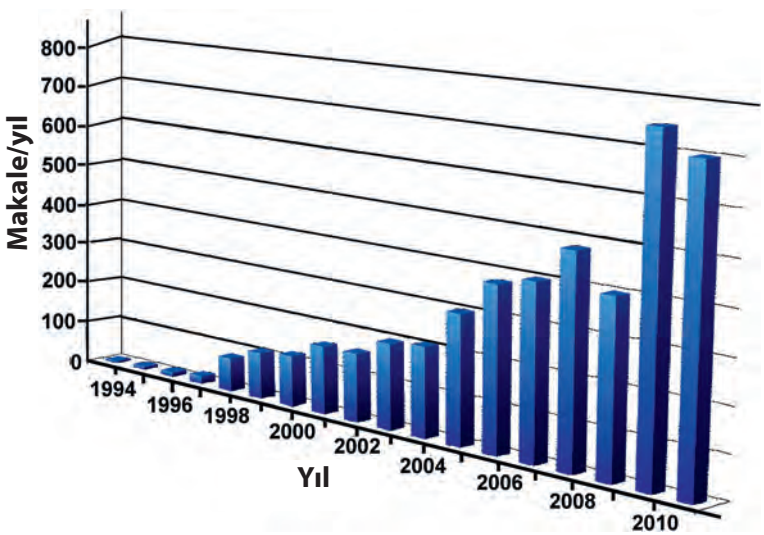
Resveratrol (3, 5, 4´-trihidroksi-
trans-stilben)



Şekil 1 Trans-resveratrolun kimyasal yapıları Resveratrol (3,5,40-trihidroksistilben) bir stilben (stilbenoid) türevidir. İki diastereomer şeklinde bulunur: cis- (Z) ve trans- (E). Trans formu tercih edilen doğal sterik formudur ve rölatif olarak stabildir. Ultraviyole radyasyonuna maruz kaldığında cis- formuna izomerize olabilir.

Peru baklasının (*"Cassia quinquangulata Rich"*; Baklagiller ailesinden yenilmeyen bir tür) potent siklooksijenaz 2 inhibitör aktivitesi olduğunu bildiren bir çalışma yayınlanmıştır [45]. Ekstrenin aktif maddesinin resveratrol olduğunu da tespit etmişlerdir [45].

Pezzuto'nun yayınladığı makalede adeta gelecekte olacakların bir müjdecisi olarak, resveratrolun karsinogenezin her aşamasını kapsayan (başlangıç, gelişim ve progresyon) çok sayıda antikanser aktivitesine sahip olduğu bildirilmiştir. Sonrasında resveratrol hakkında çok sayıda çalışma yapılmıştır. Şu ana kadar yayınlanan çalışmaların sayısı 5000'den fazladır (Şekil 2). Resveratrolun bir insan promiyelositik hücre dizisi olan HL-



Şekil 2 Yıllara göre resveratrolu konu alan yayınların sayıları Grafik 1994-2011 yılları arasında yayınlanan çalışmaların sayılarını göstermektedir. Veriler www.Pub.Med.gov adresinden elde edilmiştir.

60 hücre dizisinin büyüme ve farklılaşması üzerindeki etkileri 1998 yılında yayınlanmıştır. Bu çalışmada molekülün G2'den M'ye spesifik hücre döngüsü geçişini engelleyerek myeloid etki yaptığı ilk kez gösterilmiştir29] Biyokimyasal analizlerde siklin A'nın akümülasyonu ve cdc2 kinazın hiperfosforilasyonundan oluşan hücre bölünme mekanizmasındaki kesin değişimlerin gösterilmiş olması önemlidir [29].

Resveratrol doğada çok yaygın olmasına rağmen, yenilebilen kısıtlı sayıda gıdada mevcuttur. Bunlardan en önemlisi üzümdür. Resveratrol sıradışı işleme tekniği nedeniyle en sık olarak kırmızı şarapta bulunur. Resveratrol bu nedenle yoğun ilgiye maruz kalmıştır. Çok çekici bir kavram olan kırmızı şarabın kanseri önleyebilme ihtimali ile, Fransız Paradoksu adı verilen kavram arasında net bir korelasyon vardır. Bu korelasyon günümüzde fazlasıyla sorgulanmaktadır. En ilginç tarafı da Fransız Paradoksunun gerçekten var olup olmadığı tartışmasıdır.

Özetle, resveratrol 1997 yılından beri kanser, kalp hastalığı, nörodejeneratif patolojiler, yaşlanma, enflamasyon, obezite ve diyabeti de kapsayan birçok hastalıkla ilgili olarak sağlığa faydalı etkileri nedeniyle tavsiye edilen bir moleküldür. Bu hastalıkların birbirleri ile kesin olarak ilişkili oldukları nettir. Bu nedenle obezite, enflamasyon ve yaşlanma üzerindeki pozitif etkileri malign transformasyonu önlemekte de etkili olabilir. Bu bölümde resveratrol ve kanser arasındaki ilişkiyi, tedavide kullanılabilme ihtimalini de göz önünde tutarak değerlendireceğiz.

2 Yerleşik Hücre Dizilerinde Resveratrol Etkisi

Resveratrolun hücrelerdeki aktiviteleri yoğun olarak araştırılmış ve konuyla ilgili yüzlerce çalışma yayınlanmıştır. Çalışmalarda kullanılan hücresel modellerin çoğu malign dokulardan elde edilmiştir. Bu nedenle yapılan bu araştırmaların başlıca eksikleri hem yapay in vitro büyüme ortamlarında gerçekleştirilmeleri hem de kanserin türüne bağlı olarak görülen genetik ve moleküler değişimler nedeniyle spesifik güçlü fenotipik farklılıklar görülmesidir. Buna karşın normal dokulardan elde edilen hücrelerle yapılmış az sayıda analiz mevcuttur.

Majör fenotipik etkileri arasında büyümenin durdurulması (hücre siklusunun farklı fazlarında) [12, 13, 23, 29, 33, 52, 69]; farklılaşmanın indüksiyonu [5, 14, 27, 29, 46, 47, 53, 104]; apoptoz, nekroz ve otofajinin indüksiyonu [1, 35, 55–57, 61, 63, 72, 73, 76, 92, 102]; antienflamatuar aktivite [54, 107]; tümör anjiogeneziyle etkileşim [2, 16, 19, 85] mevcuttur. Bu aktiviteler insandaki malign transformasyonun majör özelliklerini etkiledikleri için kanser tedavisi alanında özel olarak ilgi çekmektedirler [40]. Bazı çalışmalarda resveratrolun etkisini artıran veya engelleyen bazı diğer bileşiklerle (sıklıkla kemoterapötikler) ilişkili olduğu bulunmuştur. Mükemmel bazı incelemelerde resveratrol hakkındaki çok sayıda ex vivo literatür eksikleri nedeniyle eleştirilmiştir. Bu bölümdeki incelemenin amacı bu değildir (96 nolu referans ve aynı makalenin içindeki referanslar). İlginç biçimde molekülün farklı konsantrasyonlardaki etkinliğinin farklı olduğu bazı ça-

lışmalarda bildirilmiştir. Düşük konsantrasyonlarda proliferasyonu indüklerken, daha yüksek konsantrasyonlarda ise antikanser etki göstermiştir [18].

Hücre dizileri ile yapılan çalışmalardan bazı genel sonuçlar çıkarılabilmektedir. Birincisi resveratrolun sahip olduğu çok çeşitli biyolojik aktivitelerin, antioksidan etkileri ile genel olarak bir ilişkisi olmadığıdır. İkincisi etkili konsantrasyonları genel olarak 10-50 μM arasında değişir. Üçüncüsü ise molekülün bu etkileri mevcut konsantrasyonuna göre sıklıkla değişimler gösterir. Resveratrol bundan dolayı, aktivitesinde kullanılan miktarının kritik önem arzettiği hormetik bir bileşik olarak değerlendirilebilir [18]. Bu değişkenlikler in vitro deneyler, klinik ortama uyarlanırken dikkate alınmalıdır.

3 Resveratrol Aktivitesinin Moleküler Temeli

Antikanser bir ajanın etkili dozlarının değerlendirilebilmesi için etki mekanizması hakkındaki bilgimiz tam olmalıdır. Resveratrolun moleküler aktivitesi, son iki dekadda çok fazla sayıda araştırmanın konusu olmuştur.

Resveratrolun pleiotropik doğasına bağlı olarak birçok karmaşık yolakta rol oynadığını belirten çok sayıda veri mevcuttur.

Molekül şunları da içeren çok sayıda transdüksiyon yolağını modüle eder: MAP kinaz [8, 12, 31, 105]; JNK [73, 79, 100], NF-κB [13, 14, 33, 42, 48, 55], AKT/PI3K [38, 39, 69, 98], PKC [7, 60, 75, 80, 86], CD95/TRAIL [26, 35, 56, 77, 78], ve FOXO [23, 85].

Resveratrol, p53 [36, 90, 108]; kaspazlar [3, 21, 64]; sürvivin [6, 41]; Bax, Bcl-2, ve Bcl-xL [68, 70, 92] düzeylerini değiştirerek apoptozu kontrol eder. Bileşik siklooksijenaz [87, 88, 110] ve sitokrom p450'yi [22] inhibe eder; faz II ilaç metabolize edici enzimleri indükler [24, 25, 51]; glutatyon peroksidaz [84], katalaz [34] ve kuinon redüktazı [74] yukarı regüle eder; ornitin dekarboksilazı inhibe eder [95]. Resveratrolun ilginç biçimde katepsin D'yi regüle ettiği [94] ve HIF-α'nın (hipoksi ile indüklenebilir faktör) fonksiyonunu inhibe ettiği de gösterilmiştir [20, 101]. Hif-α faktörleri üzerindeki etkisi (Hif-1α ve Hif-2α) üzerindeki etkisi, bu proteinlerin glukozun internalizasyonunu ve glikolitik metabolizmayı artırarak glukoz metabolizmasını kontrol ediyor olmaları nedeniyle özel olarak önemlidir [81].

Resveratrol ile yaptığımız çalışmalarda, molekülün K562 hücrelerindeki (eritrolökemik hücre dizisi) Egr-1 (erken büyüme cevabı) transkripsiyon faktörünün hücresel miktarını MAP kinaz yolağını aktive edere yukarı regüle ettiğini göstermiştik [30]. Bu da Egr-1'in, sikline bağımlı kinazların bir inhibitörü olan $p21^{Cip1}$'in gen transkripsiyonunu artırmasına neden olmuştur. $p21^{Cip1}$ akümülasyonu resveratrolun antiproliferatif etkisinden ve en azından kısmen de eritroid farklılaşmasının indüksiyonundan sorumludur [30]. Resveratrolun indüklediği $p21^{Cip1}$ akümülasyonu hem bizim tarafımızdan hem de farklı hücre dizisi modellerinde çalışan araştırma grupları tarafından gözlenmiştir. Bu bulgu resveratrolun gen ekspresyonunu ve hücre bölünme döngüsü mekanizmasını spesifik olarak etkilediğini göstermektedir.

Resveratrolun bir diğer mekanizması olan sirtuin üzerindeki etkisi de özel ilgi ve tartışma gerektiren bir konudur. Sirtuinler, proteinleri deasetile eden (NAD'i feda etme pahasına) bir enzim ailesidir. Bu nedenle ya protein deasetilaz ya da mono-riboziltransferaz aktivitesine sahiptirler [37, 109] Sirtuinler bazı türlerdeki yaşam uzamasının desteklenmesinde ve gen transkripsiyonunun, apoptozun, stres rezistansının ve düşük kalori şartlarında enerji harcama kontrolünün modülasyonunda etki gösterirler [58, 103, 109].

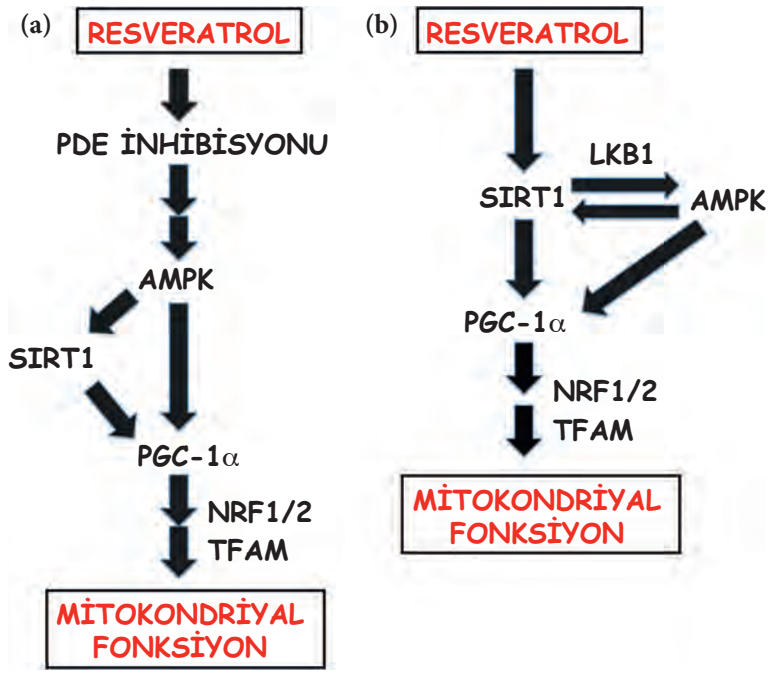
Howitz ve ark. 2003 yılında Sir2 mayasının (memelilerdeki Sirt-1'in homoloğu) doğal ve güçlü bir aktivatörü olan resveratrolun *Saccaromyces cerevisiae*'nin ömrünü uzatabildiğini gösterilmiştir [44]. Resveratrolun yaşam süresini uzatabilme özelliği bir kurtçuk (*Caenorhabditis elegans*) ve meyve sineği (*Drosophila melanogaster*) üzerinde de gösterilmiştir [9].

Sonrasında bu sonuçlardan bazıları sorgulanmış ve resveratrolun yaşlanmayı geciktirici etkisinin muhtemelen var olmadığı sonucuna varılmıştır [59, 67]. Benzer şekilde resveratrolun Sirt-1 üzerindeki in vitro etkisinin, in vivo ortamda mevcut olup olmadığı da bir tartışma konusu olmuştur. [11, 28]. Bu konuda kesin bir sonuca varılamamıştır.

Nütrisyondaki değişimin insan fizyoloji ve patolojisindeki etkilerini ilgilendiren bakış açısıyla bakıldığında, resveratrolun yüksek yağlı diyetle beslenen farelerin performansını kuvvetle düzelttiği bildirilmiştir. Resveratrolun pozitif etkileri Sirt1'e bağımlı deasetilasyon ve PGC-1α'nın aktivasyonu (respiratuar zincir komponentlerini ve mitokondrilerin sayı ve aktivitelerini artırarak oksidatif mekanizmayı aktive eden bir master gen) ile korelasyon göstermektedir [50, 67]. Bu konuyla ilgili çok yakın zamanda yapılan çalışmalar da mevcuttur. Birincisi, resveratrolun primer moleküler aktivitesinin siklik AMP artışına yol açan fosfodiesteraz inhibisyonundan kaynaklandığının gösterilmesidir [65]. Siklik mononükleotidin yukarı regülasyonu, kalori sınırlamasının kontrolünde önemli yeri olan AMP kinazın (AMPK) aktive olmasına yol açan bir dizi reaksiyonu tetiklemektedir. AMPK sonrasında Sirt1 ve PGC-1α'yı regüle eder (Şekil 3a). Bir başka çalışmada da resveratrolun birincil hedeflerinin, (mevcut resveratrol miktarına göre) Sirt1 veya AMPK olduğu bildirilmiştir [71]. Her iki durumda da sonuç olarak PGC-1α aktive olmaktadır (Şekil 3b).

İki çalışmada farklı primer resveratrol hedefleri önerilmiş olmasına rağmen nihai efektörler AMPK ve PGC-1α'dır [65, 71]. Knockout farelerle yapılan çalışmalar mekanizmalarda gözlenen farklılıkların ortamdaki resveratrol miktarına bağlı olup olmadığını netleştirmekte faydalı olabilir. Her iki durumda da, resveratrolun "in vivo" enerji metabolizmasını etkilediğini net olarak gösteren iki çalışma mevcuttur.

2011 yılı sonuna kadar yapılan 50'den fazla çalışmada resveratrolun hayvan modellerinde antikanser bir bileşik olarak farklı kanser türlerindeki etkinliği araştırılmıştır: Cilt kanseri (nonmelanom ve melanom); meme, gastrik, kolorektal, özofagus, prostat ve pankreatik kanserler; hepatom, nöroblastom, fibrosarkom ve lösemi (96 nolu referansta incelenmektedir). Bu preklinik çalışmalarda molekülün kanserin progresyonunu azaltmada, boyutunu küçültmede ve metastazların sayısını azaltmada genel bir pozitif etkiye sahip olduğu bildirilmiştir.



Şekil 3 Resveratrolun enerji metabolizmasındaki etkisi ile ilgili olarak önerilen moleküler mekanizmalar: *Panel a.* Resveratrolun primer hedefi siklik AMP artışına yol açan fosfodiesteraz aktivitesidir. cAMP'nin yukarı regülasyonu AMPK aktivitesini stimüle eder. Bu kinaz SIRT-1 ve PGC-1α'yı bağımsız olarak aktive eder. Ayrıca SIRT-1, PGC-1α'yı da aktive eder. Sonuçta, PGC-1α ilave transkripsiyon faktörleriyle beraber (NRF1/2 ve TFAM) mitokondrial aktiviteyi pozitif yönde modüle eder. *Panel b.* Resveratrolun bu mekanizmadaki primer hedefi SIRT-1'dir. Bu enzimin yukarı regülasyonu hem AMPK hem de PGC-1α'nın aktive olmasına yol açar. AMPK ayrıca PGA-1a'yı da aktive eder. Sonuç olarak PGC-1α ve NRF1/2 ve TFAM mitokondrial aktiviteyi artırırlar.

Preklinik çalışmalarda elde edilen bulgular, resveratrolun kanser tedavisinde kullanımı ile ilgili klinik çalışma ihtiyacı doğurmuştur. Ancak hayvan modellerinde çok sayıda doğal bileşiğin antikanser aktivitesi olmasına rağmen, klinik çalışmalarda elde edilen veriler etkinlik ve toksisite yönünde sıklıkla tatmin edici olmamaktadır.

4 Resveratrolun Farmakokinetiği

Resveratrolun hem in vivo hem de in vitro ortamdaki çok sayıda intraselüler moleküler mekanizmayı ve kompleks biyolojik olayı modüle ettiği tartışmasızdır. Bu doğal polifenolun çok sayıda deneysel kanser modelinde pozitif etkileri görülmüştür. Ancak resveratrolun in vitro ortamdaki konsantrasyonlarına eşdeğer serum seviyelerine ulaşmak

için gereken dozları molekülün potansiyel kullanım alanlarından özellikle diyetle koruma amacıyla alımı hakkında şüpheler doğurmuştur.

Resveratrol insanlarda yapılan deneylerde, en azında kısa süreli ve akut maruziyetlerde iyi tolere edilmiştir. Sekiz gün boyunca günde iki kez 2 gram resveratrol uygulanan sekiz deneğin altısında hafif epizodik diyare/dışkı yumuşaması görülmüştür. Bu semptomlar tipik olarak tedavi periyodunun başlangıcında görülmektedir. Deneklerden birinde döküntü ve baş ağrısı oluşmuştur [49].

Çift kör, randomize, plasebo kontrollü bir çalışmada sağlıklı gönüllülere 975 mg/gün'e kadar resveratrol uygulanmıştır. Her iki gruptan ikişer erişkin deneğe (erkek ve kadın) günde 6 kez 25, 50, 100 ve 150mg resveratrol iki gün süreyle uygulanmıştır. Her iki gruptaki advers olaylar hafif ve benzer düzeyde bulunmuştur [4]. Başka bir çalışmada 19 gönüllüye bir hafta süreyle 270mg resveratrol uygulanması ile herhangi bir rahatsızlık tespit edilmemiştir [99]. Bir başka yayında da sağlık gönüllüler bir hafta süreyle uygulanan resveratrolu iyi tolere etmişlerdir. Ancak deneyin detayları verilmediği için sonuçların analizini yapmak güçtür [32]. Aynı makalede 28 gün süreyle 2.5-5mg arası resveratrol uygulanan bir çalışma daha tanımlanmıştır. Yazarlar advers olayların genel olarak hafif ve reversibl olduğunu belirtmişlerdir. Ancak deneyin detayları yetersizdir [32].

Diğer yandan malignitelerin (ve diğer kronik hastalıkların) önlenmeleri ve/veya tedavileri aylar veya yıllar boyu sürebildiği için resveratrolun uzun süreli tedavisindeki toksisitesi ile ilgili veriler hayati önem taşımaktadır. Maalesef bu tür bir veri şu an için mevcut değildir. Bu nedenle resveratrol gıda takviyesi olarak kullanıldığında rölatif olarak güvenli olan doğal bir ürün olmasına rağmen, uzun süreli etkilerinin belirlenmesi için kesinlikle yeni araştırmalara ihtiyaç vardır.

Açıklığa kavuşturulması gereken önemli konulardan bir tanesi biyoyararlanımı ile terapötik etkinliği arasındaki orandır. Bu kompleks konuya farklı yaklaşımlar getirilebilir. Bir önceki bölümde de anlatıldığı üzere, resveratrolun in vitro etkileri (örn. kök hücreleri üzerindeki) genel olarak 10-50 μM konsantrasyonlarında gözlenmektedir. Ancak bu değerler resveratrolun kültür ortamındaki komponentlerle (örn. proteinler, lipoproteinler ve diğerleri) olan etkileşimini dikkate almadığı için gerçek serbest resveratrolun etkili konsantrasyonları anlamlı olarak az olabilir. Resveratrol insanlara tek doz olarak yaklaşık 25 mg dozunda uygulandığında [4, 82, 83, 97], elde edilen serbest molekül konsantrasyonları 1-5 ng/ml (4-20 nM) bulunmuştur. Daha yüksek doz (5 gr) ile serum resveratrol konsantrasyonları 2.3 μM bulunmuştur [4, 82, 83, 97]. Maksimum plasma tepe konsantrasyonlarına uygulamadan sonraki 30-90 dakika içinde ulaşılmıştır. Bu şartlar altındaki üç ana resveratrol metabolitinin (resveratrol-3-O-sülfat, resveratrol-3-O-glukuronid ve resveratrol-4-O-glukuronid) konsantrasyonları serbest bileşiğin yaklaşık 20 katı seviyesine ulaşmıştır [4, 82, 83, 97]. Resveratrol ve majör metabolitlerinin plazma yarı ömürleri benzer bulunmuştur (2.9-11.5 saat). Doz sonrası 24 saat içinde, idrardaki en yüksek ekskresyon oranları ilk 4 saatlik numunelerde tespit edilmiştir. Resveratrol enterohepatik sirkülasyon ile uyumlu olarak feçeste de eser miktarda tespit edilmiştir [4, 82, 83, 97]. Biyoyararlanım çalışmalarında yüksek doz resveratrol uygulamasından

sonra bile plazmada küçük miktarda serbest moleküle rastlanmıştır. Bu nedenle in vitro biyolojik aktivitelere denk gelen serum değerlerine ulaşabilmek için yüksek resveratrol miktarları gerekmektedir.

Ancak bu metodolojik yaklaşım tedavi stratejisi ve serum seviyelerinin biyolojik etkileri ile direkt olarak korele olmadığı için doğal olarak yetersizdir.

Alternatif bir metodoloji net in vivo etkilerin elde edildiği çalışmalardaki resveratrol dozunun dikkate alınmasıdır. Bu bağlamda Baur ve arkadaşlarının yaptıkları çalışma faydalı olabilir [10]. Araştırmacılar farelere uyguladıkları 22.4 ± 0.4 mg kg^{-1} $gün^{-1}$ dozundaki resveratrol tedavisi ile yaklaşık 110 hafta sonunda anlamlı fenotipik etkiler elde etmişlerdir. Bu değer 70kg'lık bir erkek için yaklaşık 1568 mg'a karşılık gelmektedir. Baur ve Sinclair [9] bazı kırmızı şarapların litresindeki resveratrol konsantrasyonunun 5 mg olduğunu bildirmişlerdir. Bu da yukarıdaki değeri yakalamak için hergün 300 litre şarap tüketimini gerektiren bir konsantrasyondur.

Ancak bu yaklaşım dozun farelerden insanlara uyarlanması sırasında gerekli olan bir parametre olan vücut yüzey alanını (VYA) göz önüne almamıştır. Bu parametrenin eklenmesi ile farelerdeki 22.4 mg kg^{-1} dozu insanlarda 1.82 mg kg^{-1} dozuna denk gelmektedir. Bu da 1568mg'ın 128mg'a düşmesi anlamına gelmektedir. Ancak farelerdeki 5.9 mg kg^{-1} $gün^{-1}$dozunun [50], 70 kg'lık bir erkekteki eşdeğeri olan 33 mg'lık daha düşük dozlar (VYA kullanılarak hesaplanmıştır) ile de koruyucu etkiler gözlenmiştir. 33 mg resveratrolun 6 litre şarapta bulunuyor olması diyette bulunan fitoaleksinin öneminin hala sorgulanmasına neden olmaktadır.

Ancak resveratrolun etkilerinin (en azından bir kısmının) normal diyet şartlarında bile (yaklaşık 0.4 litre şarap $gün^{-1}$, yaklaşık 1.5mg $gün^{-1}$) görülebildiğini düşündüren iki özelliğin daha göz önünde bulundurulması gerekmektedir.

Birincisi diyetteki resveratrolun etkinliğinin saflaştırılmış preparat içeren tablet formuna göre tablet formuna göre daha yüksek olma ihtimali vardır. Gerçekten de gıdalarda bulunan ve resveratrolun ayrıştırılması sürecinde etkileşime giren diğer bileşiklerin (örn. diğer polifenoller) fitoaleksinin katabolizmasını azaltarak serum düzeylerini yükseltebileceği önerilmiştir (gösterilmemiştir) [50]. İkincisi, uzun süreli resveratrol tedavisi (biyoyararlanım özelliklerinden dolayı) serum resveratrol içeriğinde artışa yol açtığı gibi, aynı zamanda molekülün lipofilik olması nedeniyle spesifik bazı hücre kompartmanlarında (örn. hücresel membranlar) veya dokularda birikmesini sağlayabilir.

5 Resveratrol İle Yapılan Klinik Çalışmalar

İnsanlarda yapılan az sayıda çalışmada resveratrolun klinik etkileri değerlendirilmiş olmasına rağmen, mevcut veriler daha ileri çalışmaların planlanabilmesi adına ümit vericidir.

Bin kişilik bir kohort ile yapılan çok güncel bir çalışmada diyetle resveratrol tüketimi ile çeşitli kardiyak risk parametrelerde düzelme arasında direkt bir korelasyon

gösterilmiştir. Resveratrol alımı resveratrolun kendisinin ve metabolitlerinin idrardaki düzeylerinin tespit edilmesi ile değerlendirilmiştir [106]. 75 kişi ile yapılan bir başka çalışmada da denekler plasebo, üzüm ekstresi ve düşük miktarda resveratrol ile zenginleştirilmiş üzüm ekstresi uygulanan 3 gruba ayrılmıştır. Yazarlar 1 yıllık tedavi sonucunda, sadece resveratrol kullanan gruptaki birçok kardiyak risk faktörlerinin (C-reaktif protein, tümör nekroz faktörü-α, gök plazminojen aktivatör inhibitörü tip 1, interlökin-6 / interlökin-10 oranı) anlamlı olarak azaldığını öne sürmüşlerdir [93]. Cell Metabolism'de (Hücre Metabolizması) yayınlanan pivot çalışmada 30 gün süre ile 150 mg/gün resveratrol ile tedavi edilen 11 obez hastadaki çeşitli parametrelerin (örn. intramiyoselüler lipid düzeylerinde artma, intrahepatik lipid, dolaşımdaki glukoz, trigliserid, alaninaminotransferaz ve enflamasyon markerlerinde azalma) pozitif anlamda güçlü bir şekilde etkilendiği ve kaslardaki AMPK, SIRT-1 ve PGC-1alfa'nın biyokimyasal yukarı regülasyonlarını indüklendiği belirtilmiştir. Bulgular hayvan modellerinde bildirilen gözlemler ile benzer bulunmuştur [91]. Yazarlar insanlardaki tedavide kullanılan resveratrol konsantrasyonunun farelerde kullanılandan 400 kat daha az olduğunu vurgulamışlardır.

Bu üç çalışmada [91, 93, 106] resveratrolun karsinogenez için de önemli olan metabolik parametreleri etkilediği önerilmiştir (kesinlikle ispat edilememiştir).

Diğer iki ilginç çalışmada Cancer Research'de (Kanser Araştırmaları) 2010 yılında yayınlanmıştır. Bu araştırmalarda resveratrolun toksisite ve metabolizması ile hem normal hem de malign kolon dokusundaki akümülasyonu değerlendirilmiştir [17, 66]. Çalışmalarda yüksek resveratrol dozları kısa süreler ile uygulanmıştır. Çalışmalardan birinin sonuçlarında resveratrolun çok düşük toksisiteye sahip olduğu ve IGF-1 düzeylerini negatif etkileyebilen konsantrasyonlara ulaşabileceği gösterilmiştir [17]. IGF-1 düzeylerinin azaltılmasının antikanser aktivitenin önemli bir parametresi olduğu düşünülmektedir. İkinci araştırmada ise kolon kanseri olan hastalara, tümörün çıkarılmasından 7 gün önce resveratrol uygulanmıştır. Sonuçlarda malign hücrelerin proliferasyonlarında kısıtlı da olsa net bir azalma görülmüştür. Ayrıca resveratrol kolon dokusunda 20-200 μM arasındaki konsantrasyonlarda akümüle olmuştur [66].

Yukarıda belirtilen çalışmalara ek olarak, diyet veya takviye olarak uygulanan resveratrolun değerlendirildiği çeşitli klinik araştırmalar henüz (farklı aşamalarda) sürmektedir. www.clinicaltrials.gov adresinde anahtar kelime olarak "resveratrol" kullanılarak yapılan bir aramada farklı aşamalarda 53 çalışma bulunmuştur (4 Ekim 2012). Daha spesifik olmak gerekirse, aktif olan ancak henüz hasta kaydetmeyen 7 çalışma, aktif olan ve hasta kaydeden 18 çalışma, tamamlanan 21 çalışma, erken sonlandırılan 2 çalışma, statüsü bilinmeyen 2 çalışma (örn. bilgilerin son zamanlarda güncellenmediği çalışmalar) ve geri çekilen 1 çalışma mevcuttur. Bu araştırmaların çoğunda, molekülün tip 2 diyabet, obezite ve kardiyovasküler hastalıklar üzerindeki etkileri incelenmektedir.

Resveratrolun kanser gelişimi üzerindeki etkisini direkt olarak araştıran 8 çalışma mevcuttur. Tamamlanan altı çalışmadan, dört tanesinin sonuçları yayınlanmıştır [15, 43, 62, 66]. Bir çalışmaya hala hasta kaydı yapılmaktadır. Sonuncusunun statüsü ise bilinmemektedir.

Çalışmaların çoğu (dört) resveratrolun kolon kanserindeki etkisini araştırmaya odaklanmıştır. Bir tanesi de molekülün kanserlerin gelişimindeki aktivitesini analiz etmektedir. Kalan 3 çalışma resveratrolun gastrointestinal kanser, foliküler lenfoma ve multipl myelom (resveratrol ile bortezomib arasında bir ilişkiyi kullanarak) üzerindeki etkilerini araştırmaya odaklanmıştır. Ancak bu çalışmaların sonuçları henüz açıklanmamıştır. Yayınlanmış çalışmalara [15, 43, 62, 66] bakılarak yapılabilecek genel çıkarım resveratrolun kanserin önlenmesindeki pozitif özelliklerinin netleşebilmesi için daha ileri çalışmalara ihtiyaç olduğudur. Bu çalışmaların dizaynlarında büyük farklılıklar mevcuttur (örn. resveratrolun dozaj ve formülasyonu, çalışmanın uzunluğu gibi). Çalışmalarda sağlıklı erişkinlerde 5 grama varan dozlar kullanılmıştır.

Resveratrol ile yapılan araştırmalar ile ilgili başlıca kısıtlama ve eleştiri konusu olan nokta resveratrolun sağlık üzerindeki uzun süreli etkilerini araştıran çalışmaların mevcut olmamasıdır. Danimarka Stratejik Araştırma Konseyinin metabolik sendrom, osteoporoz ve kronik enflamasyon tedavisinde resveratrolun etkilerini araştıracak dört yıllık bir çalışma için 3.4 milyon $ sağlayacak olması son zamanlarda açıklanan önemli bir gelişmedir. Dönüm noktası olacak bu çalışmanın ana amacı aşırı vücut ağırlığının (özellikle obezitenin) sağlığa zararlı etkilerinin, resveratrolun diyet takviyesi olarak kullanımı ile nötralize edilebileceğinin gösterilmesidir. Test edilecek etkiler arasında sıklıkla tip 2 diyabet, nonalkolik yağlı karaciğer hastalığı, osteoporoz ve kanser ile sıklıkla ilişkili olan düşük dereceli enflamasyon vardır.

Özet olarak resveratrolun diyetin bir parçası veya diyet takviyesi olarak kullanımı ile ortaya çıkan önleyici ve terapötik etkilerinin ispat edilebilmesi için yeni kontrollü klinik çalışmalara ihtiyaç vardır.

6 Sonuçlar ve Perspektifler

Resveratrol ile insanlarda yapılan klinik çalışmalardan elde edilmeye başlanan veriler, in vitro ve hayvan modellerinde tespit edilen pozitif etkilerin, potansiyel koruyucu veya tedavi edici etkiler yönünden ciddiyetle ele alınmasını gerektirmektedir. Aslında molekülün hücre büyüme ortamında fenotipik etkiler gösterebilmesi için gereken miktarlarının, gerçekte ulaşılabilen serum düzeyleri ile karşılaştırılması oldukça basit görünmektedir.

Gerçekten de son zamanlarda elde edilen veriler, bir yıl süre ile kullanılan çok düşük resveratrol dozlarının (günde iki kez 8 mg) bile birçok kardiyak risk faktörünü azalttığını göstermektedir [93]. 8 mg resveratrol sadece şarap tüketimi (kullanılan şaraba göre 1-3 litreye denk gelmektedir) ile ulaşmak için hala çok yüksek bir doz olabilir. Ancak resveratrolun çeşitli gıdalarda da mevcut olduğu göz önüne alındığında aşırı yüksek bir değer olmadığı görülecektir. Diğer taraftan molekülün çok düşük toksisitesi, kronik hastalıkların önlenmesinde veya tedavisinde kullanılması konusunun ciddi olarak değerlendirilmesi gereksinimini doğurmaktadır.

Ancak resveratrol takviyesi ile elde edilen faydaların uzun süreli kullanımda da devam ederek kronik hastalıkların ortaya çıkmasını engelleyip engelleyemeyeceği bilinmemektedir. Ayrıca az sayıda klinik araştırma var olan binlerce basit bilimsel deneyle karşılaştırıldığında çok yetersiz kalmaktadır.

Sonuç olarak resveratrolun insanlardaki geniş kullanım potansiyelini değerlendirebilmek için insanlarda her tür olası yanıtı araştıran çalışmaların devam etmesi gerektiği aşikardır. Gelecekte yapılacak çalışmalar şunları hedeflemelidir:

1. Hem biyoyararlanım hem de etkinlik yönünden farklı resveratrol dozlarının ve/veya formülasyonlarının araştırılması.
2. Resveratrolun olası bir tedavi alternatifi olarak etkinliğinin belirli tedaviler ve sonuçları ile karşılaştırılması. Resveratrol bazı kronik hastalıkların (tip 2 diyabet, obezite, metabolik sendrom, kardiyovasküler hastalıklar ve nörodejeneratif patolojiler) önlenmesi ve tedavisinde ciddi bir alternatif olarak değerlendirilebilir. Bu amaçla sadece çok sayıdaki bağımsız çalışmaların sonuçlar dikkate alınmalıdır.
3. Uzun süreli resveratrol takviyesinin etkilerinin araştırılması.
4. Resveratrolun metabolitlerinin aktivitelerinin tespit edilmesi.
5. Resveratrolun diğer terapilerle aditif veya sinerjistik etkisi olup olmadığının belirlenmesi.
6. Genetik faktörlerin, biyoyararlanım ve bireylerin resveratrola verdikleri farklı yanıtlar ile ilişkisinin tespit edilmesi.
7. Resveratrol takviyesi için yeni stratejilerin geliştirilmesi.

Referanslar

1. Ahmad KA, Clement MV, Hanif IM et al (2004) Resveratrol inhibits drug-induced apoptosis in human leukemia cells by creating an intracellular milieu nonpermissive for death execution. Cancer Res 64:1452–1459
2. Alex D, Leong EC, Zhang ZJ et al (2010) Resveratrol derivative, trans-3,5,49-trimethoxystilbene, exerts antiangiogenic and vascular disrupting effects in zebrafish through the downregulation of VEGFR2 and cell cycle modulation. J Cell Biochem 109:339–346
3. Alkhalaf M, El-Mowafy A, Renno W et al (2008) Resveratrol-induced apoptosis in human breast cancer cells is mediated primarily through the caspase-3-dependent pathway. Arch Med Res 39:162–168
4. Almeida L, Vaz-da-Silva M, Falcao A et al (2009) Pharmacokinetic and safety profile of trans-resveratrol in a rising multiple-dose study in healthy volunteers. Mol Nutr Food Res 53:7–15
5. Asou H, Koshizuka K, Kyo T et al (2002) Resveratrol a natural product derived from grapes, is a new inducer of differentiation in human myeloid leukemias. Int J Hematol 75:528–533
6. Aziz MH, Afaq F, Ahmad N (2005) Prevention of ultraviolet-B radiation damage by resveratrol in mouse skin is mediated via modulation in survivin. Photochem Photobiol 81:25–31
7. Aziz MH, Nihal M, Fu VX et al (2006) Resveratrol-caused apoptosis of human prostate carcinoma LNCaP cells is mediated via modulation of phosphatidylinositol 3'-kinase/Akt pathway and Bcl-2 family proteins. Mol Cancer Ther 5:1335–1341
8. Banerjee Mustafi S, Chakraborty PK, Raha S (2010) Modulation of Akt and ERK1/2 pathways by resveratrol in chronic myelogenous leukemia (CML) cells results in the downregulation of Hsp70. PLoS ONE 5:e8719
9. Baur JA, Sinclair DA (2006) Therapeutic potential of resveratrol: the in vivo evidence. Nat Rev Drug Discov 5:493–506

10. Baur JA, Pearson KJ, Price NL et al (2006) Resveratrol improves health and survival of mice on a high-calorie diet. Nature 444:337–342
11. Beher D, Wu J, Cumine S et al (2009) Resveratrol is not a direct activator of SIRT1 enzyme activity. Chem Biol Drug Des 74:619–624
12. Bhardwaj A, Sethi G, Vadhan-Raj S et al (2004) Isorhapontigenin and resveratrol suppress oxLDL-induced proliferation and activation of ERK1/2 mitogen-activated protein kinases of bovine aortic smooth muscle cells. Biochem Pharmacol 67:777–785
13. Bhardwaj A, Sethi G, Vadhan-Raj S et al (2007) Resveratrol inhibits proliferation, induces apoptosis, and overcomes chemoresistance through down-regulation of STAT3 and nuclear factor-kappaB regulated antiapoptotic and cell survival gene products in human multiple myeloma cells. Blood 109:2293–2302
14. Boissy P, Andersen TL, Abdallah BM et al (2005) Resveratrol inhibits myeloma cell growth, prevents osteoclast formation, and promotes osteoblast differentiation. Cancer Res 65:9943–9952
15. Boocock DJ, Faust GE, Patel KR (2007) Phase I dose escalation pharmacokinetic study in healthy volunteers of resveratrol, a potential cancer chemopreventive agent. Canc Epidemiol Biomarkers Prev 16:1246–1252
16. Bråkenhielm E, Cao R, Cao Y (2001) Suppression of angiogenesis, tumor growth, and wound healing by resveratrol, a natural compound in red wine and grapes. FASEB J 15:1798–1800
17. Brown VA, Patel KR, Viskaduraki M et al (2010) Repeat dose study of the cancer chemopreventive agent resveratrol in healthy volunteers: safety, pharmacokinetics, and effect on the insulin-like growth factor axis. Cancer Res 70:9003–9011
18. Calabrese EJ, Mattson MP, Calabrese V (2010) Resveratrol commonly displays hormesis: occurrence and biomedical significance. Hum Exp Toxicol 29:980–1015
19. Cao Y, Fu ZD, Wang F et al (2005) Anti-angiogenic activity of resveratrol, a natural compound from medicinal plants. J Asian Nat Prod Res 7:205–213
20. Cao Z, Fang J, Xia C et al (2004) trans-3,4,5'-Trihydroxystilbene inhibits hypoxia-inducible factor 1alpha and vascular endothelial growth factor expression in human ovarian cancer cells. Clin Cancer Res 10:5253–5263
21. Chan JY, Phoo MS, Clement MV et al (2008) Resveratrol displays converse dose-related effects on 5-fluorouracil-evoked colon cancer cell apoptosis: the roles of caspase-6 and p53. Cancer Biol Ther 7:1305–1312
22. Chan WK, Delucchi AB (2000) Resveratrol, a red wine constituent, is a mechanism-based inactivator of cytochrome P450 3A4. Life Sci 67:3103–3012
23. Chen Q, Ganapathy S, Singh KP et al (2010) Resveratrol induces growth arrest and apoptosis through activation of FOXO transcription factors in prostate cancer cells. PLoS ONE 5:e15288
24. Chen ZH, Hurh YJ, Na HK et al (2004) Resveratrol inhibits TCDD-induced expression of CYP1A1 and CYP1B1 and catechol estrogen-mediated oxidative DNA damage in cultured human mammary epithelial cells. Carcinogenesis 25:2005–2013
25. Ciolino HP, Daschner PJ, Yeh GC (1998) Resveratrol inhibits transcription of CYP1A1 in vitro by preventing activation of the aryl hydrocarbon receptor. Cancer Res 58:5707–5712
26. Clément MV, Hirpara JL, Chawdhury SH et al (1998) Chemopreventive agent resveratrol, a natural product derived from grapes, triggers CD95 signaling-dependent apoptosis in human tumor cells. Blood 92:996–1002
27. Cucciolla V, Borriello A, Oliva A et al (2007) Resveratrol: from basic science to the clinic. Cell Cycle 6:2495–2510
28. Dai H, Kustigian L, Carney D et al (2010) SIRT1 activation by small molecules: kinetic and biophysical evidence for direct interaction of enzyme and activator. J Biol Chem 285:32695–32703

29. Della Ragione F, Cucciolla V, Borriello A et al (1998) Resveratrol arrests the cell division cycle at S/G2 phase transition. Biochem Biophys Res Commun 250:53–58
30. Della Ragione F, Cucciolla V, Criniti V et al (2003) p21Cip1 gene expression is modulated by Egr1: a novel regulatory mechanism involved in the resveratrol antiproliferative effect. J Biol Chem 278:23360–23368
31. El-Mowafy AM, White RE (1999) Resveratrol inhibits MAPK activity and nuclear translocation in coronary artery smooth muscle: reversal of endothelin-1 stimulatory effects. FEBS Lett 451:63–67
32. Elliott PJ, Walpole S, Morelli L et al (2009) Resveratrol/SRT501. Sirtuin SIRT1 activator, Treatment of type 2 diabetes. Drugs Fut 34:291–295
33. Estrov Z, Shishodia S, Faderl S et al (2003) Resveratrol blocks interleukin-1beta-induced activation of the nuclear transcription factor NF-kappaB, inhibits proliferation, causes S-phase arrest, and induces apoptosis of acute myeloid leukemia cells. Blood 102:987–995
34. Floreani M, Napoli E, Quintieri L et al (2003) Oral administration of trans-resveratrol to guinea pigs increases cardiac DT-diaphorase and catalase activities, and protects isolated atria from menadione toxicity. Life Sci 72:2741–2750
35. Fulda S, Debatin KM (2005) Resveratrol-mediated sensitisation to TRAIL-induced apoptosis depends on death receptor and mitochondrial signalling. Eur J Cancer 41:786–798
36. George J, Singh M, Srivastava AK et al (2011) Resveratrol and black tea polyphenol combination synergistically suppress mouse skin tumors growth by inhibition of activated MAPKs and p53. PLoS ONE 6:e23395
37. Guarente L (1999) Diverse and dynamic functions of the Sir silencing complex. Nat Genet 23:281–285
38. Haider UG, Roos TU, Kontaridis MI et al (2005) Resveratrol inhibits angiotensin II- and epidermal growth factor-mediated Akt activation: role of Gab1 and Shp2. Mol Pharmacol 68:41–48
39. Haider UG, Sorescu D, Griendling KK et al (2002) Resveratrol suppresses angiotensin II-induced Akt/protein kinase B and p70 S6 kinase phosphorylation and subsequent hypertrophy in rat aortic smooth muscle cells. Mol Pharmacol 62:772–777
40. Hanahan D, Weinberg RA (2011) Hallmarks of cancer: the next generation. Cell 144:646–674
41. Hayashibara T, Yamada Y, Nakayama S et al (2002) Resveratrol induces downregulation in survivin expression and apoptosis in HTLV-1-infected cell lines: a prospective agent for adult T cell leukemia chemotherapy. Nutr Cancer 44:193–201
42. Holmes-McNary M, Baldwin AS Jr (2000) Chemopreventive properties of trans-resveratrol are associated with inhibition of activation of the IkappaB kinase. Cancer Res 60:3477–3483
43. Howells LM, Berry DP, Elliott PJ et al (2011) Phase I randomised double-blind pilot study of micronized resveratrol (SRT501) in patients with hepatic metastases—safety, pharmacokinetics and pharmacodynamics. Cancer Prev Res (Phila) 4:1419–1425
44. Howitz KT, Bitterman KJ, Cohen HY et al (2003) Small molecule activators of sirtuins extend Saccharomyces cerevisiae lifespan. Nature 425:191–196
45. Jang M, Cai L, Udeani GO et al (1997) Cancer chemopreventive activity of resveratrol, a natural product derived from grapes. Science 275:218–222
46. Kaminski J, Lançon A, Aires V et al (2012) Resveratrol initiates differentiation of mouse skeletal muscle-derived C2C12 myoblasts. Biochem Pharmacol pii S0006–2952(12):00579–5. doi:10.1016/j.bcp.2012.08.023
47. Ko YC, Chang CL, Chien HF et al (2011) Resveratrol enhances the expression of death receptor Fas/CD95 and induces differentiation and apoptosis in anaplastic large-cell lymphoma cells. Cancer Lett 309:46–53
48. Kundu JK, Shin YK, Kim SH et al (2006) Resveratrol inhibits phorbol ester-induced expression of COX-2 and activation of NF-kappaB in mouse skin by blocking IkappaB kinase activity. Carcinogenesis 27:1465–1474

49. la Porte C, Voduc N, Zhang G et al (2010) Steady-State pharmacokinetics and tolerability of trans-resveratrol 2000 mg twice daily with food, quercetin and alcohol (ethanol) in healthy human subjects. Clin Pharmacokinet 49:449–454
50. Lagouge M, Argmann C, Gerhart-Hines Z et al (2006) Resveratrol improves mitochondrial function and protects against metabolic disease by activating SIRT1 and PGC-1alpha. Cell 127:1109–1122
51. Lee JE, Safe S (2001) Involvement of a post-transcriptional mechanism in the inhibition of CYP1A1 expression by resveratrol in breast cancer cells. Biochem Pharmacol 62:1113–1124
52. Lee MH, Choi BY, Kundu JK et al (2009) Resveratrol suppresses growth of human ovarian cancer cells in culture and in a murine xenograft model: eukaryotic elongation factor 1A2 as a potential target. Cancer Res 69:7449–7458
53. Leong CW, Wong CH, Lao SC et al (2007) Effect of resveratrol on proliferation and differentiation of embryonic cardiomyoblasts. Biochem Biophys Res Commun 360:173–180
54. Li F, Gong Q, Dong H et al (2012) Resveratrol, a neuroprotective supplement for Alzheimer's disease. Curr Pharm Des 18:27–33
55. Lin HY, Tang HY, Keating T et al (2008) Resveratrol is pro-apoptotic and thyroid hormone is anti-apoptotic in glioma cells: both actions are integrin and ERK mediated. Carcinogenesis 29:62–69
56. Mader I, Wabitsch M, Debatin KM et al (2010) Identification of a novel proapoptotic function of resveratrol in fat cells: SIRT1—independent sensitization to TRAIL-induced apoptosis. FASEB J 24:1997–2009
57. Manna SK, Mukhopadhyay A, Aggarwal BB (2000) Resveratrol suppresses TNF-induced activation of nuclear transcription factors NF-kappa B, activator protein-1, and apoptosis: potential role of reactive oxygen intermediates and lipid peroxidation. J Immunol 164:6509–6519
58. Michan S, Sinclair D (2007) Sirtuins in mammals: insights into their biological function. Biochem J 404:1–13
59. Miller RA, Harrison DE, Astle CM et al (2011) Rapamycin, but not resveratrol or simvastatin, extends life span of genetically heterogeneous mice. J Gerontol A Biol Sci Med Sci 66:191–201
60. Mohan J, Gandhi AA, Bhavya BC et al (2006) Caspase-2 triggers Bax-Bak-dependent and -independent cell death in colon cancer cells treated with resveratrol. J Biol Chem 281:17599–17611
61. Morselli E, Mariño G, Bennetzen MV et al (2011) Spermidine and resveratrol induce autophagy by distinct pathways converging on the acetylproteome. J Cell Biol 192:615–629
62. Nguyen AV, Martinez M, Stamos MJ et al (2009) Results of a phase I pilot clinical trial examining the effect of plant-derived resveratrol and grape powder on Wnt pathway target gene expression in colonic mucosa and colon cancer. Canc Manag Res 1:25–37
63. Opipari AW Jr, Tan L, Boitano AE et al (2004) Resveratrol-induced autophagocytosis in ovarian cancer cells. Cancer Res 64:696–703
64. Park JW, Choi YJ, Suh SI et al (2001) Bcl-2 overexpression attenuates resveratrol-induced apoptosis in U937 cells by inhibition of caspase-3 activity. Carcinogenesis 22:1633–1639
65. Park SJ, Ahmad F, Philp A et al (2012) Resveratrol ameliorates aging-related metabolic phenotypes by inhibiting cAMP Phosphodiesterases. Cell 148:421–433
66. Patel KR, Brown VA, Jones DJ et al (2010) Clinical pharmacology of resveratrol and its metabolites in colorectal cancer patients. Cancer Res 70:7392–7399
67. Pearson KJ, Baur JA, Lewis KN et al (2008) Resveratrol delays age-related deterioration and mimics transcriptional aspects of dietary restriction without extending life span. Cell Metab 8:157–168
68. Pöhland T, Wagner S, Mahyar-Roemer M et al (2006) Bax and Bak are the critical complementary effectors of colorectal cancer cell apoptosis by chemopreventive resveratrol. Anticancer Drugs 17:471–478

69. Pozo-Guisado E, Lorenzo-Benayas MJ, Fernández-Salguero PM (2004) Resveratrol modulates the phosphoinositide 3-kinase pathway through an estrogen receptor alpha-dependent mechanism: relevance in cell proliferation. Int J Cancer 109:167–173
70. Pozo-Guisado E, Merino JM, Mulero-Navarro S et al (2005) Resveratrol-induced apoptosis in MCF-7 human breast cancer cells involves a caspase-independent mechanism with downregulation of Bcl-2 and NF-kappaB. Int J Cancer 115:74–84
71. Price NL, Gomes AP, Ling AJ et al (2012) SIRT1 is required for AMPK activation and the beneficial effects of resveratrol on mitochondrial function. Cell Metab 15:675–690
72. Puissant A, Auberger P (2010) AMPK- and p62/SQSTM1-dependent autophagy mediate Resveratrol-induced cell death in chronic myelogenous leukemia. Autophagy 6:655–657
73. Puissant A, Robert G, Fenouille N et al (2010) Resveratrol promotes autophagic cell death in chronic myelogenous leukemia cells via JNK-mediated p62/SQSTM1 expression and AMPK activation. Cancer Res 70:1042–1052
74. Reybier K, Perio P, Ferry G et al (2011) Insights into the redox cycle of human quinone reductase 2. Free Radic Res 45:1184–1195
75. Roy P, Kalra N, Prasad S et al (2009) Chemopreventive potential of resveratrol in mouse skin tumors through regulation of mitochondrial and PI3 K/AKT signaling pathways. Pharm Res 26:211–217
76. Scarlatti F, Maffei R, Beau I et al (2008) Role of non-canonical Beclin 1-independent autophagy in cell death induced by resveratrol in human breast cancer cells. Cell Death Differ 8:1318–1329
77. Shankar S, Chen Q, Siddiqui I et al (2007) Sensitization of TRAIL-resistant LNCaP cells by resveratrol (3, 49, 5 tri-hydroxystilbene): molecular mechanisms and therapeutic potential. J Mol Signal 2:7
78. Shankar S, Siddiqui I, Srivastava RK (2007) Molecular mechanisms of resveratrol (3,4,5-trihydroxy-trans-stilbene) and its interaction with TNF-related apoptosis inducing ligand (TRAIL) in androgen-insensitive prostate cancer cells. Mol Cell Biochem 304:273–285
79. She QB, Huang C, Zhang Y et al (2002) Involvement of c-jun NH(2)-terminal kinases in resveratrol-induced activation of p53 and apoptosis. Mol Carcinog 33:244–250
80. Shih A, Zhang S, Cao HJ et al (2004) Inhibitory effect of epidermal growth factor on resveratrol-induced apoptosis in prostate cancer cells is mediated by protein kinase C-alpha. Mol Cancer Ther 3:1355–1364
81. Smith TG, Robbins PA, Ratcliffe PJ (2008) The human side of hypoxia-inducible factor. Br J Haematol 141:325–334
82. Soleas GJ, Yan J, Goldberg DM (2001) Measurement of trans-resveratrol, (1)-catechin, and quercetin in rat and human blood and urine by gas chromatography with mass selective detection. Methods Enzymol 335:130–145
83. Soleas GJ, Yan J, Goldberg DM (2001) Ultrasensitive assay for three polyphenols (catechin, quercetin and resveratrol) and their conjugates in biological fluids utilizing gas chromatography with mass selective detection. J Chromatogr B Biomed Sci Appl 757:161–172
84. Spanier G, Xu H, Xia N et al (2009) Resveratrol reduces endothelial oxidative stress by modulating the gene expression of superoxide dismutase 1 (SOD1), glutathione peroxidase 1 (GPx1) and NADPH oxidase subunit (Nox4). J Physiol Pharmacol 60:111–116
85. Srivastava RK, Unterman TG, Shankar S (2010) FOXO transcription factors and VEGF neutralizing antibody enhance antiangiogenic effects of resveratrol. Mol Cell Biochem 337:201–212
86. Stewart JR, Christman KL, O'Brian CA (2000) Effects of resveratrol on the autophosphorylation of phorbol ester-responsive protein kinases: inhibition of protein kinase D but not protein kinase C isozyme autophosphorylation. Biochem Pharmacol 60:1355–1359

87. Subbaramaiah K, Chung WJ, Michaluart P et al (1998) Resveratrol inhibits cyclooxygenase-2 transcription and activity in phorbol ester-treated human mammary epithelial cells. J Biol Chem 273:21875–21882
88. Szewczuk LM, Forti L, Stivala LA et al (2004) Resveratrol is a peroxidase-mediated inactivator of COX-1 but not COX-2: a mechanistic approach to the design of COX-1 selective agents. J Biol Chem 279:22727–22737
89. Takaoka M (1939) Resveratrol, a new phenolic compound, from Veratrum grandiflorum. Nippon Kagaku Kaishi 60:1090–1100
90. Tang HY, Shih A, Cao HJ et al (2006) Resveratrol-induced cyclooxygenase-2 facilitates p53-dependent apoptosis in human breast cancer cells. Mol Cancer Ther 5:2034–2042
91. Timmers S, Konings E, Bilet L et al (2011) Calorie restriction-like effects of 30 days of resveratrol supplementation on energy metabolism and metabolic profile in obese humans. Cell Metab 14:612–622
92. Tinhofer I, Bernhard D, Senfter M et al (2001) Resveratrol, a tumor-suppressive compound from grapes, induces apoptosis via a novel mitochondrial pathway controlled by Bcl-2. FASEB J 15:1613–1615
93. Tomé-Carneiro J, Gonzálvez M, Larrosa M et al (2012) One-year consumption of a grape nutraceutical containing resveratrol improves the inflammatory and fibrinolytic status of patients in primary prevention of cardiovascular disease. Am J Cardiol 110:356–363
94. Trincheri NF, Nicotra G, Follo C et al (2007) Resveratrol induces cell death in colorectal cancer cells by a novel pathway involving lysosomal cathepsin D. Carcinogenesis 28:922–931
95. Ulrich S, Huwiler A, Loitsch S et al (2007) De novo ceramide biosynthesis is associated with resveratrol-induced inhibition of ornithine decarboxylase activity. Biochem Pharmacol 74:281–289
96. Vang O, Ahmad N, Baile CA et al (2011) What is new for an old molecule? Systematic review and recommendations on the use of resveratrol. PLoS ONE 6:e19881
97. Walle T, Hsieh F, DeLegge MH et al (2004) High absorption but very low bioavailability of oral resveratrol in humans. Drug Metab Dispos 32:1377–1382
98. Wang Y, Romigh T, He X et al (2010) Resveratrol regulates the PTEN/AKT pathway through androgen receptor dependent and -independent mechanisms in prostate cancer cell lines. Hum Mol Genet 19:4319–4329
99. Wong RH, Howe PR, Buckley JD et al (2011) Acute resveratrol supplementation improves flow-mediated dilatation in overweight/obese individuals with mildly elevated blood pressure. Nutr Metab Cardiovasc Dis 21:851–856
100. Woo JH, Lim JH, Kim YH et al (2004) Resveratrol inhibits phorbol myristate acetate-induced matrix metalloproteinase-9 expression by inhibiting JNK and PKC delta signal transduction. Oncogene 23:1845–1853
101. Wu H, Liang X, Fang Y et al (2008) Resveratrol inhibits hypoxia-induced metastasis potential enhancement by restricting hypoxia-induced factor-1 alpha expression in colon carcinoma cells. Biomed Pharmacother 62:613–621
102. Wu Y, Li X, Zhu JX et al (2011) Resveratrol-activated AMPK/SIRT1/autophagy in cellular models of Parkinson's disease. Neurosignals 19:163–174
103. Yamamoto H, Schoonjans K, Auwerx J (2007) Sirtuin functions in health and disease. Mol Endocrinol 21:1745–1755
104. Yu LJ, Wu ML, Li H et al (2008) Inhibition of STAT3 expression and signaling in resveratrol-differentiated medulloblastoma cells. Neoplasia 10:736–744
105. Yu R, Hebbar V, Kim DW et al (2001) Resveratrol inhibits phorbol ester and UV-induced activator protein 1 activation by interfering with mitogen-activated protein kinase pathways. Mol Pharmacol 60:217–224
106. Zamora-Ros R, Urpi-Sarda M, Lamuela-Raventós RM et al (2012) High urinary levels of resveratrol metabolites are associated with a reduction in the prevalence of cardiovascular risk factors in high-risk patients. Pharmacol Res 65:615–620

107. Zhang F, Liu J, Shi JS (2010) Anti-inflammatory activities of resveratrol in the brain: role of resveratrol in microglial activation. Eur J Pharmacol 636:1–7
108. Zhang S, Cao HJ, Davis FB et al (2004) Oestrogen inhibits resveratrol-induced post-translational modification of p53 and apoptosis in breast cancer cells. Br J Cancer 91:178–185
109. Zhao K, Harshaw R, Chai X et al (2004) Structural basis for nicotinamide cleavage and ADP-ribose transfer by NAD + -dependent Sir2 histone/protein deacetylases. Proc Natl Acad Sci USA 101:8563–8568
110. Zykova TA, Zhu F, Zhai X et al (2008) Resveratrol directly targets COX-2 to inhibit carcinogenesis. Mol Carcinog 47:797–805

Kuersetin: Kansere Karşı Pleiotropik Kinaz İnhibitörü

Gian Luigi Russo, Maria Russo, Carmela Spagnuolo, Idolo Tedesco, Stefania Bilotto, Roberta Iannitti ve Rosanna Palumbo

Özet

Kanser riskinin anlamlı olarak azaltılması için meyve ve sebze tüketiminin artırılması kolay bir strateji olabilir. Çoğunlukla epidemiyolojik verilerden kaynaklanan bu gözlemden yola çıkan yeni kemoprevensiyon alanı kansere karşı primer ve sekonder korumayı amaçlamaktadır. Kemoprevensiyon tümörijenezi erken evrelerinde durdurabilen, geriye çevirebilen veya geciktirebilen doğal veya sentetik bileşiklerin kullanılması olarak tanımlanmaktadır. Çok sayıda fitokimyasalın kanser hücrelerinin proliferasyonunu regüle eden birçok önemli faktörü eş zamanlı olarak inhibe veya modüle etme potansiyelleri vardır. Kuersetin potansiyel kemopreventif özelliği olan bir flavonoiddir. Multipl intraselüler hedefleri olan fonksiyonel pleiotropik bir moleküldür. Kanser hücrelerinde genel olarak değişmiş olan farklı hücre sinyal proseslerini (normal hücreler üzerinde minimum toksik etki ile) etkiler. Multipl yolakların aynı anda hedeflenmesi malign hücrelerin öldürülmesine ve ilaç rezistansının başlamasının geciktirilmesine yardımcı olabilir. Kuersetinin tetikleyebildiği farklı substratlar mevcuttur. Biz molekülün kanser hücrelerinde denetimsiz hücre büyümesinde rol oynayan protein kinazları inhibe edebilme yeteneğini inceleyeceğiz.

G. L. Russo (✉) · M. Russo · C. Spagnuolo · I. Tedesco · S. Bilotto · R. Iannitti
Istituto Scienzedell'Alimentazione, Consiglio Nazionale delle Ricerche,
83100, Avellino, Italy
e-mail: glrusso@isa.cnr.it

R. Iannitti · R. Palumbo
Istituto Biostrutture e Bioimmagini, Consiglio Nazionale delle Ricerche, 83100, Naples,
Italy

V. Zappia et al. (eds.), *Advances in Nutrition and Cancer,*
Cancer Treatment and Research 159, DOI: 10.1007/978-3-642-38007-5_11,
© Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2014

Anahtar Kelimeler

Kuersetin · Kinaz inhibitörü · Antioksidanlar · Kemoprevensiyon · Flavonoidler · Polifenoller

Kısaltmalar

Akt/PKB	v-akt mürin timoma viral onkogen homoloğu 1/protein kinaz B
PI_3K	Fosfatidilinositol-4,5-bisfosfonat 3-kinaz
Hck	Hematopoetik hücre kinaz
GSK-3β	Glikojen sentaz kinaz-3β
Nrf2	Nükleer faktör (eritroid-kaynaklı 2)-benzeri 2
NF-κB	B hücrelerinde nükleer faktör kappa hafif polipeptid gen güçlendirici
HO-1	Heme oksijenaz-1
ROS	Reaktif oksijen türleri
CK2	Kazein kinaz 2
Raf-1	V-raf-1 mürin lösemi viral onkogen homolog 1
ERK1/2	Ekstraselüler sinyal-regüle kinaz 1/2
MEK-1 veya MAP2K1	Mitojen-aktive protein kinaz kinaz 1
PTEN	Kromozomda tespit edilen fosfataz ve tensin homoloğu 10
IKKα/β	B hücrelerinde kappa hafif polipeptid gen güçlendirici inhibitörü, kinaz α/β
IκBα	B hücre inhibitöründe nükleer faktör kappa hafif polipeptid gen güçlendirici, α/β
S6K1	Ribozomal protein S6 kinaz
$p90^{RSK}$	90kDA polipeptid
AMPK	AMP-aktive protein kinaz

İçindekiler

1 Giriş 187
2 Kuersetinin Antioksidan Özellikleri 187
3 Kuersetinin Biyoyararlanımı ve Metabolizması 189
4 Kuersetinin Güvenliği 192
5 Kuersetin ve Kanser 193
5.1 Kuersetinin Protein Kinaz İnhibitör Etkisi 194
6 Sonuçlar: Pleiotropi ile Sinerji Karşılaştırması 196
Referanslar 200

1 Giriş

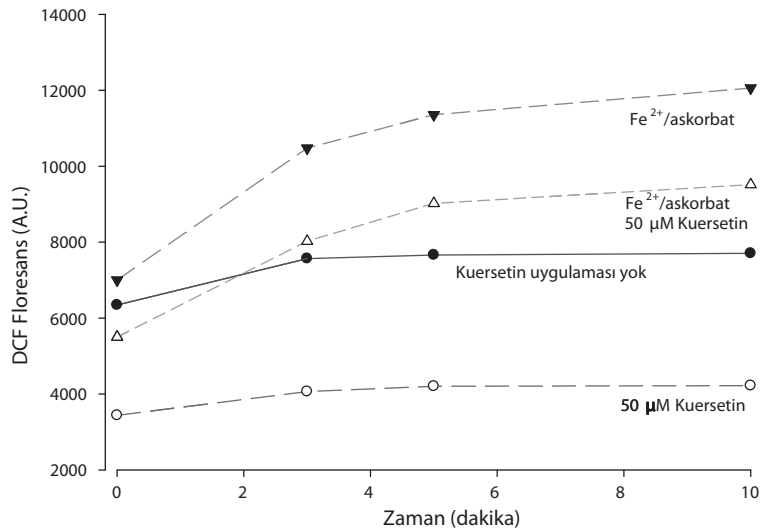
Yüzlerce bilimsel çalışmada insan diyetinde mevcut olan non-nütrisyonel bileşiklerin kanser gibi dejeneratif hastalıkları önleyebildikleri gösterilmiştir [82, 98, 100]. Genel olarak fitokimyasallar olarak bilinen bu heterojen molekül sınıfı, flavonlar, kalkonlar, flavonollar, flavononlar, flavan-3-ollar, izoflavonlar, antosinidinler, flavanonollar alt gruplarına ayrılan 6000'den fazla flavonoid sınıfına ait polifenolu içermektedir [38]. Bunlar, bitkisel kaynaklı gıdalar olan meyve ve sebzeler ile çay, bira, meyve suları gibi içeceklerde ve birçok gıda takviyesinde veya bitkisel kaynaklı tedavilerin içinde bulunurlar. Bitkisel dokulardaki hücre metabolizmasında rol oynayan enzimlerin regüle edilmesinde ve yabancı ajanlara (radyasyon, virüsler, parazitler) karşı kullanılan defans mekanizmalarında çok çeşitli görevleri olan fitokimyasallar hayvan hücrelerinde de pleiotropik etkilerle ilişkilidir.

Bilim adamlarının fitokimyasallara ilgilerinin artması, memeli hücrelerindeki biyolojik hedeflerinin, hücre döngüsü kontrolü, apoptozdan sakınma, anjiogenez ve metastazlar gibi enflamatuar prosesler ve onkojenik transformasyonlar olduğunun gösterilmesi ile başlamıştır. Bu sonuçlar çok sayıda epidemiyolojik kanıtla desteklenen ve fitokimyasalların günlük tüketimlerinin çeşitli kanser tiplerini azaltabileceğini gösteren preklinik çalışmalardan elde edilmiştir [18, 86, 98, 100]. Bu konu tespit edilen pozitif ilişkiye rağmen hala tartışma ve eleştirilere hedef olmaktadır. Bu durum meyve ve sebzelerden zengin bir diyetin dejeneratif hastalıklardan koruma mekanizmaları ile ilgili açıklamaların yetersiz kalmaları ve fitokimyasaların etki mekanizmalarının tanımlanabilmesini sağlayacak hücre ve hayvan modellerinde yapılması gereken daha ileri biyokimyasal ve genetik çalışmalara ihtiyaç olmasından kaynaklanmaktadır [5, 16].

Biz son dekad içindeki konsantrasyonumuzu çok çeşitli meyve, sebze ve içeceklerde bulunabilen (örn. çay ve şarapta bulunan kuersetin diyet alışkanlıklarına bağlı olarak günde 10-100 mg tüketilir) majör bir diyet flavonoid kaynağı olan kuersetinin (3, 30, 40,5, 7-pentahidroksiflavon) aktivitesine yönlendirmiş bulunuyoruz [4, 43]. Molekülün antioksidan, antienflamatuar, antianjiogenik, antiproliferatif ve proapoptotik özelliklerini göstermeyi amaçlayan farklı çalışmalar yapılmıştır [55, 85]. Bu bölümde molekülün denetimsiz olarak büyüyen kanser hücrelerindeki protein kinazları inhibe edebilme yeteneği üzerine odaklanacağız.

2 Kuersetinin Antioksidan Özellikleri

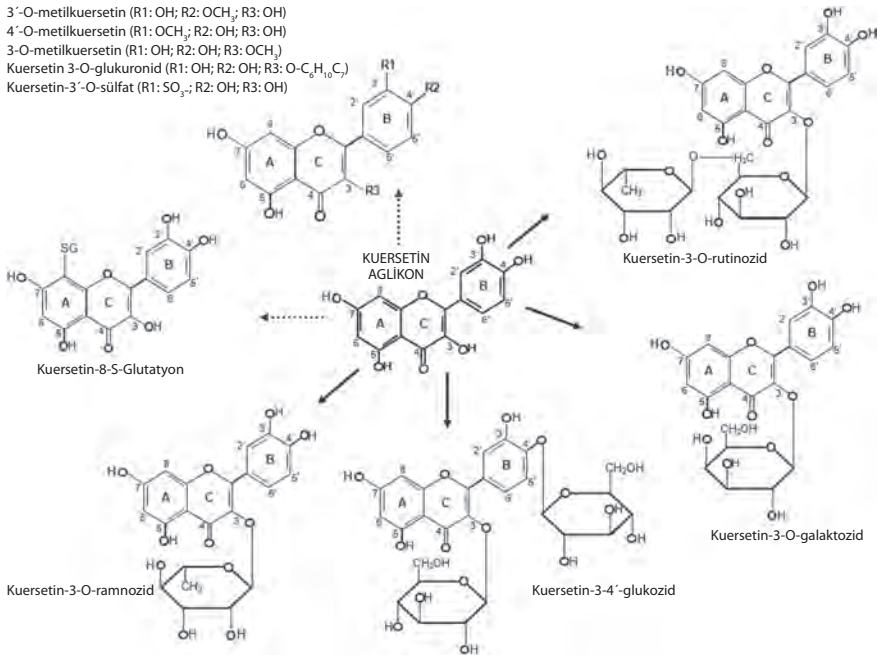
Çeşitli in vitro [10] ve in vivo [79] çalışmalarda da gösterildiği üzere polifenoller arasındaki en güçlü antioksidanlardan bir tanesi kuersetindir. Flavonoidler genel olarak reaktif oksijen türlerinin temizlenmesi ile oluşan radikalleri stabilize edebildikleri için güçlü antioksidanlardır. Bu özelliklerini flavonoidlerin aroksil radikal türlerinde bulunan multipl mezomerik yapıların geniş kapsamlı elektron delokalizasyonuna borçludurlar [10]. Kuersetin ve kaemferol yüksek oranda etkili radikal temizleyicilerdir. Ancak sadece ku-



Şekil 1 Kuersetinin U2OS hücre dizisindeki antioksidan etkinliği DMSO (%0.1, vehikül) veya %10 FBS'li DMEM ortamında 50 μg kuersetin uygulanan U2OS hücrelerinde bazal ve Fe^{2+} askorbat ile indüklenen reaktif oksijen türlerinin (ROS) üretiminin zaman içindeki değişimi. 0'dan 10. dakikaya kadar olan ROS üretimi oksidasyona duyarlı 5,6-karboksi-2′7′-diklorofluoresein diasetat DCHF-DA (10 μM) probu kullanılarak DCF floresan olarak ölçülmüştür [88].

ersetin aroksil radikal bu flavonolu potent bir antioksidan yapmaya yetecek kadar yavaş bozulmaktadır [10]. Kuersetin farklı hücre dizilerindeki intraselüler radikal oksijen türlerini etkili bir biçimde temizleyebilme özelliğine sahiptir. Kuersetin şekil 1'de bahsi geçen örnekte oksidatif etkinin olup olmamasından bağımsız olarak ve hücre sağkalımına etki yapmaksızın (burada gösterilmemiştir) radikal oksijen türlerini temizleyebilme özelliğini korumuştur. Ancak diğer bölümlerde de tartışıldığı üzere molekülün biyolojik özellikleri ile antioksidan kapasitesi her zaman örtüşmemektedir [82]. Bu nedenle kuersetinin sadece antioksidan etkisine dayanan antikanser ve proapoptotik fonksiyonlarının dikkatle yorumlanması gerekmektedir. Antioksidan kapasitesi ile biyolojik etkileri arasındaki fonksiyonel linkin varlığının önemli bir göstergesi kuersetine yapısal ve fonksiyonel özellikleri benzer bileşiklerin paralel kullanımında (örn. mirisetin ve/veya (+) kateşin) kuersetin gibi radikal oksijen türlerini azalttıkları ancak aynı antikanser etkilere sahip olmadıklarının bulunmuş olması olabilir [82, 83].

Kuersetinin antioksidan potansiyelinin diğer polifenoller ile karşılaştırılması bir paradoksa neden olmaktadır: Molekülün radikal oksijen türlerini temizleme aktivitesi, hızlıca tiyollere karşı yüksek reaktivitesi olan ve protein fonksiyonlarının bozulmasına yol açabilen oksidatif ürünlere dönüşmesine neden olmaktadır. Bu nedenle kuersetinin sahip olduğu koruma gücünün net sonucu, toksik ürünlerinin neden olduğu hasar lehine paradoksik olarak bozulabilir. Kuersetin akciğer hücrelerin-



Şekil 2 İnsanda kuersetinin ve en önemli glikozidlerinin ve metabolitlerinin yapısı.

deki H_20_2 ile indüklenen DNA hasarına karşı etkili koruma sağlamaktadır. Ancak bu pozitif etki GSH düzeyinde azalma, LDH sızıntısında artma ve sistosolik içermeyen kalsiyum konsantrasyonları nedeniyle dengelenmektedir [9]. İlginç olan bir başka nokta da kuersetinin in vivo ortamda pratik olarak ulaşılması imkansız olan 100 μM konsantrasyonunda kullanımının birçok hücre dizisinde toksik etki göstermesidir. Aynı grup molekülün antioksidan olarak kullanımında kuersetin-kuinon (QQ) türlerinin oluştuğu da gösterilmiştir. QQ diğer semikuinon radikallere ve kuinonlara benzer şekilde akril protein tiyollerin oluşumuna yol açtığı için toksiktir. QQ'ya karşı korunma uygun konsantrasyonlarda bulunduğunda QQ'yu hızlıca tecrit eden GSH ile sağlanabilir [8]. Ancak QQ türlerinin potansiyel toksik etkileri henüz in vivo ortamda ispatlanmamıştır.

3 Kuersetinin Biyoyararlanımı ve Metabolizması

Kuersetinin in vivo antioksidan özellikleri absorpsiyon, metabolizma ve biyoyararlanımından etkilenir. Kuersetin gıdalarda farklı şekilde glikolize olmuş formlarda bulunur. Aglikon olarak bulunmaz (örn. şeker grupları yoktur; Şekil 2). Bu nedenle biyoyararlanımı çeşitli gıdalardaki glikozidlerin tipine bağlı olarak değişmektedir. Kuersetin absorpsiyondan sonra ince bağırsak, kolon, karaciğer ve böbrek gibi farklı organlarda metabolize olur. Molekül bu ortamda metil ve sulfat grupları ve glukuronik asit ile konjuge olarak

insanlardaki majör konjugatları oluşturur: 3O-metilkuersetin (izohamnetin), kuersetin-3-O-glukuronid, 3-O-metilkuersetin-3-O-glukronid, kuersetin-30-O-sulfat ve kuersetin glutatyon konjugat [42, 57, 104] (Şekil 2). Burada dikkate değer olan nokta farklı kuersetin glikozidlerinde bulunan şeker moleküllerinin antioksidan aktivitesini ciddi anlamda azaltabilmesidir. Bu nedenle gıdalarda hemen hiç bulunmayan aglikon genel olarak şeker molekülünün bağlandığı noktaya bağlı olarak glikozid formundan daha yüksek antioksidan etkiye sahiptir [68]. Ancak en azından sıçanlarda kuersetin uygulanmasından sonra alınan plazmanın bakır sulfat tarafından indüklenen lipid peroksidasyonuna daha dayanıklı olması, kuersetinin bazı konjuge metabolitlerinin plazma, metal iyon ile indüklenen lipid peroksidasyonuna maruz kaldığında efektif antioksidan etki gösterdiğinin güçlü bir göstergesidir [19]. Konjuge metabolitlerin antioksidan aktiviteleri in vitro ortamda da gözlenmiştir [79, 92]. Bunlardan bazıları tüm aglikona benzer şekilde ancak daha düşük seviyede proapoptotik fonksiyona sahiptir ([85] nolu referansta incelenmiştir). Kuersetinin absorpsiyonu insanlardaki kuersetin-3-rutinozidin muhtemelen yarısını fenil-C2-asitlerine metabolize eden bağırsak mikroflorasından da etkilenmektedir [75]. Örnek vermek gerekirse kuersetin-3-O-ramnoglukozid ve kuersetin-3-O-ramnozid insan enzimleri tarafından tanınmazlar. Bunlar farklı bakteri suşları tarafından kuersetine hidrolize edilirler [6, 90]. Ku-3-O-glukozidi metabolize edebilme gücüne sahip bakterilerin sayısının 10-109/g kuru kütle olduğu tahmin edilmektedir [91].

Diyetle alınan kuersetinin absorpsiyonunun ve metabolizmasının net sonucu olarak ulaşılan plazma konsantrasyonları nanomolar aralıktadır (<100 nM). Bu düzey takviye ile mikromolar konsantrasyonlara yükseltilebilir. Örnek olarak 1 g/gün kuersetin takviyesinin 28 gün boyunca kullanımı ile plazma konsantrasyonlarının 1.5 μM düzeyine yükselmesi verilebilir [15, 65]. Ancak serum total LDL düzeyleri, platelet agregasyonu, platelet tromboksan B2 üretimi, kan basıncı ve istirahat kalp atım sayısını da içeren trombojenik risk faktörleri üzerinde bir etki görülmemiştir [15]. Sağlıklı gönüllülerde yapılan daha güncel uluslararası bir çalışmada da benzer sonuçlar elde edilmiştir [26]. Bu bulgular, kuersetinin güçlü antioksidan etkisini tespit edildiği in vitro deneylerde ve hayvan çalışmalarında bulunan sonuçlar ile kontrast teşkil etmektedir [24, 29, 30, 64]. Bu da gıdalarda bulunan kuersetinin koruyucu etkilerinin molekülün sahip olduğu özelliklerin dışındaki faktörler ile kontrol edildiğini ya da yukarıda da bahsedildiği üzere kuersetinin antioksidan etkileri dışında farklı etkilere de sahip olabileceğini düşündürmektedir.

İki mükemmel analizde insanlarda kuersetin, kuersetin glikozidleri veya kuersetin ile zenginleştirilmiş gıda takviyeleri yapılan çalışmaların sonuçları incelenmiştir [65, 90]. 0.008-4 gr arası kuersetin alımı ile 0.14-7 μM maksimum plazma konsantrasyonları elde edilmiştir (Tablo 1). Basit bir şekilde izah etmek gerekirse, kızarmış soğanla birlikte verilen kuersetin takviyesi (64 mg aglikona eşit kuersetin glikozidleri) ile 0.8 μM tepe plazma konsantrasyonları elde edilir [46, 47]. Ayrıca 1500 mg günlük doz ile de 10 μM civarında konsantrasyonların elde edilebilir (molekülün in vitro ortamda görülen biyolojik etkilerinin ortaya çıkması için gereken konsantrasyon) [55]. Ancak Tablo 1'deki veriler maalesef bunun doğru olmadığını düşündürmektedir. Bireyler arasındaki farklılıklar sağlıklı gönüllülere uygulanan kuersetin takviyesi hakkındaki yayınlardaki tespit edilen sonuçların

Tablo 1 Kuersetin, kuersetin glikozidleri ve kuersetin içeren gıdaların insandaki biyoyararlanımları

Flavonol	Kaynak	Doz	Plazma konsantrasyonu (μM)	Referans
Kuersetin	Saf bileşik	4g	<0.33	[36]
Kuersetin	Saf bileşik	0.14 mg/kg (vücut ağırlığına göre)	0.15–0.42	[32]
Kuersetin	Saf bileşik	8–20–50mg	0.14–0.22–0.29	[27]
Kuersetin	Saf bileşik	50-100-150 mg günde iki kez	0.189–0.295–0.431	[26]
Kuersetin	Tam öğün	87 mg kuersetin eşdeğeri	0.37	[64]
Kuersetin	Soğan	186 mg kuersetin eşdeğeri	2.18	[3]
Kuersetin	Soğan	50 mg kuersetin eşdeğeri	0.83	[66]
Kuersetin	Soğan	64 mg kuersetin eşdeğeri	0.65	[48]
Kuersetin	Soğan	68 mg kuersetin eşdeğeri	0.74	[46,47]
Kuersetin	Soğan	100 mg kuersetin eşdeğeri	7.6	[33]
Kuersetin	Elma	107 mg kuersetin eşdeğeri	0.3	[46,47]
Kuersetin	Elma suyu	1.6 mg kuersetin eşdeğeri	0.14	[25]
Kuersetin	Karışık üzüm ve elma suyu	6.4mg	1.1	[108]
Kuersetin	Kara buğday çayı	200 mg kuersetin eşdeğeri	2.1	[33]
Kuersetin	Soğan, elma, karışık	100 mg kuersetin eşdeğeri	0.8–0.18–0.4	[57]
Kuersetin 3′ glukozid	Saf bileşik	156mg	5	[76]
Kuersetin 4′ glukozid	Saf bileşik	150mg	3.5	[45]
Kuersetin 4′ glukozid	Saf bileşik	160mg	4.5	[76]
Kuersetin 4′ glukozid	Saf bileşik	100 mg kuersetin eşdeğeri	7.0	[33]
Rutin	Saf bileşik	100 mg kuersetin eşdeğeri	0.3	[46,47]
Rutin	Saf bileşik	190mg	0.18	[45]
Rutin	Saf bileşik	500mg	0.13–0.73	[11]
Rutin	Saf bileşik	8-20-50 mg kuersetin eşdeğeri	6.5–7.4–7.5	[27]
Rutin	Saf bileşik	200 mg kuersetin eşdeğeri	1.1	[33]

[65,90] nolu referanslardan modifiye edilmiştir.

geniş bir aralığa yayılmış olmasının nedeni olabilir. Bu varyasyonlar kuersetin glikozidlerinin çeşitli gıdalardaki farklı biyoyararlanımlarından ve insan ve hayvan modellerindeki intestinal enzimlerdeki polimorfizmlerden kaynaklanıyor olabilir [65,90].

Kuersetin biyoyararlanımının artırılabilmesi amacıyla, nanopartikül alanındaki gelişmelerden yararlanarak hücre ve hayvan modellerindeki alımı artıran özgün stratejiler tanımlanmıştır. Nanotaşıyıcılar modern ilaçları, etkinlik, stabilite ve çözünürlüklerini artıracak şekilde modifiye ederken salınım düzeylerini de korumaktadır. Lipozomlara ve biyolojik olarak ayrışabilen polimerler kullanılarak geliştirilen nanoteknolojik ilaç salınım sistemleri, son yıllarda bilim adamlarının dikkatlerini giderek daha fazla çekmektedir. Kuersetinin sıçanlara solid lipid nanopartiküller halinde uygulanması ile kontrollere göre 5.71 kez artmış gastrointestinal absorpsiyon tespit edilmiştir [61]. Kuersetinin nanopartikül formunun etkinliğini "nanokemoprevensiyon" ve "nanokemoterapi" düzeyinde değerlendiren farklı yaklaşımlar son zamanlarda incelemelere konu olmuştur [59, 70, 85].

Sonuç olarak 150 mg/gün düzeyindeki düşük dozların plazma kuersetin konsantrasyonlarını anlamlı düzeyde artırdığı tespit edilmiştir. Çalışmalarda en sık kullanılan doz genel olarak ikiye bölünmüş 1000 mg/gün'dür [53, 104].

4 Kuersetinin Güvenliği

Son yıllarda kuersetinin güvenliği ile ilgili birkaç tane mükemmel inceleme yayınlanmıştır [42, 74]. Çalışmalar molekülün muhtemel in vivo toksisitesinin mevcut olmadığı veya belirsiz olduğu yönünde fikir birliği içindedir. Kuersetinin güvenli kullanımı ile ilgili uyarılar, molekülün Ames testinde çeşitli bakteri suşlarının in vitro mutajenezine pozitif reaksiyon verdiğinin gözlenmesi ile ortaya çıkmıştır. Ancak farklı hidroksil gruplarındaki metilasyon mutajenik aktiviteyi anlamlı olarak azaltmış veya sonlandırmıştır ([42] nolu referansta incelenmiştir). İn vivo genotoksisite çalışmalarında in vitro çalışmalarda gösterilen mutajenisite konfirme edilmemiştir. Fare veya sıçanlara oral uygulama ile mikroçekirdek formasyonu, kromozomal anormallikler, kardeş kromatid değişimleri veya DNA hasarında anlamlı değişimler oluşmamıştır ([42] nolu referansta incelenmiştir). Akut toksisite testlerinde intravenoz olarak 100-150 mg/kg uygulama yapılan tavşanlarda toksisite semptomlarına rastlanmamıştır [2]. Kuersetin ile yapılan subkronik ve kronik toksisite çalışmaları daha tartışmalıdır. Uluslararası Kanser Araştırma Ajansı (IARC) kuersetinin insanlarda karsinojenik olarak sınıflanamayacağı kararına 1999 yılında varmıştır [74]. Ulusal Toksikoloji Programı (NTP) tarafından gerçekleştirilen 2 yıl süreli çalışmada 2 g/kg ile beslenen erkek F344/N sıçanlarında (70 kg'lik bir insanın 728 gün boyunca 140 gr kuersetin kullanmasına eşdeğer) ciddi kronik nefropati, hiperplazi ve renal tübüler epitelde neoplazi tespit edilmiştir [73]. Bu çalışma metodolojik eleştirilere maruz kalmış ve bulgularının anlamlılık düzeyi netliğini kaybetmiştir [44, 51]. Aynı sıçan modelinde yapılan paralel çalışmalarda ise kuersetinin renal histopatolojik etkisi bulunamamıştır ([42] nolu referanstaki tablo 2). Ancak daha sonra yapılan bir çalışmada NTP çalışmasının orijinal bulguları konfirme edilmiştir [41]. 50 ila 500 mg/kg/gün dozlarında anlamlı advers olaylar bildirilmemiştir.

Çeşitli 2 evre (başlama-gelişme) karsinojenite çalışmalarında kuersetinin kimyasal yoldan indüklenen karsinojenez üzerindeki potansiyel etkisinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Geniş bir inceleme sonucunda elde edilen kanıtlar Harwood ve ark. tarafından yayınlanmıştır [42]. Kuersetinin kimyasal yoldan indüklenen organ spesifik karsinogenezi destekleyici etkisi ile ilgili verilerin kısmen istikrarlı olmadığı bildirilmiştir. Kuersetin birkaç vakada tümör büyütücü etki göstermiştir. Ancak çalışmaların büyük çoğunluğunda ise molekülün antikarsinogenik ve kemoprotektif etkileri desteklenmiştir.

Kuersetinin memeli üreme hücreleri ile ilişkili herhangi bir toksisitesinin bulunmamış olması molekülün üreme ve gelişme üzerinde herhangi bir negatif etkisi olma ihtimalini dışlamıştır. Bu bulgu çeşitli çalışmalar tarafından konfirme edilmiştir [42]. Molekülün erkek üreme ve doğurganlığında potansiyel antioksidan olarak kullanılıp kullanılamayacağı güncel bir tartışmanın konusudur. Yukarıda da tartışıldığı üzere, kuersetin testis bölgesinde kromozom aberasyonlarına yol açan serbest radikallerin temizlenmesinde gerçekten etkilidir. Diğer taraftan, kuersetin bu proses esnasında okside olmasını takip eden glutatyon tüketimi, sistosolik kalsiyum konsantrasyonlarında artış ve laktat dehidrogenaz (LDH) sızıntısı ile sperm mortalitesinde azalmaya yol açmaktadır. Güncel bir incelemede reproprodüktif disfonksiyonun oksidatif stres artışı ile birlikte mevcut olduğu vakalarda kuersetinin dikkatle kullanılması (kuersetinin hücresel toksisitesi uygun hücre ve hayvan modellerinde daha iyi araştırılana kadar) önerilmektedir [80].

İnsanlarda yapılan özgün faz I çalışması, 70 kg'lık bir bireyde yaklaşık 2.5 gr'a eşdeğer olan 1400 mg/m^2 dozunu (3 haftada veya haftada bir uygulanan intravenöz infüzyonlar) önermektedir [28]. 50 mg/kg'a kadar olan daha yüksek dozlarda (70 kg için yaklaşık 3.5 gr) nefrit veya obstrüktif üropati semptomları bulunmayan nefropati tespit edilmiştir. İnsanlarda advers olay görülen vakaların yokluğu, güvenlik sınırları içinde kalmak ve meyve, sebzeden zengin diyetlerdeki tüketim miktarı (200-500 mg/gün) ile benzer olmak kaydıyla kuersetinin gıdalara takviye olarak eklenmesini teşvik etmektedir.

5 Kuersetin ve Kanser

PubMed (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed) taraması ile kuersetinin kanser tedavisinde etkili olabileceğini destekleyen oldukça çok sayıda güncel incelemeye ulaşmak mümkündür. İncelemelerde kuersetinin belirli onkogenlerin aşağı regülasyonu veya tümör baskılayıcı genlerin yukarı regülasyonu ile kanser hücrelerinin eliminasyonunu sağlayan belirli yolakların güçlenmesini sağlayarak kanser hücrelerinin ölümünü veya tecridini indüklediği (normal hücrelerde böyle bir etki görülmez) tanımlanmaktadır. Güncel bir çalışmada kuersetinin farklı biyolojik aktivitelerinin (antioksidan, antienflamatuar, antiproliferatif, proapoptotik ve antianjiogenik) karsinogenezin başlangıcından, invazyon ve metastaza kadar olan tüm evrelerinde nasıl etki gösterdiğini inceledik. Molekülün Hanahan ve Weinberg tarafından yayınlanan "kanserin ana özellikleri" [39, 40] adlı önemli

çalışmada tanımlanan farklı hedefler ile etkileşime girebilme yeteneği, kanser hücrelerine karşı sinerjistik etki sağlayan hücre büyümesindeki pleiotropik etkisini desteklemektedir. Kuersetinin antiproliferatif ve büyüme baskılayıcı etkileri, senesans ve telomeraz inhibisyonunu indüklemesi, hücre ölümü ve otofajiyi indüklemesi, antianjiogenik aktivitesi, immun imhayı aktive etmesi ve kanserin diğer önemli özellikleri üzerindeki etkileri ile ilgili literatürler farklı çalışmalarda incelenmiştir [85]. Biz bu bölümde molekülün, kanser hücrelerinde regülasyonu ve ekspresyonu sıklıkla değişime uğrayan hücre büyüme kontrolünde rol oynayan çeşitli kinazları bağlama ve inhibe etme yeteneğin odaklanacağız.

5.1 Kuersetinin Protein Kinaz İnhibitör Etkisi

1980'lerin ilk yıllarında kuersetinin hem tirozin [17, 31] hem de serin-tireonin [14] kinazı inhibe ettiğinin gösterilmesinden sonra, molekül nonspesifik protein kinaz inhibitörü olarak kabul edilmektedir. Zaman içinde biriken veriler molekülün inhibe ettiği hedeflerin çoğunun hücre büyümesinde rol oynayan kinazlar olduğunu göstermiştir. Bu bulgu kuersetinin multipl hedefler üzerinde pleiotropik etki göstererek kanser hücrelerinin proliferasyonunu inhibe ettiği konseptini doğurmuştur. Ancak kuersetinin inhibe ettiği kinazlara direkt olarak bağlandığı, sadece büyüme supresyonundan sorumlu mekanizma üzerindeki neden-sonuç ilişkisi ile bağlantılı birkaç çalışma tarafından gösterilebilmiştir. Kuersetinin Akt/PKB'yi direkt olarak hedeflemeden, çeşitli kanser dizilerindeki proliferasyonu inhibe ederek ve apoptozu indükleyerek Akt/PKB'ye bağımlı yolakları etkilemesi örnek olarak verilebilir [34, 37, 54, 96, 97, 99]. PI_3K-Akt/ PKB yolaklarının memelilerdeki hücre sağkalım sinyallerinde kritik rol oynadığı ve çeşitli kanserlerde aktive oldukları gösterilmiştir [1, 21]. Bu bağlamda kuersetinin moleküler hedefi Akt/PKB'nin yukarı yönünde lokalize olmuştur. PI_3Kγ'nın X-ışını kristalografik yapısının kuersetine bağlı olması, molekülün 0.28 μM'lik bir Kd değeri ile ATP-bağlanma bölgesine bağlandığını göstermektedir. Bu değer mirisetinden hafifçe yüksektir (0.17 μM) [49, 105]. Bu yapısal bulgunun biyolojik verilerle konfirme edilmiş olması, kuersetinin PI3K'ye direkt bağlanmasının tüm PI3K-Akt yolak sinyallerini, AP-1 ve NF-κB aktivasyonunu da içerecek şekilde inhibe ettiğinin göstergesidir [37, 49, 50]. Kuersetin ilginç biçimde protein kinaz CK2'nin de direkt inhibitörüdür. Yüksek oranda korunan bir serin/treonin kinaz olan bu enzim araştırılan tüm ökaryotlara yaygın olarak dağılmış olup, hücre siklusu, proliferasyon, apoptoz ve transformasyonu kontrol eden çeşitli intraselüler yolaklarda rol oynamaktadır [67, 87]. Güncel bulgular CK2'nin antiapoptotik etkisinin kısmen, Akt/PKB yolağına direkt bağlanan CK2 alt üniteleri ile Akt/PKB'nin yukarı regüle olması ve/veya Akt/PKB'deki Ser129'u hiperfosforile etmesinden kaynaklandığını göstermektedir [22, 78]. Ayrıca CK2, Akt/PKB'yi fosforilasyon ve tümör baskılayıcı PTEN'in, PTEN C terminalinde bulunan Ser/Thr kalıntıları tarafından inaktivasyonu ile indirekt olarak aktive eder [103]. Kuersetin tarafından inhibe edilen doğal ve rekombine CK2'nin IC_{50} aralığı 0.50 ila 1 μM arasındadır [60, 61, 63, 89]. İki bağımsız kinaz olan ve Akt/PKB aracılığı ile yönlendirilen proliferatif sinyal ile birleşen CK2 ve PI3K'nın, kuersetin tarafından molekülün büyüme kontrolündeki pleiotropik aktivitesini destekler biçimde inhibe edilmesi de dikkat çekicidir.

Yapısal çalışmalarda kuersetinin Raf-1 ve MEK-1'e direkt olarak bağlanabildiği gösterilmiştir. MEK-1 kinaz aktivitesini Raf-1'e göre daha güçlü inhibe eder [56, 58]. Kuersetinin MEK-1'in ATP-bağlanma bölgesine bitişik farklı bir cebe bağlandığı düşünülmektedir [49]. Bu etkileşim TPA ile indüklenen ERK ve $p90^{RSK}$ fosforilasyonunun inhibisyonuna ve AP-1 ve NF-κB aktivasyonuna yol açar. Kuersetinin iyi bilinen farmakolojik MEK-1 inhibitörü olan PD098059 göre daha güçlü inhibitör etki göstermesi ilginçtir. Resveratrol ne MEK-1 ne de Raf-1 kinaz aktivitesini etkilemez [49, 56, 58].

Kuersetin Hck tirozin kinazın yüksek kaliteli kırılma spektrumlarının elde edilmesinde kullanılmaktadır. Bu enzim büyük Src tirozin kinaz ailesine aittir. Bu nonreseptör tirozin kinazlar tümör hücre proliferasyonu, sağkalım ve metastazında rol oynamaktadırlar [109]. Src ailesinin hücresel ekspresyon, lokalizasyon ve fonksiyonlarında farklılıklar olan dokuz üyesi vardır. Hck stimüle olmamış B hücre reseptörüne bağlanır. Miyeloid lösemi hücre dizilerindeki preklinik çalışmalarda BCR-ABL ile etkileşimi transformasyon sinyali için önemli bulunmuştur [62]. Hem BCR-ABL hem de Src ailesinin kinazları, imatinibe dirençli veya imatinibi tolere edemeyen kronik myeloid löseminin tedavisinde onaylı tek ilaç olan dasatinib tarafından hedeflenirler [56, 58]. Kuersetin Hck aktive bölgesine bağlanır [93]. Ancak bu bağlantının biyolojik sonuçları bilinmemektedir.

IKKβ ve IKKβb NF-κB aktivasyonunda rol oynayan iki kinazdır. Proliferatif stimülasyonu takiben N-terminal bölgesindeki serin kalıntılarında bulunan IκB proteinlerini (IκBα ve IκBβ) fosforillerler. Fosforile IκBα ve IκBβ devamında NF-κB'nin salınımı ile ubikutin eklenerek degrade olurlar. NF-κB daha sonra çekirdeğe transloke olarak hedef genlerin transkripsiyonlarını regüle eder [23]. NF-κB kanser gelişiminde rol oynadığı için IKKα ve IKKβ gibi pozitif regülatörlerinin inhibisyonu antikanser aktiviteye yol açabilir. Kuersetinin TNF ile indüklenen NF-κB aktivasyonunu baskıladığı bildirilmiştir; ancak sinyal kaskadındaki moleküler hedefi tanımlanamamıştır [71]. Kuersetinin IKKα ve IKKβ'yi sırasıyla 11 ve 4 μM'lik belirgin IC_{50} değerleri ile inhibe ettiği daha sonra bildirilmiştir [77]. Kuersetinin ATP'nin yarışmali inhibitörü gibi davrandığı kesindir. Ancak molekülün, hem IKKα hem de IKKβ'nin Vmax değerlerini anlamlı olarak azaltıp, belirgin K_m'yi de azaltması karma bir mekanizmanın varlığına işarettir. Aslında IKKα ve IKKβ'nin kuersetin tarafından inhibe edilmesi IκBα substratının miktarının artması ile korunur. Bu durum kuersetinin bağlanma yerlerinin hem ATP hem de IκBα bağlanma bölgeleri ile çakışabileceğini düşündürmektedir [77].

Daha yakın zamanda, kuersetinin ve luteolin ve apigenin gibi flavonoidlerin GSK-3β'yi inhibe ettiği bildirilmiştir. Metabolizma, hücre siklusu, gen ekspresyonu, gelişim, onkojenez, nöroproteksiyon gibi farklı fizyolojik yolaklarda önemli rol oynayan bu enzim multifonksiyonel bir serin treonin kinazdır [81]. GSK-3β pankreas kanseri hücrelerinin çekirdeklerinde aşırı eksprese olarak NF-κB aktivitesini stimüle eder ve enflamatuar cevap kaskadını aktive eder. Rekombinan enzim kullanılarak yapılan in vitro deneylerde kuersetin için yaklaşık 2 μM'lik IC_{50} değeri tespit edilmiş ve molekülün GSK-3β'nin ATP bağlanma bölgesine bağlandığı (moleküler bağdaştırma bilgisayar programı ile) tahmin edilmiştir [52].

Güncel ve ilginç bir taramada kuersetinin çeşitli kinaz gruplarında spesifik inhibitör etkileri olduğu tespit edilmiştir [7]. Geniş bir insan kinomu içeren 256 farklı rekombinan kinaz panelinin kullanıldığı bu çalışmada kuersetinin bu enzimlerin aktivitesini in vitro deneylerde direkt olarak inhibe edebilme yeteneği test edilmiştir. Kuersetin yaklaşık 100 kinazın aktivitesini 30 μM konsantrasyonunda %95 azaltmıştır. Bu birçok hücre dizisi için hesaplanan ortalama IC_{50} değerine çok yakındır [7, 55]. Kuersetinin 2 μM'de ~15 kinazın aktivitesini %95'den fazla, setteki diğer ~ 50 kinazın aktivitesini de %80-95 arasında azaltığının bulunmuş olması, bu kinazların kuersetinin spesifik hedefleri olabileceğini göstermiştir. 2 μM kuersetine maruz bırakıldıktan sonra hemen hiç aktivitesi kalmayan kinazlar Cdc2-benzeri kinaz 1 (CLK1), insülin reseptörleri (INSR-R) ve kas spesifik kinazdır (MUSK) [7]. İnsanda dendrogram ile ilişkili kinomda kuersetin tarafından hedeflenen kinazlar arasında şunların bulunması dikkate değer bir konudur: Tirozin kinaz (TK), tirozin kinaz benzeri kinazlar (TKL), serin/treonin tirozin kinazlar (STE), kazein kinazlar (CK1), cAMP'a bağımlı protein kinazlar (AGC), kalsiyum/kalmodulin protein kinaz II kinazlar (CAMK), ile sikline bağımlı kinaz (CDK), mitojen aktive protein kinaz (MAPK), glikojen sentaz kinaz (GSK), ve CDK benzeri kinaz gruplarını da içeren CMGC alt sınıfı [7]. Bu ilginç sonuçlara rağmen, güncel araştırmalar bazı soruları hala cevaplayamamıştır: (1) Test edilen kinaz paneli içinde yer aldıkları halde, kuersetinin düşük konsantrasyonları ile (2 μM) inhibe edilen 15 protein kinaz arasında PI_3K, Hck, CK2 ve MEK-1 olmaması düşük bir ihtimaldir; (2) Ölçülen inhibitör etkiler doğal kinazlarla yapılan hücresel modeller ile konfirme edilmeli ve hücre büyümesinin denetiminin bozulması veya diğer biyolojik etkilerle olan ilişkileri tespit edilmelidir.

Cohen grubu da 2000 yılında benzer bir yaklaşımı kullanmıştır [20]. Çalışmalarında doku saflaştırılması ile elde edilen veya prokaryotik ya da ökaryotik sistemlerde eksprese edilen 34 kinazdan oluşan bir paneli kullanarak yaptıkları çalışmada, in vitro 20 μM konsantrasyondaki kuersetinin şu kinazların enzimatik aktivitesini %30'dan daha az inhibe ettiklerini tespit etmişlerdir: MAPKAP-K1b ($p90^{RSK}$ olarak da bilinir < %20); S6K1 (< %25); GSK-3β (< %30); AMPK (< %16); CK2 (< %19); PI_3K (< %18).

Cohen grubu tarafından gösterilen kuersetinin GSK-3β, CK2 ve PI_3K'yı inhibe edici aktivitesi daha sonra yukarıda bahsedilen bağımsız çalışmaların sonuçları ile de konfirme edilmiştir.

6 Sonuçlar: Pleiotropi ile Sinerji Karşılaştırması

"Pleiotropik" ve "sinerjistik" sözcükleri biyolojik olarak aktif moleküllerle ilgili kullanıldığında çelişkili yorumlara yol açabilir. Bu bölümde optimal intraselüler konsantrasyonlardaki kuersetinin, kanser hücrelerinin büyümelerini transkripsiyonel ve/veya posttranslasyonel olaylar sonucunda hiperaktive olarak desteklediği bilinen multipl kinazları tetikleyebilmesi ile ilgili kanıtları inceledik. Pleiotropinin anlamı kuersetinin hedef hücrelere ulaştıktan sonra bir veya daha fazla yolakta rol oynayan faktörlere bağlanabilme ve etkileşime girebilme yeteneği ile aynı hücresel proseslerde (örn. apoptoz,

Tablo 2 Kuersetin tarafından direkt olarak hedeflenen hücresel kinazlar

Hedefler	Bağlanma Bölgesi	Konsantrasyon	Hücresel etkiler	Referans
MEK-1	Aktivasyon döngüsü	1–2 μM	Apoptoz	[49,56,58]
			Hücre döngüsü	
			Büyüme durması	
PI_3Ky	ATP-bağlanma bölgesi	3.8 μM	Apoptoz	[105]
			Hücre döngüsü	
			Büyüme durması	
IKK α/β	ATP- ve İκBα-bağlanma bölgeleri	IC_{50} 11 μM (α) IC_{50} 11 μM (β)	Apoptoz	[77]
Hck (Src tyr kinaz ailesi)	ATP-bağlanma bölgesi	2 μM	Apoptoz	[93]
			Hücre döngösü	
			Büyüme durması	
CK2	ATP-bağlanma bölgesi	IC_{50} = 0.92 μM	Apoptoz	[89]
	Yarışmalı inhibitör	Ki = 1.18 μM		
GSK-3β	ATP-bağlanma bölgesi	IC_{50} = 0.92 μM		

[85] nolu referanstan uyarlanmıştır.

hücre döngüsü durması, otofaji) rol oynamasıdır. Kuersetinin etkileri için güzel bir örnek olarak PI_3K-Akt/PKB-NF-κB sinyal dönüştürücü yolağı ile olan etkileşimi verilebilir. Her ikisi de Akt/PKB ile birleşen CK2 ve PI_3K'nın paralel ve eş zamanlı inhibisyonu, Akt/PKB'nin CK2/PI_3K fosforilasyonu ile hiperaktivasyonu inhibe olduğu için yolağın devre dışı kalmasına neden olabilir. IKKα/IKKβ kinazlarının eş zamanlı olarak kuersetin tarafından inhibe edilmesi, NF-κB'nin nükleer translokasyonu ve aktivasyonu bloke olduğu için yolağın inhibisyonunu güçlendirir. Bu durum pleiotropik ve sinerjistik etkilerin eşleşerek kuersetinin antiproliferatif etkilerini güçlendirmelerine bir örnektir. Ancak pozitif etkinin oluşabilmesi için belirli şartlar gerekmektedir; (1) Kuersetinin intraselüler konsantrasyonu hedef yolaklarda rol oynayan tüm kinazları inhibe etmeye yetecek kadar yüksek olmalıdır. Çünkü Tablo 2'de gösterildiği üzere farklı enzimlerin Ki ve IC_{50} değerleri birbirinden anlamlı düzeyde farklıdır; (2) Kanser hücrelerindeki hedef yolaklar aşırı aktive olmalı, ancak normal hücrelerdeki yolaklar da normal kalmalıdır; (3) Hedef kinaz hücre proliferasyonu veya hücre ölümü gibi antagonist süreçleri regüle etmemelidir. Birinci şartı yerine getirebilmek için aglikon kuersetinin belirli intraselüler mikromolar konsantrasyonlarda olması gerekmektedir. Bu hedefe flavonoidin diyetle alımı ile ulaşmak iki nedenden dolayı neredeyse imkansızdır: Aglikonun serumdaki biyoyararlanımının sınırlı olması ya da hiç olmaması. Gerçekten de oral uygulamadan sonra kanda ölçülen "total" kuersetinin hemen hemen tamamı metabolitlerinden oluşmaktadır [57, 65, 90]. Ancak fibroblastları inceleyen bir çalışmada kuersetinin O-metile

konjugatlarının hücrelerde serbest aglikona dönüşebileceğinin bulunmuş olması ilginçtir [96, 97, 102]. Bundan dolayı düşük biyoyararlanım engelinin doz artırımı ile aşılabileceği aşikardır. Gerçekten de hayvan modellerinde 2 hafta süre ile 45-47 mg/gün kuersetin uygulanması ile 60 μM düzeyinde plazma konsantrasyonları elde edilmiştir [94]. Ancak hayvan modellerindeki kuersetin takviyesi insanlardaki takviye ile kıyaslanırken dikkatli olunmalıdır. Farklı doku ekspresyonları ve genetik polimorfizmler nedeniyle metabolize edici enzimlerin aktiviteleri memeli türleri arasında büyük farklılıklar gösterebilir [90]. Alternatif olarak, dolaşımdaki serbest kuersetin konsantrasyonları (kanser hastalarının 200-400 μM gibi akut serum düzeylerini iyi tolere ettikleri göz önüne alındığında) intravenöz uygulama ile de yükseltilebilir [28]. Bu ihtimal, diğer kemopreventif uygulamalardan farklı olarak molekülün terapötik kullanımını sağlayabilir.

Kuersetinin kanser hücrelerinin büyümelerinin inhibisyonunda rol oynayan pleiotropik inhibitör olarak kullanılabilmesi için gereken diğer şart molekülün malign fenotipe spesifik (normal hücrelerin aksine) olması gerekliliğidir (yukarıda listelenen B maddesi). Bu konuyla ilgili olarak farklı yazarların ilginç yorumları olmuştur. Kuersetini hormetik doğasından dolayı molekülü iki ucu keskin kılıç olarak tanımlamışlardır. Bu durum normal hücre ve dokularda düşük konsantrasyonlarda bulunduğunda hücreleri reaktif oksijen türlerinden koruyan bir antioksidan etkisi yaparken, 30-50 μM'den daha yüksek konsantrasyonlarda ise bir prooksidan haline dönüşüp apoptoz ve diğer savunma süreçlerini aktive ederek kanser hücrelerini öldüren reaktif oksijen türlerinin üretimine yol açmasından kaynaklanmaktadır [9, 104]. Kulağa hoş gelen bu hipotezin geniş çaplı deneysel değerlendirmelere ihtiyacı vardır ve çeşitli eleştirilere açık bir konudur. Kuersetinin intraselüler konsantrasyonlarını artırmanın belirgin bir dezavantajı sadece kanser hücrelerindeki değil, normal dokulardaki prooksidan reaksiyonunda da artışa yol açma ve yan etkiler oluşturma ihtimalidir. Bu yan etkiler dikkatle takip edilmeli ve kemoprevensiyon uygulamalarından farklı olarak molekülün faydaları ile toksik yan etkilerinin dengelendiği terapötik protokoller oluşturulmalıdır Molekülün hormetik özelliği ile ilgili olarak da toksikolojiden alınan ve kullanıldığı bilimsel platforma göre farklı anlamlar taşıyabilen bu terimin dikkatle kullanılmasını öneriyoruz [12, 13, 101]. Kısa süre önce kuersetinin HeLa hücrelerindeki hormetik klasik U şekilli eğrisini yayınladık. Eğride molekül düşük konsantrasyonlarda (0.5 μM) uygulandığında hücre büyümesinde görülen anlamlı artış, in vivo ortamda kuersetin ile zenginleştirilmiş gıdaların verilmesi ile görülen artış ile benzer düzeydedir [95]. Bu nedenlerden dolayı kuersetinin takviye veya fonksiyonel gıda olarak kullanımının, potansiyel faydalarının zarara dönüşebilme ihtimali (prekanseröz hücrelerin molekülün hormetik etkilerine duyarlı olması durumunda) nedeniyle dikkatle değerlendirilmesi gerekir. Ayrıca bizim ve diğer bazı yazarların da bildirildiği üzere (Şekil 1 ve [83, 84]) mikromolar kuersetin konsantrasyonları (hücre sağkalımı etkilenmeden) reaktif oksijen türlerinin düzeylerini azaltarak antioksidan etkiyi devam ettirmektedir. Bu bulgu molekülün kanser hücrelerinde spesifik prooksidan etki gösterebileceği hipotezi ile çelişiyor görünmektedir.

Son olarak da kuersetin tarafından hedeflenen kinazların, sinerjistik etkilerini destekleyen antagonist prosesleri regüle etmemeleri gerekmektedir (yukarıda listelenen

madde 3). MAP kinaz bu konu ile ilişkili iyi bir örnektir. RAS-RAFMEK-MAPK yolağı insanlarda görülen kanserlerde sıklıkla deregüle olur. Bunun nedeni yolağın komponentlerindeki genetik değişimler ya da hücre yüzey reseptörlerinin yukarı yönlü aktivasyonudur. Bu da bu sinyal kaskadlarının komponentlerini terapötik girişimler için ilginç hedefler haline getirmektedir [1, 21]. Yukarıda da bahsedildiği üzere, kuersetin MEK-1 ile etkileşime girerek bağlanır. Bu bağlantı her ikisi de MEK/ERK sinyalinin aktivasyonunda rol oynayan epidermal büyüme faktörü veya H-Ras ile indüklenen JB66 P+ hücre transformasyonunun doza bağlı supresyonuna yol açar [56, 58]. Lösemik hücre dizilerinde ve kronik lenfositik lösemi hastalarından izole edilen B hücrelerindeki antiapoptotik faktör Mcl-1'in kuersetin tarafından Mcl-1 instabilitesine yol açan MEK/MAPK sinyal yolaklarının inhibisyonu ile aşağı regüle edildiğini de göstermiştik. Bu veriler kuersetinin apoptopik etkisinin beklendiği üzere MEK/MAPK yolağının inaktivasyonuna bağlı olduğunu göstermektedir. Diğer bazı araştırmacılar karşıt etkiler bildirmişlerdir: (1) A549 akciğer kanseri hücrelerinde kuersetin ile indüklenen apoptoz için MEK/MAPK aktivasyonu gereklidir ;(2) Kuersetin sıcak şoku uygulanan hepatom H4 hücrelerinde MAPK'yı anlamlı olarak stimüle ederek hücre sağkalımını azaltmış ve DNA fragmantasyonunu indüklemiştir; (3) Kuersetinin oksidatif strese karşı hepatoprotektif etkisi için gereken metalotionein ekspresyonunu indüklemesi, MAPK'nin aktivite edilmesi ve Nrf2 DNA bağlayıcı aktivitenin güçlendirilmesi ile ortaya çıkmaktadır; (4) İnsan hepatositlerinin etanole bağlı oksidatif strese karşı korunması MAPK/Nrf2 yolaklarına bağlı olarak HO-1 indüksiyonu ile gerçekleşmektedir [107]. Özet olarak kuersetinin MEK/MAPK yolağını aktive edip etmediği konusu bir paradoks haline dönüşmüştür. Bu olayların yanlış hücre dizisinde veya hücre fizyolojisinin uygun olmayan zaman-mekan penceresinde gerçekleşmesi ile elde edilen sonuçlar beklenen sonuçlardan farklı olabilir. Örnek olarak kuersetinin prekanseröz bir hücredeki MAPK aktivitesini stress hasarına karşı korumak amacıyla artırması proliferatif stimülasyonun güçlenmesine neden olması verilebilir. Kuersetinin etkileri ile ilişkili bir başka kompleks problem de kuersetinin tek başına veya diğer ilaçlarla veya ölüm ligandları (DL; anti-CD95; rekombinan TRAIL) ile birlikte uygulanması ile kanser kinazlarının spesifik izoformları üzerinde ortaya çıkabilecek etkileri ile ilgilidir. Aslında kuersetinin PKCα aktivitesini hafifçe azalttığını demonstre etmiştik. Ancak anti-CD95 ile birlikte uygulamada tespit edilen PKCα aktivitesi kuersetinin tek başına uygulanmasına göre 12 kat artmıştır [83]. Bu örnek kuersetinin aynı hücre dizisindeki aynı kinazı hem aktive hem de inhibe edebileceğini (direkt ve/veya indirekt olarak) göstermektedir. Etkinin türü uygulanan stimülasyona ve/veya malign hücrenin fizyolojik durumuna bağlıdır.

Bu bölümde kanser gibi dejeneratif hastalıklarla ilgili patolojileri düzeltebilme ile ilgili multipl özelliklere sahip olan kuersetinin avantaj ve dezavantajlarını inceledik. Bu bölümde tartışılan kuersetin ile ilgili birçok paradoksun kolaylıkla potansiyel antikanser aktivitesi olan birçok doğal bileşik için de geçerli olabileceği söylenebilir. Molekülün antioksidan veya kinaz inhibitörü olarak in vivo ortamdaki etkisi ile ilgili hala çok fazla bilinmeyen mevcuttur. Bu durum kuersetinin (ve diğer fitokimyasalların) fonksiyonel olarak pleiotropik olabileceği ihtimalini kabul etmenin önünde bir engeldir. Çünkü bu

ihtimal klinik veriler ile korelasyon içinde olmalıdır. Maalesef kanser tedavisinde kuersetinin monoterapide veya diğer kemoterapötik ajanlar ile kombinasyon halinde kullanıldığı klinik çalışmalar henüz mevcut değildir ([85] nolu referanstaki Tablo 3). Bu tür bilgilerin olmaması birçok biyoaktif fitokimyasalın klinikteki potansiyel kullanımlarının önünde bir engel olarak durmaktadır. Bu nedenle kuersetinin adjuvan kanser tedavisindeki olası kullanımı ile ilgili çalışmalara acil olarak ihtiyaç vardır.

Referanslar

1. Aksamitiene E, Kiyatkin A, Kholodenko BN (2012) Cross-talk between mitogenic Ras/MAPK and survival PI3K/Akt pathways: a fine balance. Biochem Soc Trans 40:139–146
2. Ambrose AM, Robbins DJ, Deeds F (1952) Comparative toxicities of quercetin and quercitrin. J Am Pharm Assoc 41:119–122
3. Aziz AA, Edwards CA, Lean ME, Crozier A (1998) Absorption and excretion of conjugated flavonols, including quercetin-4′-O-beta-glucoside and isorhamnetin-4′-O-beta-glucoside by human volunteers after the consumption of onions. Free Radic Res 29:257–269
4. Bischoff SC (2008) Quercetin: potentials in the prevention and therapy of disease. Curr Opin Clin Nutr Metab Care 11:733–740
5. Boffetta P, Couto E, Wichmann J, Ferrari P, Trichopoulos D, Bueno-de-Mesquita HB, van Duijnhoven FJ, Buchner FL, Key T, Boeing H, Nothlings U, Linseisen J, Gonzalez CA, Overvad K, Nielsen MR, Tjonneland A, Olsen A, Clavel-Chapelon F, Boutron-Ruault MC, Morois S, Lagiou P, Naska A, Benetou V, Kaaks R, Rohrmann S, Panico S, Sieri S, Vineis P, Palli D, van Gils CH, Peeters PH, Lund E, Brustad M, Engeset D, Huerta JM, Rodriguez L, Sanchez MJ, Dorronsoro M, Barricarte A, Hallmans G, Johansson I, Manjer J, Sonestedt E, Allen NE, Bingham S, Khaw KT, Slimani N, Jenab M, Mouw T, Norat T, Riboli E, Trichopoulou A (2010) Fruit and vegetable intake and overall cancer risk in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC). J Natl Cancer Inst 102:529–537
6. Bokkenheuser VD, Shackleton CH, Winter J (1987) Hydrolysis of dietary flavonoid glycosides by strains of intestinal Bacteroides from humans. Biochem J 248:953–956
7. Boly R, Gras T, Lamkami T, Guissou P, Serteyn D, Kiss R, Dubois J (2011) Quercetin inhibits a large panel of kinases implicated in cancer cell biology. Int J Oncol 38:833–842
8. Boots AW, Haenen GR, Bast A (2008) Health effects of quercetin: from antioxidant to nutraceutical. Eur J Pharmacol 585:325–337
9. Boots AW, Li H, Schins RP, Duffin R, Heemskerk JW, Bast A, Haenen GR (2007) The quercetin paradox. Toxicol Appl Pharmacol 222:89–96
10. Bors W, Heller W, Michel C, Saran M (1990) Flavonoids as antioxidants: determination of radical-scavenging efficiencies. Methods Enzymol 186:343–355
11. Boyle SP, Dobson VL, Duthie SJ, Hinselwood DC, Kyle JA, Collins AR (2000) Bioavailability and efficiency of rutin as an antioxidant: a human supplementation study. Eur J Clin Nutr 54:774–782
12. Calabrese EJ (2010) Hormesis is central to toxicology, pharmacology and risk assessment. Hum Exp Toxicol 29:249–261
13. Calabrese EJ, Blain RB (2011) The hormesis database: the occurrence of hormetic dose responses in the toxicological literature. Regul Toxicol Pharmacol 61:73–81
14. Cochet C, Feige JJ, Pirollet F, Keramidas M, Chambaz EM (1982) Selective inhibition of a cyclic nucleotide independent protein kinase (G type casein kinase) by quercetin and related polyphenols. Biochem Pharmacol 31:1357–1361
15. Conquer JA, Maiani G, Azzini E, Raguzzini A, Holub BJ (1998) Supplementation with quercetin markedly increases plasma quercetin concentration without effect on selected risk factors for heart disease in healthy subjects. J Nutr 128:593–597

16. Crowe FL, Roddam AW, Key TJ, Appleby PN, Overvad K, Jakobsen MU, Tjonneland A, Hansen L, Boeing H, Weikert C, Linseisen J, Kaaks R, Trichopoulou A, Misirli G, Lagiou P, Sacerdote C, Pala V, Palli D, Tumino R, Panico S, Bueno-de-Mesquita HB, Boer J, van Gils CH, Beulens JW, Barricarte A, Rodriguez L, Larranaga N, Sanchez MJ, Tormo MJ, Buckland G, Lund E, Hedblad B, Melander O, Jansson JH, Wennberg P, Wareham NJ, Slimani N, Romieu I, Jenab M, Danesh J, Gallo V, Norat T, Riboli E (2011) Fruit and vegetable intake and mortality from ischaemic heart disease: results from the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC)-Heart study. Eur Heart J 32:1235–1243
17. Cunningham BD, Threadgill MD, Groundwater PW, Dale IL, Hickman JA (1992) Synthesis and biological evaluation of a series of flavones designed as inhibitors of protein tyrosine kinases. Anticancer Drug Des 7:365–384
18. D'Incalci M, Steward WP, Gescher AJ (2005) Use of cancer chemopreventive phytochemicals as antineoplastic agents. Lancet Oncol 6:899–904
19. da Silva EL, Piskula MK, Yamamoto N, Moon JH, Terao J (1998) Quercetin metabolites inhibit copper ion-induced lipid peroxidation in rat plasma. FEBS Lett 430:405–408
20. Davies SP, Reddy H, Caivano M, Cohen P (2000) Specificity and mechanism of action of some commonly used protein kinase inhibitors. Biochem J 351:95–105
21. De Luca A, Maiello MR, D'Alessio A, Pergameno M, Normanno N (2012) The RAS/RAF/MEK/ERK and the PI3K/AKT signalling pathways: role in cancer pathogenesis and implications for therapeutic approaches. Expert Opin Ther Targets 16(Suppl 2):S17–S27
22. Di Maira G, Salvi M, Arrigoni G, Marin O, Sarno S, Brustolon F, Pinna LA, Ruzzene M (2005) Protein kinase CK2 phosphorylates and upregulates Akt/PKB. Cell Death Differ 12:668–677
23. DiDonato JA, Mercurio F, Karin M (2012) NF-kappaB and the link between inflammation and cancer. Immunol Rev 246:379–400
24. Duarte J, Perez-Palencia R, Vargas F, Ocete MA, Perez-Vizcaino F, Zarzuelo A, Tamargo J (2001) Antihypertensive effects of the flavonoid quercetin in spontaneously hypertensive rats. Br J Pharmacol 133:117–124
25. DuPont MS, Bennett RN, Mellon FA, Williamson G (2002) Polyphenols from alcoholic apple cider are absorbed, metabolized and excreted by humans. J Nutr 132:172–175
26. Egert S, Wolffram S, Bosy-Westphal A, Boesch-Saadatmandi C, Wagner AE, Frank J, Rimbach G, Mueller MJ (2008) Daily quercetin supplementation dose-dependently increases plasma quercetin concentrations in healthy humans. J Nutr 138:1615–1621
27. Erlund I, Kosonen T, Alfthan G, Maenpaa J, Perttunen K, Kenraali J, Parantainen J, Aro A (2000) Pharmacokinetics of quercetin from quercetin aglycone and rutin in healthy volunteers. Eur J Clin Pharmacol 56:545–553
28. Ferry DR, Smith A, Malkhandi J, Fyfe DW, deTakats PG, Anderson D, Baker J, Kerr DJ (1996) Phase I clinical trial of the flavonoid quercetin: pharmacokinetics and evidence for in vivo tyrosine kinase inhibition. Clin Cancer Res 2:659–668
29. Filipe P, Haigle J, Silva JN, Freitas J, Fernandes A, Maziere JC, Maziere C, Santus R, Morliere P (2004) Anti- and pro-oxidant effects of quercetin in copper-induced low density lipoprotein oxidation. Quercetin as an effective antioxidant against pro-oxidant effects of urate. Eur J Biochem 271:1991–1999
30. Garcia-Saura MF, Galisteo M, Villar IC, Bermejo A, Zarzuelo A, Vargas F, Duarte J (2005) Effects of chronic quercetin treatment in experimental renovascular hypertension. Mol Cell Biochem 270:147–155
31. Glossmann H, Presek P, Eigenbrodt E (1981) Quercetin inhibits tyrosine phosphorylation by the cyclic nucleotide-independent, transforming protein kinase, pp60src. Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol 317:100–102
32. Goldberg DM, Yan J, Soleas GJ (2003) Absorption of three wine-related polyphenols in three different matrices by healthy subjects. Clin Biochem 36:79–87

33. Graefe EU, Wittig J, Mueller S, Riethling AK, Uehleke B, Drewelow B, Pforte H, Jacobasch G, Derendorf H, Veit M (2001) Pharmacokinetics and bioavailability of quercetin glycosides in humans. J Clin Pharmacol 41:492–499
34. Granado-Serrano AB, Martin MA, Bravo L, Goya L, Ramos S (2006) Quercetin induces apoptosis via caspase activation, regulation of Bcl-2, and inhibition of PI-3-kinase/Akt and ERK pathways in a human hepatoma cell line (HepG2). J Nutr 136:2715–2721
35. Guerra B (2006) Protein kinase CK2 subunits are positive regulators of AKT kinase. Int J Oncol 28:685–693
36. Gugler R, Leschik M, Dengler HJ (1975) Disposition of quercetin in man after single oral and intravenous doses. Eur J Clin Pharmacol 9:229–234
37. Gulati N, Laudet B, Zohrabian VM, Murali R, Jhanwar-Uniyal M (2006) The antiproliferative effect of quercetin in cancer cells is mediated via inhibition of the PI3 K-Akt/PKB pathway. Anticancer Res 26:1177–1181
38. Hairborne JB (1993) The flavonoids advances in research since 1986. Chapman & Hall, London
39. Hanahan D, Weinberg RA (2000) The hallmarks of cancer. Cell 100:57–70
40. Hanahan D, Weinberg RA (2011) Hallmarks of cancer: the next generation. Cell 144:646–674
41. Hard GC, Seely JC, Betz LJ, Hayashi SM (2007) Re-evaluation of the kidney tumors and renal histopathology occurring in a 2-year rat carcinogenicity bioassay of quercetin. Food Chem Toxicol 45:600–608
42. Harwood M, Danielewska-Nikiel B, Borzelleca JF, Flamm GW, Williams GM, Lines TC (2007) A critical review of the data related to the safety of quercetin and lack of evidence of in vivo toxicity, including lack of genotoxic/carcinogenic properties. Food Chem Toxicol 45:2179–2205
43. Hertog MG, Feskens EJ, Hollman PC, Katan MB, Kromhout D (1993) Dietary antioxidant flavonoids and risk of coronary heart disease: the Zutphen Elderly Study. Lancet 342:1007–1011
44. Hirono I (1992) Is quercetin carcinogenic? Jpn J Cancer Res 83:313–314
45. Hollman PC, Katan MB (1999) Dietary flavonoids: intake, health effects and bioavailability. Food Chem Toxicol 37:937–942
46. Hollman PC, van Trijp JM, Buysman MN, van der Gaag MS, Mengelers MJ, de Vries JH, Katan MB (1997) Relative bioavailability of the antioxidant flavonoid quercetin from various foods in man. FEBS Lett 418:152–156
47. Hollman PC, van Trijp JM, Mengelers MJ, de Vries JH, Katan MB (1997) Bioavailability of the dietary antioxidant flavonol quercetin in man. Cancer Lett 114:139–140
48. Hollman PC, vd Gaag M, Mengelers MJ, van Trijp JM, de Vries JH, Katan MB (1996) Absorption and disposition kinetics of the dietary antioxidant quercetin in man. Free Radic Biol Med 21:703–707
49. Hou DX, Kumamoto T (2010) Flavonoids as protein kinase inhibitors for cancer chemoprevention: direct binding and molecular modeling. Antioxid Redox Signal 13:691–719
50. Hwang MK, Song NR, Kang NJ, Lee KW, Lee HJ (2009) Activation of phosphatidylinositol 3-kinase is required for tumor necrosis factor-alpha-induced upregulation of matrix metalloproteinase-9: its direct inhibition by quercetin. Int J Biochem Cell Biol 41:1592–1600
51. Ito N (1992) Is quercetin carcinogenic? Jpn J Cancer Res 83:312–313
52. Johnson JL, Rupasinghe SG, Stefani F, Schuler MA, Gonzalez de Mejia E (2011) Citrus flavonoids luteolin, apigenin, and quercetin inhibit glycogen synthase kinase-3beta enzymatic activity by lowering the interaction energy within the binding cavity. J Med Food 14:325–333
53. Kelly GS (2011) Quercetin. Monograph. Altern Med Rev 16:172–194

54. Kim YH, Lee YJ (2007) TRAIL apoptosis is enhanced by quercetin through Akt dephosphorylation. J Cell Biochem 100:998–1009
55. Lamson DW, Brignall MS (2000) Antioxidants and cancer, part 3: quercetin. Altern Med Rev 5:196–208
56. Lee F, Fandi A, Voi M (2008) Overcoming kinase resistance in chronic myeloid leukemia. Int J Biochem Cell Biol 40:334–343
57. Lee J, Ebeler SE, Zweigenbaum JA, Mitchell AE (2012) UHPLC-(ESI)QTOF MS/MS profiling of quercetin metabolites in human plasma postconsumption of applesauce enriched with apple peel and onion. J Agric Food Chem 60:8510–8520
58. Lee KW, Kang NJ, Heo YS, Rogozin EA, Pugliese A, Hwang MK, Bowden GT, Bode AM, Lee HJ, Dong Z (2008) Raf and MEK protein kinases are direct molecular targets for the chemopreventive effect of quercetin, a major flavonol in red wine. Cancer Res 68:946–955
59. Leonarduzzi G, Testa G, Sottero B, Gamba P, Poli G (2010) Design and development of nanovehicle-based delivery systems for preventive or therapeutic supplementation with flavonoids. Curr Med Chem 17:74–95
60. Li C, Liu X, Lin X, Chen X (2009) Structure-activity relationship of 7 flavonoids on recombinant human protein kinase CK2 holoenzyme. Zhong Nan Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban 34:20–26
61. Li H, Zhao X, Ma Y, Zhai G, Li L, Lou H (2009) Enhancement of gastrointestinal absorption of quercetin by solid lipid nanoparticles. J Control Release 133:238–244
62. Lionberger JM, Wilson MB, Smithgall TE (2000) Transformation of myeloid leukemia cells to cytokine independence by Bcr-Abl is suppressed by kinase-defective Hck. J Biol Chem 275:18581–18585
63. Lolli G, Cozza G, Mazzorana M, Tibaldi E, Cesaro L, Donella-Deana A, Meggio F, Venerando A, Franchin C, Sarno S, Battistutta R, Pinna LA (2012) Inhibition of protein kinase CK2 by flavonoids and tyrphostins. A structural insight. Biochemistry 51:6097–6107
64. Manach C, Morand C, Crespy V, Demigne C, Texier O, Regerat F, Remesy C (1998) Quercetin is recovered in human plasma as conjugated derivatives which retain antioxidant properties. FEBS Lett 426:331–336
65. Manach C, Williamson G, Morand C, Scalbert A, Remesy C (2005) Bioavailability and bioefficacy of polyphenols in humans. I. Review of 97 bioavailability studies. Am J Clin Nutr 81:230S–242S
66. McAnlis GT, McEneny J, Pearce J, Young IS (1999) Absorption and antioxidant effects of quercetin from onions, in man. Eur J Clin Nutr 53:92–96
67. Meggio F, Pinna LA (2003) One-thousand-and-one substrates of protein kinase CK2? FASEB J 17:349–368
68. Murota K, Terao J (2003) Antioxidative flavonoid quercetin: implication of its intestinal absorption and metabolism. Arch Biochem Biophys 417:12–17
69. Nagasaka Y, Nakamura K (1998) Modulation of the heat-induced activation of mitogen-activated protein (MAP) kinase by quercetin. Biochem Pharmacol 56:1151–1155
70. Nair HB, Sung B, Yadav VR, Kannappan R, Chaturvedi MM, Aggarwal BB (2010) Delivery of antiinflammatory nutraceuticals by nanoparticles for the prevention and treatment of cancer. Biochem Pharmacol 80:1833–1843
71. Natarajan K, Manna SK, Chaturvedi MM, Aggarwal BB (1998) Protein tyrosine kinase inhibitors block tumor necrosis factor-induced activation of nuclear factor-kappaB, degradation of IkappaBalpha, nuclear translocation of p65, and subsequent gene expression. Arch Biochem Biophys 352:59–70
72. Nguyen TT, Tran E, Nguyen TH, Do PT, Huynh TH, Huynh H (2004) The role of activated MEK-ERK pathway in quercetin-induced growth inhibition and apoptosis in A549 lung cancer cells. Carcinogenesis 25:647–659
73. NTP (1992) Toxicology and carcinogenesis studies of quercetin (CAS No., 117-39-5) in F344/N rats (feed study). NTP technical report. National Toxicology Program (NTP), Research Triangle Park, North Carolina

74. Okamoto T (2005) Safety of quercetin for clinical application (review). Int J Mol Med 16:275–278
75. Olthof MR, Hollman PC, Buijsman MN, van Amelsvoort JM, Katan MB (2003) Chlorogenic acid, quercetin-3-rutinoside and black tea phenols are extensively metabolized in humans. J Nutr 133:1806–1814
76. Olthof MR, Hollman PC, Vree TB, Katan MB (2000) Bioavailabilities of quercetin-3-glucoside and quercetin-4′-glucoside do not differ in humans. J Nutr 130:1200–1203
77. Peet GW, Li J (1999) IkappaB kinases alpha and beta show a random sequential kinetic mechanism and are inhibited by staurosporine and quercetin. J Biol Chem 274:32655–32661
78. Ponce DP, Maturana JL, Cabello P, Yefi R, Niechi I, Silva E, Armisen R, Galindo M, Antonelli M, Tapia JC (2011) Phosphorylation of AKT/PKB by CK2 is necessary for the AKT-dependent up-regulation of beta-catenin transcriptional activity. J Cell Physiol 226:1953–1959
79. Prior RL (2003) Fruits and vegetables in the prevention of cellular oxidative damage. Am J Clin Nutr 78:570S–578S
80. Ranawat P, Pathak CM, Khanduja KL (2012) A new perspective on the quercetin paradox in male reproductive dysfunction. Phytother Res
81. Rayasam GV, Tulasi VK, Sodhi R, Davis JA, Ray A (2009) Glycogen synthase kinase 3: more than a namesake. Br J Pharmacol 156:885–898
82. Russo GL (2007) Ins and outs of dietary phytochemicals in cancer chemoprevention. Biochem Pharmacol 74:533–544
83. Russo M, Palumbo R, Mupo A, Tosto M, Iacomino G, Scognamiglio A, Tedesco I, Galano G, Russo GL (2003) Flavonoid quercetin sensitizes a CD95-resistant cell line to apoptosis by activating protein kinase Calpha. Oncogene 22:3330–3342
84. Russo M, Palumbo R, Tedesco I, Mazzarella G, Russo P, Iacomino G, Russo GL (1999) Quercetin and anti-CD95(Fas/Apo1) enhance apoptosis in HPB-ALL cell line. FEBS Lett 462:322–328
85. Russo M, Spagnuolo C, Tedesco I, Bilotto S, Russo GL (2012) The flavonoid quercetin in disease prevention and therapy: facts and fancies. Biochem Pharmacol 83:6–15
86. Russo M, Spagnuolo C, Tedesco I, Russo GL (2010) Phytochemicals in cancer prevention and therapy: truth or dare? Toxins (Basel) 2:517–551
87. Ruzzene M, Pinna LA (2010) Addiction to protein kinase CK2: a common denominator of diverse cancer cells? Biochim Biophys Acta 1804:499–504
88. Santillo M, Mondola P, Seru R, Annella T, Cassano S, Ciullo I, Tecce MF, Iacomino G, Damiano S, Cuda G, Paterno R, Martignetti V, Mele E, Feliciello A, Avvedimento EV (2001) Opposing functions of Ki- and Ha-Ras genes in the regulation of redox signals. Curr Biol 11:614–619
89. Sarno S, de Moliner E, Ruzzene M, Pagano MA, Battistutta R, Bain J, Fabbro D, Schoepfer J, Elliott M, Furet P, Meggio F, Zanotti G, Pinna LA (2003) Biochemical and three-dimensional-structural study of the specific inhibition of protein kinase CK2 by [5-oxo-5,6-dihydroindolo-(1,2-a)quinazolin-7-yl]acetic acid (IQA). Biochem J 374:639–646
90. Scalbert A, Williamson G (2000) Dietary intake and bioavailability of polyphenols. J Nutr 130:2073S–2085S
91. Schneider H, Schwiertz A, Collins MD, Blaut M (1999) Anaerobic transformation of quercetin-3-glucoside by bacteria from the human intestinal tract. Arch Microbiol 171:81–91
92. Shirai M, Moon JH, Tsushida T, Terao J (2001) Inhibitory effect of a quercetin metabolite, quercetin 3-O-beta-D-glucuronide, on lipid peroxidation in liposomal membranes. J Agric Food Chem 49:5602–5608
93. Sicheri F, Moarefi I, Kuriyan J (1997) Crystal structure of the Src family tyrosine kinase Hck. Nature 385:602–609

94. Silberberg M, Morand C, Manach C, Scalbert A, Remesy C (2005) Co-administration of quercetin and catechin in rats alters their absorption but not their metabolism. Life Sci 77:3156–3167
95. Spagnuolo C, Russo M, Bilotto S, Tedesco I, Laratta B, Russo GL (2012) Dietary polyphenols in cancer prevention: the example of the flavonoid quercetin in leukemia. Ann N Y Acad Sci 1259:95–103
96. Spencer JP, Kuhnle GG, Williams RJ, Rice-Evans C (2003) Intracellular metabolism and bioactivity of quercetin and its in vivo metabolites. Biochem J 372:173–181
97. Spencer JP, Rice-Evans C, Williams RJ (2003) Modulation of pro-survival Akt/protein kinase B and ERK1/2 signaling cascades by quercetin and its in vivo metabolites underlie their action on neuronal viability. J Biol Chem 278:34783–34793
98. Sporn MB, Suh N (2002) Chemoprevention: an essential approach to controlling cancer. Nat Rev Cancer 2:537–543
99. Sun ZJ, Chen G, Hu X, Zhang W, Liu Y, Zhu LX, Zhou Q, Zhao YF (2010) Activation of PI3K/Akt/IKK-alpha/NF-kappaB signaling pathway is required for the apoptosis-evasion in human salivary adenoid cystic carcinoma: its inhibition by quercetin. Apoptosis 15:850–863
100. Surh YJ (2003) Cancer chemoprevention with dietary phytochemicals. Nat Rev Cancer 3:768–780
101. Tedesco I, Russo M, Russo GL (2010) Commentary on 'resveratrol commonly displays hormesis: occurrence and biomedical significance'. Hum Exp Toxicol 29:1029–1031
102. Terao J, Murota K, Kawai Y (2011) Conjugated quercetin glucuronides as bioactive metabolites and precursors of aglycone in vivo. Food Funct 2:11–17
103. Torres J, Pulido R (2001) The tumor suppressor PTEN is phosphorylated by the protein kinase CK2 at its C terminus. Implications for PTEN stability to proteasome-mediated degradation. J Biol Chem 276:993–998
104. Vargas AJ, Burd R (2010) Hormesis and synergy: pathways and mechanisms of quercetin in cancer prevention and management. Nutr Rev 68:418–428
105. Walker EH, Pacold ME, Perisic O, Stephens L, Hawkins PT, Wymann MP, Williams RL (2000) Structural determinants of phosphoinositide 3-kinase inhibition by wortmannin, LY294002, quercetin, myricetin, and staurosporine. Mol Cell 6:909–919
106. Weng CJ, Chen MJ, Yeh CT, Yen GC (2011) Hepatoprotection of quercetin against oxidative stress by induction of metallothionein expression through activating MAPK and PI3K pathways and enhancing Nrf2 DNA-binding activity. N Biotechnol 28:767–777
107. Yao P, Nussler A, Liu L, Hao L, Song F, Schirmeier A, Nussler N (2007) Quercetin protects human hepatocytes from ethanol-derived oxidative stress by inducing heme oxygenase-1 via the MAPK/Nrf2 pathways. J Hepatol 47:253–261
108. Young JF, Nielsen SE, Haraldsdottir J, Daneshvar B, Lauridsen ST, Knuthsen P, Crozier A, Sandstrom B, Dragsted LO (1999) Effect of fruit juice intake on urinary quercetin excretion and biomarkers of antioxidative status. Am J Clin Nutr 69:87–94
109. Zhang S, Yu D (2012) Targeting Src family kinases in anti-cancer therapies: turning promise into triumph. Trends Pharmacol Sci 33:122–128

Sulforafan: Kanserle Savaşta Ümit Vadeden Bir Molekül

Monia Lenzi, Carmela Fimognari ve Patrizia Hrelia

Özet

Kanser apoptoz, proliferasyon, invazyon, anjiogenez ve metastazın transforme ve deregüle olduğu genetik ve moleküler değişimlerle seyreden kompleks bir hastalıktır. Tümör büyümek ve metastaz yapabilmek için konağa ihtiyaç duyar. Hücre disfonksiyonuna ilave olarak, tümör mikroçevresinin primer disfonksiyonu da karsinogenez için hayati önem taşıyabilir. Çok sayıda fitokimyasalın birçok önemli hedefi (nonspesifik olarak) eş zamanlı olarak inhibe ve modüle etme potansiyelleri vardır. Kanserde çok büyük biyolojik farklılıklar görülmesi nedeniyle pleiotropizm avantajlı hale getirebilir. Bu nedenle özellikle diyet kaynaklı bileşiklerde bulunan fitokimyasallar klinik çalışmalarda kemopreventif ve ya kemoterapötik ajanlar olarak önerilmekte ve araştırılmaktadır. Sulforafan (SFN) turpgiller ailesine ait sebzelerde bulunan bir izotiyosiyanattır. Hücre kültüründe, karsinojenle indüklenen genetik hayvan kanser modellerinde ve ksenogreft kanser modellerinde kullanılan SFN'nin etkili bir kemoprotektif ajan olduğu ispatlanmıştır. SFN farklı moleküler hedeflerin modülasyonu ile yönetilen potent sitostatik ve sitotoksik etkileri güçlendirmektedir. Hücrelerin SFN medyatörlüğündeki apoptoza duyarlılığı hücre döngüsüne bağımlı mekanizmaların regülasyonuna bağlıdır. Ancak p53 statüsünün mutasyonundan bağımsızdır. Ayrıca SFN'nin in vitro ortamda sitotoksik tedavi ile kombinasyonunun

C. Fimognari
Dipartimento di Scienze per la Qualità della Vita, University of Bologna, Via Corso dAugusto 237, 47921, Rimini, Italy

M. Lenzi · P. Hrelia (✉)
Dipartimento di Farmacia e Biotecnologie, University of Bologna, Via Belmeloro 6, 40126, Bologna, Italy
e-mail: patrizia.hrelia@unibo.it

V. Zappia et al. (eds.), *Advances in Nutrition and Cancer,*
Cancer Treatment and Research 159, DOI: 10.1007/978-3-642-38007-5_12,
© Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2014

kemoterapi medyatörlüğündeki sitotoksik etkiyi de güçlendirmesi, klinikteki potansiyel terapötik faydalarının göstergesidir. Güvenli ve etkili bir molekül olan SFN kanserle savaşta ümit vadeden bir kemopreventif araç olabilir.

Anahtar Kelimeler

Sulforafan • İzotiyosiyanatlar • Faz I ve II enzimleri • Anjiogenez • Metastatik süreç

Kısaltmalar

SFN	Sulforafan
ITC'ler	İzotiyosiyanatlar
CYP	Sitokrom P450
GST	Glutatyon-S-transferaz
UGT	UDP-glukuronoziltransferaz
NQO1	NAD(P)H: kuinon oksiredüktaz 1
Keap 1	Kelch benzeri ECH ile ilişkili protein 1
GSH	Glutatyon
HCA	Heterosiklik aminler
PhIP	2-amino-1-metil-6-fenilimidazol [4, 5-b] piridin
CDK	Sikline bağımlı kinaz
HDAC	Histon deasetilaz
VEGF	Vasküler endotelyal büyüme faktörü
MMP	Metaloproteaz
Nrf2	Nükleer faktör (eritroid-kaynaklı 2)-benzeri 2
Hif-1 α	Hipoksi ile indüklenebilir faktör-1 α
HO-1	Heme oksijenaz-1
ARE	Antioksidan cevap elementi

İçindekiler

1 Giriş 209
2 Karsinogenetik Prosesin Modülasyonu 210
2.1 Başlangıç Fazının Modülasyonu 210
2.2 Gelişim Fazının Modülasyonu 213
2.3 Progresyon Fazının Modülasyonu 216
3 Sonuçlar 217
Referanslar 218

1 Giriş

Geleneksel olarak çoğunlukla Batı ülkelerini etkilediği düşünülen bir hastalık olan kanser, günümüzde gelişmekte olan ülkelerde yaşayan toplumlarda da yayılmaktadır. Daha yüksek refah seviyesine sahip Batı ülkelerinin çoğunlukla daha fazla kanserojen maruziyetine yol açan diyet ve hayat tarzları ile tarihsel geçmişe dayanan yaygın sigara kullanımı bu ülkelerdeki kanserin yüksek insidansının altında yatan nedendir. Ancak artan endüstrileşme ve zenginleşmenin gelişmekte olan ülkelerdeki sosyal alışkanlıkların hızla değişmeye başlamasını sağlayarak kanser insidans oranlarının endüstrileşmiş ülkelerdeki oranlara ulaşmasına neden olması kanseri dünya çapında bir problem haline getirmiştir [72].

Genetik veya epigenetik birçok nedenden kaynaklanan hücresel bir hastalık olan kanser, hücre homeostazında değişimlere yol açarak hücre büyüme ve proliferasyonunun kontrolünün kaybına yol açar.

Son derece kompleks bir proses olan tümör gelişiminin ilk aşaması normal hücrelerdeki kritik genlerdeki mutasyonların akümülasyonudur. Deneysel olarak çok basamaklı proses olarak tanımlanan birçok olaydan oluşur. Bunlardan en az üç fazın tanımlanması mümkündür: Başlangıç, gelişim ve progresyon.

Başlangıç fazı hücresel genomun hasarı ile karakterize akut bir olaya işaret eder. Hasar uygun bir biçimde tamir edilmez ise hücre replikasyonu sonrası stabil ve irreversibl bir mutasyon haline dönüşür. Kanseri başlatan hücre organizmanın kontrol sistemlerinden bağımsızlaşarak kendi başına büyüme potansiyeline sahip olur.

Gelişim fazındaki hücreler epigenetik mekanizmalardan kaynaklanan yoğun bir proliferatif stimulus ile karakterizedir. Kimyasalların tümör gelişimini destekleyen aktivitelerinin oksidatif stresin indüksiyonu, hücre proliferasyonunun stimulasyonu, preneoplastik lezyonların gelişimi ve spontan hücre ölümünün inhibisyonu yoluyla gerçekleştiği varsayılmaktadır. Bu evrede prolifere olan hücre klonları benign bir tümör görünümündedirler. Hücre kütlesi grup halinde bulunur ve düzenlidir.

Progresyon, malign fenotipin ortaya çıkması ile karakterize olan üçüncü evredir. Bu evrede bazı hücreler tümör kütlesinden ayrılabilir, yakındaki dokuları istila edebilir, kan dolaşımına veya lenf damarlarına infiltre olabilir ve kanserin başlangıç yerinin uzağında sekonder kanserlerin gelişimine neden olabilirler [87].

Kansere karşı savaşı kazanmanın tek yolu tüm evreleri ile mücadele etmektir. Bu nedenle iyi bir kemopreventif ajanın başlangıç, gelişim ve progresyonu kapsayacak şekilde, karsinogenezin tüm evrelerini modüle edebilme yeteneğine sahip olması gerekmektedir. Bu bağlamda, izotiyosiyanatlar (ITC) gibi turpgillerden elde edilen (Brüksel lahanası, brokoli, karnıbahar ve lahana) gibi doğal ürünler karsinogenetik süreçte rol oynayan birçok hedefi modüle edebilme yetenekleri nedeniyle büyük ilgi çekmektedirler. ITC'ler gıdalardaki glukozinolatların prosesleri ve çiğnenmeleri ile oluşur. Bu bitki ailesinin sekonder metabolitlerinin herhangi bir biyolojik aktivitesi yoktur. Glukorafaninin hidrolizi ile elde edilen bir ITC olan SFN brokolide bol miktarda bulunur. SFN karsinogenetik prosesin farklı düzeylerinde etkili olabilme yeteneğinden dolayı özel ilgi çekmektedir [62].

2 Karsinogenetik Prosesin Modülasyonu

SFN'nin günümüzde ispat edilmiş olan kemopreventif aktivitesi karsinogenezin tüm farklı evrelerini inhibe edebilme, geriye çevirebilme veya geciktirebilme yeteneğinden kaynaklanmaktadır: Başlangıç, gelişim ve progresyon (Şekil 1). SFN başlangıç fazını, hem prokarsinojenlerin karsinojenlere metabolik aktivasyonunu faz I metabolizmasını engelleyerek hem de faz II metabolizmasını indükleyerek karsinojenlerin detoksifikasyonunu destekleyerek modüle etmektedir. Böylece DNA'yı mutajenik bileşiklerin saldırılarından korur. SFN ayrıca hücre döngüsünü geciktirerek ve/veya durdurarak veya apoptozu indükleyerek ortaya çıkan sitostatik ve sitotoksik etkileri ile transforme olan hücrelerin klonal yayılımını engelleyerek gelişim fazını modüle edebilir.

SFN son olarak, anjiogenezi, benign tümörün malign hale dönüşümünü ve metastatik prosesi de inhibe ederek progresyon fazını modüle edebilir.

2.1 Başlangıç Fazının Modülasyonu

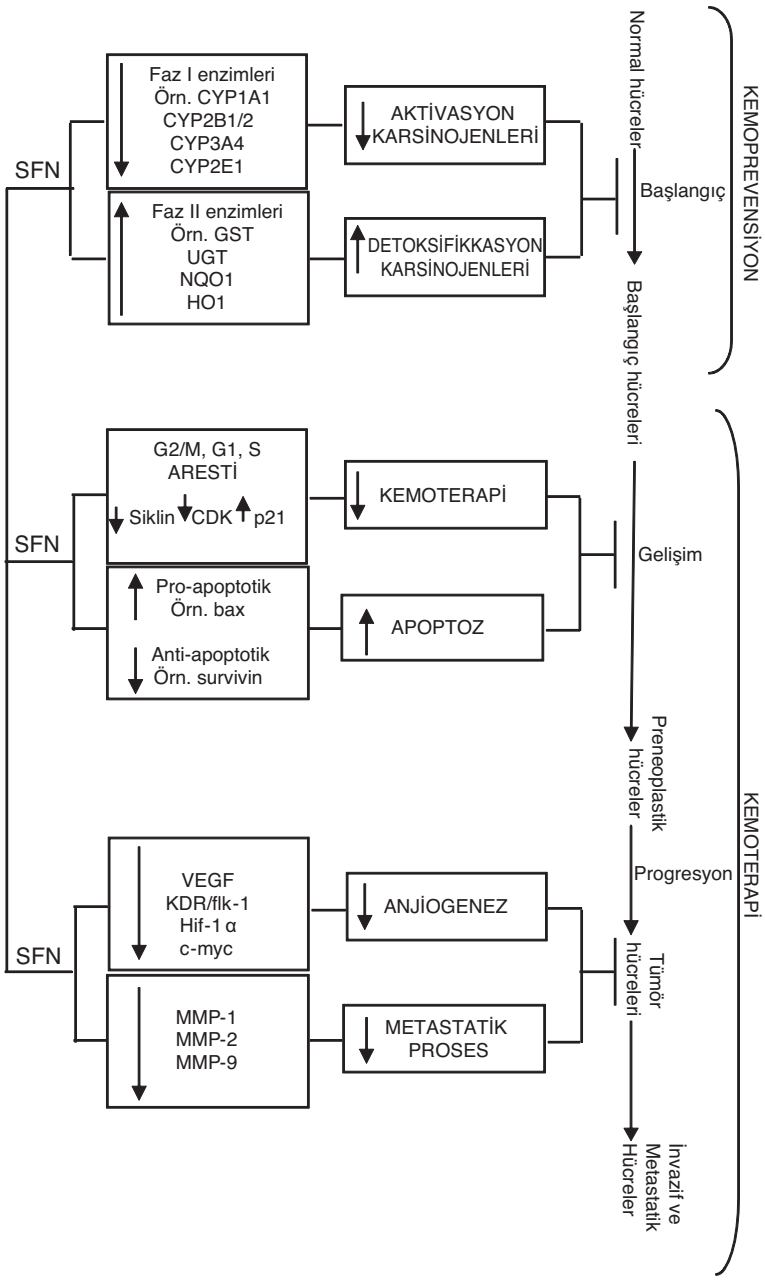
2.1.1 Faz I Enzimlerinin İnhibisyonu

Kimyasal yoldan indüklenen karsinogenezi bloke etmenin temel basamaklarından birisi faz I enzimlerinin inhibe edilmesidir. Bu enzimlerin rol oynadığı kimyasal reaksiyonlar (oksidasyon, redüksiyon ve hidroliz) genel olarak detoksifikasyona yol açsalar da, karsinojenlerin biyoaktivasyonunda da rol oynarlar. Diyette bulunan ve çevresel karsinojenlerin hemen hepsi gerçekte prokarsinojenlerdir. Bunlar ilaçları metabolize eden enzimler tarafından yüksek oranda aktif olan ve makromolekülleri (DNA, RNA ve protein) bağlayabilen aracılara biyoaktive olabilirler. Bu olaylar primer olarak sitokrom P450 (CYP) enzimleri tarafından katalize edilir. Bu nedenle ekspresyonlarını ve fonksiyonlarını modüle edebilen bileşikler, karsinogenetik prosesin engellenmesinde önemli olabilir. Faz I metabolizması SFN tarafından modüle edilebilir. Birçok çalışmada CYP aktivitesini direkt etkileşim ya da mRNA düzeylerinin regülasyonu ile regüle edebildiği gösterilmiştir. Örneğin, SFN sıçan hepatositlerindeki CYP'ler olan 1A1 ve 2b1/2'yi doza bağlı olarak inhibe eder. İnsan hepatositlerindeki CYP3A4 aktivitesini de CYP3A4 mRNA düzeylerini regüle ederek belirgin biçimde azaltır [59]. SFN aseton uygulanan sıçan karaciğerinin mikrozomlarındaki CYP2E1'in de yarışmalı inhibitörüdür. SFN heterosiklik aminlerin metabolik aktivasyonunda rol oynayan CYP1A2'yi etkilemez [4, 19].

Genel olarak, SFN'nin çeşitli CYP'leri inhibe edebilen ve buna bağlı olarak prokarsinojenlerin aktivasyonunu azaltabilen bir ajan olduğu söylenebilir.

2.1.2 Faz II Enzimlerinin İndüksiyonu

SFN, çok sayıda literatürde de bildirildiği üzere, epoksit hidrolaz, ferritin, glutatyon peroksidaz, glutatyon redüktaz, glutamat-sistein sentetaz [94], glutatyon-S-transferaz (GST) [93], heme oksijenaz-1 (HO-1) [18], tieordoksin redüktaz [3], ve UDP-glukuronoziltransferaz (UGT) 1A [6] gibi faz II enzimlerinin hem in vivo hem de in



Şekil 1 SFN karsinogenetik sürecin üç farklı fazını farklı moleküler hedefleri modüle ederek hem kemopreventif hem de kemoterapötik ajan olarak etki göstererek etkiler.

vitro ortamdaki en güçlü indükleyicilerinden biridir. Örneğin, SFN insan hepatom hücrelerindeki HepG2'deki NAD(P)H:kuinon oksidoredüktaz 1'in (NQO1) [46] aktivitesini ve bilirübin glukuronidasyonunu artırır [6]. SFN ayrıca mürin Hepa1c1c7'deki GST ve NQO1 aktivitesini artırıp [46, 60], sıçan hepatositlerindeki GSTA1/2 ve GSTP1 mRNA düzeylerini yukarı regüle ederken, insan primer hepatositlerindeki GSTA1/2 ve GSTM1'in mRNA düzeylerini indükler [59]. SFN ayrıca kolon ve prostat kanser hücre dizilerindeki faz II metabolizmasını da artırma yeteneğine sahiptir. Özellikle, hem farklılaşmış HT29'da [6] hem de farklılaşmamış CaCo-2 hücrelerindeki [88] GSTA1 ve UGT1A1 aktivitesini doz ve zamana bağlı olarak artırır. SFN insan prostat hücrelerindeki GSTA1 ve NQO1 mRNA düzeylerini ve GST ve NQO1 aktivitesini artırmaktadır [9]. SFN insan hepatom hücrelerindeki ve hepatositlerindeki HepG2'deki 2-amino-1-metil-6-fenilimidazol[4,5-b]piridin (PhIP)-DNA eklentilerini doza bağlı olarak ve muhtemelen UGT1A1 ve GSTA1 mRNA ekspresyonunun indüksiyonu ile anlamlı olarak azaltır [2].

İn vivo çalışmalarda SFN'nin faz II enzimlerinin potent bir indükleyicisi olduğu konfirme edilmiştir. Oral SFN uygulanan sıçan dokularındaki GST ve NQO1 aktiviteleri artmaktadır. SFN uygulanan sıçanların mide, duodenum, mesane [64], karaciğer, kolon ve pankreasındaki [60] NQO1 ve GST aktiviteleri de artar.

SFN NQO1'in enzimatik aktivitesinde ve prostat, karaciğer ve en fazla da mesanedeki total GST düzeylerinde anlamlı artışa yol açar [47]. Faz II enzimlerinin indüksiyonu, SFN uygulanan ve deneysel olarak akciğer karsinogenezi indüklenen dişi İsviçre albino farelerinde pre- ve post- başlangıç fazı çalışmalarında yakın zamanda gösterilmiştir [48].

SFN'nin faz II enzimlerinin indüksiyonunu, antioksidan cevap elementleri (ARE) adı verilen spesifik DNA sekansları içeren genlerinin transkripsiyonunun stimüle ederek sağladığı düşünülmektedir [20, 63]. Bu güçlendirici sekansı içeren genler, sitoskeletal protein Kelch-benzeri ECH-ilişkili protein 1'e (Keap 1) bağlı sitoplazmada bulunan nükleer faktör (eritroid-kaynaklı 2)-benzeri 2'nin (Nrf2)transkripsiyonu ile regüle olurlar. Sitosolik redoks durumundaki değişime cevap olarak Keap 1 ve Nrf2 arasındaki bağı kırar. Buna bağlı olarak Nrf2 aktive olur ve protein ile bağlanır. Nrf2 çekirdeğe translokе olarak, ARE içeren genlerin transkripsiyonunu indükleyebilir. Nrf2 inaktif iken SFN tarafından indüklenen herhangi bir gen ekspresyonu gözlenmemiştir [21, 37, 38, 51, 68, 92].

Birçok çalışmada bu yolağın oksidatif strese karşı korunmada rol oynadığı ve kanser ve nörodejeneratif hastalıklar gibi kronik durumlar için etkili bir terapötik hedef olabileceği bildirilmiştir [55]. SFN indirekt bir antioksidan olarak kabul edilir. Çünkü hücreleri aşırı serbest radikal üretiminden donör veya elektron akseptörü olarak değil, faz II enzimlerinin ekspresyonunu ve glutatyonun (GSH) intraselüler düzeylerini modüle ederek korur. SFN'nin glutamilsistein sentetazın hafif zincirinin sentezini artırabilme yeteneği olduğu da ispatlanmıştır. Bu etki enzimin ağır zinciri için geçerli değildir. Bu enzim GSH sentezinin sınırlandırıcı bir basamağını katalizlemektedir [94].

Tüm kanıtlar bir arada değerlendirildiğinde SFN'nin karsinojen detoksifikasyonunu ve mutajenik olaylara karşı hücre savunmasını artırdığı görülmektedir.

2.1.3 DNA'nın Mutajenik Bileşiklerin Saldırısından Korunması

SFN farklı etki mekanizmaları kullanarak birçok karsinojenik bileşikle savaşabilme gücüne sahiptir. Örneğin, heterosiklik aminlere (HCA) maruziyet meme, kolon ve prostat kanseri gibi kanser türlerinin gelişimi ile ilişkilidir. İn vivo çalışmalarda SFN'nin HCA tarafından indüklenen mutajenezin potent bir inhibitörü olduğu gösterilmiştir [80].

İnsan hepatom hücrelerindeki HepG2'deki PhIP-DNA eklentileri, tedavide SFN ve PhIP'nin eş zamanlı kullanımı ile anlamlı olarak azalmıştır. Ancak önce PhIP uygulanan hücrelere sonrasında SFN uygulanması ile PhIP-DNA eklentilerinde bir azalma tespit edilmemiştir. Bu bulgu SFN'nin DNA tamirindeki enzimleri indüklemek yerine koruyucu etki yaptığını göstermektedir [46].

İnsan meme epitel hücrelerindeki MCD-10F'de, benzo(a)piren ve 1.6-dinitropiren maruziyeti sonrası oluşan DNA eklentilerinin oluşumu SNF tarafından inhibe edilmektedir [84]. SFN insan kolorektal hücrelerini benzo(a)piren tarafından indüklenen tek zincir DNA kırıklarına karşı korumaktadır [8]. SFN CYP2E1 ve CYP1A2 salgılayan insan karaciğer hücrelerini ise N-nitrozodimetilamin ve 2-amino-3-metilimidazo [4,5-f] kinolon tarafından indüklenen çift zincir kırıklarına karşı korur [5].

İnsan lenfositleri ile yapılan bir çalışmada SFN'nin dört farklı bileşiğin genotoksisitesini engellediği gösterilmiştir: Alkilleyici etil metanesulfonat, aneugen vinkristin, oksitleyici H_2O_2, alkilleyici ve oksitleyici mitomisin C. Etil metanesulfonat ve mitomisin C üzerindeki antigenotoksik aktivitesi apoptoz indükleyici etkisinden kaynaklanmaktadır. Kontrast olarak, vinkristin ve H_2O_2 uygulanan kültürlere SFN eklenmesi apoptotik hücre fraksiyonlarında bir artışa yol açmamıştır. Bu sonuç SFN'nin koruyucu etkisinin hücre proliferasyonunun inhibisyonu veya spesifik enzimlerin indüksiyonu gibi farklı bir mekanizmadan kaynaklanabileceğini düşündürmektedir [26].

İn vivo çalışmaların sonuçları net değildir. Gills ve ark. [34] klasik bir iki basamaklı karsinogenez protokolünde (başlangıç ve gelişim aşamalarındaki etkilerin birbirinden ayrıldığı) 7,12-dimetilbenz(a)antrasen'in öncesinde ve sonrasında topikal olarak SFN uygulanması ile tümör taşıyan farelerin yüzdesinin azalmadığını bildirmiştir. Ancak, Kuroiwa ve ark. [54] ise SFN'nin pankreatik kanallardaki atipik hiperplazinin insidansını ve hamster pankreatik karsinogenez modelindeki adenokarsinomların insidansını azalttığını bildirmişlerdir.

Bu sonuçlar SFN'nin ilginç bir antigenotoksik etkiye sahip olduğunu önermektedir. Ancak bu aktivite henüz tam olarak aydınlatılamamıştır.

2.2 Gelişim Fazının Modülasyonu

2.2.1 Sitostatik Etkiler

SFN çeşitli hücresel modellerindeki (prostat, kolon, meme, mesane ve T hücreleri) hücre döngüsü progresyonunu modüle edebilme ve çalışılan hücre dizisine, kullanılan teda-

vinin dozuna, maruziyetin süresine bağlı olarak hücreleri G1 [14, 77, 91], S [89] veya G2/M [40, 73, 74] fazında durdurabilme yeteneğine sahiptir. Bu etkiler siklinler, sikline bağımlı kinaz (CDK) ve CDK inhibitörlerinin modülasyonu ile ilişkilidir.

Özellikle, G2/M fazındaki hücre döngüsünün durdurulması (arrest), PC-3 ve DU-145 insan prostat kanseri hücrelerinde, HCT-116, HT29 ve Caco-2 insan kolon kanseri hücrelerinde [82], F311 mürin meme kanseri hücrelerinde [39], MCF-7 insan meme kanseri hücrelerinde [40], Jurkat insan T lösemi hücrelerinde [23, 25], U2-OS insan osteosarkom hücrelerinde [53], insan miyelom hücre dizilerinden oluşan panelde ve primer miyelom tümör hücrelerinde gözlenmiştir [43].

SFN'nin G2/M faz arrestini indükleyebilmesinde çeşitli mekanizmalar rol oynamaktadır. PC-3 prostat kanseri hücrelerinde siklin B1, Cdc25B ve Cdc25c seviyelerinde anlamlı azalma ile ilişkili iken, Tyr15-fosforile CDK1'de ise artış ile ilişkilidir. Bu olaylar SER-16'daki Cdc25c'nin hızlı ve sürekli fosforilasyonunu indükleyen ChK2 aktivasyonuna yol açarlar. Aynı Chk2'ye bağımlı G2/M arresti HCT-116 insan kolon kanseri hücrelerinde de görülmüştür [82]. SFN bunlara ek olarak, MCF-7 meme kanseri hücrelerinin mitotik fazda tubulin polimerizasyonunun inhibisyonuna bağlı olarak arrestine neden olurken [40], F311 meme kanseri hücrelerinin arresti ise anormal ve eksik mitotik mikrotubul formasyonuna bağlıdır [39].

G2/M faz arresti SFN tarafından indüklenen ana hücre döngü arresti olmasına rağmen, prostat ve kolon kanseri hücrelerinde diğer fazlarda da arrest görülmektedir. LnCap ve DU-145 insan prostat kanser hücrelerinde SFN uygulanması ile CDK4 aktivitesinin inhibisyonu sonucu G1 fazında total arrest, p21 ekspresyonunda artış ve siklin D1 ekspresyonunda azalma olmuştur [91]. Benzer şekilde HT29 kolon kanseri hücrelerinde de p21 düzeylerinde artma ve D1, siklin A ve c-myc düzeylerinde azalma sonrası G1 faz arresti meydana gelir [79].

Ayrıca UMUC insan mesane hücrelerinde SFN uygulaması ile S fazında arrest bildirilmiştir [89].

İn vivo bir çalışmada SFN'nin gelişim fazını hücre proliferasyonunu inhibe ederek durdurduğu net olarak gösterilmiştir. SFN topikal uygulamada 7, 12 dimetilbenz(a) antrasen/12-O-tetradekanolforbol 13-asetatın indüklediği fare deri tümörijenezini anlamlı düzeyde inhibe etmiştir [34].

Bu kanıtların ışığında SNP'nin hücre döngüsünü farklı moleküler mekanizmalarla modüle edebilen efektif bir sitostatik ajan olduğu gösterilmiştir.

2.2.2 Sitotoksik Etkiler

SFN'nin proapoptotik etkileri hücre spesifik değildir ve farklı hücre dizilerinde tanımlanmıştır.

İlk kanıt kolon kanseri hücrelerinde bildirilmiştir [32, 33, 42]. Daha sonra prostat kanseri hücrelerinde [14, 15, 81], medullablastom [35], meme [39, 75], over [12], pankreas [74], kan [23, 24], mesane [77, 89], cilt [61] hücreleri ile insan miyelom hücre dizilerinden oluşan bir panel ve primer miyelom tümör hücrelerinde [43] ve yüksek oranda metastatik B16F-10 melanom hücrelerinde bu etkinin varlığı bildirilmiştir [36].

Bu in vitro modellerde SFN'nin apoptozun özellikleri olan kromatin kondensasyonu, fosfatidilserinin plazma membranı boyunca translokasyonu ve DNA fragmantasyonunu indükleyebildiği gösterilmiştir. SFN hem intrinsik (mitokondri aracılığı ile) ve ekstrinsik (ölüm reseptörü aracılığı ile) yolaklardaki multipl hedefleri de aktive edebilmektedir. En sık görülen ve tedavisi en zor beyin tümörlerinden biri olan glioblastom hücrelerinin, SFN'ye kaspaza bağımlı ve kaspazdan bağımsız mekanizmalar ile indüklenen apoptotik hücre fraksiyonunda artış ile cevap vermeleri ilginçtir [52].

SFN'nin proapoptotik etkisi ile ilgili birçok çok moleküler mekanizma önerilmiştir: Cdc2 kinazın aktif formda korunması [39, 73], kaspaz gibi proapoptotik genlerin aktivasyonu [74], tubulin polimerizasyonunun blokajı [39], oksidatif stresin artışı [83], intraselüler antioksidanların azalması [74] ve nükleer faktör sinyal yolakları [45]. Lösemi hücreleri ile yapılan diğer çalışmalarda SFN tarafından indüklenen apoptozun bax seviyelerinde bir artış ile ilişkili olduğu bulunmuştur [23, 25]. SFN, PC-3 prostat kanser hücrelerindeki apoptozu PARP ayrışması ile destekler. Bu sonuç çıplak faredeki PC-3 ksenogreft çalışmasında apoptozisin bax ve bid gibi proapoptotik proteinlerde artış ile ilişkili bulunması ile konfirme edilmiştir [81].

HT29 kolon kanseri hücrelerindeki bax ekspresyonu, sitokrom c salınımı ve PARP ayrılması SFN ile artmıştır [33]. Miyelom hücrelerinde SFN uygulaması ile mitokondrial membran potansiyelinin azalması, kaspaz 3 ve 9 artışı ve Mcl-1, X-IAP, c-IAP ve survivin gibi antiapoptotik proteinlerin aşağı regülasyonu apoptozu indüklemiştir [43].

SFN, HeLa insan servikal karsinom ve HepG2 hepatokarsinom hücrelerindeki apoptozu kaspaz 3 aktivasyonu ile indüklemiştir [71]. SFN, T98G ve U87MG glioblastom hücrelerindeki apoptozu ise Ca^{2+} artışı, kalpain indüksiyonu ve Smac/Diablo'nun sitosolik yukarı regülasyonu ile indüklemiştir [52]. Primer kanser hücre dizileri kullanılarak SFN'nin kolorektal kanserdeki antikanser etkilerini inceleyen güncel bir çalışmada kaspaz 3 artışı, mitokondri membran potansiyelinin kaybı, pro-kaspaz 3 ayrışması ve kaspaz 2, 3, 8, 9 aktivitesinde artış gösterilmiştir [13].

Ayrıca PC-3 hücrelerindeki SFN'ye bağlı apoptozu indükleyen aktivatör protein 1'in regülasyonunda ERK ve JNK sinyal yolakları da rol oynamaktadır [92]. Jurkat T lösemi hücrelerinde yapılan çalışmalarda bu hücrelerin SFN tarafından indüklenen apoptoza en fazla G1 fazında duyarlı olduğu gösterilmiştir. G2/M fazındaki duyarlılık daha azken, en düşük duyarlılık S fazında gözlenmiştir [29]. SFN ayrıca sitodiferensiyasyona ve HL-60 insan promiyelositik hücrelerindeki hem granülositik, hem de makrofajik türler yönünde apoptotik hücre fraksiyonunda artışa yol açabilir. Bu etki fosfatidilinositol 3-kinaz/protein kinaz C aracılığında gerçekleşir [31]. Ayrıca HEK293 embriyonik böbrek hücreleri, HCT-116 insan kolon kanseri hücreleri [65], BPH-1, LnCaP ve PC-3 prostat epitel hücreleri ile yapılan çalışmalarda da SFN'nin histon deasetilazın (HDAC) aktivitesini inhibe edebilme özelliği tanımlanmıştır. BU SNF'nin proapoptotik etkisinin altında yatan yeni bir mekanizmadır [16, 67]. Bu bulgular oral SFN ile beslenen farelerde de, HDAC aktivitesinin anlamlı inhibisyonu ile birlikte eş zamanlı olarak asetile histonlar H3 ve H4'ün de arttığının tespit edilmesi ile konfirme edilmiştir [66].

SFN tarafından indüklenen apoptoz ilginç biçimde kanser hücrelerinden sıklıkla mutasyona uğrayan ve en önemli tümör baskılayıcı genlerden birisi olan p53'den bağımsız görünmektedir. HT29 kolon kanseri hücrelerinde SFN uygulanması ile p53 düzeyleri değişmemektedir [33]. Farklı p53 statülerine sahip (doğal, knock-out ve mutasyonlu) üç tip fibroblast ile yapılan çalışmalarda mutasyonlu p53'ün SFN'nin indüklediği apoptozu engellemediği gösterilmiştir. Bu da p53'ün farklı bir yolağı olduğunu düşündürmektedir [27, 28]. HCT-116 kolon kanser hücrelerinde SFN'ye bağlı apoptoz kaspaz 7 ve 9 ile hem doğal hem de knock-out hücrelerde artış ile ilişkilidir [70, 76].

Sonuç olarak SFN'nin kanser hücrelerindeki apoptozu farklı yolakların modülasyonu ile indükleyen efektif bir sitotoksik ajan olduğu gösterilmiştir.

2.3 Progresyon Fazının Modülasyonu

2.3.1 Anjiogenezin İnhibisyonu

Güncel çalışmalarda SFN'nin anjiogenezi etkilediği gösterilmiştir. Anjiogenez yeni kan damarı formasyonunun fizyolojik sürecidir. Normal doku büyümesi için hayati olan bu süreç tümör dokusunun da beslenme, yayılma ve metastaz yapmakta kullandığı mekanizmadır [10]. Bir kapiler ağı oluşturarak oksijen ve besin maddelerinin intratümöral kullanımını sağlayan bu damar formasyonu olmadan tümörün büyümesi sınırlı kalır ve kritik boyut olan 1-2 mm^2'ye ulaşamaz.

Anjiogenezin progresyonu tümör hücrelerinden vasküler endotelyal büyüme faktörü (VEGF) gibi belirli proanjiogenik moleküllerin salgılanmasını gerektirir.

SFN, in vitro HMC-1 insan mikrovasküler endotel hücrelerinde mikrokapilerlerin, kapiler benzeri tüplerin oluşumunu ve hücre migrasyonunu, VEGF ve reseptörü olan KDR/flk-1'i (transkripsiyon düzeyinde), hipoksi ile indüklenebilir faktör-1 α'yı (Hif-1 α), ve c-Myc'yı inhibe ederek azaltır [7]. Anjiogenez modeli olarak HUVEC insan umblikal ven endotelyal hücrelerinin kullanıldığı çalışmada SFN'nin kan damar gelişimini engellediği ve endotel hücrelerinin proliferasyonunda doza bağlı azalmayı indüklediği gösterilmiştir [1]. Anjiogenezin proliferasyon supresyonu ile engellenmesi de sığır aort endotel hücrelerinde gözlenmiştir [41].

Bu bulguların bir arada değerlendirilmesi ile SFN'nin anjiogenezin tüm önemli basamaklarını modüle edebilme yeteneği olduğu görülmektedir.

2.3.2 Benign Tümörlerin Malign Tümörlere Dönüşümünün Engellenmesi

Çeşitli hayvan modellerinde SFN'in in vivo antitümör özellikleri değerlendirilmiştir. SFN akciğer [17], pankreas [54], cilt [34, 82] ve mide [21] gibi organlarda farklı karsinojenik bileşiklerle indüklenen tümörlerin gelişimini özellikle erken evrelerdeki tümör gelişimini modüle ederek inhibe edebilme yeteneğine sahiptir.

Ayrıca bazı farklı çalışmalarda da SFN'nin tütün karsinojenleri tarafından indüklenen akciğer adenomunun malign progresyonunu önlediği gösterilmiştir. Ayrıca 4-(metilnitrozoamino)-1-(3-piridil)-1-butanon ve benzo(a)piren uygulanan A/J farelerinde yapılan histopatolojik incelemede akciğer kanserinin malign progresyonunda anlamlı bir azalma tespit edilmiştir. SFN'nin inhibitör aktivitesi hücre proliferasyonunda azalma, apoptozda artma ve muhtemelen de kaspaz 3 modülasyonu ile ilgilidir [17].

2.3.3 Metastatik Prosesin İnhibisyonu

Metastaz yapabilme malign tümörlerin sahip olduğu özelliklerden birisidir. Metastatik proses kanser hücrelerinin kan veya lenf sistemi ile geliştikleri organdan diğer organlara ardışık olaylar serisi ile sıçramalarını sağlar.

Hastanın kişisel özelliklerine (genel durum ve immun cevap yeteneği) ve tümör hücrelerinin spesifik özelliklerine (lokasyon, boyut ve histopatolojik karakteristikler) bağlı olarak gerçekleşen biyolojik bir olaydır [22, 57, 69].

Tümörün lokal olarak yayılması, adipoz doku ve kıkırdak gibi çevre dokulardaki hücreleri parçalayan enzimlerin salınımı ile başlar. Tümör hücreleri kan ve lenf damarları ile karşılaşınca, bunların duvarlarını delerek kan veya lenf dolaşımına geçip vücut boyunca yayılabilme yeteneğine sahiptir [56, 58].

SFN, C57BL/6 faresinde B16F-10 ile indüklenen yüksek oranda metastatik melanom hücrelerinin akciğere metastaz yapmasını inhibe edici etki göstermektedir. Ayrıca pulmoner fibroz markerlerinde ve hücresel proliferasyon markerlerinde anlamlı azalmaya ve metastaz görülen hayvanlardaki sağkalımın da uzamasına neden olmuştur [90]. Bu etkileri sağlayan mekanizma, ekstraselüler matriksin komponentlerinin çoğunu imha ederek hücre invazyonuna ve metastaz formasyonuna yol açan endoproteinaz ailesinden metaloproteaz (MMP) 2 ve 9'un aktivasyonunun inhibisyonudur [11, 85]. Metaloproteazlar ayrıca neoplastik progresyonu destekleyen sitokinler ve büyüme faktörleri gibi belirli unsurları da modüle edebilirler [95]. SFN, oral karsinom hücrelerinin migrasyonunu ve invazyonunu MMP-1 ve MMP-2'yi [44] aşağı regüle ederek engeller. Ayrıca dişi atimik farelerdeki KPL-1 insan meme kanseri hücrelerinin aksiller lenf nodu metastazını da azalttığı gösterilmiştir [50].

3 Sonuçlar

Kanser birçok genetik ve moleküler değişimlerle karakterize aşırı derecede kompleks bir hastalıktır. Bu moleküler değişimler yeni farmakolojik stratejilerin geliştirilebilmesindeki potansiyel hedefleri oluşturmaktadır. Bir tümörü karakterize eden aşırı kompleks biyolojik özellikler göz önüne alındığında kullanılabilecek ümit vadeden stratejilerden bir tanesi kritik hedefleri eş zamanlı olarak inhibe veya modüle edebilen nonspesifik ajanların kullanımına dayanmaktadır. Bitkisel ürünler bu bağlamda kullanılabilecek çok hedefli bileşikler sunan ilginç bir kaynaktır. Ümit vadeden bir kemopreventif ajan olan

SFN, 1992 yılında faz II enzimlerinin önemli bir indükleyicisi olarak lanse edilmiştir. Bu ITC ile yapılan geniş kapsamlı çalışmalarda, SFN'in önemli kemoterapötik yaklaşımlara temel oluşturabilecek farklı özelliklere de sahip olduğu tespit edilmiştir. SFN gerçekten de farklı in vitro ve in vivo modellerde proliferasyonu inhibe edip apoptozu ve sitodiferensiyasyonu indükleyebilme özelliği göstermiştir. Birçok tümör hücresinin prolifere olamayan erişkin hücre geliştirebilme yeteneklerinde değişimler mevcuttur. SFN'nin terminal farklılaşmayı indükleyebilme özelliği replikasyon kapasitesi olmayan veya çok az olan hücrelerin oluşumuna neden olur. Bu hücreler sonrasında apoptoz sürecine girmek zorunda kalırlar [86]. Farklılaşma bu nedenle geleneksel antikanser ajanlara karşı bir alternatif teşkil etmektedir. SFN ayrıca ümit vadeden bir antianjiogenik ajan olup kanser hücrelerinin metastaz yapmasını inhibe edebilme yeteneğine sahiptir. Günümüzde mevcut ajanlar arasında kanser hücrelerinin metastazını engelleyebilen bir ilaç mevcut değildir [90]. Bu durum çok sayıda veya tek bir metastazdaki kanser hücrelerinin kemoterapiye farklı cevaplar vermesinden kaynaklanmaktadır.

Yeni veriler SFN'in p53'ün mutasyona uğradığı veya knockout olduğu hücrelerdeki apoptozisi indükleme yeteneği olduğunu göstermektedir. Klasik kemoterapötik ajanların çoğunun etki gösterebilmek için normal p53 varlığına ihtiyaç duydukları göz önüne alındığında, karşımıza ilginç ve önemli bir klinik uygulama alanı çıkmaktadır. Buna paralel olarak SFN'nin diğer kemoterapötik ajanların etkinliğini artırma ve gelişen rezistansı önleme yeteneğinin vurgulanması da önemlidir [28, 30, 49].

Ayrıca yeni moleküllerin geliştirilmesinde aranan tek özellik etkinlik değildir. Daha büyük ölçekli çalışmalara ihtiyaç olmasına rağmen, SFN'nin insanlarda genotoksisiteye yol açmadığı göz önüne alındığında [26], olumlu bir toksikolojik profile, tolerabilitiye ve güvenliğe sahip olduğu aşikardir [78].

Yukarıda da bahsedildiği üzere SFN'nin etkili ve güvenli bir kemopreventif molekül ve kanserle mücadelede ümit vadeden bir alternatif olduğu güncel literatürde net olarak ortaya koyulmaktadır.

Referanslar

1. Asakage M, Tsuno NH, Kitayama J et al (2006) Sulforaphane induces inhibition of human umbilical vein endothelial cells proliferation by apoptosis. Angiogenesis 9:83–91
2. Bacon JR, Williamson G, Garner RC et al (2003) Sulforaphane and quercetin modulate PhIP-DNA adduct formation in human HepG2 cells and hepatocytes. Carcinogenesis 24:1903–1911
3. Bacon JR, Plumb GW, Howie AF et al (2007) Dual action of sulforaphane in the regulation of thioredoxin reductase and thioredoxin in human HepG2 and Caco-2 cells. J Agric Food Chem 55:1170–1176
4. Barcelo S, Gardiner JM, Gescher A et al (1996) CYP2E1-mediated mechanism of antigenotoxicity of the broccoli constituent sulforaphane. Carcinogenesis 17:277–282
5. Barcelo S, Mace K, Pfeifer AM et al (1998) Production of DNA strand breaks by N-nitrosodimethylamine and 2-amino-3-methylimidazo[4,5-f]quinoline in THLE cells expressing human CYP isoenzymes and inhibition by sulforaphane. Mutat Res 402:111–120
6. Basten GP, Bao Y, Williamson G (2002) Sulforaphane and its glutathione conjugate but not sulforaphane nitrile induce UDP-glucuronosyl transferase (UGT1A1) and glutathione transferase (GSTA1) in cultured cells. Carcinogenesis 23:1399–1404

7. Bertl E, Bartsch H, Gerhauser C (2006) Inhibition of angiogenesis and endothelial cell functions are novel sulforaphane-mediated mechanisms in chemoprevention. Mol Cancer Ther 5:575–585
8. Bonnesen C, Eggleston IM, Hayes JD (2001) Dietary indoles and isothiocyanates that are generated from cruciferous vegetables can both stimulate apoptosis and confer protection against DNA damage in human colon cell lines. Cancer Res 61:6120–6130
9. Brooks JD, Paton VG, Vidanes G (2001) Potent induction of phase 2 enzymes in human prostate cells by sulforaphane. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 10:949–954
10. Carmeliet P, Jain RK (2000) Angiogenesis in cancer and other diseases. Nature 407:249–257
11. Chambers AF, Matrisian LM (1997) Changing views of the role of matrix metalloproteinases in metastasis. J Natl Cancer Inst 89:1260–1270
12. Chaudhuri D, Orsulic S, Ashok BT (2007) Antiproliferative activity of sulforaphane in Akt-overexpressing ovarian cancer cells. Mol Cancer Ther 6:334–345
13. Chen MJ, Tang WY, Hsu CW et al (2012) Apoptosis induction in primary human colorectal cancer cell lines and retarded tumor growth in SCID mice by sulforaphane. Evid Based Complement Alternat Med 2012:415231
14. Chiao JW, Chung FL, Kancherla R et al (2002) Sulforaphane and its metabolite mediate growth arrest and apoptosis in human prostate cancer cells. Int J Oncol 20:631–636
15. Choi S, Lew KL, Xiao H et al (2007) D, L-Sulforaphane-induced cell death in human prostate cancer cells is regulated by inhibitor of apoptosis family proteins and Apaf-1. Carcinogenesis 28:151–162
16. Clarke JD, Hsu A, Yu Z et al (2011) Differential effects of sulforaphane on histone deacetylases, cell cycle arrest and apoptosis in normal prostate cells versus hyperplastic and cancerous prostate cells. Mol Nutr Food Res 55:999–1009
17. Conaway CC, Wang CX, Pittman B et al (2005) Phenethyl isothiocyanate and sulforaphane and their N-acetylcysteine conjugates inhibit malignant progression of lung adenomas induced by tobacco carcinogens in A/J mice. Cancer Res 65:8548–8557
18. Cornblatt BS, Ye L, Dinkova-Kostova AT et al (2007) Preclinical and clinical evaluation of sulforaphane for chemoprevention in the breast. Carcinogenesis 28:1485–1490
19. Dashwood RH (2002) Modulation of heterocyclic amine-induced mutagenicity and carcinogenicity: an 'A-to-Z' guide to chemopreventive agents, promoters, and transgenic models. Mutat Res 511:89–112
20. Dinkova-Kostova AT, Holtzclaw WD, Cole RN et al (2002) Direct evidence that sulfhydryl groups of Keap1 are the sensors regulating induction of phase 2 enzymes that protect against carcinogens and oxidants. Proc Natl Acad Sci USA 99:11908–11913
21. Fahey JW, Haristoy X, Dolan PM et al (2002) Sulforaphane inhibits extracellular, intracellular, and antibiotic-resistant strains of Helicobacter pylori and prevents benzo[a]pyrene-induced stomach tumors. Proc Natl Acad Sci USA 99:7610–7615
22. Fidler IJ (1978) Tumor heterogeneity and the biology of cancer invasion and metastasis. Cancer Res 38:2651–2660
23. Fimognari C, Nusse M, Cesari R et al (2002) Growth inhibition, cell-cycle arrest and apoptosis in human T-cell leukemia by the isothiocyanate sulforaphane. Carcinogenesis 23:581–586
24. Fimognari C, Nusse M, Berti F et al (2003) Sulforaphane modulates cell cycle and apoptosis in transformed and non-transformed human T lymphocytes. Ann NY Acad Sci 1010:393–398
25. Fimognari C, Nusse M, Berti F et al (2004) Isothiocyanates as novel cytotoxic and cytostatic agents: molecular pathway on human transformed and non-transformed cells. Biochem Pharmacol 68:1133–1138
26. Fimognari C, Berti F, Cantelli-Forti G et al (2005) Effect of sulforaphane on micronucleus induction in cultured human lymphocytes by four different mutagens. Environ Mol Mutagen 46:260–267

27. Fimognari C, Sangiorgi L, Capponcelli S et al (2005) A mutated p53 status did not prevent the induction of apoptosis by sulforaphane, a promising anti-cancer drug. Invest New Drugs 23:195–203
28. Fimognari C, Nusse M, Lenzi M et al (2006) Sulforaphane increases the efficacy of doxorubicin in mouse fibroblasts characterized by p53 mutations. Mutat Res 601:92–101
29. Fimognari C, Lenzi M, Sciuscio D et al (2007) Cell-cycle specificity of sulforaphane-mediated apoptosis in Jurkat T-leukemia cells. In Vivo 21:377–380
30. Fimognari C, Lenzi M, Sciuscio D et al (2007) Combination of doxorubicin and sulforaphane for reversing doxorubicin-resistant phenotype in mouse fibroblasts with p53Ser220 mutation. Ann NY Acad Sci 1095:62–69
31. Fimognari C, Lenzi M, Cantelli-Forti G et al (2008) Induction of differentiation in human promyelocytic cells by the isothiocyanate sulforaphane. In Vivo 22:317–320
32. Gamet-Payrastre L, Lumeau S, Gasc N et al (1998) Selective cytostatic and cytotoxic effects of glucosinolates hydrolysis products on human colon cancer cells in vitro. Anticancer Drugs 9:141–148
33. Gamet-Payrastre L, Li P, Lumeau S et al (2000) Sulforaphane, a naturally occurring isothiocyanate, induces cell cycle arrest and apoptosis in HT29 human colon cancer cells. Cancer Res 60:1426–1433
34. Gills JJ, Jeffery EH, Matusheski NV et al (2006) Sulforaphane prevents mouse skin tumorigenesis during the stage of promotion. Cancer Lett 236:72–79
35. Gingras D, Gendron M, Boivin D et al (2004) Induction of medulloblastoma cell apoptosis by sulforaphane, a dietary anticarcinogen from Brassica vegetables. Cancer Lett 203:35–43
36. Hamsa TP, Thejass P, Kuttan G (2011) Induction of apoptosis by sulforaphane in highly metastatic B16F–10 melanoma cells. Drug Chem Toxicol 34:332–340
37. Hu C, Nikolic D, Eggler AL et al (2012) Screening for natural chemoprevention agents that modify human Keap1. Anal Biochem 421:108–114
38. Itoh K, Wakabayashi N, Katoh Y et al (2003) Keap1 regulates both cytoplasmic-nuclear shuttling and degradation of Nrf2 in response to electrophiles. Genes Cells 8:379–391
39. Jackson SJ, Singletary KW (2004) Sulforaphane: a naturally occurring mammary carcinoma mitotic inhibitor, which disrupts tubulin polymerization. Carcinogenesis 25:219–227
40. Jackson SJ, Singletary KW (2004) Sulforaphane inhibits human MCF-7 mammary cancer cell mitotic progression and tubulin polymerization. J Nutr 134:2229–2236
41. Jackson SJ, Singletary KW, Venema RC (2007) Sulforaphane suppresses angiogenesis and disrupts endothelial mitotic progression and microtubule polymerization. Vascul Pharmacol 46:77–84
42. Jakubikova J, Sedlak J, Mithen R et al (2005) Role of PI3 K/Akt and MEK/ERK signaling pathways in sulforaphane- and erucin-induced phase II enzymes and MRP2 transcription, G2/M arrest and cell death in Caco-2 cells. Biochem Pharmacol 69:1543–1552
43. Jakubikova J, Cervi D, Ooi M et al (2011) Anti-tumor activity and signaling events triggered by the isothiocyanates, sulforaphane and phenethyl isothiocyanate, in multiple myeloma. Haematologica 96:1170–1179
44. Jee HG, Lee KE, Kim JB et al (2011) Sulforaphane inhibits oral carcinoma cell migration and invasion in vitro. Phytother Res 25:1623–1628
45. Jeong WS, Kim IW, Hu R et al (2004) Modulatory properties of various natural chemopreventive agents on the activation of NF-kappaB signaling pathway. Pharm Res 21:661–670
46. Jiang ZQ, Chen C, Yang B et al (2003) Differential responses from seven mammalian cell lines to the treatments of detoxifying enzyme inducers. Life Sci 72:2243–2253
47. Jones SB, Brooks JD (2006) Modest induction of phase 2 enzyme activity in the F-344 rat prostate. BMC Cancer 6:62
48. Kalpana Deepa Priya D, Gayathri R, Sakthisekaran D (2011) Role of sulforaphane in the anti-initiating mechanism of lung carcinogenesis in vivo by modulating the metabolic activation and detoxification of benzo(a)pyrene. Biomed Pharmacother 65:9–16

49. Kaminski BM, Steinhilber D, Stein JM et al (2012) Phytochemicals resveratrol and sulforaphane as potential agents for enhancing the anti-tumor activities of conventional cancer therapies. Curr Pharm Biotechnol 13:137–146
50. Kanematsu S, Yoshizawa K, Uehara N et al (2011) Sulforaphane inhibits the growth of KPL-1 human breast cancer cells in vitro and suppresses the growth and metastasis of orthotopically transplanted KPL-1 cells in female athymic mice. Oncol Rep 26:603–608
51. Kang HJ, Hong YB, Kim HJ et al (2012) Bioactive food components prevent carcinogenic stress via Nrf2 activation in BRCA1 deficient breast epithelial cells. Toxicol Lett 209:154–160
52. Karmakar S, Weinberg MS, Banik NL et al (2006) Activation of multiple molecular mechanisms for apoptosis in human malignant glioblastoma T98G and U87MG cells treated with sulforaphane. Neuroscience 141:1265–1280
53. Kim MR, Zhou L, Park BH et al (2011) Induction of G/M arrest and apoptosis by sulforaphane in human osteosarcoma U2-OS cells. Mol Med Report 4:929–934
54. Kuroiwa Y, Nishikawa A, Kitamura Y et al (2006) Protective effects of benzyl isothiocyanate and sulforaphane but not resveratrol against initiation of pancreatic carcinogenesis in hamsters. Cancer Lett 241:275–280
55. Lee JM, Johnson JA (2004) An important role of Nrf2-ARE pathway in the cellular defense mechanism. J Biochem Mol Biol 37:139–143
56. Liotta LA, Tryggvason K, Garbisa S et al (1980) Metastatic potential correlates with enzymatic degradation of basement membrane collagen. Nature 284:67–68
57. Liotta LA (1984) Tumor invasion and metastases: role of the basement membrane. Warner-Lambert Parke-Davis award lecture. Am J Pathol 117:339–348
58. Liotta LA (1986) Tumor invasion and metastases–role of the extracellular matrix: Rhoads memorial award lecture. Cancer Res 46:1–7
59. Maheo K, Morel F, Langouet S et al (1997) Inhibition of cytochromes P-450 and induction of glutathione S-transferases by sulforaphane in primary human and rat hepatocytes. Cancer Res 57:3649–3652
60. Matusheski NV, Jeffery EH (2001) Comparison of the bioactivity of two glucoraphanin hydrolysis products found in broccoli, sulforaphane and sulforaphane nitrile. J Agric Food Chem 49:5743–5749
61. Misiewicz I, Skupinska K, Kasprzycka-Guttman T (2003) Sulforaphane and 2-oxohexyl isothiocyanate induce cell growth arrest and apoptosis in L-1210 leukemia and ME-18 melanoma cells. Oncol Rep 10:2045–2050
62. Mithen R, Faulkner K, Magrath R et al (2003) Development of isothiocyanate-enriched broccoli, and its enhanced ability to induce phase 2 detoxification enzymes in mammalian cells. Theor Appl Genet 106:727–734
63. Morimitsu Y, Nakagawa Y, Hayashi K et al (2002) A sulforaphane analogue that potently activates the Nrf2-dependent detoxification pathway. J Biol Chem 277:3456–3463
64. Munday R, Munday CM (2004) Induction of phase II detoxification enzymes in rats by plant-derived isothiocyanates: comparison of allyl isothiocyanate with sulforaphane and related compounds. J Agric Food Chem 52:1867–1871
65. Myzak MC, Karplus PA, Chung FL et al (2004) A novel mechanism of chemoprotection by sulforaphane: inhibition of histone deacetylase. Cancer Res 64:5767–5774
66. Myzak MC, Dashwood WM, Orner GA et al (2006) Sulforaphane inhibits histone deacetylase in vivo and suppresses tumorigenesis in Apc-minus mice. FASEB J 20:506–508
67. Myzak MC, Hardin K, Wang R et al (2006) Sulforaphane inhibits histone deacetylase activity in BPH-1, LnCaP and PC-3 prostate epithelial cells. Carcinogenesis 27:811–819
68. Nguyen T, Nioi P, Pickett CB (2009) The Nrf2-antioxidant response element signaling pathway and its activation by oxidative stress. J Biol Chem 284:13291–13295
69. Nicolson GL (1982) Cancer metastasis. Organ colonization and the cell-surface properties of malignant cells. Biochim Biophys Acta 695:113–176

70. Pappa G, Lichtenberg M, Iori R et al (2006) Comparison of growth inhibition profiles and mechanisms of apoptosis induction in human colon cancer cell lines by isothiocyanates and indoles from Brassicaceae. Mutat Res 599:76–87
71. Park SY, Kim GY, Bae SJ et al (2007) Induction of apoptosis by isothiocyanate sulforaphane in human cervical carcinoma HeLa and hepatocarcinoma HepG2 cells through activation of caspase-3. Oncol Rep 18:181–187
72. Parkin DM, Bray F, Ferlay J et al (2001) Estimating the world cancer burden: Globocan 2000. Int J Cancer 94:153–156
73. Parnaud G, Li P, Cassar G et al (2004) Mechanism of sulforaphane-induced cell cycle arrest and apoptosis in human colon cancer cells. Nutr Cancer 48:198–206
74. Pham NA, Jacobberger JW, Schimmer AD et al (2004) The dietary isothiocyanate sulforaphane targets pathways of apoptosis, cell cycle arrest, and oxidative stress in human pancreatic cancer cells and inhibits tumor growth in severe combined immunodeficient mice. Mol Cancer Ther 3:1239–1248
75. Pledgie-Tracy A, Sobolewski MD, Davidson NE (2007) Sulforaphane induces cell type-specific apoptosis in human breast cancer cell lines. Mol Cancer Ther 6:1013–1021
76. Rudolf E, Cervinka M (2011) Sulforaphane induces cytotoxicity and lysosome- and mitochondria-dependent cell death in colon cancer cells with deleted p53. Toxicol In Vitro 25:1302–1309
77. Shan Y, Sun C, Zhao X et al (2006) Effect of sulforaphane on cell growth, G(0)/G(1) phase cell progression and apoptosis in human bladder cancer T24 cells. Int J Oncol 29:883–888
78. Shapiro TA, Fahey JW, Dinkova-Kostova AT et al (2006) Safety, tolerance, and metabolism of broccoli sprout glucosinolates and isothiocyanates: a clinical phase I study. Nutr Cancer 55:53–62
79. Shen G, Xu C, Chen C et al (2006) p53-independent G1 cell cycle arrest of human colon carcinoma cells HT-29 by sulforaphane is associated with induction of p21CIP1 and inhibition of expression of cyclin D1. Cancer Chemother Pharmacol 57:317–327
80. Shishu, Kaur IP (2003) Inhibition of mutagenicity of food-derived heterocyclic amines by sulforaphane–a constituent of broccoli. Indian J Exp Biol 41:216–219
81. Singh AV, Xiao D, Lew KL et al (2004) Sulforaphane induces caspase-mediated apoptosis in cultured PC-3 human prostate cancer cells and retards growth of PC-3 xenografts in vivo. Carcinogenesis 25:83–90
82. Singh SV, Herman-Antosiewicz A, Singh AV et al (2004) Sulforaphane-induced G2/M phase cell cycle arrest involves checkpoint kinase 2-mediated phosphorylation of cell division cycle 25C. J Biol Chem 279:25813–25822
83. Singh SV, Srivastava SK, Choi S et al (2005) Sulforaphane-induced cell death in human prostate cancer cells is initiated by reactive oxygen species. J Biol Chem 280:19911–19924
84. Singletary K, MacDonald C (2000) Inhibition of benzo[a]pyrene- and 1,6-dinitropyrene-DNA adduct formation in human mammary epithelial cells by dibenzoylmethane and sulforaphane. Cancer Lett 155:47–54
85. Stetler-Stevenson WG, Hewitt R, Corcoran M (1996) Matrix metalloproteinases and tumor invasion: from correlation and causality to the clinic. Semin Cancer Biol 7:147–154
86. Suh N, Luyengi L, Fong HH et al (1995) Discovery of natural product chemopreventive agents utilizing HL-60 cell differentiation as a model. Anticancer Res 15:233–239
87. Surh YJ (2003) Cancer chemoprevention with dietary phytochemicals. Nat Rev Cancer 3:768–780
88. Svehlikova V, Wang S, Jakubikova J et al (2004) Interactions between sulforaphane and apigenin in the induction of UGT1A1 and GSTA1 in CaCo-2 cells. Carcinogenesis 25:1629–1637
89. Tang L, Zhang Y (2004) Dietary isothiocyanates inhibit the growth of human bladder carcinoma cells. J Nutr 134:2004–2010
90. Thejass P, Kuttan G (2006) Antimetastatic activity of sulforaphane. Life Sci 78:3043–3050

91. Wang L, Liu D, Ahmed T et al (2004) Targeting cell cycle machinery as a molecular mechanism of sulforaphane in prostate cancer prevention. Int J Oncol 24:187–192
92. Xu C, Shen G, Yuan X et al (2006) ERK and JNK signaling pathways are involved in the regulation of activator protein 1 and cell death elicited by three isothiocyanates in human prostate cancer PC-3 cells. Carcinogenesis 27:437–445
93. Zhang Y, Talalay P, Cho CG et al (1992) A major inducer of anticarcinogenic protective enzymes from broccoli: isolation and elucidation of structure. Proc Natl Acad Sci USA 89:2399–2403
94. Zhang Y, Callaway EC (2002) High cellular accumulation of sulphoraphane, a dietary anticarcinogen, is followed by rapid transporter-mediated export as a glutathione conjugate. Biochem J 364:301–307
95. Zhong H, Bowen JP (2006) Antiangiogenesis drug design: multiple pathways targeting tumor vasculature. Curr Med Chem 13:849–862

Kanserde Kromatin Modülasyonunun Fonksiyonları, Anormallikleri ve Gelişmeler

Mariarosaria Conte ve Lucia Altucci

Özet

Kanserin başlangıcı ve progresyonu genel olarak genom ve epigenom deregülasyonları ile ilişkilidir. Tümörijenezde görülen epigenetik deregülasyonlar (örn. DNA metilasyonu, histon modifikasyonları ve miRNA'ya bağlı modülasyon) giderek daha fazla bildirilmektedir. Farklı kromatin modüle edici enzimler ve kanser ile ilişkili anormallikler de keşfedilmekte ve sınıflandırılmaktadır. Kromatin enzimlerindeki değişimlerin ve kanserdeki rollerinin daha iyi anlaşılması kanserin önlenmesi ve tedavisinde epigenetik hedeflemenin kullanılabilmesinde önemli bir basamaktır.

Anahtar Kelimeler

Kanser • Epi-modifikasyonlar • Yazarlar • Okuyucular • Siliciler • Tedavi

Kısaltmalar

AML	Akut myeloid lösemi
AR	Androjen reseptörü
CARM1	Koaktivatör ile ilişkili arginin metiltransferaz1
CBP	CREB-bağlayıcı protein
CLL	Kronik lenfositik lösemi

M. Conte · L. Altucci (✉)
Dipartimento di Biochimica, Biofisica e Patologia generale, Seconda Università di Napoli,
Vico L. De Crecchio 7, 80138, Naples, Italy
e-mail: lucia.altucci@unina2.it

L. Altucci
Istitutodi Genetica e Biofisica, Adriano Buzzati Traverso, CNR-IGB,
Via P. Castellino 111, 80131, Naples, Italy

V. Zappia et al. (eds.), *Advances in Nutrition and Cancer,*
Cancer Treatment and Research 159, DOI: 10.1007/978-3-642-38007-5_13,
© Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2014

DNMT	DNA metiltransferaz
DZNep	Deazaneplanosin A
EHMT2	Histon-lisin N-metiltransferaz
ER	Östrojen reseptörü
Eu-HMtaz1	Ökromatik Histon-lisin N-metiltransferaz 1
FBXL11	F-box ve lösinden zengin tekrar proteini 1
HAT	Histon asetiltransferaz
HDAC	Histon deasetilaz
HMT	Histon metiltransferaz
JHDM1B	JmjC-domain-içeren histon demetilaz 1B
JMJD5	Jumonji domain içeren 5
KDM	Lisin (K) demetilaz
KDM2B	Histon demetilaz 2B
KDM5	Histon demetilaz 5
KDM8	Histon demetilaz 8
KMT	Lisin metiltransferaz
LSD1	Lisin-spesifik demetilaz 1
MLL	Karışık soy lösemi
MOZ	Monositik lösemi çinko parmak protein
PCAF	P300/CBP-ile ilgili faktör
PRC2	Polikomb baskılayıcı kompleks 2
PRMT	Protein arginin metiltransferazlar
RBP2	Retinol-bağlayıcı protein 2
SIRT	Sirtuin

İçindekiler

1 Arkaplan 229
2 Kanserde Epi-enzimler 229
2.1 HAT'lar 229
2.2 Kanserde (de)asetilasyon ve HDAC'lar 230
2.3 HMT'ler ve KDM'ler 232
2.4 DNMT'ler 232
3 Epi-kanser Tedavi 233
3.1 HDAC ve HATM Modülatörleri 233
3.2 PRMT, KMT ve KDM İnhibitörleri 234
3.3 DNA Metiltransferaz İnhibitörleri 234
4 Sonuçlar 235
Referanslar 236

1 Arkaplan

Epi-modifikasyonlar ve etkileri ile ilgili çalışmalar bu konudaki bilgilerimiz arttıkça gelişmektedir. Histon kodunun ve biyolojideki kritik rolünün anlaşılması bu modifikasyonları "yazan" enzimler olan *yazıcılar*, modifiye kromatini "okuyan" enzimler *okuyucular* ve spesifik bir modifikasyonu ortadan kaldıran *siliciler* ile ilgili çalışmaları doğurdu [1]. Bu nedenle kanserdeki epigenetik işaretler ve bu işaretlerin yansımaları yeni terapötik stratejiler için önemli bir basamak teşkil etmektedir [2]. Belirli bir hücredeki epigenetik ve genetik değişimler proliferasyon, migrasyon, büyüme, farklılaşma, transkripsiyon ve ölüm sinyal yolaklarının deregülasyonuna yol açar Kanserin başlamasını sağlayan tüm bu değişiklikler, çevreleyen stromada değişikliklere ve immun sistem bozukluklarına yol açarlar.

2 Kanserde Epi-enzimler

Kromatin yapısı histonlar ve DNA'nın kovalent modifikasyonlarını içeren spesifik mekanizmalar ile tekrar modellenebilmektedir. DNA, CpG adacıklarında sitozinin metilasyonunu tetiklerken, histonların hem N-terminal hem de C-terminal uçlarını hatta globüler bölgelerini de kapsayan çok sayıda modifikasyona oluşur. Histon modifikasyonları kromatin yapısını dinamik olarak değiştirerek (epigenetik plastisite) hücredeki bu değişimlerle ilgili biyolojik sonuçların oluşmasına yol açar. Ancak, modülasyonun non-histon substratları da içermesinin bazı komplikasyonları mevcuttur [3]. Bundan dolayı, dikkatler kromatin modifiye edici enzimlerin kanserdeki deregülasyonlarının tanımlanmasına ve terapötik hedef olabilme potansiyellerine odaklanmıştır.

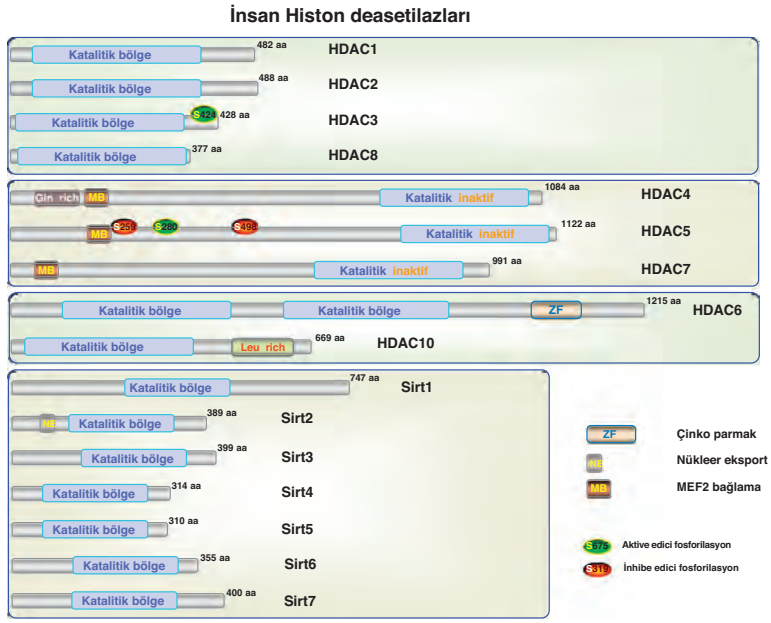
2.1 HAT'lar

İki ana HAT kategorisi vardır. A tipi HAT'lar histonların çekirdeklerindeki kromatini asetillerken, B tipi HAT'lar ise hücrede daha geniş bir rol oynarlar. A tipi HAT'lar, HAT bölgesindeki sekans homolojisine göre dört aileye ayrılır: Gcn5/PCAF [4], MYST [5], p300/CBP [6] ve Rtt109. Rtt109'un mikotik-spesifik olduğu bildirilmiştir [7]. p300 ve CBP prostat kanserinde aşırı eksprese olarak androjen reseptörüne (AR) cevap veren gen modülasyonunu değişime uğratır. CBP de t(8; 16)'da transloke olmuştur. Bunun içinde 8p11'de bulunan MOZ, CBP ile kaynaşmıştır [8] p300'ün mutasyonları da (sıklıkla C-terminal kısalması) birçok tümörde mevcuttur [9–11]. PCAF'nin aşağı regülasyonu gastrik kanser progresyonu ve kötü prognozla ilişkilidir. Tip60 mutasyonları prostat kanserinde DNA tamir deregülasyonu ve apoptoza rezistans ile ilişkilidir. PCAF ve Gcn5 pediatrik hastalardaki merkezi sinir sistemi hastalıklarında ve Wilms tümörlerinde aşırı eksprese olurlar [12].

2.2 Kanserde (de)asetilasyon ve HDAC'lar

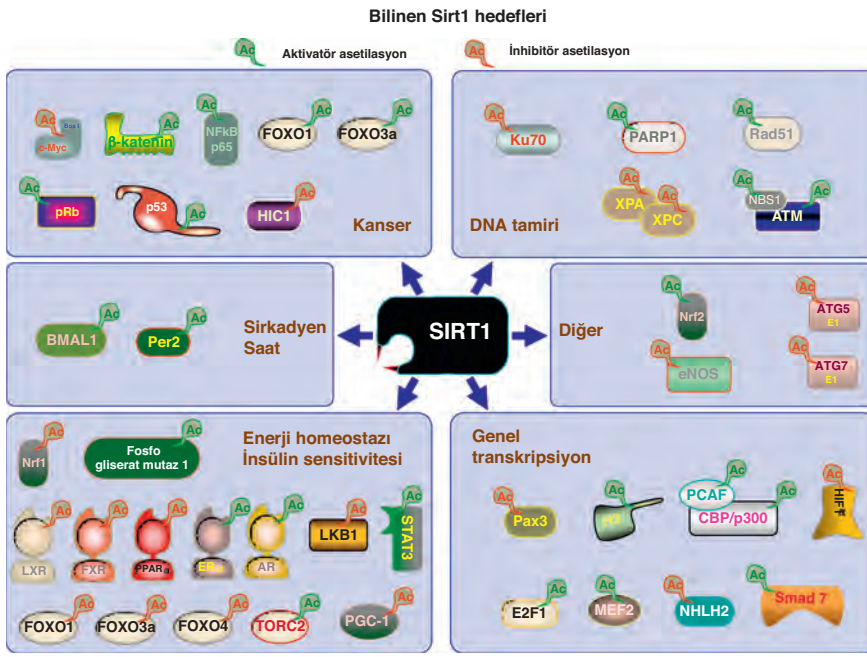
HDAC ve HAT aktiviteleri arasındaki denge gen ekspresyonunun regülasyonunda önemli rol oynamaktadır. Gelecekte yapılacak çalışmalar asetilasyonun modülasyonunun kanserle nedensel ilişkisi olup olmadığını veya kompleks epi-deregülasyonlarla oluşup oluşmadığını aydınlığa kavuşturacaktır. Sonuç olarak, asetilasyon düzeyindeki genel değişimlerden kaynaklanan kanserlerin epi-terapötik yaklaşımdan fayda görüp görmeyeceği (görürse de ne boyutta göreceği) hala araştırılması gereken bir konudur.

HDAC lösemi gibi insan kanserlerindeki gen regülasyonunda önemli bir rol oynar [13]. HDAC'lar dört sınıfa ayrılmıştır: Sınıf I HDAC'lar (HDAC1, HDAC2, HDAC3, ve HDAC8), Saccharomyces cerevisae Rpd3 homoloğu; Sınıf II (sınıf IIa ve sınıf IIb'ye ayrılır) HDAC'lar (HDAC4, HDAC5, HDAC6, HDAC7, HDAC9, HDAC10), maya HDA1 homoloğu; sınıf III HDAC'lar (sirtuinler), maya Sir2 homoloğu enzimler içerir; sınıf IV'de sadece HDAC11 vardır (Şema için bkz. Şekil 1). HDAC1 gastrik, kolorektal, hepatik, meme ve pankreas kanserini de içeren bazı kanserlerde özellikle yüksek düzeyde eksprese olur [14–16]. HDAC2 mutasyonu kolon kanserinde tespit edilmiştir. Ayrıca özofagus, prostat ve gastrointestinal karsinomlarda aşırı eksprese olur [17–19]. HDAC3 aşırı ekspresyonu tespit edilen prostat, mide, kolorektum ve kronik lenfositik lösemi [16, 18, 20, 21] gibi birçok kanser tipi kötü prognoz ile ilişkilidir. HDAC4 do-



Şekil 1 İnsan histon deasetilazlarının şematik gösterimi.

kuya spesifik olarak eksprese olarak kolon kanseri hücrelerini hücre siklüs regülatörü p21'in represyonu yoluyla destekler [22]. HDAC5'nin aşağı regülasyonu akciğer kanserinde [23], aşırı ekspresyonu ise kolon kanserinde tespit edilmiştir [24]. HDAC6'nın aşağı yönlü ekspresyon düzeyleri lenfomalarda gözlenmiştir [25]. Ancak oral skuamoz hücreli kanserde daha yüksek ekspresyon düzeyleri bulunmuştur [26]. HDAC8'in rolü kronik lenfositik lösemili çocuklarda araştırılmıştır [27]. III HDAC sınıfından SIRT1 sıklıkla yaşa bağlı neoplazmlarla ilgili karsinogenezde rol oynar (kanser ve diğer hastalıklarda SIRT1 hedefleri için bkz. Şekil 2). Sirtuinler özellikle yaşlanma, kanser ve stres cevabı ile ilgilidirler. SIRT1 aşırı ekspresyonu prostat, kolon, cilt kanserleri ve akut myeloid lösemide (AML)görülür [28]. SIRT1 dışındaki diğer sirtuinler de (örn. SIRT4 ve 7) kanser gelişimi ile ilişkilidir [29]. Buna karşın gastrik karsinom ve gliomalarda ise düşük SIRT2 seviyeleri gözlenmiştir. SIRT3 gibi bazı sirtuinlerin meme kanserinin bazı farklı formlarında hem yukarı hem de aşağı regüle oldukları bildirildiği için, komplike bir senaryo mevcuttur. SIRT4 kaybı kanser için majör bir risk faktörü olan diyabete yol açabilir. ADP riboziltransferaz aktivitesi de gösteren SIRT6 beyin ve iskelet kasında yaygın olarak aşırı eksprese olur. Ayrıca rRNA genlerinin aktif transkripsiyonunu destekleyen SIRT7 kalp, beyin ve iskelet kası gibi prolifere olmayan dokularda düşük miktarlarda bulunmaktadır.



Şekil 2 SIRT1 hedeflerinin şematik görünümü.

2.3 HMT'ler ve KDM'ler

Histonlar arginin metiltransferazlar (PRMT'ler) ve lisin metiltransferazlar (KMT'ler) gibi enzimler (HMT) ile metile olurlar. PRMT1 karışık soy löseminin (MLL) onkojenik füzyon proteinlerindeki önemli bir komponentidir [30]. PRMT6, H3R2'yi metile eder; bu metilasyon H3K4me3 aktivasyonunu etkisizleştirebilir. PRMT1 düzeylerinin meme ve kolon kanserlerinde yükseldiği bulunmuştur [31]. PRMT2 östrojen reseptörü (ER) ile etkileşime girebilir ve AR'nin güçlü koaktivatörü olarak etki gösterir. PRMT3 protein sentezinin regülasyonunda rol oynarken, CARM1 (koaktivatörle ilişkili arginin metiltransferaz1) olarak da bilinen PRMT4'ün arginin ile regüle edilen transkripsiyon mekanizmasını kontrol ettiği bilinmektedir. CARM1, histon H3'ü metile eder ve mutasyonu metiltransferaz ve p160 koaktivatör regülasyonunu azaltır [32]. CARM1 meme kanserinde aşırı eksprese olur [33]. PRMT5 lenfoma ve lösemi hücreleri ile gastrik karsinomda güçlü bir şekilde eksprese olur. Bir H3K27 KMT olan EZH2 polikomb baskılayıcı kompleks 2 (PRC2) ile etkileşir ve prostat kanseri gibi solid tümörlerde [35] ve pro-B hücrelerinde yüksek oranda eksprese olur [36]. SUV39H1/2 (KMT1A/B) aşırı ekspresyonu diyetle indüklenen tümörlerde bildirilmiştir [37]. Kolon kanseri hücrelerinde ise mRNA düzeylerinde artış görülür. Lisin metiltransferaz G9a, supresor gen sessizleştirmesinde regüle olan H3K9 dimetilasyonuna katkı yapar. G9a lösemi, prostat, akciğer kanseri ve hepatoselüler karsinom gibi çeşitli kanserlerde aşırı eksprese olur [38]. KMT1D (veya Eu-HMTaz1) salgı bezi tümörlerinde aşırı eksprese olurken [39], SETDB1/ESET tümörlerdeki promotör bölgelerinin sessizleştirilmesinde K9'daki histon H3'ün trimetilasyonu yoluyla DNA metiltransferaz (DNMT) ile koopere olur. Lökemojenezde MLL1'in (KMT2A'da denir) çok sayıda mutasyonları ve yeniden düzenlenmeleri gözlenmiştir. MLL4 (KMT2D'de denir) karaciğer karsinogenezinde rol oynar. Ayrıca histon demetilazların (KDM) değişimi de kansere yol açabilir veya kanser oluşumuna katkıda bulunabilir. Meme kanserinde KDM1 (LSD1) aşağı regülasyonu metastaz ile koreledir. Jumonji alanındaki demetilazların anormal regülasyonu çeşitli kanser hücre dizilerinde gözlenmiştir. KDM2B (JHDM1B/ FBXL11), H3K35me2 ve H3K4me3'ün dimetilasyonunu hücre döngüsünde rol oynayan T-hücreli lenfomalardaki p14, p15 ve p16 gibi proteinleri aşağı regüle ederek engeller. RBP2 (KDM5A), PLU1 (KDM5B), ve SMCX'yi de (KDM5C) içeren KDM5 ailesi gastrik, servikal, akciğer, meme, prostat, böbrek ve lösemiler gibi birçok kanser cinsinde sıklıkla aşırı eksprese olur. Lisin demetilazların bir başka ailesi olan KDM8 ve JMJD5, H3K36me2'yi hedefler. Bu enzim meme, tiroid, adrenal, mesane ve karaciğer kanserlerinde [40] aşırı eksprese olarak hücre proliferasyonunda önemli rol oynar.

2.4 DNMT'ler

DNA metilasyonu sıklıkla epigenetik sessizleştirme olayı olarak tanımlanır Metilasyon DNMT ailesine ait enzimler tarafından katalizlenir. Bir çok kanser türü DNA metilasyon düzeyleri ile ilişkilidir. DNA hipermetilasyondan daha sık olarak hipometilasyona

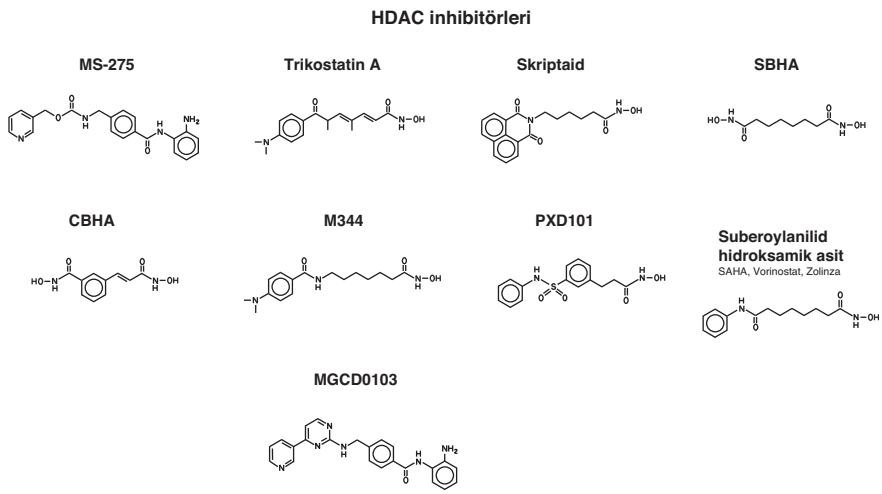
uğramaktadır. Genomik DNA normal hücrelerin prokanseröz hücrelere dönüşümünde rol oynayan faktörlerin daha iyi anlaşılması için yapılmakta olan birçok çalışmanın konusudur [41, 42].

3 Epi-Kanser Tedavisi

3.1 HDAC ve HAT Modülatörleri

HDACi kanser ile ilgili anormalliklerin geriye çevrilmesinde potansiyel bir strateji teşkil etmekte olup birçoğu klinik çalışmalarla test edilmektedir [43]. HDACi'nin kanserdeki rolünün ayrıntılı tanımı için (bilinen bazı HDACi için bkz. Şekil 3) [44–46] nolu referanslara başvurulmasını öneririz. Selektif HDACi'lerin geniş etkili HDACi'lere göre (pan HDACi) avantajlı olup olmadığı (veya yan etkileri azaltıp azaltmadığı) konusu hala cevap bekleyen bir sorudur.

HDACi'lerin tersine, HAT'ları zayıf derecede modüle eden az sayıda valide molekül bilinmektedir (bkz. Şekil 4). Son dekadda peptid-CoA konjugatlarının iki analog substratı olan Lys-CoA ve H3-CoA-20'nin güçlü p300 ve PCAF inhibitörleri olduğu bildirilmiştir. Ancak metabolik instabiliteleri ilaç olarak kullanımlarını engellemektedir. İzotiazolonlar ve analoglarından oluşan diğer PCAF inhibitörleri doz ve zamana bağlı olarak asetilasyon inhibitörü etkisi gösterirler. B tipi bir PBD olan garsinol virüs, bakteri, gastrik ülserler ve kolon adenokarsinomu gibi kanserlere karşı aktiftir [47]. Garsinolun türevleri de (LTK-13, LTK-14 ve disulfonil yedekli derive LTK-19) sentezlenmiştir. Bir diğer ümit vadeden HATi de kaşu cevizinin kabuk sıvısının ana komponenti olan



Şekil 3 Bilinen bazı HDAC inhibitörlerinin yapısı.

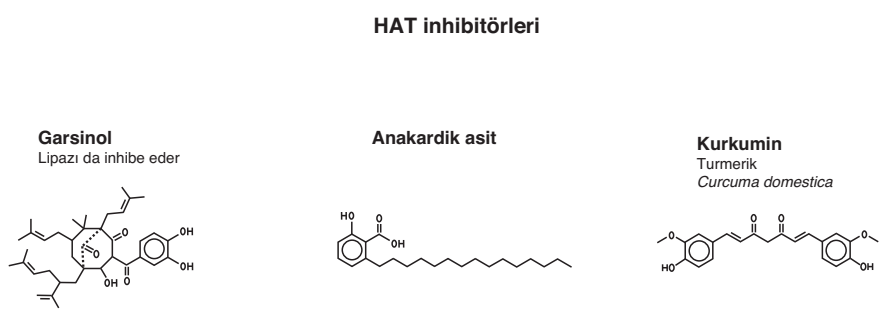
anakardik asittir (AA). Bu bileşik meme kanseri hücrelerinin yayılımını ER-alfa DNA bağlanmasını inhibe ederek azaltır [48]. Gcn5 inhibitörleri, T-butirolaktonlar da sentezlenmiş ve yararlı etkileri olduğu önerilmiştir [49]. p300 inhibitörü olan kurkuminin birçok kanser türünün önlenmesinde ve tedavisinde aktif olduğu bildirilmiştir. HATi, HDACi gelişiminden daha az gelişmiştir. Bu durum muhtemelen HAT'ların HDAC'lara kıyasla aşırı ekspresyondan ziyade daha fazla mutasyona uğramasından kaynaklanabilir. Bu durum inhibitörlerin gelişimini muhtemelen geciktirmesine rağmen, mutasyona uğramış HAT'lar için selektif HATi'ler kanserde tahmin edilebilir spesifitesi olan geçerli bir alternatif strateji olabilir.

3.2 PRMT, KMT ve KDM İnhibitörleri

PRMT değişimleri birçok kanser ile korele olabilir. Bundan dolayı metiltransferazları modüle edebilen moleküller tedavide tercih edilmektedir. Bir mikotoksin olan kaetosin, miyelom hücrelerinde ve in vivo antimiyelom aktivitesi gösteren bir SUV39H1 inhibitörüdür [50]. BIX01294 ilk G9a ve GLP inhibitörüdür. Spesifik transkripsiyon faktörleri için korepresör işlevi olan ve mesane karsinomlarında güçlü bir şekilde eksprese olan histon metiltransferaz EHMT2'yi inhibe eder [51]. Ayrıca p-aminosulfonamidlerin ve dapsonun asil türevleri de tanımlanmıştır. Özellikle dapson glioblastom tedavisi için önerilmiştir [52]. Tranilsipromin (trans-2-fenilsiklopropilamin) ve analogları en iyi bilinen LSD1 inhibitörleridir. Tranilsipromin sarkoma, periferik sinir kılıfı tümörleri ve promiyelositik lösemilerin tedavisi için önerilmiştir [53, 54]. Deazaneplanosin A (DZNep) PRC2 ile etkileşime girer ve kanser hücrelerindeki apoptozu indükler. EZH2'nin DZNep ile inhibisyonu meme kanseri hücrelerindeki proliferasyonu azaltır [55]. AML tedavisinde DNZep ve bir HDACi olan Panobinostatın birlikte kullanımı primer lösemi hücrelerinde apoptotik etki gösterir [56].

3.3 DNA Metiltransferaz İnhibitörleri

Gıda ve İlaç İdaresi (FDA) DNMT inhibitörleri 5-azasitidin (azasitidin) ve 5-aza-2-deoksisitidin (desitabin) miyelodisplastik sendromlar (MDS) için onaylamıştır [57]. De-



Şekil 4 Bilinen bazı HAT inhibitörlerinin yapıları.

sitabin triple negatif meme kanserindeki sessizleştirilmiş ER'nin reekspresyonu için de kullanılmıştır. Bir diğer önemli DNA Metiltransferaz İnhibitörü (DNMTi) olan zebularin, normal hücrelerin aksine malign hücrelere selektif olarak bağlanır. Ovaryum ve serviks karsinomları gibi kanserler DNMTi hidralazin ile tedavi edilebilir [58]. DNMT'lerin direkt inhibisyonu için nonnükleozid hedefli moleküller de önerilmiştir. Fosforotioat antisens oligonükleotid MG98 faz I bir çalışmada miyelodisplazi ve AML olan hastalarda test edilmiştir [59]. RG108 lenfoid, miyeloid ve kolorektal kanserlerde zebularine benzer düzeyde demetile edici etki göstermiştir. SGI-1027 DNMT1, DNMT3a, ve DNMT3b'yi inhibe eder ve hepatoselüler, servikal, prostat ve meme kanserinde test edilmiştir [60].

4 Sonuçlar

DNA metilasyon bozuklukları ve histon modifikasyonları kanserin gelişimini ve progresyonunu indükleyebilir. Kromatin değişimleri *yazıcılar* ve *siliciler* tarafından regüle edilirken, *okuyucular* tarafından "mayınlanabilir". Bu kompleks epi-regüle senaryoda tekil modifikasyonlar (ve tekil enzimler) ile diğer histon işaretleri ve enzimatik komplekslerle olan bağlantılar malignitelerdeki epigenetik deregülasyonu anlayabilmek için göz önünde bulundurulmalıdır. Kromatin modifikasyonlarının muhtemelen birbirine karşıt veya aditif özelliklere sahip olması birbirlerinin salınımlarını etkileyerek gen ekspresyonundaki kromatin modülasyonunu kompleks bir hale getirir. Kanserle ilgili çok sayıda büyük kapsamlı tarama çalışmasında bazı histon işaretlerinin ve epi-enzimlerin kanserdeki önemi vurgulanmıştır. Laboratuar bilgilerimizin kliniğe uygulanması için epigenetik statüsünün modifikasyonunun indüklenmesi ile deregüle olan kanserdeki geniş kromatin alanlarını "hedefleyen" yeni tedavilerin tanımlanması gerekir. Bu nedenle mevcut epi-kanser tedavi şemalarının dikkatli hasta sınıflandırması ile yeniden değerlendirilmesi gerekebilir. Epi-modülatörlerin antikanser aktivitelerinin sadece "temiz" epi-etkilerden mi kaynaklandığı yoksa non-epigenetik etkilerin de değerlendirilmesinin gerekip gerekmediği (gerekirse hangi düzeyde) net değildir. Non-histon hedeflerin epimoleküller ile net bir şekilde modüle edilmeleri ve az sayıda epi-tedavinin klinikte kullanılıyor olması (başlıca HDACi ve DNA demetile edici ajanlar) konunun komplekslik derecesini artırmaktadır. HDACi'lerin kanser tedavisinde kullanılması, (örneğin) histonların asetilasyonunun orijinal olarak önerildiği gibi tedaviye verilen cevap olarak değil tedavinin etkileri ile ilgili bilgi olarak değerlendirilmesinin önerilmesine yol açmıştır. Bu nedenle yapılabilecek bir seçim *yazıcı, okuyucu* ve *silicilerin* (aşırı ekspresyon veya sessizleştirme) dengeli olmayan bir kombinasyonu veya bu enzimlerin mutasyonu olabilir. Kanserde mutasyona uğrayan epi-enzimler sadece mutasyonlu enzimi modüle edebilecek selektif moleküllerin sentezlenebilmeleri adına açık bir fırsat sunmaktadır. Böylece tümör selektif etki elde edilecektir. İlginç biçimde HDAC'lar kanserde sayısal olarak daha sık değişime uğrarken (HDAC2 mutasyonu hariç) HAT'lar daha sık mutasyona uğramaktadır. Bu açık farklılığın etkileri hala araştırılması gereken bir konudur. Ayrıca bu alanda yeni tanımlanan kromatin işaretlerini kapsayan buluşlar progresif olarak devam etmekte olup bulunmaları için sarfedilen eforlar şu andaki bakış açımızı hızla

değiştirebilir. Kanserin epi-tedavisinde selektif ya da daha geniş etkili kromatin modülatörlerinin seçimi konusundaki tartışmalar hala sürmekte olup, ortaya muhtemelen birden fazla opsiyon çıkacaktır. Farklı modifiye edicilerin ve işaretlerin multipl değişimlere yol açmaları durumunda daha geniş etkili bir modülatör tabii ki daha avantajlıdır. Bu nedenle multipl epi-modülatörler (birden fazla enzim sınıfını hedeflerler) kanser tedavisinde ümit verici bir yaklaşım olabilir. Hala kapsamlı olarak valide edilmeye ihtiyaç gösteren bu son yaklaşım kromatin "re-modülasyonunun" daha hedefe yönelik olarak kullanılmasını sağlayabilir.

Teşekkürler: Bu çalışma Avrupa Birliği tarafından desteklenmiştir: Blueprint (contract no 282510); Italian IHEC (Flag Project: EPIGEN); İtalyan Kanser Araştırma Birliği (AIRC no 11812); İtalyan Üniversite ve Araştırma Bakanlığı (PRIN_2009PX2T2E_004); PON002782; PON0101227. C. Fisher'e metnin redaksiyonu için teşekkür ederiz.

Referanslar

1. Janzen WP, Wigle TJ, Jin J, Frye SV (2010) Epigenetics: tools and technologies. Drug Discov Today Technol 7:e59–e65
2. Wilting RH, Dannenberg JH (2012) Epigenetic mechanisms in tumorigenesis, tumor cell heterogeneity and drug resistance. Drug resistance updates: reviews and commentaries in antimicrobial and anticancer chemotherapy
3. Kouzarides T (2007) Chromatin modifications and their function. Cell 128:693–705
4. Liu X, Wang L, Zhao K, Thompson PR, Hwang Y, Marmorstein R et al (2008) The structural basis of protein acetylation by the p300/CBP transcriptional coactivator. Nature 451:846–850
5. Sapountzi V, Cote J (2011) MYST-family histone acetyltransferases: beyond chromatin. Cell Mol Life Sci CMLS 68:1147–1156
6. Bowers EM, Yan G, Mukherjee C, Orry A, Wang L, Holbert MA et al (2010) Virtual ligand screening of the p300/CBP histone acetyltransferase: identification of a selective small molecule inhibitor. Chem Biol 17:471–482
7. Stavropoulos P, Nagy V, Blobel G, Hoelz A (2008) Molecular basis for the autoregulation of the protein acetyl transferase Rtt109. In: Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, vol 105, pp 12236–12241
8. Sobulo OM, Borrow J, Tomek R, Reshmi S, Harden A, Schlegelberger B et al (1997) MLL is fused to CBP, a histone acetyltransferase, in therapy-related acute myeloid leukemia with a t(11;16)(q23;p13.3). In: Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, vol 94, pp 8732–8737
9. Iyer NG, Ozdag H, Caldas C (2004) p300/CBP and cancer. Oncogene 23:4225–4231
10. Muraoka M, Konishi M, Kikuchi-Yanoshita R, Tanaka K, Shitara N, Chong JM et al (1996) p300 gene alterations in colorectal and gastric carcinomas. Oncogene 12:1565–1569
11. Bryan EJ, Jokubaitis VJ, Chamberlain NL, Baxter SW, Dawson E, Choong DY et al (2002) Mutation analysis of EP300 in colon, breast and ovarian carcinomas. Int J Cancer J Int du Cancer. 102:137–141
12. Armas-Pineda C, Arenas-Huertero F, Perezpenia-Diazconti M, de Leon FC, Sosa-Sainz G, Lezama P et al (2007) Expression of PCAF, p300 and Gcn5 and more highly acetylated histone H4 in pediatric tumors. J Exp Clin Cancer Res: CR 26:269–276
13. Timmermann S, Lehrmann H, Polesskaya A, Harel-Bellan A (2001) Histone acetylation and disease. Cell Mol Life Sci: CMLS 58:728–736
14. Choi JH, Kwon HJ, Yoon BI, Kim JH, Han SU, Joo HJ et al (2001) Expression profile of histone deacetylase 1 in gastric cancer tissues. Japan J Cancer Res: Gann 92:1300–1304

15. Rikimaru T, Taketomi A, Yamashita Y, Shirabe K, Hamatsu T, Shimada M et al (2007) Clinical significance of histone deacetylase 1 expression in patients with hepatocellular carcinoma. Oncology 72:69–74
16. Weichert W, Roske A, Gekeler V, Beckers T, Stephan C, Jung K et al (2008) Histone deacetylases 1, 2 and 3 are highly expressed in prostate cancer and HDAC2 expression is associated with shorter PSA relapse time after radical prostatectomy. Br J Cancer 98:604–610
17. Ropero S, Fraga MF, Ballestar E, Hamelin R, Yamamoto H, Boix-Chornet M et al (2006) A truncating mutation of HDAC2 in human cancers confers resistance to histone deacetylase inhibition. Nat Genet 38:566–569
18. Fritzsche FR, Weichert W, Roske A, Gekeler V, Beckers T, Stephan C et al (2008) Class I histone deacetylases 1, 2 and 3 are highly expressed in renal cell cancer. BMC Cancer 8:381
19. Chang HH, Chiang CP, Hung HC, Lin CY, Deng YT, Kuo MY (2009) Histone deacetylase 2 expression predicts poorer prognosis in oral cancer patients. Oral Oncol 45:610–614
20. Krusche CA, Wulfing P, Kersting C, Vloet A, Bocker W, Kiesel L et al (2005) Histone deacetylase-1 and -3 protein expression in human breast cancer: a tissue microarray analysis. Breast Cancer Res Treat 90:15–23
21. Moreno DA, Scrideli CA, Cortez MA, de Paula Queiroz R, Valera ET, da Silva Silveira V et al (2010) Differential expression of HDAC3, HDAC7 and HDAC9 is associated with prognosis and survival in childhood acute lymphoblastic leukaemia. Br J Haematol 150:665–673
22. Wilson AJ, Byun DS, Nasser S, Murray LB, Ayyanar K, Arango D et al (2008) HDAC4 promotes growth of colon cancer cells via repression of p21. Mol Biol Cell 19:4062–4075
23. Osada H, Tatematsu Y, Saito H, Yatabe Y, Mitsudomi T, Takahashi T (2004) Reduced expression of class II histone deacetylase genes is associated with poor prognosis in lung cancer patients. Int J Cancer J Int du Cancer 112:26–32
24. Ozdag H, Teschendorff AE, Ahmed AA, Hyland SJ, Blenkiron C, Bobrow L et al (2006) Differential expression of selected histone modifier genes in human solid cancers. BMC Genomics 7:90
25. Gloghini A, Buglio D, Khaskhely NM, Georgakis G, Orlowski RZ, Neelapu SS et al (2009) Expression of histone deacetylases in lymphoma: implication for the development of selective inhibitors. Br J Haematol 147:515–525
26. Sakuma T, Uzawa K, Onda T, Shiiba M, Yokoe H, Shibahara T et al (2006) Aberrant expression of histone deacetylase 6 in oral squamous cell carcinoma. Int J Oncol 29:117–124
27. Amann JM, Nip J, Strom DK, Lutterbach B, Harada H, Lenny N et al (2001) ETO, a target of t(8, 21) in acute leukemia, makes distinct contacts with multiple histone deacetylases and binds mSin3A through its oligomerization domain. Mol Cell Biol 21:6470–6483
28. Carafa V, Nebbioso A, Altucci L (2012) Sirtuins and disease: the road ahead. Front Pharmacol 3:4
29. Ashraf N, Zino S, Macintyre A, Kingsmore D, Payne AP, George WD et al (2006) Altered sirtuin expression is associated with node-positive breast cancer. Br J Cancer 95:1056–1061
30. Cheung N, Chan LC, Thompson A, Cleary ML, So CW (2007) Protein arginine-methyltransferase-dependent oncogenesis. Nat Cell Biol 9:1208–1215
31. Papadokostopoulou A, Mathioudaki K, Scorilas A, Xynopoulos D, Ardavanis A, Kouroumalis E et al (2009) Colon cancer and protein arginine methyltransferase 1 gene expression. Anticancer Res 29:1361–1366
32. Chen D, Ma H, Hong H, Koh SS, Huang SM, Schurter BT et al (1999) Regulation of transcription by a protein methyltransferase. Science 284:2174–2177
33. Frietze S, Lupien M, Silver PA, Brown M (2008) CARM1 regulates estrogen-stimulated breast cancer growth through up-regulation of E2F1. Cancer Res 68:301–306
34. Pal S, Vishwanath SN, Erdjument-Bromage H, Tempst P, Sif S (2004) Human SWI/SNF-associated PRMT5 methylates histone H3 arginine 8 and negatively regulates expression of ST7 and NM23 tumor suppressor genes. Mol Cell Biol 24:9630–9645

35. Yu J, Yu J, Rhodes DR, Tomlins SA, Cao X, Chen G et al (2007) A polycomb repression signature in metastatic prostate cancer predicts cancer outcome. Cancer Res 67:10657–10663
36. Su IH, Basavaraj A, Krutchinsky AN, Hobert O, Ullrich A, Chait BT et al (2003) Ezh2 controls B cell development through histone H3 methylation and Igh rearrangement. Nat Immunol 4:124–131
37. Pogribny IP, Tryndyak VP, Muskhelishvili L, Rusyn I, Ross SA (2007) Methyl deficiency, alterations in global histone modifications, and carcinogenesis. J Nutr 137:216S–222S
38. Watanabe H, Soejima K, Yasuda H, Kawada I, Nakachi I, Yoda S et al (2008) Deregulation of histone lysine methyltransferases contributes to oncogenic transformation of human bronchoepithelial cells. Cancer Cell Int 8:15
39. Aniello F, Colella G, Muscariello G, Lanza A, Ferrara D, Branno M et al (2006) Expression of four histone lysine-methyltransferases in parotid gland tumors. Anticancer Res 26:2063–2067
40. Hsia DA, Tepper CG, Pochampalli MR, Hsia EY, Izumiya C, Huerta SB et al (2010) KDM8, a H3K36me2 histone demethylase that acts in the cyclin A1 coding region to regulate cancer cell proliferation. In: Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, vol 107, pp 9671–9676
41. Schausberger E, Hufnagl K, Parzefall W, Gerner C, Kandioler-Eckersberger D, Wrba F et al (2004) Inherent growth advantage of (pre)malignant hepatocytes associated with nuclear translocation of pro-transforming growth factor alpha. Br J Cancer 91:1955–1963
42. Toyota M, Yamamoto E (2011) DNA methylation changes in cancer. Prog Mol Biol Transl Sci 101:447–457
43. Bolden JE, Peart MJ, Johnstone RW (2006) Anticancer activities of histone deacetylase inhibitors. Nat Rev Drug Discov 5:769–784
44. Dell'aversana C, Lepore I, Altucci L (2012) HDAC modulation and cell death in the clinic. Exp Cell Res 318:1229–1244
45. Venugopal B, Evans TR (2011) Developing histone deacetylase inhibitors as anti-cancer therapeutics. Curr Med Chem 18:1658–1671
46. Dickinson M, Johnstone RW, Prince HM (2010) Histone deacetylase inhibitors: potential targets responsible for their anti-cancer effect. Invest New Drugs 28(Suppl 1):S3–S20
47. Hong J, Kwon SJ, Sang S, Ju J, Zhou JN, Ho CT et al (2007) Effects of garcinol and its derivatives on intestinal cell growth: Inhibitory effects and autoxidation-dependent growth-stimulatory effects. Free Radical Biol Med 42:1211–1221
48. Schultz DJ, Wickramasinghe NS, Ivanova MM, Isaacs SM, Dougherty SM, Imbert-Fernandez Y et al (2010) Anacardic acid inhibits estrogen receptor alpha-DNA binding and reduces target gene transcription and breast cancer cell proliferation. Mol Cancer Ther 9:594–605
49. Selvi BR, Mohankrishna DV, Ostwal YB, Kundu TK (2010) Small molecule modulators of histone acetylation and methylation: a disease perspective. Biochim Biophys Acta 1799:810–828
50. Isham CR, Tibodeau JD, Jin W, Xu R, Timm MM, Bible KC (2007) Chaetocin: a promising new antimyeloma agent with in vitro and in vivo activity mediated via imposition of oxidative stress. Blood 109:2579–2588
51. Cho HS, Kelly JD, Hayami S, Toyokawa G, Takawa M, Yoshimatsu M et al (2011) Enhanced expression of EHMT2 is involved in the proliferation of cancer cells through negative regulation of SIAH1. Neoplasia 13:676–684
52. Kast RE, Scheuerle A, Wirtz CR, Karpel-Massler G, Halatsch ME (2011) The rationale of targeting neutrophils with dapsone during glioblastoma treatment. Anti-Cancer Agents Med Chem 11:756–761
53. Schildhaus HU, Riegel R, Hartmann W, Steiner S, Wardelmann E, Merkelbach-Bruse S et al (2011) Lysine-specific demethylase 1 is highly expressed in solitary fibrous tumors, synovial sarcomas, rhabdomyosarcomas, desmoplastic small round cell tumors, and malignant peripheral nerve sheath tumors. Hum Pathol 42:1667–1675

54. Binda C, Valente S, Romanenghi M, Pilotto S, Cirilli R, Karytinos A et al (2010) Biochemical, structural, and biological evaluation of tranylcypromine derivatives as inhibitors of histone demethylases LSD1 and LSD2. J Am Chem Soc 132:6827–6833
55. Tan J, Yang X, Zhuang L, Jiang X, Chen W, Lee PL et al (2007) Pharmacologic disruption of Polycomb-repressive complex 2-mediated gene repression selectively induces apoptosis in cancer cells. Genes Dev 21:1050–1063
56. Fiskus W, Wang Y, Sreekumar A, Buckley KM, Shi H, Jillella A et al (2009) Combined epigenetic therapy with the histone methyltransferase EZH2 inhibitor 3-deazaneplanocin A and the histone deacetylase inhibitor panobinostat against human AML cells. Blood 114:2733–2743
57. Kuendgen A, Lubbert M (2008) Current status of epigenetic treatment in myelodysplastic syndromes. Ann Hematol 87:601–611
58. Yildirim E, Zhang Z, Uz T, Chen CQ, Manev R, Manev H (2003) Valproate administration to mice increases histone acetylation and 5-lipoxygenase content in the hippocampus. Neurosci Lett 345:141–143
59. Klisovic RB, Stock W, Cataland S, Klisovic MI, Liu S, Blum W et al (2008) A phase I biological study of MG98, an oligodeoxynucleotide antisense to DNA methyltransferase 1, in patients with high-risk myelodysplasia and acute myeloid leukemia. Clin Cancer Res: Official J Am Assoc Cancer Res 14:2444–2449
60. Datta J, Ghoshal K, Denny WA, Gamage SA, Brooke DG, Phiasivongsa P et al (2009) A new class of quinoline-based DNA hypomethylating agents reactivates tumor suppressor genes by blocking DNA methyltransferase 1 activity and inducing its degradation. Cancer Res 69:4277–4285

Epigenetik ve Epidemiyoloji: Çalışma Modelleri ve Örnekler

Karin van Veldhoven, Shati Rahman ve Paolo Vineis

Özet

Epidemiyolojik çalışmalarda hastalıklara yol açan çeşitli çevresel nedenler başarıyla tanımlanmıştır. Ancak metodolojik problemler bu çalışmaların sıklıkla kısıtlanmalarına neden olur (örn. maruziyetin değerlendirilmesinde sensitivite ve spesifite eksikliği; karışıklığa yol açan faktörler). Çevresel ilişkiler ile ilgili gözlemsel çalışmaların geliştirilmesinde Mendel randomizasyonu ve "orta noktada buluşma" (ONB) yaklaşımı önerilmiştir. Orta noktada buluşma yaklaşımı maruziyet ile hastalıkları ilişkilendiren patojenik proseste farzedilen aracı biyomarkerler olarak, gelişmekte olan omik alanındaki sinyallerden faydalanmaktadır. Bu yaklaşımın ilk basamağı maruziyet ile hastalık arasındaki ilişkiden oluşmaktadır. İkinci basamak maruziyet biyomarkerleri ile erken etki gösteren aracı -omik biyomarkerler arasındaki ilişkinin araştırılmasıdır; üçüncüsü de hastalık sonuçları ile aracı -omik biyomarkerler arasındaki ilişkinin değerlendirilmesidir. Her üç basamakta bulunabilecek ilişkiler arasında nedensel bir bağlantının varlığının mümkün olduğunu düşünüyoruz. Son yıllarda en kapsamlı araştırılan konulardan biri olsa da henüz tam olarak anlaşılamamış olan ilişkilerden bir tanesi, endokrin sistemini bozan çevresel etkenler ile meme kanseri arasındaki ilişkidir. Bu bölümde "orta noktada buluşma" yaklaşımı ile ilgili literatürleri inceleyerek, bu yaklaşımın endokrin bozucuları analiz etmekte nasıl kullanılabileceğini anlatacağız.

K. van Veldhoven · P. Vineis (✉)
HuGeF Foundation, Turin, Italy
e-mail: p.vineis@imperial.ac.uk

K. van Veldhoven · S. Rahman · P. Vineis
School of Public Health, Imperial College London, London, UK

V. Zappia et al. (eds.), *Advances in Nutrition and Cancer,*
Cancer Treatment and Research 159, DOI: 10.1007/978-3-642-38007-5_14,
© Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2014

Anahtar Kelimeler

Epigenetik · Epidemiyoloji · Meme kanseri · Endokrin bozucular · Omik biyomarkerlar · Orta noktada buluşma yaklaşımı

İçindekiler

1 Giriş 242
2 Meme Kanseri, Endokrin Bozucular, -Omik Biyomarkerler: *Orta Noktada Buluşma* Yaklaşımının Uygulandığı Bir Örnek 243
2.1 Biyomarkerler ve -Omik Teknolojisi 244
2.2 "Orta noktada buluşmak" yaklaşımı 245
2.3 1. Basamak: Endokrin Bozucu Kimyasallar ve Meme Kanseri 245
2.4 2. Basamak: Endokrin Sistemi Negatif Etkileyen Kimyasallar ve Epigenomik 246
2.5 3. Basamak: Epigenomik ve Meme Kanseri 251
3 Tartışma 252
Referanslar 253

1 Giriş

Yaşayan organizmaların evrimi farklı ve bazen de karşıt güçlerin etkisi ile gerçekleşir. Ana gerilim stabilite gereksinimi ile değişim gereksinimi arasında yaşanır. DNA'nın hemen tüm türlerde değişmeden korunan mükemmel yapısal stabilitesi birinci gereksinime örnek olarak verilebilir. Diğer yandan değişim olmaksızın organizmaların değişen ortamlara ve bu ortamlardaki sürekli tehditlere adapte olması mümkün olamaz. Transpozonlar (değiştirilebilir elemanlar) mayoz esnasında önemli role sahiptir. Epigenetik değişimler genetik konfigürasyonların çeşitliliğini sağlayan bazı mekanizmalar olup varyasyon, adaptasyon ve evrimde rol oynarlar.

Çok genel bir kural olarak çevresel streslerin (epi)genomik instabiliteyi artırma eğiliminde olduğu söylenebilir. Bu mekanizma hem çeşitliliği destekler hem de tehditlere ve hastalıklara yol açabilen potansiyel olarak zararlı mekanizmalara cevap verilebilmesini sağlar.

Son iki dekadda yapılan araştırmalar çoğunlukla kanser gelişiminde epigenetik değişimlerin rolü üzerine odaklanmaktadır [10, 38]. En sık araştırılan ve çalışma konusu olan epigenetik mekanizma DNA metilasyonudur [6]. İlk kez 1980'li yıllarda yapılan karsinogenez çalışmalarında gözlendiği üzere [10], DNA metilasyonu başlıca, tüm insan genlerinin yaklaşık %50'sinde bulunan promotör bölgelerde gruplanmış olarak bulunan CpG dinükleotidlerinde oluşmaktadır. Bu bölgelere CpG adacıkları adı da verilir. DNA metilasyonlu bir CpG dinükleotide metil grup eklenmesini içerir [6]. CpG adacıklarının metilasyonu genetik sessizleştirmeye yol açabilir. Bu durumun tümör baskılayıcı genleri etkilemesi kansere yol açabilir. Kanser hücrelerinin tümör baskılayıcı genlerin hipermetilasyonu ve proto-onkogenlerin veya dönüştürülebilir elemanların hipermetilasyonu gibi olağandışı metilasyon paternleri içerdiği gözlenmiştir [42].

Bir başka epigenetik mekanizma da histon kuyruklarının fosforilasyon, metilasyon veya asetilasyon ile modifiye olarak disregülasyona yol açmasıdır [10]. Bu histon kuyrukları başlıca nükleozom yapılarının korunmasından sorumludur [28, 36]. Normal histon modifikasyon mekanizmalarının bozulması gen ekspresyonunda bozukluklara yol açabilir. Bu etkinin bazı kanserlerin gelişiminde rol oynadığı gözlenmiştir [20, 28, 36]. Örneğin Jensen ve ark. [18] tarafından yapılan in vitro çalışmalarda histon H3 asetilasyon değişimlerinin ve histonlar ile ilişkili genlerin ekspresyon değişimlerinin arsenikli ajanlar olan AsIII ve MMA'ya maruziyetten kaynaklandığı tespit edilmiştir. Benzer şekilde 2009 yılında yapılan bir çalışmada da [55] insan akciğer kanseri hücrelerinin arseniğe maruz kalmalarının H3K4'ün metilasyonunda artışa yol açarak hücresel transkripsiyonun represyonuna yol açtığı tespit edilmiştir (arsenik epigenetik bakış açısıyla en iyi araştırılan çevresel maruziyet faktörlerinden biridir) [36].

Epigenetik değişimlerin meydana geldiği üçüncü ana mekanizma (mi)RNA ekspresyonu yoluyla gerçekleşir. (mi)RNA yaklaşık 22 nükleotidden oluşan protein kodlamayan küçük RNA molekülleri olarak tanımlanır. (mi)RNA'lar genomik ve hücresel regülasyonda rol oynarlar. Genel olarak gen aktivasyonunu suprese ettikleri düşünülmektedir. İnsanlarda 800'den fazla (mi)RNA mevcuttur. Memeli genlerinin %30'a kadar olan kısmının (mi)RNA'lardan etkilendiği düşünülmektedir [36]. (mi)RNA ekspresyonunun disregüle olmasının arsenikle ilişkili böbrek ve mesane kanserleri gibi çeşitli hastalıklarda [1] rol oynadığı düşünülmektedir [13].

Çevresel karsinojenlere maruziyetin ve buna bağlı olarak ortaya çıkan epigenetik değişimlerin yukarıda da bahsedilenler gibi in utero ortamda da oluşabileceğine inanılmaktadır; epigenetik programlama uzun dönemde, bir bireyin embriyonik gelişiminde ve sağlığı üzerinde önemli bir rol oynayabilir [6]. Martinez ve ark. tarafından 2011 yılında yapılan bir çalışmada hamilelikte arseniğe maruz kalmanın sıçanlardaki beyin hücrelerinin DNA metilasyon paternlerinin değişimine yol açarak hafızayı etkilediği bulunmuştur. Bu da in utero maruziyetin büyüme ve gelişme üzerinde uzun süreli etkileri olduğunu düşündüren bir bulgudur [31].

2 Meme Kanseri, Endokrin Bozucular, -Omik Biyomarkerler: *Orta Noktada Buluşma* Yaklaşımına Bir Örnek

Hastalıklara neden olan çevresel faktörlerin tanımlanması özellikle maruziyetin değerlendirilebilmesindeki güçlükleri de kapsayan metodolojik sorunlardan dolayı oldukça kısıtlıdır. Gözlemsel çalışmalarda çevresel faktörlere ilişkilerin daha iyi tespit edilebilmesi için sıklıkla kullanılan yaklaşım Mendel randomizasyonudur [7]. Potansiyel karışıkların önüne geçebilmek için bir jenerasyondan diğerine geçen çeşitli genlerin randomize olarak seçilip incelenmesine dayanır. Gen varyantı hem maruziyet hem de hastalık ile ilişkili ise, maruziyet ile hastalık arasında nedensel ilişki olduğu düşünülür. Çünkü gen varyantları karıştırıcı faktörleri de kapsayan çevresel faktörlerden etkilenmeden nesilden nesile geçer. Bu arada son yıllarda vücut sıvılarındaki veya dokuların biyolojik

Tablo 1 -Omik teknolojileri

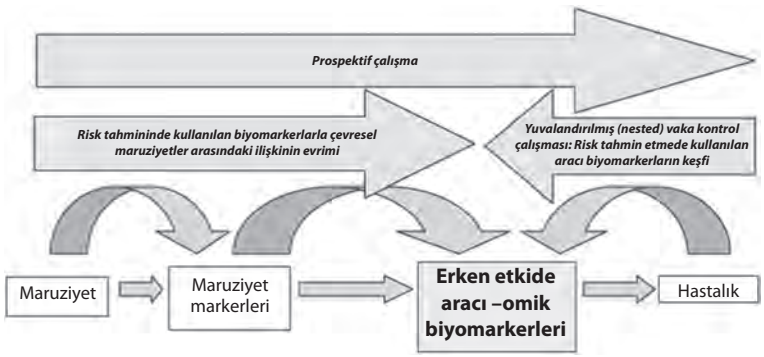
-Omik	Örnek platform	Özellikler
Transkriptomik	İnsan 4x44k DNA mikroarrayları	Bir hücre popülasyonunda mRNA moleküllerinin ekspresyon düzeylerinin analizi (gen ekspresyon profilinin çıkarılması). Hücre tipleri arasında zaman içinde büyük değişimler gösteren transkriptom çevresel değişimlere cevap olarak değişime uğrar
Proteomik [11]	Lumineks multianalit profil çıkarma sistemi	Genom tarafından kodlanan total proteini üretiminin analizi. Sıklıkla kompleks proteomik profildeki normal, benign veya hastalık statüsüne sahip proteinlerin tespitini sağlar [8,46]
Epigenomik [31]	Yüksek yoğunluklu DNA mikroarrayları	Geniş kapsamlı epigenetik proseslerin analizi (çoğunlukla DNA metilasyonu, histon modifikasyonları ile ilgili de olsa, mikro-RNA ve siRNA gibi protein kodlamayan RNA'ların gen ekspresyonundaki etkilerini de kapsar)
Metabolomik [13]	NMR spektroskopi veya LC- kütle spektrometresi	Herhangi bir zamanda bir hücre veya organizmada mevcut olan ve bireysel metabolik profilleri (ve cevapları) belirleyen düşük molekül ağırlıklı komple set analizi. Sık görülen hastalıkların başlangıçlarını tahmin etmekte kullanılabilir.

moleküllerin incelenmesinde kullanılan yüksek miktarda veri işleyebilen güçlü teknolojiler de gelişmeye başlamıştır. Bu teknolojiler genel olarak sonlarına gelen -omik eki ile tanınırlar. "Orta noktada buluşma" yaklaşımı çevresel etkilerin nedensel özelliklerini incelemeye olanak tanıyan bir yöntemdir. Patogenetik süreçlerde varsayılan aracı markerler olan -omik sinyallerinin özelliklerinin araştırılarak maruziyet ile hastalık arasındaki ilişkilerin ortaya çıkarılmasına dayanır.

2.1 Biyomarkerler ve -Omik Teknolojisi

Transkriptomik veya gene ekspresyonunun profilinin çıkarılması, proteomik, epigenetik ve metabolomik gibi yeni aracı biyomarkerler -omik teknolojileri ile tanımlanabilirler (Tablo 1). Bu aracı biyomarkerler maruziyet ile hastalık arasındaki süreçte etkili olan olaylarda direkt veya indirekt olarak rol oynayabilirler.

Aracı biyomarkerler çevresel hastalıkların patojenezi ile ilgili önemli mekanik bulgular sağlayabilirler. "-omik" teknolojileri klasik moleküler biyolojinin aksine, farklı kimyasallara ve toksisite tiplerine verilen hücresel cevabın tespit edilmesinde yararlanılan teknolojilerin kullanımına izin verirler. Böylece son derece büyük ölçekli mekanik bilgi sağlayabilirler. Daha önce yapılan çalışmaların sonuçları, -omik tabanlı biyomarkerlerin önerilen "orta noktada buluşma" yaklaşımı ile kullanılmasının, çevresel faktörlere maruziyet ile hastalıkların başlangıcı ve progresyonu arasındaki bağlantıların anlaşılmasını kolaylaştırabileceği hipotezini desteklemektedir.



Şekil 1 *"Orta Noktada Buluşma" yaklaşımı.*

2.2 "Orta Noktada Buluşma" Yaklaşımı

Yakın zamanda nedensel ilişkilerin tespit edilmesindeki zorluklarla baş edebilecek "orta noktada buluşma" (ONB) yaklaşımı olarak bilinen yaratıcı bir yaklaşım geliştirdik [13, 15]. Prospektif bir çalışmanın kapsamındaki bir kombinasyona dayanan bu yaklaşım şunları içerir: (a) Aracı biyomarker düzeyleri yüksek olan ve devamında hastalık gelişecek olan deneklerin prospektif taraması. (b) Bu biyomarkerlerin geçmişteki çevresel maruziyetler ile bağlantısını araştıran retrospektif araştırma (Şekil 1).

Bu yaklaşımın birinci basamağı maruziyet ve hastalık arasındaki ilişkiyi araştırır. İkinci basamak maruziyet biyomarkerleri ile erken etki gösteren aracı -omik biyomarkerleri arasındaki ilişkinin araştırılmasıdır; üçüncüsü de hastalık sonuçları ile aracı -omik biyomarkerleri arasındaki ilişkinin değerlendirilmesidir. Her üç basamakta da bulunabilecek ilişkiler arasında nedensel bir bağlantının varlığının mümkün olduğunu düşünüyoruz. (nedensel ilişkiyi araştırmakta kullanılan meşhur Hill kılavuzların kullanımı ile birlikte). Mendel randomizasyonu ile ONB yaklaşımı arasındaki benzerliklere rağmen, ONB yaklaşımında genetik enstrümanların kullanılmıyor olması nedeniyle, karışıklık ihtimali hala mümkündür.

Son yıllarda en kapsamlı araştırılan konulardan biri olsa da henüz tam olarak anlaşılamamış olan ilişkilerden bir tanesi, endokrin sistemi bozan çevresel faktörler ile meme kanseri arasındaki ilişkidir. Bu bölümde ONB yaklaşımı ile ilgili literatürleri inceleyerek, bu yaklaşımın endokrin bozucuları analiz etmekte nasıl kullanılabileceğini anlatacağız.

2.3 1. Basamak: Endokrin Bozucu Kimyasallar ve Meme Kanseri

Bir çok çalışma endokrin bozucu kimyasallara (EBK) maruziyet ile meme kanseri arasındaki riske odaklanmıştır. EBK'ler, endojen hormonlar ile etkileşerek (örn. taklit ve/

veya antagonize ederek) sentezlerini, sekresyonlarını, transportlarını, bağlanmalarını, etkilerini veya eliminasyonlarını değiştirerek endokrin sistemin fonksiyonlarını bozarak etki eden doğal veya sentetik bileşiklerdir. EBK maruziyeti çok çeşitli yollarla gerçekleşebilir. Tıbbi kullanım gibi bazı durumlarda kullanımları bilinçlidir. Ancak çoğunlukla istenmediği halde maruz kalınırlar. EBK'lerin çoğu BPA (bisfenol-A) örneğinde olduğu gibi ana maruziyet kaynağı olan gıdalarda bulunur.

2.4 2. Basamak: Endokrin Bozucu Kimyasallar ve Epigenomik

Bu örnekte odaklanacağımız -omik teknolojisi epigenomiktir. Ağustos 2012'ye kadar yayınlanan çalışmaları taradığımız PubMed aramasında ekteki arama terimlerini kullandık: "Endokrin bozucular" veya "Bisfenol-A" veya "Dietilstilbesterol (DES)" veya "Kadmiyum" veya "epigenomik" veya "epigenetik" veya "DNA metilasyonu" veya "histon modifikasyonu" veya "mikro-RNA".

Sonuçları eledikten sonra kullandığımız 26 makalede 11 tanesi birden fazla makalede geçen 1798 gen bildirilmiştir. Aşağıda bu makalelerdeki bulguların bir tanımı mevcuttur (genel bakış için bkz. Tablo 2). Görece olarak az sayıda miRNA bildirilmiş ve birden fazla çalışmada bahsedilen miRNA'ya rastlanmamıştır.

2.4.1 BPA

Bisfenol-A'ya maruziyeti araştıran hayvan modellerinde sağlığa tehdit oluşturabilecek epigenetik değişimler bulunmuştur. Farelerin perinatal ortamda yüksek ve düşük BPA dozlarına maruz kalmaları yavrularda hipometilasyona yol açmıştır [8, 52]; bir başka çalışmada da BPA maruziyeti ile oluşan epigenetik değişimlerin prostat kanseri riskini artırdığı bulunmuştur [12, 34]. İnsan hücre dizilerinde daha yakın zamanlarda yapılan çalışmalarda bisfenol-A maruziyeti ile DNA metilasyonu arasındaki ilişki araştırılmıştır. Weng ve ark. 3 mikroarray veri setini karşılaştırmıştır. BPA maruziyeti ile her üç setteki 170 genin farklı düzeylerde eksprese olduğunu tespit etmişlerdir (57 yukarı regülasyon, 113 aşağı regülasyon). Ayrıca hiyerarşik kümeleme çalışmalarında da yukarı regüle olan genlerin en çok ERa-negatif meme kanseri hücre dizilerinde, aşağı regüle olan genlerin ise en çok ERα-pozitif meme kanseri hücrelerinde bulunduğu tespit edilmiştir. Yine lizozom ile ilişkili membran protein 3'ün (LAMP3) aday geninde yapılan DNA metilasyon analizinde, özellikle ERa-pozitif meme kanseri hücre dizilerinde kontrollere göre artmış DNA metilasyon düzeyleri de tespit edilmiştir [50]. Başka bir çalışmada da BPA'ya maruz bırakılan insan meme epitel hücrelerdeki DNA metilasyonunun 6 gende arttığı tespit edilmiştir [35].

Avissar-Whiting ve ark. 6 gün boyunca BPA'ya maruz bırakılan üç farklı plasenta hücre dizisinde mikro-RNA'ların ekspresyonunu araştırmışlardır. Denetimsiz hiyerarşik kümeleme ile farklı hücre dizilerinde farklı ekspresyon paternleri tespit etmiştir. Ayrıca kullanılan hücre dizilerinin iki tanesinde vakalar ile kontroller arasında anlamlı fark bulunmuştur. Her iki hücre dizisinde farklı düzeyde eksprese olan 21 mi-RNA çakışması mevcuttu. Açıklama

Tablo 2 EDC maruziyeti sonrası farklı düzeyde metile olan meme kanseri ile ilişkili genler

Maruziyet	Çalışma, Yıl	Bulunan anlamlı ilişkilerin sayısı (n)	DYNC1LI2	ERLIN2	FGFR1	HN1L	IFNGR1	MOCS1	P16	PIM1	RUNX1T1	TAP2	VPS29
Maruziyet ile Epigenetik Karşılaştırması													
BPA	Dolinoy, 2007	1											
	Prins, 2008	8											
	Ho, 2008	8											
	Yaoi, 2008	13											
	Weng, 2010	170	X	X	X	X	X	X		X	X	X	
	Qin, 2012	6							X				
DES	Li, 1997, 2001, 2003	2											
	Sato, 2006	3											X
	Tang, 2008	14											X
	Sato, 2009	1											
	Bromer, 2009	1											
Cadmium	Benbrahim-Tallaa, 2007	2							X				
	Wang, 2011	1,574	X	X	X	X	X	X		X	X	X	
	Hossain, 2012	2											
Epigenetik ile Meme Kanseri Karşılaştırması													

(Devam ediyor)

Tablo 2 (devamı)

Maruziyet	Çalışma, Yıl	Bulunan anlamlı ilişkilerin sayısı (n)	DYNC1LI2	ERLIN2	FGFR1	HN1L	IFNGR1	MOCS1	P16	PIM1	RUNX1T1	TAP2	VPS29
	Lo, 2008	40							X				
	Jovanovic, 2010	43							X				
	Huang, 2010	186							X				
	Wang, 2010	14							X				
	Süijkerbuijk 2010	19											

Tablonun üst kısmında EBK (BPA, DES, kadmiyum) maruziyeti sonrası farklı düzeylerde metile olan genler mevcuttur. Alt bölümde epigenetik çalışmalarda meme kanseri ile ilişkili olduğu bildirilen genler görülmektedir. Bu tablonun amacı ONB yaklaşımının 2. ve 3. basamaklarında bahsedilen genleri karşılaştırmaktır.

eklenen 4 mi-RNA'nın sadece bir tanesi olan miR-146a (her iki hücre dizisinde de yukarı regüle olmuştur) RT-PCR kullanılarak valide edilmiştir [2]. Marsit ve ark.'nın aynı miRNA'nın folat eksikliği sonrası yukarı regüle olduğunu bildirmeleri de ilginçtir [30].

2.4.2 Dietilstilbestrol

İyi bilinen ve kapsamlı şekilde çalışılan bir diğer EBK de dietilstilbestroldur (DES). Epidemiyolojik çalışmalarda DES maruziyeti ile gözlenen etkinin kuşaklar arasında geçiş yapmasının gösterilmiş olması epigenetik faktörlerin rol oynadığının güçlü bir göstergesidir. Li ve ark. 1997 yılında yeni doğmuş farelerin DES'e maruz kalmaları ile laktoferin genindeki CpG bölgesindeki metilasyonda azalma olduğunu göstermiştir. Bu hipometilasyon uterin tümörlerde de gözlenmiştir [26]. Aynı yazarlar birkaç yıl sonra yeni doğan farelerin DES'e maruz kalmalarının c-fos genindeki exon-4 bölgesinde hipometilasyona neden olduğunu bildirmiştir. Ancak aynı azalmayı HOXA-10 ve HOXA-11 genlerinde tespit edememişlerdir [24, 25]. Çalıştıkları tüm fare genlerinin DES maruziyetinden sonra farklı düzeylerde eksprese oldukları ve üreme organlarını gelişiminde rol oynadıkları daha önce yapılan çalışmalarda bildirilmiştir [4, 29, 33, 51]. Bromer ve ark. da [5] DES'e maruz kalmış farelerin dişi yavrularındaki HOXA-10 genini araştırmış ve in utero maruziyet ile DNA metilasyonunda artış tespit etmişlerdir. Ancak aynı artış in vitro ve in vivo ortamda tespit edilememiştir. Tang ve ark. [44] DES'e maruziyet sonrası metilasyonları farklılaşan 14 gen (bu genlerin biri hariç hiçbiri daha önceki çalışmalarda yer almamıştır) bildirmişlerdir. DES maruziyeti sonrası fare uterus ve epididiminde genom boyunca farklı düzeylerde DNA metilasyonları (Restriction landmark genomic scanning [RLGS] tekniği ile araştırılmıştır) Sato ve ark. tarafından bildirilmiştir [39, 40].

DNA metilasyon çalışmalarına ek olarak mi-RNA'ları da araştıran birkaç çalışma mevcuttur. Hsu ve ark. MDEC hücrelerini (mamosfer kaynaklı epitel hücreleri) DES'e maruz bırakmış ve kontrollere kıyasla 82 mikro-RNA'nın ekspresyonunun değişime uğradığını (37 tanesi yukarı, 45 tanesi aşağı regüle olmuştur) tespit etmişlerdir. Bunlardan birini (miR-9-3) detaylı olarak incelediklerinde buldukları promotör hipermetilasyonunun meme kanseri riskinde artış ile ilişkili olabileceğini tespit etmişlerdir [15].

Lee ve ark. DES'e maruz bıraktıkları MCF-7 hücrelerinde miR-34b ekspresyonunda azalma bulmuştur [23]. Bu mikro-RNA'nın ekspresyonunun azalması daha önceki çalışmalarda DNA metilasyonunda artış ile ilişkili bulunmuştur [45].

Son olarak Warita ve ark. DES maruziyeti ile histon modifikasyonu arasındaki ilişkiyi araştırmıştır. TTE1 Leydig hücrelerinde bu ilişkiyi araştırmak için immunopresipitasyon (ChiP) ve PCR kullanmışlar ve P450scc geninin promotöründeki histon H3'de asetilasyonun azaldığını tespit etmişlerdir [49].

2.4.3 Kadmiyum

Kadmiyum EBK'lerin epigenetik değişimler ile ilişkisini araştıran birçok farklı araştırmanın odağındadır. Kadmiyum maruziyeti ile ilişkili farklı hayvan çalışmaları ile birlikte çeşitli hayvan hücre dizilerinin kullanıldığı çalışmalar da yapılmıştır. Takiguchi ve ark. bir hafta

süreye 2.5 μM kadmiyum uygulamasının TRL1215 (sıçan karaciğeri) hücrelerinde hipometilasyona yol açtığını bulmuştur. Ancak 10 haftalık maruziyet hipermetilasyona yol açmıştır (sonrasında hücreler muhtemelen değişime uğramıştır) [43]. Başka bir çalışmada da hem düşük (140 mg/kg CdC12) hem de yüksek (210 mg/kg CdC12) kadmiyum dozlarının 60 gün boyunca uygulanması ile tavuk karaciğer ve böbreğindeki metilasyonunun genel olarak arttığı tespit edilmiştir Zhu ve ark. sıçanların karaciğer ve testislerindeki LINE-1 metilasyonunu incelemek için COBRA kullanmıştır. Ancak hem postnatal 8. günde hem de 70. günde maruz kalan ve kalmayan fareler arasında bir fark bulamamışlardır. Ayrıca kadmiyum maruziyeti sonrası testisteki p53 promotör bölgesindeki metilasyon düzeylerinde de bir fark bulunmamıştır. Ancak kadmiyum maruziyetinin testisteki c-fos geninin bir bölümünde doğal olarak oluşan hipometilasyonu yavaşlattığı da tespit edilmemiştir [56].

Wang ve ark. tarafından sıçan karaciğerindeki epigenom boyunca MeDIP-chip testi kullanılarak yapılan çalışmada düşük doz, kronik kadmiyum maruziyetinin (maruz kalmayanlara göre) 385.000 probun metilasyon düzeylerindeki etkisi incelenmiştir [56]. Sonuçlarda 675 genin promotör bölgesinde hipermetilasyon, 899 genin promotör bölgesinde de hipometilasyon bildirmişlerdir. Apoptotik süreci regüle eden genlerin spesifik metilasyonlarının değerlendirilesinde de CASP8'in (ekspresyon azalmasına yol açar) hipermetile olduğunu TNF'in de (aynı şekilde ekspresyon azalmasına yol açar) hipometile olduğunu tespit etmişlerdir [47].

Benbrahim Tallaa ve ark. tarafından yayınlanan çalışmayı da kapsayan insan hücrelerinde veya hücre dizilerinde yapılan çalışmalarda insan prostat epitel hücrelerinin kadmiyuma maruz bırakılmaları sonrası genel bir DNA hipermetilasyonu meydan geldiği bildirilmiştir. Özellikle 2 tümör baskılayıcı genin (RASSF1A ve p16) promotör bölgesindeki CpG adacıklarındaki metilasyon düzeylerini araştırdıklarında, (maruz kalmayan hücrelere göre) ekspresyon azalmasına yol açan hipermetilasyon tespit etmişlerdir [3]. İnsan embriyo akciğer fibroblastlarının (HLF) kadmiyuma uzun süreli maruziyetinde genel hipermetilasyon olduğu bulunmuştur. Maruziyet artışı ile (sadece 1.2 ve 1.5 Imol/L konsantrasyonlarında) maruz kalmayan hücrelere göre doza bağlı anlamlı düzeyde metilasyon artışı olduğunu gözlemlemişlerdir [19]. Huang ve ark. [16] 2.0 IM kadmiyum maruziyetinin 24. ve 48. saatlerde K562 (kronik miyelojenöz lösemi hücre dizisi) hücrelerindeki DNA metilasyonunu genel olarak azalttığını tespit etmiştir.

İnsanlarda diyette mevcut olan kadmiyumun epigenetik etkilerini araştıran tek çalışma Hossain ve ark. tarafından yapılmıştır. Kan (kısa süreli maruziyetin göstergesi) ve idrar (uzun süreli maruziyetin göstergesi) örneklerinde kadmiyum seviyeleri ölçülmüştür. LINE-1 metilasyon düzeylerini ve p16 ve MLH1 promotörlerinin metilasyon seviyelerini ölçmek amacıyla periferik kan örnekleri alınmıştır. İdrarda yüksek kadmiyum seviyelerinin LINE-1'in hipometilasyonu ile ilgili olduğu bulunmuş ancak kandaki kadmiyum düzeyleri ile LINE-1 metilasyonu arasında bir ilişki tespit edilmemiştir. Ayrıca kan ve idrardaki kadmiyum düzeylerinin p16 ve MLH1 metilasyonları ile de bir ilişkisi bulunmamıştır [14].

Fabbri ve ark. tarafından yapılan çalışmada insan hepatoblastom hücrelerinde (HepG2) 10 μM kadmiyum ekspresyonu sonrasındaki mikro-RNA değişimleri ölçülmüştür. Çalışmalarında listeledikleri 12 miRNA'nın bazılarının tümör supresyonunda rol oynadıklarına inanılmaktadır [9].

2.4.4 Replike Olan Bağlantılar

Yukarıda bahsedilen çalışmalarda bulunan genlerin karşılaştırmasında, iki bağımsız çalışmada 11 genin bildirildiğini gözledik. Bu genler, epigenomik ile meme kanseri arasındaki ilişkileri inceleyen çalışmalarda bulunan genlerle aşağıdaki bölümde ONB yaklaşımına uygun olarak karşılaştırılmıştır.

2.5 3. Basamak: Epigenomik ve Meme Kanseri

ONB yaklaşımının son basamağı -omik teknolojisi ile meme kanseri arasındaki ilişkiyi tanımlamaktadır. Yeni biyomarkerlerin bulunması sadece meme kanserinin tespitinde değil, aynı zamanda tiplerine ayrılabilmesi ve tedavisinde de hayati rol oynamaktadır. Meme kanseri epigenetik ve diğer -omik teknolojilerinin en erken ve yoğun olarak kullanıldığı hastalıklar arasındadır. Bu tekniklerin meme kanseri ile ilişkisi hakkında çok sayıda makale yayınlandığı için, burada kullandıklarımızı epigenetik ile ilgili güncel bakış açıları sunanlarla kısıtlamak durumunda kaldık.

Lo ve ark. 2008 yılında meme kanserindeki DNA metilasyonunu da içeren epigenetik değişimleri içeren literatür taraması yapmıştır [27]. Bu hastalığı taşıyan bireylerde hipermetile olan 40 gen tanımlamışlardır. Bu genlerden bir tanesinin EBK'lara maruziyet sonrası farklı düzeyde metile olduğu bulunmuştur. Hem Jovanovic [21] ve ark. hem de Huang ve ark. [17] yakın zamanda meme kanserinin epigenetiği hakkında geniş kapsamlı incelemeler yayınlamışlardır. İki yazar da insan meme kanseri hücrelerinde hipermetile ve hipometile olan genlerin listesini yapmıştır. Jovanovic ve ark. [21] meme kanserinde en sık olarak farklı düzeylerde metile olan genlerin listesini yapmıştır. Bu genlerden 6 tanesi hipometile, 37 tanesi ise hipermetile olmaktadır. Bunlardan bir tanesinden yukarıda anlatılan maruziyet ve -omik çalışmalarında bahsedilmiştir. Huang ve ark. meme kanserinde çok sayıda genin (toplam 186) genel olarak hipermetile veya hipometile olduğunu bildirmiştir. Bu uzun listede bulunan bir genin EBK maruziyeti ile farklı düzeyde eksprese olduğu en az iki çalışma tarafından da bildirilmiştir Son olarak Wang ve ark. ile Suijkerbuijk ve ark. belirli genlerin metilasyon düzeylerinin meme kanserinde biyomarker olarak kullanılma ihtimalini incelemişlerdir. Bu yazarların bildirdikleri 14 ve 19 genden, EBK maruziyeti sonrası epigenetik değişime uğrayan 1 ve 0 genleri de iki çalışmada tanımlanmıştır [41, 48]. Tablo 2'de bu konu ile ilgili genel bir değerlendirme mevcuttur. Epigenetik ile meme kanseri karşılaştırma çalışmalarında bulunan genlerin, iki bağımsız maruziyet ile -omik karşılaştırma çalışmasında bildirilen 11 "valide" edilmiş gen ile karşılaştırmasında öne çıkan bir adet genin fonksiyonu aşağıda tanımlanmıştır.

2.5.1 P16

P16 sikline bağımlı kinaz inhibitörü 2A (melanom, P16, CDK4'ü inhibe eder) adı verilen genin prototipidir. Farklı isimleri arasına p16INK4a ve CDKN2A en sık kullanılanlarıdır. İnsan genomunda 9p21 bölgesinde bulunur. Diğer fonksiyonlarına ek olarak hücre döngüsünün durdurulması ve apoptozda önemli rol oynar. Farklı kanser tiplerinde

mutasyona uğradığı ve silindiği için tümör baskılayıcı bir gen olarak tanınır. Kanserde, promotör bölgesinin sıklıkla hipermetile olarak bu genin ekspresyonunda azalmaya ve sessizleştirilmesine yol açtığı gösterilmiştir [37].

3 Tartışma

Meme kanseri ve çevresel maruziyetleri araştıran güncel çalışmaların çoğunun hedefi -omik teknolojilerine dayanan aracı biyomarkerlerin tanımlanmasıdır. Bu biyomarkerlerin tanımlanabilmesi amacıyla üç olası ilişki araştırılmıştır: (1) Maruziyet ve hastalık arasındaki ilişkiler. (2) Maruziyet ile erken etki gösteren aracı -omik biyomarkerler arasındaki ilişkiler. (3) Hastalık sonuçları ile aracı -omik biyomarkerler arasındaki ilişkiler. Her üç basamakta bulunabilecek ilişkiler arasında nedensel bir bağlantının ve devamında yeni bir biyomarkerin bulunması mümkündür. Ancak arada bir ilişki olmama ihtimali de hala mümkündür.

Biyomarker validasyonunun ana amacı biyomarker değişkenliğinin tanımlanmasıdır. Epidemiyolojik çalışmaların dizaynlarını ve yorumlanmalarını etkileyen başlıca biyomarker değişkenlik komponentleri şunlardır: (1) Denekle ilgili biyomarker değişimleri (denekler arası ve deneğin kendi içindeki değişimleri de kapsar). (2) Ölçüm hatalarına bağlı değişkenlikler (laboratuarlar arası ve laboratuarın kendi içindeki değişkenlikleri de kapsar). (3) Randomize hatalar. Bu nedenle, biyomarkerler kullanılarak yapılan çalışmalarda mümkün olan yerlerde şu bilgilerin toplanması gerekmektedir: (1) Örnek alımının tekrarı (markera bağlı olarak günlük, aylık veya yıllık değişkenlikler önem taşıyabilir). (2) Potansiyel karıştırıcılar ile ilgili bilgiler (denekler arası değişkenlikleri etkileyen faktörler). (3) Örneklerin alınmasının ve laboratuar analizlerinin hangi koşullar altında gerçekleştiği hakkında bilgi (toplu örnek alımı, testler ve spesifik prosedürler) [46].

Güncel literatürde, p16 geninin EBK'ya maruziyet sonrası farklı düzeylerde metile olduğu bildirilmektedir. Ayrıca meme kanseri hücre ve dokularında da farklı düzeylerde metile olmaktadır. EBK maruziyeti büyük oranda diyet yoluyla gerçekleşir. Bu geni inceleyen birçok çalışma olmasına rağmen, hiçbir çalışmanın ONB yaklaşımının her üç basamağını da incelememiş olması problem teşkil etmektedir. Bu nedenle biyomarker değişkenliğinin tanımlanması güçtür. Yine de bu genin her üç basamakta da tespit edilmiş olması, EDC maruziyeti ile meme kanseri riski arasındaki nedensel bağlantının varlığının inandırıcılığını artırmaktadır.

Potansiyel aracı biyomarkerler ile ilgili önemli zorluklardan bir tanesi maruziyet ile hastalık arasındaki nedensel bağlantıya ait olup olmadıklarının ya da sadece bir maruziyetin veya hastalığın yan etkisi olup olmadıklarının ve diğer maruziyetler nedeniyle ölçüm doğruluklarının bozulup bozulmadığının anlaşılmasıdır. EBK'lerin kandaki düzeylerinin ölçülmesini sağlayabilecek bir yöntem meme kanseri riskinin tespitinin diğer karıştırıcı risk faktörlerinden bağımsız olarak belirlenmesine katkı yapabilir. Bu tür bir yöntem EBK düzeylerinin farklı genotipler veya polimorfizmler ile ilişkisini gösterebilir.

Ayrıca farklı genotip ve polimorfizmlere göre hastalık riski tahmin edilebilir (Mendel randomizasyonu konsepti). Örnek olarak CYP1A1 geninde polimorfizm olan postmenopozal beyaz kadınlarda yüksek PCB (poliklorlu feniller) maruziyetinin daha yüksek meme kanseri ile ilişkili olduğunu gösteren üç çalışma verilebilir [22, 32, 54]. CYP1A1 geninin farklı alelleri karıştırıcı faktörlerden bağımsız oldukları ve randomize bir şekilde nesilden nesile aktarıldıkları için bu gendeki polimorfizmin meme kanseri ile ilişkili olduğu bulgusu, EBK'lerin hastalığın etyolojisinde oynadığı rolün indirekt ispatı olabilir. Ancak diğer birçok kimyasal da CYP1A1 tarafından metabolize edilmektedir.

Hem Mendel randomizasyon konseptinin hem de ONB yaklaşımının aracı biyomarkerlerin tanımlanmasında büyük potansiyele sahip olduğu netleşmiştir. Ancak bu modellerin pratikte uygulanmaları ile ilgili zorluklar hala karşımızda durmaktadır.

Teşekkürler Bu çalışma Compagnia di San Paolo tarafından PV ve KVV'ye sağlanan destek ile gerçekleşmiştir.

Referanslar

1. Abdellatif M (2012) Differential expression of microRNAs in different disease states. Circ Res 110:638–650
2. Avissar-Whiting M, Veiga KR, Uhl KM et al (2010) Bisphenol A exposure leads to specific microRNA alterations in placental cells. Reprod Toxicol 29:401–406
3. Benbrahim-Tallaa L, Waterland RA, Dill AL et al (2007) Tumor suppressor gene inactivation during cadmium-induced malignant transformation of human prostate cells correlates with overexpression of de novo DNA methyltransferase. Environ Health Perspect 115:1454–1459
4. Block K, Kardana A, Igarashi P et al (2000) In utero diethylstilbestrol (DES) exposure alters Hox gene expression in the developing mullerian system. FASEB J 14:1101–1108
5. Bromer JG, Wu J, Zhou Y et al (2009) Hypermethylation of homeobox A10 by in utero diethylstilbestrol exposure: an epigenetic mechanism for altered developmental programming. Endocrinology 150:3376–3382
6. Christensen BC, Marsit CJ (2011) Epigenomics in environmental health. Front Genet 2:84
7. Davey SG, Ebrahim S (2003) 'Mendelian randomization': can genetic epidemiology contribute to understanding environmental determinants of disease? Int J Epidemiol 32:1–22
8. Dolinoy DC, Huang D, Jirtle RL (2007) Maternal nutrient supplementation counteracts bisphenol A-induced DNA hypomethylation in early development. Proc Natl Acad Sci USA 104:13056–13061
9. Fabbri M, Urani C, Sacco MG et al (2012) Whole genome analysis and microRNAs regulation in HepG2 cells exposed to cadmium. ALTEX 29:173–182
10. Feinberg AP, Tycko B (2004) The history of cancer epigenetics. Nat Rev Cancer 4:143–153
11. Fliser D, Novak J, Thongboonkerd V et al (2007) Advances in urinary proteome analysis and biomarker discovery. J Am Soc Nephrol 18:1057–1071
12. Ho SM, Tang WY, de Belmonte FJ et al (2006) Developmental exposure to estradiol and bisphenol A increases susceptibility to prostate carcinogenesis and epigenetically regulates phosphodiesterase type 4 variant 4. Cancer Res 66:5624–5632
13. Davey SG, Ebrahim S (2003) Mendelian randomization: can genetic epidemiology contribute to understanding environmental determinants of disease? Int J Epidemiol 32:1–22
14. Hossain MB, Vahter M, Concha G et al (2012) Low-level environmental cadmium exposure is associated with DNA hypomethylation in Argentinean women. Environ Health Perspect 120:879–884

15. Vineis P, Perera F (2007) Molecular epidemiology and biomarkers in etiologic cancer research: the new in light of the old. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 16:1954–1965
16. Huang D, Zhang Y, Qi Y et al (2008) Global DNA hypomethylation, rather than reactive oxygen species (ROS), a potential facilitator of cadmium-stimulated K562 cell proliferation. Toxicol Lett 179:43–47
17. Huang TH, Esteller M (2010) Chromatin remodeling in mammary gland differentiation and breast tumorigenesis. Cold Spring Harb Perspect Biol 2:a004515
18. Jensen TJ, Novak P, Eblin KE et al (2008) Epigenetic remodeling during arsenical-induced malignant transformation. Carcinogenesis 29:1500–1508
19. Jiang G, Xu L, Song S et al (2008) Effects of long-term low-dose cadmium exposure on genomic DNA methylation in human embryo lung fibroblast cells. Toxicology 244:49–55
20. Jo WJ, Ren X, Chu F et al (2009) Acetylated H4K16 by MYST1 protects UROtsa cells from arsenic toxicity and is decreased following chronic arsenic exposure. Toxicol Appl Pharmacol 241:294–302
21. Jovanovic J, Ronneberg JA, Tost J et al (2010) The epigenetics of breast cancer. Mol Oncol 4:242–254
22. Laden F, Ishibe N, Hankinson SE et al (2002) Polychlorinated biphenyls, cytochrome P450 1A1, and breast cancer risk in the Nurses' Health Study. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 11:1560–1565
23. Lee YM, Lee JY, Ho CC et al (2011) miRNA-34b as a tumor suppressor in estrogen-dependent growth of breast cancer cells. Breast Cancer Res 13:R116
24. Li S, Hansman R, Newbold R et al (2003) Neonatal diethylstilbestrol exposure induces persistent elevation of c-fos expression and hypomethylation in its exon-4 in mouse uterus. Mol Carcinog 38:78–84
25. Li S, Ma L, Chiang T et al (2001) Promoter CpG methylation of Hox-a10 and Hox-a11 in mouse uterus not altered upon neonatal diethylstilbestrol exposure. Mol Carcinog 32:213–219
26. Li S, Washburn KA, Moore R et al (1997) Developmental exposure to diethylstilbestrol elicits demethylation of estrogen-responsive lactoferrin gene in mouse uterus. Cancer Res 57:4356–4359
27. Lo PK, Sukumar S (2008) Epigenomics and breast cancer. Pharmacogenomics 9:1879–1902
28. Luger K, Mader AW, Richmond RK et al (1997) Crystal structure of the nucleosome core particle at 2.8 Å resolution. Nature 389:251–260
29. Ma L, Benson GV, Lim H et al (1998) Abdominal B (AbdB) Hoxa genes: regulation in adult uterus by estrogen and progesterone and repression in mullerian duct by the synthetic estrogen diethylstilbestrol (DES). Dev Biol 197:141–154
30. Marsit CJ, Eddy K, Kelsey KT (2006) MicroRNA responses to cellular stress. Cancer Res 66:10843–10848
31. Martínez L, Jiménez V, García-Sepúlveda C et al (2011) Impact of early developmental arsenic exposure on promotor CpG-island methylation of genes involved in neuronal plasticity. Neurochem Int 58:574–581
32. Moysich KB, Shields PG, Freudenheim JL et al (1999) Polychlorinated biphenyls, cytochrome P4501A1 polymorphism, and postmenopausal breast cancer risk. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 8:41–44
33. Newbold RR, Hanson RB, Jefferson WN (1997) Ontogeny of lactoferrin in the developing mouse uterus: a marker of early hormone response. Biol Reprod 56:1147–1157
34. Prins GS, Tang WY, Belmonte J et al (2008) Perinatal exposure to oestradiol and bisphenol A alters the prostate epigenome and increases susceptibility to carcinogenesis. Basic Clin Pharmacol Toxicol 102:134–138
35. Qin XY, Fukuda T, Yang L et al (2012) Effects of bisphenol A exposure on the proliferation and senescence of normal human mammary epithelial cells. Cancer Biol Ther 13:296–306
36. Ren X, McHale CM, Skibola CF et al (2011) An emerging role for epigenetic dysregulation in arsenic toxicity and carcinogenesis. Environ Health Perspect 119:11–19

37. Rocco JW, Sidransky D (2001) p16(MTS-1/CDKN2/INK4a) in cancer progression. Exp Cell Res 264:42–55
38. Salnikow K, Zhitkovich A (2008) Genetic and epigenetic mechanisms in metal carcinogenesis and cocarcinogenesis: nickel, arsenic, and chromium. Chem Res Toxicol 21:28–44
39. Sato K, Fukata H, Kogo Y et al (2006) Neonatal exposure to diethylstilbestrol alters the expression of DNA methyltransferases and methylation of genomic DNA in the epididymis of mice. Endocr J 53:331–337
40. Sato K, Fukata H, Kogo Y et al (2009) Neonatal exposure to diethylstilbestrol alters expression of DNA methyltransferases and methylation of genomic DNA in the mouse uterus. Endocr J 56:131–139
41. Suijkerbuijk KP, van Diest PJ, van der Wall E (2011) Improving early breast cancer detection: focus on methylation. Ann Oncol 22:24–29
42. Tabish AM, Poels K, Hoet P et al (2012) Epigenetic factors in cancer risk: effect of chemical carcinogens on global DNA methylation pattern in human TK6 cells. PLoS ONE 7:e34674
43. Takiguchi M, Achanzar WE, Qu W et al (2003) Effects of cadmium on DNA-(Cytosine-5) methyltransferase activity and DNA methylation status during cadmium-induced cellular transformation. Exp Cell Res 286:355–365
44. Tang WY, Newbold R, Mardilovich K et al (2008) Persistent hypomethylation in the promoter of nucleosomal binding protein 1 (Nsbp1) correlates with overexpression of Nsbp1 in mouse uteri neonatally exposed to diethylstilbestrol or genistein. Endocrinology 149:5922–5931
45. Toyota M, Suzuki H, Sasaki Y et al (2008) Epigenetic silencing of microRNA-34b/c and B-cell translocation gene 4 is associated with CpG island methylation in colorectal cancer. Cancer Res 68:4123–4132
46. Vineis P, Perera F (2007) Molecular epidemiology and biomarkers in etiologic cancer research: the new in light of the old. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 16:1954–1965
47. Wang B, Li Y, Tan Y et al (2012) Low-dose Cd induces hepatic gene hypermethylation, along with the persistent reduction of cell death and increase of cell proliferation in rats and mice. PLoS ONE 7:e33853
48. Wang W, Srivastava S (2010) Strategic approach to validating methylated genes as biomarkers for breast cancer. Cancer Prev Res (Phila) 3:16–24
49. Warita K, Mitsuhashi T, Sugawara T et al (2010) Direct effects of diethylstilbestrol on the gene expression of the cholesterol side-chain cleavage enzyme (P450scc) in testicular Leydig cells. Life Sci 87:281–285
50. Weng YI, Hsu PY, Liyanarachchi S et al (2010) Epigenetic influences of low-dose bisphenol A in primary human breast epithelial cells. Toxicol Appl Pharmacol 248:111–121
51. Yamashita S, Takayanagi A, Shimizu N (2001) Effects of neonatal diethylstilbestrol exposure on c-fos and c-jun protooncogene expression in the mouse uterus. Histol Histopathol 16:131–140
52. Yaoi T, Itoh K, Nakamura K et al (2008) Genome-wide analysis of epigenomic alterations in fetal mouse forebrain after exposure to low doses of bisphenol A. Biochem Biophys Res Commun 376:563–567
53. Zhang J, Fu Y, Li J et al (2009) Effects of subchronic cadmium poisoning on DNA methylation in hens. Environ Toxicol Pharmacol 27:345–349
54. Zhang Y, Wise JP, Holford TR et al (2004) Serum polychlorinated biphenyls, cytochrome P-450 1A1 polymorphisms, and risk of breast cancer in Connecticut women. Am J Epidemiol 160:1177–1183
55. Zhou X, Li Q, Arita A et al (2009) Effects of nickel, chromate, and arsenite on histone 3 lysine methylation. Toxicol Appl Pharmacol 236:78–84
56. Zhu H, Li K, Liang J et al (2011) Changes in the levels of DNA methylation in testis and liver of SD rats neonatally exposed to 5-aza-2′-deoxycytidine and cadmium. J Appl Toxicol 31:484–495

Kanser ve Yaşlanmada Diyet Epigenetiği

Trygve O. Tollefsbol

Özet

Kanserde ve yaşlılıkta sıklıkla görülen epigenetik anormallikler, bu süreçlerin önemli bir komponentini oluştururlar. Ancak epigenetik proseslerin belki de en önemli özelliği reversibl olmalarıdır. Kanser ve yaşlanmada rol oynayan genetik etkenlerin aksine, epigenetik anormallikler görece olarak daha kolay düzeltilebilirler. Kanser ve yaşlanmadaki epigenetik değişimleri hedef alan en yaygın yaklaşımlardan birisi diyetin kontrolüdür. Amaçlanan hedefe ulaşabilmek sadece diyetin kalitesini değil tüketilen kalori miktarını da hedeflemekle mümkün olabilir. Turpgiller ve yeşil çayda bulunan sulforafan gibi birçok fitokimyasalın antikanser epigenetik etkileri vardır. Ayrıca kansere ilave olarak yaşla ilişkili diğer hastalıklara bağlı olarak ortaya çıkan epigenetik anormalliklerin önlenmesinde veya tedavisinde etkilidirler. Benzer şekilde tüketilen kalori miktarının da kanserin önlenmesinde ve yaşamın uzatılmasında epigenetik aracıların kontrolü yoluyla fayda sağladığı ispatlanmıştır. Bu bölümün amacı kanser ve yaşlanma epigenetiğindeki en güncel gelişmeleri değerlendirmek ve bu biyolojik prosesleri hedefleyen ve sağlık üzerinde önemli etkileri ve dönüştürebilme potansiyeli olan diyet girişimleriyle ilişkili gelişmelere ışık tutmaktır.

T. O. Tollefsbol
Department of Biology, Centerfor Aging, Comprehensive Cancer Center, Nutrition Obesity Research Center, Comprehensive Diabetes Center, University of Alabama, Birmingham, AL, USA

T. O. Tollefsbol (✉)
University Boulevard, CH175, 1300, Birmingham, AL 35294-1170, USA
e-mail: trygve@uab.edu

V. Zappia et al. (eds.), *Advances in Nutrition and Cancer,*
Cancer Treatment and Research 159, DOI: 10.1007/978-3-642-38007-5_15,
© Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2014

Anahtar Kelimeler

Nütrisyon • Kanser • Epigenetik • Diyet • Yaşlanma

Kısaltmalar

CR	Kalori kısıtlaması
DNMT	DNA metiltransferaz
EGCG	(-)-epigallokateçin-3-gallat
HAT	Histon metiltransferaz
HDAC	Histon deasetilaz
hTERT	İnsan telomeraz revers transkriptaz
miRNA	mikro RNA
SAM	S-adenozilmetionin
SFN	Sulforafan
siRNA	Kısa düzenleyici RNA
SIRT1	Sirtuin 1

İçindekiler

1 Giriş 258
2 Kanser Epigenetiği ve Diyet Girişimleri 259
2.1 Kanserin Önlenmesi ve Tedavisinde Epigenetik Diyet 260
3 Yaşlanma Epigenetiği: Diyet Faktörlerinin Etkisi 261
3.1 Besin Öğeleri Miktarları, Epigenetik ve Yaşlanma 262
3.2 Diyet ve Yaşlanma Epigenetiği 262
3.3 Glukoz Kısıtlaması ve Hayflick Limitinin Artırılması 263
4 Sonuçlar 263
Referanslar 264

1 Giriş

Epigenetiğin birçok farklı tanımı mevcut olsa da muhtemelen en yaygın kabul göreni epigenetik proseslerin kalıtsal olan ancak DNA sekansı ile kodlanmayan değişimlerle ilişkili olduğudur. Çok sayıda epigenetik mekanizma mevcuttur. Memelilerdeki en önemli üç mekanizma DNA metilasyonu, histon modifikasyonu ve protein kodlamayan RNA'lardır.

DNA metilasyonu en fazla araştırılmış olan epigenetik prosestir. Primer olarak CpG dinükleotidlerinde, S-adenozilmetioninden (SAM) enzimatik yolla alınan metil ekinin (CH3) sitozinin 5. pozisyonuna eklenmesine dayanır. Bu proses memeli sistemlerinde bulunan üç majör metiltransferaz (DNMT1, DNMT3A ve DNMT3B) tarafından yü-

rütülür. DNMT1 büyük oranda her mitotik bölümde korunan metilasyon paterninin sürdürülmesinden sorumludur. DNMT3A ve DNMT3B ise ağırlıkla yeni metilasyondan sorumludur. Daha önce metile olmayan sitozindeki yeni metile sitozinlerin (5-metilsitozinler) oluşumunda rol oynarlar. Genel olarak bir genin regüle edici bölgesindeki genlerin metilasyon oranı arttıkça promotörden o oranda az transkripsiyon oluşur. Ancak telomerazın ana regüle edici geni olan insan telomeraz revers transkriptazı (hTERT) kodlayan gen bu dogmaya önemli bir istisna oluşturur [11, 44].

Epigenetik değişimlere histon modifikasyonları da aracılık eder. Histon asetilasyon ve metilasyonları bu modifikasyonlar arasında en fazla araştırılmış olanlarıdır. Ancak fosforilasyon, ubikutin eklenmesi, biyotinlenme, sumolasyon ve ADP ribozilasyonu da mevcuttur. Histon modifikasyonlarını gerçekleştiren enzimlerin sayısı, DNA metilasyonunu yürütenlere göre daha fazladır. Bunlardan kanser ve yaşlanma ile ilgili olan histon asetiltransferazlar (HAT) ve histon deaktilazlar (HDAC) en fazla ilgi çekenleridir [26]. Genel olarak histon amino kuyrukları ne kadar fazla asetillenirse histonları içeren gen promotör bölgelerinin transkripsiyonel aktiviteleri de o oranda artar [7].

Memeli sistemlerindeki üçüncü majör epigenetik kontrol tipi olan protein kodlamayan RNA'lar da gen ekspresyonunda önemli rol oynarlar. Örneğin tek zincirli protein kodlamayan RNA'lardan oluşan mikroRNA (miRNA) genel olarak 21-23 nükleotid uzunluğundadır. Bu sekanslar gen ekspresyonunu gen transkriptlerinin stabilitesini değiştirerek ve degradasyon transkriptlerini hedefleyerek baskılarlar. Ancak miRNA gen transkripsiyonunda artışa da neden olabilir [36]. Günümüzde memelilerdeki genlerin büyük yüzdesini regüle edebilen birçok miRNA tanımlanmıştır [14].

2 Kanser Epigenetiği ve Diyet Girişimleri

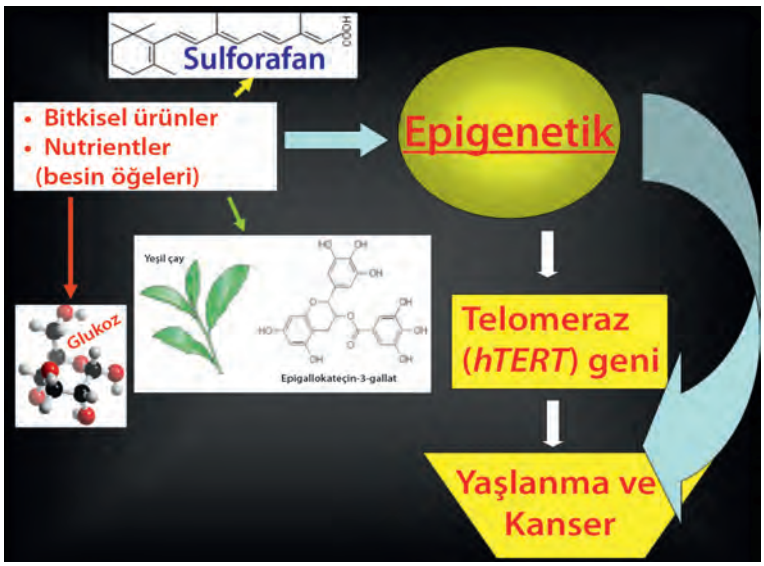
Diyet gibi çevresel faktörlerin gen ekspresyonunu etkilediği ve kanser gelişimine epigenetik mekanizmalar ile katkı yaptıkları iyi bilinmektedir [20]. Kanserde oluşan gen defektlerinin yarısından fazlasının epigenetik değişimlerle oluşması konunun önemini (genetik mutasyonlara göre) göstermektedir [23]. DNA hipometilasyonu kanser hücrelerinde nadir görülen bir durum olmayıp, sıklıkla tümör baskılayıcıları gibi önemli genlerin inaktivasyonuna yol açar [3]. DNA metilasyonundaki bu değişimler, kanserin oluşumunun erken dönemlerinde rol oynayarak, hücresel proliferasyon anormalliklerine yol açarlar. Ayrıca daha önce normal olan hücrelerin ölümsüzleşmesine neden olurlar. Histon modifikasyonlarında değişimler de kanser hücrelerinde sıklıkla görülür. Örneğin, kanser hücrelerinde çok sık görülen HDAC aktivite artışı epigenetik gen ekspresyonu üzerindeki etkileri ile tümörijeneze yol açabilir [13]. miRNA değişimleri kanserde sık görülür. Bu değişimler sıklıkla kanserin başlangıcı ve progresyonunda rol oynayan genlerin ekspresyonlarındaki defektler ile oluştur [14]. Belki de en önemlisi olan kanserdeki gen regülasyon anormalliklerinin kontrolündeki epigenetik proseslerin kollektif

etkileşimlerinin giderek daha fazla ilgi çekmesidir. Örnek vermek gerekirse epigenetik mekanizmaların kanser hücrelerindeki gen ekspresyonlarında değişime yol açmaları nadir görülen bir durum değildir [15].

2.1 Kanserin Önlenmesi ve Tedavisinde Epigenetik Diyet

Biyoaktif bileşiklerden oluşan birçok doğal diyet ajanının kanserin önlenmesi ve tedavisinde etkili oldukları gösterilmiştir. Bu nutrasötikler sıklıkla faydalı epigenetik değişimlere aracılık yaparlar [38, 50]. Bu nedenle epigenomu etkileyen ve kanserin önlenmesinde ve kemoterapötik stratejiler ile birlikte kullanılabilen "epigenetik diyet" kavramını geliştirdik [18].

Antikanser özelliklere sahip olduğu çok sayıda çalışmada gösterilen en önemli bileşiklerden biri yeşil çaydan elde edilen (-)-epigallokateçin-3-gallatdır (EGCG). Birçok çalışmada yeşil çay (EGCG) tüketimi ile çeşitli kanser türlerinin inhibisyonu arasında pozitif bir bağlantı olduğu gösterilmiştir [6, 25, 48]. EGCG'nin kanser hücreleri üzerinde (antioksidan etkisi gibi) farklı etkilere sahip olmasının yanında, DNMT'leri direkt



Şekil 1 Epigenetik diyetin komponentlerinin epigenetik, telomeraz (hTERT) ile yaşlanma ve kanserdeki etkileri. Turpgillerden elde edilen sulforafan ve (-)-epigallokateçin-3-gallat (EGCG) gibi (yapıları şekilde mevcuttur) bitkisel ürünler epigenetik prosesleri modifiye ederek yaşlanma ve kanser üzerinde direkt olarak etki gösterebilirler. Hem yaşlanma hem de kanserde önemli rol oynayan hTERT'in aşağı regülasyonuna da yol açabilirler. Fitokimyasalların epigenetik modifikasyonlara yol açma mekanizmaları bileşiğe göre farklılıklar gösterebilir. Glukoz kısıtlaması da epigenetik prosesleri etkileyerek yaşlanma ve kanser süreçlerini direkt olarak DNMT'ler ile etkileşime girerek etkileyebilir [16].

etkileşim yoluyla inhibe edebildiği de gösterilmiştir [16]. Bu şekilde kanser hücrelerindeki tümör baskılayıcı epigenetik sessizleştirmeyi etkili bir şekilde geriye çevirebilir ve bu hücrelerdeki apoptoz indüklenebilir. Ayrıca DNMT'nin EGCG tarafından inhibe edilmesinin hTERT'i aşağı regüle ederek kanser hücrelerindeki telomerazların supresyonuna yol açtıklarını da tespit ettik [4, 41]. Kanser hücrelerindeki hTERT aktivitesi promotörüne bağlanan represörler nedeniyle gen düzenleyici bölgesindeki DNA metilasyonundaki artış ile ilişkilidir [4]. Telomerazlar tümör progresyonunda çok önemli oldukları için, telomeraz aktivitesinin EGCG medyatörlüğündeki aşağı regülasyonunun kanserin önlenmesi ve tedavisinde önemli etkileri vardır (Şekil 1).

Epigenetik etkileri olan bir diğer önemli diyet komponenti de brokoli, karnabahar, Brüksel lahanası ve lahana gibi turpgillerde bulunan sulforafandır (SFN). Ancak SFN'nin DNMT1 ve DNMT3A'yı inhibe ettiğini göstermiş olsak ta [39], en güçlü etkilerini HDAC aktivitesinin inhibisyonu yoluyla göstermektedir [12, 42, 43, 47]. HDAC'lar yukarıda da bahsedildiği üzere kanser hücrelerinde sıklıkla artarlar. HDAC aktivitesinin SFN tarafından inhibisyonu kanser hücrelerindeki HDAC artışının önlenmesinde önemli bir potansiyele sahiptir. hTERT histon asetilasyon/deasetilasyonu ile de kontrol edildiği için [11], SFN'nin hTERT'in meme kanseri hücrelerinin gen regülasyonunu etkileme düzeylerini değiştirip değiştirmediğini test ettik. MCF-7 ve MDA-MB-231 hücrelerine SFN uygulanmasının hTERT'i doz ve zamana bağlı olarak aşağı regüle ettiğini tespit ettik (Şekil 1). SFN ile indüklenen hiperasetilasyon hTERT'in gen regüle edici bölgesine MAD1 ve CTCF gibi birçok hTERT represör proteinin bağlanmasını kolaylaştırır [39]. Ayrıca siRNA kullanan CTCF azalmasının meme kanseri hücrelerindeki SFN ile indüklenen hTERT aşağı regülasyonunu da zayıflattığını tespit ettik [39].

Yeşil çaydaki EGCG ve turpgillere ailesine ait sebzelerdeki SFN gibi diyet bileşiklerinin birçok farklı etkileri de mevcuttur. Bu bileşiklerin kanserin başlangıç ve progresyonunda rol oynayan ana genlerin epigenetik kontrolünü büyük oranda etkiledikleri kesindir [38]. Ayrıca EGCG ve SFN'ye ek olarak kanserin önlenmesinde oldukça etkili olan birçok diyet bileşiği de mevcuttur. Örneğin kurkumin (zerdeçal), resveratrol (üzüm ve şarap) ve genistein (soya fasulyesi) ve daha birçok fitokimyasal epigenetik potansiyelleri nedeniyle ciddi anlamda ilgi çekmektedir [38]. Epigenetiği modifiye eden gıdalar ve içeceklerin dünyada kanser insidansının azaltılmasında önemli rol oynayacağına inanıyoruz. Bu nedenle epigenetik diyet kullanımını sadece kanserlerin önlenmesinde değil, belki de erken evrelerdeki kanserlerin tedavisindeki muhtemel etkileri nedeniyle de önerilmektedir [18]. Bu fitokimyasalların diyette kombine halde kullanımları da kanser insidansını azaltmada oldukça makul bir yaklaşımdır [40].

3 Yaşlanma Epigenetiği: Diyet Faktörlerinin Etkisi

Kanser gelişimi ile ilgili en önemli risk faktörü yaştır. Kanser ile yaşlanma arasında bağlantılar olabileceğini öngören birçok çalışmada bu iki önemli biyolojik proseste epigenetiğin rolü araştırılmıştır. Gerçekten de, yaşlanma süreci aynen kanser gibi genel genomik

hipometilasyon ve bölgesel veya belirli genlere spesifik hipermetilasyon ile ilişkilidir [22, 37]. Bu durum DNMT'lerin ekspresyonlarındaki değişimlerden kaynaklanabilir [5, 34]. Yaşlanma esnasında DNA metilasyonunda görülen bu değişimlerin, yaşlanma sürecine katkı yapan epigenetik olarak kontrol edilen hTERT gibi genlerin regülasyonunda bir dizi değişime neden olması mümkündür [33]. Ayrıca histon modifikasyonlarının da yaşlanmada rol oynadıkları düşünülmektedir. Gerçekten de, sınıf III NAD^+ bağımlı bir HDAC olan sirtuin 1'in (SIRT1) farklı hayvan modellerindeki yaşam sürelerini dikkat çekici düzeyde uzatıcı etki yaptığı gösterilmiştir [8, 24]. SIRT1 enziminin metabolik oran ile ilişkili önemli bir nütrient sensörü olabileceği düşünülmektedir. NAD/NADH oranı şeklinde basitçe ifade edilen redoks potansiyeli oksijen tüketimi ve respiratuar zincirde önemli bir gösterge olan SIRT1 aktivitesini regüle etmede önemli rol oynuyor olabilir. Yaşlanma sırasında diğer birçok epigenetik değişim meydana geliyor olsa da, DNA metilasyonunun ve histon modifikasyonlarının regülasyonu, hTERT'in epigenetik kontrolü ve SIRT1'in yaşlanma ile ilgili biyolojik prosesleri modüle etmekteki rolü ciddi anlamda ilgi çeken konulardır.

3.1 Besin Öğeleri Miktarları, Epigenetik ve Yaşlanma

Yukarıda da bahsettiğimiz gibi kanser ve yaşlanmada sadece diyetin kalitesi değil, tüketilen besin öğelerinin miktarı da önemli bir rol oynamaktadır. Kalori kısıtlaması yaşlanma süreci ve maksimum hayat süresine ulaşabilme ile ilgili en önemli girişim olup kısmen epigenetik mekanizmaların aracılığında gerçekleşir [49, 53]. Total kalori miktarının hayati besin öğeleri sağlanmak kaydıyla %25-60 arasında kısıtlanması (normal beslenen kontrollere göre) yaşam süresinin %50 uzamasını sağlayabilmektedir [9, 10, 21, 31, 45, 52]. Kalori kısıtlamasının spesifik gen lokuslarındaki etkileri ile DNA metilasyonu değişime uğratılarak yaşam süresi uzatılabilir [19]. Ayrıca yaşlanma sürecinde önemli bir HDAC olan SIRT1'in kalori kısıtlaması ile güçlü bağlantısı vardır. Örneğin, kalori kısıtlaması ile SIRT1 aktivitesinin değişime uğradığı birçok in vitro ve in vivo çalışmada gösterilmiştir [8, 17, 27, 32]. Sirtuinin yaşam süresini uzatıcı etkisi orijinal olarak maya da keşfedilmiştir [17]. Kalori kısıtlamasına maruz kalan çeşitli hayvan dokularında sıklıkla SIRT1 aktivasyonu görülürken, SIRT1 inaktivasyonunun kalori kısıtlamasının yaşam süresini uzatıcı etkilerini ortadan kaldırdığı gözlenmiştir. Bu nedenle epigenetik proseslerin sadece yaşlanma sürecinde değil, DNA metilasyonu ve SIRT1 gibi yaşlanma ile ilgili ana medyatörler ile de önemli ilişkileri olduğu açıktır.

3.2 Diyet ve Yaşlanma Epigenetiği

Fitokimyasal bir diyet polifenolü olan resveratrol kalori kısıtlamasının önemli bir aracısıdır. SIRT1'i taklit ederek hem in vitro hem de in vivo ortamda yaşam süresinin uzamasını sağlar [1, 2, 51, 54]. Resveratrole ek olarak EGCG gibi diğer birçok polifenolün de yaşlanma süreci üzerinde faydalı etkileri olduğu gösterilmiştir [46]. Turpgiller ailesinde-

ki sebzelerin ve soya fasulyesi gibi diğer epigenetik diyet komponentlerinin kanseri önleyici etkileri yoluyla yaşam süresinin uzamasına katkıları vardır [28, 31, 38]. Örneğin, epigenetik diyet komponentlerinin belirli bir periyod süresince kullanılmaları ile kanser ve kardiyovasküler hastalık gibi yaşla ilgili hastalıklarda azalma görülebilmektedir [35].

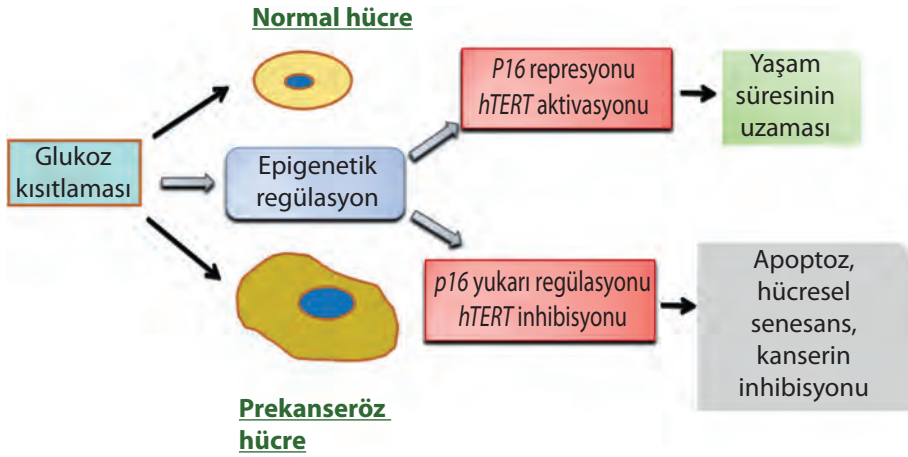
3.3 Glukoz Kısıtlaması ve Hayflick Limitinin Artırılması

Hayflick limiti biyolojik yaşlanma için hayati olan hücresel senesans ile ilişkilidir. Kalori kısıtlaması ile ilişkili çalışmalar organizma (tek hücreli mayalar gibi) yaşam sürelerinin analizi ile kısıtlı olduğu için, bu kısıtlamanın memelilerdeki Hayflick limitini etkileyip etkilemediğini test etmeyi amaçladık. Ayrıca kalori kısıtlamasının insan yaşlanması üzerindeki etkileri, bu çalışmaların görece olarak uzun yaşam süresi olan insan popülasyonlarında yapılması pratik olmadığı için henüz büyük oranda anlaşılamamıştır. Hücresel senesans yaşlanmanın önemli temellerinden kabul edildiği için, insan fibroblast hücre kültürlerindeki glukoz miktarının kısıtlanmasının Hayflick limiti üzerindeki etkilerini gözlemledik [29]. 15 mg/L glukoz uygulanan kültürdeki insan hücrelerinin yaşam sürelerinin 4.5 g/L glukoz uygulanan kontrol insan hücrelerine göre anlamlı olarak azaldığını tespit ettik. Ayrıca glukoz kısıtlaması uygulanan hücrelerde hTERT düzeylerinde görece olarak hafif düzeyde artışa (kanser hücrelerine göre) ve p16 düzeylerinde azalmaya yol açan epigenetik değişimler gözlemledik. Kalori kısıtlamasına cevap olarak oluşan epigenetik değişimlerin bu hücrelerdeki DNA metilasyon ve histon modifikasyonlarına bağlı olduğunu (en azından kısmen) tespit ettik (Şekil 2). Ayrıca prekanseröz hücrelerdeki hTERT ve p16'nın kalori kısıtlamasına ters yönde cevap vererek epigenetik olarak indüklenen hücre apoptozunun oluşumuna yol açtığı bulunmuştur [29] (Şekil 2).

Farklı çalışmalarımızdaki ilave analizlerde glukoz kısıtlaması uygulanan insan hücrelerindeki SIRT1 düzeylerinin arttığı tespit edilmiştir. Bu artış SIRT'in p16 üzerindeki epigenetik etkileri ile SIRT1'in p16 üzerindeki Akt/p70S6K1 yolağı vasıtasıyla gerçekleşen genetik etkileri ile insan hücrelerinin yaşam sürelerinin uzamasına neden olmuştur [30]. Kalori kısıtlaması bu nedenle sadece hayvanların değil, hücrelerinin de yaşam sürelerini artırmıştır. Hayflick limiti yaşlanmanın önemli bir özelliği olduğu ve bahsettiğimiz çalışmalarda metabolik sistemik faktörler rol oynamadığı için, kalori kısıtlamasının primer olarak senesans düzeyinde etki gösterdiği ve hücresel senesansın önemli bir aracısı olduğu ve yaşlanmanın kalori kısıtlamasına cevap olarak epigenetik mekanizmalarda oluşan değişimler ile meydana geldiği bulunmuştur.

4 Sonuçlar

Epigenetik mekanizmalar yaşlanma ve kanser ile ilgili birçok özellik önem taşımaktadır. Diyet faktörleri bu biyolojik süreçlerin advers etkilerini azaltabilen önemli yardımcılardır. Diyetin hem kalitesi hem de miktarı sağlıklı yaşlanma ve özellikle kanserde hayati



Şekil 2 Glukoz kısıtlamasının epigenetik regülasyon yoluyla yaşam süresi ve kanser üzerindeki etkisi. Glukoz kısıtlaması hem normal hem de kanser hücrelerindeki epigenetik regülasyonunu etkileyebilir. Glukoz kısıtlaması ile normal hücrelerde *p16* represyonu ve *hTERT* aktivasyonu gerçekleşerek Hayflick limitinin artmasına neden olur. Prekanseröz hücrelerde ise glukoz kısıtlaması ile *p16* ve *hTERT* üzerinde bu etkinin tersinin görülmesi apoptoz, hücresel senesans ve kanser inhibisyonuna yol açar.

önem taşımaktadır. Diyetin kalitesini, fitokimyasalların tüketiminden oluşan ve DNA metilasyon, histon modifikasyonu ve protein kodlamayan RNA gibi prosesleri modüle eden epigenetik diyet belirler. Epigenetik diyetin sadece kanseri önlemekte değil, yaşa bağlı hastalıkların ortaya çıkmasındaki önemli potansiyeli ile ilgili dünya çapında çok önemli bir veri tabanı oluşmaktadır. Diyet miktarının da epigenetik etkileri vardır. Kalori azaltımından, birçok hücresel prosesin aracısı olan SIRT1 aktivitesi gibi birçok epigenetik mekanizma etkilenmektedir. Kalori kısıtlamasının hücresel düzeyde insan hücrelerinin yaşam süresini uzattığını gösterdik. Bu bulgu kalori kısıtlamasının epigenetik etkileri ile yaşam süresinin uzatılması prosesinin muhtemel temelini oluşturmaktadır. Epigenetiğin kanser ve yaşlanmadaki rolü ile ilgili hala cevaplanmamış birçok soru mevcuttur. Ancak epigenetik mekanizmaların hem kanser hem de yaşlanmada görülen ana anormallikler olduğu netleşmiştir. Epigenetik diyet çok sayıda insanın hayatına mal olan biyolojik prosesler olan kanser ve yaşlanmada görülen morbidite ve mortaliteyi azaltmanın güvenli ve etkili bir yolu olarak giderek daha fazla öne çıkan bir araştırma konusu haline gelmektedir.

Teşekkürler Bu çalışmaya kısmi maddi destek sağlayanlar: Ulusal Kanser Enstitüsü (RO1 CA129415), Amerikan Kanser Enstitüsü, Norma Livingston Vakfı.

Referanslar

1. Barger JL, Kayo T, Vann JM et al (2008) A low dose of dietary resveratrol partially mimics caloric restriction and retards aging parameters in mice. PLoS ONE 3(6):e2264

2. Bass TM, Weinkove D, Houthoofd K et al (2007) Effects of resveratrol on lifespan in Drosophila melanogaster and Caenorhabditis elegans. Mech Ageing Dev 128:546–552
3. Baylin SB, Herman JG, Graff JR et al (1998) Alterations in DNA methylation: a fundamental aspect of neoplasia. Adv Cancer Res 72:141–196
4. Berletch JB, Liu C, Love WK et al (2008) Epigenetic and genetic mechanisms contribute to telomerase inhibition by EGCG. J Cell Biochem 103:509–519
5. Casillas MA Jr, Lopatina N, Andrews LG et al (2003) Transcriptional control of the DNA methyltransferases is altered in aging and neoplastically-transformed human fibroblasts. Mol Cell Biochem 252:33–43
6. Chen PN, Chu SC, Kuo WH et al (2011) Epigallocatechin-3 gallate inhibits invasion, epithelial-mesenchymal transition, and tumor growth in oral cancer cells. J Agric Food Chem 59:3836–3844
7. Clayton AL, Hazzalin CA, Mahadevan LC (2006) Enhanced histone acetylation and transcription: a dynamic perspective. Mol Cell 23:289–296
8. Cohen HY, Miller C, Bitterman KJ et al (2004) Calorie restriction promotes mammalian cell survival by inducing the SIRT1 deacetylase. Science 305:390–392
9. Colman RJ, Anderson RM, Johnson SC et al (2009) Caloric restriction delays disease onset and mortality in rhesus monkeys. Science 325:201–204
10. Cruzen C, Colman RJ (2009) Effects of caloric restriction on cardiovascular aging in non-human primates and humans. Clin Geriatr Med 25:733–743
11. Daniel M, Peek GW, Tollefsbol TO (2012) Regulation of the human catalytic subunit of telomerase (hTERT). Gene 498:135–146
12. Dashwood RH, Ho E (2008) Dietary agents as histone deacetylase inhibitors: sulforaphane and structurally related isothiocyanates. Nutr Rev 66(Suppl 1):S36–S38
13. Dokmanovic M, Marks PA (2005) Prospects: histone deacetylase inhibitors. J Cell Biochem 96:293–304
14. Esquela-Kerscher A, Slack FJ (2006) Oncomirs—microRNAs with a role in cancer. Nat Rev Cancer 6:259–269
15. Esteller M (2008) Epigenetics in cancer. N Engl J Med 358:1148–1159
16. Fang MZ, Wang Y, Ai N et al (2003) Tea polyphenol (-)-epigallocatechin-3-gallate inhibits DNA methyltransferase and reactivates methylation-silenced genes in cancer cell lines. Cancer Res 63:7563–7570
17. Guarente L, Picard F (2005) Calorie restriction–the SIR2 connection. Cell 120:473–482
18. Hardy TM, Tollefsbol TO (2011) Epigenetic diet: impact on the epigenome and cancer. Epigenomics 3:503–518
19. Hass BS, Hart RW, Lu MH et al (1993) Effects of caloric restriction in animals on cellular function, oncogene expression, and DNA methylation in vitro. Mutat Res 295:281–289
20. Herceg Z (2007) Epigenetics and cancer: towards an evaluation of the impact of environmental and dietary factors. Mutagenesis 22:91–103
21. Holloszy JO, Fontana L (2007) Caloric restriction in humans. Exp Gerontol 42:709–712
22. Issa JP (1999) Aging, DNA methylation and cancer. Crit Rev Oncol Hematol 32:31–43
23. Issa JP (2008) Cancer prevention: epigenetics steps up to the plate. Cancer Prev Res (Phila) 1:219–222
24. Kanfi Y, Peshti V, Gozlan YM et al (2008) Regulation of SIRT1 protein levels by nutrient availability. FEBS Lett 582:2417–2423
25. Kim JW, Amin AR, Shin DM (2010) Chemoprevention of head and neck cancer with green tea polyphenols. Cancer Prev Res (Phila) 3:900–909
26. Kouzarides T (2007) Chromatin modifications and their function. Cell 128:693–705
27. Leibiger IB, Berggren PO (2006) Sirt1: a metabolic master switch that modulates lifespan. Nat Med 12:34–36
29. Li Y, Liu L, Andrews LG et al (2009) Genistein depletes telomerase activity through cross-talk between genetic and epigenetic mechanisms. Int J Cancer 125:286–296

30. Li Y, Liu L, Tollefsbol TO (2010) Glucose restriction can extend normal cell lifespan and impair precancerous cell growth through epigenetic control of hTERT and p16 expression. FASEB J 24:1442–1453
28. Li Y, Tollefsbol TO (2011) p16(INK4a) suppression by glucose restriction contributes to human cellular lifespan extension through SIRT1-mediated epigenetic and genetic mechanisms. PLoS ONE 6:e17421
31. Li Y, Daniel M, Tollefsbol TO (2011) Epigenetic regulation of caloric restriction in aging. BMC Med 9:98
32. Lin SJ, Defossez PA, Guarente L (2000) Requirement of NAD and SIR2 for life-span extension by calorie restriction in Saccharomyces cerevisiae. Science 289:2126–2128
33. Liu L, Wylie RC, Andrews LG et al (2003) Aging, cancer and nutrition: the DNA methylation connection. Mech Ageing Dev 124:989–998
34. Lopatina N, Haskell JF, Andrews LG et al (2002) Differential maintenance and de novo methylating activity by three DNA methyltransferases in aging and immortalized fibroblasts. J Cell Biochem 84:324–334
35. Mathers JC (2006) Nutritional modulation of ageing: genomic and epigenetic approaches. Mech Ageing Dev 127:584–589
36. Mathers JC, Strathdee G, Relton CL (2010) Induction of epigenetic alterations by dietary and other environmental factors. Adv Genet 71:3–39
37. Mays-Hoopes LL (1989) DNA methylation in aging and cancer. J Gerontol 44:35–36
38. Meeran SM, Ahmed A, Tollefsbol TO (2010a) Epigenetic targets of bioactive dietary components for cancer prevention and therapy. Clin Epigenetics 1:101–116
39. Meeran SM, Patel SN, Tollefsbol TO (2010b) Sulforaphane causes epigenetic repression of hTERT expression in human breast cancer cell lines. PLoS ONE 5(7):e11457
40. Meeran SM, Patel SN, Li Y et al (2012) Bioactive dietary supplements reactivate ER expression in ER-negative breast cancer cells by active chromatin modifications. PLoS ONE 7(5):e37748
41. Mittal A, Pate MS, Wylie RC et al (2004) EGCG down-regulates telomerase in human breast carcinoma MCF-7 cells, leading to suppression of cell viability and induction of apoptosis. Int J Oncol 24:703–710
42. Myzak MC, Tong P, Dashwood WM et al (2007) Sulforaphane retards the growth of human PC-3 xenografts and inhibits HDAC activity in human subjects. Exp Biol Med (Maywood) 232:227–234
43. Nian H, Delage B, Ho E et al (2009) Modulation of histone deacetylase activity by dietary isothiocyanates and allyl sulfides: studies with sulforaphane and garlic organosulfur compounds. Environ Mol Mutagen 50:213–221
44. Poole JC, Andrews LG, Tollefsbol TO (2001) Activity, function, and gene regulation of the catalytic subunit of telomerase (hTERT). Gene 269:1–12
45. Pugh TD, Oberley TD, Weindruch R (1999) Dietary intervention at middle age: caloric restriction but not dehydroepiandrosterone sulfate increases lifespan and lifetime cancer incidence in mice. Cancer Res 59:1642–1648
46. Queen BL, Tollefsbol TO (2010) Polyphenols and aging. Curr Aging Sci 3:34–42
47. Schwab M, Reynders V, Loitsch S et al (2008) The dietary histone deacetylase inhibitor sulforaphane induces human beta-defensin-2 in intestinal epithelial cells. Immunology 125(2):241–251
48. Shanmugam MK, Kannaiyan R, Sethi G (2011) Targeting cell signaling and apoptotic pathways by dietary agents: role in the prevention and treatment of cancer. Nutr Cancer 63:161–173
49. Sinclair DA (2005) Toward a unified theory of caloric restriction and longevity regulation. Mech Ageing Dev 126:987–1002
50. Su LJ, Mahabir S, Ellison GL et al (2011) Epigenetic contributions to the relationship between cancer and dietary intake of nutrients, bioactive food components, and environmental toxicants. Front Genet 2:91

51. Subramanian L, Youssef S, Bhattacharya S et al (2010) Resveratrol: challenges in translation to the clinic–a critical discussion. Clin Cancer Res 16:5942–5948
52. Sun D, Krishnan A, Su J, Lawrence R et al (2004) Regulation of immune function by calorie restriction and cyclophosphamide treatment in lupus-prone NZB/NZW F1 mice. Cell Immunol 228:54–65
53. Weindruch R, Walford RL, Fligiel S et al (1986) The retardation of aging in mice by dietary restriction: longevity, cancer, immunity and lifetime energy intake. J Nutr 116:641–654
54. Wood JG, Rogina B, Lavu S et al (2004) Sirtuin activators mimic caloric restriction and delay ageing in metazoans. Nature 430:686–689

Meme Kanseri ve Erken Yaşlardaki Beslenmenin Önemi

Karen A. Lillycrop ve Graham C. Burdge

Özet

Epigenetik prosesler dokuya özgü gen ekspresyonunun regülasyonunda önemli rol oynamaktadır. Bu süreçlerin değişime uğraması fenotipte önemli değişikliklere yol açarak kanseri de içeren birçok insan hastalığının patojenezinde önemli rol oynar. Çevresel etkiler (özellikle diyetteki varyasyonlar) spesifik gelişim aşamalarında epigenom değişimlerine yol açabilmektedir. Bu değişimler hayat boyu korunarak, yaşamın ilerleyen döneminde kansere karşı duyarlılık derecesini etkileyebilir. Bu bölümde yaşamın erken yıllarındaki beslenme değişimlerinin meme kanseri riskini genlerin epigenetik regülasyonu ile etkileyebileceğini inceleyeceğiz. Yaşamın erken yıllarında oluşan bu tür epigenetik işaretlerin tespit edilmesinin, yüksek hastalık riski altındaki bireylerin tespitinde biyomarker olarak kullanımlarını tartışacağız.

Anahtar Kelimeler

Epigenetik • Nütrisyon • Transkripsiyon • Erken yaşam

Kısaltmalar

A^{vy}	Agouti viable yellow
AOX	Asetil-CoA karboksilaz

K. A. Lillycrop (✉)
Centre for Biological Sciences, Institute of Developmental Sciences, Faculty of Natural and Environmental Sciences, University of Southampton, Southampton, SO16 6YD, UK
e-mail: kal@soton.ac.uk

G. C. Burdge
Institute of Developmental Sciences, Faculty of Medicine, University of Southampton, Southampton, SO16 6YD, UK

V. Zappia et al. (eds.), *Advances in Nutrition and Cancer,*
Cancer Treatment and Research 159, DOI: 10.1007/978-3-642-38007-5_16,
© Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2014

Kısaltmalar

ATM	Ataksi telanjiektazi mutasyonu
VKİ	Vücut kütle indeksi
BRCA1	Meme kanseri 1, erken başlayan
DA	Doğum ağırlığı
KVH	Kardiyovasküler hastalık
CpG	Fosfatla bağlı sitozin ve guanin nükleotidleri
DES	Dietilstilbesterol
DHA	Dokosaheksaenoik asit
DNMT	DNA metiltransferaz
ER	Östrojen reseptörü
EWAS	Epigenom boyunca ilişkilendirme çalışmaları
GR	Glukokortikoid reseptörü
HDAC	Histon deasetilaz
HMT	Histon metiltransferaz
IAP	İntrasisternal A-partikülü
IGF1	İnsülin büyüme faktörü 1
MeCP	Metil CpG bağlayıcı protein
MeDIP	Metile DNA immunopresipitasyon
miRNA	Mikro RNA
MUFA	Monoansatüre yağ asidi
ncRNA	Protein kodlamayan RNA
NCD	Bulaşıcı olmayan hastalıklar
NMU	N-nitrozo-N-metilüre
POMC	Pro-opiomelanokortin
PR	Protein kısıtlaması
PPAR	Peroksizomal proliferatör-aktive reseptör
PUFA	Poliansatüre yağ asidi
RXRα	Retinoid X reseptör-α
TEB	Terminal uç tomurcukları

İçindekiler

1 Giriş 271
1.1 Erken Yaşamda Maruz Kalınan Çevre ve Gelecekteki Hastalık Riski 271
2 Epigenetik 272
2.1 DNA Metilasyonu 273
2.2 Histon Modifikasyonu 273
2.3 Protein Kodlamayan RNA'lar 274
2.4 Epigenetik, Yaşlanma ve Kanser 274
2.5 Erken Yaşamda Beslenme ve Epigenom 275
3 Prenatal Çevre ve Kanser Riski 276
3.1 Kanser Riskinin Nütrisyonel Programlamasında Hayvan Modelleri 277

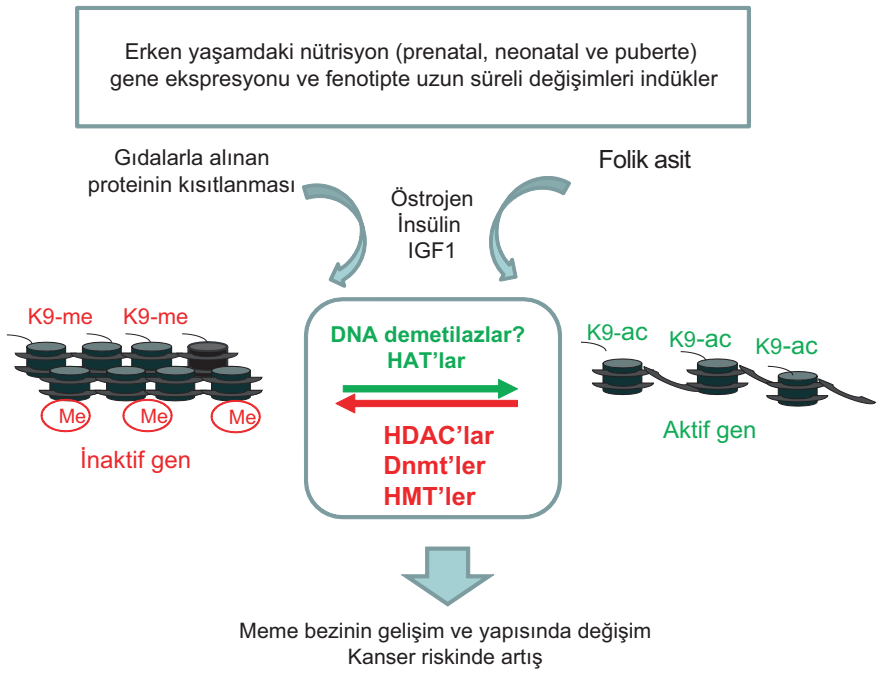
3.2 Mikrobesin Tüketimi 278
3.3 Epigenetik Biyomarkerlerin Tanımlanması 281
4 Sonuçlar 281
Referanslar 281

1 Giriş

Kanserin DNA mutasyonları veya silinmeleri gibi genetik değişimlerden kaynaklandığı geleneksel olarak kabul edilmektedir. Ancak meme kanserini de içeren bazı kanserlerin embriyonik hayattan kaynaklanabileceğini gösteren kanıtlar artmaktadır. Meme kanseri gelişiminde yaşamın erken yıllarında maruz kalınan çevrenin önemli rol oynadığı insan epidemiyoloji çalışmalarında gösterilmektedir. Hem fazla hem de az beslenen hayvan modellerinde de tespit edilen bu bulgular, yavruların kansere karşı duyarlılıklarının etkilendiğini göstermiştir. Yaşamın ilk evrelerinde maruz kalınan çevrenin farklı ve stabil bir fenotipi indükleme mekanizması anlaşılmaya başlamıştır. Bu mekanizmada epigenetik süreçlerin de rolü olabilir. Güncel çalışmalarda yaşamın ilk yıllarındaki çevresel faktörlerin indüklediği epigenom değişimleri yaşam boyu korunmaktadır. Bu durum erken yaşlardaki beslenmenin meme bezlerinin gelişimini veya yapısını hastalığın başlamasından onyıllar önce değiştirip kalıcı epigenetik değişimlere yol açarak meme kanseri riskini modüle ettiğini düşündürmektedir. Bu makalede yaşamın erken yıllarındaki beslenme değişimlerinin meme kanseri riskini genlerin epigenetik regülasyonu ile etkileyebileceğini inceleceğiz. Yaşamın erken yıllarındaki bu tür epigenetik işaretlerin tespit edilmesinin, yüksek hastalık riski altındaki bireylerin tespitinde biyomarker olarak kullanımlarını tartışacağız.

1.1 Erken Yaşamda Maruz Kalınan Çevre ve Gelecekteki Hastalık Riski

Erken yaşamdaki çevre kalitesi ile erişkin yaşamda görülen kronik hastalıklar arasındaki ilişki ilk kez David Barker ve çalışma arkadaşları tarafından tanımlanmıştır. İngiltere'deki infant mortalitesi ile 50-60 yıl sonra görülen KVH riski arasında güçlü bir coğrafi ilişki tespit etmişlerdir [1]. Çok sayıda retrospektif çalışmada da düşük doğum ağırlığının, erişkinlerde görülen KVH, tip 2 diyabet, obezite ve hipertansiyonu da içeren birçok bulaşıcı olmayan hastalığın riskinde artışla ilişkili olduğu gösterilmiştir [2]. Bu bulgular gebe ve/veya emzirme dönemindeki sıçan veya farelere genel olarak kısıtlanmış düşük proteinli diyet veya yüksek yağlı diyet uygulanan birçok hayvan çalışmasında tekrarlanmıştır. İlginç şekilde bu hayvanların yavruları da çok benzer özelliklerle doğmakta ve yaşamlarının ilerleyen dönemlerinde dislipidemi, obezite, hipertansiyon, hiperinsülinemi ve hiperleptinemi gelişmektedir [3]. Erken yaşamdaki nütrisyon anormalliklerine bağlı olarak farklı fenotiplerin indüklenmesinin, normal bir adaptasyon mekanizmasına bağlı olduğu düşünülmektedir. Organizma bu mekanizma sayesinde sahip olduğu gelişimsel esnekliği kullanarak (çevresel etkilere



Şekil 1 Erken yaşamdaki beslenmenin epigenom üzerindeki etkileri Yaşamın erken dönemlerindeki beslenme gen metilasyonu ile demetilasyon arasındaki dengeyi belirler. Histon deasetilazlar (HDAC), histon metiltransferazlar (HMT) ve DNA metiltransferazlar (DNMT) histon deasetilasyonunu, histon H3'teki K9 metilasyonunu ve kromatin konfigürasyonunun kapanmasına ve gen sessizleştirmesine yol açan DNA metilasyonunu indüklerler. Buna karşın histon asetil transferazlar (HAT) ise (H3K9'un asetilasyonunu da içerecek şekilde) lisin kalıntılarının asetilasyonunu indükleyerek açık kromatin konfigürasyonuna ve gen transkripsiyonuna yol açarlar.

cevap olarak) hayatın ilerleyen dönemlerindeki formunu ve sağkalımı koruyabilmek amacıyla gelişim programını değiştirebilir [4]. Organizmanın çevresel etkilere cevap olarak genlerin epigenetik regülasyonu yoluyla tek bir genomdan farklı fenotipler üretebildiğini gösteren kanıtlar günümüzde mevcuttur.

2 Epigenetik

Epigenetik prosesler spesifik genlerin ne zaman ve nerede eksprese olacaklarının belirlenmesinde rol oynarlar. Bu nedenle genlerin epigenetik regülasyonlarının değişime uğraması fenotipte önemli değişimlere yol açabilir [5, 6]. Majör epigenetik prosesler DNA metilasyonu, histon modifikasyonu ve protein kodlamayan RNA'lardır (Şekil 1).

2.1 DNA Metilasyonu

CpG dinükleotidindeki (p ilgili fosfat grubunu gösterir) DNA'daki sitozinin 5. pozisyonunda gerçekleşen metilasyon, memeli genomlarında sık görülür. Bu metilasyon DNA replikasyonu ve hücre bölünmesi ile iletilen stabil bir epigenetik izi oluşturur [7]. CpG dinükleotidleri genom boyunca randomize olarak dağılmamıştır. Genlerin/promotörlerin CpG adacıkları olarak bilinen 5′ uçlarında kümelenmişlerdir. Bu CpG adacıklarının hipermetilasyonu transkripsiyonal represyon ile ilişkili iken, aynı adacıkların hipometilasyonu ise transkripsiyonal aktivasyon ile ilişkilidir [8, 9].

DNA metilasyonu damgalanmış (imprinted) genlerin asimetrik sessizleştirilmesinde [10], X kromozomunun inaktivasyonunda [11, 12] ve hücre spesifikasyonu ile dokuya özgü gen ekspresyonunda önemlidir [7]. CpG'lerin metilasyonu büyük oran embriyogenez veya erken postnatal hayatta gerçekleşir. Maternal ve paternal genomlar fertilizasyon sonrası kapsamlı demetilasyona uğrarlar. Bunu blastosit implantasyonunun hemen öncesinde gerçekleşen yeni global metilasyon takip eder [13, 14]. Bu metilasyon sırasında CpG'lerin büyük bölümü represe heterokromatin bölgelerinde veya geriye çevrilebilir faktörler gibi repetitif sekanslar düzeyinde metile olurlar [15]. Dokuya spesifik genlerin kökene spesifik metilasyonları da prenatal gelişim ve erken postanal hayat sırasında oluşarak farklılaşan hücrelerin gelişimsel geleceklerini belirlerler. CpG dinükleotidlerinin yeni metilasyonu DNA metiltransferazlar (DNMT) 3a ve 3b tarafından katalizlenir ve hemi-metile DNA'nın DNTM1 ile gen spesifik metilasyonu ile gerçekleşen mitoz ile korunur [16].

2.2 Histon Modifikasyonu

Hücrelerimizdeki DNA kromatin olarak paketlenmiştir. Bir kromatinin temel ünitesi 147 DNA asit-baz çiftinden oluşan ve histon proteinlerinden (histon H2A, H2B, H3 ve H4'ün ikişer kopyası) oluşan bir çekirdeğin etrafına sarılmış nükleozomdur. Histon proteinlerinin iki bölgesi vardır: Globüler bölge ve N-terminal kuyruk bölgesi. Histonların N-terminal kuyrukları asetilasyon, metilasyon, ubikutin eklenmesi, sumolasyon ve fosforilazyon gibi modifikasyonlara açıktır [17]. Histon modifikasyonu spesifik hücresel proseslere yol açabilen efektör proteinlerin yerleşimine yol açar. Histon kuyruklarındaki bu işaretlere sıklıkla histon kodu adı verilir. Histon asetilasyonu aktif kromatin durumu ile özel olarak ilişkili iken lisinin metilasyonu ise rol oynayan spesifik lisine bağlı olarak aktif veya represif bir işaret olabilir [17]. Histon modifiye edici enzimlerinden oluşan ve kod yazarları olarak bilinen birçok aile tanımlanmıştır. Bunlar arasında asetil transferazlar ve metiltransferazlar mevcuttur. Deasetilazlar ve demetilazlar ise siliciler arasında sayılabilir [18, 19].

DNA metilasyonu ile histon modifikasyonu arasında net bir etkileşim (cross talk) oluşmaktadır. Metile DNA, metil CpG bağlayıcı protein-2 (MeCP2) tarafından bağlanır. Bu proteinler histonlardaki transkripsiyonel olarak aktif kromatin sinyalleri olan

asetil gruplarını uzaklaştıran histon deasetilazları (HDAC) ve kromatin yapısının kapanmasına ve transkripsiyonel sessizleştirmeye yol açan ve H3'teki lisin 9'u metile eden SUV39H1 [20] gibi metiltransferazlar (HMT) da içerirler. Ancak güncel çalışmalarında DNMT1'in, HDAC1 ve HDAC2 gibi bazı histon modifiye edici enzimler ve SUV39H1 ve EZH2 [21, 22] gibi metiltransferazlar tarafından kullanılıyor olması kromatin yapısının DNA metilasyon statüsünü de belirleyebileceğini ve bu iki proses arasında iki taraflı bir ilişki olduğunu düşündürmektedir.

2.3 Protein kodlamayan RNA'lar

Protein kodlamayan RNA'lar (ncRNA'lar) gen ekspresyonunun epigenetik regülasyonunda da rol oynamaktadır. ncRNA'lar etkilerini cis veya transda gösterirler. Cis-etkili (cis-acting) ncRNA'lar uzun/makro-ncRNA'lardır (100.000 nt'ye kadar). Trans-etkili (trans-acting) mcRNA'lar ise çoğunlukla degradasyon mRNA'larının 3′ translasyona uğramamış bölgesini hedef alan mikro RNA'lar (miRNA'lar) içerirler [23]. Ancak güncel çalışmalarda insan miRNA'sının aynı zamanda kromatinlerin yeniden biçimlenmesini de indükleyebileceğinin gösterilmiş olması [24, 25], DNA metilasyonu, histon modifikasyonu ve miRNA'ların gen ekspresyonunun regülasyonunda uyum içinde çalıştıklarını düşündürmektedir.

2.4 Epigenetik, Yaşlanma ve Kanser

Gelişim sırasında oluşan epigenetik izler erişkinlik çağında da büyük oranda korunurlar. Ancak yaşlanma dokuya özgü epigenetik kayma, DNMT1 aktivitesinde azalma ve c-Myc ve cN-ras gibi proto-onkogenlerin aktivasyonuna yol açan global genom hipometilasyonu ile ilişkilidir [26]. Ancak yaşlanma ile tümör baskılayıcı gen promotörlerinde hipermetilasyon da görülür [27]. Değişime uğramış epigenetik regülasyon meme, akciğer, prostat ve hematopoetik dokuları da içeren birçok çok kanser türünün gelişimi ile ilişkilidir [28–32]. Örneğin normalde sadece kök hücrelerinde eksprese olan ve pluripotent özelliğin korunmasında önemli rol oynayan Oct-4 ve Sox2, spontan meme kanserinde hipometile olur ve yüksek oranda eksprese edilir [33]. Buna karşın DNA tamirinde hayati rol oynayan ve meme kanserinin kalıtsal formlarında mutasyona uğrayan tümör supresor gen BRCA1 sıklıkla hipermetile olur. Bu durum kötü prognoz ve östrojen reseptörü negatif tümörler ile ilişkilidir [34, 35]. Bu bulgular yaşlanmanın sadece DNA metilasyon kapasitesinin korunmasında progresif bir azalma ile değil aynı zamanda epigenetik proseslerin selektif disregülasyonu ile de ilişkili olduğunu göstermektedir. Bu hedefli hipermetilasyonun altında yatan mekanizma net olarak bilinmemektedir. Metilasyonun heterokromatinden genomun transkripsiyonel olarak aktif bölgelerine atlaması olası mekanizma olarak önerilmiştir. Ancak bu mekanizma, niçin DNA'nın sadece bazı belirli sekanslarının etkilendiğini açıklamamaktadır. Yaşla birlikte oluşan değişimler, erken yaşlarda indüklenen metilasyon düzeylerinin oluşturduğu epi-

genetik altyapı üzerinde etki gösterirler. Böylece gelişim esnasında indüklenen epigenom varyasyonları hayatın ilerleyen dönemlerinde hastalıklara duyarlılık derecelerini etkileyebilir [36].

2.5 Erken Yaşamda Beslenme ve Epigenom

DNA metilasyonu en stabil epigenetik işarettir. Ancak epigenomun hayat sürecinin prenatal, neonatal ve pubertal dönemler gibi spesifik periyotlarındaki birçok çevresel faktörlere duyarlı olduğunu gösteren kanıtlar giderek artmaktadır. Erken yaşamdaki beslenmenin fenotipi nasıl değiştirebileceğini gösteren en iyi örneklerden bir tanesi bal arıları ile yapılan çalışmalardır. Genetik yapıları aynı olmasına rağmen farklı şekillerde beslenen dişi larvalardan ya steril işçi arılar ya da fertil kraliçe arılar gelişir [37]. Ancak DNA metiltransferaz 3 (DNMT3) ekspresyonu sessizleştirilen larvalardan gelişen kraliçe arıların sayısı işçi arı sayısına göre anlamlı olarak artar. Bu bulgu beslenmenin DNA metilasyonunu değiştirmek suretiyle fenotipi anlamlı olarak değiştirebileceğini göstermektedir [37].

Fare yavrularında diyetin DNA metilasyonunu değiştirebileceği gösterilmiştir. Agouti faresindeki tek-karbon metabolizması için metil donör ve kofaktörlerin alımındaki farklılıklar, yavrunun renginde değişimlere yol açmaktadır. Mürin A^{vy} mutasyonu agouti genine yukarı yönlü intrasisternal A-partikülü (IAP) retrotranspozonu eklenmesi ile oluşarak sarı renkli tüy pigmenti üretimini indükler. Gebe farelere betain, kolin, folik asit ve vitamin B12 takviyesi yapılması, agouti geninin metilasyonunda artışa ve yavrunun tüy renginin sarıdan (agouti) kahverengiye (psödo-agouti) dönmesine neden olur [38].

Bazı hayvan modellerinde erken yaşamdaki nütrisyonel programlama anormalliklerinin lipid ve glukoz metabolizmasının birçok önemli regülatörünün epigenetik kontrolünü değişime uğrattığını gösteren kanıtlar da mevcuttur. Örneğin gebe sıçanların proteini kısıtlı diyetle beslenmesinin juvenil ve erişkin yavruların karaciğerindeki GR ve PPARα promotörlerinin hipometilasyonunu indükleyerek, bu genlerin mRNA ekspresyonunda artışa yol açtığı tespit edilmiştir [39, 40]. Ekspresyon artışı aynı zamanda histon H3 ve H4'ün metilasyonları ile lisin K4'deki histon H3'ün asetilasyonlarında da artma ile ilişkilidir [41]. PPARα promotörünün sıralama analizleri dört spesifik CpGs'nin hipometile olduğunu göstermiştir. Ayrıca transkripsiyon faktör cevap elementlerinde bulunan iki CpGs'nin de transkripsiyon düzeyini belirlediği tespit edilmiştir [42]. Bu nedenle kısıtlı protein içeren maternal diyetin etkileri yavrudaki spesifik CpGs'leri hedeflemektedir. Sıçan yavrularının neonatal dönemde aşırı beslenmesinin pro-opiomelanokortin (POMC) promotöründeki iki Cpg dinükleotidinin hipermetilasyonunu indüklediği gösterilmiştir. Bu dinükleotidler leptin ve insüline bağlı POMC indüksiyonu için hayati öneme sahiptir [43]. Bu bulgu hipotalamustaki iştah merkezinin hala gelişmekte olduğu erken postnatal hayatta uygulanan aşırı beslemenin vücut ağırlığı regülasyonunda kritik rol oynayan genlerin metilasyonunu değişime uğratabi-

leceğini göstermektedir. Tüm bulgular bir arada değerlendirildiğinde erken yaşamdaki beslenmenin metabolizma ve iştah kontrolü ile ilişkili genlerin metilasyonundaki uzun süreli değişimleri indükleyerek metabolik hastalıkların gelişim süreçlerinde rol oynayabileceğini göstermektedir.

3 Prenatal Çevre ve Kanser Riski

Erken yaşamdaki etkilerin metabolik hastalıklar ile ilişkilerini araştıran çalışmaların aksine, prenatal ortamın ilerleyen yaşlardaki kanser riski ile ilişkisini araştıran çok daha az sayıda çalışma mevcuttur. Endokrin bozucu ajan dietilstilbesterole (DES) gebelik döneminde maruz kalan annelerin kızlarındaki vajina, serviks ve meme kanseri riski artmaktadır [44]. Prenatal dönemde veya erken çocuklukta iyonize radyasyona maruziyet ile de hayatın ilerleyen dönemlerinde sindirim sistemi ve reprodüktif sistem kanserlerinde artış olmaktadır [45]. Ancak günümüze kadar yapılan çalışmaların çoğu doğum ağırlığı ile sonrasındaki kanser riskine odaklanmıştır. Bu çalışmaların önemli bir bölümünde doğum ağırlığı ile kanser riski arasında doğru orantılı ilişki bulunmuştur; ancak hepatoblastom ve endometrium kanseri ile doğum ağırlığı arasında ise ters orantı tespit edilmiştir [46].

Doğum ağırlığı ile sonrasındaki meme kanseri riskini inceleyen birçok çalışmanın dizaynları birbirinden oldukça farklıdır. Özellikle premenopozal ve postmenopazal çalışmaların birlikte veya ayrı ayrı incelenmesi gibi farklılıklar yanında çalışmalarda yer alan diğer değişkenler, karşılaştırma ve çıkarım yapmayı zorlaştırmaktadır. Ancak 26 yayınlanmış çalışmayı inceleyen güncel bir metaanalizde premenopozal meme kanseri riskinin yüksek doğum ağırlığı ile doğan bireylerde tutarlı şekilde arttığı gösterilmiştir. Aynı ilişki postmenopozal meme kanseri riski için geçerli değildir [47]. Premenopozal meme kanseri riski yönünden yüksek doğum ağırlığı kadınlarla düşük doğum ağırlığı kadınların karşılaştırılması ile ortaya çıkan rölatif risk kohort çalışmaları için 1.20 (CI 0.91-1.19), vaka kontrol çalışmaları için ise 1.36 (CI 0.66-1.64) bulunmuştur. İlginç biçimde doğum ağırlığı ile premenopozal meme kanseri riski arasında J- veya U- şeklinde ilişkili gösteren birkaç çalışma mevcuttur [48– 50]. Bu çalışmalarda 2500 gr'ın altında ve 4000 gr'ın üstünde doğan bebeklerdeki kanser riskinin normal aralıkta doğanlara göre artmış olduğu tespit edilmiştir. Ancak bu çalışmalardaki doğum ağırlığı, çok çeşitli maternal, çevresel ve plasental faktörlerden etkilenebilen intrauterin ortamın çok kaba bir göstergesi olarak kabul edilmelidir [51].

İlerideki kanser riskini önemli bir göstergesi de maternal diyettir. Norveç'te İkinci Dünya Savaşı sırasında gıdaların karne ile dağıtılmasına bağlı kalori alımındaki düşmenin o dönemde doğan veya peripubertal dönemde olan kadınlardaki meme kanseri riskinde azalma ile ilişkili olduğu tespit edilmiştir [52, 53]. Buna karşın, 1944 yılında Hollanda'da görülen kıtlığa (Dutch Hunger Winter) hamilelikleri döneminde maruz kalan annelerin çocuklarında meme kanseri riskinde artış görülmüştür [54, 55]. Çocukluk

çağında kıtlık yaşayan kadınlarda da meme kanseri riskinin arttığı görülmüştür. Norveç ve Hollanda çalışmamalarının sonuçları arasındaki farklar Hollanda'daki kıtlığın ciddiyetinin ya da birden sona ermiş olmasının göstergesi olabilir [54]. Kıtlığın aniden sona ermiş olması ile hızlıca artan gıda tüketimi kanser riskini artıran büyüme faktörlerinin ve hormonların artışına yol açmış olabilir.

Meme kanseri riskini değişime uğratan tek faktör prenatal beslenme değildir. Çalışmalarda emzirilen bebeklerde menopoz öncesi görülen meme kanseri riskinin azalabileceği gösterilmiştir [56]. Anne sütünde bulunan uzun zincirli PUFA olan DHA nöron gelişimi için önemlidir. Ancak hayatın erken dönemlerinde alınan DHA meme bezlerinin gelişimini etkileyerek gelecekteki kanser riskini modifiye edebilir. Hayvanlarda yapılan bazı çalışmalarda n-3 PUFA'nın koruyucu etkiye sahip olduğu ve kanser riskini azalttığının gösterilmiş olması ilginçtir [57]. Erken yaşamdaki büyüme hızı da devamındaki meme kanseri riskinin önemli bir belirleyicisidir. 8-14 yaşları arasındaki hızlı büyüme meme kanseri riskinde artış ile ilişkilidir. Ancak 8,10, 12, 14. yaşlar arasındaki VKİ ise meme kanseri riski ile ters orantılı bulunmuştur [58].

3.1 Kanser Riskinin Nütrisyonel Programlamasında Hayvan Modelleri

Hayvan çalışmaları da erken yaşamdaki beslenmenin ilerleyen yıllardaki meme kanseri riskini etkilediği hipotezini desteklemektedir. Laktasyon sırasında proteini kısıtlı diyet uygulaması ile düşük VKİ olan yavrular doğar. Bu yavrularda erken başlayan N-nitrozo-Nmetilüre (NMU) tarafından indüklenen meme tümörlerinin insidansı kontrol grubundaki anne sıçanlardan elde edilen yavrulara göre iki kat daha yüksektir [59]. Bu yavrularda 3. haftadaki postnatal duktal dallanmanın ve epitelyal invazyonun da azaldığı bulunmuştur. Bunu hızlı kompensatuar meme büyümesi ve insülin reseptörü, ER ve IGF1 ekspresyonların artışının kontrollere kıyasla daha fazla olması takip eder.

Erken yaşamda aşırı beslenmenin de kanser riskinde artış ile ilişkili olduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur. De Assis ve ark. gestasyon esnasında yüksek yağlı (satüre PUFA ve MUFA karışımı) diyetle beslenen dişi sıçanların yavrularının VKİ düzeyleri artmış ve 7,12-dimetilbenz[a]antrasen (DMBA) maruziyetine cevap olarak kontrollere göre anlamlı olarak daha erken meme tümörü gelişimi olmuştur [60]. Yüksek yağlı diyetle beslenen anne sıçanların yavrularının meme bezleri meme tümörlerine yol açabilen daha fazla sayıda terminal uç tomurcuğu (TEB) içermekte olup [61] epitel dansitesi de artmıştır. Bu yavruların meme bezlerinde daha yüksek sayıda prolifere olan hücre, daha yüksek olan pro-sağkalım faktörü AKT ve daha düşük düzeyde ER-α mevcuttur. Yağın tipi ve maruziyetin zamanı da önemlidir. n-6 PUFA yönünden zengin diyetle beslenen gebe sıçanların dişi yavrularında anlamlı olarak daha yüksek meme tümörü insidansı görülmektedir [62, 63]. Tümör insidansındaki artış burada da meme bez yapısındaki değişimler ile ilişkilidir. Daha yüksek miktarda TEB tespit edilmiştir; bu TEB'ler daha uzun süre korunmuş ve alveolar tomurcukların farklılaşma düzeylerini azaltmıştır. Sı-

çanların peripubertal dönemde yüksek n-6 PUFA içeren diyetlerle beslenmesi ile de, sadece postpubertal dönemde yüksek n-6-PUFA içeren diyetlerle beslenenlere göre daha yüksek meme tümörü insidansı görülmüştür [64, 57]. Buna karşın peripubertal dönemde düşük n-6 PUFA içeren diyetlerle beslenen sıçanlarda meme karsinogenezine karşı koruyucu etki tespit edilmiştir. [57]. Düşük n-6 PUFA içeren diyet meme hücrelerini proliferasyonunu azaltıp, apoptozisi artmıştır (özellikle TEB'lerde). DNA hasarının bir markeri olan 8-hidroksi-20 deoksiguanozin düşük n-6 PUFA içeren diyetle beslenen sıçanlarda anlamlı olarak azalmıştır. Ayrıca yüksek yağlı n-6 PUFA içeren diyetlerin balık yağından elde edilen n-3 PUFA ile takviye edildiği gebe sıçanların yavrularındaki meme kanseri riskinin azaldığı gösterilmiştir [65].

Yüksek doğum ağırlığının intrauterin hayattaki östrojen maruziyetinde ve insülinin maternal ve/veya kordon kanı konsantrasyonlarındaki artış ile insülin benzeri büyüme faktörü 1 (IGF1), leptin ve adionektin düzeylerinde yükselme ile ilişkili olduğu tespit edilmiştir. [66–69]. Düşük doğum ağırlığı bireylerde ve yetersiz besleme modellerinde de bu hormonların düzeyinde artış gözlenmiştir [70]. Bu tür hormonların ve büyüme faktörlerinin epigenomun çevresel faktörlere en duyarlı olduğu erken yaşamda artmalarının meme bezlerinin gelişiminde uzun süreli etkileri olması muhtemeldir. Meme bezlerindeki hücre proliferasyon ve apoptoz oranları ile kök hücrelerin sayıları ve farklılaşmalarındaki değişimiler hayatın ilerleyen dönemlerindeki meme kanseri riskini etkiler. Şu ana kadar gebelikte kısıtlı protein veya yüksek yağlı diyetin yol açtığı birçok epigenetik değişim bildirilmiştir. Zheng ve ark. hücre siklüs inhibitörleri olan p16 ve p21'in proteini kısıtlanmış diyet uygulanan sıçanların yavrularının meme bezlerinde sürekli bir biçimde azaldığını tespit etmiştir [71, 72]. p16 ve p21 ekspresyonunda azalma histon 3'teki K4'ün asetilasyon ve demetilasyonunda azalma ile birlikte seyrediyordu. p21 için maternal diyetin DNA metilasyonu üzerindeki etkisi bisülfit sıralaması kullanılarak incelenmiş ancak metilasyonda herhangi bir değişim gözlenmemiştir [72]. Gebelikte yüksek yağlı beslemenin p16'daki epigenetik değişimleri indüklediği gösterilmiştir. Zheng ve ark. histon H4 asetilasyonunda ve HDAC3 bağlanmasında azalma bildirmiştir. Ancak CpGS'lerdeki metilasyonun tek tek ölçümü yerine bir bölge boyunca ölçüm yapan MeDIP yaklaşımı kullanılmış olmasına rağmen DNA metilasyon düzeylerinde bir değişim tespit edilmiştir. [73].

3.2 Mikrobesin Tüketimi

Tek-karbon metabolizmasında rol alan folat, B6 vitamini, B2 vitamini, B12 vitamini ve kolin gibi besin öğelerinin birçok kanser türüne karşı koruma sağladığı çok sayıda insan epidemiyolojik ve hayvan çalışmasında gösterilmiştir. Ancak erişkinlikteki folat tüketimi ile meme kanseri riski arasındaki ilişki karmaşıktır. Hepsinde olmasa bile, çalışmaların bir çoğunda diyetle folat alımı ile meme kanseri riski arasında ters orantılı bir ilişki gösterilmiştir [74]. Ancak ≥400 μg/d dozunda uygulanan folik asit takviyesinin meme kanseri riskinde artışa yol açtığını gösteren çalışmalar da mevcuttur [75]. Son 10 yılda

bazı ülkelerdeki folik asit tüketimi gıdaların folik asit ile zengileştirilmesi, folik asit takviyelerinin tüketimi, nörol tüp defektlerinin önlenmesi amacıyla perikonsepsiyonel folik asit takviyesi kullanımı nedeniyle dramatik olarak artmıştır [76–78]. Bazı çalışmalarda erken yaşamdaki folik asit ve diğer mikrobesinlerin takviyesinin sonrasındaki kanser riski ile ilişkisi araştırılmıştır. Cinsel birleşme öncesi 3. haftadan itibaren ve gebelik ve emzirme boyunca kullanılan folik asit takviyesi uygulanan sıçanların yavrularında, kontrol diyeti uygulananların yavrularına göre anlamlı olarak daha az sayıda TEB oluşmuştur (p=0.014) [79]. TEB'ler meme tümörlerini destekleyen oluşumlar oldukları için, daha az TEB'in tümör eğiliminde azalmaya yol açabileceği düşünülebilir. Ancak çalışmada bu teori test edilmemiştir. Buna karşın Ly ve ark. hem maternal hem de sütten kesme sonrası uygulanan folik asit takviyesinin yavrulardaki meme adenokarsinomlarını, DMBA uygulanması sonrası anlamlı olarak artırdığını bildirmiştir (sırasıyla OR 1/4 2.1, %95 CI 1.2–3.8, P 1/4 0.008 ve OR 1/4 1.9, %95 CI 1.1–3.3, P 1/4 0.03) [80]. Aynı çalışmada uygulanan maternal folik asit takviyesi de yavrulardaki meme adenokarsinomlarının görülmesini anlamlı düzeyde hızlandırmış (p 1/4 0.002) hücrelerin katlanarak büyüme hızlarını artırmıştır (p 1/4 0.008). Bu iki çalışmada folik asit takviyesine verilen cevapların farklı olması, çalışmalardan birinde karsinojenik ajanlara maruz kalınmayan uzun latent periyodlar mevcutken, diğer çalışmada DMBA gibi ajanlara maruziyetin meme tümörlerini indüklemesinden kaynaklanıyor olabilir. Mikrobesinler, nükleotid ve/veya S-adenozil metionin (SAM - DNA'yı da içeren hemen tüm metilasyon reaksiyonlarının üniversal donörü) sentezi için gereken tek-karbonlu segmentleri sağlayarak karsinogenez üzerinde etki gösteriyor olabilirler. Ly ve ark. maternal (sütten kesme sonrasını içermeyen) folik asit takviyesinin yavruların non-neoplastik meme bezlerindeki global DNA metilasyonunu anlamlı olarak azalttığını bildirmiştir (p=0.03). Ancak sütten kesme sonrası folik asit uygulanmasının DNA metiltransferaz aktivitesini anlamlı olarak azalttığını tespit etmişlerdir (p=0.05) [81, 80]. Bu bulgular epigenetik prosesin kanseri riskini belirlemede önemli bir rol oynayabileceğini önermektedir.

3.3 Epigenetik Biyomarkerlerin Tanımlanması

Kanser riski hayat boyunca maruz kalınan olayların bir göstergesi ise, hücre transformasyonu ile ilişkili epigenetik değişimler klinik hastalığın başlamasından yıllar önce mevcut olabilirler [82]. Bu nedenle hastalığın belirgin semptomları ortaya çıkmadan önce epigenetik değişimlerin tespit edilmesi ile yüksek risk altındaki bireylerin belirlenmesi mümkün olabilir. İnsanlarda kolayca test etmeye müsait olan dokular kan, bukkal, göbek bağı ya da plasentadır. Gen metilasyonlarındaki dokuya özel farklılıklar gayet net olarak dokümante edilmiştir. Ancak Talens ve ark. kanda ölçülen metilasyon düzeylerinin, bukkal hücrelerinde ölçülen aday lokusların yarısındaki metilasyon düzeylerine eşit olduğunu, bu hücrelerin farklı germ tabakalarından (sırasıyla mezoderm ve ektoderm) kaynaklandığı gerçeğine rağmen yakın zamanda bildirmiştir [83]. Godrey ve ark. da güncel bir yayınlarında iki farklı kohortta göbek bağındaki transkripsiyon faktörü olan

RXRα'nın promotör alanındaki tek bir CpG bölgesindeki metilasyon düzeylerinin, hem erkek hem de kızlarda çocukluk çağındaki adipozite derecesiyle güçlü bir ilişkisi olduğunu bildirmişlerdir [84]; RXRα promotör metilasyonunun çocukluk çağındaki yağ kütlesi varyasyonunun beşte birinden fazlasını açıklayabiliyor olması, epigenetik değişimlerin bir bireyin bulaşıcı olmayan hastalıklara yakalanma riskinde daha önce tahmin edilenden çok daha büyük rol oynadığını düşündürmektedir. Bu gözlem göbek bağındaki veya diğer hemen test edilebilen dokulardaki metilasyon düzeylerinin metabolik olarak daha ilişkili dokulardaki metilasyonu temsil eden markerler olarak kullanılabilme ihtimalini ortaya koymaktadır. Bunun mümkün olması çevresel problemin ne zaman ortaya çıktığına bağlı olsa da, erken gelişim basamaklarındaki bu tür bir problemin muhtemelen tüm germ tabakalarını etkileyerek değiştirdiği epigenetik işaretlerin izinin dokularda tespit edilmesi mümkün olabilir. Gestasyonun ileri evrelerinde oluşan maruziyetlerin ise sadece dokuya özgü etkilerinin olması muhtemeldir.

Brennan ve ark. prediagnostik kan örneklerindeki periferik kan DNA'sındaki ATM geni içindeki intragenik bir bölgenin metilasyonunun meme kanseri riskinde artış ile ilişkili olduğunu güncel bir makalelerinde bildirmişlerdir [85]. Kan alımından teşhise kadar geçen 1 ila 11 aylık süre ile ATM metilasyon düzeyi arasında bir ilişki tespit edilememiş olması, bu ilişkinin preklinik hastalık varlığı ile açıklanamayacağını göstermektedir. ATM metilasyon bölgesinin zaman içinde stabilitesini korumuş olması, periferik kandaki ATM hipermetilasyonunun predispozisyonun stabil bir markeri olduğunu düşündürmektedir. Wong ve ark. periferik kandaki BRAC1 metilasyonunun, BRCA1 mutasyonu ile ilişkili patolojiye sahip erken başlangıçlı meme kanseri riskini 3.5 kat (%95 CI, 1.4-10.5) artırdığını bildirmiştir [86]. Periferik kanda tespit edilebilen BRCA1 metilasyonunun da tümör içindeki BRCA1 promotörünün yüksek metilasyonu ile ilişkili olduğunun bulunmuş olması, yapısal BRCA1 metilasyonunun BRCA1 hipermetile tümörlerin gelişime karşı olan duyarlılığı artırdığını bildirmiştir [86]. Ancak ATM veya BRCA1'de görülen metilasyon değişimlerinin epigenomun değişime en duyarlı olduğu erken yaşamda meydana gelip gelmediği konusu açıklığa kavuşturulmayı beklemektedir. Buna rağmen, elimizdeki bulgular periferik kandaki epigenetik işaretlerin yaşamın ilerleyen dönemlerindeki hastalık riskini tahmin etmede kullanışlı biyomarkerler olabileceğini düşündürmektedir. Ayrıca, yeni geliştirilen yüksek kapasiteli tüm genomu kapsayan metilasyon analizleri ile kanda yüksek meme kanseri duyarlılığı ile ilgili epigenetik işaretlerin tanımlanmasını sağlayacak tüm epigenomu kapsayan ilişkilendirme çalışmaları (EWAS) yapabilmek artık mümkün olacaktır. Bu tür değişimlerin altında yatan mekanizmalar ile ilgili hala cevaplanmayı bekleyen birçok soru mevcuttur. Örneğin bu tür değişimleri indükleyebilen nütrisyonel faktörlerin veya bu tür değişimlere duyarlılık veya stabilite periodlarının zamanları gibi sorular mevcuttur. Bu proseslerin anlaşılması hem hastalık riski ile ilişkili efektif markerlerin geliştirilmesini hem de meme kanseri riskinin azaltılabilmesinde kullanılacak girişimsel hedeflerin belirlenebilmesini sağlayacaktır.

4 Sonuçlar

Geleneksel olarak genetik değişimlerin kansere neden olduğu kabul edilmektedir. Ancak, günümüzde erken yaşamda maruz kalınan çevrenin kalitesindeki varyasyonların genlerin epigenetik regülasyonunu değiştirerek gelecekteki kanser riskini etkilemesi hakkında hatırı sayılır kanıtlar mevcuttur. Erken yaşamdaki meme kanseri gelişiminin indüklenmesinde genlerin epigenetik regülasyonlarındaki değişimlerin rolünün ve potansiyel biyomarkerlerin tanımlanması, uzun süreli meme kanseri riskini modifiye edebilecek nütrisyonel veya farmakolojik girişimlerin geliştirilebilme ihtimalini ortaya koymaktadır.

Referanslar

1. Barker DJ, Osmond C (1986) Infant mortality, childhood nutrition, and ischaemic heart disease in England and Wales. Lancet 1:1077–1081
2. Godfrey KM, Barker DJ (2001) Fetal programming and adult health. Public Health Nutr 4:611–624
3. Bertram CE, Hanson MA (2001) Animal models and programming of the metabolic syndrome. Br Med Bull 60:103–121
4. Gluckman PD, Hanson MA, Spencer HG (2005) Predictive adaptive responses and human evolution. Trends Ecol Evol 20:527–533
5. Cox GF, Burger J, Lip V, Mau UA, Sperling K, Wu BL, Horsthemke B (2002) Intracytoplasmic sperm injection may increase the risk of imprinting defects. Am J Hum Genet 71:162–164
6. DeBaun MR, Niemitz EL, Feinberg AP (2003) Association of in vitro fertilization with Beckwith-Wiedemann syndrome and epigenetic alterations of LIT1 and H19. Am J Hum Genet 72:156–160
7. Bird A (2002) DNA methylation patterns and epigenetic memory. Genes Dev 16:6–21
8. Bird AP (1986) CpG-rich islands and the function of DNA methylation. Nature 321:209–213
9. Reik W, Dean W (2001) DNA methylation and mammalian epigenetics. Electrophoresis 22:2838–2843
10. Li E, Beard C, Jaenisch R (1993) Role for DNA methylation in genomic imprinting. Nature 366:362–365
11. Walsh CP, Chaillet JR, Bestor TH (1998) Transcription of IAP endogenous retroviruses is constrained by cytosine methylation. Nat Genet 20:116–117
12. Waterland RA, Jirtle RL (2003) Transposable elements: targets for early nutritional effects on epigenetic gene regulation. Mol Cell Biol 23:5293–5300
13. Bird A (2001) Molecular biology. Methylation talk between histones and DNA. Science 294:2113–2115
14. Reik W, Walter J (2001) Genomic imprinting: parental influence on the genome. Nat Rev Genet 2:21–32
15. Yoder JA, Soman NS, Verdine GL, Bestor TH (1997) DNA (cytosine-5)-methyltransferases in mouse cells and tissues. Studies with a mechanism-based probe. J Mol Biol 270:385–395
16. Reik W, Dean W, Walter J (2001) Epigenetic reprogramming in mammalian development. Science 293:1089–1093
17. Turner BM (2000) Histone acetylation and an epigenetic code. BioEssays 22:836–845
18. Brenner C, Fuks F (2007) A methylation rendezvous: reader meets writers. Dev Cell 12:843–844

19. Yun M, Wu J, Workman JL, Li B (2011) Readers of histone modifications. Cell Res 21:564–578
20. Nakayama J, Rice JC, Strahl BD, Allis CD, Grewal SI (2001) Role of histone H3 lysine 9 methylation in epigenetic control of heterochromatin assembly. Science 292:110–113
21. Rountree MR, Bachman KE, Baylin SB (2000) DNMT1 binds HDAC2 and a new co-repressor, DMAP1, to form a complex at replication foci. Nat Genet 25:269–277
22. Vire E, Brenner C, Deplus R, Blanchon L, Fraga M, Didelot C, Morey L, Van EA, Bernard D, Vanderwinden JM, Bollen M, Esteller M, Di CL, de LY, Fuks F (2006) The polycomb group protein EZH2 directly controls DNA methylation. Nature 439:871–874
23. Siomi H, Siomi MC (2009) On the road to reading the RNA-interference code. Nature 457:396–404
24. Kim DH, Saetrom P, Snove O Jr, Rossi JJ (2008) MicroRNA-directed transcriptional gene silencing in mammalian cells. Proc Natl Acad Sci USA 105:16230–16235
25. Bayne EH, Allshire RC (2005) RNA-directed transcriptional gene silencing in mammals. Trends Genet 21:370–373
26. Lopatina N, Haskell JF, Andrews LG, Poole JC, Saldanha S, Tollefsbol T (2002) Differential maintenance and de novo methylating activity by three DNA methyltransferases in aging and immortalized fibroblasts. J Cell Biochem 84:324–334
27. Richardson B (2003) Impact of aging on DNA methylation. Ageing Res Rev 2:245–261
28. Liu L, Wylie RC, Andrews LG, Tollefsbol TO (2003) Aging, cancer and nutrition: the DNA methylation connection. Mech Ageing Dev 124:989–998
29. Zhu J (2006) DNA methylation and hepatocellular carcinoma. J Hepatobiliary Pancreat Surg 13:265–273
30. Galm O, Herman JG, Baylin SB (2006) The fundamental role of epigenetics in hematopoietic malignancies. Blood Rev 20:1–13
31. Szyf M (2006) Targeting DNA methylation in cancer. Bull Cancer 93:961–972
32. Szyf M, Pakneshan P, Rabbani SA (2004) DNA methylation and breast cancer. Biochem Pharmacol 68:1187–1197
33. Bloushtain-Qimron N, Yao J, Shipitsin M, Maruyama R, Polyak K (2009) Epigenetic patterns of embryonic and adult stem cells. Cell Cycle 8:809–817
34. Xu X, Gammon MD, Zhang Y, Bestor TH, Zeisel SH, Wetmur JG, Wallenstein S, Bradshaw PT, Garbowski G, Teitelbaum SL, Neugut AI, Santella RM, Chen J (2009) BRCA1 promoter methylation is associated with increased mortality among women with breast cancer. Breast Cancer Res Treat 115:397–404
35. Xu X, Gammon MD, Zhang Y, Cho YH, Wetmur JG, Bradshaw PT, Garbowski G, Hibshoosh H, Teitelbaum SL, Neugut AI, Santella RM, Chen J (2010) Gene promoter methylation is associated with increased mortality among women with breast cancer. Breast Cancer Res Treat 121:685–692
36. Waterland RA, Jirtle RL (2004) Early nutrition, epigenetic changes at transposons and imprinted genes, and enhanced susceptibility to adult chronic diseases. Nutrition 20:63–68
37. Kucharski R, Maleszka J, Foret S, Maleszka R (2008) Nutritional control of reproductive status in honeybees via DNA methylation. Science 319:1827–1830
38. Wolff GL, Kodell RL, Moore SR, Cooney CA (1998) Maternal epigenetics and methyl supplements affect agouti gene expression in Avy/a mice. FASEB J 12:949–957
39. Burdge GC, Slater-Jefferies J, Torrens C, Phillips ES, Hanson MA, Lillycrop KA (2007) Dietary protein restriction of pregnant rats in the F0 generation induces altered methylation of hepatic gene promoters in the adult male offspring in the F1 and F2 generations. Br J Nutr 97:435–439
40. Lillycrop KA, Phillips ES, Jackson AA, Hanson MA, Burdge GC (2006) Dietary protein restriction in the pregnant rat induces altered epigenetic regulation of the glucocorticoid receptor and peroxisomal proliferator-activated receptor alpha in the heart of the offspring which is prevented by folic acid. Proc Nutr Soc 65:65A

41. Lillycrop KA, Slater-Jefferies JL, Hanson MA, Godfrey KM, Jackson AA, Burdge GC (2007) Induction of altered epigenetic regulation of the hepatic glucocorticoid receptor in the offspring of rats fed a protein-restricted diet during pregnancy suggests that reduced DNA methyltransferase-1 expression is involved in impaired DNA methylation and changes in histone modifications. Br J Nutr 97:1064–1073
42. Lillycrop KA, Phillips ES, Torrens C, Hanson MA, Jackson AA, Burdge GC (2008) Feeding pregnant rats a protein-restricted diet persistently alters the methylation of specific cytosines in the hepatic PPARalpha promoter of the offspring. Br J Nutr 100:278–282
43. Plagemann A, Harder T, Brunn M, Harder A, Roepke K, Wittrock-Staar M, Ziska T, Schellong K, Rodekamp E, Melchior K, Dudenhausen JW (2009) Hypothalamic proopiomelanocortin promoter methylation becomes altered by early overfeeding: an epigenetic model of obesity and the metabolic syndrome. J Physiol 587:4963–4976
44. Herbst AL, Ulfelder H, Poskanzer DC (1971) Adenocarcinoma of the vagina. Association of maternal stilbestrol therapy with tumor appearance in young women. N Engl J Med 284:878–881
45. Preston DL, Cullings H, Suyama A, Funamoto S, Nishi N, Soda M, Mabuchi K, Kodama K, Kasagi F, Shore RE (2008) Solid cancer incidence in atomic bomb survivors exposed in utero or as young children. J Natl Cancer Inst 100:428–436
46. McCormack VA, dos Santos Silva I, Koupil I, Leon DA, Lithell HO (2005) Birth characteristics and adult cancer incidence: Swedish cohort of over 11,000 men and women. Int J Cancer 115:611–617
47. Michels KB, Xue F (2006) Role of birthweight in the etiology of breast cancer. Int J Cancer 119:2007–2025
48. Innes K, Byers T, Schymura M (2000) Birth characteristics and subsequent risk for breast cancer in very young women. Am J Epidemiol 152:1121–1128
49. Mellemkjaer L, Olsen ML, Sorensen HT, Thulstrup AM, Olsen J, Olsen JH (2003) Birth weight and risk of early-onset breast cancer (Denmark). Cancer Causes Control 14:61–64
50. Sanderson M, Shu XO, Jin F, Dai Q, Ruan Z, Gao YT, Zheng W (2002) Weight at birth and adolescence and premenopausal breast cancer risk in a low-risk population. Br J Cancer 86:84–88
51. Gluckman PD, Hanson MA, Cooper C, Thornburg KL (2008) Effect of in utero and early-life conditions on adult health and disease. N Engl J Med 359:61–73
52. Tretli S, Gaard M (1996) Lifestyle changes during adolescence and risk of breast cancer: an ecologic study of the effect of World War II in Norway. Cancer Causes Control 7:507–512
53. Robsahm TE, Tretli S (2002) Breast cancer incidence in food- vs non-food-producing areas in Norway: possible beneficial effects of World War II. Br J Cancer 86:362–366
54. Elias SG, Peeters PH, Grobbee DE, van Noord PA (2004) Breast cancer risk after caloric restriction during the 1944–1945 Dutch famine. J Natl Cancer Inst 96:539–546
55. Painter RC, De Rooij SR, Bossuyt PM, Osmond C, Barker DJ, Bleker OP, Roseboom TJ (2006) A possible link between prenatal exposure to famine and breast cancer: a preliminary study. Am J Hum Biol 18:853–856
56. Potischman N, Troisi R (1999) In-utero and early life exposures in relation to risk of breast cancer. Cancer Causes Control 10:561–573
57. Olivo SE, Hilakivi-Clarke L (2005) Opposing effects of prepubertal low- and high-fat n-3 polyunsaturated fatty acid diets on rat mammary tumorigenesis. Carcinogenesis 26:1563–1572
58. Huang Z, Hankinson SE, Colditz GA, Stampfer MJ, Hunter DJ, Manson JE, Hennekens CH, Rosner B, Speizer FE, Willett WC (1997) Dual effects of weight and weight gain on breast cancer risk. JAMA 278:1407–1411
59. Fernandez-Twinn DS, Ozanne SE (2010) Early life nutrition and metabolic programming. Ann NY Acad Sci 1212:78–96
60. De AS, Khan G, Hilakivi-Clarke L (2006) High birth weight increases mammary tumorigenesis in rats. Int J Cancer 119:1537–1546

61. Hilakivi-Clarke L, Shajahan A, Yu B, De AS (2006) Differentiation of mammary gland as a mechanism to reduce breast cancer risk. J Nutr 136:2697S–2699S
62. Hilakivi-Clarke L, Clarke R, Onojafe I, Raygada M, Cho E, Lippman M (1997) A maternal diet high in n–6 polyunsaturated fats alters mammary gland development, puberty onset, and breast cancer risk among female rat offspring. Proc Natl Acad Sci USA 94:9372–9377
63. Hilakivi-Clarke L, Clarke R, Lippman M (1999) The influence of maternal diet on breast cancer risk among female offspring. Nutrition 15:392–401
64. Lo CY, Hsieh PH, Chen HF, Su HM (2009) A maternal high-fat diet during pregnancy in rats results in a greater risk of carcinogen-induced mammary tumors in the female offspring than exposure to a high-fat diet in postnatal life. Int J Cancer 125:767–773
65. Su HM, Hsieh PH, Chen HF (2010) A maternal high n-6 fat diet with fish oil supplementation during pregnancy and lactation in rats decreases breast cancer risk in the female offspring. J Nutr Biochem 21:1033–1037
66. Delvaux T, Buekens P, Thoumsin H, Dramaix M, Collette J (2003) Cord C-peptide and insulin-like growth factor-I, birth weight, and placenta weight among North African and Belgian neonates. Am J Obstet Gynecol 189:1779–1784
67. Sivan E, Mazaki-Tovi S, Pariente C, Efraty Y, Schiff E, Hemi R, Kanety H (2003) Adiponectin in human cord blood: relation to fetal birth weight and gender. J Clin Endocrinol Metab 88:5656–5660
68. Troisi R, Potischman N, Roberts J, Siiteri P, Daftary A, Sims C, Hoover RN (2003) Associations of maternal and umbilical cord hormone concentrations with maternal, gestational and neonatal factors (United States). Cancer Causes Control 14:347–355
69. Vatten LJ, Nilsen TI, Tretli S, Trichopoulos D, Romundstad PR (2005) Size at birth and risk of breast cancer: prospective population-based study. Int J Cancer 114:461–464
70. Park CS (2005) Role of compensatory mammary growth in epigenetic control of gene expression. FASEB J 19:1586–1591
71. Zheng S, Pan YX (2011) Histone modifications, not DNA methylation, cause transcriptional repression of p16 (CDKN2A) in the mammary glands of offspring of protein-restricted rats. J Nutr Biochem 22:567–573
72. Zheng S, Rollet M, Yang K, Pan YX (2011) A gestational low-protein diet represses p21WAF1/Cip1 expression in the mammary gland of offspring rats through promoter histone modifications. Br J Nutr 1–10
73. Zheng S, Li Q, Zhang Y, Balluff Z, Pan YX (2012) Histone deacetylase 3 (HDAC3) participates in the transcriptional repression of the p16 (INK4a) gene in mammary gland of the female rat offspring exposed to an early-life high-fat diet. Epigenetics 7:183–190
74. Larsson SC, Giovannucci E, Wolk A (2007) Folate and risk of breast cancer: a meta-analysis. J Natl Cancer Inst 99:64–76
75. Stolzenberg-Solomon RZ, Chang SC, Leitzmann MF, Johnson KA, Johnson C, Buys SS, Hoover RN, Ziegler RG (2006) Folate intake, alcohol use, and postmenopausal breast cancer risk in the prostate, lung, colorectal, and ovarian cancer screening trial. Am J Clin Nutr 83:895–904
76. Pfeiffer CM, Johnson CL, Jain RB, Yetley EA, Picciano MF, Rader JI, Fisher KD, Mulinare J, Osterloh JD (2007) Trends in blood folate and vitamin B-12 concentrations in the United States, 1988 2004. Am J Clin Nutr 86:718–727
77. Radimer K, Bindewald B, Hughes J, Ervin B, Swanson C, Picciano MF (2004) Dietary supplement use by US adults: data from the National health and nutrition examination survey, 1999–2000. Am J Epidemiol 160:339–349
78. Wilson RD, Johnson JA, Wyatt P, Allen V, Gagnon A, Langlois S, Blight C, Audibert F, Desilets V, Brock JA, Koren G, Goh YI, Nguyen P, Kapur B (2007) Pre-conceptional vitamin/folic acid supplementation 2007: the use of folic acid in combination with a multivitamin supplement for the prevention of neural tube defects and other congenital anomalies. J Obstet Gynaecol Can 29:1003–1026

79. Sie KK, Chen J, Sohn KJ, Croxford R, Thompson LU, Kim YI (2009) Folic acid supplementation provided in utero and during lactation reduces the number of terminal end buds of the developing mammary glands in the offspring. Cancer Lett 280:72–77
80. Ly A, Lee H, Chen J, Sie KK, Renlund R, Medline A, Sohn KJ, Croxford R, Thompson LU, Kim YI (2011) Effect of maternal and postweaning folic acid supplementation on mammary tumor risk in the offspring. Cancer Res 71:988–997
81. Korotkova M, Gabrielsson BG, Holmang A, Larsson BM, Hanson LA, Strandvik B (2005) Gender-related long-term effects in adult rats by perinatal dietary ratio of n-6/n-3 fatty acids. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol 288:R575–R579
82. Burdge GC, Lillycrop KA, Jackson AA (2009) Nutrition in early life, and risk of cancer and metabolic disease: alternative endings in an epigenetic tale? Br J Nutr 101:619–630
83. Talens RP, Boomsma DI, Tobi EW, Kremer D, Jukema JW, Willemsen G, Putter H, Slagboom PE, Heijmans BT (2010) Variation, patterns, and temporal stability of DNA methylation: considerations for epigenetic epidemiology. FASEB J 24:3135–3144
84. Godfrey KM, Sheppard A, Gluckman PD, Lillycrop KA, Burdge GC, McLean C, Rodford J, Slater-Jefferies JL, Garratt E, Crozier SR, Emerald BS, Gale CR, Inskip HM, Cooper C, Hanson MA (2011) Epigenetic gene promoter methylation at birth is associated with child's later adiposity. Diabetes 60:1528–1534
85. Brennan K, Garcia-Closas M, Orr N, Fletcher O, Jones M, Ashworth A, Swerdlow A, Thorne H, Riboli E, Vineis P, Dorronsoro M, Clavel-Chapelon F, Panico S, Onland-Moret NC, Trichopoulos D, Kaaks R, Khaw KT, Brown R, Flanagan JM (2012) Intragenic ATM methylation in peripheral blood DNA as a biomarker of breast cancer risk. Cancer Res 72:2304–2313
86. Wong EM, Southey MC, Fox SB, Brown MA, Dowty JG, Jenkins MA, Giles GG, Hopper JL, Dobrovic A (2011) Constitutional methylation of the BRCA1 promoter is specifically associated with BRCA1 mutation-associated pathology in early-onset breast cancer. Cancer Prev Res (Phila) 4:23–33

Meme Kanserinde Zeytinyağı ve Diğer Diyet Lipidleri

Eduard Escrich, Montserrat Solanas ve Raquel Moral

Özet

Meme kanseri dünyada kadınlar arasında en sık görülen malign neoplazidir. Genetik ve endokrin faktörlere ek olarak, çevre ve özellikle de nütrisyonel faktörler etyolojisinde önemli rol oynamaktadır. Epidemiyolojik ve özellikle de deneysel çalışmalarda diyet yağı ve meme kanseri arasındaki bağlantı gösterilmiştir. Akdeniz diyetindeki ana yağ kaynağı olan ve meme kanseri gibi kronik hastalıklardaki düşü mortalite insidansı ile ilişkili olan natürel sızma zeytinyağının (NSZY) potansiyel kemopreventif etkisi ile ilgili bol miktarda veri mevcuttur. Başlıca deneysel modellerde gerçekleştirdiğimiz çalışmalarda, diyet lipidlerinin meme karsinogenezi üzerindeki farklı modüle edici etkilerini gösterdik. n-6 poliansatüre yağ asitleri (PUFA) yönünden zengin diyetler meme kanseri gelişimini net bir şekilde stimüle ederken, NSZY yönünden zengin diyetler ise negatif modüle edici etki gösterirler. Burada rol oynayan spesifik mekanizmalar tam olarak anlaşılmamıştır. Ancak günümüzde çok sayıda ve kompleks mekanizmanın rol oynadığı kabul edilmektedir. Çalışma grubumuz bu alandaki bilgi düzeyinin artmasına diyet lipidlerinin hücre membranlarının yapı ve fonksiyonlarındaki etkilerini, hücre sinyal dönüştürme yolaklarının modülasyonunu, gen ekspresyonu, büyüme ve cinsel olgunluğun regülasyonunu göstererek katkı yapmıştır.

Anahtar Kelimeler

Meme kanseri • Diyet lipidleri • NSZY • Deneysel meme kanseri • n-6 PUFA Zeytinyağı • Mısır yağı

E. Escrich (✉) · M. Solanas · R. Moral
Department of Cell Biology, Physiology and Immunology, Physiology Unit, Medicine School, Universitat Autnoma de Barcelona, Bellaterra, 08193, Barcelona, Spain
e-mail: Eduard.Escrich@uab.es

V. Zappia et al. (eds.), *Advances in Nutrition and Cancer,*
Cancer Treatment and Research 159, DOI: 10.1007/978-3-642-38007-5_17,
© Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2014

Kısaltmalar

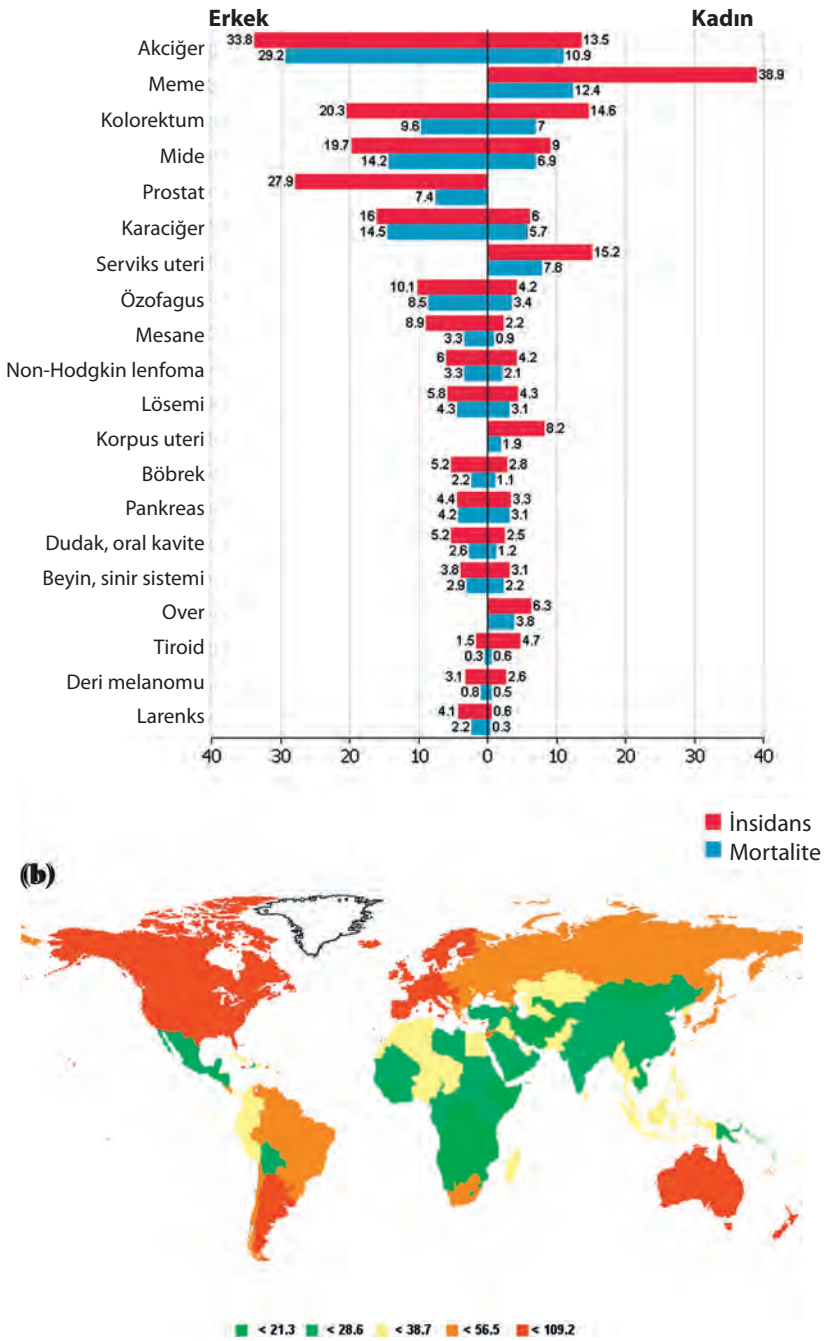
PUFA	Poliansatüre yağ asitleri
MUFA	Monoansatüre yağ asitleri
OA	Oleik asit
NSZY	Natürel sızma zeytinyağı
DMBA	Dimetil-benz(α)antrasen
HCO	Yüksek mısır yağı
LA	Linoleik asit
FFA	Serbest yağ asitleri
PCNA	Prolifere hücre nükleer antijeni
CPT I	Karnitin palmitoltransferaz I
PPAR	Peroksizom proliferatör reseptörü
VDUP1	Vitamin D3-yukarı regüle protein 1
IGF	İnsülin benzeri büyüme faktörü

İçindekiler

1 Giriş 290
2 Meme Karsinogenezinde Diyet Lipidlerinin Etkisi ile İlgili Deneysel Kanıtlar 293
3 Diyet Lipidlerinin Meme Adenokarsinomlarının Morfolojik Malignitesi Üzerindeki Etkileri 295
4 Meme Kanserinde Diyet Lipidlerinin Etki Mekanizması 297
4.1 Hormonal Statünün Değişimi 297
4.2 Hücre Membranının Yapı ve Fonksiyonunun Modifikasyonu 299
4.3 Sinyal Dönüştürücü Yolaklar Üzerindeki Etki 299
4.4 Gen Ekspresyonu Üzerindeki Etki 301
4.5 Büyüme ve Cinsel Olgunluk Üzerindeki Etki 302
5 Sonuçlar 304
Referanslar 305

1 Giriş

Meme kanseri dünyada kadınlar arasında büyük farkla en sık görülen kanser türüdür (tüm kanserlerin %22.9'u). Daha sonra kolorektal kanser (%9.4) ile serviks ve uterus kanserleri (%8.8) gelmektedir. Hem gelişmiş hem de gelişmemekte olan ülkelerde kansere bağlı en sık ölüm nedenini oluşturur (Şekil 1a) [1]. Meme kanserinin etyolojisi multifaktöryeldir. Başlıca genetik, epigenetik ve endokrin faktörler rol oynar [2, 3]. Ancak neoplazilerin insidans oranları coğrafi bölgelere göre farklılıklar gösterir. En sık olarak

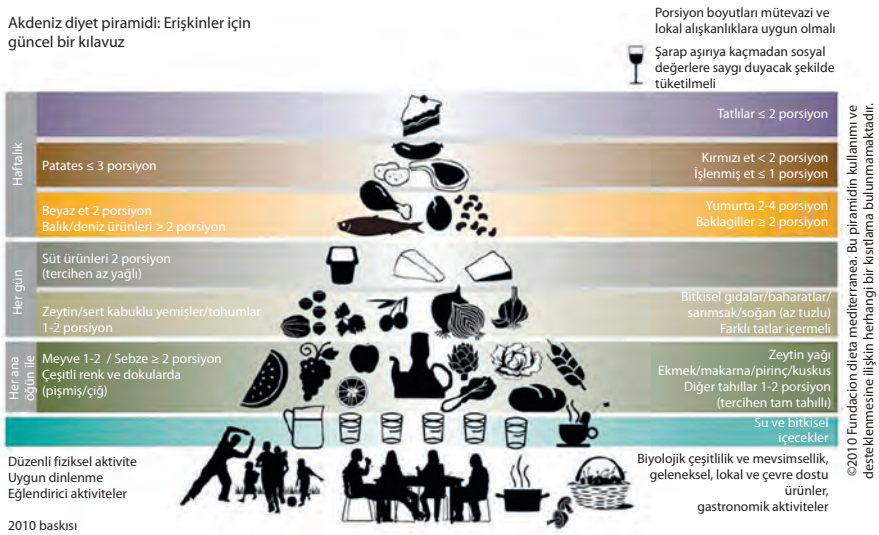


Şekil 1 **a** Dünyada cinsiyete ve kanser tipine göre (yaşa göre standardize edilmiş) insidans ve mortalite oranları (1/100.000). **b** Meme kanserinin yaşa göre standardize edilmiş insidans oranları (1/100.000) [4].

dünyanın gelişmiş bölgelerinde (Japonya hariç) görülür. En düşük insidanslara da çoğunlukla gelişmekte olan bölgelerde rastlanmaktadır (Şekil 1b) [1, 4]. Bu bulgu meme kanseri gelişiminde çevresel faktörlerin de rol oynadığını göstermektedir. Aralarında en önemlisinin nütrisyonel faktörler olmasının ilk nedeni bir toplumun diyet alışkanlıkları nedeniyle sürekli olarak maruz kaldığı veya eksikliğini çektiği gıdaların varlığıdır. İkinci neden ise bu faktörleri baz alarak koruyucu önlemlerin alınabilme ihtimalidir [5].

Meme kanseri ile ilişkili çok sayıda diyet faktörü arasında bulunan lipidler, en önemlilerinden biri olarak kabul edilmektedir. Diyet lipidleri ile meme, kolorektum ve prostat kanseri gibi belirli kanser tipleri arasındaki ilişki epidemiyoloji ve özellikle de deneysel çalışmalarda tespit edilmiştir Diyetle alınan yağ ile meme kanseri riski arasındaki ilişkiyi destekleyen ile epidemiyolojik destek ekolojik çalışmalardan (korelasyonel ve göçmenlerle ilgili) gelmiştir. Buna karşın analitik epidemiyoloji çalışmalarında (vaka kontrol ve prospektif çalışmalar) elde edilen bazı veriler tutarsızdır. Bu çalışmaların tamamı anlamlı bir ilişki varlığını desteklememektedir. Total ve satüre yağ tüketimi ile meme kanseri arasında pozitif bir ilişki olduğu tespit edilmiş görünmektedir. Ancak spesifik yağ alt tipleri ile ilgili ilişkiler daha az tutarlıdır [9–13]. Bizim çalışma grubumuzun yaptıklarını da kapsayan deneysel çalışmalar diyet lipidleri ile meme kanseri arasındaki ilişki hakkında önemli bilimsel kanıtlara imza atmıştır. Bu nedenle yağdan zengin diyetlerin stimülan etkilerine ek olarak, özel lipid tiplerinin meme kanseri üzerinde farklı modüle edici etkileri mevcuttur: Stimüle edici satüre yağlar başlıca hayvansal kaynaklıdır. Ancak n-6 pan yağ asitleri (PUFA) ise bitkisel kaynaklı olup sıklıkla yağlı tohumlardan elde edilen yağlarda mevcuttur. n-3 PUFA inhibitörleri ise sebzelerde ve özellikle deniz kaynaklı gıdalarda mevcuttur. Monoansatüre yağ asitlerinden (MUFA) olan oleik asit (OA) zeytinyağında yüksek miktarda mevcuttur. Kemopreventif etkisi ile ilişkili kanıtlar artmakta olsa da çelişkili sonuçlar da mevcuttur. Tümör büyümesi üzerindeki etkileri ile ilgili çelişkili sonuçlar stimüle etmeyici, hafif stimüle edici veya stimüle edici olabileceğini bildirmektedir [7, 14–17].

Akdeniz ülkelerindeki kardiyovasküler hastalıklar ve meme kanserini de içeren bazı kanser türleri gibi kronik hastalıkların insidans ve mortalitelerinin diğer Batı ülkeleri ile kıyaslandığında daha düşük olduğunu gösteren çok miktarda veri nedeniyle, Akdeniz diyetinin majör yağ kaynağı olan zeytinyağı ciddi bir ilgi kaynağı olmuştur. Akdeniz diyeti, Akdeniz'in farklı bölgelerinde çeşitli beslenme paternlerine sahiptir ve bitkisel (meyve, sebze, tahıllar, tohumlar ve sert kabuklu yemişler), süt ürünleri, balık ve zeytinyağı gibi besinlerin çok miktarda tüketimi ile karakterizedir [18] (Şekil 2). NSZY (natürel sızma sızan zeytinyağı) OA (%72-74) yönünden zengin olmasına ek olarak, skualen, fenolik antioksidanlar (hidroksitirozol, tirozol ve oleuropein), sekoiridoidler (oleuropein ve aglikonu), flavonoidler ve lignanlar gibi minör biyoaktif bileşikleri de içerir [19– 21]. Günümüzde NSZY'nin potansiyel sağlıklı etkilerinin hem yağ asidi kompozisyonuna (özellikle yükse OA içeriği, uygun miktarda esansiyel PUFA ve görece düşük n-6 PUFA / n-3 PUFA oranı) hem de içerdiği minör biyoaktif bileşiklere dayandığı net olarak anlaşılmıştır [22–25].

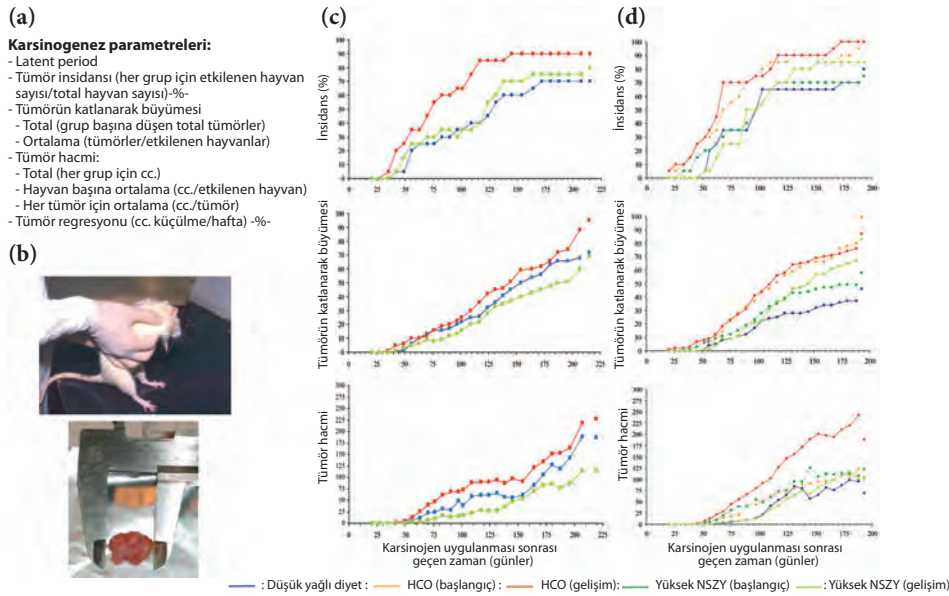


Şekil 2 Güncellenmiş Akdeniz Diyet Piramidi (Akdeniz Diyet Vakfı) [89].

Grubumuz diyet lipidlerinin meme kanseri üzerindeki etkisini 25 yıldan uzun süredir başlıca iki ana konu üzerinde araştırmaktadır: Birincisi iki tip yağ kullanılarak (n-6 PUFA yönünden zengin bir yağlı tohum yağı olan mısır yağı ve NSZY) kimyasal olarak indüklenen meme kanseri üzerinde yaptığımız çalışmalardır. İkincisi insan meme tümörleridir. Bu bölümün amacı deneysel modellerden elde edilen başlıca sonuçların paylaşılmasıdır. Bu modellerdeki araştırmalarımızda klinik karsinogenez, tümör morfolojisi ve özellikle bu iki yağ türünün meme karsinogenezindeki farklı modüle edici etkilerinin moleküler mekanizmalarını araştırmaya odaklandık. Deneysel verilerin insanlara uyarlanmasında dikkatli olunması gerekmektedir. Ancak kontrollü değişkenler kullanılarak insan verisi toplamak oldukça güç olduğu için, deneysel çalışmalar nütrisyonel faktörlerin sağlık üzerindeki etkilerinin anlaşılmasında önemli rol oynamaktadır.

2 Meme Karsinogenezinde Diyet Lipidlerinin Etkisi ile İlgili Deneysel Kanıtlar

Meme kanseri modelleri kullanılarak geliştirilen deneysel çalışmalarda dişi Sprague-Dawley sıçanlarında polisiklik aromatik bir hidrokarbon olan dimetil-benz(α)antrasen (DMBA) tek doz uygulanarak kanser indüklenmiştir [26]. Bu modelin sonuçları insan meme kanserine uyarlanabilmesi için daha önce valide edilmiştir ve meme kanseri çalışmalarında yoğun olarak kullanılmaktadır [27, 28]. Zeytinyağı ve n-6 PUFA'nın meme adenokarsinomlarının başlangıcı ve gelişimindeki olası farklı etkilerinin araştırılması için şu diyetler dizayn



Şekil 3 Yüksek tohum yağı ve yüksek NSZY diyetlerinin DMBA ile indüklenen sıçan karsinogenezi üzerindeki etkisi. Deneyin dizaynına bağlı olarak, hayvanlar yüksek-mısır yağı (HCO) diyeti veya yüksek-NSZY diyeti ile sütten kesilmelerinden itibaren (başlangıç grupları) veya karsinojen uygulanmasında itibaren (gelişim grubu) beslenmiştir. Düşük yağlı diyet grubu da tüm çalışma boyunca kontrol grubu olarak kullanılmıştır. Hayvanlar karsinojen uygulanmasından sonra 21. günden itibaren (53 günlükken) her hafta muayene edilmiş ve kiloları ölçülmüştür. **a.** Uygun istatistiksel analize ek olarak sekiz farklı klinik parametre belirlenmiştir. **b.** Hayvanların incelenmesi ve eksprerimental meme adenokarsinomunu gösteren resimler **c.** Deneysel serilerde karsinogenez gelişimini araştırmayı amaçlayan 3 örnek parametre. HCO diyetinin yaptığı belirgin stimulan etki ile tümörler daha erken gelişmiştir. Kontrol grubuna göre daha fazla hayvan etkilenmiş, daha çok ve daha büyük tümörler gelişmiştir. Buna karşın yüksek-NSZY diyeti ile genel olarak koruyucu etki görülmüştür. Latent period, insidans, tümör hacmi ve içerikleri kontrol grubu ile benzer veya daha düşük bulunmuştur. **d.** Aynı örnek parametrelerin kullanıldığı diğer deneysel serilerde diyet lipidlerinin başlama ve gelişme üzerindeki etkileri görülmektedir. HCO diyeti tutarlı olarak tümör geliştirici etki gösterirken, yüksek-NSZY diyeti de zayıf stimülan etki göstermiştir. NSZY yüksek yağ içeren bir diyet olmasına rağmen stimüle edici etkisi HCO diyetine göre çok daha zayıftır.

edilmiştir: Kontroller için düşük yağlı diyet (%3 mısır yağı), yüksek yağlı n-6 PUFA diyeti (%20 mısır yağı) ve yüksek yağlı n-9 MUFA diyeti (%17 NSZY ve %3 mısır yağı) [29–31].

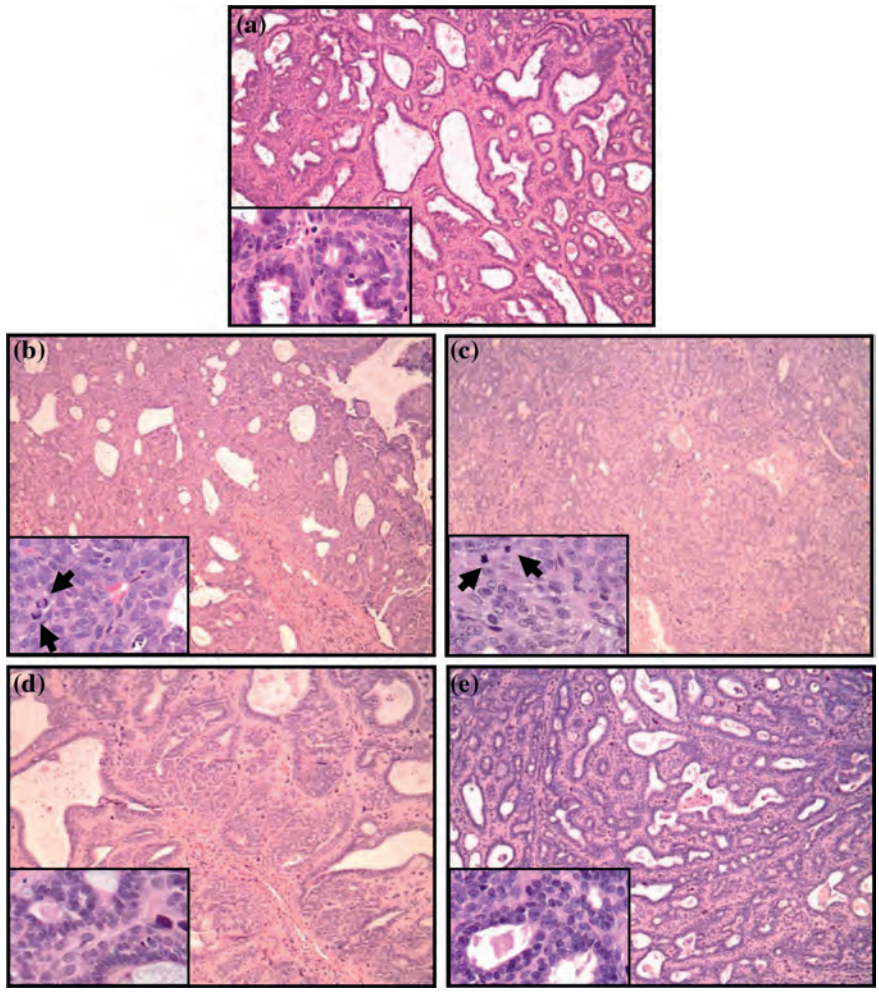
Uygun istatistiksel analizlere ek olarak, deneysel meme kanserindeki bu etkilerin araştırılmasında çeşitli klinik parametreler de tanımlanmıştır (latent period, tümör insidansı, katlanarak büyüme, hacim ve tümör regresyonu) (Şekil 3a, b) [32–35]. Laboratuarımızda geliştirilen 16 deneysel seride, yağ yönünden zengin diyetlerin meme karsinogenezindeki stimulan etkilerini tutarlı olarak gösterdik. Bu etkiler tümörlerin

kontrol grubuna göre daha erken oluşması, daha fazla hayvanın etkilenmesi ve daha büyük olmalarını kapsamaktadır. Buna karşın zengin NSZY diyetleri HCO diyeti ile aynı miktarda yağ içermesine rağmen genel olarak koruyucu etki göstermiştir. Latent period, insidans, tümör hacmi ve içerikleri kontrol grubu ile benzer veya daha düşük bulunmuştur. Tümör regresyonu ile ilgili çalışmada, bu diyetle tümör progresyonunun yavaşladığının bulunmuş olması önemlidir. Ancak parsiyel veya total tümör regresyonu gerçekleşmemektedir. Bu sonuçlar NSZY diyetlerinin terapötik ajan olarak kullanılacak kadar güçlü etkiye sahip olmadığını göstermektedir (Şekil 3c, d) [6–8, 31, 36–38]. Ayrıca deneysel serilerde hafif bir stimülan etki de gözlenmiştir. Ancak bu diyet yağdan zengin olmasına rağmen stimülan etkisi her zaman tohum yağına göre çok daha düşük seviyede bulunmuştur (Şekil 3d) [39]. Bu farklılıklar diyet girişiminin uygulanma zamanlaması veya kullanılan farklı zeytinyağı çeşitleri ile ilişkili olabilir. Zeytinyağının karsinogenez üzerindeki etkisinin satüre/ansatüre yağ asitlerinin oranına ve OA/lineolik asit oranına ve yağdaki minör bileşiklerin rölatif kompozisyonuna bağlı olduğu bildirilmiştir [40]. Bu tür bulgular tüm yüksek yağlı diyetlerin karsinogenez üzerinde spesifik olmayan stimülan etkileri olabildiği ve deneysel diyette yüksek oranda zeytinyağı kullanıldığı göz önüne alındığında ilgi çekici hale gelmektedir [41]. Bu bağlamda alınan enerji miktarı ile kanser mortalite oranları arasında doğru orantı olduğu gösterilmiş olup, enerji kısıtlaması ile karsinogenez üzerinde genel bir inhibitör etki meydana gelmektedir [42].

Bu sonuçlar yüksek n-6 PUFA diyetlerinin, meme tümörlerinin klinik davranışlarını biyolojik olarak daha agresif hale getirdiğini göstermektedir. NSZY diyetleri ise tümörlerin malignite derecelerini daha az etkilemektedir. Diyet lipidlerinin meme kanserindeki modüle edici etkisinin çoğunlukla karsinogenezin gelişim aşamasında ortaya çıktığı vurgulanmalıdır. Ancak başlangıç aşamasındaki etki de dışlanmamalıdır [6, 8].

3 Diyet Lipidlerinin Meme Adenokarsinomlarının Morfolojik Malignitesi Üzerindeki Etkileri

Çalışma grubumuz, diyet lipidlerini meme kanseri üzerindeki farklı morfolojik etkilerini, meme adenokarsinomlarının kapsamlı histopatolojik incelemelerini kullanarak ilk kez gösteren gruptur. Analizlerde onbir farklı parametre kullanılmıştır. Bu parametrelerden bazıları insan meme kanseri patolojisinde ve deneysel tümörlerin diğer karakteristiklerinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Grubumuz ayrıca sıçan meme karsinomlarına adapte edilen yeni bir histolojik sınıflama sistemi geliştirmiştir. İlk olarak, bu çalışmalarda her tümörün histolojik paterni ile klinik karakteristikleri arasında bir ilişki gösterilmiştir. Biyolojik olarak daha agresif olan tümörlerin daha yüksek histopatolojik evre, desmoplastik reaksiyon, limfoplazmositik infiltrasyon ve tümör nekrozu ile karakterize olduğu ve sıklıkla kribriform yapıya sahip olduğu bulunmuştur [43, 44]. İkinci olarak da farklı diyetlerinin etkileri analiz edildiğinde tohum yağlarının adenokarsinomları, kontrol grubu ve NSZY diyetlerine göre daha yüksek malignite derecesi ile indüklediği



Şekil 4 DMBA ile indüklenen meme adenokarsinomlarının farklı diyet gruplarındaki histopatolojik özellikleri. Hematoksilin ve eozin ile boyanmış farklı deney gruplarındaki tümör kesitlerinin histopatolojik analizinde tohum yağı yönünden zengin diyetlerin adenokarsinomların gelişimini kontrollere (**a**) ve NSZY gruplarına (**d** ve **e**) göre daha yüksek malignite derecesi ile destekledikleri bulunmuştur (**b** ve **c**). Buna karşın yüksek NSZY diyeti ile beslenen hayvanların tümörleri ise, HCO diyeti uygulanan hayvanların tümörlerine göre daha düşük malignite derecesine sahip ve kontrol tümörlerine daha benzer histopatolojik özellikler göstermiştir. Büyük resimlere orijinale göre x100 büyütme, küçük resimlere orijinale göre x400 büyütme uygulanmıştır. Mitotik figürler oklarla gösterilmiştir (**b** ve **c**) [45].

görülmüştür. Tohum yağları daha yüksek histolojik evreye, stroma invazyonuna, daha yoğun tümör nekrozuna ve daha sık kribriform paterne yol açmıştır. Buna karşın NSZY diyeti ile beslenen hayvanların tümörleri ise, HCO diyeti uygulanan hayvanların tümörlerine göre daha düşük malignite derecesine sahip olup kontrol tümörlerine daha benzer

histopatolojik özellikler göstermiştir. Bu nedenle daha düşük bir histopatolojik dereceye sahip olan bu tümörler, daha az invazif, nekrotik ve papiller bölgeye sahiptir (Şekil 4). Dolayısı ile diyet lipidlerinin farklı modüle edici etkileri, sadece tümörün klinik davranışında değişikliğe neden olmayıp aynı zamanda farklı histopatolojik özelliklere de yol açmaktadır.

4 Meme Kanserinde Diyet Lipidlerinin Etki Mekanizması

Genel olarak diyet yağlarının ve spesifik olarak da NSZY diyetlerinin meme kanserinde etkilerini göstermelerini sağlayan spesifik mekanizmalar henüz aydınlatılamamıştır. Ancak günümüzde diyet lipidlerinin muhtemelen entegre, simultane ve/veya sıralı şekilde etki göstermesini sağlayan çeşitli, kompleks mekanizmalar hakkındaki anlayış giderek daha fazla artmaktadır. Grubumuz bu mekanizmalar ile ilgili bilgilerin artmasına, hormonal statüdeki muhtemel değişimleri, hücre membranlarının yapı ve fonksiyonlarını, hücre sinyallerini dönüştürücü yolakları, gen ekspresyonunu, büyüme ve cinsel olgunlaşmayı araştırarak katkı yapmıştır (Tablo 1) [46–48].

4.1 Hormonal Statünün Değişimi

Meme kanseri hormona bağımlı bir neoplazi olduğu için ilk olarak normal meme bezlerini ve tümörleri regüle eden ana hormonların statülerinin diyet lipidleri tarafından modifiye edilip edilmediğini araştırdık. Luteinizan hormon, folikül stimüle edici hormon, östradiol, progesteron, insülin ve kortikosteronun serum konsantrasyonlarının yüksek n-6 PUFA veya yüksek NSZY diyetleri ile değişmediğini tespit ettik [49], (E. Escrich, yayınlanmamış sonuçlar). Diyet lipidlerinin dolaşımdaki hormon düzeylerine etkileri ile ilgili literatür verileri net bir sonuca sahip değildir [50]. Yüksek n-6 PUFA diyeti ile beslenen gebe sıçanlardaki serum östradiol seviyelerinin arttığını [51] ya da değişmediğini [52] gösteren çalışmalar mevcuttur. Diğer yazarlar emziren sıçanlardaki östradiol konsantrasyonlarının %7 zeytinyağı içeren diyet ile beslenenlerde %7 mısır yağı ile beslenenlere göre daha düşük olduğunu tespit edilmiştir [53]. Sonuçlar arasındaki çelişkiler hormonların siklik özelliklerine bağlı olabilir. Çünkü bu hormonların serum konsantrasyonları sirkadian ritm ve östrus siklusunun fazı ile yüksek oranda ilişkilidir [54]. Ayrıca meme bezlerindeki ve deneysel tümörlerdeki seks hormon reseptörlerinin analizinde de diyet lipidlerinin etkisi ile sadece küçük farklılıklar tespit edebildik. Sonuç olarak östrojen reseptörlerinin ekspresyonlarında anlamlı farklılıklar bulunmamıştır (ERα, ERβ1 ve ERβ2). Puberte esnasında NSZY diyeti ile beslenen sıçanların meme bezlerinde HCO diyeti ile beslenenlere göre daha yüksek östrojen reseptör seviyeleri tespit ettik. Bu bulgu lobulo-alveolar yapıların gelişimi ile ilişkili olabilir [39]. Bu sonuçlar diyet lipidlerinin meme kanserini modüle edici etkilerinin normal ve kanserli meme için çok

Tablo 1 Yüksek NSZY ve yüksek tohum yağı diyetlerinin deneysel meme kanserindeki ana moleküler etki mekanizmalar üzerindeki etkisi

		NSZY diyetleri	Tohum yağı diyetleri
Klinik davranış		Yavaş seyirli tümör büyümesi	Hızlanmış tümör büyümesi
		Koruyucu veya zayıf gelişim destekleyici etki	Stimüle edici etki
Histopatolojik özellikler		Düşük dereceli histolojik malignite	Yüksek dereceli histolojik malignite
Etki mekanizması	Proliferasyon	Azalma ve aynı kalma	Artma
		↔ *mitotik aktivite*	←↑ *mitotik aktivite*
		↔ *PCNA düzeyleri*	↔ *PCNA düzeyleri*
		↔ *Siklin D1 ekspresyonu*	↔ *Siklin D1 ekspresyonu*
		↓ *p21Ras aktivitesi*	↔ *p21Ras aktivitesi*
		↑ *non-aktive p21Ras düzeyleri*	↔ *non-aktive p21Ras düzeyleri*
		↑ *MAPK aktivitesi (↓Akt aktivitesi ile birlikte)*	↑ *MAPK aktivitesi (↓ Akt aktivitesi yok)*
	Sağkalım	Azalma	Artma
		↓ *Akt aktivitesi (↓ fosfo-Akt düzeyleri)*	↑ *fosfo-Akt/total Akt oranı*
	Apoptoz	Artma	Değişim yok
		↓*Akt aktivitesi ve* ↑*MAPK aktivitesi*	↑*Akt aktivitesi ve* ↑*MAPK aktivitesi*
		↑*aktif Kaspaz-3 düzeyleri*	↔ *aktif Kaspaz-3 düzeyleri*
		↑ *apoptotik hücreler*	↔ *apoptotik hücreler*
	Tümör regresyonu	Yok	Yok
	DNA hasarı	Muhtemel azalma	Muhtemel artma
		↓ *Ubi-PCNA düzeyleri*	↑ *Ubi-PCNA düzeyleri*
		↔ *8-okso-dG düzeyleri*	↔ *8-okso-dG düzeyleri*
	Farklılaşma	Benzer	Azalma
		↔ *PCPH ekspresyonu*	↓ *PCPH ekspresyonu*
		↔ *H19 ve VDUP1 ekspresyonu*	↓ *H19 ve VDUP1 ekspresyonu*

[a]Etkiler düşük yağlı diyet uygulanan kontrollerle karşılaştırılmıştır. ↑: artma, ↓: azalma, ↔: değişim yok.

önemli bir parametre olan, hormonal durumu değiştirmek yoluyla ortaya çıkmadığını düşündürmektedir. Benzer şekilde incelediğimiz çeşitli biyokimyasal plazma parametrelerinden, yüksek n-6 PUFA ve yüksek NSZY diyetlerinin etkisi ile sadece total kolesterol düzeylerinde bir azalma olduğunu tespit ettik (E. Escrich, yayınlanmamış sonuçlar).

4.2 Hücre Membranının Yapı ve Fonksiyonunun Modifikasyonu

Membran lipid kompozisyonu membran fonksiyonunu etkiler ve hücreler tarafından yüksek oranda regüle edilir. Ayrıca alınan lipidlerin türüne (başlıca n-3 PUFA ve n-3 PUFA / n-6 PUFA oranı) bağlı olarak değişimler gösterir. Membran lipid kompozisyonunda diyet tarafından indüklenen modifikasyonlar membran akışkanlığı, lipidlerle modifiye edilen yolaklar ve hücre membranlarının lipid peroksidasyon düzeyleri ile ilişkilidir [55]. Bu nedenle laboratuarımızda altı lipid fraksiyonu içindeki 14 yağ asidinin analizini yaparak diyet lipidlerinin tümör yağ asidi kompozisyonundaki etkisini inceledik. Yüksek tohum yağlı diyetle beslenen sıçanların meme adenokarsinomları klinik ve histopatolojik olarak kontrol diyet tümörlerine göre daha agresif olup rölatif LA içeriğinde anlamlı artma, OA içeriğinde azalma ile fosfatidilkolin, fostatidiletanolamin ve serbest yağ asitlerinde de anlamlı azalma görülür. Bu fosfolipidlerin hidroliz ürünlerinin ve serbest yağ asitlerinin tümör hücre proliferasyonu ile ilişkili olduğu göz önüne alındığında, bu sonuçların meme karsinogenezi ile ilgili deneysel ve epidemiyolojik çalışmalarda bulunan LA yönünden zengin diyetlerin zararlı etkilerini ve NSZY diyetlerinin faydalı etkilerini onaylar nitelikte olduğu söylenebilir [36]. Akdeniz diyetinin hipertansiyon üzerindeki faydalı etkileri ile uyumlu olarak, hipertansif hastalardaki eritrosit hücre membranının yapısal özelliklerini etkilediklerini gösteren kanıtlar da mevcuttur [56].

4.3 Sinyal Dönüştürücü Yolaklar Üzerindeki Etki

Araştırmalarımızın bir sonraki konusu gen fonksiyonunda ve hücre sinyal yolaklarında rol oynayan proteinlerdeki değişimlere odaklanmıştır. Özellikle meme gelişiminde ve insan meme kanserinde rol oynadığı gösterilen Ras-aracılığındaki sinyal yolağını araştırdık [57]. Sonuçlarda zengin NSZY diyetinin p21Ras aktivitesini anlamlı düzeyde azaltırken protein düzeylerini artırmış olması bu diyetin non-aktive proteinlerde artışa yol açtığını düşündürmektedir. p21Ras aktivitesinde azalma daha düşük Ras mutasyon oranına ya da HMG-CoA redüktaz ve skualen sentaz gibi Ras'ın postranslasyonel modifikasyonunda rol oynayan gen kodlayan proteinlerin azalmış ekspresyonuna bağlı değildir [58]. Diğer deneysel çalışmalarda zeytinyağı diyetinin, bileşimindeki minör bileşik skualenin etkisiyle HMG-CoA redüktazı inhibe etmek yoluyla kolon kanserine karşı

koruyucu etki sağlayabileceği gösterilmiştir. Ancak bu tür etkiler çok yüksek skualen konsantrasyonlarında ortaya çıkmıştır (diyetin %1'i) [59].

Azalmış p21Ras aktivitesi beklenmedik şekilde, insan meme kanserinde önemli rolü olan tirozin kinaz membran reseptörleri ErbB1, ErbB2 ve ErbB3'ün ekspresyon veya aktiviteleri ile ilişkili bulunmamıştır [60]. Buna karşın yüksek NSZY diyetine bağlı olarak 80-kDa ErbB4-bağlı proteinin düzeylerinde anlamlı azalma gözlemledik. ErbB4-kesik formunun meme kanserindeki biyolojik önemi net olarak bilinmemekle birlikte ErbB4 aktivasyonu ile ilişkilidir [61]. NSZY diyeti (kontrollere kıyasla) pro-sağkalım Ras/PI3 K/Akt yolağını aşağı, Raf/Erk yolağını da yukarı regüle etmektedir. Buna karşın yüksek n-6 PUFA diyeti ise Ras aktivitesini ve ErbB reseptörlerini modifiye etmezken, RAf/Erk yolağını güçlendiriyor olması her iki yüksek yağlı diyetin de ERK1/2 yolağını yukarı regüle eden non-spesifik etkileri olduğunu düşündürmektedir. Ayrıca yüksek n-6 PUFA diyeti tümör büyümesini stimüle edici etkisi ile uyumlu olarak, en yüksek fosfo-Akt:total Akt oranının ortaya çıkmasına yol açmıştır. Her iki diyet tipi de RaIA/B-aracılığındaki yolakta bir değişime yol açmamıştır.

Ras ve ana efektörlerinin analizinden elde edilen sonuçlar NSZY diyeti ile ilgili pro-apoptotik hipotez geliştirmemize neden oldu. Bu nedenle farklı deney gruplarındaki meme tümörlerinin apoptotik durumlarını inceledik. Kaspaz kaskadının hem ekstrinsik hem de intrinsik apoptozda rol oynayan ana unsuru olan kaspaz-3'ün [62] rölatif seviyeleri zeytinyağı diyeti ile beslenen hayvanlardaki tümörlerde anlamlı olarak yükselmiştir. Bu sonuç bu diyete bağlı olarak apoptozun arttığı düşüncesi ile uyumludur. Bu sonuç TUNEL deneyleri ile konfirme edilmiştir [58]. Bu sonuçlar zeytinyağının, oleik asidin ve zeytinyağındaki bazı minör bileşiklerin apoptozu modüle ettiğini bildiren bazı çalışmaların sonuçları ile uyumludur [53, 63–65].

Sonuçlarımız mitotik aktivite ve prolifere olan hücre nükleer antijen (PCNA) düzeylerinin analizinde görüldüğü üzere, yüksek NSZY diyetinin tümör hücre proliferasyonunda önemli bir etki yapmadığını da göstermiştir. Bu nedenle NSZY diyeti meme kanserini modüle edici etkisini, proliferasyon/apoptoz balansını apoptoz lehine değiştirip (diyetin tümör büyümesini negatif regüle edici etkisine katkı yaparak) gösteriyor olabilir. Ancak yüksek tohum yağlı diyet ise sağkalım/proliferasyon sinyallerini dönüştürücü etkisi ile uyumlu olarak mitotik aktiviteyi artırıp, tümör gelişimine destek olmaktadır [58]. Zeytinyağının tümör proliferasyonu üzerindeki olası etkisi henüz net olarak anlaşılamamıştır. İn vitro deneylerde zeytinyağındaki hidroksitirozol ve oleuroprotein gibi bazı minör bileşiklerin meme kanseri proliferasyonunu inhibe ettiği yönünde kanıt bulunmuştur [63]. Oleatın ise hücre proliferasyonunda stimülan etkisi olduğu bildirilmiştir [64].

Mono-ubikutin ekli PCNA düzeyleri NSZY diyeti ile ilginç biçimde anlamlı olarak azalırken yüksek mısır yağlı diyetle anlamlı olmayan düzeyde yükselmiştir. PCNA'YA ubikutin eklenmesinin özellikle DNA hasarında veya replikasyon çatalları bozulduğunda meydana gelmesi, NSZY diyetinin daha az DNA hasarına yol açtığını ve yüksek tohum yağlı diyetin de daha yüksek genotoksik strese yol açtığını düşündürmektedir. Ancak pre-mutajenik 8-okso-dG bazında değişime rastlanmamış olması muhtemelen

diyet lipidlerinin diğer DNA lezyonları üzerindeki etkilerinden kaynaklanmaktadır. Meme tümörlerinin gelişiminin modülasyonunda lipid peroksidasyonunun rolü tam olarak anlaşılmamış olan çelişkili bir konudur. Kanserin başlangıcında rol oynayan santral mekanizmalardan birisi olduğu kabul edilmiş olsa da [14], uzun zincirli n-3 PUFA'nın kanser önleyici etkisinin (en azından kısmen) peroksidasyon ürünlerinin oluşumundan kaynaklandığı düşünülmektedir [66–68]. Ayrıca oksidatif stres ile indüklenen apoptozun, bazı polifenolleri de içeren çeşitli kemopreventif ajanların antikarsinojenik etkilerinde önemli rol oynadığını gösteren kanıtlar artmaktadır [69, 70]. Yüksek NSZY diyetlerinin oksidatif stres üzerindeki etkisi şu anda grubumuz tarafından araştırılmaktadır.

4.4 Gen Ekspresyonu Üzerindeki Etki

Farklı diyet komponentlerinin spesifik genlerin ekspresyonunu modüle edebildiği gayet iyi bilinmektedir. Yağ asitlerinin gen ekspresyonu üzerindeki en iyi bilinen etkisi lipid, karbonhidrat ve protein metabolizması üzerinde rol oynayan genleri modüle etmektir [71]. Ayrıca diyet lipidlerinin etkileri hastalık tarafından da etkilenebilir. Bunu doğrular şekilde tümör taşıyıcı sıçanların karaciğerlerinde yüksek n-6 PUFA diyetinin etkisi ile karnitin palmitoltransferaz I (CPT I), mitokondrial HMG-CoA sentaz ve peroksizom proliferatör reseptör α (PPARα) ekspresyonlarının normal regülasyonlarında değişimler gözlemledik [72]. Diyet lipidlerinin kanserle ilişkili genler üzerindeki etkilerine yönelik veriler az olmasına rağmen, hücre büyümesi, sağkalım ve farklılaşmada görev yapan genlerin regülasyonunda rol oynadıklarını gösteren veriler giderek artmaktadır [71]. Deneysel meme tümörlerinde yüksek NSZY ve HCO diyetlerinin, ErbB membran reseptör ailesinin (özellikle c-erbB1) ekspresyonunun modülasyonunda farklı etkiler gösterdiğini tespit ettik. HCO diyeti meme adenokarsinomundaki c-erbB1/EGFR'deki 9.5-kb mRNA (tam boy fonksiyonel reseptörü kodlar) ile 2.7-kb mRNA (inaktif kesik reseptörü kodlar) arasındaki oranı yükseltirken, yüksek NSZY diyeti ise bu oranı azaltmıştır. Bu diyet ayrıca c-erbB2/neu mRNA ve p185ErbB2/Neu protein düzeylerini azaltma eğilimi gösterirken, HCO diyeti bu reseptörün ekspresyonunu modüle etmemiştir [37]. Diğer taraftan ErbB proliferatif sinyalinin önemli dönüştürücülerinde birisi olan c-Haras1'in ekspresyon düzeyleri bu diyetler tarafından modifiye edilmemiştir [73, 74]. Yüksek yağlı diyetler p21RAS'ın post-translasyonel modifikasyonu ve devamındaki aktivasyonu için gereken prenil gruplarının kaynağı olan mevalonat yolağını kodlayan HMGCoA redüktaz veya skualen sentazın [58] ekspresyon düzeylerini de modifiye etmezler [75].

Dediferensiyasyon kanserle ilgili bir proses olduğu için, grubumuz diyet lipidlerinin DMBA ile indüklenen meme tümörlerindeki hücre farklılaşması ile ilişkili genleri de araştırmıştır. Bilinen meme diferensiyasyon markerları olan a- ve b-kazein ve transferine ek olarak tümörün invazyon kapasitesi ile ilişkili olan β-aktinin de ekspresyonlarını analiz ettik. Bu sonuçların düşük kazein ekspresyon düzeylerinin tümörün morfolojik farklılaşmasının derecesi veya klinik davranışı ile ilişkili olmadığını göstermiş olması,

bu genlerin diyet lipidlerinin meme adenokarsinomundaki modifikasyonları için iyi bir biyomarker olmadığının göstergesidir. Buna karşın yüksek zeytinyağı diyeti uygulanan gruplardaki transferin ekspresyonunun artma eğilimi göstermiş olması, bu diyetin sonucu olarak tümörün daha az agresif fenotipe sahip olmasının göstergesidir. Ayrıca NSZY diyetinin aksine yüksek tohum yağlı diyet β-aktin mRNA ekspresyonunu artırırken protein düzeylerinde bir değişime yol açmamıştır. Bu son sonuç, çekirdekten hücre periferine β-aktin transporterinin taşıyıcısı olan ZBP1'de gözlenen artışa ek olarak, bu mRNA'nın transportunun ve translasyonunun deregüle olmasının yüksek tohum yağlı diyetle beslenenlerde daha yüksek malignite dereceli tümörlerle ilişkili olduğunu düşündürmektedir [76]. Ayrıca, ürünleri Ras ile sinerjistik etki yapan PCPH geninin ekspresyonunda diyet lipidlerinin etkisini de araştırdık. Sonuçlar meme bezindeki farklılaşma derecesinin PCPH düzeylerindeki anlamlı artış ile ilişkili olduğunu göstermektedir. Adenokarsinomlardaki PCPH ekspresyonu, normal dokuya kıyasla sadece azalmakla kalmaz aynı zamanda deregüle de olur. Ayrıca yüksek tohum yağlı diyet gruplarındaki en malign tümörler en düşük PCPH ekspresyon düzeylerine sahiptir [77].

Gen ekspresyonlarının incelenmesinde kullanılan yeni yüksek veri işleme kapasiteli teknikler diyet lipidlerinin kanserdeki etkisinin farklı bir deneysel yaklaşımla incelenebilmesine olanak tanımaktadır. cDNA mikroarray analizleri kullanarak yüksek tohum yağlı diyetle anlamlı olarak aşağı regüle olan 4 gen tanımladık. Bu genler NSZY diyeti ile aşağı regüle olmazlar. Bunlar a2u-globülin, Vitamin D3 yukarı regüle protein 1 (VDUP1), damgalanmış (imprinted) H19 geni ve bilinmeyen bir gendir. Tüm bu genler (özellikle H19 ve VDUP1) hücre farklılaşması ve proliferasyonu ile potansiyel olarak ilişkilidir. Yüksek tohum yağlı diyette aşağı regüle olmaları bu diyetin meme kanserindeki tümör stimüle edici etkisinde rol oynayabileceğini düşündürmektedir [78]. Ayrıca gen proliferasyonu ile ilişkili olan ve H19'un karşıtında damgalanan insülin benzeri büyüme faktörü (IGF) II geni HCO diyeti ile yukarı, NSZY diyeti ile de aşağı regüle olmaktadır. Her iki yüksek yağ diyeti, hücre büyümesini destekleyen ve antiapoptotik eksi olan ve VDUP1 tarafından inhibe edilen bir oksiredüktaz olan tioredoksinin etkisinin karşıtı etkiye sahiptir [79]. Bu sonuç HCO ve NSZY diyetlerinin meme kanserindeki karşıt etkileri ile uyum içindedir.

4.5 Büyüme ve Cinsel Olgunluk Üzerindeki Etki

Diyet lipidlerinin kanserin başlangıcında meme bezlerinin neoplastik transformasyona olan duyarlılığını veya direncini modüle ederek nasıl rol oynadıklarına da odaklandık. Gıda ve nütrisyonu da içeren erken yaşam olaylarının hayatın ilerleyen dönemlerindeki meme kanseri riskini modifiye ettiğini gösteren çok çarpıcı kanıtlar mevcuttur [80]. Şu anda araştırmakta olduğumuz mekanizmalardan bazıları meme bezinin farklılaşmasını da içeren büyüme ve cinsel olgunlaşma, ksenobiyotik detoksifikasyonu ve oksidatif strestir.

Meme bezinin diğer organlara benzemeyen bir özelliği doğumdan puberteye kadar büyük oranda değişmeden kalmasıdır. Örneğin erken menarş gibi menstrüel siklusları-

nın sayısını ve hayat boyunca maruz kalınan östrojen miktarını artıran reprodüktif olaylar, meme kanseri riskini artıran faktörler olarak kabul edilmektedir [5]. Bu nedenle pubertenin zamanını etkileyen modifiye edilebilir nütrisyonel faktörler, meme dokusunun transformasyona karşı olan duyarlılığını değiştirerek, bu duyarlılığı hızlandırabilir, geriletebilir veya genişletebilir. Bizim elde ettiğimiz sonuçlar yüksek yağlı diyetlerin etkisi ile büyüme ve cinsel olgunlaşmanın hızlandığını göstermektedir. Bu etki yüksek tohum yağlı diyetlerde, yüksek NSZD diyetlere göre daha güçlüdür [39]. Bu bulgu DMBA ile indüklenen meme kanseri olan sıçanlarda klinik, morfolojik ve moleküler olarak gösterilmiştir. Klinikte cinsel olgunlaşmaya eşlik eden vajinal değişimleri tespit edip, evre 0 ile evre 3 arasında puanlar vererek skorladık. Puberte başlangıcının yüksek yağlı diyet grubunda (özellikle HCO diyet grubu) anlamlı oranda olarak erken gerçekleştiğini tespit ettik. Bu nedenle, örneğin yüksek tohum yağlı diyet ile beslenen sıçanların, tamamen olgun durumu gösteren 3. evreye kontrol grubundaki sıçanlardan anlamlı olarak daha erken ulaştığını tespit ettik. Ancak evreler arasındaki günler karşılaştırıldığında (1-2, 2-3 ve 1-3) gruplar arasında bir fark bulunmamıştır. Bu nedenle puberte başlangıç gününden bağımsız olarak, olgunlaşma prosesinin gelişimi diyet lipidleri ile değişmemiştir. Ayrıca sıçanlarda puberte başlangıcı ve birinci östroz arasında geçen zamanda ve sikluslarda diyete bağlı olarak bir değişiklik olmamıştır. Ek olarak belirli bir evrede bulunan sıçanlardaki vücut ağırlıkları grupla arasında farklılık göstermemiştir. Ancak yukarıda da bahsedildiği üzere, yüksek tohum yağlı diyet grubu spesifik bir evreye düşük yağ diyeti uygulanan gruptaki sıçanlardan daha erken ulaşmıştır. Diğer taraftan, yüksek tohum yağlı diyet grubunda belirli bir gün için tahmin edilen vücut ağırlıkları, düşük yağlı grupta tespit edilenden daha yüksek bulunmuştur. Her evreye ulaşılması sırasında vücut ağırlıklarında bir fark bulunamamış olması, cinsel olgunlaşmanın belirli bir vücut kütlesine ulaşmayı gerektirmesinden kaynaklanaktadır. Bu durum insanlar için de geçerlidir [81]. Puberte başlangıcının HCO diyetine bağlı olarak erken gerçekleşmesi morfolojik olarak konfirme edilmiştir. Post-pubertal dönemde (postnatal 51. gün) overlerin histolojik analizinde, yüksek tohum yağlı diyet grubundaki sıçanlarda kontrol grubuna göre daha fazla sayıda corpus luteuma rastlanmış olması (ovulasyon göstergesi) bu hayvanların daha yüksek fertilite düzeyine sahip olduğunu gösterir. Cinsel olgunluk üzerindeki etki, puberte kisspeptin-1 (KiSS1) markerinin hipotalamik ekspresyonunun analizi ile de moleküler düzeyde tanımlanmıştır [82]. Postnatal 36. gündeki KiSS1 düzeylerinin yüksek tohum yağlı diyet grubunda düşük yağlı diyet grubuna göre daha yüksek bulunmuş olması bu gruptaki erken puberte başlangıcı ile uyumludur. KiSS1 düzeyleri östral faza yüksek oranda bağımlı olduğu için diğer yaşlarda yapılan ölçümlerde bir fark bulunmamıştır.

Meme bezinin bir başka cinsel olgunluk göstergesi olması nedeniyle, gelişimin farklı günlerinde meme bezlerindeki normal epitelyal yapıları analiz ettik (terminal uç tomurcukları (TEB), terminal kanallar (TD), alveolar kanallar (AB); Tip1 lobüller (Lob1), Tip 2 lobüller (Lob2), Tip 3 lobüller (Lob 3)). Ancak yüksek yağlı diyetlerin etkisine bağlı çok az sayıda farklılık tespit edilebilmiştir. 51. günde Lob2'de daha yüksek sayıda farklılaşmış hücre mevcudiyeti gibi hafif postpubertal modifikasyonlar görülmüştür. Bu modifikasyonlar malign transformasyonun hedefi olan farklılaşmamış yapılarda bir azalma

olmaksızın gerçekleşmiştir (TEB ve TD) [39]. Meme bezlerinin morfolojisinde transformasyona en yüksek duyarlılığın olduğu dönemde gözlenen modifikasyonlar, diyet lipidlerinin meme kanseri riskini moleküler düzeyde farklı değişimlere yol açarak modifiye edebileceğini düşündürmektedir. Çalışmanın sonunda, en yüksek meme bezi dansitesi yüksek tohum yağlı diyet grubunda bulunurken, bu grubu düşük yağlı ve yüksek zeytin yağlı diyet grupları takip etmiştir. Ancak bulunan farklar anlamlı değildir [39].

Bu sonuçlar diyet lipidlerinin meme karsinogenezini başlangıç evresinde farklı düzeyde modüle etme mekanizmalarından birinin, reprodüktif durum üzerindeki etkileri olduğunu kesin olarak göstermektedir. Bir başka ilginç olasılık da, diyet lipidlerinin vücut yağ depolarının düzeylerini farklı düzeylerde etkileme ihtimalidir. Şimdi bu olasılığı araştırmaya başlamış bulunuyoruz. İlk olarak vücut ağırlığı gelişimini ve farklı vücut kütle indekslerini analiz etmeye başladık. Sonuçlarda çalışma boyunca yüksek tohum yağlı diyetle beslenen sıçanların vücut ağırlıklarının, kontrol diyetiyle beslenen sıçanlara göre daha fazla arttığı tespit edilmiştir. HCO diyetiyle benzer oranda yağ içeren NSZY diyeti uygulanan sıçanlardaki vücut ağırlığı ve kütlesi kontroller ile benzer bulunmuştur. Çalışmanın sonunda tohum yağlı diyet grubundaki vücut ağırlığı ve vücut kütle indekslerinin düşük yağlı diyet grubuna daha yüksek olduğu tespit edilmiştir [39]. Birçok farklı çalışmada yüksek n-6 PUFA diyetlerinin vücut ağırlığı üzerindeki etkileri bildirilmiştir. Ancak zeytin yağlı diyetlerle ilgili çok az miktarda deneysel veri mevcuttur. Bir çalışmada %30'luk NSZY diyetinin sıçanlardaki vücut ağırlığını %30'luk mısır yağı diyetine göre daha az artırdığı tespit edilmiştir [83]. Diğer yandan Akdeniz diyetinin obeziteye karşı koruyucu etkisi olabileceğini gösteren insan epidemiyoloji çalışmaları da mevcuttur [84–86]. n-6 PUFA ve NSZY diyetlerinin vücut enerji dengesini hangi mekanizma ile farklı düzeylerde değiştirerek cinsel olgunluğu ve meme kanseri riskini etkilediklerini hala laboratuarımızda araştırıyoruz. Sonuçlar bağımsız bir yayının parçası olarak yayınlanacaktır.

5 Sonuçlar

Akdeniz diyetinin majör yağ kaynağı olan zeytinyağının (özellikle NSZY'nin) meme kanseri ve diğer hastalıklarla ilgili yararlı etkilerini destekleyen epidemiyolojik ve deneysel kanıtlar giderek artmaktadır [87, 88]. NSZY'nin düzenli kullanımı MUFA oleik asit ve fenolik antioksidanlar gibi biyolojik olarak aktif bileşiklerin yüksek miktarda alınmasını sağlar. Zeytinyağının meme kanserine karşı koruyucu etkilerinden farklı spesifik mekanizmalarla etki gösteren bu iki komponent sınıfının sorumlu olduğu gözlenmiştir.

Deneysel bir meme kanseri modelinde, diyet lipidlerinin deneysel meme adenokarsinomlarının klinik davranış ve histopatolojik özelliklerini farklı düzeyde modüle ettikleri gösterilmiştir. n-6 poliansatüre yağ asitleri (PUFA) yönünden zengin diyetler meme kanseri gelişimini net bir şekilde stimüle eder ve tümör fenotipinin malignite derecesini artırırlar. NSZY yönünden zengin diyetler ise negatif ile zayıf pozitif arasında modüle

edici etki gösterirler ve her durumda daha düşük tümör malignitesine yol açarlar. Bu nedenle enerji içeriğinden bağımsız olarak, diyetle tüketilen lipidlerin türü meme kanserinin gelişimi ve progresyonu üzerindeki etkisini belirlediği için hayatidir. NSZY ve diğer diyet lipidlerinin etki gösterme mekanizmaları birbirinden farklı olup, hücre membran kompozisyonundaki değişimler, hücre proliferasyonunda ve farklılaşmasında rol oynayan hücre sinyal yolaklarının modülasyonu, hücre sağkalımı ve apoptoz ile büyüme ve cinsel olgunluk üzerindeki etkilerin farklı olmasına yol açar. Düşük zeytinyağı oranları ile yapılan deneysel çalışmaların sonuçlarına paralel olarak, bizim de araştırdığımız parametrelerden bazılarında NSZY'nin orta derecede tüketiminin meme kanseri riski üzerinde faydalı etkiye sahip olabileceği görülmektedir. NSZY'nin potansiyel kemopreventif etkisi, çocukluktan başlayıp hayat boyu süren sağlıklı ve dengeli bir seçim olan Akdeniz gıda paterni ve hayat tarzı ile birlikte değerlendirilmelidir.

Teşekkürler. Bu çalışmaya maddi katkıda bulunanlar: "Plan Nacional de I+D+I (AGL2006-0769 and AGL2011-24778)"; "Fundación Patrimonio Comunal Olivarero 2008-2012" (FPCO2008-165.396); "Agencia para el Aceite de Oliva del Ministerio de Medio Ambiente y de Medio Rural y Marino 2008-2012" (AAO2008-165.471); "Organización Interprofesional del Aceite de Oliva Español 2009-2013" (OIP2009-165.646); and the "Departaments d'Agricultura, Alimentació i Acció Rural, i de Salut de la Generalitat de Catalunya" (GC2010-165.000). Sponsorların çalışmanın dizaynı, veri toplanması ve analizi, sonuçların yorumlanması, makalenin hazırlanması, makalenin yayını için başvurulması ve makalenin yazılmasında herhangi bir rolü olmamıştır. Yazarlar Irmgard Costa, M. Carmen Ruiz de Villa Raquel Escrich'e bu çalışmalardaki işbirlikleri için teşekkürü borç bilirler.

Referanslar

1. Ferlay J, Shin HR, Bray F et al (2010) Estimates of worldwide burden of cancer in 2008: GLOBOCAN 2008. Int J Cancer 127:2893–2917
2. Kenemans P, Verstraeten RA, Verheijen RH (2004) Oncogenic pathways in hereditary and sporadic breast cancer. Maturitas 49:34–43
3. Musgrove EA, Sutherland RL (2009) Biological determinants of endocrine resistance in breast cancer. Nat Rev Cancer 9:631–643
4. Ferlay J, Shin HR, Bray F et al (2010). GLOBOCAN 2008 v1.2, Cancer Incidence and Mortality Worldwide: IARC CancerBase No. 10 [Internet]. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer; 2010. Available from: http://globocan.iarc.fr, accessed on day/month/year
5. World Cancer Research Fund/American Institute for Cancer Research (2007) Food, nutrition, physical activity, and the prevention of cancer: a global perspective. American Institute for Cancer Research, Washington, DC
6. Escrich E, Ramírez-Tortosa MC, Sanchez-Rovira P et al (2006) Olive oil in the prevention and the progression of cancer. Nutr Rev 64:40–52
7. Escrich E, Solanas M, Moral R (2006) Olive oil, and other dietary lipids, in cancer: experimental approaches. In: Quiles JL, Ramírez-Tortosa MC, Yaqoob P (eds) Olive oil and health. CABI Publishing, Oxford
8. Escrich E, Solanas M, Moral R et al (2006) Are the olive oil and other dietary lipids related to cancer? Experimental evidence. Clin Transl Oncol 8:868–883
9. Gonzalez CA, Riboli E (2010) Diet and cancer prevention: contributions from the european prospective investigation into cancer and nutrition (EPIC) study. Eur J Cancer 46:2555–2562

10. Howe GR, Hirohata T, Hislop TG et al (1990) Dietary factors and risk of breast cancer: combined analysis of 12 case-control studies. J Natl Cancer Inst 82:561–569
11. Schulz M, Hoffmann K, Weikert C et al (2008) Identification of a dietary pattern characterized by high-fat food choices associated with increased risk of breast cancer: the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC)-Potsdam Study. Br J Nutr 100:942–946
12. Smith-Warner SA, Spiegelman D, Adami HO et al (2001) Types of dietary fat and breast cancer: a pooled analysis of cohort studies. Int J Cancer 92:767–774
13. Willett WC (1998) Dietary fat intake and cancer risk: a controversial and instructive story. Semin Cancer Biol 8:245–253
14. Bartsch H, Nair J, Owen RW (1999) Dietary polyunsaturated fatty acids and cancers of the breast and colorectum: emerging evidence for their role as risk modifiers. Carcinogenesis 20:2209–2218
15. Fay MP, Freedman LS, Clifford CK et al (1997) Effect of different types and amounts of fat on the development of mammary tumors in rodents: a review. Cancer Res 57:3979–3988
16. Ip C (1997) Review of the effects of trans fatty acids, oleic acid, n-3 polyunsaturated fatty acid, and conjugated linoleic acid on mammary carcinogenesis in animals. Am J Clin Nutr 66:1523S–1529S
17. Lee MM, Lin SS (2000) Dietary fat and breast cancer. Annu Rev Nutr 20:221–248
18. Willett WC, Sacks F, Trichopoulou A et al (1995) Mediterranean diet pyramid: a cultural model for healthy eating. Am J Clin Nutr 61(6 Suppl):1402S–1406S
19. Hashim YZ, Eng M, Gill CI et al (2005) Components of olive oil and chemoprevention of colorectal cancer. Nutr Rev 63:374–386
20. Manna C et al (2009) Olive oil phenolic compounds inhibit homocysteine-induced endothelial cell adhesion regardless of their different antioxidant activity. J Agric Food Chem 57:3478–3482
21. Owen RW, Giacosa A, Hull WE et al (2000) Olive-oil consumption and health: the possible role of antioxidants. Lancet Oncol 1:107–112
22. Bougnoux P, Giraudeau B, Couet C (2006) Diet, cancer, and the lipidome. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 15:416–421
23. Owen RW, Haubner R, Wurtele G et al (2004) Olives and olive oil in cancer prevention. Eur J Cancer Prev 13:319–326
24. Pérez-Jiménez F, Ruano J, Perez-Martinez P et al (2007) The influence of olive oil on human health: not a question of fat alone. Mol Nutr Food Res 51:1199–1208
25. Visioli F, Galli C (2002) Biological properties of olive oil phytochemicals. Crit Rev Food Sci Nutr 42:209–221
26. Escrich E (1987) Mammary cancer model induced by dimethylbenz(a)anthracene: a good experimental tool for the study of tumour markers. Int J Biol Markers 2:109–119
27. Escrich E (1987) Validity of the DMBA-induced mammary cancer model for the study of human breast cancer. Int J Biol Markers 2:197–206
28. Russo J, Gusterson BA, Rogers AE et al (1990) Comparative study of human and rat mammary tumourigenesis. Lab Invest 62:244–278
29. Escrich E, Solanas M, Segura R (1994) Experimental diets for the study of lipid influence on induced mammary carcinoma in rats: I—diet definition. In Vivo 8:1099–1106
30. Escrich E, Solanas M, Ruiz de Villa MC et al (1994) Experimental diets for the study of lipid influence on induced mammary carcinoma in rats: II—suitability of the diets. In Vivo 8:1107–1112
31. Solanas M, Hurtado A, Costa I et al (2002) Effects of a high olive oil diet on the clinical behavior and histopathological features of rat DMBA-induced mammary tumors compared with a high corn oil diet. Int J Oncol 21:745–753
32. El Halimi R, Ocaña J, Ruiz de Villa MC et al (2003) Modelling experimental mammary adenocarcinoma growth, using nonlinear mixed-effects models and S-Plus. InterStat. http://jscs.stat.vt.edu/interstat/articles/2003/abstracts/0309002.html-ssi

33. Escrich E, Ribalta T, Muntané J et al (1991) Effects of an androgenic derivative on pre-established mammary tumours chemically induced in the rat. J Cancer Res Clin Oncol 117:575–582
34. Gonçalves MH, Cabral MS, Ruiz de Villa MC et al (2007) Likelihood approach for count data in longitudinal experiments. Comput Stat Data Anal 51:6511–6520
35. Ruiz de Villa MC, Cabral MSE, Escrich E et al (1999) A non parametric regression approach to repeated measures analysis in cancer experimental. J Appl Stat 26:601–611
36. Escrich E, Solanas M, Soler M et al (2001) Dietary polyunsaturated n-6 lipids effects on the growth and fatty acid composition of rat mammary tumors. J Nutr Biochem 12:536–549
37. Moral R, Solanas M, García G et al (2003) Modulation of EGFR and neu expression by n-6 and n-9 high-fat diets in experimental mammary adenocarcinomas. Oncol Rep 10:1417–1424
38. Solanas M, Moral R, Escrich E (2000) Effects of dietary (n-6) polyunsaturated lipids on experimental mammary carcinogenesis. J Women's Cancer 2:67–72
39. Moral R, Escrich R, Solanas M et al (2011) Diets high in corn oil or extra-virgin olive oil provided from weaning advance sexual maturation and differentially modify susceptibility to mammary carcinogenesis in female rats. Nutr Cancer 63:410–420
40. Cohen LA, Epstein M, Pittman B et al (2000) The influence of different varieties of olive oil on N-methylnitrosourea (NMU)-induced mammary tumorigenesis. Anticancer Res 20:2307–2312
41. Guthrie N, Carroll KK (1999) Specific versus non-specific effects of dietary fat on carcinogenesis. Prog Lipid Res 38:261–271
42. Kritchevsky D (1999) Caloric restriction and experimental carcinogenesis. Toxicol Sci 52:13–16
43. Costa I, Esquius J, Solanas M et al (2001) Histopathologic characteristics of chemically induced mammary adenocarcinomas in rats fed diets high in (n-6) polyunsaturated lipids. Virchows Arch 439:310–311
44. Costa I, Solanas M, Escrich E (2002) Histopathologic characterization of mammary neoplastic lesions induced with 7,12 dimethylbenz(alpha)anthracene in the rat: a comparative analysis with human breast tumors. Arch Pathol Lab Med 126:915–927
45. Costa I, Moral R, Solanas M et al (2004) High-fat corn oil diet promotes the development of high histologic grade rat DMBA-induced mammary adenocarcinomas, while high olive oil diet does not. Breast Cancer Res Treat 86:225–235
46. Escrich E, Moral R, Grau L et al (2007) Molecular Mechanisms of the Effects of Olive Oil and Other Dietary Lipids on Cancer. Mol Nutr Food Res 51:1279–1292
47. Escrich E, Moral R, Solanas M (2011) Olive Oil, an Essential Component of the Mediterranean Diet, and Breast Cancer. Public Health Nutr 14(1A):2323–2332
48. Escrich E, Solanas M, Moral R et al (2011) Modulatory Effects and Molecular Mechanisms of Olive Oil and Other Dietary Lipids in Breast Cancer. Curr Pharm Des 17:813–830
49. Escrich E (1998) Endocrine aspects of breast cancer. In: Cardoso J (ed) Senology. Monduzzi Editore, Bologna
50. Wynder EL, Cohen LA, Muscat JE et al (1997) Breast cancer: weighing the evidence for a promoting role of dietary fat. J Natl Cancer Inst 89:766–775
51. Hilakivi-Clarke L, Clarke R, Onojafe I et al (1997) A maternal diet high in n-6 polyunsaturated fats alters mammary gland development, puberty onset, and breast cancer risk among female rat offspring. Proc Natl Acad Sci USA 94:9372–9377
52. de Assis S, Khan G, Hilakivi-Clarke L (2006) High birth weight increases mammary tumorigenesis in rats. Int J Cancer 119:1537–1546
53. Stark AH, Kossoy G, Zusman I et al (2003) Olive oil consumption during pregnancy and lactation in rats influences mammary cancer development in female offspring. Nutr Cancer 46:59–65
54. Sylvester PW, Russell M, Ip MM et al (1986) Comparative effects of different animal and vegetable fats fed before and during carcinogen administration on mammary tumorigenesis, sexual maturation, and endocrine function in rats. Cancer Res 46:757–762

55. Hulbert AJ, Turner N, Storlien LH et al (2005) Dietary fats and membrane function: implications for metabolism and disease. Biol Rev Camb Philos Soc 80:155–169
56. Barceló F, Perona JS, Prades J et al (2009) Mediterranean style diet effect on the structural properties of the erythrocyte cell membrane of hypertensive patients: the Prevencion con Dieta Mediterranea Study. Hypertension 54:1143–1150
57. Malaney S, Daly RJ (2001) The ras signaling pathway in mammary tumorigenesis and metastasis. J Mammary Gland Biol Neoplasia 6:101–113
58. Solanas M, Grau L, Moral R et al (2010) Dietary olive oil and corn oil differentially affect experimental breast cancer through distinct modulation of the p21ras signaling and the proliferation-apoptosis balance. Carcinogenesis 31:871–879
59. Rao CV, Newmark HL, Reddy BS (1998) Chemopreventive effect of squalene on colon cancer. Carcinogenesis 19:287–290
60. Hynes NE, MacDonald G (2009) ErbB receptors and signaling pathways in cancer. Curr Opin Cell Biol 21:177–184
61. Muraoka-Cook RS, Feng SM, Strunk KE et al (2008) ErbB4/HER4: role in mammary gland development, differentiation and growth inhibition. J Mammary Gland Biol Neoplasia 13:235–246
62. Jin Z, El-Deiry WS (2005) Overview of cell death signaling pathways. Cancer Biol Ther 4:139–163
63. Han J, Talorete TP, Yamada P et al (2009) Anti-proliferative and apoptotic effects of oleuropein and hydroxytyrosol on human breast cancer MCF-7 cells. Cytotechnology 59:45–53
64. Hardy S, Langelier Y, Prentki M (2000) Oleate activates phosphatidylinositol 3-kinase and promotes proliferation and reduces apoptosis of MDA-MB-231 breast cancer cells, whereas palmitate has opposite effects. Cancer Res 60:6353–6358
65. Llor X, Pons E, Roca A et al (2003) The effects of fish oil, olive oil, oleic acid and linoleic acid on colorectal neoplastic processes. Clin Nutr 22:71–79
66. Larsson S, Kumlin M, Ingelman-Sundberg M et al (2004) Dietary long-chain n-3 fatty acids for the prevention of cancer: a review of potential mechanisms. Am J Clin Nutr 79:935–945
67. Rose DP (1997) Effects of dietary fatty acids on breast and prostate cancers: evidence from in vitro experiments and animal studies. Am J Clin Nutr 66:1513S–1522S
68. Stoll BA (2002) N-3 fatty acids and lipid peroxidation in breast cancer inhibition. Br J Nutr 87:193–198
69. Della Ragione F, Cucciolla V, Borriello A et al (2000) Pyrrolidine dithiocarbamate induces apoptosis by a cytochrome c-dependent mechanism. Biochem Biophys Res Commun 268:942–946
70. Sun SY, Hail N Jr, Lotan R (2004) Apoptosis as a novel target for cancer chemoprevention. J Natl Cancer Inst 96:662–672
71. Jump DB (2004) Fatty acid regulation of gene transcription. Crit Rev Clin Lab Sci 41:41–78
72. Moral R, Solanas M, Manzanares EM et al (2004) Influence of DMBA-induced mammary cancer on the liver CPT I, mit HMG-CoA synthase and PPARa mRNA expression in rats fed low or high corn oil diet. Int J Mol Med 14:283–287
73. Costa I, Moral R, Solanas M et al (2011) High corn oil and extra virgin olive oil diets and experimental mammary carcinogenesis: clinicopathological and immunohistochemical p21Ha-Ras expression study. Virchows Arch 458:141–151
74. Solanas M, Moral R, Escrich E (2001) The stimulating effect of a high-fat n-6polyunsaturated diet on rat DMBA-induced mammary tumors is not related to changes in c-Ha-ras1 mRNA tumor expression. Nutr Res 21:1261–1273
75. Singh RP, Kumar R, Kapur N (2003) Molecular regulation of cholesterol biosynthesis: implications in carcinogenesis. J Environ Pathol Toxicol Oncol 22:75–92
76. Moral R, Solanas M, Garcia G et al (2008) High corn oil and high extra virgin olive oil diets have different effects on the expression of differentiation-related genes in experimental mammary tumors. Oncol Rep 20:429–435

77. Solanas M, Escrich E, Rouzaut A et al (2002) Deregulated expression of the PCPH proto-oncogene in rat mammary tumors induced with 7,12-dimethylbenz[a]anthracene. Mol Carcinog 33:219–227
78. Escrich E, Moral R, García G et al (2004) Identification of novel differentially expressed genes by the effect of a high fat n-6 diet in experimental breast cancer. Mol Carcinog 40:73–78
79. Solanas M, Moral R, Garcia G et al (2009) Differential expression of H19 and vitamin D3 upregulated protein 1 as a mechanism of the modulatory effects of high virgin olive oil and high corn oil diets on experimental mammary tumours. Eur J Cancer Prev 18:153–161
80. Russo IH, Russo J (1996) Mammary gland neoplasia in long-term rodent studies. Environ Health Perspect 104:938–967
81. Vizmanos B, Martí-Henneberg C (2000) Puberty begins with a characteristic subcutaneous body fat mass in each sex. Eur J Clin Nutr 54:203–208
82. Castellano JM, Roa J, Luque RM et al (2009) KiSS-1/kisspeptins and the metabolic control of reproduction: physiologic roles and putative physiopathological implications. Peptides 30:139–145
83. Oi-Kano Y, Kawada T, Watanabe T et al (2007) Extra virgin olive oil increases uncoupling protein 1 content in brown adipose tissue and enhances noradrenaline and adrenaline secretions in rats. J Nutr Biochem 18:685–692
84. Buckland G, Bach A, Serra-Majem L (2008) Obesity and the Mediterranean diet: a systematic review of observational and intervention studies. Obes Rev 9:582–593
85. Romaguera D, Norat T, Vergnaud AC et al (2010) Mediterranean dietary patterns and prospective weight change in participants of the EPIC-PANACEA project. Am J Clin Nutr 92:912–921
86. Soriguer F, Almaraz MC, Ruiz-de-Adana MS et al (2009) Incidence of obesity is lower in persons who consume olive oil. Eur J Clin Nutr 63:1371–1374
87. López-Miranda J, Pérez-Jiménez F, Ros E et al (2010) Olive oil and health: summary of the II international conference on olive oil and health consensus report, Jaén and Córdoba (Spain) 2008. Nutr Metab Cardiovasc Dis 20:284–294
88. Perez-Jimenez F, Alvarez de Cienfuegos G, Badimon L et al (2005) International conference on the healthy effect of virgin olive oil. Eur J Clin Invest 35:421–424
89. Bach-Faig A et al (2011) Mediterranean diet pyramid today. Science and cultural updates. Public Health Nutr 14(12A):2274–2284

Doğal Antioksidanların Enflamasyon ve Karaciğer Kanseri Üzerindeki Etkilerinin Araştırılmasına Holistik Bir Yaklaşım

Susan Costantini, Giovanni Colonna ve Giuseppe Castello

Özet

Kemoterapinin kısıtlı etkinliği ve kanserlerin yüksek rekürans oranları acil olarak yeni moleküler hedeflerin belirlenmesi ve yeni tedavilerin geliştirilmesi ihtiyacını ortaya koymaktadır. Çok sayıda güncel epidemiyolojik çalışmada meyve ve sebze tüketimi, doğal antioksidanlar ile kanser arasında ters orantılı bir ilişkinin varlığı vurgulanmaktadır. Kanserin önlenmesi ve tedavisinde diyet veya bitkisel kaynaklı takviyeler yoluyla alınan antioksidanların kullanımı kuvvetle önerilmektedir. Sebze, mineral veya hayvansal kaynaklı maddeler olan antioksidanlar serbest radikalleri nötralize ederek, plazma membranı, proteinler ve DNA üzerindeki olumsuz etkilerinden vücudu korumaktadır. Bu nedenle immun sistemin stimülasyonu ile kanser hücrelerinin yok edilmesi veya proliferasyonlarının bloke edilmesi ile kanserin önlenebilmesi mümkündür. Yaşayan organizmaların bütün ve kompleks bir sistem olarak "omik bilimleri" tarafından incelenebiliyor olması, genler, mRNA, proteinler ve metabolitler ile ilgili anlayışın gelişmesine ve global mekanizmalarının anlaşılabilmesine yol açmıştır. Bizim amacımız biyoinformatik ve sistemler biyolojisini kullanarak enflamatuar proseslerin gelişiminde önemli rol oynayan ve kanserde de önemli bir komponent olan sitokinomu incelemektir. Kanser kronik enflamasyondan kaynaklanabilen, tip 2 diyabet ve obezite ile de eş zamanlı görülebildiği kabul edilen bir hastalıktır. Bu bölümde sitokinomları oluşturan proteinlerin tamamını ve biyolojik hücrelerin içindeki ve çevrelerindeki etkileşimlerini tanımlayacağız.

S.Costantini (✉) · G. Castello
Istituto Nazionale per lo Studio e la Cura dei Tumori, Fondazione Giovanni Pascale–IRCCS-Italia, Via Ammiraglio Bianco, 83013, Mercogliano, AV, Italy
e-mail: susan.costantini@unina2.it

G. Colonna (✉)
Department of Biochemistry, Biophysics and General Pathology (Second University of Naples), via Costantinopoli 16, 80138, Naples, Italy
e-mail: giovanni.colonna@unina2.it

V. Zappia et al. (eds.), *Advances in Nutrition and Cancer,*
Cancer Treatment and Research 159, DOI: 10.1007/978-3-642-38007-5_18,
© Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2014

Kanserden etkilenen hastalardaki kompleks sitokinom ağının anlaşılması hem kanserin gelişiminin ilk evrelerinden itibaren takip edilmesi, hem de biyolojik sistem yaklaşımları kullanarak yenilikçi terapötik stratejilerin tanımlanmasında çok faydalı olacaktır. Bu bölümde grubumuzun "omik" mantığını kullanarak yaptığı çalışmalardan elde edilen bazı sonuçları gözden geçireceğiz ve (1) Özellikle hepatoselüler karsinomu da içeren multifaktöryel kanser gibi kompleks sistemlere global yaklaşım gereksinimini, (2) Doğal antioksidanlar, enflamasyon ve karaciğer kanseri arasındaki korelasyonu, (3) Sitokinom profilinin zorluklarını ve önemini, (4) Tip 2 diyabet ve/veya kronik hepatit C enfeksiyonu olan hastalardaki sitokinom profilinin değerlendirmesini, (5) Adipokin interaktomunu inceleyeceğiz.

Anahtar Kelimeler

Sistemler biyolojisi • Kompleks sistemler • Sitokinom • Enflamasyon

Kısaltmalar

ACE	Anjiotensin dönüştürücü enzim
ADIPOQ	Adiponektin
AGT	Anjiotensin II
KHC	Kronik hepatit C
KKH	KHC ve tip 2 diyabet
CXCL1	Kemokin (CXC motif) ligand 1
CXCL9	Kemokin (CXC motif) ligand 9
GIP	Glukoza bağımlı insülinotropik peptid
HCC	Hepatoselüler karsinom
HGF	Hepatosit büyüme faktörü
IL-1	İnterlökin-1
JAK	Janus kinaz
LC	KKH- ile ilişkili siroz
LCD	KHC- ile ilişkili siroz ve tip 2 diyabet
MIF	Makrofaj migrasyon inhibitör faktörü
NF-κB	Aktive B hücrelerinde nükleer faktör kappa hafif zincir güçlendirici
NGF	Sinir büyüme faktörü
NR3C1	Nükleer reseptör alt ailesi 3 grup C, üye 1
PAI-1	Plazminojen aktivatör inhibitörü-1
D (POLR2D)	Polimeraz (RNA) II (DNA tarafından yönetilen) polipeptid
RBP4	Retinol bağlayıcı protein 4
RELA	V-rel retiküloendotelioz viral onkogen homoloğu A
ROS	Reaktif oksijen türleri
SFR5	Salgılanan kıvrımla ilişkili protein 5
STAT3	Sinyal dönüştürücü ve transkripsiyon aktivatörü

T2D	Tip 2 diyabet
TNT	Tümör nekroz faktörü
USF1	Yukarı yönlü stimulatör faktör 1

İçindekiler

1 "Omik" Çağında Biyolojinin Yeni Mantığı 313
2 Doğal Antioksidanların Enflamasyon ve Karaciğer Kanseri Üzerindeki Etkilerinin Araştırılmasına Holistik Bir Yaklaşım 314
3. Tip 2 Diyabet ve/veya Kronik Hepatit C Enfeksiyonu Olan Hastalardaki Sitokinom Profili 317
4 Adipokin İnteraktomu 320
5 Sonuçlar 321
Referanslar 322

1 "Omik" Çağında Biyolojinin Yeni Mantığı

Biyolojik bilimler geçtiğimiz yüzyılın sonuna kadar, biyolojik objenin parçalarının analiz edilerek yaşam süreçlerinin açıklanmasına dayanıyordu. Tipik olarak analitik ve indirgeyici olan bu yaklaşım, yaşayan organizmaların genler, proteinler ve metabolitler gibi hemen tüm moleküler özelliklerinin anlaşılmasına yardım etmişti. Sistemin tek tek tüm komponentlerinin incelenmesine odaklanmıştı. Ancak sistemin bir bütün olarak nasıl davranacağını öngöremiyordu. Sistem aynı ortamda bulunarak birbirleri ile etkileşime giren çok sayıda yapıtaşının oluşturduğu bütün olarak tanımlanabilir. Özellikleri komponentlerini oluşturan elemanların yapısına bağlıdır. Sistem ayrıca dışarıdan gelen uyarılar ile etkileşime girebilir ve cevap verebilir. Birbiriyle etkileşime giren komponentlerin sayısı çok fazla ise kompleks bir sistemden bahsedilir. Kompleks sistemlerin çarpıcı bir özelliği, komponentleri arasındaki etkileşimler ile ortaya tahmini güç olan özelliklerinin (gelişen özellikler) çıkmasıdır. Sistemlerin içinde dinamik olarak rol oynayan unsurların indüklediği adaptasyon, kendini organize etme ve problemlere cevap verebilme gibi özelliklerin etkisi ile kompleks bir davranışa sahip olduklarını söyleyebiliriz. Bu nonlineer etkileşimler, tekil komponentlerin işlevlerine bakarak tahmin edilemeyen farklı durumların ve devamında da davranışların ortaya çıkmasına neden olur. Borsa, ekosistemler ve kuş sürülerinin özelliklerini tahmin etmekte kullanılan bu prensiplerin biyolojiye uygulanması ise yakın zamanda gerçekleşmiştir.

Biyolojide yaşayan canlıları bir bütün olarak değerlendirilmesi ile ilgili bilgilerimiz sınırlı düzeydedir. Ancak biyolojik sistemleri yöneten organizasyonal güçlerle ilgili

kanunlar kollektif fenomenin ve sistemlerin fonksiyonları için gereken yapının anlaşılmasında hayati rol oynamaktadır. "Omik bilimleri" bir çevredeki "biyolojik aktörlerin" bütün olarak anlaşılmasındaki ilk basamak olup, genler (genomik), mRNA (transkriptomik), proteinler (proteomik) ve metabolitler (metabolomik ile) ile ilgili verilerin bütün olarak anlaşılmasını ve tanımlanmasını amaçlar. Ancak farklı "omik" düzeyleri arasındaki ilişkileri tanımlayacak bir yöntem henüz geliştirilememiştir. Biyolojik bilimler giderek daha fazla veri üretmektedir. Yeni hücresel teknikler ve moleküler analizler ile yorumlanan bu bilgilerin yorumlanmasında, sadece tekil komponentlerin değil, bu komponentlerin aralarındaki ilişkilerin de analiz edilmesi gerekir. Sadece bu şekilde protein katlanması veya bazı majör hastalıkları açıklamakta yetersiz olduğu bilinen tipik, analitik ve indirgemeci prosedürlerden kaçınılabilir.

Kompleks sistemlerin küçük komponentlere ve basit birimlere ayrılmasının organizasyonu ve yeni bir özelliği anlamakta yetersiz olduğu günümüzde yaygın olarak kabul edilmektedir. Komponentlerin aralarındaki etkileşimlere ve ağlara odaklanmak kompleks karakteristiklerini çözümleyebilmek adına çok önemlidir.

Bu bağlamda, sistemlerin tüm olası durumlarını içeren birimler arasında bulunan çok yüksek sayıdaki bağlantılar göz önüne alınmalıdır. Grafikler ve nöral düğümler gibi matematiksel araçlar fonksiyonel ağların anlaşılabilmesi amacıyla sıklıkla kullanılmaktadır. Çünkü sadece bu yolla kanser gibi patolojik proseslerden etkilenen metabolik davranışın kapsamlı bir bakış açısıyla anlaşılması sağlanabilir. Dikkate alınması gereken bir başka konu da çevreden kaynaklanan anormalliklerin tüm sistemi ilgilendiren değişimleri indükleyebilme ihtimalidir.

2 Doğal Antioksidanların Enflamasyon ve Karaciğer Kanseri Üzerindeki Etkilerinin Araştırılmasına Holistik Bir Yaklaşım

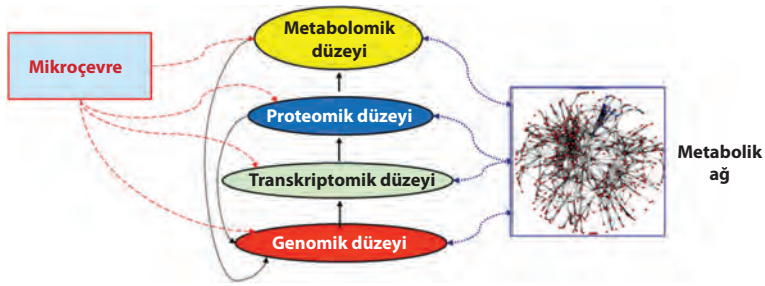
İnsan diyetindeki antioksidan bileşiklerin, oksidatif metabolizma ile oluşan reaktif oksijen türleriyle (ROS) etkileşimi hakkında bir çok yayın mevcuttur [1]. Bir antioksidanın etkisini gösterebilmesi, metabolize ve elimine olabilmesi için hücresel metabolik proseslerle etkileşime girmesi gerekir [2]. Antioksidanların spesifik moleküler özellikleri hakkında yeterli veri olmasına rağmen, gerçek fizyolojik faydaları ve metabolik aktiviteleri hakkındaki bilgiler yetersizdir [2]. Antioksidanların özellikle spesifik hücresel bölgelerdeki etkileri ile ilgili, sıklıkla çelişkili sonuçlar içeren birçok çalışma vardır. Ancak daha geniş metabolik ağdaki aktiviteleri ve global etkileri ile ilgili olarak az miktarda veri mevcuttur. Genel olarak, antioksidanların etkilerini popülasyonlardaki bireylerde kısıtlı zaman periyodlarında yapılan ve makroskopik etkilerini açıklayan epidemiyolojik çalışmalar ile anlamaya çalışıyoruz. Bu etkiler sıklıkla U şekilli eğriler ile karakterize olmaktadır. Eğrideki geniş minimum değer fizyolojik olarak aktif olması gereken konsantrasyonu gösterir. Eğrinin yükselen kolları ise fizyolojik ve hatta

toksik etkiler ile ilişkili değildir [3, 4]. Bu antioksidanları içeren diyetlerin, kanser hastalarındaki progresyonun sınırlanması amacıyla kombine edilmesi konuyu daha da karışık hale getirmektedir. Biyolojik olarak multi-etyolojik bir hastalık olan kanserin farklı hücresel ve metabolik özellikleri farklı bir hastalık olduğunu ortaya koymaktadır [5]. Bu durum antioksidan bileşiklerin kanserli hastalardaki genel etkilerini anlamamızı zorlaştırmaktadır.

Milenyumun ilk yıllarına kadar yapılan çalışmaların çoğunda kullanılan bilimsel rasyonel hala indirgemeci mantığı yansıtmaktaydı. Bu çalışmalar tekil biyolojik moleküllerin ve/veya spesifik bir hücre bölgesinin özellikleri hakkında önemli bilgiler sağlamıştır. Ancak entegrasyonları ve genel bakış açıları yetersizdir. Bu milenyumun ilk yıllarında geliştirilen İnsan Genom Projesi kapsamında biyologlar tarafından geliştirilen holistik bakış açısı, "omik" teknolojileri tarafından yeterince desteklenmiş ve sistemler biyolojisi adı altında çok büyük miktarda verinin kompleks istatistiksel analizinin yapılmasını sağlamıştır [7]. Çalışma grubumuz düşük sağkalım şansı olan letal bir kanser türü olan hepatoselüler karsinom ile ilgili son yıllardaki çalışmalarında bu kapsamlı yaklaşımı kullanmaktadır [8]. Bu hastalık dünya çapında olduğu gibi güney İtalya'nın Campania bölgesinde de yaygın olup en tehlikeli kanser türlerinden bir tanesidir.

Ana objektifimiz deneysel ve sayısal veriler yardımıyla, tip 2 diyabet ve obezite varlığında (ya da yokluğunda) karaciğer kanserine yol açan kronik enflamatuar prosesleri araştırmaktı [9]. Kapsamlı bir yaklaşımla yapılan bu çalışmalar sadece "omik" bilimlerinden (genomik, transkriptomik, proteomik ve metabolomik) elde edilen verileri değil, aynı zamanda aralarındaki olası ilişkilerin karaciğer kanserinin gelişimini ve progresyonunu regüle eden metabolik ağın tamamının tanımlanmasını da göz önüne almaktadır [7]. Bu şekilde indirgeyici bir yaklaşım yerinde geniş kapsamlı global bir bakış açısına ulaşmak mümkün olacaktır. Farklı "omik" düzeylerinin fizyolojik ve/veya kanser şartlarındaki hepatositlere entegre edilmesi ile metabolik ağlar hakkında elde edilecek farklı bakış açısı, evrelerin ve hastalığın progresyonuna bağlı olarak oluşan değişimlerin ve önemli fizyolojik fonksiyonları kontrol eden temel öneme sahip metabolik nodların tanımlanmasına yardımcı olacaktır. Bu bilgileri, sadece bu şartlar altında hastalığın erken evrelerindeki patolojik değişimleri tanımlayarak hedefli metabolik veya farmakolojik yaklaşımlara yönelik olarak kullanabiliriz. Bu sonuca ulaşabilmek için farklı düzeylere özgü verileri kullanmamız gerekmektedir. Şekil 1'de çok daha basit bir biyolojik modele uyguladığımız mantıksal yaklaşımın şeması görülmektedir. Farklı düzeylerle ilgili verilerin çözülmesi gereken problemle ilgili bir şekilde entegre edilmesi gerekmektedir. Çevrenin (çoğunlukla diyette bulunan besin öğelerinden kaynaklanan) hücresel sistemler üzerinde farklı düzeylerde anormalliklere yol açtığı görülmektedir. Metabolik ağın sinyal sisteminin net olarak tanımlanması önemlidir. Bir hastalığın progresyonunu ve oksidatif strese karşı kullanılan gıda takviyelerinin başarılı olup olmadıklarını anlayabilmek için normal ve patolojik hücrelerdeki farklı düzeylerdeki bilgi alışverişlerinin anlaşılması önemlidir. Bu nedenle yaklaşık 50 farklı sitokin, kemokin ve büyüme faktörü ile hastalardaki sitokinom sinyallerini değerlendiren multipleks

immunoassay adı verilen modern bir teknik kullanıyoruz. Bu yaklaşım "omik" mantığı ile ilişkilendirildiğinde önemlidir. Hücreler sitokin sinyallerini membranlarında bulunan uygun reseptörler ile algılarlar. Ancak bu reseptörler ile çalışma yapmanın bazı kısıtlamaları vardır: (1) Çok duyarlı antikorlar ile yapılan testler ve floresan (ELİZA) kullanıldığında bile sadece daha fazla sayıda olan reseptörler araştırılabilmiştir; (2) Reseptörlerin pleiotropik özelliklere sahip olmaları nedeniyle farklı sitokinlere karşı afinitelerinin olması, benzer mesajların farklı reseptörler tarafından üretilmesine yol açmaktadır; (3) Biyolojik mesaj tanımı sadece bazı reseptörler için bilinmektedir. Yetersiz derecede temsil edilen (plazmada daha düşük konsantrasyonlara sahip olan) sitokinler tarafından taşınan tüm bu mesajların anlamını bilmiyoruz Ayrıca bu mesajların reseptörler tarafından gereksiz bilgi olarak mı yoksa farklı bilgi içeren mesajlar olarak mı algılandığını bilmiyoruz [10, 11]. Ciddi ve geliştirilmiş sensitiviteye sahip protein çipleri günümüzde mevcuttur. Farklı sitokinlerin eş zamanlı tespitine floresan/lazer/antikor bazlı yeni bir test teknolojisi ile olanak tanırlar (multipleks teknolojisi). En doğru, sensitif ve tekrar edilebilir sonuçları verebilen bu test çok küçük serum, plazma veya hücresel süpernatan örnekleri değerlendirebilmektedir. Bu teknolojinin çok ilginç başka bir yönü de, yetersiz temsil edilen sitokinleri sayısal olarak gösterebilmesidir [12, 13]. Bu yeni holistik paternin parçası olan sitokin paternlerine "sitokinom" adı verilir [14]. Sitokinler bir bilgi ağı oluşturan hücre sinyallerinde internete benzer mantıkla, kapilerlerin bir organizmanın tüm hücresel sistemlerine bağlanan bölümlerinde etki gösterirler. Bu ağın kapsamlı bir tanımının yapılması birçok kronik enflamatuar hastalığın patojenik evrimlerinin anlaşılabilmesinde önemlidir. Ancak hala cevaplanmamış birçok soru mevcuttur. Örneğin kronik enflamatuar hastalıklarda tüm sitokin paterni içinden hangilerinin rol oynadığı bilinmemektedir. Tüm sitokinlerin tüm hastalıklarda aynı yolla ve genel olarak rol oynayıp oynamadıkları veya belirli bir patolojinin farklı sitokin tip ve sınıfları ile ilişkili olup olmadıkları bilinmemektedir. Belirli hastalıkta hangi sitokinlerin geliştiği de henüz aydınlatılmamıştır. Bu cevapların bilinmesi kronik enflamatuar hastalıkların progresyonunda rol oynayan sitokinomların dinamiklerinin değerlendirilmesine yardımcı olacaktır. Ancak en önemlisi prognozun önceden tahmin edilmesini de sağlayabileceklerdir. Sitokin ağının bir başka karmaşık yönü de sitokin kodlayan bazı genlerin alternatif birleşme yoluyla sitokin varyantlarının (izoformlar) oluşumuna yardımcı olmasıdır. Bu durum yapısal olarak hafifçe farklı olsalar da biyolojik aktiviteleri anlamlı olarak farklı moleküllerin ortaya çıkmasına neden olur. Bu bulgu sitokinlerle korelasyon gösteren gen ekspresyonlarının incelenmesinin niçin her durumda faydalı olacağını açıklamaktadır. Daha önce yapılan çalışmalarda bazı kanser türlerinde önemli mutasyonlar tanımlanmıştır. Ancak bu çalışmaların kısıtlı bir gen setine odaklanmış olmaları mutasyonal spektrumun sınırlı bir görüntüsünü sunabilmelerini sağlamıştır. Sitokinin fonksiyonlarının doğru ve kapsamlı olarak anlaşılabilmesi serum konsantrasyonlarının eş zamanlı ve uyumlu ölçümlerinin yapılması ile mümkün olsa da, sitokinom yaklaşımının kullanılmasının bir diğer avantajı da multipleks teknolojisinden kaynaklanmaktadır. Aynı biyolojik sıvıdaki farklı moleküllerdeki bağımsız sitokin konsantrasyonlarının ölçülerek doğru internal oranların elde edilmesi güçtür.



Şekil 1 Farklı omik düzeyleri arasındaki ilişkinin şematik gösterimi.

Çünkü konsantrasyonlar arasındaki farklılıklar çok farklı büyüklük basamaklarına sahiptir. Ancak günümüzde sitokinlerin serum düzeylerini efektif olarak tanımlamak ve güvenilir internal konsantrasyon oranlarını hesaplamak geniş spektrumlu, boncuk tabanlı (bead-based) multipleks immunoassay kullanımı ile mümkün olmaktadır. Bu nedenle sitokinlerle ilişkili tüm veriler grafikler veya farklı veri gruplarına bağlanabilen ağlar (mikroarray ve multipleks biyometrik ELISA tabanlı immunoassay kullanılarak elde edilen gen ve protein ekspresyonu ile ilgili) kullanılarak analiz edilebilir ve modellenebilir. Böylece metabolik ve/veya fizyolojik aktivitelerin ve/veya patojenik yolakların olasılık haritaları elde edilebilir. İnsan sitokinomunun tanımlanması, gelecekte hem sağlıklı bireylerdeki hem de kanser hastalarındaki sitokin ağlarının analizinde kullanılan önemli bir araç olabilir. Bu sayısal modellerin kullanılması ile kronik enflamatuar proseslerin regresyonunun sitokinlerin hücresel popülasyonlarını etkileyerek kanseri nasıl bloke edebileceğini anlamak kolaylaşacaktır. Bu bilgi klinisyenler için kullanışlı bir prognostik ve diyagnostik araç olacaktır.

3 Tip 2 Diyabet ve/veya Kronik Hepatit C Enfeksiyonu Olan Hastalardaki Sitokinom Profili

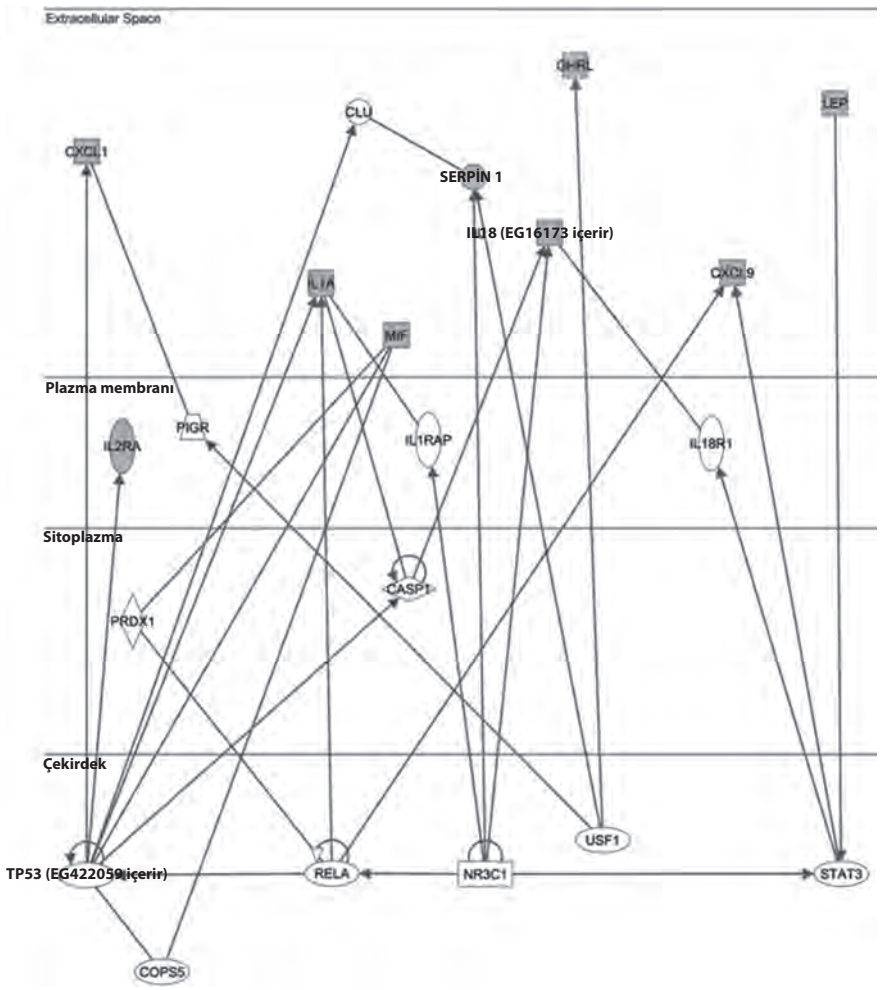
Karaciğerde hepatoselüler karsinom gelişimine neden olan metabolik olayların karmaşıklığı, bazı hastalıkların (hepatit virüsleri, diyabet, obezite) gelişiminde rol oynayan moleküler mekanizmaların anlaşılmasının önünde hala ciddi bir engeldir. Bağımsız ya da bağımlı olarak etki gösteren bu moleküler mekanizmalar sonuçta sıklıkla kanser gelişimine neden olmaktadır. Patolojinin progresyonunu yöneten farklı bilgi sinyallerinin birbirinden ayrıştırılarak tanımlanması, köken ve metabolik etkilerin hastalığın tanımlanmasındaki gerçek önemlerinin doğru olarak anlaşılabilmesi için önemlidir.

Ancak bu prensibe göre hareket edilmediğinde, herhangi bir nütrisyonel takviyenin metabolik önemini anlamak pratikte imkansızdır. Bu takviyelerin makroskopik ve fenotipik etkilerinin her zaman gösterilebilmesi mümkündür. Ancak metabolik ağ düzeyinde ne tür etkilere yol açtıklarını hiçbir zaman öğrenemeyebiliriz. Bu nedenle şu andaki çalışmalarımız multipleks teknoloji ile geliştirilen paneller kullanılarak birçok patojenik sitokinin kökenlerini tanımlamaya odaklanmıştır.

Genel olarak hem tip 2 diyabetin (T2D) hem de kronik hepatit C (KHC) enfeksiyonunun hepatoselüler karsinom (HCC) gelişim riskini artırdığını söyleyebiliriz [15, 16]. Sitokinlerin sadece insülin rezistansında ve glukoz kullanımında değil, karaciğerdeki viral enfeksiyonlardaki patolojik proseslerde de önemli rol oynadıkları bilinmektedir [12]. Bu nedenle, KHC, KHC'ye bağlı siroz, T2D, KHC ve T2D, KHC'ye bağlı siroz ve T2D ve sağlıklı kontrollerde bu hastalıkların farklı evrelerinin ayrımını yapabilmek amacıyla, birçok sitokin, kemokin, adipokin ve büyüme faktöründen oluşan panellerin serum seviyeleri BioPlex testi ile ölçülmüştür [9].

Elde edilen sonuçlar b-NGF, CXCL1, CXCL9, Cpeptid, GIP ve adiponektin ekspresyonunun T2D dışındaki tüm hasta gruplarında yukarı regüle olduğunu göstermiştir. Bu bulgu fibroz, siroz ve kanser progresyonuna yol açabilecen KHC enfeksiyonu (ya da KHC ile birlikte T2D'nin) ile ilişkili olabileceklerini göstermektedir. Ayrıca Tip 2 diyabetin KHC enfeksiyonunun gidişatını modifiye edebilen bir kofaktör olduğunun bilinmesi ve bağımsız bir HCC göstergesi olarak kullanılabilmesi nedeniyle [16], T2D ve KHC hastalarındaki anlamlı moleküller karşılaştırılmıştır. Sonuçlarda (1) KHC hastalarındaki girelin ve leptin düzeylerinin T2D hastalarına göre daha düşük olduğu, (2) KHC hastalarındaki IL-1a, insülin ve PAI-1 düzeylerinin T2D hastalarına göre daha yüksek olduğu, (3) CXCL1, CXCL9, b-NGF, C-peptid, GIP ve adiponektin düzeylerinin sadece KHC hastalarında yüksek olduğu, (4) HGF ve glukagonun sadece T2D hastalarında yüksek olduğu bulunmuştur.

Tüm bu moleküller ilgili fonksiyonları ve literatürde bildirilen deneysel çalışma sonuçlarını kullanarak bir veri ağı oluşturan Ingenuity Yolak Analizi 7.1 (Ingenuity Systems Inc., Redwood, Kaliforniya, ABD) kullanılarak analiz edilmiştir (Şekil 2). Bu grafik transkripsiyon 3 (STAT3), NR3C1 (nükleer reseptör alt ailesi 3, grup C, üye 1), NF-κB (RELA adı da verilir), TP53 (tümor p53), ve yukarı yönlü stimülan faktör 1'in (USF1) adlı sinyal dönüştürücüsü ve aktivatörü olan beş ana geni göstermektedir. Leptin tarafından indüklenen STAT3 [17], CXCL9 gibi STAT1'e bağımlı enflamatuar genlerdeki IFN indüksiyonunda rol oynamaktadır [18]. Bu nedenle T2D hastalarındaki yüksek leptin düzeylerinin STAT3 ekspresyonunu artırdığı ve ilgili CXCL9'u da suprese ettiği hipotezinin geliştirilmesi mümkün olmuştur. Diğer taraftan kortizol ve diğer glukokortikoidlerin bağlandığı NR3C1 reseptörü de STAT3 ve RELA ile etkileşime girmektedir [19]. Şekil 2'de gösterilen ağ, RELA'nın TP53, MIF, CXCL9 ve IL-1a ekspresyonunu regüle ederken, TP53'ün ise CXCL1, IL-2R, IL-1a, MIF, PAI-1 (SERPINE1 adı da verilir), ve IL-18 ekspresyonunu regüle ettiğini göstermektedir. Bu durum KHC hastalarındaki CXCL1, IL-1a, IL-18, PAI-1 ve CXCL9 düzeylerinin niçin daha yüksek olduğunu açıklayabilir. USF1 ise glukoz, lipid ve hepatik metabolizmadaki çok



Şekil 2 Bu grafik Ingeniuty Yolak Analizi bilgisayar programı ile elde edilen T2D ve KHC hastalarındaki (*gri semboller*) önemli sitokinlerle ve diğer moleküllerle (*beyaz semboller*) yakından ilişkili olan ağı göstermektedir ([9] nolu referanstan uyarlanmıştır).

sayıda genin regülasyonunda rol oynamaktadır. USF1 ekspresyonu KHC hastalarındaki karaciğer fibrozunun progresyonu sırasında aşağı regüle olmaktadır [20]. Bu bulgu KHC hastalarındaki girelin ekspresyonunun T2D hastalarına göre niçin daha düşük olduğunu açıklamaktadır. Ayrıca HGF'nin sadece KHC hastalarında normal değerlerde bulunması da dikkate değerdir. Bu büyüme faktörü epitel ve endotel hücrelerindeki mitojenik, motojenik (metastogenez dahil) ve morfojenik etkileri reseptörü olan proto-onkogen Met ile stimüle etmektedir. Met'in HGF bağlanması ile aktive olması

hücre büyümesi ve sağkalımı ile PI3-kinase/PDK/Akt ve Ras/Raf/MEK/ERK yolaklarının aktivasyonu yoluyla, hücre mobilitesi ve sitoskeletal organizasyon ile de RhoGT-Pazlar, Rho, Rac, ve CDC42 aktivasyonu yoluyla ilişkilidir. HGF ve Met birçok kanser türünün progresyon, invazyon ve metastaz özelliği ile ilişkilidir. Bu nedenle sinyalleri kanser tedavilerinin geliştirilmesinde ana hedef durumundadırlar [21]. HGF düzeyleri KHC hastaları dışındaki tüm hasta gruplarında yükseldiği için bu proteinin T2D hastalarındaki kronik enflamasyonun kansere dönüşümünü tahmin etmekte kullanılması mümkündür [13]. Bu çalışma genel olarak, büyük bir sitokin panelinin eş zamanlı sayısal tespitinin, yüksek ve düşük oranda temsil edilen moleküller arasındaki doğru oran ve dinamikleri gösterebilmesinin mümkün olduğunun göstergesidir. Ayrıca doğru, basit, spesifik, noninvazif, tekrar edilebilen ve pahalı olmayan bir yöntem olduğu için, gelecekte rutin klinik pratikte tip 2 diyabet ve/veya KHC ile karaciğer sirozu ve muhtemelen de kanser arasındaki ilişkinin takibinde kullanılarak, bu hastalıklarının prognozlarının iyileştirilmesine katkıda bulunabilir.

4 Adiponektin İnteraktomu

Adipöz doku hem lokal (otokrin/parakrin) hem de sistemik (endokrin) etkileri olan farklı adipokinleri eksprese edebilir ve salgılayabilir. Adipöz doku bu efferent sinyallere ek olarak, klasik hormon sistemlerinin afferent sinyallerine cevap verebilmesini sağlayan birçok reseptörü de eksprese eder. Adipöz doku, depolama ve enerji salımı için gereken biyolojik repertuvara ek olarak uzak organlarla iletişime izin veren metabolik mekanizmaları da içerir. Adipöz doku bu interaktif ağı kullanarak enerji metabolizması, nöroendokrin fonksiyon ve immun fonksiyon gibi bir dizi biyolojik prosesin koordinasyonuna entegre olarak rol oynar [22]. Grubumuzun son zamanlarda başlattığı bir çalışmada tip 2 diyabet, obezite ve kanser arasındaki muhtemel bir bağlantıya işaret eden adipokin ağının kompleks etkileşimleri incelenmektedir [23]. İnsan proteomunun tamamından elde edilen bu birbiri ile ilişkili ağ için, Biogrid, HPRD, MINt ve Yolak Etkileşim Veri Tabanı, ve Verona Üniversitesi tarafından manuel olarak oluşturulan ve güncellenen veri tabanı (önceki versiyonu 11.210 nodül içermektedir) kullanılmıştır [24]. 21.289 köşesi (interaksiyon) olan 729 nodülden (protein) oluşan adipokin ağı ADIPOQ ve SFRP-5 gibi direkt etkileşime giren iki izole komponent içerir. Bu ağın bağlantılı komponenti 21.286 interaksiyon içeren 724 nodülden oluşur ve ortalama kümelenme kat sayısı 0.586'dır. Ortalama kümelenme kat sayısı dağılımının gelişimi ile tanımlanan metabolik ağların modüler organizasyonu ve ağ heterojenitesi (bağlanabilirlik varyansı) ile ilişkili değer, bir ağın ana nodüller içerme eğiliminin göstergesidir.

Bir ağdaki sıkışmış proteinler ana birleştiricileri temsil ettikleri için ağın önemli ve vazgeçilmez nodülleridir [25]. Ayrıca merkezi konumun arada kalma düzeyi bir ağdaki tepe ya da köşenin muhatap olduğu trafik miktarı ile ifade edilir [26]. Stres merkeziyeti en kısa yolakların çok sayıda olduğunu göstermektedir [27]. Bu nedenle sıkışıklığın, arada olmanın ve stresin dereceleri ağdaki önemli ve temel nödüllerin karakterize edilebilmeleri amacıyla hesaplanmıştır. Bu değerler tüm adipokinler arasında sadece anjiotensin II (AGT) için yüksek derecede tespit edilmiştir. Birinci sıradaki AGT interaktomunu araştırdığımızda, adipokinin 19 protein ve 27 interaksiyon ile etkileştiğini ve kan basıncının regülasyonu ile ilişkili çok sayıda metabolik prosesi regüle ettiğini tespit ettik. Ayrıca anjiotensin dönüştürücü enzim 2 de (ACE2), AGT ve girelin arasındaki zayıf bir ilişki meydana getirerek leptin ve IL-6 ile etkileşime girmektedir. IL-6 ağındaki JAK1, JAK2, STAT1 ve STAT3 gibi komponentler de TNF ve omentin gibi diğer adipokinlerin fosforilasyonunun regülasyonunda rol oynamaktadır. Adipokin ağının detaylı analizi 0.840 ortalama kat sayısı olan POLR2D'nin (RBP4 adı da verilir) bir diğer yüksek oranda kümelenen ağ komponenti olduğunu göstermiştir. Bazıları RNA bağlanması, metabolik yolaklar, gen ekspresyonu ve DNA tamiri gibi farklı hücresel aktivitelerle ilişkili olan 257 protein ve 10.920 interaksiyon ile etkileşime girer. IL-6, IL-8, adipsin, TNF ve rezistin gibi birçok adipokin RBP4 ile ikinci sıra derecesinde etkileşime girer. Tüm bu veriler adipokinlerin birbirleri ile etkileşime girerek kompleks bir ağ oluşturduklarını ve obezite ve kanser gelişimini desteklemek için uyum için çalıştıklarını göstermektedir.

5 Sonuçlar

Çok sayıda güncel epidemiyolojik çalışmada meyve ve sebze tüketimi, doğal antioksidanlar ve kanser tüketimi arasında ters orantılı bir ilişkinin varlığı vurgulanmaktadır. Kanserin önlenmesi ve tedavisinde diyet veya bitkisel kaynaklı takviyeler yoluyla alınan antioksidanların kullanımı kuvvetle önerilmektedir (Storner ve Mukhtar 1995). Sebze, mineral veya hayvansal kaynaklı maddeler olan antioksidanlar serbest radikalleri nötralize ederek, plazma membranı, proteinler ve DNA üzerindeki olumsuz etkilerini önleyerek vücudu korumaktadır [28, 29].

Ancak antioksidan takviyelerle ilişkili çalışmaların, sıklıkla çok dar bir metabolik bakış açısıyla detaylı metabolik etkilere odaklandığını ve tüm organizma ile fizyolojik yapıda mevcut olan geniş metabolik ağ ile yeterince ilişkili olmadığını gözlüyoruz. Daha çok zaman isteyen, birçok farklı yetenek gerektirdiği için çok daha kompleks olan ve çok ciddi sayısal analizler gerektiren bir yöntem olmasına rağmen bu kısıtlamayı aşmanın en iyi yolunun sistemler biyolojisi yaklaşımı olduğuna inanıyoruz.

Çalışmalarımız hepatokarsinom progresyonunu destekleyen metabolik ağın anlaşılmasına odaklamıştır. Enflamasyon, tip 2 diyabet, obezite ve kanser arasındaki ilişkiye olan ilgi son yıllarda yeniden artmaya başlamıştır. Sitokinlerin bu hastalıkların evrimlerinde önemli rol oynayan moleküllerden olduğuna inanıyoruz. Enflamasyonun öncesinde ve sırasında eksprese olan bu proteinler hastalıkların çeşitli evrelerinde önemli bir rol oynarlar. Bu nedenle kanserin ve spesifik evrimsel basamaklarının spesifik markerları olarak değerlendirilebilirler [12, 13]. Son zamanlarda, KHC, KHC'ye bağlı siroz, KHC ve T2D, KHC'ye bağlı siroz ve T2D hastalarındaki birçok sitokin, kemokin, adipokin ve büyüme faktörünün serum düzeyleri geniş spektrumlu, boncuk tabanlı multipleks immunoassay kullanımı ile değerlendirilmiştir Elde edilen veriler bazı proteinlerin serum düzeylerinin yukarıda sayılan tüm hastalıklarda arttığını, diğer bazılarının ise sadece bir hastalıkta arttığını göstermiştir. Her iki hastalığın mevcudiyetinde ise farklı düzeylerde artış tespit edilmiştir. Bazı moleküllerin klinik ve biyokimyasal veriler ile anlamlı korelasyon göstermesi, hastalığın farklı evrelerinde spesifik biyomarkerlar olarak kullanılabilecek mini panellerin geliştirilebilme olasılığına işaret etmektedir. Ancak tüm bu gözlemler, izole ölçümler yerine entegre bir yaklaşım kullanılmasının bu iki kompleks patolojinin (tip 2 diyabet ve KHC) tek başlarına veya birlikte bulunduğu hastalardaki farklı evrelerinin, değerlendirilmesinde çok daha güçlü bir yaklaşım olduğunu göstermektedir [9].

Bu nedenle sitokinlerin evrimi ile ilişkili verilerin grafikler veya çeşitli veri gruplarına bağlanan ağlar kullanılarak kompüterize bir şekilde modellenmesi gerektiğini vurgulamak istiyoruz. Böylece metabolik ve/veya fizyolojik aktivitelerin ve/veya patojenik yolakların olasılık haritaları elde edilebilir. Gerçekten de insan sitokinomunun tanımlanması sadece bu yolla mümkündür. Bu şekilde hem sağlıklı hem de farklı hastalıkları olan bireylerdeki sitokin ağlarındaki etkileşimlerin analizinde kullanılan önemli bir araca sahip olabiliriz.

Referanslar

1. Carlsen MH, Halvorsen BL, Holte K et al (2010) The total antioxidant content of more than 3,100 foods, beverages, spices, herbs and supplements used worldwide. Nutr J 9:3
2. Das Sarma A, Rahaman Mallick A, Ghosh AK (2010) Free radicals and their role in different clinical conditions: an overview. Int J Pharma Sci Res 1:185–192
3. Agewall S, Wright S, Doughty RN et al (2000) Does a glass of red wine improve endothelial function? Eur Heart J 21:74–78
4. Zhang Y, Shen G, Yu Y et al (2009) The hormetic effect of cadmium on the activity of antioxidant enzymes in the earthworm Eisenia fetida. Environ Pollut 157:3064–3068
5. Seyfried T, Shelton LM (2010) Cancer as a metabolic disease. Nutr Metab 7:7
6. Gonzaga-Jauregui C, Lupski JR, Gibbs RA (2012) Human genome sequencing in health and disease. Annu Rev Med 63:35–61
7. Costantini S, Autiero I, Colonna G (2008) On new challenge for the bioinformatics. Bioinformation 3:238–239
8. Castello G, Costantini S, Scala S (2010) Targeting the inflammation in HCV-associated hepatocellular carcinoma: a role in the prevention and treatment. J Trasl Med 8:109

9. Costantini S, Capone F, Guerriero E et al (2012) Cytokinome profile of patients with type 2 diabetes and/or chronic hepatitis C infection. PLoS ONE 7(6):e39486
10. Palladino P, Portella L, Colonna G et al (2012) The N-terminal peptide of CXCL11 as structural template for CXCR3 antagonist: synthesis, conformational analysis and binding studies. Chem Biol Drug Des 80(2):254–265
11. Trotta T, Costantini S, Colonna G (2009) Modelling of the membrane receptor CXCR3 and its complexes with CXCL9, CXCL10 and CXCL11 chemokines: putative target for new drug design. Mol Immunol 47:332–339
12. Capone F, Costantini S, Guerriero E et al (2010) Serum cytokine levels in patients with hepatocellular carcinoma. Eur Cytokine Netw 21:99–104
13. Costantini S, Capone F, Guerriero E et al (2010) Serum cytokine levels as putative prognostic markers in the progression of chronic HCV hepatitis to cirrhosis. Eur Cytokine Netw 21:251–256
14. Costantini S, Castello G, Colonna G (2010) Human Cytokinome: a new challenge for systems biology. Bioinformation 5(4):166–167
15. Huang JF, Dai CY, Hwang SJ et al (2007) Hepatitis C viremia increases the association with type 2 diabetes mellitus in a hepatitis B and C endemic area: an epidemiological link with virological implication. Am J Gastroenterol 102:1237–1243
16. Hung CH, Lee CM, Wang JH et al (2011) Impact of diabetes mellitus on incidence of hepatocellular carcinoma in chronic hepatitis C patients treated with interferon-based antiviral therapy. Int J Cancer 128(10):2344–2352
17. Carvalheira JBC, Siloto RMP, Ignacchitti I et al (2001) Insulin modulates leptin-induced STAT3 activation in rat hypothalamus. FEBS Lett 500:119–124
18. Ho HH, Ivashkiv LB (2006) Role of STAT3 in type I interferon responses. JBC 281:14111–14118
19. Hollenberg SM, Weinberger C, Ong ES et al (1985) Primary structure and expression of a functional human glucocorticoid receptor cDNA. Nature 318:635–641
20. Takahara Y, Takahashi M, Zhang Q-W et al (2008) Serial changes in expression of functionally clustered genes in progression of liver fibrosis in hepatitis C patients. World J Gastroenterol 14:2010–2022
21. Gentile A, Trusolino L, Comoglio PM (2008) The met tyrosine kinase receptor in development and cancer. Cancer Metastasis Rev 27:85–94
22. Kershaw EE, Flier JS (2004) Adipose tissue as an endocrine organ. J Clin Endocrinol Metab 89:2548–2556
23. Raucci R, Rusolo F, Sharma A et al (2012) Functional and structural features of adipokine family. Cytokine
24. Scardoni G, Petterlini M, Laudanna C (2009) Analyzing biological network parameters with CentiScaPe. Bioinformatics 25:2857–2859
25. Yu H, Kim PM, Sprecher E et al (2007) The importance of bottlenecks in protein networks: correlation with gene essentiality and expression dynamics. PLoS Comput Biol 3:e59
26. Brandes U (2001) A faster algorithm for betweenness centrality. J Math Sociol 25:163–177
27. Sharma A, Gautam V, Costantini S et al (2012) Interactomic and pharmacological insights on human Sirt-1. Front Exp Pharmacol Drug Discov 3:40
28. Jayaprakasam BJ, Vanisree M, Zhang Y et al (2006) Impact of alkyl esters of caffeic and ferulic acids on tumor cell proliferation cyclooxygenase enzyme and lipid peroxidation. J Agric Food Chem 54:5375–5381
29. Lin HP, Kuo LK, Chuu CP et al (2012) Combined treatment of curcumin and small molecule inhibitors suppresses proliferation of A549 and H1299 human non-small-cell lung cancer cells. Phytother Res 26:122–126

Natürel Sızma Zeytinyağı: Kompozisyondan Moleküler Gastronomiye

Raffaele Sacchi, Antonello Paduano, Maria Savarese, Paola Vitaglione ve Vincenzo Fogliano

Özet

Bu bölümde natürel sızma zeytinyağı (NSZY) ile ilgili güncel çalışmaların sonuçlarını ve pişirme esnasında diğer gıda içerikleri ile etkileşimlerini kısaca gözden geçirerek "sihirli" NSZY'nin basit moleküler özelliklerini ve Akdeniz gastronomisindeki rolünü vurgulayacağız. Gıdalara pişirme sonrası çiğ olarak (veya salata yağı olarak) NSZY eklenmesi, orijinal tadın korunmasının ve doğal antioksidanlar ile insan sağlığına faydalı bileşiklerin (hipotensif, antienflamatuar, antikanserojenik ve diğerleri) alımının maksimize edilmesinin en iyi yoludur. NSZY'nin koruyucu etkileri pişirme sırasında ve sonrasında da devam etmektedir. Bifenolik bileşiklerle diğer gıda içerikleri arasında (su, süt proteinleri, domatesteki karotenoidler, yağla konserve yapılmış balık, et ve balık proteinlerindeki omega-3 poliansatüre doymamış yağ asitleri) farklı kimyasal reaksiyonlar oluşmaktadır. NSZY pişirme esnasında bile güçlü antioksidan özellikler göstermekte ve pişirilen gıdaların genel tadını etkilemektedir. NSZY'nin pişirilmesi esnasında oluşan fiziksel (partisyon oluşumu, emülsiyon) ve kimyasal (hidroliz, kovalen bağlanma, antioksidan özellikler) fenomen, bazı geleneksel Akdeniz yemeklerinin duyusal (acılık ve meyvemsi tat) ve nütrisyonel kalitesi üzerinde oluşturduğu değişimlere odaklanarak incelenecektir. Özellikle pişirme esnasındaki domates-yağ etkileşimleri, NSZY'de balık konservesi, pişirme öncesi NSZY ile marine etme, fırında veya tavada NSZY ile kızartma yöntemleri incelenecektir. Zeytinyağı antioksidanlarının ve tatlarının süt proteinleri ile olan etkileşimlerinden de kısaca bahsedilmiştir.

R. Sacchi · A. Paduano · M. Savarese · P. Vitaglione · V. Fogliano
Department of Agriculture, University of Naples Federico II, I-80055, Portici, NA, Italy

R. Sacchi (✉)
Dipartimento di Agraria, via Universita' 100, 80055, Portici, NA, Italy
e-mail: raffaele.sacchi@unina.it

V. Zappia et al. (eds.), *Advances in Nutrition and Cancer,*
Cancer Treatment and Research 159, DOI: 10.1007/978-3-642-38007-5_19,
© Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2014

Anahtar Kelimeler

Natürel sızma zeytinyağı • Moleküler gastronomi • Akdeniz diyeti

Kısaltmalar

EFSA	Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi
NSZY	Natürel sızma zeytin yağı
HA	Heterosiklik Amin
HPLC	Yüksek performanslı likid kromatografi
HPTA	Hidroksi pentasiklik triterpen asitleri
LC–MS	Likid kromatografi-Kütle spektrometresi
NMR	Nükleer manyetik rezonans

İçindekiler

1. Zeytinyağının Kompozisyonu ve Sağlıklı Etkileri 326
2. Akdeniz Moleküler Gastronomisinde NSZY 328
   2.1 Balık Konservelerinde NSZY 330
   2.2 Domates ve NSZY Etkileşimi 331
   2.3 Etlerin Fırında Kızartma Öncesinde NSZY ile Marine Edilmesi 332
   2.4 NSZY ile Kızartma 333
   2.5 NSZY ve Süt Proteinleri 335
3 Sonuçlar 336
Referanslar 336

1 Zeytinyağının Kompozisyonu ve Sağlıklı Etkileri

Son birkaç yıl içinde natürel sızma zeytinyağının (NSZY) kimyasal kompozisyonunun insan sağlığı üzerindeki in vitro ve in vivo olumlu etkileri ile ilişkili bazı çalışmalar yayınlanmıştır [16, 31]. Zeytinyağının sağlıklı özellikleri yüksek oleik asit ve triasilgliserol içeriğine ve zeytinyağının sabunlaşmayan fraksiyonu içinde bulunan birçok minör bileşiğin (skualen, tokoferoller, fenil alkol gibi fenolik asit bileşikleri, sekoridoidler ve lignanlar) varlığına bağlanmaktadır. Bu özelliklerin insan sağlığını koruyu etkileri vardır [16]. Zeytinyağı başlıca antimikrobik, antioksidan, ve antienflamatuar özelliklere sahiptir (inceleme için [9] nolu referansa bakınız). Zeytinyağının antienflamatuar faydaları ile ilişkili olan fenolik bileşik oleokantala özel olarak odaklanılmıştır (inceleme için [18] nolu referansa bakınız). Bu bileşiğin ibuprofene benzer aktivitesi olduğu gösterilmiştir.

Her iki bileşik de (oleokantal ve ibuprofen) prostoglandin biyosentez yolağındaki siklooksijenaz enzimlerini inhibe eder [5]. Ancak NSZY'nin içinde mevcut oleokantal miktarının, zeytinyağının antienflamatuar etkisinden sorumlu tek bileşik olduğu henüz bilimsel olarak gösterilememiştir [14]. Aslında, gıda bilimi ve sağlık araştırmalarında giderek artan şekilde elde edilen kanıtlar, tekil bileşiklerden ziyade, gıdalarda bulunan kompleks polifenol karışımlarının sinerjistik etki ile sağlığa faydalı olduklarını düşündürmektedir. Bu konsept zeytinyağında bulunan pinoresinol ve kolon kanseri arasındaki ilişki için gösterilmiştir [12]. Araştırmacılar pinoresinol yönünden zengin zeytinyağı ekstrelerinin kolon kanserinde güçlü kemopreventif etkileri olduğunu bildirmiştir. Ancak aynı sonuca saflaştırılmış pinoresinole göre çok daha düşük pinoresinol konsantrasyonları içeren zeytinyağı ile de ulaşılabilmiştir [12].

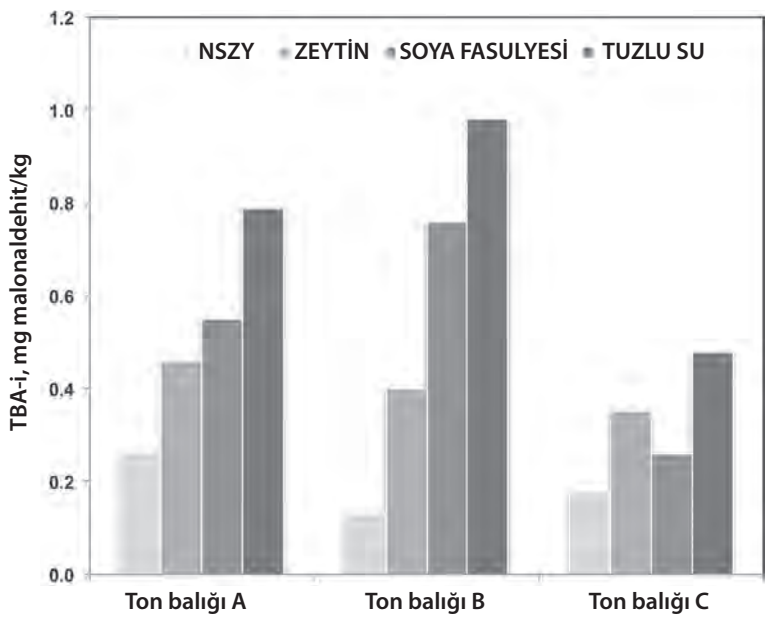
Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi (EFSA) tarafından yakın zamanda gerçekleştirilen Diyetetik Ürünler, Nütrisyon ve Alerji Panelinde ortaya konulan bilimsel görüş şu şekildedir: *Zeytinde bulunan polifenollerin LDL partiküllerini oksidatif hasardan koruduğu, kandaki normal HDL konsantrasyonlarını ve normal kan basıncını koruduğu, antienflamatuar etki yaptığı, üst respiratuar sistem sağlığına katkı yaptığı, normal gastrointestinal kanal sağlığını koruduğu ve dış ajanlara karşı vücut savunmasına katkı yaptığı ile ilgili sağlık iddiaları incelenmiştir. Bu sağlık iddialarının konusu olan gıda bileşeni zeytindeki polifenollerdir (zeytin meyvesi, zeytinyağı değirmeni ürünü veya zeytinyağı, Olea europaea L. ekstresi ve yaprağı). Panel sunulan verilere dayanarak zeytinyağındaki polifenoller ile (hidroksitirozol ve türevlerinin içeriğine göre standardize edilmiştir) LDL partiküllerinin oksidatif stresten korunması arasında bir neden sonuç ilişkisi olduğuna karar vermiştir. Panel bu iddiadaki etkinin ortaya çıkabilmesi için zeytinyağında bulunan hidroksitirozol ve türevlerinin (örn. oleuropein kompleksi ve tirozol) hergün 5 mg tüketilmesi gerektiğini bildirmiştir [11].*

NSZY'deki fenolik bileşikler antioksidan kapasiteleri ile oksidatif proseslere karşı kimyasal stabilite (yüksek oksidatif stabilite) sağladıkları gibi acı ve buruk tadın oluşmasına da katkı yaparlar. Meyvemsi bir aroması olan doğal uçucu fenol bileşikleri NSZY'nin hem "fonksiyonel gıda" özelliğine hem de lezzetine katkı yaparlar. Ancak NSZY çeşitleri kullanılan zeytinin türüne, yetiştiği çevreye, büyüme ve olgunluk düzeyine, ekstraksiyon ve depolama teknolojisine bağlı olarak büyük farklılıklar gösterirler [31]. Piyasada mevcut NSZY'ler arasında kimyasal ve duyusal kaliteleri, nütrisyonel özellikleri ve fiyatları yönünden büyük farklar mevcuttur. Gıda kimyacıları ve uzman panelleri daha acı tada sahip olan NSZY'lerin daha yüksek kaliteye sahip olduğu ve sağlıklı özelliklere sahip NSZY seçiminde tadın önemli bir yol gösterici olabileceği yönünde hemfikirdir [36].

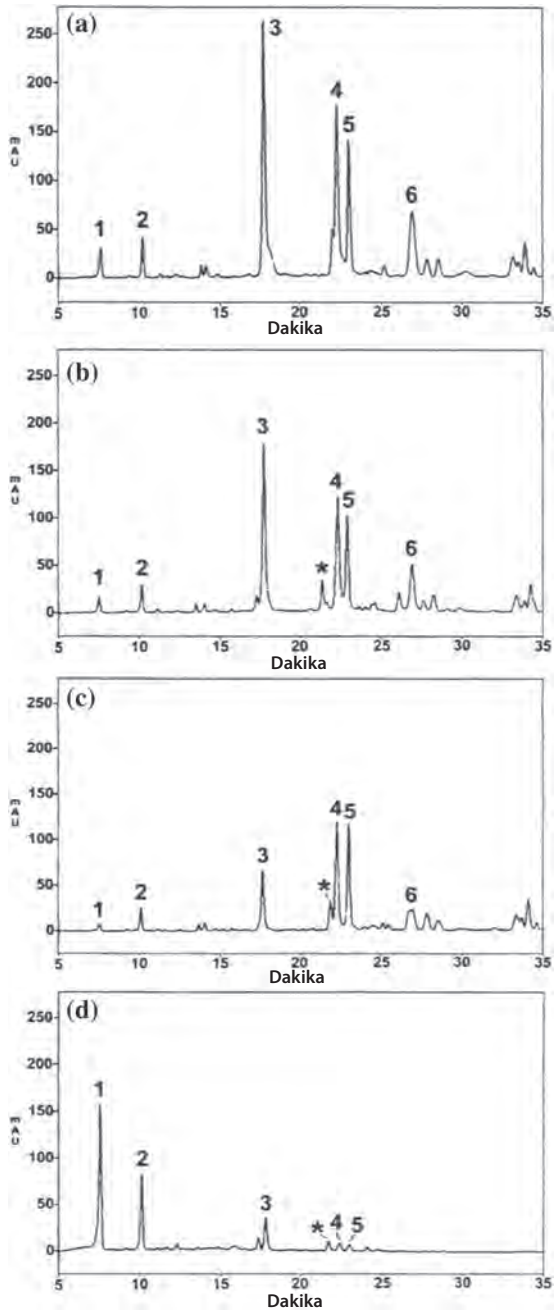
NSZY'nin pişmesi esnasında fenolik ve uçucu bileşiklerde meydana gelen değişimlerle birlikte Akdeniz yemeklerinde kullanılan diğer birçok bileşen ile de etkileşimler meydana gelir. Zeytinyağının kalitesi hakkındaki agronomik ve teknolojik parametrelerle ilgili birçok çalışma olmasına rağmen çok az sayıda çalışmada gastronomik özellikleri araştırılmıştır. Bu bölümde konuyla ile ilgili güncel çalışmaların sonuçlarını kısaca gözden geçirecek ve "sihirli" NSZY'nin Akdeniz gastronomisindeki rolünü açıklamak amacıyla ana moleküler özelliklerini vurgulayacağız.

2 Akdeniz Moleküler Gastronomisinde NSZY

Gıdalara pişirme sonrası çiğ olarak (veya salata yağı olarak) NSZY eklenmesi, orijinal tadın korunmasının ve doğal antioksidanlar ile insan sağlığına faydalı bileşiklerin (hipotensif, antienflamatuar, antikanserojenik ve diğerleri) alımının maksimize edilmesinin en iyi yoludur. Ancak NSZY'nin koruyucu etkileri pişirildiğinde de devam etmektedir. Bifenolik bileşiklerle diğer gıda içerikleri arasında (su, süt proteinleri, domatesteki karotenoidler, yağla konserve yapılmış balık, et ve balık proteinlerindeki omega-3 poliansatüre doymamış yağ asitleri) oluşan farklı kimyasal reaksiyonlar birçok çalışmada incelenmiştir. NSZY pişirme esnasında bile güçlü antioksidan özellikler göstermekte ve pişirilen gıdaların genel tadını etkilemektedir. NSZY'nin pişirilmesi esnasında oluşan fiziksel (partisyon oluşumu, emülsiyon) ve kimyasal (hidroliz, kovalen bağlanma, antioksidan özellikler) fenomen, bazı geleneksel Akdeniz yemeklerinin duyusal (acılık ve meyvemsi tat) ve nütrisyonel kalitesi üzerinde değişimlere yol açar. NSZY'deki fenolik bileşiklerle farklı biçimde pişirilen gıda sistemlerindeki diğer bileşikler arasında moleküler etkileşimler oluşarak, bazı pişmiş gıdaların sağlıklı ve koruyucu etkilerinin artmasına yol açar. Bu etki ilerleyen paragraflarda detaylı olarak tartışılacaktır.



Şekil 1 Farklı maddeler ile sterilize edilen üç farklı ton balığı konservesinin oksidasyon düzeyleri (TBA-i, mg malonaldehit/kg).



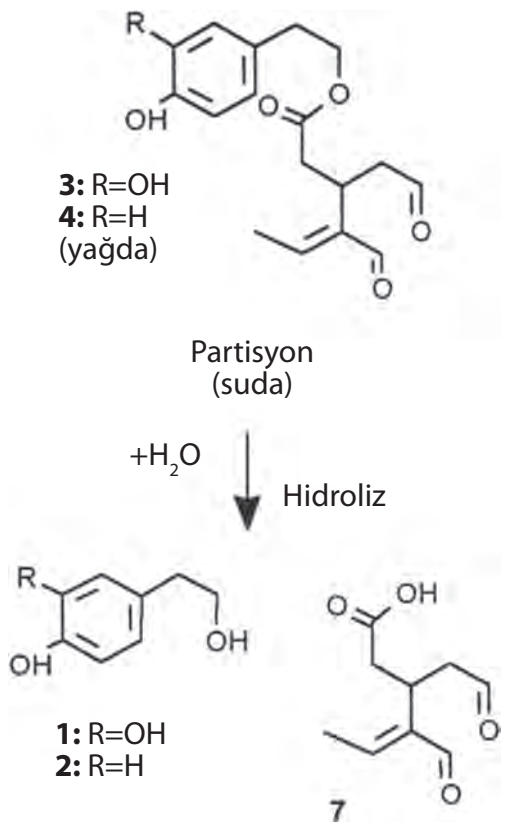
Şekil 2 Fenolik antioksidan sterilizasyon bileşiklerinin davranışları: (**a**) Başlangıçtaki NSZY; (**b**) sterilize NSZY; (**c**) sterilizasyon sonrası yağlı faz; (**d**) sterilizasyon sonrası su fazı. Tepe değerleri: hidroksitirozol (*1*), tirozol (*2*), dekarboksimetil oleuropeinin (*3*) ve ligstrosidin dialdehidik formu (*4*), aglikonlar, pinoresinol (*5*), oleuproeinin aldehidik formu (*6*), *bilinmeyen bileşik.

2.1 Balık Konservelerinde NSZY

Doldurma yağı olarak kullanılan NSZY ile konserve ton balığı eti arasındaki etkileşimler yaptığımız çeşitli deneylerde incelenmiştir. Deneylerin amacı balık etinde konserveleme öncesi bulunan doğal n-3 PUFA'ların korunmasıdır.

NSZY ile konservelenen tuna etinin NMR spektroskopisi ile ölçülen n-3 PUFA düzeyleri, soya fasulyesi, rafine zeytinyağı ve tuzlu su ile konservelenen ve sterilize edilen tuna etindeki düzeylere göre anlamlı olarak daha yüksektir [21, 22]. Konserve tuna etinden ekstrakte edilen lipidlerdeki oksidasyon oranları da NSZY ile daha düşük bulunmuştur (Şekil 1).

NSZY'nin konservelere uygulanan işlem sırasındaki ve sonrasındaki koruyucu etkisi içindeki doğal antioksidanlara bağlanmaktadır. Bu etki diğer doldurma yağları ve tuzlu suda mevcut değildir [13, 23]. Konservelerin sterilizasyon işlemlerinin öncesinde ve sonrasındaki fenol düzeylerine bakıldığında, sekoiridoid aglikonların hidrolizi ile kombine olan yağ fazından su fazına (et) doğru net bir partisyon oluşumu gözlenmiştir (Şekil 2 ve Şema 1) [7, 32].



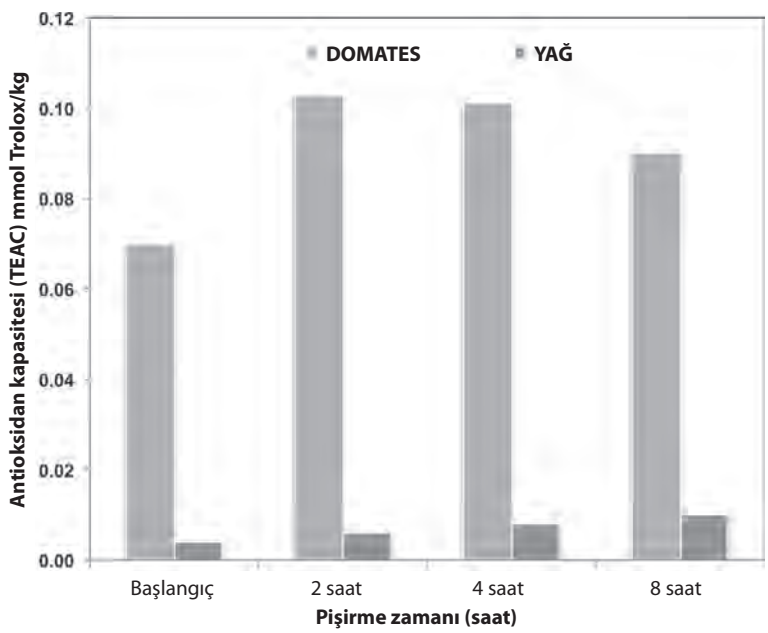
Şema 1 NSZY ile tuzlu su karışımı ile sterilizasyon sırasında, hidroksitirozol (*1*) tirozol (*2*) ve dekarboksimetil elenolik asidin dialdehidik formunun (*7*) tuzlu sudaki dekarboksimetil oleuropeinin dialdehidik formundan (*3*) ve ligstrosid (*4*) aglikonlarından formasyonu.

Bu iki fenomenin (partisyon oluşumu ve hidroliz) kombinasyonu etin yüzeyinde hidrofilik fenolik antioksidanların (hidroksitirozol ve tirozol) birikmesine yol açarak n-3 PUFA'yı termal oksidasyondan korumaktadır.

2.2 Domates ve NSZY Etkileşimi

Taze domates ve domates ürünleri sağlıklı olmaları ve özellikle prostat kanserine karşı antitümör özellikleri ile bilinirler [28]. Karotenoid (likopen) alımı hem in vitro hem de in vivo ortamda antikarsinojenik aktivite ve antiaterojenik etkiler ile ilişkilidir [27]. Çeşitli epidemiyolojik çalışmalarda likopen içeren domates ve domates ürünlerinin yüksek oranda tüketiminin kardiyovasküler hastalıklara karşı koruyucu olabileceği ve başta prostat, meme ve sindirim kanalı olmak üzere çeşitli kanserlerin riskini azaltabileceği gösterilmiştir. Likopenin serum düzeyleri kronik hastalık riski ile ters orantılı ilişkiye sahiptir [27]. Tüm dünyadaki insan diyetlerinde hem taze hem de işlenmiş domates tüketimi mevcuttur. Ancak Akdeniz gastronomisinde makarna ve pizza kombinasyon halinde büyük oranlarda domates ve zeytinyağı içerir.

Son yıllarda, domates soslarının küçük miktarda NSZY ile kombinasyon halinde pişirilmesini simüle eden farklı model sistemlerinin davranışlarını inceledik. Özellikle geleneksel bir domates sosunun (örn. Napolitan Ragù) pişirilmesi uzun süreler gerek-



Şekil 3 Domatesin antioksidan kapasitesi (TEAC, mmol Trolox ekivalan/kg) ile domates ve NSZY sosuna ısı testi uygulanması sırasındaki yağ fazları.

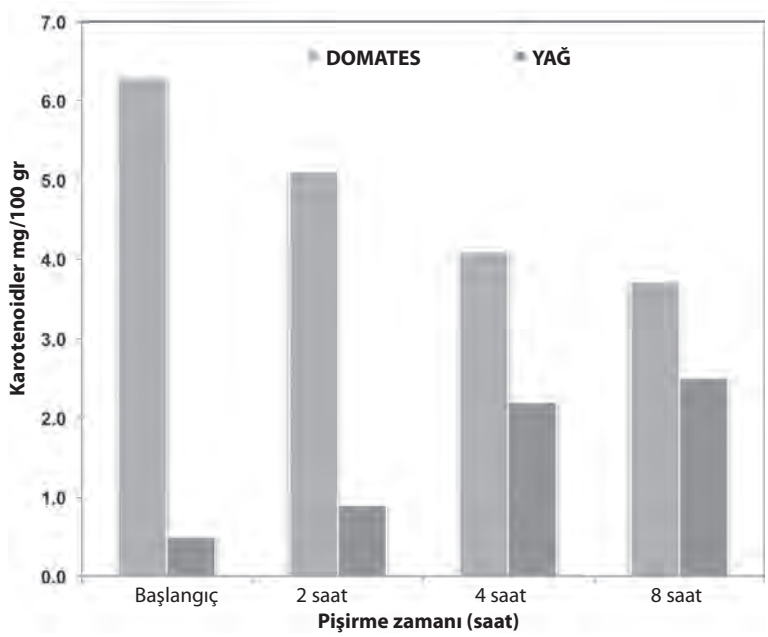
tirmekte (6-10 saat) ve orta ısıda (70-80 °C) geleneksel toprak kaplarda pişirilmektedir. Bu şartlarda ısıtılan domates-yağ sistemine neler olur? Pişirmenin sonunda antioksidan içeriğinde bir azalma beklenebilir. Bu azalma ısı testi yapılan domates sosunda gösterilmiştir [29]. Buna karşın, kendi çalışmamızda NSZY ilavesi ile pişirilen domatesteki antioksidanların (domates karoteonidlerinin sızma zeytinyağında bulunan sekoiridoidler tarafından korunması ile) anlamlı düzeyde arttığını tespit ettik (Şekil 3).

Karotenoidlerin ve naringenin gibi flavonoidlerin, yağ fazı yönünde partisyonlara ayrılması (Şekil 4) pişirme sırasında gözlenmiştir. Bu bulgu hazırlanan yemeklerdeki biyolojik olarak kullanılabilir karotenoid miktarı ile de ilişkilidir.

Bu gözlemler ve veriler Ragù gibi geleneksel fonksiyonel gıdaların kanserden koruyucu özelliklerinin ilgi çekmesine neden olmaktadır. Bu geleneksel yemekler hem antioksidan hem de koruyucu olan moleküllerin alımını sağladıkları için çok sağlıklı gıdalardır.

2.3 Etlerin Fırında Kızartma Öncesinde NSZY ile Marine Edilmesi

Akdeniz tarzı pişirme yöntemlerindeki bir başka geleneksel yöntem de et ve balığın yağ, şarap ve bitkiler (kekik, biberiye) kullanılarak fırında kızartma öncesi marine edilmesi ve pişirme esnasında et veya balığın yüzeyini nemlendirmek amacıyla limon-yağ veya



Şekil 4 Isı testi uygulanan domates-yağ karışımının karotenoid içeriği (mg/100 gr).

yağ-kırmızı şarap emülsiyonu kullanılmasıdır. Ev ve restoranlarda kısmen kaybolan bu geleneksel yöntemin, ısıl işlem sırasındaki protein degradasyonuna karşı koruyucu etkisi olduğu gösterilmiştir [25, 30, 35].

Pişirme simülasyon sistemlerine fenol bileşikleri veya NSZY eklenmesinin heterosiklik amin (HA) formasyonunu anlamlı olarak inhibe ettiği gösterilmiştir. Et veya balık pişirilirken düşük miktarlarda oluşan mutajenik HA'lardan bazılarının muhtemel insan karsinojeni olduğu düşünülmektedir. HA formasyonu sentetik veya doğal olarak oluşan antioksidanların varlığından etkilenebilir. Monti ve ark. [25] NSZY'deki fenolik bileşiklerin bir sistem modelindeki HA formasyonu üzerindeki etkisini LC-MS ile belirlemiş ve ölçmüştür. Kreatinin, glukoz ve glisinden oluşan aköz bir solüsyon, sadece fenolik bileşiklerin kompozisyonunda farklılık olan iki NSZY örneği ile birlikte ısıtılmıştır. Sistem modeline NSZY eklenmesi ile 2-amino-3-metilimidazo[4,5-f]kuinoksalin, 2-amino-3,8-dimetilimidazo [4,5f] kuinoksalin ve 2-amino-3,7,8-trimetilimidazo [4,5-f] kuinoksalin formasyonunu kontrollere kıyasla %30-50 arasında inhibe etmiştir. Çok miktarda dihidroksifeniletanol içeren taze zeytinyağı, HA formasyonunu bir yıllık zeytinyağından daha fazla azaltmıştır. Natürel zeytinyağından elde edilen fenolik bileşiklerle HA formasyonunun inhibisyonu, NSZY'nin balık ve etlerin pişirilmesi veya fırında kızartılması sırasında oluşan potansiyel karsinojenik molekülerin formasyonunun engellenmesinde ilginç bir rolü olabileceğini göstermektedir.

NSZY'deki fenolik bileşiklerin bisküvi gibi düşük nemli sistemlerdeki akrilamid formasyonunu bile azaltabilmesi de ilginçtir [4].

2.4 NSZY ile Kızartma

NSZY kullanarak yapılan kızartma potansiyel olarak toksik bileşiklerin üretimini (akrilamid ve hidroksi-alkenaller gibi) ve kızartmanın gevrek dış kısmında bulunan sağlıklı bifenolik antioksidanların alımlarını da minimize edebilir. NSZY'de bulunan fenolik bileşikler çok stabildirler ve kızartmadan birkaç saat sonra bile tespit edilebilirler [1, 10]. Bu bileşikler gıda matriksi ile etkileşime girerek tehlikeli bileşiklerin formasyonunu inhibe ederler.

NSZY fenol bileşikleri ile patates kızartmasındaki akrilamid formasyonu arasındaki ilişki ilk olarak Napolitano ve ark. tarafından incelenmiştir [26]. 20 NSZY örneğindeki fenolik kompozisyon LC-MS yöntemi ile tespit edilmiştir. Kızartma deneyleri için farklı fenol bileşik paternleri ile karakterize olan dört yağ seçilmiştir. Patates dilimleri 180 °C'de 5, 10, 15 dakika boyunca NSZY içinde kızartılarak akrilamid içerikleri LC-MS ile belirlendi. NSZY'nin fenolik bileşikleri kızartma sırasında degrade olmamıştır. Dört farklı NSZY ile kızartılan patateslerin renklerinde de anlamlı bir fark oluşmamıştır. Kızartma esnasında patateslerdeki akrilamid konsantrasyonları arttı. Ancak en yüksek artış en düşük fenolik bileşik içeren yağda gerçekleşmiştir. En yüksek orto-difenolik bileşik konsantrasyonu içeren NSZY hafif-orta ateşte yapılan kızartma sırasındaki akrilamid formasyonunu etkili bir biçimde inhibe edebilmiştir. Orto-difenolik yönünden zengin NSZY'lerin kullanımının evlerde yapılan derin

kızartmalarda akrilamid formasyonunu azaltabilen güvenilir bir strateji olduğu öne sürülmüştür.

Kızartma sırasında PUFA'ların dekompozisyonu ile oluşan hidroksi alkenaller diğer potansiyel toksik ve karsinojenik bileşiklerdir [15]. Termal olarak okside yağlardaki hidroksiperoksidaz dekompozisyonunun kantitatif analizinde yüksek çözünürlüklü proton nükleer manyetik rezonans (1H-NMR) spektroskopisi (400-600 MHz) kullandık [33]. Farklı yağlar (NSZY, ayçiçek ve soya yağı) termostatik fritözde ısıtıldı (180 °C'de 360 dakika). Proton NMR 15 yağ örneğindeki (0, 60, 120, 240 ve 360 dakika ısıtma süresi) kantitatif aldehit analizi (n-alkanaller, trans-2-alkenaller, 4-hidroksitrans-2-alkenaller, alka-2,4-dienaller) silika kolon kromatografisi ile ölçülen total polar bileşiklerle ve gaz kromatografisi ile ölçülen kısa zincirli yağ asitleri ile karşılaştırılmıştır. Üç yağda 6 saatlik ısıtma boyunca farklı aldehitlerin formasyonu takip edilmiştir. Alka-2,4-dienallller ve trans-2-alkenaller tüm ısıtılan yağlarda NMR ile saptanan majör ürünlerdir. Trans-2-alkenal üretimi NSZY ve tohum yağlarında hemen hemen aynı seviyede bulunurken, pişirmenin sonunda oluşan n-alkaneller en büyük oranda NSZY'de tespit edilmiştir.

NSZY kullanılarak yapılan 6 saatlik ısıtmanın sonunda özellikle 4-hidroksi-2-alkenal (eşik değer 0.1 mM/L) tespit edilmedi. Bu bileşiklerin formasyonu poliansatüre yağ asitlerinin oksidasyonundan kaynaklanan konjuge hidroperoksidienlerin dekompozisyonu ile ilişkilidir [15]. Zeytinyağında bulunan düşük linoleik (%5-10) ve linolenik (%1'den az) asit miktarları bu bulguları açıklamaktadır. Aynı nedenle poliansatüre tohum yağları ile oluşan alka-2,4-dianeller de düşük miktarlarda (6 saatlik ısıtmadan sonra 1.1 mM/L) ölçülmüştür.

NSZY ile kızartılan gıdalarla ilgili diğer çalışmalar fenol bileşiklerinin alımına odaklanmıştır. Sürekli kızartma yağı olarak NSZY kullanılan patates kızartmalarının, (LC-MS ile ekstrakte edilerek ölçülebilen) anlamlı miktarda fenol bileşiği abzorbe ettikleri bulunmuştur [34]. Kalogeropoulos ve ark. [19] Yunanistan'da bulunan en popüler balık türlerini natürel sızma zeytinyağı içinde kızartarak incelemiştir. Taze balık, kızartma yağı ve kızarmış balıktaki polifenol, hidroksi pentasiklik triterpen asitler (HPTA) ve α-tokoferol analizleri yapılmıştır. Kızartma yağı örneklerinde 6 tanesi kızarmış balıkta da bulunan 9 polifenol tespit etmişlerdir. Terpenik asitler olan oleanolik, maslinik ve ursolik asitler kızartma yağı ve kızarmış balıkta da tespit edilmiştir. Tavada kızartma ile oluşan su kaybı ve yağ absorpsiyonunun yanında, kızartma yağında araştırılan tüm antioksidanlarda kısmı azalma meydana gelirken, kızarmış balıktaki antioksidan miktarları artmıştır. Araştırılan antioksidanların polariteleri kızartma yağı ile su içeren balık arasındaki partisyonda bir miktar etkilenmiştir.

Aynı yazarlar [20] Akdeniz'in geleneksel gastronomik kültürüne göre sığ NSZY'de kızartılan patates, yeşil biber, kabak ve patlıcanı araştırmıştır. Kabak ve patlıcanlar kızartılmadan önce buğday unu veya sulu hamur ile kaplanmıştır. Tespit edilen 12 polifenol arasında bulunan tirozol kızartma yağlarında ve kabak örneklerinde en sık rastlanan polifenoldür. Klorojenik asit ise diğer sebze örneklerinde en çok bulunan fenolik türüdür. Su kaybı ve yağ absorpsiyonuna ek olarak, sığ yağda kızartma ile kızartma yağındaki

tüm antioksidanların miktarlarında kısmi azalma ile kızartılan sebzelerdeki zeytinyağı kaynaklı antioksidan miktarlarında da artış tespit edilmiştir. Bu sonuçlar kısmen kızartılan sebzenin türünden ve uygulanan kızartma şeklinden etkilenmiştir. Yağdaki antioksidanların genel korunma oranları α-tokoferol için %32-64, polifenoller için %25-70 ve HPTA için %35-83 bulunmuştur. NSZY'de kızartılan sebzelerin α-tokoferol, terpenik asitler ile tirozol ve klorojenik asit gibi polifenollerin alımını artırdıkları düşünülmektedir.

Natürel zeytinyağının ve ticari sebze yağının performansı da (180 °C'de toplam 60 dakika süreli ardışık 10 tava patates kızartması ile 170 C'de toplam120 dakika süreli ardışık 10 derin patates kızartması) Andrikopoulos ve ark. tarafından araştırılmıştır [2]. Test edilen her iki yağ türünde de tavada kızartma derin kızartmaya göre daha kötü etki yapmıştır. Aynı etki natürel sızma zeytinyağında görülebilir spektrumlar ve total fenoller için de geçerliydi. Tavada kızartma performansı her iki yağ için de benzerken, natürel zeytinyağı derin kızartmada daha iyi performans göstermiştir. Tüm veri setinde oktatonik asit formasyonu ile total polar artefaktlar arasında çok güçlü bir ilişki gözlenmiştir.

Andrikopoulos ve ark. [3] yerel pratiklere uygun olarak natürel zeytinyağı, ayçiçek yağı ve sebze yağı kullanarak derin yağda veya tavada kızarttıkları patatesleri de ardışık sekiz seans boyunca test ettiler. Patateslerin yağ absorpsiyon oranları yağ tipine ve kızartma şekline bağlı olarak %6.1 ila %12.8 arasında bulunmuştur. Total fenoliklerin korunma oranları %70-80 (birinci kızartma) ile %20-30 (sekizinci kızartma) arasında değişmekteydi. Tannik asit, oleuropein ve hidroksitirosolelenolik asidin dialdehidik formu her iki kızartma şekline karşı anlamlı rezistans gösterirken, hidroksitirozol ve hidroksitirozol-elenolik asit daha hızlı elimine olmuştur. Diğer fenolik türlerin azalmaları, (evlerde gayet yaygın uygulandığı üzere üç ila dört saatlik kızartma seansları sonrasında) derin kızartma ile %40-50, tavada kızartma ile %20-30 düzeyinde bulunmuştur.

Kızartma yağındaki sağlığa yararlı mikro-bileşenlerin patates kızartmasına geçme oranları, bu termal prosesteki E vitamini davranışını inceleyen Chiou ve ark. tarafından da araştırılmıştır [8].

2.5 NSZY ve Süt Proteinleri

Zeytinyağı bileşikleri ile süt proteinleri arasındaki etkileşimler de gıda matriksinin algılanmasını ve nütrisyonel kalitesini değiştirebilir. Meynier ve ark. [24] NSZY'de yüksek miktarlarda bulunan heksanal ve t-2-heksanal uçucu bileşiklerinin peynir altı suyu proteinleri ve sodyum kazeinat ile kovalen bağlanarak okside lipidlerin varlığında amino asit kompozisyonunda değişimlere yol açabileceğini göstermişlerdir. Benzer bir davranış NSZY fenolik bileşikleri ile süt proteini arasında da, algılanan acılık ve buruklukta azalma ile birlikte gözlenebilir. Bir başka önemli konu da uçucu olan ve uçucu olmayan (biofenoller) bileşiklerin sudaki yağ emülsiyonları ile ilişkili olarak algılanma düzeyleridir. Emülsiyonlardaki hidrofobik tat komponentleri suda yağa göre daha düşük kon-

santrasyonlarda algılanabilir ve lipid oksidasyon ürünlerinin çoğu yağ fazında yüksek çözünürlüğe sahiptir [6].

NSZY ve süt proteinlerinin mevcut olduğu gıda sistemlerindeki etkileşimler NSZY'nin duyusal özelliklerinin ciddi biçimde modifiye olmasına yol açarak acılık ve burukluk tadının kaybına yol açar.

3 Sonuçlar

Burada kısaca tartışılan bilimsel kanıtlar NSZY'nin aktif fonksiyonel bir rolü olduğunu göstermiştir. Akdeniz diyetindeki bu rol sadece çiğ tüketildiğinde bir antioksidan kaynağı olmasından değil pişirme esnasında diğer gıda komponentlerini korumasından da kaynaklanmaktadır.

Diğer komponentlerle de (karotenoidler, omega-3 PUFA ve proteinler) çeşitli modifikasyonlar ve pozitif etkileşimler oluşabilir. NSZY ile pişirilen gıdaların nütrisyonel kalitesi ve antikarsinojenik etkileri artabilir. Bu etkinin varlığı pişmiş domates ve NSZY karışımı için net olarak gösterilmiştir [17].

Referanslar

1. Ambrosino ML, Della Medaglia D, Paduano A et al (2002) Behaviour of phenolic antioxidants of virgin oil during oil heating and frying. In: Amadò R et al (eds) Bioactive compounds in plant foods: healt effects and perspectives for the food industry. European scientific conference of COST action 916. EC Office for Official Publications, Luxembourg, pp 119–120, ISBN 92-828-1816-0
2. Andrikopoulos NK, Kalogeropoulos N, Falirea A et al (2002) Performance of virgin olive oil and vegetable shortening during domestic deep-frying and pan-frying of potatoes. Int J Food Sci Technol 37:177–190
3. Andrikopoulos NK, Dedoussis GVZ, Falirea A et al (2002) Deterioration of natural antioxidant species of vegetable edible oils during the domestic deep-frying and pan-frying of potatoes. Int J Food Sci Nutr 53:351–363
4. Arribas-Lorenzo G, Fogliano V, Morales FJ (2009) Acrylamide Formation in a cookie system as influenced by the oil phenol profile and degree of oxidation. Eur Food Res Technol 228:311–319
5. Beauchamp GK, Keast RS, Morel D et al (2005) Ibuprofen-like activity in extra-virgin olive oil. Nature 437:45–46
6. Beltran G, Paz Aguilera M, Gordon MH (2005) Solid phase microextraction of volatile oxidation compounds in oil-in-water emulsions. Food Chem 92:401–406
7. Brenes M, Garcia A, Dobarganes MC et al (2002) Influence of thermal treatments simulating cooking processes on the polyphenol content in virgin olive oil. J Agric Food Chem 50:5962–5967
8. Chiou A, Kalogeropoulos N, Boskou G et al (2012) Migration of health promoting microconstituents from frying vegetable oils to French fries. Food Chem 133:1255–1263
9. Cicerale S, Lucas LJ, Keast RS (2012) Antimicrobial, antioxidant and anti-inflammatory phenolic activities in extra virgin olive oil. Curr Opin Biotechnol 23:129–135
10. Della Medaglia D, Ambrosino ML, Spagna Musso S et al (1996) Modification of phenols during the storage and heating of extra-virgin olive oil. Oil Process and Biochemistry of lipids. In: 1st European meeting of the American oil chemists society, University of Burgundy, Dijon (France) 19–20 Sept, p B24

11. EFSA (2011) Scientific Opinion on the substantiation of health claims related to polyphenols in olive and protection of LDL particles from oxidative damage (ID 1333, 1638, 1639, 1696, 2865), "maintenance of normal blood HDL-cholesterol concentrations" (ID 1639), "maintenance of normal blood pressure" (ID 3781), "anti-inflammatory properties" (ID 1882), "contributes to the upper respiratory tract health" (ID 3468), "can help to maintain a normal function of gastrointestinal tract" (3779), and "contributes to body defences against external agents" (ID 3467) pursuant to Article 13(1) of Regulation (EC) No 1924/2006. EFSA J 9(4):2033
12. Fini L, Hotchkiss E, Fogliano V et al (2008) Chemopreventive properties of pinoresinol-rich olive oil involve a selective activation of the ATM-p53 cascade in colon cancer cell lines. Carcinogenesis 29:139–146
13. Fogliano V, Ritieni A, Monti S et al (1999) Antioxidant activity of virgin olive oil phenolic compounds in a micellar system. J Sci Food Agric 79:1803–1808
14. Fogliano V, Sacchi R (2006) Oleocanthal in olive oil: between myth and reality. Mol Nutr Food Res 50:5–6
15. Frankel EN (1998) Lipid Oxidation. The Oily Press Ed, Dundee
16. Frankel EN (2011) Nutritional and biological properties of extra virgin olive oil. J Agric Food Chem 59(3):785–792
17. Lee A, Thurnham I, Chopra M (2000) Consumption of tomato products with olive oil but not sunflower oil increases the antioxidant activity of plasma. Free Radical Biol Med 29:1051–1055
18. Lucas L, Russell A, Keast R (2011) Molecular mechanisms of inflammation. Anti-inflammatory benefits of virgin olive oil and the phenolic compound oleocanthal. J Agric Food Chem 59:785–792
19. Kalogeropoulos N, Chiou A, Mylona A et al (2007) Recovery and distribution of natural antioxidants (α-tocopherol, polyphenols and terpenic acids) after pan-frying of Mediterranean finfish in virgin olive oil. Food Chem 100:509–517
20. Kalogeropoulos N, Mylona A, Chiou A et al (2007) Retention and distribution of natural antioxidants (α-tocopherol, polyphenols and terpenic acids) after shallow frying of vegetables in virgin olive oil. LWT 40:1008–1017
21. Medina I, Sacchi R, Aubourg S (1995) A ^{13}C-NMR study of lipid alteration during fish canning: effect of filling medium. J Sci Food Agric 69:445–450
22. Medina I, Sacchi R, Giudicianni I et al (1998) Oxidation of fish lipids during thermal stress as studied by ^{13}C nuclear magnetic resonance spectroscopy. J Am Oil Chem Soc 75:147–154
23. Medina I, Sacchi R, Biondi L et al (1998) Effect of packing media on the oxidation of canned tuna lipids. Antioxidant effectiveness of extra virgin olive oil. J Agric Food Chem 46:1150–1157
24. Meynier A, Rampon V, Delgadarrondo M et al (2004) Hexanal and t-2-hexenal form covalent bonds with whey proteins and sodium caseinate in aqueous solution. Int Dairy J 14:681–690
25. Monti S, Ritieni A, Sacchi R et al (2001) Characterisation of phenolic compounds in virgin olive oil and their effect on the formation of carcinogenic/mutagenic heterocyclic amines in a model system. J Agric Food Chem 49:3969–3975
26. Napolitano A, Morales F, Sacchi R et al (2008) Relationship between virgin olive oil phenolic compounds and acrylamide formation in fried crisps. J Agric Food Chem 56:2034–2040
27. Omoni AO, Aluko RE (2005) The anti-carcinogenic and anti-atherogenic effects of lycopene: a review. Trends Food Sci Technol 16:344–350
28. Pannellini T, Iezzi M, Liberatore M et al (2010) A dietary tomato supplement prevents prostate cancer in TRAMP mice. Cancer Prev Res (Phila) 3:1284–1291
29. Pernice R, Vitaglione P, Sacchi R et al (2007) Phytochemicals in mediterranean diet: the interaction between tomato and olive oil bioactive compounds. In: Hui YH et al (eds) Handbook of food products manufacturing, Vol 2. Wiley-Interscience, London, pp 53–68. ISBN 978-0-470-04964-0

30. Persson E, Graziani G, Ferracane R et al (2003) Influence of antioxidants in virgin olive oil on the formation of heterocyclic amines in fried beef burgers. Food Chem Tox 41:1587–1597
31. Preedy V R, Watson RR (2010) Olives and olive oil in health and disease prevention. Academic Press, Elsevier Inc, USA
32. Sacchi R, Paduano A, Fiore F et al (2002) Partition behavior of virgin olive oil phenolic compounds in Oil-Brine mixtures during thermal processing for fish canning. J Agric Food Chem 50:2830–2835
33. Sacchi R, Falcigno L, Paduano A et al (2006) Quantitative evaluation of the aldehydes formed in heated vegetable oils using high resolution proton-NMR spectroscopy. Riv Ital Sostanze Grasse 82:257–263
34. Savarese M, Parisini C, De Marco E et al (2006) Detection of biophenols from virgin olive oil in fried French-fries potatoes by high-performance liquid chromatography tandem electrospray ionization mass spectrometry (HPLC-ESI/MS). In: 4th EuroFed lipid congress (Oils, fats and lipids for a Healthier future), University Complutense of Madrid, Spain
35. Vitaglione P, Fogliano V (2004) Use of antioxidants to minimize the human health risk associated to mutagenic/carcinogenic heterocyclic amines in food. J Chromatography B 802:189–199
36. Vitaglione P, Savarese M, Paduano A et al (2012) Healthy virgin olive oil: a matter of bitterness. Critical Rev Food Sci Nutr, in press

Kanser Reküransının Hayat Tarzı Değişimleri ile Önlenmesi: Yin ve Yang

Franco Berrino

Özet

Hayat tarzının kanser teşhisi sonrası prognozu etkileyebileceği ile ilgili kanıtlar giderek artmaktadır. Çeşitli çalışmalarda Batı diyet paterni, obezite, kilo alımı, sedanter yaşam tarzı, metabolik sendrom, yüksek serum insülin düzeyleri, büyüme faktörleri ve enflamatuar sitokinlerin kanser teşhisi sonrasındaki rekürans insidansını artırdığı gösterilmiştir. Bu çalışmaların çoğu meme ve kolon kanserinde yapılmıştır. Ancak kanserin klinik yönetiminde hayat tarzını iyileştirmeye ve vücut ağırlığını kontrol etmeye yeterince dikkat gösterilmemektedir. Kanser reküransı ile ilişkili gözlemlerin doğrulanabilmesi ya da çürütülmesi için hayat tarzı girişim çalışmalarına ihtiyaç vardır. Ancak şu anda bile orta derecede fiziksel egzersiz, orta derecede kalori kısıtlaması ve Akdeniz diyet paterninin uygulanmasının önünde bir kontrendikasyon mevcut değildir. AICR/WCRF 2007 tarafından gerçekleştirilen sistematik literatür analizleri sonucunda, kanser hastalarının kanserin önlenmesine uygun hayat tarzı sürdürmeleri tavsiye edilmektedir. AICR/WCRF tavsiyeleri ilginç biçimde uzak Doğu filozofisine dayanan geleneksel kurallarla benzerlik göstermektedir. Bu kurallarda şekerli içecekler ve kalori yoğun yiyecekler gibi aşırı "yin" gıdalardan ve işlenmiş et gibi gibi aşırı “yang” gıdalardan kaçınılması ve tam taneli işlenmemiş tahıllar gibi hafifçe yang gıdalar ile baklagiller ve sebzeler gibi hafifçe yin gıdaların dengeli olarak tüketilmesi gerekmektedir.

Anahtar Kelimeler

Makrobiyotik diyet • Hayat tarzı • Akdeniz diyet paterni • Meme kanseri

F. Berrino (✉)
Fondazione IRCCS Istituto Nazionale dei Tumori, Via Venezian, 1, 20133, Milan, Italy
e-mail: franco.berrino@istitutotumori.mi.it

V. Zappia et al. (eds.), *Advances in Nutrition and Cancer,*
Cancer Treatment and Research 159, DOI: 10.1007/978-3-642-38007-5_20,
© Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2014

Kısaltmalar

CMF	Siklofosfamid/metotreksat/5-florourasil
CR	Kalori kısıtlaması
MS	Metabolik sendrom

İçindekiler

1 Giriş 342
2 "Yin" Gıdalar ve "Yang" Gıdalar 343
3 Beslenmede Sinerji 345
4 Kanser ve Hayat Tarzı 347
Referanslar 349

1 Giriş

Dünyada bulaşıcı olmayan yaşa bağlı kronik hastalıkların prevalansının eşi görülmemiş bir şekilde arttığı bir döneme giriyoruz. Bu bulgu ekonomik ve sosyal problemlerde çok ciddi artışa yol açmaktadır. İnsanlarda görülen kronik hastalıklar kompleks ve nonlineer proseslerdir. Birbirine bağlı çok sayıda genetik ve metabolik yolaklardan kaynaklanan bu sorunla başa çıkabilmek için çok boyutlu önleyici stratejilerin kullanılması gerekmektedir. Hayvanlarda kanser ve yaşla ilişkili diğer kronik hastalıkların önlenmesi ile hayatın uzatılmasındaki en güçlü diyet girişimi kalori kısıtlamasıdır. İnsanlarda ise kalori yoğun diyetler ve sedanter yaşam tarzı artan metabolik sendrom (MS) prevalansından sorumludur ve sigara kullanımı ile birlikte en sık görülen kronik hastalıkların en önemli önlenebilir nedenidir. Metabolik sendroma insülin, büyüme faktörleri ve enflamatuar sitokinlerin düzeylerindeki artış aracılık yapar. MS'nin kanser reküransının majör belirleyicisi olduğu yönündeki kanıtlar da giderek artmaktadır [6, 44, 46, 49, 55, 59, 60]. Biz ve diğer araştırmacılar tarafından gösterildiği üzere, sürdürülebilir kalori kısıtlaması MS prevalansındaki azalma ile ilişkilidir. Bu amaca diyet alışkanlıklarının kapsamlı olarak değiştirilmesi ile ulaşılabilir. Değişimler hayvansal gıdaların ve rafine karbonhidratların azaltılması ile tam taneli tahılların, baklagillerin ve sebzelerin artırılmasını kapsar [2, 13]. Kronik hastalıklar sıklıkla Batı hayat tarzı faktörlerinin sonucunda oluşur. Ancak bugüne kadar, potansiyel koruyucu ve sürdürülebilir hayat tarzına yapılan yatırımlar muhtemel getirisine kıyasla oldukça düşüktür.

Kanser ve diğer kronik hastalıkların biyolojileri, son birkaç dekad içinde son derece hızlı gelişmekte ve kardiyovasküler hastalıkların önlenmesinde (spesifik risk faktörlerinin tedavi edilmesine dayanır) çok faydalı olan ancak kanser için çoğunlukla geçer-

siz olan geçmişte sık kullanılan indirgemeci yaklaşım yerine kompleksitenin önemini vurgulamaktadır. İnsanlarda şu anda kadar yapılan kanser kemoprevensiyon deneyleri giderek gelişmekte olan kanserin kompleks bir hastalık olduğu görüşünü dikkate alıyor görünmemektedir. Çoğu tek veya birkaç besin öğesinin takviyesine veya kullanımının durdurulmasına dayanan bu çalışmaların çoğu başarısız olmuş veya net olmayan sonuçlar vermiştir. Kanserin gelişiminde rol oynayan kompleks biyolojik sistemleri hedeflenen şekilde etkileyebilmek için muhtemelen çok boyutlu girişimlere ihtiyaç vardır. Çok sayıda dolaylı yolağın varlığı nedeniyle, bir veya birkaç yolağa odaklanan tek bir ajan veya faktör muhtemelen başarısız olacaktır. Hatta potansiyel olarak koruyucu olan yolaklarla etkileşerek tehlikeli olma ihtimali de vardır.

2 "Yin" Gıdalar ve "Yang" Gıdalar

Tüm gıdalar yaşayan organizmalar olan hayvan veya bitkilerden elde edilir. Bu gıdalar insanların ataları gibi milyonlarca yıllık süreç içinde evrimleşmiş son derece kompleks organizmalardır. Gıdaların mevcudiyeti insan evrimini etkilemiştir (tersi de geçerlidir). Toksik gıdalar giderek hızlanan şekilde tespit edilmekte ve diyetlerden çıkarılmaktadır. Doğal seleksiyon sağlıklı üremeyi mümkün kılacak gıda paternlerinin adaptasyonunu sağlamıştır. Tahıllar son 10-30.000 yıl içinde hemen tüm insan popülasyonlarının değişmez gıdası olmuştur. İnsanlar tahıllar ile baklagilleri aynı yemekte kombine etmenin avantajını, içeriklerindeki tamamlayıcı aminoasit kompozisyonunu öğrenmeden binlerce yıl önce kullanmaya başlamıştır. Diyetle lif tüketimi ve mortalite ilişkisini araştıran iki güncel kohort çalışması mevcuttur. Avrupa'da yapılan EPIC [8] ve ABD'de yapılan NCI-ARP çalışmasında [45], yüksek tahıl liflerinin kullanımının düşük kanser, kardiyovasküler, pulmoner, gastrointestinal ve enfeksiyon hastalıkları mortalitesi ile ilişkili olduğu istikrarlı olarak gösterilmiştir. Ayrıca sebze ile alınan liflerin de kısmen koruyucu olduğu ancak meyve liflerinin bu özelliği taşımadığı da tespit edilmiştir. İlginç biçimde tam taneli tahılların komponentlerin (lifler, vitaminler veya mineraller) izole olarak uygulanmasında koruyucu etki görülmemesi [26], tahıllardaki birden fazla bileşenin bir araya gelerek "gıda sinerjisi" ile toplam etki yaptığını düşündürmektedir [23–25].

Tam taneli tahıllar (başlıca esmer pirinç, darı, arpa, yulaf) ve kısmen de kara buğday ve buğday makarnası makrobiyotik bir diyetin temel komponentleridir. Ayrıca %20-30 lokal sebzeler, %5-10 fasulye (geleneksel soya ürünleri de içerir), deniz sebzeleri ile bazen de meyve, sert kabuklu yemişler ve balık içerir [33]. 2007 WCRF/AICR kanserin önlenmesi tavsiyeleri ilginç bir şekilde şeker ve şekerli ve alkollü içecekler gibi aşırı derecede "yin" gıdalar ile işlenmiş et, tuzlu gıdalar, kırmızı et gibi aşırı "yang" gıdalardan sakınılmasını öneren makrobiyotik tavsiyelerle genel bir benzerlik göstermektedir.[1] Ana tavsiye olan "Çoğunlukla bitkisel kaynaklı gıdalar tüketiniz. Hergün çeşitli nişastasız sebzeler ve

[1] www.dietandcancerreport.org

Tablo 1 WCRF tavsiyeleri

• Normal sınırlar içindeki vücut ağırlığına mümkün olduğu kadar yakın olunuz
• Fiziksel aktiviteyi günlük yaşamın bir parçası haline getirerek aktif kalınız
• Enerji yoğun besinlerin tüketimini azaltınız ve şekerli içeceklerden kaçınınız
• Çoğunlukla bitkisel kaynaklı gıdalar tüketiniz. "Hergün çeşitli nişastasız sebzeler ve çeşitli meyveler" ile "her öğünde görece az işlenmiş tahıllar (taneli) ve/veya bakliyat" tüketiniz
• Kırmızı et tüketimini azaltınız ve işlenmiş etten sakınınız
• Alkollü içkileri azaltınız
• Tuz tüketimini azaltınız. Küflü tahıl veya baklagil tüketiminden sakınınız
• Nütrisyonel ihtiyaçları sadece diyetle karşılamaya çalışınız
• Anneler emzirmeli; bebekler emzirilmelidir
• Kanser hastaları kanserin önlenmesi ile ilişkili tavsiyelere uymalıdır

Şekil 1 Yin ve yang kavramını temsil eden Tao piktogramı.



çeşitli meyveler ile her öğünde görece az işlenmiş tahıllar ve/veya bakliyat tüketiniz" ifadesi aynı zamanda Akdeniz diyetinin de temel özelliğidir. Aynı zamanda endüstri devriminden önceki toplumlarının çoğunun temel gıdalarıdır: İtalya'da fasulye ile makarna, Kuzey Afrika'da nohut ile kuskus, Asya'da soya ürünleri ile pirinç, Orta Amerika'da darı ile börülce, Siyahi Afrika'da darı ve yer fıstığı bu yiyeceklere örnek olarak verilebilir.

Tablo 2 Yin-yang kriterlerine göre sıralanmış WCRF nütrisyonel tavsiyeleri

Şekerli içeceklerden kaçınız	▼▼▼
Alkollü içkileri azaltınız	▼▼
Yüksek enerjili gıdaları azaltınız	▼
Çoğunlukla görece az işlenmiş tahıllar, bakliyat, sebzeler içeren, bitkisel kaynaklı gıdalar tüketiniz.	
Kırmızı et tüketimini azaltınız	▼
Tuz tüketimini azaltınız	▼▼
İşlenmiş etlerden sakınınız	▼▼▼

Yin-yang konsepti Çin filozofisinde polar karşıtların veya belirgin olarak zıt güçlerin doğal dünyada birbirleriyle nasıl bağlantılı olduklarını ve herşeyin meydana gelmesine nasıl neden olduklarını tanımlamakta kullanılır. Yin ve yang karşıt değil tamamlayıcı güçlerdir. Herşeyin hem yin hem de yang yönü vardır. Yin ve yang konsepti Tao piktogramı ile gösterilmektedir (Şekil 1). Sembolik olarak omuzlarındaki bambu kamışına asılı iki sepetten birinde yin enerjisini diğerinde ise yang enerjisini taşıyan yürüyen bir adam ile ifade edilir. Bu insan sadece iki enerji arasında mükemmel bir denge olması halinde Tao'ya doğru ilerleyebilir. Klasik olarak "yang" ifadesi "güneşli tarafı", "yin" ifadesi ise "gölgeli tarafı" sembolize eder. Karanlık, pasif, kadınsı, soğuk, ıslak, yaygın ve zayıf olan "yin" dünya ile ilişkilidir. Parlak, aktif, erkeksi, sıcak, kuru, odaklı ve güçlü olan "yang" ise gökyüzü ve güneş ile ilişkilidir. Hayvansal besinler, özellikle de tuz ve tuzlu et yangdır. Bitkisel besinler ise yindir. Yağlar, alkollü içkiler ve şeker gibi rafine besinlerin çoğu da yindir.

Tablo 2 WCRF/AICR tavsiyelerinin yin ve yangdaki makrobiyotik sınıflamaya göre sıralanmış halini göstermektedir. Bir üçgen ile sembolize edilen yang bu üçgenin tabanında huzur içinde dinlenmektedir. Yini sembolize eden üçgen ise tepe noktasındaki dengeyi zorlukla sağlayabilmektedir. WCRF/AICR tavsiyelerinin aslında aşırı derecede yin ve yang gıdalardan sakınılmasını, yin ve yang gıdalarının dengesini bozan gıdaların azaltılmasını, taneli işlenmemiş tahıllar gibi hafifçe yang gıdaların, baklagiller ve sebzeler gibi hafifçe yin gıdalar ile dengelenmesini önerdiği görülmektedir.

Gerçekten de ılıman iklimlerde yaşayan tüm toplumların gastronomik geleneklerine bakıldığında, genel olarak yang ve yin gıdalarının dengelenmeye çalışıldığı görülmektedir: Balık sıklıkla kaynatılmış patatesle, hindi kestane ile doldurulmuş olarak, kırmızı et biraz salata ve kırmızı şarapla servis edilir; İtalya'da tuzlu jambon karpuzla, Sicilya'da narenciye türü meyveler tuz ile tüketilir; kırmızı etten yapıldığı ve yüksek ısıda pişirildiği için aşırı derecede yang bir gıda olan hamburger sıklıkla buzlu ve şekerli yin içeceklerle tüketilmektedir. Sadece çok soğuk (yin) iklimlerde domuz pastırması ve yumurta gibi çok yang olan kahvaltılar tüketilir. Sıcak iklimlerde ise yin meyveler ve tatlılar tercih edilir. Taoist filozofinin ana prensiplerinden biri wu-wei'nin (tam anlamı eylemsizliktir) eylemsizlik ile uygulanması vurgular. Temel olarak doğaya saygı duyma, doğa ile uyum sağlama ve natürelliği ifade eder. Nütrisyonel olarak da aşırı derecede işlenmiş gıdaların yerine natürel, basit ve uyumlu gıdaların seçilmesine dayanır.

3 Beslenmede Sinerji

Gıda komponentleri arasında sinerji oluşturan basit gıdaların tercih edilmesi giderek daha fazla kabul görmektedir [25]. Balıktan alınan omega-3 yağ asitlerinin biyoyararlanımı takviyelerle alınandan birkaç kat daha yüksektir. Yağda çözünen bir vitaminin takviye olarak alınması aynı taşıyıcı mekanizmayı kullanan vitaminlerin absorpsiyonunda azalmaya yol açabilir. Gıda takviyeleri (başlıca antioksidan vitaminler, mineral-

ler ve B vitaminleri) ile ilgili randomize kontrollü çalışmaların çoğunda ya hiçbir etki bulunmamış ya da advers olaylar görülmüştür. Buna karşın ihtiyatlı veya Akdeniz diyet paterni skoru yüksek olan bireylerde gerçekleştirilen gözlemsel çalışmalarda kronik hastalık insidansı daha düşük bulunmuştur. Diyabet [51], kardiyovasküler hastalık [18, 30], Alzheimer [53], meme [9, 57, 61], mide [3], kolon [5] ve pankreas [27] kanserini de içeren çeşitli kanserlerin insidansları bu bireylerde anlamlı olarak daha düşük bulunmuştur.

Doğal gıdaların içerikleri koordinasyon içindedir ve ortama göre konsantrasyonları farklılıklar gösterir. Örneğin dağlarda büyüyen sebzeler, soğuktan koruyan poliansatüre yağ asitleri yönünden daha zengindir. Yüksek oranda poliansatüre yağ asidi içeren gıdalar da antioksidan fitokimyasallar yönünden genellikle daha zengindir. Fitokimyasalların gen ekspresyonunu etkiledikleri, DNA metilasyonunu, histon asetilasyonunu ve mikro-RNA'yı artırdığı ya da azalttıkları yönündeki kanıtlar giderek artmaktadır. Çeşitli kanser türlerinde gösterilen spesifik DNA metilasyonları ve histon modifikasyonları çoğunlukla proenflamatuar mikroortamlarla ilişkilidir. Epigenetik değişimler prensipte ardışık mitotik bölünmeler ile iletilebildiği için, gebelik öncesi veya embriyonik gelişim sırasında oluşmaları organizmanın genel epigenetik statüsü üzerinde çok daha büyük etki yapacaktır. Ancak diyet ve fiziksel aktivite gibi çevresel faktörler her yaşta DNA modifikasyonuna ve histon asetilasyonuna yol açabilirler [14, 36]. Global hipometilasyon ve bulunduğu bölgeye spesifik hipermetilasyon insan tümörlerinin genel özelliğidir. Diyet epigenetik paternleri derinden değiştirebilir. Ancak insan hastalıklarının gelişiminde diyet ve epigenetik arasındaki nedensel ilişki hala çok az düzeyde anlaşılmıştır. Hangi advers epigenetik işaretlerin ilaçlar, besinler veya hayat tarzı değişimleri ile geriye çevrilebileceğini araştıran zorlu bir araştırma alanı gelişmektedir. Elliden fazla biyoaktif fitokimyasalın DNA metiltransferaz veya histon asetilaz/deasetilazı etkilediği gösterilmiştir. Hayvanlarda veya insan hücre kültürlerinde yapılan deneysel çalışmalar fitokimyasalların kanserdeki rolünü desteklemektedir. Ancak bu deneyler insanlardaki konsantrasyonların çok üzerindeki değerler ile gerçekleştirilmiştir. Bu sonuçlardan bu maddelerin insanlardaki hastalıkların önlenmesi ile ilişkili etkilerini tahmin etmek çok güçtür. Ancak fizyolojik konsantrasyonlara sürekli maruz kalmanın epigenomu kümülatif bir şekilde yeniden yapılandırabileceği yönündeki kanıtlar artmaktadır [52]. Ayrıca bu deneylerde kullanılan tam gıda ekstrelerinin izole spesifik bileşenlere göre anlamlı olarak daha yüksek fizyolojik etkileri olduğu bulunmuştur: "Tabiat ana bitkileri yaratırken ne yaptığını biliyordu: Sebzeler, meyveler, tam tahıllar, sert kabuklu yemişler ve baklagiller vitamin, mineral, lif, protein, antioksidan ve daha birçok önemli bileşenin zengin kombinasyonlarını içeren mükemmel örneklerdir" ([24] nolu referanstan alınmıştır). Biyolojik olarak aktif gıda komponentleri hakkında henüz bilmediğimiz ve anlamadığımız çok şey olduğu için gıdaların doğal formlarına en uygun şekilde tüketilmesi daha uygun olacaktır: Şimdi doğa ile uyum içinde olma zamanıdır.

4 Kanser ve Hayat Tarzı

Çeşitli çalışmalarda Batı diyet paterni, obezite, kilo alımı, sedanter yaşam tarzı, metabolik sendrom, yüksek serum insülin düzeyleri, büyüme faktörleri ve enflamatuar sitokinlerin kanser teşhisi sonrasındaki rekürans insidansını artırdığı ve kansere spesifik sağkalımı azalttığı gösterilmiştir.< Çalışmaların çoğu meme ve kolon kanserinde yapılmıştır. Ancak kanserin klinik yönetiminde hayat tarzını iyileştirmeye ve vücut ağırlığını kontrol etmeye yeterince dikkat gösterilmemektedir.

KANSER reküransı ile ilişkili gözlemlerin doğrulanabilmesi ya da çürütülmesi için hayat tarzı girişim çalışmalarına ihtiyaç vardır. Ancak şu anda bile orta derecede fiziksel egzersiz, orta derecede kalori kısıtlaması ve Akdeniz diyet pateninin uygulanmasının önünde bir kontrendikasyon mevcut değildir. Çeşitli çalışmalarda meme [10, 37, 50, 54], kolorektal [11, 20] ve prostat kanseri [17, 38] teşhisi koyulan obez bireylerin kanserin evresinden ve hastalığın diğer biyolojik özelliklerinde bağımsız olarak daha düşük genel ve hastalıksız sağkalıma sahip oldukları gösterilmiştir. Son zamanlarda yapılan klinik bir çalışmada obezitenin non-Hodgkin lenfoma için de olumsuz bir prognostik faktör olduğu gösterilmiştir [16]. Meme kanseri hastalarını takip eden 43 çalışmanın metaanalizinde obez hastaların normal kilolu hastalara göre hem genel [HR 1.33; %95 güven aralığı (CI) 1.21, 1.47] hem de meme kanserine spesifik sağkalımlarının (HR 1.33; %95 CI 1.19, 1.50) daha kötü olduğu gösterilmiştir. Benzer sonuçlar obezite ölçütü olarak bel kalça oranı kullanıldığında da elde edilmiştir (HR 1.31; 1.08, 1.58). Bu etki hem premenopozal hem postmenopozal hastalar ile tedavi ve gözlem kohortları için de geçerliydi [50].

Meme kanseri teşhisi sonrası kilo alımının total ve meme kanseri mortalitesini artırdığı yönünde kanıtlar da vardır. Bir başka çalışmada her 5 kg'lık kilo artışının meme kanserine spesifik mortalitede %13 azalma ile ilişkili olduğu bulunmuştur [43]; tanı sonrası kilo kaybı ise tüm nedenlere bağlı ölümde artışa yol açarken, meme kanserine bağlı ölümleri ise (kilosu değişmeyenlere göre) anlamlı olmayan düzeyde azaltmıştır. Çeşitli çalışmalarda CMF bazlı adjuvan kemoterapi esnasındaki kilo alımının genel olarak daha kötü prognoz ile ilişkili olduğu gösterilmiştir [5, 31]. Kendi çalışmamızda adjuvan kemoterapi esnasındaki kilo alımının önlenebileceğini gösterdik [59]. Ancak günümüzde meme kanserinin klinik yönetiminde kilo kontrolüne yeterince dikkat gösterilmemektedir.

Diyetle alınan yağın azaltılmasının etkisinin test edildiği 2500 meme kanseri hastası ile yapılan randomize kontrollü çalışmada yeni meme kanseri olaylarında %24 (sınırda anlamlı) oranında azalma gösterilmiştir (lokal ve distal rekürranslar ile kontralateral meme kanseri) [7]. Bu çalışmanın girişim kolundaki kadınlar 5 yıllık takip süresince ortalama 2.1 kg zayıflamıştır. Yağ alımını azaltmanın ve meyve ve sebze tüketimini artırmanın (başlıca meyve ve sebze suları ile) etkisinin 3000'den fazla hastada test edildiği bir başka çalışmada ise herhangi bir koruyucu etki tespit edilmemiştir; ancak çalışmanın dizaynının izokalorik olması nedeniyle girişim grubuna randomize edilen kadınlar biraz kilo almıştır [48]. Bu tür bir çelişkinin olası nedeni orta derecede kalori kısıtlamasının meme kanseri reküransından koruyabilme ihtimalidir.

Opere edilen binlerce meme [21, 22, 47] ve kolorektum kanseri [20, 40] hastasında yapılan gözlemsel çalışmalarda ise tanı sonrası orta düzeyde fiziksel egzersiz yapanlardaki rekürans ve ölüm riskinin azaldığı tespit edilmiştir. I ve IV. evredeki kolon kanseri olan hastalarda herhangi bir etki mevcut değilken, II ve III: evrelerdeki hastalarda ise belirgin etki tespit edilmiştir. Fiziksel aktivitenin meme kanseri hastalarındaki etkisi östrojen reseptörü pozitif tümörlerle sınırlıdır. Hergün tempolu yürüyüş düzeyinde 30 dakika egzersiz yapan kadınlardaki kansere spesifik mortalite %30-50 oranında azalmıştır. Fiziksel aktivitenin koruyucu olmasının altında yatan mekanizma muhtemelen insülin sensitivitesi üzerindeki etkisinden kaynaklanmaktadır.

Adjuvant kemoterapi gören kolon kanseri hastalarının katıldığı diyet paterni ile ilişkili gözlemsel bir çalışmada yüksek Batı diyeti skorunun rekürans riskinde anlamlı artış ile ilişkili olduğu bulunmuştur. Daha yüksek faktör yükü olan besinler arasında peynir, yağlı soslar, margarinler, tatlılar, kırmızı et ve işlenmiş et mevcuttur [39] Ancak meme kanseri hastalarında yapılan benzer çalışmalarda Batı diyet paterni ile tüm nedenlere bağlı ölüm daha düşük tespit edilmiştir. Bu etki meme kanserine spesifik mortalite için geçerli değildir [32, 35]. Ovaryum kanseri hastalarında yapılan iki çalışmada süt ürünlerinden zengin ve sebze yönünden fakir diyetlerin daha kötü sağkalım ile ilişkili olduğu bulunmuştur [12, 41]. Ancak bu çalışmalar çalışmada yer alan hastaların tanı öncesindeki diyetlerini hatırlamalarına dayanmaktadır. Gözlemsel çalışmalarda soya [4, 19, 29, 56] ve turpgiller gibi spesifik sebze yemeklerinin hem hormon tedavisi alan hem de almayan meme kanseri hastalarındaki reküransı azaltmaya yardımcı olabileceği öne sürülmüştür. Ayrıca gıdalarla alınan deniz ürünleri kaynaklı yağ asitlerinin de meme kanseri reküransında ve tüm nedenlere bağlı ölümde muhtemel azalma ile ilişkili olduğu gösterilmiştir: 6 yıl süreli olan ve hastaların son 24 saat içinde yediklerini hatırlamalarına dayanarak diyet değerlendirmesi yapan bir çalışmada uzun zincirli omega 3 yağ asidi tüketimi en yüksek 2 üçtebirlik dilimde olan meme kanseri hastalarında ilave meme kanseri olaylarının görülme riski %25 azalmıştır [27, 58]. Omega-3 takviyelerinin tüketimi ile herhangi bir koruyucu etki tespit edilmemiştir. Meme kanserinde multivitamin desteğinin araştıran çalışmalarda elde edilen sonuçlar ise çelişkilidir [34, 42].

DIANA (Diyet ve Androjen) çalışmalarında meme kanserinin önlenmesinde diyet girişimlerinin etkisi araştırılmıştır. Birkaç ay süreyle uygulanan Akdeniz ve makrobiyotik diyetin yüksek meme kanseri riski altındaki kadınların metabolik ve endokrin özelliklerini olumlu yönde (insülin düzeyleri ile büyüme faktörlerinin ve seks hormonlarının biyoyararlanımlarının azalması) modifiye etmek için yeterli olduğu gösterilmiştir [2, 28]. Hala sürmekte olan DIANA-5 projesi [60] metabolik sendrom ve/veya yüksek serum insülin veya testosteron düzeyleri nedeniyle yüksek rekürans riski altında bulunan 2000 meme kanseri hastasında diyet ve fiziksel aktivitenin etkisini araştıran randomize kontrollü bir çalışmadır. Çalışmanın amacı 2007 Dünya Kanser Araştırma Fonu tavsiyelerinde yer alan orta derecede fiziksel egzersiz, orta düzeyde kalori kısıtlaması ile büyük bölümü bitkisel kaynaklı olan ve çok çeşitli işlenmemiş taneli tahıllar, baklagiller, mevsim sebzeleri ve meyve içeren diyetlerin meme kanseri reküransını anlamlı olarak azaltabileceği hipotezini test etmektir.[2]

[2] www.dietandcancerreport.org

Bu ve diğer çalışmalardan kanserle ilişkili morbiditenin azaldığını ve hayat kalitesinin yükseldiğini gösteren sonuçlar elde edilmesi durumunda, diyet tavsiyesi ve kilo kontrolü meme kanseri hastaları için yeni bir bakım standardı haline gelebilir.

Referanslar

1. Agnoli C, Krogh V, Grioni S, Sieri S et al (2011) A priori-defined dietary patterns are associated with reduced risk of stroke in a large Italian cohort. J Nutr 141:1552–1558
2. Berrino F, Bellati C, Secreto G et al (2001) Reducing bioavailable sex hormones through a comprehensive change in diet: the diet and androgens (DIANA) randomized trial. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 10:25–33
3. Buckland G, Agudo A, Lujan L et al (2010) Adherence to a Mediterranean diet and risk of gastric adenocarcinoma within the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC) cohort study. Am J Clin Nutr 91:381–390
4. Caan BJ, Natarajan L, Parker B et al (2011) Soy food consumption and breast cancer prognosis. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 20:854–858
5. Camoriano JK, Loprinzi CL, Ingle JN et al (1990) Weight change in women treated with adjuvant therapy or observed following mastectomy for node-positive breast cancer. J Clin Oncol 8:1327–1334
6. Castillejos-Molina R, Rodriguez-Covarrubias F et al (2011) Impact of metabolic syndrome on biochemical recurrence of prostate cancer after radical prostatectomy. Urol Int 87:270–275
7. Chlebowski RT, Blackburn GL, Thomson CA et al (2006) Dietary fat reduction and breast cancer outcome: interim efficacy results from the Women's Intervention Nutrition Study. J Natl Cancer Inst 98:1767–1776
8. Chuang SC, Norat T, Murphy N et al (2012) Fiber intake and total and cause-specific mortality in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition cohort. Am J Clin Nutr 96:164–174
9. Cottet V, Touvier M, Fournier A et al (2009) Postmenopausal breast cancer risk and dietary patterns in the E3N-EPIC prospective cohort study. Am J Epidemiol 170:1257–1267
10. Dawood S, Broglio K, Gonzalez-Angulo AM et al (2008) Prognostic value of body mass index in locally advanced breast cancer. Clin Cancer Res 14:1718–1725
11. Dignam JJ, Polite BN, Yothers G et al (2006) Body mass index and outcomes in patients who receive adjuvant chemotherapy for colon cancer. J Natl Cancer Inst 98:1647–1654
12. Dolecek TA, McCarthy BJ, Joslin CE et al (2010) Prediagnosis food patterns are associated with length of survival from epithelial ovarian cancer. J Am Diet Assoc 110:369–382
13. Esposito K, Marfella R, Ciotola M et al (2004) Effect of a mediterranean-style diet on endothelial dysfunction and markers of vascular inflammation in the metabolic syndrome: a randomized trial. JAMA 292:1440–1446
14. Fraga MF, Ballestar E, Paz MF et al (2005) Epigenetic differences arise during the lifetime of monozygotic twins. Proc Natl Acad Sci USA 102:10604–10609
15. Fung TT, Hu FB, Wu K et al (2010) The Mediterranean and dietary approaches to stop hypertension (DASH) diets and colorectal cancer. Am J Clin Nutr 92:1429–1435
16. Geyer SM, Morton LM, Habermann TM et al (2010) Smoking, alcohol use, obesity, and overall survival from non-Hodgkin lymphoma: a population-based study. Cancer 116:2993–3000
17. Gong Z, Agalliu I, Lin DW et al (2007) Obesity is associated with increased risks of prostate cancer metastasis and death after initial cancer diagnosis in middle-aged men. Cancer 109:1192–1202

18. Guallar-Castillon P, Rodriguez-Artalejo F, Tormo MJ et al (2012) Major dietary patterns and risk of coronary heart disease in middle-aged persons from a Mediterranean country: the EPIC-Spain cohort study. Nutr Metab Cardiovasc Dis 22:192–199
19. Guha N, Kwan ML, Quesenberry CP et al (2009) Soy isoflavones and risk of cancer recurrence in a cohort of breast cancer survivors: the Life After Cancer Epidemiology study. Breast Cancer Res Treat 118:395–405
20. Haydon AM, Macinnis RJ, English DR et al (2006) Effect of physical activity and body size on survival after diagnosis with colorectal cancer. Gut 55:62–67
21. Holick CN, Newcomb PA, Trentham-Dietz A et al (2008) Physical activity and survival after diagnosis of invasive breast cancer. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 17:379–386
22. Holmes MD, Chen WY, Feskanich D et al (2005) Physical activity and survival after breast cancer diagnosis. JAMA 293:2479–2486
23. Jacobs DR Jr, Steffen LM (2003) Nutrients, foods, and dietary patterns as exposures in research: a framework for food synergy. Am J Clin Nutr 78:508S–513S
24. Jacobs DR Jr, Tapsell LC (2007) Food, not nutrients, is the fundamental unit in nutrition. Nutr Rev 65:439–450
25. Jacobs DR Jr, Gross MD, Tapsell LC (2009) Food synergy: an operational concept for understanding nutrition. Am J Clin Nutr 89:1543S–1548S
26. Jacobs DR, Pereira MA, Meyer KA et al (2000) Fiber from whole grains, but not refined grains, is inversely associated with all-cause mortality in older women: the Iowa women's health study. J Am Coll Nutr 19:326S–330S
27. Jiao L, Mitrou PN, Reedy J et al (2009) A combined healthy lifestyle score and risk of pancreatic cancer in a large cohort study. Arch Intern Med 169:764–770
28. Kaaks R, Bellati C, Venturelli E et al (2003) Effects of dietary intervention on IGF-I and IGF-binding proteins, and related alterations in sex steroid metabolism: the diet and androgens (DIANA) randomised trial. Eur J Clin Nutr 57:1079–1088
29. Kang X, Zhang Q, Wang S et al (2010) Effect of soy isoflavones on breast cancer recurrence and death for patients receiving adjuvant endocrine therapy. CMAJ 182:1857–1862
30. Keys AB, Keys M (1975) Eat well and stay well the Mediterranean way. Doubleday, Garden City
31. Kroenke CH, Chen WY, Rosner B et al (2005a) Weight, weight gain, and survival after breast cancer diagnosis. J Clin Oncol 23:1370–1378
32. Kroenke CH, Fung TT, Hu FB et al (2005b) Dietary patterns and survival after breast cancer diagnosis. J Clin Oncol 23:9295–9303
33. Kushi LH, Cunningham JE, Hebert JR et al (2001) The macrobiotic diet in cancer. J Nutr 131:3056S–3064S
34. Kwan ML, Greenlee H, Lee VS et al (2011) Multivitamin use and breast cancer outcomes in women with early-stage breast cancer: the Life After Cancer Epidemiology study. Breast Cancer Res Treat 130:195–205
35. Kwan ML, Weltzien E, Kushi LH et al (2009) Dietary patterns and breast cancer recurrence and survival among women with early-stage breast cancer. J Clin Oncol 27:919–926
36. Ling C, Groop L (2009) Epigenetics: a molecular link between environmental factors and type 2 diabetes. Diabetes 58:2718–2725
37. Loi S, Milne RL, Friedlander ML et al (2005) Obesity and outcomes in premenopausal and postmenopausal breast cancer. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 14:1686–1691
38. Ma J, Li H, Giovannucci E et al (2008) Prediagnostic body-mass index, plasma C-peptide concentration, and prostate cancer-specific mortality in men with prostate cancer: a long-term survival analysis. Lancet Oncol 9:1039–1047
39. Meyerhardt JA, Niedzwiecki D, Hollis D et al (2007) Association of dietary patterns with cancer recurrence and survival in patients with stage III colon cancer. JAMA 298:754–764
40. Meyerhardt JA, Ogino S, Kirkner GJ et al (2009) Interaction of molecular markers and physical activity on mortality in patients with colon cancer. Clin Cancer Res 15:5931–5936

41. Nagle CM, Purdie DM, Webb PM et al (2003) Dietary influences on survival after ovarian cancer. Int J Cancer 106:264–269
42. Nechuta S, Lu W, Chen Z et al (2011) Vitamin supplement use during breast cancer treatment and survival: a prospective cohort study. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 20:262–271
43. Nichols HB, Trentham-Dietz A, Egan KM et al (2009) Body mass index before and after breast cancer diagnosis: associations with all-cause, breast cancer, and cardiovascular disease mortality. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 18:1403–1409
44. Oh SW, Park CY, Lee ES et al (2011) Adipokines, insulin resistance, metabolic syndrome, and breast cancer recurrence: a cohort study. Breast Cancer Res 13:R34
45. Park Y, Subar AF, Hollenbeck A et al (2011) Dietary fiber intake and mortality in the NIH-AARP diet and health study. Arch Intern Med 171:1061–1068
46. Pasanisi P, Berrino F, De Petris M et al (2006) Metabolic syndrome as a prognostic factor for breast cancer recurrences. Int J Cancer 119:236–238
47. Patterson RE, Cadmus LA, Emond JA et al (2010) Physical activity, diet, adiposity and female breast cancer prognosis: a review of the epidemiologic literature. Maturitas 66:5–15
48. Pierce JP, Natarajan L, Caan BJ et al (2007) Influence of a diet very high in vegetables, fruit, and fiber and low in fat on prognosis following treatment for breast cancer: the women's healthy eating and living (WHEL) randomized trial. JAMA 298:289–298
49. Post JM, Beebe-Dimmer JL et al (2011) The metabolic syndrome and biochemical recurrence following radical prostatectomy. Prostate Cancer 2011:245642
50. Protani M, Coory M, Martin JH (2010) Effect of obesity on survival of women with breast cancer: systematic review and meta-analysis. Breast Cancer Res Treat 123:627–635
51. Romaguera D, Guevara M, Norat T et al (2011) Mediterranean diet and type 2 diabetes risk in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC) study: the InterAct project. Diabetes Care 34:1913–1918
52. Scalbert A, Manach C, Morand C et al (2005) Dietary polyphenols and the prevention of diseases. Crit Rev Food Sci Nutr 45:287–306
53. Scarmeas N, Stern Y, Mayeux R et al (2009) Mediterranean diet and mild cognitive impairment. Arch Neurol 66:216–225
54. Sestak I, Distler W, Forbes JF et al (2010) Effect of body mass index on recurrences in tamoxifen and anastrozole treated women: an exploratory analysis from the ATAC trial. J Clin Oncol 28:3411–3415
55. Shen Z, Ye Y, Bin L et al (2010) Metabolic syndrome is an important factor for the evolution of prognosis of colorectal cancer: survival, recurrence, and liver metastasis. Am J Surg 200:59–63
56. Shu XO, Zheng Y, Cai H et al (2009) Soy food intake and breast cancer survival. JAMA 302:2437–2443
57. Sieri S, Krogh V, Pala V et al (2004) Dietary patterns and risk of breast cancer in the ORDET cohort. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 13:567–572
58. Thomson CA, Rock CL, Thompson PA et al (2011) Vegetable intake is associated with reduced breast cancer recurrence in tamoxifen users: a secondary analysis from the women's healthy eating and living study. Breast Cancer Res Treat 125:519–527
59. Villarini A, Pasanisi P, Raimondi M et al (2012) Preventing weight gain during adjuvant chemotherapy for breast cancer: a dietary intervention study. Breast Cancer Res Treat 135:581–589
60. Villarini A, Pasanisi P, Traina A et al (2012) Lifestyle and breast cancer recurrences: The DIANA-5 trial. Tumori 98:1–18
61. Wu AH, Yu MC, Tseng CC et al (2009) Dietary patterns and breast cancer risk in Asian American women. Am J Clin Nutr 89:1145–1154

Eski Bir Antidiyabetik İlaca Yeni Yaklaşım: Antikanser Ajan Olarak Metformin

Alessandra Leone, Elena Di Gennaro, Francesca Bruzzese, Antonio Avallone ve Alfredo Budillon

Özet

Pahalı olmayan, iyi tolere edilen ve tip 2 diyabetin birinci basamak tedavisinde sıklıkla kullanılan, oral ajan metforminin potansiyel antikanser ajan özelliği önemli bir araştırma konusu haline gelmiştir. Epidemiyolojik, klinik ve preklinik kanıtların birleşimini yansıtan bu araştırmalar metforminin diyabetiklerdeki kanser riskini azaltabileceğini ve birçok sık görülen kanser türünün sonuçlarını iyileştirebileceğini göstermektedir. Metforminin diyabetiklerde hayat boyunca görülen kanser riskini yaklaşık %30 azaltabilmesi dikkate değer bir bulgudur. Metforminin ekteki etkilerinin varlığı giderek daha fazla kabul edilmektedir: (1) Mitokondriyal respirasyonu etkileyerek hücrelerdeki enerji homeostazını kontrol eden AMP-aktive protein kinaz (AMPK) aktivasyonuna yol açarak kanser hücrelerini direkt olarak etkileyebilir. (2) Büyük oranda AMPK aracılığında gerçekleşen hepatik glukoneojenezi azaltarak dolaşımdaki insülin düzeylerinin azalmasına ve PI3K yolağının insülin/IGF-1 reseptörü aracılığındaki aktivasyonunun azalmasına yol açarak konak metabolizması üzerinde indirekt etki gösterebilir. Bu etkiler, metforminin kanser hücrelerinin in vitro büyümesini inhibe ettiği, farelerde tütün karsinojeni ile indüklenen akciğer kanserinin başlangıcını geciktirdiği ve metformin analoğu fenforminin kansere duyarlı transgenik farelerde spontan tümör gelişimini geciktirdiği yönündeki gözlemler tarafından desteklenmektedir. Hem direkt antitümör etki hem de konak üze-

A. Leone · E. Di Gennaro · F. Bruzzese
Experimental Pharmacology Unit, Istituto Nazionale per lo Studio e la Cura dei Tumori Fondazioni Giovanni Pascale - IRCCS, 80131, Naples, Italy

A. Avallone
Gastrointestinal Medical Oncology Unit, Istituto Nazionale per lo Studio e la Cura dei Tumori Fondazioni Giovanni Pascale - IRCCS, 80131, Naples, Italy

A. Budillon (✉)
Direttore U.O.C. Farmacologia Sperimentale, Istituto Nazionale per lo Studio e la Cura dei Tumori Fondazioni Giovanni Pascale - IRCCS, Via Mariano Semmola, 80131, Napoli, Italy
e-mail: a.budillon@istitutotumori.na.it

V. Zappia et al. (eds.), *Advances in Nutrition and Cancer,*
Cancer Treatment and Research 159, DOI: 10.1007/978-3-642-38007-5_21,
© Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2014

rinde indirekt etki yapabilme potansiyeli çok büyük ilgi çekmiştir. Ancak preklinik bulguların kliniğe yansıtılmasında aşılması gereken ilave engeller mevcuttur. Ancak artmakta olan kanıtlar, meme kanserinde yapılan büyük ölçekli adjuvan çalışma da dahil olmak üzere, metforminin antikanser özelliklerini araştıran klinik çalışmaların başlaması için yeterli hale gelmiştir.

Anahtar Kelimeler

Metformin • Fenformin • Diabetes mellitus • AMP-aktive protein kinaz • PI_3K yolağı

Kısaltmalar

ACC	Asetil-CoA karboksilaz
ACF	Aberan kript odakları
ACL	ATP sitrat liyaz
AKT/PKB	Protein kinaz B
CaMKK2	Ca^{2+}/kalmodülin-aktive kinaz kinaz
cAMP	Siklik adenozin monofosfat
CI	Güven aralığı
CRTCS	cAMP-'a cevap veren element bağlayıcı protein (CREB)-regüle transkripsiyon koaktivatörü
CSC	Kanser kök hücresi
DM	Diabetes mellitus
ER	Östrojen reseptörü
ERK	Ekstraselüler sinyal-regüle kinaz
FAS	Yağ asidi sentaz
FOXO	Forkhead box class O
GLUT	Glukoz taşıyıcısı
GPCR	G-protein birleşik reseptör
HCC	Hepatoselüler karsinom
HIF-1α	Hipoksi ile indüklenebilir faktör 1α
HOMA	Homeastaz model değerlendirmesi
IGF	İnsülin büyüme faktörü
IGFBP	İnsülin büyüme faktörü bağlayıcı protein
IGF-R	İnsülin büyüme faktörü reseptörü
IR	İnsülin reseptörü
IRS	İnsülin reseptör substratları
LKB1	Karaciğer kinaz B1
MAPK	Mitojen aktive protein kinaz
MEF	Fare embriyonik fibroblastı
mTOR	Memeli rapamisin hedefi

mTORC1	mTOR kompleks 1
NAFLD	Nonalkolik yağlı karaciğer hastalığı
Nampt	Nikotinamid fosforibosiltransferaz
OCT	Organik katyon taşıyıcısı
PDK1-3	Piruvat dehidrogenaz kinaz 1 ve 3
PET	Pozitron emisyon tomografisi
PI3K	Fosfatidilinositol 3 kinaz
rag	Rekombinasyon aktive edici gen
RR	Rölatif risk
SREBP-1	Sterol regülatör element bağlayıcı protein 1
TSC	Tüberöz skleroz
UMIN	Üniversite Hastanesi Medikal Enformasyon Ağı
VEGF	Vasküler endotelyal büyüme faktörü

İçindekiler

1 Giriş 357
2 Kanser ve Metabolizma 358
3 Diyabet ve Kanser 360
4 Metformin ve Kanser 363
4.1 Epidemiyolojik Çalışmalar 363
4.2 Etki Mekanizması ve Preklinik Çalışmalar 366
4.3 Klinik Çalışmalar 370
5 Sonuçlar 371
Referanslar 372

1 Giriş

Diabetes mellitus (DM) insülin sekresyonu, insülin etkisi veya her ikisindeki defektlerden kaynaklanan kronik hiperglisemi ve anormal karbonhidrat, yağ ve protein metabolizması ile karakterize metabolik bir bozukluktur. Yüzyıllardır bilinen ve tedavi edilen majör ve global bir sağlık problemidir. Avrupalılar Orta Çağ'dan beri DM hastalarında görülen iki semptom olan "susama ve sıklıkla idrar yapma" belirtilerini daha sonra bir guanidin türevi olan galegin gibi aktif komponentler içerdiği tespit edilen otsu bir bitki olan Galega officinalis ekstreleri ile tedavi etmiştir. 1920'lerde galeginin kan şekerini ve insülin rezistansını azaltıcı etkisi olduğu bulunmuştur. Fenformin ve metformin gibi biguanid türevlerinin 1950'lerde klinik kullanıma sunulması oral antidiyabetik farmakoterapinin geliştirilmesinde önemli bir kilometre taşı olmuştur. Fenformin nadir görülen

fatal laktik asidoz yan etkisi nedeniyle ABD ve diğer birçok ülkede 1978'den itibaren piyasadan çekilmiştir. Ancak geçici gastrointestinal toksisiteye ve çok nadir ağır laktik asidoza neden olan metformin, birinci basamak antidiyabetik tedavide diyet ve egzersiz ile birlikte hala yaygın olarak tercih edilmektedir [80].

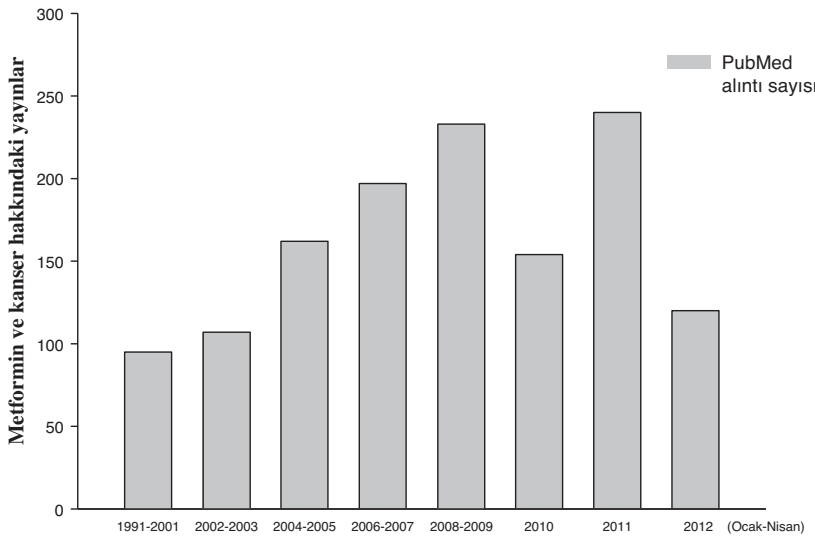
Güncel hasta serileri ve metaanalizlerde DM hastalarındaki kanser riskinin arttığı gösterilmiştir. Özellikle DM hastalarındaki metabolik dengenin deregülasyonunda rol oynayan başlıca organlar olan pankreas ve karaciğer kanserleri ile diyabet arasında güçlü bir ilişki gösterilmiştir [80]. Hiperglisemi ve hiperinsülinemi gibi metabolik patolojiler ve obezite ve yüksek oranda doymuş yağ içeren diyetler gibi DM ile ilişkili diğer unsurların da kanser için bağımsız risk faktörleri olmaları her iki hastalık arasındaki yakın ilişkiyi göstermektedir [39].

Buna karşın diyabet hastalarındaki metformin tedavisinin yaşam boyu kanser insidansında azalma ile korele olduğunu gösteren çeşitli retrospektif epidemiyolojik çalışmalar mevcuttur. Ayrıca günümüzde kanserin ana özelliklerinden biri olduğu kabul edilen metabolik programlama, antikanser tedavinin hedefi haline gelmiştir [73]. Bu bağlamda, NCI (Ulusal Kanser Enstitüsü) direktörü Harold Varmus dedike bir web sitesinde kanser araştırmalarındaki ilerlemeler ile ilgili kafa karıştırıcı problemler hakkında 24 provokatif soru sormuştur. Bu sorulardan kritik olan bir tanesi, yaygın ve kronik olarak farklı endikasyonlarda kullanılan bazı ilaçların (metformin ve diğerleri) kanserin insidans ve mortalitesini azaltabilen mekanizmalarının nasıl tanımlanacağıdır [9]. Metformin kanserde de etkili olan bir diyabet ilacı mı, yoksa diyabette de etkili olan bir kanser ilacı mıdır? [53]. Bu bölümde birçok tartışmanın yaşandığı bu alandaki tüm bu özellikleri gözden geçirerek soruların bazılarına cevap vermeye çalışacağız. Bu nedenle PubMed'de son 3 yıl içinde metformin ve kanser arasındaki ilişkiyi araştıran çok sayıda yayına rastlamak bir sürpriz değildir (Şekil 1).[1]

2 Kanser ve Metabolizma

Kanser hücrelerinin artan glukoz alımı ilk kez 1920'lerde Nobel Ödülü sahibi Otto Warburg tarafından tanımlanmıştır. Warburg etkisi adı verilen bu bulgu tümör hücrelerinin çoğunun yüksek oksijen basıncı (örn. aerobik glikoz) olan durumlarda bile korunan glikoliz artışı ile karakterize olmalarıdır. Bu artışı laktat üretim seviyelerinin artması takip eder. Bu metabolik durum, normal hücrelerin çoğundaki mitokondrial piruvatın oksidasyonu ile ilişkili olan düşük glikolitik oranlarla kontrast teşkil eder [12]. Warburg bu metabolizma değişiminin kanserin temel nedeni olduğu görüşünü de öne sürmüştür. Günümüzde, kanser hücrelerinin büyümelerinde hayati önemi olan çeşitli biyosentetik yolakların yönetilmesinde karbon kaynağı olarak artan oranlarda glukoz kullandıklarını

[1] http://provocativequestions.nci.nih.gov



Şekil 1 Grafik son 20 yıl içindeki PubMed kayıtlarında metformin ile kanser hakkındaki ilişki ile ilgili alıntıların sayısındaki artmayı göstermektedir (Mayıs 2012).

biliyoruz [47]. Glukoz metabolizmasındaki değişimler karsinogenezin erken dönemlerinde oluştuğu için, hem primer hem de metastatik kanserlerde alımı artan radyoaktif işaretli deoksiglukozu kullanarak kanseri teşhis etmeyi amaçlayan pozitron emisyon tomografisinin (PET) günümüzdeki kullanımının temeli Warburg etkisine dayanmaktadır [25, 79].

Aerobik glikolizin öncelikli kullanımı, yüksek oranda proliferatif olan hücrelerin sürekli değişen oksijen basıncı koşullarındaki sağkalımını iyileştirmektedir. Aksi halde sürekli değişen oksijen koşulları ATP üretimi için oksidatif fosforilasyona ihtiyaç duyan normal hücreler için öldürücü olacaktır [68]. Ayrıca kanser hücreleri tarafından üretilen laktik asit hücresel pH'yı etkileyerek tümör invazyonunu ve antikanser immun efektörlerin supresyonunu destekleyebilir. Pentoz fostat sistemi ile glukozu metabolize edebilen tümörler, yağ asidi sentezine katkı yapabilen ve kemoterapötik ajanlarla karşı koruyabilen NADPH üretebilirler [25, 73].

Warburg etkisi uzun yıllardır bilinmesine rağmen bu fenomenin altında yatan moleküler mekanizma henüz bilinmemektedir. Ayrıca antikanser yaklaşımlar için selektif bir hedefin tanımlanması da güçtür. Bazı yayınlarda, glukoz-6-fosfat dönüşümünü katalizleyen ve glikolitik yolakların birinci basamağının hızını sınırlayan bir metabolik enzim olan heksokinazın bir antikanser hedef olabileceği bildirilmiştir [87]. Ayrıca hem glikolitik yolaklarda rolü olan çeşitli metabolik reaksiyonların ve hem de tümör progresyonunu ve enflamatuar cevabı (örn. sirtuinler) etkileyen faktörlerin regülasyonunda hayati rol oynayan nikotinamid fosforibosiltransferaz (Nampt) ile ürünü olan nikotinamid adenin dinükleotid de (NAD) antikanser bir hedef olabilir [24].

Yeni yağ asidi üretim artışının kanser hücrelerinde hayati bir metabolik değişim olduğu ve ATP sitrat liyaz (ACL), asetil CoA karboksilaz (ACC) ve yağ asidi sentaz (FAS) gibi lipojenik enzimlerin hiperaktivitesi ile ilişkili olduğu düşünülmektedir [48]. FAS bir çok kanser türünde aşırı eksprese olur [81]. FAS'ın kimyasal inhibitörlerinin kanser hücrelerindeki proliferasyonu azaltıp, apoptozu artırdığı gösterilmiştir [48]. Güncel çalışmalarda kanser hücrelerindeki Warburg etkisinin, mitokondrial entegrasyon ve fonksiyonu korumak amacıyla, Krebs döngüsü yoluyla piruvat akışında azalmaya ve nonglukoz karbon kaynaklarının (örn. yağ asitleri) oksidasyonunda kaymaya yol açan mitokondrial ayrışmaya (kanser hücrelerinde mitokondrial membran potansiyeline cevap olarak ATP sentezinin ortadan kalkması) bağlı olabileceği bildirilmiştir [71]. Ancak diğer bazı yayınlarda Warburg etkisinin daimi mitokondrial disfonksiyonunda rol oynamayabileceği bildirilmiştir [87]. İlginç biçimde hücreleri sitotoksik saldırılara karşı daha dirençli hale getiren mitokondrilerin birbirlerinden ayrılmaları ve+ kemorezistans ile ilişkili olan yağ asidi oksidasyonunda artışın kanser tedavisinde ilave terapötik hedefler olma ihtimali vardır.

Kanser hücrelerinin metabolik yeniden programlanmaları ile il. bir başka hedefte düşük oksijenli ortama maruz kalan hücrelerin adaptasyonunda rol oynadığı düşünülen hipoksi ile indüklenen gen ekspresyonunu modüle eden bir transkripsiyon faktörü olan hipoksi ile indüklenen faktör 1a'dır (HIF-1α). Bu tür genler glikolizde rol oynayan genleri kaplar ve glukoz taşıyıcıları içerirler (GLUT1 ve GLUT3). Ayrıca güncel makalelerde, piruvat dehidrogenazın fosforilasyonunu ve devamında kanser hücrelerindeki mitokondrial respirasyonu kolaylaştıran piruvat dehidrogenaz kinaz 1 ve 3 (PDK1-3) ekspresyonunun HIF-1 tarafından indüklendiği gösterilmiştir [44, 52, 65].

Özet olarak hücresel metabolizmanın mitokondrial respirasyondan glikolize doğru kayması kanser hücrelerinin transformasyon ve progresyonları ile kemorezistansı yönlendirdiği için antikanser tedavide hayati bir hedef olarak değerlendirilmelidir.

3 Diyabet ve Kanser

DM iki predominant alt tipten oluşan (tip 1 ve 2) ve farklı metabolik aktiviteler ile karakterize olan bir grup metabolik bozukluktur. Tip 1 diyabette (tüm diyabetiklerin %5-10'u) endojen insülinin mevcut olmaması, insülin salgılayan β-pankreatik hücrelerin otoimmün harabiyetine bağlanır ve eksojen insülin uygulanmasını gerektirir. Buna karşın tip 2 diyabet ise (tüm diyabetiklerin %90'ı) uzun süreli hiperinsülinemi ve hiperglisemi ile karakterize olup periferik dokularda insülin rezistansı mevcuttur. Tip 2 diyabet tedavisinde sadece β-pankreatik hücrelerin fonksiyonlarını kaybetmeleri durumunda eksojen insülin tedavisi gerekir [39, 80]. Günümüzde DM tedavisinde kullanılan birçok ilaç çeşidi mevcuttur. Bunlar arasında hastaların pankreatik hücrelerindeki insülin üretim eksikliğni kompanse eden insülin, insülin analogları ve

insülin sekretagogları mevcuttur. Bir başka grup olan insülin duyarlılığını artırıcılar da, insülin rezistansını tedavi edebilen oral antidiyabetikler olan metformin veya tiazolidindionlar gibi ilaçları içerir. Son olarak akarboz gibi glukozidaz inhibitörleri de postprandiyal hipergliseminin önlenmesi amacıyla karbonhidrat sindirimi üzerinde etki gösterirler. Genel olarak tüm diyabetik ilaç sınıfları, DM ile sıklıkla birlikte görülen obezitenin engellenebilmesi için diyet ve egzersiz gibi hayat tarzı değişiklikleri ile birlikte kullanılırlar [62].

DM retinopati, nöropati, kardiyovasküler hastalıklar ve birçok çalışmada da bildirildiği üzere kanser riskinde artış gibi birçok komplikasyona neden olmaktadır.

Diyabetiklerden oluşan vaka kontrol ve kohort çalışmalarındaki kanserin rölatif riskini (RR) inceleyen çeşitli metaanalizlerde kanser ve kansere bağlı mortalitede hafif bir artış gösterilmiştir. Bu artış hem solid hem de hematolojik maligniteler için geçerli olsa da, spesifik bazı bölgelerdeki kanserler daha fazla artmaktadır. Rölatif risk artışı, DM gelişiminde rol oynayan başlıca organlar olan pankreasın (RR 2.50 %95 CI 1.8-3.5) ve karaciğerin (RR 1.94 %95 CI 1.53-2.46) kanserlerinde gösterilmiştir [22, 37].

Daha önce yayınlanan metaanalizlerde önceden mevcut olan diyabetin ekzokrin pankreatik kanserinin oluşumunu kolaylaştıran bir faktör mü olduğu ya da kanserin bir sonucu olarak mı ortaya çıktığı tespit edilemediği için, diyabetle pankreatik kanser arasındaki ilişkinin kesin olarak tanımlanması güçtür.

Orta yaşlı hastaların kaydedildiği güncel tarama çalışmalarında erken başlangıçlı diyabet pankreas kanserinin erken başlama ihtimalinin potansiyel göstergesi olarak kullanılmaktadır. Yaşlı hastalardaki pankreas kanserinde yüksek tahmin gücü olduğu gösterilen bu yöntem yaşlı diyabetiklerdeki 3 yıllık pankreas kanseri riskinin benzer yaş ve cinsiyetteki nondiyabetiklere göre 8 kat daha fazla olduğunu göstermiştir. Farklı çalışmalarda da yeni başlayan diyabetin normal pankreas dokusundaki değişimlerden çok pankreatik tümörlerinin sitokin üretiminden kaynaklanan erken bir olay olduğu gösterilmiştir [15, 64]. Metaanalizler yaş, ırk, sigara ve yükleme sonrası glukoz seviyelerine göre düzeltildiğinde hastalığın yeni başladığı diyabetik hastalardaki rölatif riskin yüksek kalması ilginç bir bulgudur. Bu bulgular hiperglisemi ve prediyabetik evrenin pankreas kanseri için risk faktörü olabileceğini ve kanser progresyonunun desteklenmesinde insülinin önemli rol oynadığını göstermektedir. Ancak tip 1 diyabetik hastalardaki pankreatik hücreler diğer dokulara kıyasla daha fazla insüline maruz kalmadıkları için, kanser progresyonunun desteklenmesinde tek başına insülin varlığı yetersizdir [64, 80].

Diyabetik hastalarda karaciğer kanserinin insidansında artış görülmesinin (özellikle hepatoselüler karsinom-HCC) başlıca nedeni karaciğer hücrelerinin portal dolaşım yolu ile maruz kaldıkları insülin seviyesinin artmasıdır. Bu durum özellikle tip 2 diyabetteki hiperinsülineminin ve insülin rezistansının şiddetlenmesi ile karakterize olan fizyolojik ve patolojik durumlar için geçerlidir. Eksojen insülin ile tedavi edilen tip 1 diyabet hastalarının karaciğer hücrelerindeki insülin düzeylerinin diğer organlar ile aynı seviyede olması dikkat çekicidir. Yukarıda pankreas kanseri ile ilgili olarak benzer şekilde bahsedil-

diği üzere, karaciğer kanserinde de artmış insülin düzeyleri kanser ve diyabet arasındaki korelasyonu açıklayamamaktadır. Bu nedenle çeşitli epidemiyolojik çalışmalarda diğer faktörler analiz edilmiştir. Örneğin iki hastalık arasında bağlantıya neden olan faktörler olarak hepatik steatoz ve siroz ile hepatit B ve C enfeksiyonları gösterilmiştir. Benzer şekilde nonalkolik yağlı karaciğer hastalığının da obez diyabetik hastalar ile tip 2 diyabet hastalarının %80'inde kanser riski için önemli bir faktör olabileceği bildirilmiştir [16, 18].

Sonuç olarak diyabet ile kanser arasındaki ilişki hala netleşmemiş olup diyabet tek bir rahatsızlıktan oluşan bir hastalık olmadığı için konunun yeniden değerlendirilmesi gerekmektedir. DM bir grup metabolik bozukluktan oluşur. Bu bozuklukların her biri hastaları farklı şekilde etkileyen özel metabolik ve hormonal anormalliklerle karakterize olur. Bu nedenle diyabetik hastaların homojen bir kohort olarak değerlendirilmesi güçtür. Diyabet ve kanser arasındaki bu kompleks ilişkiyi anlayabilmek için yeni çalışmalara ihtiyaç vardır.

Ayrıca fiziksel aktivite eksikliği, sigara, cinsiyet, etnik köken, komorbiditeler, tedavinin süresi, metabolik kontrolün kalitesi ve tedavi sırasında değiştirilen antidiyabetik ilaçların sayısı gibi birçok karıştırıcı faktör de mevcuttur. Bu tür faktörler metaanaliz sonuçlarını etkileyebilmektedir. Bu bağlamda yapılan güncel bir çalışmada insülin düzeylerinin erken takip için (teşhis sonrası ilk 5 yıl) fizyolojik bir gösterge olabileceği, leptin gibi obezite ile ilişkili faktörlerin de meme kanserinin uzun süreli takibinde önemli bir marker olabileceği gösterilmiştir [27].

Diyabetik hastalarda gözlenen tümör büyümesinde, moleküler düzeyde birçok faktör rol oynayabilir. Diyabet karsinogenezi, insülinin sadece metabolik yolakları modüle etmekle kalmayıp ekteki iki özgün mekanizma ile mitojenik sinyali de modüle eden kompleks aşağı yönlü sinyal ağı ile de destekleyebilir: (a) Hiperglisemi ve hiperinsülinemiyi de içeren spesifik değişimlerle ilişkili sistemik mekanizmalar ve (b) Spesifik organları etkileyen bölgeye özel mekanizmalar [80]. Hiperinsülinemi ilginç biçimde, epitel hücrelerindeki insülin reseptörlerini (IR) aktive ederek veya insülin büyüme faktörleri (IGF'ler), seks hormonları ve enflamatuar medyatörler gibi diğer modülatörleri indirekt olarak etkileyerek tümörijenezi destekler. Örneğin insülin çoğunlukla kanser hücrelerinde eksprese olan IR'nin A izoformuna bağlanarak IR substratları (IRS1-4) gibi adaptör proteinler yoluyla etki gösteren mitojenik sinyal yolaklarını tetikleyebilir. Bu sinyal mitojen aktive protein kinaz (MAPK) yolağının aktivasyonuna (insülin rezistansı varlığında korunan aktivasyon) ve AKT ve memeli rapamisin hedefi (mTOR) aracılığındaki sağkalım sinyalinin indüklenmesine neden olur [39, 55]. İnsülin yukarıda da bahsettiğimiz üzere, IGF'ler ve bunların aynı kökten gelen reseptörleri (IGF-R) vasıtasıyla indirekt etki gösterebilir. İnsülin rezistansı ve artmış insülin düzeyleri IGF'leri insülin büyüme faktörü bağlayıcı proteinlerden (IGFBP) ayırarak, tümör büyümesini ve kanser progresyonunu artırabilen serbest IGF düzeylerinde artışa yol açar. Meme kanseri hücre dizilerinde, insülin ile bu tümörde çok miktarda eksprese edilen IR izoformu olan IRA homodimeri ve IR-A/IGF1R heterodimeri arasında gözlenen etkileşim tümörijenezi stimüle eder ve sağkalım yolaklarını güçlendirir [6,

56, 66]. Ayrıca IGF1R'nin polimorfik formunun küçük hücreli dışı akciğer kanseri ile, IGF2R'nin polimorfizminin de gastrik kanser riski ile ilişkili olduğu gösterilmiştir [36, 86]. Meme kanserinde tümörün alt tipinden bağımsız olarak (örn. luminal, üçlü negatif veya Her2+) IGF1R/IR aktivasyonu gözlenmiştir. Bu aktivasyon sağkalımda azalma ve östrojen reseptörü ve Her ailesinin üyelerini de kapsayan hedefe yönelik tedavilere rezistans ile ilişkilidir. Yazarlar ayrıca spesifik tirozin kinaz inhibitörü olan BMS-536924'ün, meme kanserinin alt tipinden bağımsız olarak bu tür bir rezistansın üstesinden gelmek ve sağkalımı artırmak için kullanılabileceğini öne sürmüşlerdir [50].

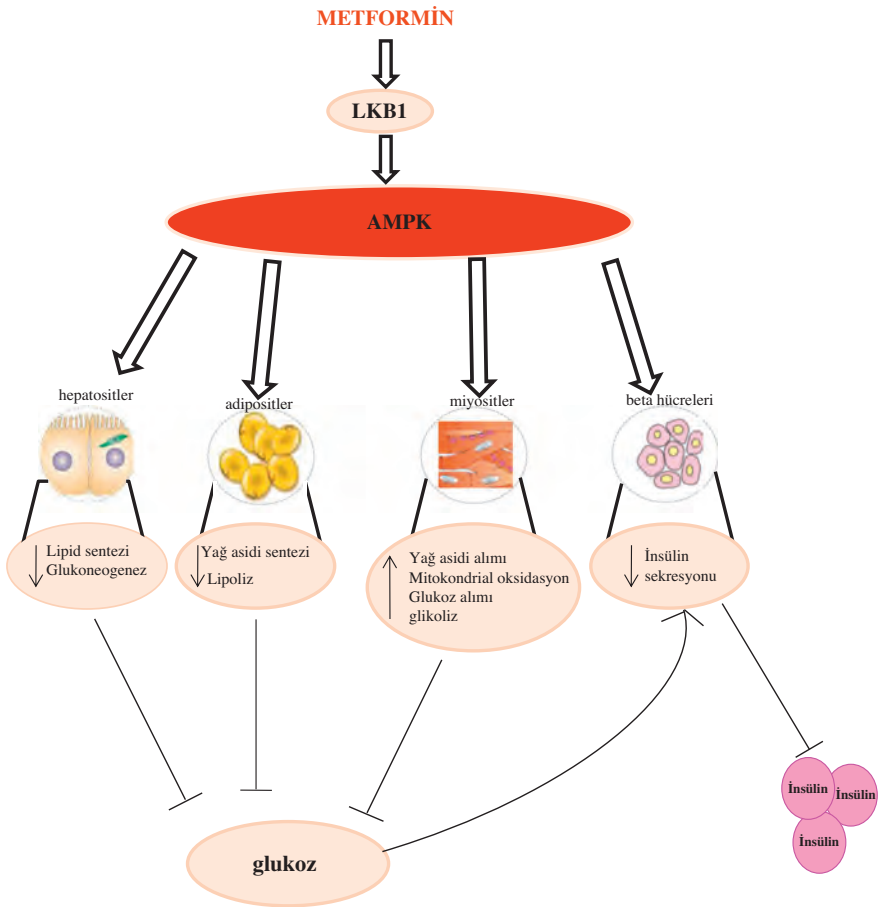
Yükselmiş insülin seviyeleri insülin rezistansı ile ilişkilidir. Bu rezistans overlerde üretilen serbest östrojen seviyelerini artırarak, seks hormonu bağlayıcı globülini bloke ederek ve adipöz dokudaki androjenin östrojene dönüşümünü artırarak tümörijenezi destekleyebilir [39, 80].

4 Metformin ve Kanser

4.1 Epidemiyolojik Çalışmalar

Bir biguanid türevi olan metformin (1, 1-dimetilbiguanid hidroklorid) oral bir hipoglisemik ajandır. Metformin başlıca hepatositler, miyositler, adipozitler ve pankreastaki β hücrelerinde etki gösterir (Şekil 2). Metformin karaciğerdeki glukoz üretimini inhibe ederken, periferik dokulardaki insülin sensitivitesini artırarak, iskelet kası ve adipöz dokuların glukoz alımının ve kullanımının artışına yol açar. Primer etkisi plazma insülin ve glukoz düzeylerinin azalmasıdır. Bunu kan glukoz kontrolünde iyileşme ve diyabetle ilişkili komplikasyonların azalması takip eder [8, 20]. Metforminin moleküler düzeydeki glukoz düşürücü etkisinin başlıca metabolik medyatörü hücresel enerji metabolizmasının regülasyonunda rol oynayan bir serin treonin kinaz olan AMPK aktivasyonudur [45, 67] (bkz. bölüm 5). Metformin görece düşük fiyatı, güvenli bir ilaç olarak bilinmesi ve kardiyovasküler hastalıkların önlenmesindeki etkileri nedeniyle tip 2 diyabette en sık reçetelenen birinci basamak ilaçlardandır [7]. Metforminin hafif-orta düzeyde toksisitesine bağlı olarak görülen bulantı, kusma ve diyare gibi gastrointestinal rahatsızlıklar doz azaltımı ile engellenebilir. Laktik asidoz nadir görülmesine rağmen en ciddi görülen yan etkisidir. En çok, mevcut hepatik, kardiyak veya renal komorbiditeleri olan yaşlı hastalarda görülür [20].

Son dekadda yapılan epidemiyolojik gözlem çalışmalarında DM hastalarında metformin kullanımının kanser insidansında azalma ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Evans ve. ark. tarafından yapılan 11.876 yeni tanı almış tip 2 diyabet hastası arasında bulunan 923 kanser hastasının değerlendirildiği vaka kontrol çalışmasında metformin tedavisi gören hastalardaki kanser insidansının diğer gruplara göre daha düşük olduğu ilk kez



Şekil 2 Metforminin tip 2 diyabet olan hastalardaki çeşitli dokularda ATP tüketen yolakların aşağı regülasyonuna ve ATP üreten yolakların yukarı regülasyonuna yol açan etkileri.

gösterilmiştir. Ayrıca tedavinin süresi ve reçetelerin sayısı da kanser insidansını etkilemektedir: Tedavi süresinde ve reçete sayılarındaki artış daha düşük kanser insidansı ile ilişkili bulunmuştur [23].

Bu çalışmadan sonra giderek artan sayıda retrospektif analiz yapılmaktadır. Bowker ve ark. 2006 yılında farklı tedaviler uygulanan (metformin, sülfonilüreler ve/veya insülin) 10.309 diyabet hastasından oluşan bir kohortun 5.4 yıl boyunca takip edildiği bir popülasyon çalışması gerçekleştirmiştir. Çalışmada sadece metformin ile tedavi edilen (insülin kullanmayan) hastalardaki kanser ölümlerinin, süfonilüre ile tedavi edilen hastalara göre (insülin kullanımından bağımsız olarak) azaldığı bildirilmiştir [11, 62]. Çalışmada tedavi görmeyen bir kontrol grubu olmadığı için, kanser riskinin metformin tarafından mı azaltıldığı yoksa insülin tarafından mı artırıldığı maalesef tespit edilememiştir.

Diğer gözlemsel çalışmalarda da benzer trendler bildirilmiştir [3, 60]. Kanser insidansı ve mortalitesinde metformin tedavisi ile görülen azalmanın, insülin varlığında veya insülin dozunun ayarlanması sonrasında da ilginç biçimde korunmuş olması metforminin etkilerinin insülinden bağımsız olduğunu düşündürmektedir [60].

Son zamanlarda, metforminin kanser insidansı ve mortalitesi üzerindeki etkisini anlamayı amaçlayan çeşitli metaanalizler yapılmıştır. Decensi ve ark. kapsamlı literatür taraması ile tespit ettikleri dil veya zaman sınırlaması olmayan 11 epidemiyolojik çalışmayı (tüm kanserlerle ilgili 5 kapsamlı çalışma ile, tek kanser tipine odaklanan 6 çalışma) incelemiştir. Analizden elde edilen veriler metformin tedavisinin kanser insidans ve mortalitesinde doza bağlı olarak %31'lik artış ile ilişkili olduğunu göstermiştir. İlginç biçimde, metformin tedavisi ile hepatoselüler ve pankreas kanseri arasında anlamlı bir korelasyon bulunurken, kolon, meme ve prostat kanserleri ile anlamlı bir korelasyonun tespit edilememiş olması metforminin etkilerini kanserin bölgesine spesifik olarak gösterdiğini düşündürmektedir [19]. 1353 tip 2 diyabet hastasında yapılan güncel bir çalışmada da metformin tedavisinin 9.6 yıllık takipteki kansere karşı koruyucu etkilerinin doza bağlı olarak ortaya çıktığı konfirme edilmiştir [1, 49].

Farklı ülkeleri kapsayan geniş kapsamlı popülasyon tabanlı verilerin kullanıldığı başka bir metaanalizde ise metformin tedavisinin kanserlerin (herhangi bir bölgedeki) insidans ve mortalitesini yaklaşık %33 oranında azalttığı gösterilmiştir. Azalma oranlarında kanserin bölgesine göre farklılıklar görülmüştür. Metformin tedavisi kolon, akciğer ve karaciğer kanseri risklerini de azaltmış, ancak hormona bağımlı prostat ve meme kanserleri ile pankreas ve gastrik kanser gelişimini etkilememiştir [61].

Metforminin metastaz gelişimindeki rolünü ve kemoterapinin etkinliğini artırıp artırmadığını anlamak amacıyla retrospektif analizler yapılmıştır. Özellikle akciğer kanseri olan diyabetik hastalarda yapılan bir analizde, metformin tedavisinin metastatik hastalığı azalttığı [57, 58] ve kemoterapötik etkinliği artırdığı bulunmuştur [78]. Jiralerspong benzer şekilde metformin tedavisinin, neoadjuvan kemoterapi alan meme kanseri hastalarındaki toplam patolojik cevabı artırdığını gözlemiştir Metformin 3 yıllık tahmini relapssız sağkalım oranlarını maalesef artırmamıştır [1, 42]. Buna karşın, metformin tedavisinin üçlü negatif meme kanserindeki genel sağkalım, hastalıksız sağkalım veya distal metastaz gelişimi üzerinde herhangi bir pozitif etkisi tespit edilememiştir [4].

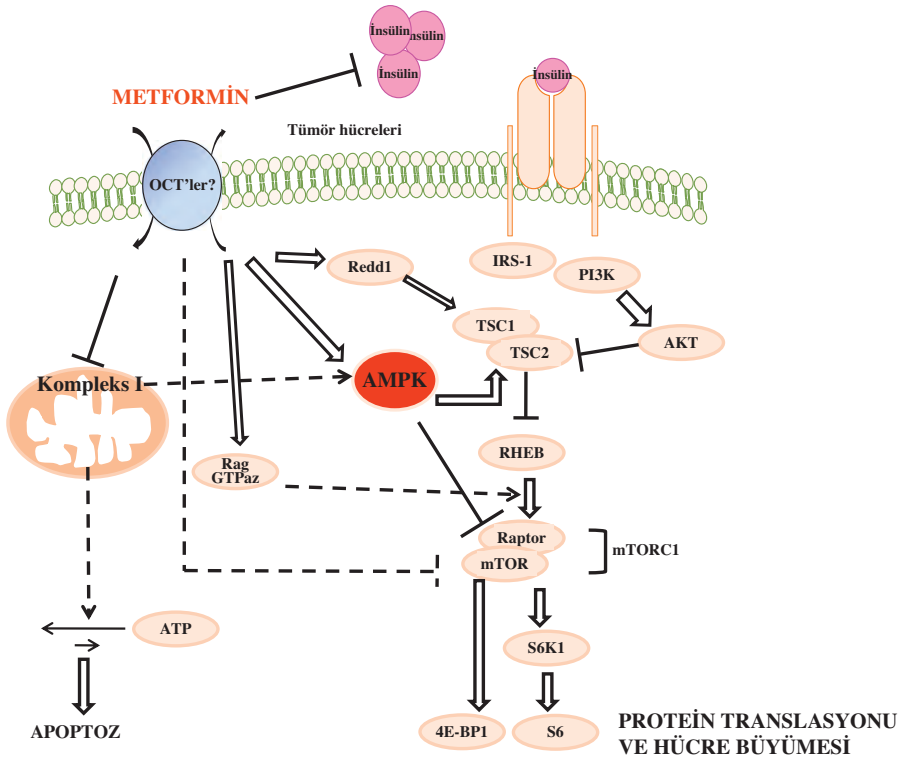
Sonuç olarak bazı çalışmalarda metforminin antikanser ilaç olarak kullanımı önerilmiş olmasına rağmen, mevcut kısıtlamaların göz önüne alınması gerekmektedir. Bu çalışmaların bir çoğu retrospektif çalışmalardır. Elde edilen veriler de popülasyon tabanlı kayıtlardan değil, klinik ve hastane kayıtlarından alınmıştır. Ayrıca çeşitli tedaviler uygulanan diyabetik hastalar metformin uygulamasına göre veya objektif kriterler kullanılarak randomize edilmemiştir (örn. kanser hikayesi olan bazı hastalar kanser riskini araştıran çalışmalarda yer almıştır). Ayrıca önemli kanser riskleri ile prognostik faktörler arasında bir dengesizlik olduğu da aşikardır. Ancak yine de bu tür gözlemsel çalış-

malar ile metforminin olası antitümör etkilerinin gösterilmiş olması prospektif klinik çalışmalar için bir altyapı oluşturmuştur.

4.2 Etki Mekanizması ve Preklinik Çalışmalar

Metforminin antitümör etkilerini açıklayabilmek amacıyla farklı mekanizmalar öne sürülmüştür. Ancak moleküler düzeydeki ana etkisi AMPK aktivasyonudur [21, 63]. AMPK metabolizma ve stresi algılayan hücresel sensör görevi yapar. Örneğin oksidatif stres, iskemi ve diğer faktörler AMP:ATP oranınında artışa yol açarak sonuçtaki AMPK aktivasyonunu artırırlar [20]. AMPK şu üç bağımsız mekanizma ile metformin tarafından aktive edilebilir: (1) AMPK'nın katalitik alt ünitesindeki Thr 172'nin fosforilasyonunun LKB1 (karaciğer kinaz B1) tarafından indüklenmesi ile [51]; (2) İndirekt olarak respiratuar zincirdeki kompleks I'in inhibisyonu ile; ve (3) Oligomisin gibi mitokondrial ATP sentezinin diğer inhibitörlerinin aktivasyonu ile. Respiratuar zincirdeki kompleks I'in blokajının düşük oksijen tüketimine yol açmasını, takip eden NAD+/NADH oranının modülasyonu ve AMP:ATP oranındaki artış, AMPK aktivasyonunda artışa yol açar [1]. Memelilerdeki bir diğer önemli kinaz da, AMP:ATP oranını değiştirmeden intraselüler Ca2+ artışına cevap olarak alternatif AMPK yolağını aktive eden Ca2+/kalmodulin aktive kinaz kinazdır (CaMKK2) [31]. Aktive AMPK fizyolojik şartlardaki hipoglisemik etkilerini Glut1 düzeylerinin artışını indükleyerek glukoz alımını artırdığı karaciğer, β-pankreatik hücreler, kaslar ve adipoz dokuda gösterir. AMPK ayrıca glikoliz gibi ATP üreten yolakları indüklerken, glukoneojenez, glikojen sentezi ve kolesterol sentezi gibi ATP tüketen yolakları inhibe eder [39, 45, 67]. AMPK aktivasyonu glukoz ve yağ asitlerinin oksidatif katabolizmalarının indüklenmesinde ve mitokondrial biyogenezin regülasyonunda hayati rol oynamaktadır. Ayrıca AMPK aktivasyonu, mTOR yolağını bloke ederek protein sentezinin inhibisyonuna da yol açar [31]. AMPK aktivasyonu genel olarak hem hipoglisemik etki gösterir hem de tümör gelişiminde rol oynayan çeşitli yolakları direkt olarak etkiler.

AMPK bu bulguların ışığında bir tümör baskılayıcı olarak kabul edilebilir. Solid tümörlerde genel olarak mutasyona uğrayan yukarı yönlü kinaz LKB1'in de tümör baskılayıcı etkiye sahip bir gen olması dikkate değerdir. LKB1 geni küçük hücreli olmayan akciğer kanserlerinin yaklaşık %30'unda ve servikal kanserlerin yaklaşık %20'sinde, genin kendi fonksiyonun kaybına yol açan mutasyonlara uğrar [40, 83]. LKB1 mutasyonlarının hücre büyümesini, hücre siklus progresyonunu ve polariteyi etkilediği gösterilmiştir [30, 82]. Ayrıca LKB1'in küçük hücreli olmayan akciğer kanserlerinde sıklıkla kRAS ile birlikte mutasyona uğraması tümör insidansı ve metastaz artışlarını indükler [30]. AMPK inhibisyonu, B-RAf V600E mutasyonuna sahip melanomlara yol açar. İçindeki LKB1 iki C-terminal bölgesinde fosforillenmiştir [88] ve AMPK'yi aktive edemez. Ayrıca birçok tümörde sıklıkla mevcut olan AKT hiperaktivasyonu, AMPK'nın LKB1 tarafından fosforilasyonunu ve aktivasyonunu inhibe eden ser485'teki AMPK'nın fosfo-



Şekil 3 Metformin insüline bağımlı olan ve olmayan mekanizmalar ile antitümör etki gösterir. AKT-mTOR yolağının inaktivasyonu ve/veya AMPK ve mitokondrial kompleks I üzerinde etki göstererek sırasıyla apoptoz artışına, protein translasyonunun aşağı regülasyonuna ve hücre büyümesinin inhibisyonuna yol açar.

rilasyonunu indükler [34]. AMPK'nin olumlu bir prognoz markeri olduğu bir başka çalışmada da gösterilmiştir. pAMPK ve pMAPK3/1'in konkomitant artışlarının, kolorektal kanser hastalarının tedavisi için olumlu prognostik faktörler olduğu düşünülmektedir. Bu bulgu bu iki yolağın ve yeni terapötik stratejilerin muhtemel bir etkileşimi olduğunu düşündürmektedir [2].

Metforminin antikanser etkilerinin şu iki özgün mekanizma ile gerçekleştiği düşünülmektedir: İndirekt insüline bağımlı etkisi ile insülinden bağımsız direkt olarak tümör üzerindeki etkisi (Şekil 3) Metforminin indirekt etkileri karaciğerde gerçekleşir. Burada AMPK aktivasyonunu indükleyerek hepatik glukoneogenezi inhibe etmesini takiben dolaşımdaki glukoz ve insülin düzeyleri azalır. İn vitro ve in vivo çalışmalarda metforminin diğer biguanidlere benzer şekilde glukozdan yoksun hücrelerdeki 4E-bağlayıcı proteinin hiperaktivasyonunu indükleyerek katlanmamış protein cevabının inhibisyonu ile mTOR yolağının güçlü inhibisyonuna yol açtığı gösterilmiştir [56]. Ayrıca Buzzai ve arkadaşları

da kolorektal hücre dizilerinde, metformine cevap olarak gelişen AMPK aktivasyonu ile oluşan glukoz deprivasyonu ile indüklenen p53'e bağımlı otofajiyi göstermişlerdir [14]. Buna karşın p53 statüsünün meme kanseri hücrelerinin metformin sensitivitesi ile ilişkili olmadığı görülmektedir. Metformin glukoz deprivasyonuna cevap olarak hem kaspaza bağımlı hem de kaspazdan bağımsız mekanizmalarla apoptozu, NAD+ düzeylerindeki azalma ile ilişkili hücresel enerji kolapsına bağlı mitokondrial morfolojideki ve membran permeabilitesindeki eş zamanlı değişimlerle birlikte indükler [90]. Ayrıca, pankreatik kanser hücrelerinin, insülin/IGF1 reseptörleri ile G-proteinine bağlı reseptörler (GPCR) arasındaki etkileşimi (crosstalk) indükleyerek, mTORC1, ERK, ve PI_3K tarafından indüklenen hücre büyümesinde ve sağkalım sinyalinde artışa yol açtığı son zamanlarda gösterilmiştir. İyi tanımlanmış KRAS efektörleri olan ERK ve PI_3K pankres kanserlerinin %90'ında mutasyona uğrar. Yukarıda sözü geçen etkileşim bu mutasyonlar tarafından güçlendirilir. İlginç bir şekilde metforminin IR/IGF1R ve GPCR'ler arasındaki etkileşimi bozarak her iki hücre dizisindeki [46] ve ksenograft modellerindeki hücre proliferasyonunu azalttığı gözlenmiştir [70].

Metforminin indirekt etkisi Memmott ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada tütün karsinojeni ile indüklenen akciğer tümörijenezinin metformin tarafından engellendiğinin gözlenmesi ile konfirme edilmiştir. Özellikle, metforminin tümör yükünü azalttığı ve tümörlerdeki mTOR'u eş zamanlı olarak belirgin şekilde aşağı regüle ettiği gösterilmiştir. Metformin mTOR'u karaciğerdeki AMPK'yı aktive ederek inhibe ederken, IR/IGF1R'yi indirekt olarak aşağı regüle ettiği ve AKT'yi azalttığı akciğerde aynı inhibisyona yol açmaması ilginçtir [59].

Metforminin kanser büyümesi üzerindeki direkt etkisi insülinden bağımsızdır ve lipojenik yolaklar gibi çeşitli yolakları SREBP-1 (sterol regülatör element bağlayıcı protein 1) supresyonu, hücre döngüsünün p53 ve FOXO3a [84] fosforilasyonu ile regülasyonu veya CRTCS fosforilasyonu (cAMP'a cevap veren element bağlayıcı protein (CREB)-regüle transkripsiyon koaktivatörü) ile östrojene bağımlı yolağın modülasyonu ile birçok yolağı inhibe eden AMPK'nin aktivasyonunda rol oynayabilir [13]. Direkt AMPK'ya bağımlı etki, AMPK'nın TSC2 üzerindeki direkt etkisini de kapsayabilir ve aşağı yönlü sinyalinin bir sonucu olarak hem protein sentezini hem de hücre döngüsünün progresyonunu azaltır. TSC2 kaybı sırasında, AMPK'nın mTOR ile ilişkili protein Raptor'u fosforilleyerek mTOR'u direkt olarak etkilediği öne sürülmüştür [29]. Ayrıca AMPK aktivasyonu ile metabolik sinyallerde rol oynayan bir protein olan adiponektin arasındaki korelasyonda son zamanlarda gösterilmiştir. Adiponektinin fizyolojik konsantrasyonlarının normal kilolu hastalardaki AMPK'yi aktive ederek ve S6 K'yı inhibe ederek prostat ve kolon kanserini engellediği bulunmuştur. Bu bulgunun düşük adiponektin seviyeleri olan obez hastalarda görülmemesi daha düşük AMPK aktivasyonuna ve tümör büyümesinde artışa yol açar. Yazarlar sonuç olarak, metforminin AMPK aktivatörü görevi yaparak adiponektine karşı olan rezistansı engelleyerek hücre büyümesini engellediğini belirtmişlerdir [85].

Metforminin TSC2 ve AMPK'dan bağımsız olarak mTOR üzerinde direkt etki yaptığı son zamanlarda gözlenmiştir [43]. Bu çalışmada metforminin MEF içindeki mTOR ak-

tivitesini azaltan bir protein olan Rheb içeren hücresel kompartmanlardaki mTORC1'in direkt translokasyonunda rol oynayan bir GTPaz proteini olan Rag'ı inhibe ederek antitümör etki gösterdiği bulunmuştur [43]. Bu bulguları konfirme edecek şekilde, pankreas hücreleri ile yapılan güncel bir çalışmada metforminin mTOR yolağını direkt olarak (p53'e bağımlı bir şekilde), mTOR'un negatif regülatörü olan REDD1'i AMPK'dan bağımsız bir mekanizmayla artırarak etkilediği gösterilmiştir. Ayrıca REDD1'in indüklenmesi ile AMPK1'den bağımsız olarak siklin D1 düzeylerinin azalması hücre döngüsünde durmaya yol açmıştır [8]. Metforminin tümör üzerindeki AMPK'dan bağımsız bir başka direkt etkisi de respiratuar zincirdeki kompleks I'i modüle ederek ATP düzeylerinin regülasyonuna yol açarak apoptozu etkilemesi olabilir.

Tümörlerin artan heterojenitesini baz alarak yapılan çeşitli güncel çalışmalarda metforminin özellikle kanser kök hücrelerini de (CSC) kapsayan kanser hücrelerinin alt kümelerinde selektif etki gösterdiği öne sürülmüştür [5, 33]. Bu hipotezi ilk kez metforminin üçlü negatif meme kanseri hücrelerindeki kanser kök hücrelerini selektif olarak hedefleyerek doksorubisin ile sinerjistik antitümör aktivite gösterdiğini gözlemleyen Hirsch ve ark. [33] öne sürmüştür. Bu bulgu metforminin çeşitli kanser hücre modellerinde farklı kemoterapötik ajanlarla kombine uygulanması ile muhtemelen yüksek oranda tümörijenik olan CSC-benzeri hücrelerin inhibisyonu ile hücre büyümesinin azaldığı ve relapsın önlendiği gözlenen güncel fare ksenogreftleri ile konfirme edilmiştir. Ayrıca metformin ile kemoterapötik ilaçlar arasındaki sinerjistik etkileşim de konfirme edilmiştir [38]. Metformin ile kemoterapötiklerin kombine uygulandığı bir başka çalışmada, metformin ile paklitakselin etkileri birleşerek AMPK aktivasyonunu artırarak hücre büyümesinin azalmasına yol açmıştır [69]. Metforminin kanser hücrelerinde AMPK aktivasyonu ve mTOR aktivasyonu ile radyorezistansı azaltarak, bu hücrelerin radyoterapiye daha sensitif hale gelmelerini sağladığı ve kanser kök hücreleri üzerinde sitotoksik etki yaptığı güncel bir çalışmada gösterilmiştir [75].

Metformin analoğu olan biguanide fenformin gibi bir katyondur. Metforminin direkt ve indirekt selektif antitümör etkileri organik katyon taşıyıcılarının ekspresyonuna dayanır (OCT1, 2 ve 3). Metformin diyabetik hastalardaki hepatik hücrelere hepatik portal vende ilaca yüksek maruziyet sırasında OCT1 taşıyıcıları ile girer. Katyonik taşıyıcılar hepatositlerde yüksek oranda eksprese olurlar; global OCT1 knockout'u ve OCT1 polifmorfizmleri mevcut olan farelerde metforminin hepatik alımı ciddi derecede bozulur ve hipoglisemik etkileri azalır [41, 59, 74, 89]. Neoplastik hücrelerdeki OCT1 hakkında çok az şey bilinmektedir. Ancak OCT1 ekspresyonunun hem epitelyal over kanser hücrelerinde hem de primer insan tümörlerinde yüksek oranda değişken olduğu son zamanlarda gösterilmiştir. Epitelyal over kanser hücre dizilerindeki OCT1 knockdown'u ve OCT1 inhibitörü kuinidin uygulanması ile metforminin antitümör etkisi azalmış ancak fenforminin antineoplastik aktivitesi etkilenmemiştir [31, "kişisel iletişim", 72].

4.3 Klinik Çalışmalar

Prospektif ve sürmekte olan klinik çalışmalar metforminin kanser hastalarındaki etkinlik ve güvenliğini diyabetten bağımsız olarak araştırmayı, kemopreventif ajan olarak rolünü analiz etmeyi ve biyolojik etkilerini tanımlamayı amaçlamaktadırlar (Şekil 3). NCI'ın metforminin kanser hastalarındaki etkinliğini araştıran elliden fazla çalışması cancer.gov'da kayıtlıdır. Bu çalışmaların çoğu biyomarker analizi ve metforminin tek ajan olarak veya diğer tedavi modaliteleri ile kombinasyon halinde uygulanmasını içeren faz II meme kanseri çalışmalarıdır.

Şu ana kadar metformin ile ilişkili az sayıda klinik çalışma yayınlanmıştır. Hadad ve ark. yaptıkları preoperatif "fırsat penceresi" randomize çalışmasında metforminin tümör dokularındaki olası biyolojik etkilerini göstermişlerdir. Metformin nondiyabetik meme kanseri hastalarına cerrahi öncesi uygulanmış ve antitümör etkileri tedavi almayan kontrol grubu ile karşılaştırılmıştır. İlginç biçimde metformin tedavisinin 2-3. haftalarından sonra hastalardaki tümör boyutlarında ölçülebilir bir değişim görülmemiştir. Ancak tümörlerden alınan biyopsilerin analizinde insülin düzeylerinde ve tümör dokularındaki muhtemel etkileri gösteren bir proliferasyon markeri olan ve Ki67 boyanmada azalma görülmüştür [30]. Buna karşın nondiyabetik meme kanseri hastalarında yapılan güncel bir çalışmada cerrahi öncesi uygulanan metforminin plasebo grubu ile karşılaştırıldığında Ki67 düzeylerini etkilemediği bulunmuştur. Planlı bir alt grup analizinde metforminin Ki67 üzerindeki etkileri HOMA (homeostaz model değerlendirmesi) indeksine göre insülin rezistansı bazında sınıflandırılabilmiştir. HOMA indeksi 2.8'den büyük olan hastalarda insülin düzeyleri ile metformin tedavisi arasında bir korelasyon gözlenmemiştir. Ancak HOMA indeksi 2.8'den düşük olan hastalarda Ki67 düzeylerinde değişimler gözlenmesi metforminin insülin rezistansının derecesine bağlı olarak indirekt etki yaptığını göstermektedir. İlginç biçimde fazla kilolu veya obez olan, abdominal obezitesi olan veya orta derecede alkol tüketen kadınlardaki Ki67'nin HOMA indeksine göre sınıflandırılmasında da benzer sonuçlar elde edilmiştir [10].

Gözlemsel çalışmalara göre nondiyabetik meme kanseri hastalarındaki artmış peptid-C düzeyleri kötü prognoz ile ilişkilidir [17]. Goodwin ve ark. [27, 28] standart doz olarak uygulanan metforminin (1500 mg/gün) relaps görülmeyen nondiyabetik meme kanseri hastalarındaki insülin düzeylerini %22 azalttığını göstermiştir. Aynı araştırma grubunun güncel bir neoadjuvan "fırsat penceresi" çalışmasında cerrahiden 2-4 hafta önce günde üç kez metformin uygulanmıştır. Metforminin olası faydaları ile ilişkili şu potansiyel göstergeleri belirlemişlerdir: Konak üzerindeki etkisi ile ilgili markerler olarak artmış VKİ, fiziksel inaktivite, yüksek açlık insülin düzeyleri ve Ki67 ve TUNEL boyama için tümör immunopozitivitesi, tümör etki markerları olarak da OCT1 ve LKB1 varlığı. İlginç biçimde, TUNEL boyanmada net bir artış ile Ki67 boyanmada azalmanın metabolik değişimler ile korele olduğunu tespit etmişlerdir [27, "kişisel iletişim", 76].

Metforminin kemopreventif rolü kolorektal kanser için endoskopik surrogate marker olarak kabul edilen rektal aberan kript odakları (ACF) ile yapılan kısa süreli klinik çalışmada gösterilmiştir. Metformin ACF'li nondiyabetik hastalardaki ACF sayılarını 1 aylık tedavi sonrası kontrol grubuna göre anlamlı olarak daha fazla azaltmıştır. Yazarlar prolifere olan hücre nükleer antijen işaretleme indeksini kullanarak değerlendirdikleri, aynı gruptaki kolonik epitelin proliferatif aktivitesinin de aşağı regüle olduğunu tespit etmişlerdir. Buna karşın önemli bir apoptotik modülasyon tespit edilmemiştir [35]. ACF'nin kolorektal kanserde surrogate marker olarak biyolojik önemi tartışmalıdır. Aynı grup Üniversite Hastanesi Medikal Araştırma Ağı (UMIN) veri tabanına UMIN000006254 nolu güncel bir prospektif, randomize, kontrollü çalışmayı kaydetmiştir. Bu çalışmada metforminin kemopreventif etkileri metakronoz kolorektal poliplerde ve nondiyabetik post-polipektomi hastalarında değerlendirilecektir [32].

5 Sonuçlar

Bu bölümde biguanid metforminin antitümör ajan olarak rolünü destekleyen çeşitli kanıtlardan bahsettik. Ancak metforminin ana etki mekanizması (direkt veya indirekt/konak etkisi), metformine cevabı etkileyebilen hasta veya tümör özellikleri, biguanidlere ne tür kanserlerin cevap verebileceği, hangi terapötik ortamın metforminin etkilerini artırabileceği (kemoprevensiyon, neoadjuvan, adjuvan, kombine veya tek ajan uygulaması) gibi konular henüz netleştirilememiştir.

Çeşitli yayınlarda metforminin antitümör aktivitesinin hem direkt hem indirekt mekanizmalarla ortaya çıktığı düşünülmektedir. İnsülin düzeylerini azaltarak ya da hem AMPK'ya bağımlı hem de bağımsız mekanizmalarla tümör dokularını direkt olarak etkileyerek etki gösterebileceği bildirilmiştir. Metformin aktivitesinin başlıca aracılarından biri olan AMPK birçok tümör hücrelerinde defektiftir. AMPK aktivasyonunun kaybına çeşitli mekanizmalar neden olabilir ve metforminin antitümör etkinliğini etkileyebilir. Metformin AMPK aktivasyonunun kaybolduğu tümörlerde, ATP düzeylerini daha fazla azaltabileceği ve apoptozu daha çok artırabileceği için paradoksal olarak daha etkili olabilir.

Fizyolojik ve klinik şartlara göre daha yüksek metformin, insülin ve glukoz düzeylerini kullanıldığı preklinik modellerdeki kısıtlamalardan dolayı metforminin etki mekanizması belirsizliğini korumaktadır. Örneğin klinik ve epidemiyolojik çalışmalarda kullanılan metformin dozu 250-2250 mg/gün iken, preklinik çalışmalardaki doz in vivo çalışmalar için bu dozun 45 katına, in vitro çalışmalar için de 10.000 katına kadar çıkabilmektedir. Bu çalışmalarda metformin için mM konsantrasyonları kullanılmaktadır. Ayrıca doku kültürleri de 3-5 kat daha fazla glukoz, ve 40 kata kadar daha fazla insülin içermektedir. Ancak son zamanlarda metforminin düşük dozlarının (yaklaşık 10 μM)

orta derecede AMPK aktivasyonunu ve devamındaki aşağı yönlü yolakların aktivasyonunu indüklemek için yeterli olduğu gösterilmiştir [77].

Bu konuları araştırmak için kaydedilen, güncel bir faz III randomize çalışmada erken evre meme kanseri hastalarında metformin ile kemoterapi kombinasyonunun etkinliği plasebo ile karşılaştırılmaktadır. Çalışmaya katılan hastalar hormon reseptör statüsüne, HER2 ekspresyonuna ve paklitaksel, doksorubisin ve siklofosfamid gibi kullanılan kemoterapötik ilaçlara göre sınıflandırılmıştır [26]. Primer sonlanım noktası kansersiz sağkalım iken, sekonder sonlanım noktaları ise genel sağkalım, hastalıksız sağkalım, advers olaylar ve kilo, açlık plazma insülin düzeyleri ve tümör dokusu gibi bağlantılı analizle ilişkili faktörlerden oluşmaktadır. Çalışmanın primer hipotezi başlangıçtaki yükselmiş açlık insülin düzeylerinde 6. ayda anlamlı bir düşüş olmasının metforminin faydasının göstergesi olduğudur ([27], "kişisel iletişim", [28]).

Klinik uygulamada hangi biguanid tipinin uygun olduğu da henüz netleşmeyen konulardadır. Örneğin tümör üzerinde direkt etki istenen durumlarda OCT1 reseptörünün ekspresyon düzeyleri önem kazandığı için, hücrelere penetre olmak için OCT1 reseptörlerinin varlığına ihtiyaç duymayan fenformin kullanımı daha uygun olabilir.

Güncel bir tartışmalı çalışmada tüm melanomların %50'sinde mevcut olan mutant V600E Braf geninin AMPK aktivasyonunu engelleyen RSK'yı aktive ederek metformine karşı in vitro rezistans gelişimine neden olduğu bildirilmiştir. Ayrıca metformin tedavisi ile in vitro ortamdaki tümör büyümesi hızlanmış ve VEGF-A ekspresyonu indüklenmiştir. Kombine anti-VEGF tedavisi Braf mutantındaki tümör büyümesini sinerjistik etkiyle azaltırken, aynı etkiye normal hücrelerde rastlanmamıştır [54].

Birçok çalışmada "eski" antidiyabetik ilaç olan metforminin yeni bir uygulama ile antikanser ilaç olarak kullanımı birçok çalışmada ne olarak gösterilmiştir. Ancak antitümör ilaç olarak optimal terapötik ve klinik kullanım şartlarını belirleyebilmek için etki mekanizması ile ilişkili daha ileri ve derinlemesine bilgilere ihtiyaç vardır.

Referanslar

1. Aljada A, Mousa SA (2012) Metformin and neoplasia: implications and indications. Pharmacol Ther 133:108–115
2. Baba Y, Nosho K, Shima K et al (2010) Prognostic significance of AMP-activated protein kinase expression and modifying effect of MAPK3/1 in colorectal cancer. Br J Cancer 103:1025–1033
3. Baur DM, Klotsche J, Hamnvik OP et al (2011) Type 2 diabetes mellitus and medications for type 2 diabetes mellitus are associated with risk for and mortality from cancer in a German primary care cohort. Metabolism 60:1363–1371
4. Bayraktar S, Hernadez-Aya LF, Lei X et al (2012) Effect of metformin on survival outcomes in diabetic patients with triple receptor-negative breast cancer. Cancer 118:1202–1211
5. Bednar F, Simeone DM (2012) Metformin and cancer stem cells: old drug, new targets. Cancer Prev Res (Phila) 5:351–354
6. Belfiore A, Frasca F (2008) IGF and insulin receptor signaling in breast cancer. J Mammary Gland Biol Neoplasia 13:381–406

7. Ben Sahra I, Le Marchand-Brustel Y, Tanti JF et al (2010) Metformin in cancer therapy: a new perspective for an old antidiabetic drug? Mol Cancer Ther 9:1092–1099
8. Ben Sahra I, Regazzetti C, Robert G et al (2011) Metformin, independent of AMPK, induces mTOR inhibition and cell-cycle arrest through REDD1. Cancer Res 71:4366–4372
9. Blagosklonny MV (2011) NCI's provocative questions on cancer: some answers to ignite discussion. Oncotarget 2:1352–1367
10. Bonanni B, Puntoni M, Cazzaniga M et al (2012) Dual effect of metformin on breast cancer proliferation in a randomized presurgical trial. J Clin Oncol 30(21):2593–2600
11. Bowker SL, Majumdar SR, Veugelers P et al (2006) Increased cancer-related mortality for patients with type 2 diabetes who use sulfonylureas or insulin. Diabetes Care 29:254–258
12. Brahimi-Horn MC, Chiche J, Pouyssegur J (2007) Hypoxia signalling controls metabolic demand. Curr Opin Cell Biol 19:223–229
13. Brown KA, Simpson ER (2010) Obesity and breast cancer: progress to understanding the relationship. Cancer Res 70:4–7
14. Buzzai M, Jones RG, Amaravadi RK et al (2007) Systemic treatment with the antidiabetic drug metformin selectively impairs p53-deficient tumor cell growth. Cancer Res 67:6745–6752
15. Chari ST, Leibson CL, Rabe KG et al (2008) Pancreatic cancer-associated diabetes mellitus: prevalence and temporal association with diagnosis of cancer. Gastroenterology 134:95–101
16. Chen HF, Li CY, Chen P et al (2006) Seroprevalence of hepatitis B and C in type 2 diabetic patients. J Chin Med Assoc 69:146–152
17. Chlebowski RT, Aiello E, McTiernan A (2002) Weight loss in breast cancer patient management. J Clin Oncol 20:1128–1143
18. Davila JA, Morgan RO, Shaib Y et al (2005) Diabetes increases the risk of hepatocellular carcinoma in the United States: a population based case control study. Gut 54:533–539
19. Decensi A, Puntoni M, Goodwin P et al (2010) Metformin and cancer risk in diabetic patients: a systematic review and meta-analysis. Cancer Prev Res (Phila) 3:1451–1461
20. Dowling RJ, Niraula S, Stambolic V et al (2012) Metformin in cancer: translational challenges. J Mol Endocrinol 48:R31–R43
21. El-Mir MY, Nogueira V, Fontaine E et al (2000) Dimethylbiguanide inhibits cell respiration via an indirect effect targeted on the respiratory chain complex I. J Biol Chem 275:223–228
22. El-Serag HB, Hampel H, Javadi F (2006) The association between diabetes and hepatocellular carcinoma: a systematic review of epidemiologic evidence. Clin Gastroenterol Hepatol 4:369–380
23. Evans JM, Donnelly LA, Emslie-Smith AM et al (2005) Metformin and reduced risk of cancer in diabetic patients. BMJ 330:1304–1305
24. Galli M, Van Gool F, Rongvaux A et al (2010) The nicotinamide phosphoribosyltransferase: a molecular link between metabolism, inflammation, and cancer. Cancer Res 70:8–11
25. Gatenby RA, Gillies RJ (2004) Why do cancers have high aerobic glycolysis? Nat Rev Cancer 4:891–899
26. Gonzalez-Angulo AM, Meric-Bernstam F (2010) Metformin: a therapeutic opportunity in breast cancer. Clin Cancer Res 16:1695–1700
27. Goodwin PJ, Ennis M, Pritchard KI et al (2012) Insulin- and obesity-related variables in early-stage breast cancer: correlations and time course of prognostic associations. J Clin Oncol 30:164–171
28. Goodwin PJ, Stambolic V, Lemieux J et al (2011) Evaluation of metformin in early breast cancer: a modification of the traditional paradigm for clinical testing of anti-cancer agents. Breast Cancer Res Treat 126:215–220
29. Gwinn DM, Shackelford DB, Egan DF et al (2008) AMPK phosphorylation of raptor mediates a metabolic checkpoint. Mol Cell 30:214–226
30. Hadad S, Iwamoto T, Jordan L et al (2011) Evidence for biological effects of metformin in operable breast cancer: a pre-operative, window-of-opportunity, randomized trial. Breast Cancer Res Treat 128:783–794

31. Hardie DG, Ross FA, Hawley SA (2012) AMPK: a nutrient and energy sensor that maintains energy homeostasis. Nat Rev Mol Cell Biol 13:251–262
32. Higurashi T, Takahashi H, Endo H et al (2012) Metformin efficacy and safety for colorectal polyps: a double-blind randomized controlled trial. BMC Cancer 12:118
33. Hirsch HA, Iliopoulos D, Tsichlis PN et al (2009) Metformin selectively targets cancer stem cells, and acts together with chemotherapy to block tumor growth and prolong remission. Cancer Res 69:7507–7511
34. Horman S, Vertommen D, Heath R et al (2006) Insulin antagonizes ischemia-induced Thr172 phosphorylation of AMP-activated protein kinase alpha-subunits in heart via hierarchical phosphorylation of Ser485/491. J Biol Chem 281:5335–5340
35. Hosono K, Endo H, Takahashi H et al (2010) Metformin suppresses colorectal aberrant crypt foci in a short-term clinical trial. Cancer Prev Res (Phila) 3:1077–1083
36. Hoyo C, Schildkraut JM, Murphy SK et al (2009) IGF2R polymorphisms and risk of esophageal and gastric adenocarcinomas. Int J Cancer 125:2673–2678
37. Huxley R, Ansary-Moghaddam A, Berrington de Gonzalez A et al (2005) Type-II diabetes and pancreatic cancer: a meta-analysis of 36 studies. Br J Cancer 92:2076–2083
38. Iliopoulos D, Hirsch HA, Struhl K (2011) Metformin decreases the dose of chemotherapy for prolonging tumor remission in mouse xenografts involving multiple cancer cell types. Cancer Res 71:3196–3201
39. Jalving M, Gietema JA, Lefrandt JD et al (2010) Metformin: taking away the candy for cancer? Eur J Cancer 46:2369–2380
40. Ji H, Ramsey MR, Hayes DN et al (2007) LKB1 modulates lung cancer differentiation and metastasis. Nature 448:807–810
41. Jin HE, Hong SS, Choi MK et al (2009) Reduced antidiabetic effect of metformin and down-regulation of hepatic Oct1 in rats with ethynylestradiol-induced cholestasis. Pharm Res 26:549–559
42. Jiralerspong S, Palla SL, Giordano SH et al (2009) Metformin and pathologic complete responses to neoadjuvant chemotherapy in diabetic patients with breast cancer. J Clin Oncol 27:3297–3302
43. Kalender A, Selvaraj A, Kim SY et al (2010) Metformin, independent of AMPK, inhibits mTORC1 in a rag GTPase-dependent manner. Cell Metab 11:390–401
44. Kim JW, Tchernyshyov I, Semenza GL et al (2006) HIF-1-mediated expression of pyruvate dehydrogenase kinase: a metabolic switch required for cellular adaptation to hypoxia. Cell Metab 3:177–185
45. Kim YH, Liang H, Liu X et al (2012) AMPKalpha modulation in cancer progression: multilayer integrative analysis of the whole transcriptome in Asian gastric cancer. Cancer Res 72:2512–2521
46. Kisfalvi K, Eibl G, Sinnett-Smith J et al (2009) Metformin disrupts crosstalk between G protein-coupled receptor and insulin receptor signaling systems and inhibits pancreatic cancer growth. Cancer Res 69:6539–6545
47. Kroemer G, Pouyssegur J (2008) Tumor cell metabolism: cancer's Achilles' heel. Cancer Cell 13:472–482
48. Kuhajda FP (2000) Fatty-acid synthase and human cancer: new perspectives on its role in tumor biology. Nutrition 16:202–208
49. Landman GW, Kleefstra N, van Hateren KJ et al (2010) Metformin associated with lower cancer mortality in type 2 diabetes: ZODIAC-16. Diabetes Care 33:322–326
50. Law JH, Habibi G, Hu K et al (2008) Phosphorylated insulin-like growth factor-i/insulin receptor is present in all breast cancer subtypes and is related to poor survival. Cancer Res 68:10238–10246
51. Long YC, Zierath JR (2006) AMP-activated protein kinase signaling in metabolic regulation. J Clin Invest 116:1776–1783

52. Lu CW, Lin SC, Chen KF et al (2008) Induction of pyruvate dehydrogenase kinase-3 by hypoxia-inducible factor-1 promotes metabolic switch and drug resistance. J Biol Chem 283:28106–28114
53. Martin M, Marais R (2012) Metformin: a diabetes drug for cancer, or a cancer drug for diabetics? J Clin Oncol 30(21):2698–2700
54. Martin MJ, Hayward R, Viros A et al (2012) Metformin accelerates the growth of BRAFV600E-driven melanoma by upregulating VEGF-A. Cancer Discov 2:344–355
55. Massoner P, Ladurner-Rennau M, Eder IE et al (2010) Insulin-like growth factors and insulin control a multifunctional signalling network of significant importance in cancer. Br J Cancer 103:1479–1484
56. Matsuo J, Tsukumo Y, Saito S et al (2012) Hyperactivation of 4E-binding protein 1 as a mediator of biguanide-induced cytotoxicity during glucose deprivation. Mol Cancer Ther 11:1082–1091
57. Mazzone PJ (2010) Lung cancer screening: an update, discussion, and look ahead. Curr Oncol Rep 12:226–234
58. Mazzone PJ (2010) Preoperative evaluation of the lung cancer resection candidate. Expert Rev Respir Med 4:97–113
59. Memmott RM, Mercado JR, Maier CR et al (2010) Metformin prevents tobacco carcinogen–induced lung tumorigenesis. Cancer Prev Res (Phila) 3:1066–1076
60. Monami M, Colombi C, Balzi D et al (2011) Metformin and cancer occurrence in insulin-treated type 2 diabetic patients. Diabetes Care 34:129–131
61. Noto H, Goto A, Tsujimoto T et al (2012) Cancer risk in diabetic patients treated with metformin: a systematic review and meta-analysis. PLoS ONE 7:e33411
62. Onitilo AA, Engel JM, Glurich I et al (2012) Diabetes and cancer II: role of diabetes medications and influence of shared risk factors. Cancer Causes Control 23:991–1008
63. Owen MR, Doran E, Halestrap AP (2000) Evidence that metformin exerts its anti-diabetic effects through inhibition of complex 1 of the mitochondrial respiratory chain. Biochem J 348(Pt 3):607–614
64. Pannala R, Basu A, Petersen GM et al (2009) New-onset diabetes: a potential clue to the early diagnosis of pancreatic cancer. Lancet Oncol 10:88–95
65. Papandreou I, Cairns RA, Fontana L et al (2006) HIF-1 mediates adaptation to hypoxia by actively downregulating mitochondrial oxygen consumption. Cell Metab 3:187–197
66. Pollak M (2008) Insulin and insulin-like growth factor signalling in neoplasia. Nat Rev Cancer 8:915–928
67. Pollak M (2012) Metformin and pancreatic cancer: a clue requiring investigation. Clin Cancer Res 18:2723–2725
68. Pouyssegur J, Dayan F, Mazure NM (2006) Hypoxia signalling in cancer and approaches to enforce tumour regression. Nature 441:437–443
69. Rocha GZ, Dias MM, Ropelle ER et al (2011) Metformin amplifies chemotherapy-induced AMPK activation and antitumoral growth. Clin Cancer Res 17:3993–4005
70. Rozengurt E, Sinnett-Smith J, Kisfalvi K (2010) Crosstalk between insulin/insulin-like growth factor-1 receptors and G protein-coupled receptor signaling systems: a novel target for the antidiabetic drug metformin in pancreatic cancer. Clin Cancer Res 16:2505–2511
71. Samudio I, Fiegl M, Andreeff M (2009) Mitochondrial uncoupling and the Warburg effect: molecular basis for the reprogramming of cancer cell metabolism. Cancer Res 69:2163–2166
72. Segal ED, Yasmeen A, Beauchamp MC et al (2011) Relevance of the OCT1 transporter to the antineoplastic effect of biguanides. Biochem Biophys Res Commun 414:694–699
73. Seyfried TN, Shelton LM (2010) Cancer as a metabolic disease. Nutr Metab (Lond) 7:7
74. Shu Y, Sheardown SA, Brown C et al (2007) Effect of genetic variation in the organic cation transporter 1 (OCT1) on metformin action. J Clin Invest 117:1422–1431
75. Song CW, Lee H, Dings RP et al (2012) Metformin kills and radiosensitizes cancer cells and preferentially kills cancer stem cells. Sci Rep 2:362
76. Stambolic V (2012). A. 2012. Chicago

77. Stambolic V, Woodgett JR, Fantus IG et al (2009) Utility of metformin in breast cancer treatment, is neoangiogenesis a risk factor? Breast Cancer Res Treat 114:387–389
78. Tan BX, Yao WX, Ge J et al (2011) Prognostic influence of metformin as first-line chemotherapy for advanced nonsmall cell lung cancer in patients with type 2 diabetes. Cancer 117:5103–5111
79. Vander Heiden MG, Cantley LC, Thompson CB (2009) Understanding the Warburg effect: the metabolic requirements of cell proliferation. Science 324:1029–1033
80. Vigneri P, Frasca F, Sciacca L et al (2009) Diabetes and cancer. Endocr Relat Cancer 16:1103–1123
81. Wang HQ, Altomare DA, Skele KL et al (2005) Positive feedback regulation between AKT activation and fatty acid synthase expression in ovarian carcinoma cells. Oncogene 24:3574–3582
82. Williams T, Brenman JE (2008) LKB1 and AMPK in cell polarity and division. Trends Cell Biol 18:193–198
83. Wingo SN, Gallardo TD, Akbay EA et al (2009) Somatic LKB1 mutations promote cervical cancer progression. PLoS ONE 4:e5137
84. Zadra G, Priolo C, Patnaik A et al (2010) New strategies in prostate cancer: targeting lipogenic pathways and the energy sensor AMPK. Clin Cancer Res 16:3322–3328
85. Zakikhani M, Dowling RJ, Sonenberg N et al (2008) The effects of adiponectin and metformin on prostate and colon neoplasia involve activation of AMP-activated protein kinase. Cancer Prev Res (Phila) 1:369–375
86. Zhang M, Hu Z, Huang J et al (2010) A 3'-untranslated region polymorphism in IGF1 predicts survival of non-small cell lung cancer in a Chinese population. Clin Cancer Res 16:1236–1244
87. Zhao Y, Liu H, Riker AI et al (2011) Emerging metabolic targets in cancer therapy. Front Biosci 16:1844–1860
88. Zheng B, Jeong JH, Asara JM et al (2009) Oncogenic B-RAF negatively regulates the tumor suppressor LKB1 to promote melanoma cell proliferation. Mol Cell 33:237–247
89. Zhou G, Myers R, Li Y et al (2001) Role of AMP-activated protein kinase in mechanism of metformin action. J Clin Invest 108:1167–1174
90. Zhuang Y, Miskimins WK (2011) Metformin induces both caspase-dependent and poly(ADP-ribose) polymerase-dependent cell death in breast cancer cells. Mol Cancer Res 9:603–615

İntestinal Mikroplar, Diyet ve Kanser

Meredith A. J. Hullar, Andrea N. Burnett-Hartman
ve Johanna W. Lampe

Özet

Giderek artan kanıtlar intestinal mikropların kanser etyolojisindeki rolünü desteklemektedir. Daha önce direkt olarak gastrointestinal maligniteleri başlatan veya destekleyen bakteri türlerinin tanımlanmalarına odaklanılıyordu; ancak intestinal mikropların sistemik enflamasyonu ve diğer aşağı yönlü yolakları etkileme kapasiteleri, bunların gastrointestinal kanal dışında dokulardaki kanser riskini de etkileyebileceğini göstermektedir. İntestinal mikrobiyotanın kansere karşı duyarlılıkla ilgili genel fonksiyonel katkıları arasında şunlar mevcuttur: (1) Başka türlü kullanılması mümkün olmayan diyet besin öğeleri ve/veya enerji kaynaklarına erişim (örn. diyet liflerinin ve dirençli nişastanın fermentasyonu); (2) Potansiyel olarak faydalı veya zararlı olabilen ksenobiyotiklerin metabolizması (örn. diyet bileşenleri, ilaçlar, karsinojenler v.s.); (3) İntestinal epitel hücrelerinin yenilenmesi ve mukozal entegrasyonun korunması; ve (4) İmmun sistem gelişim ve aktivitesinin etkilenmesi. İntestinal mikrobiyom, konak immun sistemi ve diyet maruziyetleri arasındaki kompleks ve dinamik ilişkilerin anlaşılması, karsinogenez mekanizmalarının tanımlanmasına yardımcı olarak gelecekteki kanser önleme ve tedavi stratejilerine ışık tutabilir.

Supported by US NIH grants U01 CA162077, R01 DK084157 and Fred Hutchinson Cancer Research Center.

M. A. J. Hullar · A. N. Burnett-Hartman · J. W. Lampe (✉)
Cancer Prevention Program, Public Health Sciences Division, Fred Hutchinson Cancer Research Center, 1100 Fairview Ave N, M4-B402, PO Box 19024Seattle, WA 98109, USA
e-mail: jlampe@fhcrc.org

J. W. Lampe
Department of Epidemiology, School of Public Health, University of Washington, Seattle, WA 98195, USA

V. Zappia et al. (eds.), *Advances in Nutrition and Cancer,*
Cancer Treatment and Research 159, DOI: 10.1007/978-3-642-38007-5_22,
© Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2014

Anahtar Kelimeler

Mikrobiyota · İntestinal mikrobiyom · İntestinal mikrobiyal topluluk · Kanserin önlenmesi

Kısaltmalar

PRR	Patern tanıma reseptörleri
ETFB	Enterojen *Backteroides fragilis*
LPS	Lipopolisakarid
TLR-4	Toll benzeri reseptör -4
LBP	LPS-bağlayıcı protein
MSI	Kararsız mikrosatelit
CIN	Kromozomal kararsızlık
SRB	Sülfat indirgeyici bakteri
UC	Ülseratif kolit
NOC	N-nitrozo bileşikleri
ODC	Ornitin dekarboksilaz
DFMO	Difluorometilornitin
ODMA	O-desmetilangolensin
ITC'ler	İzotiyosiyanatlar
EHC	Enterohepatik dolaşım
SSA	Sekonder safra asitleri
CA	Kolik asit
DCA	Deoksikolik asit
LCA	Litokolik asit
E_2	Östradiol
E_1	Östron
E_1S	Östron-3-sülfat
E_3	Östriol
DHEA	Dehidroepiandrosteron
16α-OHE1	16α-hidroksiöstron
TRFLP	Terminal restriksiyon uzunluk polimorfizmi
SHBG	Seks hormonu bağlayıcı globülin

İçindekiler

1 Giriş 379
2 İntestinal Mikrobik Topluluğun Moleküler Özellikleri 379
3 İntestinal Mikrobiyomun Kanser Gelişimindeki Direkt Etkileri 382
3.1 Enfeksiyon Ajanı Olarak İntestinal Mikroplar 382

3.2 Enflamasyonla İlişkili İntestinal Mikrobik Antijenik Partiküller 383
4 İntestinal Mikrobiyomun Kanserin Gelişimi ve Önlenmesindeki İndirekt Etkileri 383
4.1 Karsinogenez İle İlişkili Eksojen Substratların İntestinal Mikrobik Metabolizması 385
4.2 Karsinogenez İle İlişkili Endojen Substratların İntestinal Mikrobik Metabolizması 389
5 Sonuçlar 392
Referanslar 392

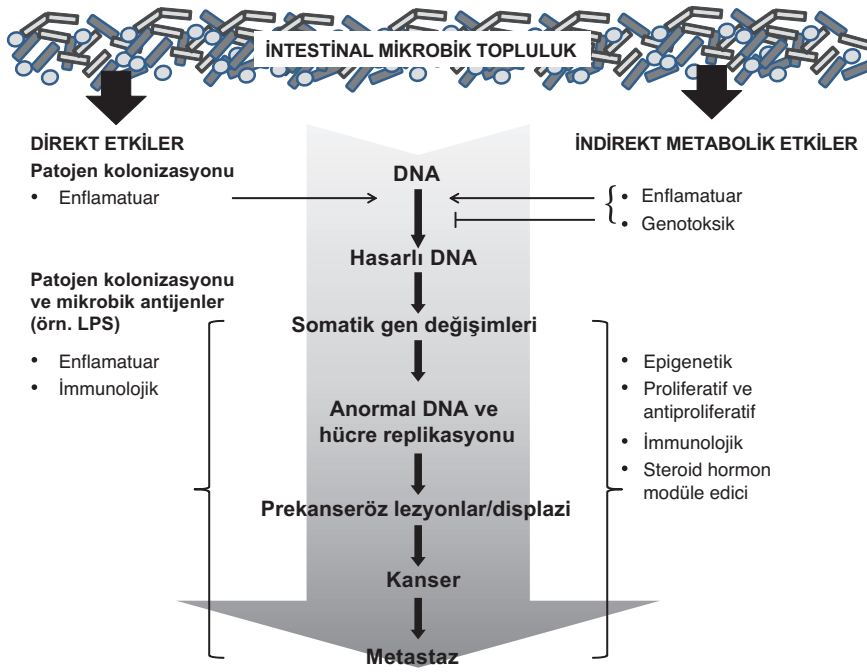
1 Giriş

İnsan bağırsaklarında büyük bir ekosistem oluşturan doğal bakterilerin çeşitli fizyolojik etkileri vardır. Ayrıca konağın sağlığını etkileyebilen multipl metabolik fonksiyonlara sahiptirler. Bakterilerin konağa bir çok farklı şekilde faydalı oldukları hipotezi mevcuttur. Bu faydalı etkiler arasında şunlar mevcuttur: (1) Metabolik dönüşümün ve faydalı diyet komponentlerinin kolaylaştırılması; (2) İntestinal pH'yı etkileyen faydalı fermentasyon son ürünlerinin üretimi ve intestinal mukoza epitel hücreleri ile etkileşim; (3) İntestinal mukozadaki patojenlerin bağlanma bölgeleri için yarışma yoluyla elimine edilmesi; (4) İntestinal immun sistem ile etkileşim ve immun sistemin regülasyonuna katkı; (5) Toksik maddelerin transformasyonu veya ekskresyonu; (6) Geçiş zamanını azaltan ve toksik maddeleri dilüe eden fekal kütlenin oluşturulması Mikropsuz ve normal hayvanlar arasındaki fenotipik farkları araştıran laboratuar çalışmalarında, mikrobiyotanın genel konak sağlığı üzerindeki etkisi gösterilmektedir [128, 142]; mikropsuz hayvanlarda daha düşük vücut ısısı, daha küçük lenf nodları, bilüribin ve safra asitlerinin dekonjugasyon yokluğu, üreaz ve β-glukuronidaz aktivitelerinin yokluğu ve daha düşük organ ağırlıkları görülür [20, 139].

Karsinogenez mikrobiyomla direkt ve indirekt yolaklar vasıtası ile ilişkilidir (Şekil 1). Direkt yolaklar arasında epitelde patojen kolonizasyonu veya patern tanıma reseptörleri olan bakteryel antijenik partiküller ile doğal immun sistem ile direkt etkileşim mevcuttur (PRR, örn. toll benzeri reseptör). İndirekt yolaklar arasında bakteryel karsinojen ve kemoprotektif faktörlerin diyet gibi eksojen kaynaklardan üretimi veya insanda metabolizma sonucunda ortaya çıkan endojen kaynaklardan üretilen bileşikler (örn. safra asitleri ve steroid hormonlar) mevcuttur. Aşağıda intestinal mikrobiyom, diyet ve kanser arasındaki ilişkiler ile ilgili epidemiyolojik ve deneysel kanıtlardan bahsedeceğiz.

2 İntestinal Mikrobik Topluluğun Moleküler Özellikleri

Bakteriler gastrointestinal kanal boyunca kolonize olurlar. Fekal örneklerdeki bakteriler insan kolon lümenindeki bakteryel kompozisyonu büyük oranda yansıtırlar [49, 129].



Şekil 1 İntestinal mikrobik toplulukların kanser riskini direkt ve indirekt olarak etkileme mekanizmaları. Patojenlerin intestinal epitelde direkt olarak kolonize olmaları ve mikrobik antijenlerin etkileri (örn. lipopolisakarid-LPS) enflamasyona ve immun fonksiyonun değişimine katkı yapabilir. Eksojen substratların (örn. diyet bileşenleri) mikrobik metabolitleri ve endojen konak bileşikleri (örn. steroid hormonlar, safra asitleri vs.) kolondaki karsinogenez sürecini ve sistemik etki ile de diğer dokulardaki karsinogenez sürecini etkileyebilir.

Erişkin insan bağırsağı 800'den fazla bakteri türü içeren bir bakteri topluluğuna ev sahipliği yapmaktadır [119]. Ancak bu mikrobik topluluk başlıca iki bakteryel tür olan Bacterioidetes ve Firmcutes ile bir Archaeal türü olan Methanobacter brevii tarafından oluşturulur [49, 62, 119, 143]. İntestinal mikropların metagenomik analizinde tüm bireylerde mevcut olan ana bir mikrobiyom olduğu gösterilmiştir. Ancak bireyler arasında intestinal mikrobik kompozisyonu oluşturan bakteri türleri yönünden büyük varyasyonlar mevcuttur [49, 62, 119, 143]. Bu nedenle insanda spesifik bir fenotip ile ilişkili özel bir bakterinin tanımlanması zor olabilir. Aktif bakterilerin izole edilmelerinde ve tanımlanmalarında kullanılan geleneksel kültür teknikleri zahmetli ve çok zaman alıcı yöntemlerdir. Ayrıca bakterilerin bu tekniklerle ölçümü, memeli bakteri türlerinin yaklaşık %40-60'ının klasik kültür teknikleri ile üretimlerinin mümkün olmaması nedeniyle sınırlıdır [20, 140].

İntestinal mikroplarla yapılan çalışmalar, klasik kültür tekniklerinin problemleri nedeniyle, intestinal bakteri türlerinin tanımlanmasında kullanılan moleküler sekans

bazlı yaklaşımlara kaymıştır [5, 53, 65, 92, 150]. Bakteryel DNA ve RNA bakterinin kültürde mevcudiyetinden bağımsız olarak tanımlanabilir. 16S ribozomal RNA (rRNA) geni filogenetik bazlı yaklaşımlar için idealdir. Çünkü bakteri türleri boyunca korunan DNA bölgeleri içerir. Ayrıca spesifik bakteri türlerine özgü sekanslar da içerir. Ayrıca enterik bakterilerdeki rRNA içeriği ile büyüme oranı arasındaki ilişki iyi bilinmektedir. Hücre başına düşen rRNA içeriği farklı beslenme şartlarındaki büyüme oranlarına bağlı olarak değişimler gösterir. Bu nedenle 16S rRNA içeriği mikrobik biyokütlenin [112, 124, 131] ve fizyolojik olarak aktif bakterilerin tahmininde kullanılabilir. Bu moleküler analizler alan düzeyine (örn. Eubacteria ve Archae), filum düzeyine (örn. Bacteroidetes ve Firmicutes), fonksiyonel grup düzeyine (örn. sülfat indirgeyici bakteriler) veya diğer türler düzeyine (örn. Clostridia türleri) odaklanmak amacıyla kullanılabilir.

Karşılaştırmalı omik teknolojileri mikrop kolonilerinin yapı ve fonksiyonlarının insan sağlığı ve hastalıkları ile ilişkilendirilmesine olanak tanımıştır Qin ve ark. 124 bireyin mikrobiyomlarındaki genleri metagenomik yaklaşım ile kataloglad ıkları güncel çalışmalarında 3.3 milyon bakteryel sekans tanımlamıştır [119]. Bu yaklaşım insanları, intestinal mikrobiyomların kompozisyon ve fonksiyonel potansiyellerine göre üç varsayımsal sınıfa ya da enterotipe ayırmak için kullanılmıştır [9]. Bu yaklaşım intestinal mikrobiyomun altında yatan fizyolojinin ve insanların bu mikrobiyomdan nasıl etkilenebileceklerinin potansiyel olarak tahmin edilebileceğini öne sürdüğü için merak uyandırıcıydı. Ancak bir genin varlığı, o genin her zaman eksprese olup mikrobiyom-konak ilişkilerini belirlemesi anlamına gelmemektedir. Fonksiyonel metagenomik yaklaşımların hangi genlerin aktif olarak eksprese olduğunu (metatranskriptomik) ve fonksiyonel proteinler haline dönüştüğünü (metaproteomik) değerlendiren yaklaşımlarla entegre olması gerekmektedir. Bu "omik" teknolojilerinin entegrasyonu ile sülfat indirgenmesi, nitrat indirgenmesi, sekonder safra asidi formasyonu ve diyetle etkileşime girerek insan sağlığını etkileyen diğer metabolik yolların değerlendirilmesi mümkündür. Epitel hücrelerinde karsinogenezi destekleyebilen patojenlerin direkt etkilerinin ölçümünde de kullanılabilirler. İntestinal mikrobiyomunun karsinogenezi direkt veya indirekt ajan olarak etkilediğini gösteren kanıtlar epidemiyolojik literatürde mevcuttur (bkz. aşağıdaki bölümler). İn vitro sistemler, fare modelleri ve kontrollü insan girişimleri ile birlikte intestinal mikrobiyomun insan sağlığını ve hastalık riskini etkileme mekanizmalarını anlamaya başlayabiliriz. Ancak intestinal mikrobiyomu prospektif bir şekilde örnekleyene kadar hastalık sonuçları üzerindeki nedensel etkilerini tam olarak anlamak güç olacaktır [86].

3 İntestinal Mikrobiyomun Kanser Gelişimindeki Direkt Etkileri

3.1 Enfeksiyon Ajanı Olarak İntestinal Mikroplar

Enfeksiyöz ajanların servikal, anal, penil, orofarengeal, karaciğer ve mide kanserleri ile belirli lenfoma tiplerinin etyolojilerinde önemli rol oynadıkları artık netleşmiştir [23, 42]. Dünyadaki kanser yükünün yaklaşık %20'si bilinen enfeksiyon ajanlarına bağlıdır. Bu oranın zaman içinde artması beklenmektedir [23, 153]. Enfeksiyonla ilişkili kanserlerin büyük bölümü viral ajanlara bağlı olarak oluşur. Servikal kanser ile insan papillomavirüs alfa tiplerinin veya karaciğer kanseri ile hepatit B ve C virüslerinin ilişkisi örnek olarak verilebilir [116]. Ancak özellikle intestinal mikropları kapsayan bakterilerin de karsinojenik etkileri olduğu bildirilmiştir [96].

Helicobakter pylori Uluslararası Kanser Araştırma Ajansı (IARC) tarafından klas I karsinojen olarak kabul edilmektedir. Gastrik kanserin ve MALT lenfomanın kabul edilen nedenlerinden biridir ve dünyadaki kanserlerin yaklaşık %5.5'inde sorumludur [72, 116]. Tifo ajanı olan *Salmonella typhi*'nin kronik mevcudiyetinin safra kesesi kanseri ile ilişkili olduğu hipotezi geliştirilmiştir [90]. Ayrıca çeşitli bakteri türleri de kolon kanserine yol açan potansiyel adaylar olarak belirlenmiştir. Bunlar arasında *Streptococcus bovis* (*S. gallolyticus* olarak da bilinir), *Fusobacterium nucleatum*, *H. pylori*, *Coriobacterialies*, ve enterotoksikojenik *Bacteroides fragilis* (ETFB) mevcuttur [27, 31, 63, 100].

Potansiyel enfeksiyöz bakteriyel ajanlarla intestinal karsinomları ilişkilendiren çalışmalarda vaka kontrol dizaynı kullanılmıştır. Vaka kontrol çalışmaları nadir hastalıkları incelemek için yeterli olsalar da, enfeksiyon ve kanser arasındaki zamana bağlı ilişkiyi tespit edemezler [99]. Bu metodolojik problem vaka kontrol çalışmalarının sonuçlarının yorumlanmasında önemlidir. Kanserde tümörün etrafındaki mikroçevre daha anaerobik hale gelerek, kanserin progrese olurken enfeksiyonlara muhtemelen daha duyarlı hale gelmesine neden olmaktadır [68]. Bu nedenle malign bir tümörün spesifik bakteryel ajanlar içeren enfeksiyonlara ideal bir ortam yaratıp yaratmadığı veya bakteryel enfeksiyonun kanserden önce başlayıp enflamasyon veya diğer yolaklarla karsinogeneze yol açıp açmadığı konusu henüz netleşmemiştir. Ayrıca bazı bakteri türleri erken karsinogenezde önemli rol oynasalar da, kanser gelişirken oluşan tümör ortamını tolere edemeyebilir; bu potansiyel olarak önemli ajanlar intestinal kanserle ilgili vaka kontrol çalışmalarında gözden kaçırılabilir. Bu nedenle prospektif çalışmalar ile kolorektal adenomlar gibi kanser prekürsörlerini araştıran çalışmalar bakteryel ajanlarla kanser arasındaki nedensel ilişkinin belirlenmesinde önemlidir.

Ayrıca bakteryel ajanlarla kanser arasındaki zamana bağlı ilişkinin tespit edilmesine ek olarak, enfeksiyon ajanlarının karsinogenezi hangi mekanizmalarla desteklediklerini de tespit edilmelidir. Yukarıda kısaca tartışılan tüm bakteri türlerinin, enfeksiyon bölgesindeki kanserleri klasik mikrobik karsinogenez ile direkt olarak desteklediklerini hipotezi

öne sürülmüştür. Bu modelde mikrobun intestinal mukozayı enfekte ederek kronik, lokal enflamatuar cevaba yol açmasının hücresel proliferasyonu, sitokin üretimini ve artan reaktif oksijen türlerine bağlı olarak DNA hasarın tetiklediği öne sürülmektedir [37]. Zaman içinde enfekte hücreler ile komşu hücrelerinde DNA hasarının akümüle olması ile tümör baskılayıcı genler ile morfolojik değişimleri indükleyen onkogenlerde ortaya çıkan mutasyonlar, sonuçta malign tümör gelişimine neden olur. Bu model *H. pylori* ve gastrik kanser gelişimi yönünden kesinlikle önemli olmasına rağmen [51], intestinal mikropların gastrointestinal sistem dışındaki bölgelerde bulunan karsinogenezi de etkileme potansiyelleri olduğunu ve diyet ile kompleks etkileşimlere girdiğini gösteren kanıtlar giderek artmaktadır [36, 123]. Örneğin bazı araştırmacılar *H.pylori* ve tuz alımının sinerjistik etki ile gastrik kanseri desteklediği hipotezini geliştirmiştir [147]. Ayrıca güncel çalışmalarda farelerdeki poliamin katabolizmasının ETFB tarafından indüklenen kolon tümörijenezine katkı yaptığı gösterilmiştir [63] (bkz. aşağıdaki diyet poliamin bölümü). Diyet ayrıca muhtemel karsinojen etkisi olan enfeksiyonların potansiyel kaynağı da olabilir. Örneğin kırmızı et tüketimi kolorektal kanser riskinde artış ile ilişkilidir [114]. Bu artışın kırmızı et ürünlerinde bulunan *S. bovis* gibi potansiyel karsinojenik bakteriyel kontaminantlardan kaynaklanıyor olması mümkündür [84].

3.2 Enflamasyonla İlişkili İntestinal Mikrobik Antijenik Partiküller

Gram negatif bakterilerin hücre duvarındaki komponentlerinden biri olan lipopolisakarid (LPS, endotoksin olarak da bilinir) obezitede düşük dereceli kronik enflamasyon [29, 30, 38] ve kolorektal kanser ile ilişkilidir [28, 56]. LPS toll benzeri doğal immunite ile ilişkili bir PRR olan ve TGF-β aracılığındaki yolakları tetikleyen reseptör-4 (TLR-4) yoluyla etki gösterir [1, 97]. Bu etki büyüme faktörlerini ve enflamatuar aracıları da içeren neoplaziye yol açabilen çeşitli genlerin ekspresyonu ile ilişkilidir. TLR-4 aktivasyonu ile LPS bağlayan, serum LPS-bağlayıcı protein (LBP) LPS'nin dolaşımdaki konsantrasyonları ile koreledir [117]. Güncel bir prospektif çalışmada LBP genindeki polimorfizmlerin kolorektal kanser riskinde artış ile ilişkili olduğu gösterilmiştir [33]. Bugüne kadar bu mutasyonların intestinal mikrobiyomdaki gram negatif bakterilerin dağılımı ve kanser riski ile ilişkisini araştıran bir çalışma yapılmamıştır.

4 İntestinal Mikrobiyomun Kanserin Gelişimi ve Önlenmesindeki İndirekt Etkileri

Diyet intestinal bakterilerin miktar ve tiplerini etkiler. Diyet bileşenlerinin intestinal metabolizmaları da hem koruyucu hem de zararlı metabolitlerin oluşumunu etkiler. Bu nedenle diyet ve ortak yaşayan intestinal bakteriler arasındaki etkileşimin sonucunda insanlardaki kanser riski etkilenebilir. Kanserler genomik ve epigenomik instabilite

Tablo 1 Spesifik eksojen ve endojen bileşiklerle ilgili intestinal mikrobik metabolizmanın kanser riski üzerindeki potansiyel etkisinin özeti

Bakteriyel metabolizma	Substrat kaynakları	Bakteri türleri	Kanserde potansiyel etkisi
Eksojen substratlar			
Hidrojen sülfür üretimi için sülfat indirgenmesi (H_2S)	Diyet proteinleri, özellikle sülfür içeren amino asitler ve inorganik sülfür kaynakları (su içindeki SO_4)	Sülfat indirgeyici bakteriler (SRB)	H_2S sitotoksik ve genotoksik etkilere sahiptir
Nitratın nitrite indirgenmesi N-nitrozo bileşiklerinin oluşumuna yol açar	Et (özellikle kırmızı et)	Multipl intestinal bakteri türleri	NOC, DNA eklentileri oluşturabilir
Poliamin üretimi	Ornitin	Multipl intestinal bakteri türleri	Enflamatuar mikroçevrenin büyümesi ile ilişkili poliamin
Flavonoid metabolizması: daidzein ekuola dönüşür	Soya	*Enterococcus faecium* suşu EPI1, *Laktobacillus mucosae* suşu EPI2, *Finegoldia magna* suşu EPI3 ve *Veillonella* türleri	Yüksek soya tüketen popülasyonlardaki ekuol üretimi düşük meme ve prostat kanseri riski ile ilişkilidir
Glukozinatların isotiyosiyanatlara (ITC) metabolize olması	Brokoli, lahana, kara lahana ve Brüksel lahanası gibi turpgiller ailesine ait sebzeler	*Escherichiacoli, Bacteroides thetaiotaomicron, Enterococcusfaecalis, Enterococcusfaecium, Peptostreptococcussp.* ve *Bifidobacterium* türleri	ITC'nin hücre siklusunu durdurma ve apoptozu indüklemeyi de içeren anti-karsinojenik özellikleri vardır
Endojen substratlar			
Sekonder safra asidi üretimi: Deoksikolik asit ve litokolik asit	Primer safra asitleri: Kolik asit ve kenodeoksikolik asit	Multipl Clostridium türleri	Sekonder safra asitleri tümör destekleyici aktiviteye bazı çalışmalar yüksek fekal sekonder safra asidi kolorektal kanser riskinde artış ile ilişkili olduğunu bildirmiştir
Endojen östrojen metabolizması	Östradiol (E2), östron 16α-hidroksiöstron, 16-oksoöstradiol, 15α-hidroksiöstron	*Clostridium paraputrificum, Bacteroides* türleri, *Eubacterium lentumu* da içeren çok sayıda reaksiyon gerçekleşir	Meme kanseri ile ilişkili olarak yükselen E2 konsantrasyonları

sonucunda ortaya çıkarlar. Bu instabilite normal, sağlıklı hücreleri kanser hücrelerine dönüştüren genetik ve epigenetik değişimlerin akümülasyonuna izin verir. Mikrobik metabolitler DNA üzerindeki direkt genotoksik etkileri ile DNA tamir sistemlerin modülasyonu ve histon asetilasyonu veya CpG adacık metilasyonu ile epigenetik mekanizmaların modülasyonu ile instabil mikrosatelit veya instabil kromozomlar içeren tümörlerin gelişimini etkileyebilirler [98, 137]. İnorganik bileşikleri büyüyebilmek için elektron akseptörü ve organik karbon kaynağı olarak kullanan kemolitoheterotroflar ile organik karbonu hem respirasyon hem de büyüme için kullanan organoheterotroflar gibi özgün metabolizmaları olan bakteriler kanserle ilişkilidir. Aşağıda özgün metabolizmaya sahip çeşitli bakteri örnekleri tanımladık. Bu mekanizmalar intestinal mikrobiyomun 1) Eksojen kaynaklardan (örn. diyet) tümörijenezi etkileyebilen metabolitleri üretebilmesine veya 2) Dolaşımda bulunan ve steroid hormonlar veya safra asitleri gibi tümörijenezi etkileyen endojen bileşiklere maruziyeti değiştirmesine neden olur.

4.1 Karsinogenez İle İlişkili Eksojen Substratların İntestinal Mikrobik Metabolizması

4.1.1 Sülfat İndirgenmesi

Hidrojen sülfit (H_2S) sülfat indirgeyici bakteri (SRB) tarafından üretilir ve hücre kültürü çalışmalarında hem sitotoksik hem de genotoksik etkilere sahiptir [13, 44, 75]. Örneğin Attene-Ramos ve ark. [13] modifiye komet deneyi kullanarak H_2S'in DNA hasarına yol açtığını göstermişlerdir. Sülfitin kolonik epitel hücrelerindeki bütiratın oksidasyonunu da önleyerek ATP formasyonunu ve enerji kullanımını azalttığı gösterilmiştir [34]. Bu etki iyonların absorpsiyonunu, mukus formasyonunu ve hücresel detoksifikasyonu engeller. Roediger ve ark. [121, 122] H2S'e maruz kalan kolonositlerdeki yağ asidi oksidasyonun azaldığını ve sülfitin hücresel redoks potansiyelini değişime uğratarak hücre proliferasyonunu değiştirdiğini bildirmiştir [44].

Sülfat indirgeyici bakterilerin enflamatuar bağırsak hastalığı ve kolorektal kanserdeki rolü çeşitli epidemiyolojik ve klinik çalışmalar tarafından araştırılmıştır [15, 60, 80, 118, 121, 122, 130]. Kolon kanseri için bir risk faktörü olan ve H2S maruziyetine bağlı olarak oluştuğu hipotezi geliştirilen genomik instabilite sporadik kolon kanseri ve ülseratif kolit ile ilişkilidir [14]. Popülasyon bazlı bir çalışmada (n=55) farklı etnik gruplardaki SRB dağılımı farklılıklar göstermiştir. SRB prevalansı daha yüksek kolon kanseri görülen gruplardaki diyet ile ilişkili bulunmuştur [115]. Ülseratif kolit muhtemelen SRB tarafından üretilen H2S ile ilişkili enflamasyon artışı ile bağlantılıdır [52]. Ayrıca ülseratif kolitli hastalardan alınan ve kültür yöntemi ile analiz edilen fekal örneklerde ülseratif kolit olmayanlara göre daha yüksek SRB konsantrasyonları tespit edilmiştir [61].

Normal intestinal mikrobiyatada sıklıkla bulunan SRB'nin dağılım ve aktivitesi diyetten etkilenebilir. Özellikle sülfür içeren amino asitler gibi diyet proteinleri ve inorganik sülfür kaynakları (suda SO_4) H_2S üretimine katkı yapabilir [46]. Magee ve ark. [95] tara-

fından yapılan kontrollü besleme çalışmasında H_2S üretiminin tüketilen protein miktarı ile anlamlı olarak ilişkili olduğu gösterilmiştir. Farelerden alınan fekal bulamaç ile inoküle edilmiş sürekli kültürde inorganik sülfat indirgenmesi [46] ve sülfonlu proteinler (örn. müsinler) sülfat indirgenmesini artırmış ve metanogenezi inhibe etmiştir [59]. Bu çalışmalar sülfat indirgenmesinin gerçekleşmesi için SRB gerektiğini ve SRB miktarının diyet tarafından değiştirilebileceğini göstermiştir. Delta Proteobacterianın delta alt divizyonunda bulunan SRB'lerin çoğu filogenetik olarak mütevazi bir grup oluştururlar. Gram pozitif bakterilerin Clostridium alt divizyonunda bulunan Desulfotomaculum bu duruma bir istisna teşkil eder [71]. Adenozin indirgenme yolağındaki ana enzimler, fonksiyonel genler olan katabolik (bi) sülfit redüktaz (*dsr*A) [154] ve adenozin-5' -fosfosülfat redüktazdır (*aps*A) [45, 55].

4.1.2 Nitrat İndirgenmesi

Epidemiyolojik çalışmalarda kırmızı ve işlenmiş et tüketimi ile kolon kanseri arasında ilişki olduğu gösterilmiştir [114]. Kırmızı ve işlenmiş etteki protein ve diğer nitrojenöz kalıntılar gibi instestinal bakterilerin N-nitrozo bileşikleri (NOC) üretmesine izin veren birçok bileşen [17] bu risk artışına katkı yapabilir [22]. Nitrat endojen olarak intestinal bakteriler tarafından üretilen nitrat redüktaz ile nitrite indirgenebilir. Nitrit organik bileşikler ile NOC oluşturmak üzere etkileşime girebilir. Feçeste nitrozaminler, nitrozamidler ve nitrozoguanidini de içeren birçok NOC sınıfı tespit edilmiştir [25]. NOC mutasyonları indükleyebilen DNA eklentileri oluşturabilir. Örneğin bazı NOC'ların K-ras geninin 12. veya 13. kodonunun ikinci tabanındaki GC'den AT'ye transisyonu indükleyebilen alkilleyici ajanlar oldukları gösterilmiştir. Bu K-ras mutasyonları olan kolorektal tümörlerde sık görülen bir mutasyondur [25]. Daha yakın zamanda yapılan bir çalışmada, ülseratif kolit teşhisi alan enflamatuar barsak hastaları ile enflamasyon olmayan irritabl barsak hastalarının kolon biyopsilerinin transkriptomik analizleri karşılaştırıldı [66]. Araştırmacılar gen ekspresyon düzeylerini çalışmaya katılan tüm deneklerdeki (vakalar ve kontroller) fekal NOC ile ilişkilendirdiler. Ağ analizi ile kromatin modifikasyonunun 11 histon geninin regülasyonunda değişim ile ilişkili olduğunu buldular. Bu bulgu epigenetik mekanizmaların NOC tarafından indüklenen karsinogenez ile ilişkili olabileceğini düşündürmektedir.

Diyet NOC konsantrasyonlarını etkileyebilir. Et tüketimi kolondaki nitrojenöz kalıntıları artırır [136]. Sekiz erkekte yapılan kontrollü besleme çalışmasında et tüketimi ile fekal NOC konsantrasyonları arasında doza bağlı ilişki tespit edilmiştir [73]. Fekal su genotoksisitesi, kırmızı et ile 7 günlük diyet girişim çalışasında, DNA hasar tamiri, hücre siklüsü ve apoptoz yolaklarını da içeren prokarsinojenik yolaklardaki kolonik gen ekspresyonunda değişimler ile ilişkili bulunmuştur Erkeklerde yapılan diğer kontrollü besleme çalışmalarında "hem demir" fekal NOC düzeylerini artırırken, "hem" yönünden zayıf protein kaynaklarının (örn. beyaz et ve sebze kaynaklı protein) fekal NOC'u artırmadığı bulunmuştur [22, 39]. Hem'in NOC üzerindeki bağımsız etkisi, bakteryel N-nitrozlaşmasına ek olarak kimyasal katalizin kırmızı etin endojen intestinal

N-nitrozlaşması üzerindeki doza bağlı etkisinden sorumlu olabileceğini düşündürmektedir [39]. Yüksek oranda kırmızı et içeren diyete brokoli, Brüksel lahanası ve bezelye eklenmesinin fekal NOC düzeylerine bir etkisi olmamıştır. Ancak soya eklenmesi fekal NOC düzeylerini anlamlı düzeyde baskılamıştır [74].

İntestinal bakterilerin N-nitrozlaşması üzerindeki önemi, nitrozlaştırma ajanı olarak nitrat verilen mikropsuz farelerde N-nitrozlaşması görülürken, normal intestinal mikrobiotası olan farelerde bu etkinin görülmemesi ile gösterilmiştir [103]. Bazı fakültatif ve anaerob bakteriler nitrat redüktaz yoluyla NOC katalizleyebilirler. Katabolik nitrat indirgenmesi bakteri grupları boyunca dağılmış bir grup bakteri tarafından yürütülür. NarG geni nitratın nitrite indirgenmesinden sorumludur. İnsanlarda yapılan güncel çalışmalarda haftada üç porsiyondan fazla kırmızı et tüketenlerde ve nükleotid eksizyon tamir yolağında polimorfizm olanlarda kolorektal kanser riskinde artış gözlenmiş olması ilginçtir [79]. Ancak intestinal mikrobik NOC formasyonunun derecesi ile konak DNA tamir mekanizmalarındaki varyasyonların kolorektral risk üzerindeki kombine etkileri araştırılmamıştır.

4.1.3 Poliamin Üretimi

Poliamine maruziyet kolonik mukoza enflamasyonu ve devamında kolon kanseri riski ile ilişkilendirilmiştir [58]. Ornitin spermidin ve spermin prekürsoru olan poliamin putreskine dönüşür. Bu yolak normal büyümede önemlidir. Ancak poliaminler okside olarak reaktif oksijen türlerinin üretimine yol açarak kronik enflamatuar mikroçevreye katkı yapabilirler. Epitelyuma poliamin akışında artış ökaryotik ornitin dekarboksilazı (ODC) yukarı regüle eder. Poliamin sentezinde rol oynayan önemli bir regülatör enzim olan ODC kolon kanserinde yukarı regüle olur. Bu ODC yukarı regülasyonu, CIN tümörlerinde bulunan K-ras mutasyonlarının aşağı yönündeki MAPK sinyal yolağı yukarı regüle olan kolon kanserlerini destekleyebilir [76, 89, 105].

Poliaminler endojen olarak üretilmelerine rağmen diyet ve diyet prekürsorlarının metabolizması ile üretilen poliaminler intestinal epitel hücrelerinin maruziyetini etkilerler. Gerner ve ark. [57] kemopreventif tedavilerin etkinliklerinin diyetle alınan putreskinin modülasyonu ile etkilenebileceğini göstermiştir. Ancak intestinal mikrobiyomunun modülasyonu dikkat çekmemiş bir kemopreventif opsiyondur. Ailesel adenamatöz polipoziste sıklıkla uygulanan bir kemoprevensiyon tedavisi ODC'nin difluorometilornitin (DFMO) ve nonsteroidal antienflamatuar ilaçlarla bloke edilmesidir [58]. DFMO poliaminlerin ökaryotik üretimlerinde rol oynar; ancak bakteryel yolla üretilen putreskinin tedarik miktarının değiştirilmesinde daha az etkili olabilir. Bakteryel amino asit dekarboksilazların filogenetik ve yapısal farklılıkları göz önüne alındığında [91] bakterilerin poliamin üretmelerini ve lümendeki poliamin konsantrasyonlarını etkilemelerini sağlayan multipl, farklı mekanizmaları mevcuttur. DFMO bu nedenle poliaminlerin ökaryotik üretimlerini etkilerken, bakteryel üretim etkilenmeyebilir. Örneğin DFMO'nun H. pylori büyüme oranlarını etkilediği gösterilmiştir. Ancak E. coli ve C. rodentium gibi diğer enterikleri etkilememektedir [16]. Poliamin üretiminin intestinal mikroplar tarafından azaltılmasının yeni yollarının tanımlanması veya intestinal mik-

robiyal topluluğunun değişimi, yüksek riskli hasta popülasyonlarında kullanılabilecek farklı bir kemoprevensiyon stratejisi olabilir.

4.1.4 Flavonoid Mekanizması

Epidemiyolojik çalışmalarda bitkisel kaynaklı besinlerin tüketiminin farklı kanser türlerinin risklerinde azalma ile ilişkili olduğu gösterilmiştir [152]. Polifenolik bileşikler olan flavonoidler insan diyetinde en çok bulunan bitkisel kaynaklı besin öğeleridir. Altı kategoriye ayırılırlar. Antioksidan özellikleri yoluyla DNA hasarının azaltılması veya enflamasyon yolakları ile etkileşime girebilme gibi çeşitli kanser engelleyici özellikleri mevcuttur ([138] nolu referansta incelenmiştir). Salgı miktarlarında ve dolaşımdaki konsantrasyonlarında büyük bireysel farklılıklar olması muhtemelen intestinal mikrobiyom varyasyonlarının bir yansımasıdır.

Bakteryel metabolizma üzerindeki etkileri en fazla araştırılmış flavonoid muhtemelen soya izoflavonu olan daidzeindir. Çalışmalarda popülasyonun yaklaşık %30-50'sinin daidzeini ekuole [54, 88], %80-90'ının da O-desmetilangolensine (ODMA) metabolize edebildiği gösterilmiştir [6, 81]. Çeşitli in vitro çalışmalarda ekuolinin prekürsörü olan daidzeine göre daha biyolojik olarak daha fazla aktif olduğu gösterilmiştir. Örneğin ekuolin daha fazla östrojenik [101], daha güçlü bir antioksidan olduğu [7, 120, 144, 145] ve serumda hem genistein hem de 17β-östradioldan daha yüksek serbest fraksiyonunun mevcut olduğu gösterilmiştir [110]. Bu bulgu 10 yıldan daha uzun süre önce ekuol üretebilen bireylerin soya tüketimine potansiyel "cevap verici" olması nedeniyle ilginin artmasına yol açmıştır. Setchell ve ark. [133] soya ve izoflavon takviye çalışmalarında çok farklı sonuçlar elde edilmesinin, bireylerin ekuol üretebilme yeteneklerinin "bakteryel tiplemesinin" yapılmamış olmasından kaynaklanabileceği hipotezini geliştirmiştir. Hepsi değilse de, bazı çalışmalarda ekuol üretiminin meme ve prostat kanseri risklerinde azalma ile ilişkili olduğu gösterilmiştir ([87] nolu referansta incelenmiştir). Ayrıca ekuol üretimi ile (meme kanseri riski yönünden), steroid hormonların ve üriner östrojen metabolitlerinin dolaşımdaki miktarları ve mamografik meme dansitesi arasında olumlu ilişkiler gözlenmiştir [10, 48, 54, 113].

İnsan intestinal bakterileri ekuol ve ODMA üretiminden sorumludur [11. 32]. Belirli bakterilerin ekuol üretim yolağında özgün fonksiyonları olduğu belirlenmiştir [135]. Ancak diğer çalışmalarda Enterococcus faecium suş EPI1, Lactobacillus mucosae EPI2 suşu, Finegoldia magna EPI3 suşu ve suşu henüz tespit edilemeyen Veillonella türünden bakterilerden oluşan bir konsorsiyumun da ekuol üretiminde rol oynayabileceği gösterilmiştir [43].

4.1.5 Turpgillerden Elde Edilen Glukozinolatların Metabolizmaları

Turpgiller veya hardal ailesine ait sebzelerin tüketiminin bazı kanser riskleriyle ters orantılı ilişkiye sahip olduğu gösterilmiştir [85]. Glukozinolatların hidroliz ürünü olan izotiyosiyanatların (ITC) hem in vitro hem de in vivo ortamda antikarsinojenik özellikleri olduğu gösterilmiştir ([111] nolu referansta incelenmiştir). ITC'lerin biyolojik etkileri çeşitlidir. Karsinogenezde önemli rol oynayan multipl yolaklarla iletişime girmeyi ve

yolakların kendi arasındaki etkileşimini de kapsayan çeşitli etkileri mevcuttur. ITC'nin tümörijenezi inhibe edici etkisinin, enzim aktivitelerinin faz 1 ve 2 biyotransformasyonlarını inhibe etmeleri ile karsinojenlerin metabolizmaları ve DNA'ya bağlanmaları gibi kimyasal karsinogenez ile ilişkili farklı mekanizmaları etkilemeleri yoluyla gerçekleştiği gösterilmiştir [70]. İn vitro çalışmalarda ITC'nin hücre döngüsünü durdurduğu ve apoptozu indüklediği de gösterilmiştir [109].

Glukozinolatlar bitki mirozinazları veya bakteriler tarafından üretilen tioglukozidazlar tarafından ITC'ye dönüştürülürler. Turpgillere ait bitkilerin pişirilmesi bitki mirozinazlarını deaktive eder. Turpgillerin çoğunun pişirilerek tüketildiği düşünülürse intestinal bakterilerin glukozinolatların ITC'ye dönüştürülmesinde önemli rol oynadığı ortaya çıkmaktadır. Daha önce yapılan çalışmalarda insan bağırsağından veya feçesten elde edilen Escherichia coli, Bacteroides thetaiotaomicron, Enterococcus faecalis, E. faecium, Peptostreptococcus türleri, ve Bifidobacterium türleri gibi belirli bakterilerin glukozinatları ITC veya diğer türevlerine dönüştürebildiği gösterilmiştir [26, 50, 69]. İnsanlardaki kontrollü besleme çalışmalarında (bitki mirozinaz aktivitesini yok etmek için ısıtılmış veya mikrodalga fırında ısıtılmış) aynı miktarda turpgilllere ait sebzelerin tüketimi sonrasında üriner ITC ekskresyon oranlarında önemli bireysel farklar gösterilmiştir [125, 134, 146]. Benzer sonuçlar sıçanlarla yapılan kontrollü besleme çalışmalarında da tespit edilmiştir [35, 126]. Bu bulgular ITC formasyonunda bireyler arasındaki intestinal bakterilerin aktivite veya kompozisyonlarının farklı olduğunu düşündürmektedir. Yakın zamanda yaptığımız bir çalışmada, standart pişirilmiş brokoli yemeğinden sonra idrarında daha yüksek ITC ekskresyonu görülen bireylerdeki fekal bakterilerin glukorafanini daha fazla metabolize ettiğini gösterdik [93].

4.2 Karsinogenez İle İlişkili Endojen Substratların İntestinal Mikrobik Metabolizması

4.2.1 Sekonder Safra Asitlerinin Üretimi

Kolonik bakteryel transformasyon ürünü olan sekonder safra asitl (SSA) deoksikolik asidin (DCA) safra taşı formasyonunda [141] ve kolorektal karsinogenezde [21, 106] rolü olduğu bildirilmiştir Primer safra asitleri olan kolik asit ve kenodeoksikolik asit karaciğer kolesteroldan sentezlendikten sonra glisin veya taurin ile konjuge olarak enterohepatik dolaşıma girerler. Karaciğer, safra kesesi ve bağırsaklar arasındaki enterohepatik dolaşım yaklaşık %95 oranında etkili olduğu halde, safra asitlerinin 5%'i bu dolaşımdan kaçarak kolondaki anaerobik bakteriler tarafından SSA, DCA ve litokolik aside (LCA) dönüştürülürler. Diyet kolona geçen safra asitlerinin miktarını direkt olarak etkileyebilir. Çalışmalar yüksek yağlı diyetlerin daha yüksek SSA konsantrasyonlarına yol açabileceğini göstermektedir [40, 104]. Hayvan çalışmalarında SSA'ların tümör destekleyici etkileri olduğu gösterilmiştir. İnsanlarda yapılan bazı çalışmalarda da yüksek fekal safra asidi konsantrasyonlarının kolorektal kanser riskini artırdığı belirtilmiştir ([104] nolu referansta incelenmiştir). Ancak bu ilişki tüm çalışmalarda gösterilememiştir [107]. İn. geçiş zamanı ve pH gibi faktörlerin fekal SSA konsantrasyonlarını etkilediği düşünüldü-

ğünde fekal safra asidi konsantrasyonları ile kolon kanseri arasındaki ilişkinin kompleks olduğu anlaşılmaktadır. Enterohepatik dolaşımdan kaçan hemen tüm safra asitlerinin ekskresyon öncesi SSA'ya dönüştürüldüğü göz önüne alınırsa, fekal safra asidi konsantrasyonları kullanılarak tahmin edilen safra asidi havuzundaki DCA miktarlarının gerçekte olduğundan daha yüksek çıkabileceği bildirilmiştir [104]. Ancak safra asidi havuzunu daha doğru ölçebilen serum DCA seviyelerinin de kolon kanseri hastalarında sağlıklı bireylerden daha yüksek olduğu gösterilmiştir [18, 19]. DCA ile kolon kanseri arasındaki potansiyel bir ilişki DCA'nın tümör supresyonuna müdahil olarak ve hücre büyüme sinyalleri yoluyla büyümeyi stimüle ederek apoptoz, proliferasyon ve intestinal epitelin farklılaşması [64] arasındaki dengeyi değiştirmesi olabilir.

DCA formasyonundan sorumlu bakterilerin *Clostridium* cinsine ait olduğu belirlenmiştir [47, 83, 148, 149]. Bu bakteriler düşük veya yüksek 7α-hidroksile edici aktivitelerine göre iki sınıfa ayrılmıştır. Bu sınıflar bireysel DCA konsantrasyonlarındaki varyasyonları kısmen açıklayabilir. Ayrıca kolik asidin DCA'ya bakteryel 7α-dehidroksilasyonunda rol oynayan safra asidi tarafından indüklenen operon da tanımlanmıştır [148].

4.2.2 Endojen Östrojenlerin Metabolizması

Meme kanseri riski idrarda yükselmiş östradiol (E_2), östron (E_1), E_1 sülfat (E_1S), östriol (E_3), dehidroepiandrosteron (DHEA) ve 16α-hidroksiöstron (16α-OHE_1) seviyeleri ile ilişkilidir [10]. Dolaşımdaki östrojen seviyelerini değiştiren hem genetik hem de çevresel faktörler de meme kanseri riskini etkileyebilir.

Östrojenler kan dolaşımında serbest ya da proteine bağlanmış, konjuge veya konjuge olmayan halde bulunabilir, hedef organ ile etkileşime girebilir veya salgılanabilirler. Östrojenler karaciğerde sülfatlanabilir, glukuronidasyona uğrayabilir ya da metile olabilirler. Yaklaşık %50'si idrarla atılırken kalan kısmı safraya geçerek enterohepatik dolaşıma geçer. Kolondaki bazı bileşikler feçesle atılırken bazıları da intestinal mikrobiyom tarafından metabolize edilir ([108] nolu referansta incelenmiştir). İn. mikrobiyom (1) dekonjugasyon yoluyla dolaşımdaki hormonlara maruziyeti artırabilir ve (2) dolaşımdaki hormonların kompozisyonunu (veya tiplerini) hidroksilasyon/dehidroksilasyon ve metilasyon/demetilasyon yoluyla etkileyebilir. Çeşitli intestinal bakterilerde bulunan β-glukozidazlar, β-glukuronidazlar ve sulfatazlar hormon konjugatlarını hidrolize ederler [41]. Bu unkonjuge östrojenler kan dolaşımına reabsorbe olduktan sonra, idrarla atılabilir veya tekrar enterohepatik dolaşıma girebilirler [132] Adlercreutz ve ark. otuz yıldan daha uzun süre önce antibiyotik uygulanması ile östrojenlerin idrarla atılımının azaldığını gözlemiştir. Bu bulgu intestinal bakterilerin östrojenlerin enterohepatik dolaşımının regüle edilmesinde ve buna bağlı olarak maruz kalınma derecelerinde önemli rol oynadıklarını göstermektedir [3, 4, 102]. Diyetin kendisi de östrojenleri direkt olarak diyet lifleri ile bağlayarak ya da intestinal mikropların östrojenleri metabolize etme derecelerini etkileyerek serum hormon konsantrasyonlarını etkileyebilir [2].

Birçok intestinal bakteri konjuge steroidlerin hidrolizasyonlarının ilk aşamasını gerçekleştirerek [151] diğer intestinal bakteriler tarafından daha ileri metabolize edilmelerinin yolunu açar. Östrojenlerin mikrobik metabolizmaları indirgenme, oksidasyon ve E_2'nin E_1'den

Tablo 2 Premenopozal kadınlardaki serum hormon konsantrasyonları (sonuç) ile intestinal mikrobik topluluk (maruziyet) ve diyet (maruziyet) arasındaki ilişkiler.

	β-Katsayısı	p değeri
Östron sülfat		
Archaea[b]	–0.11	0.028
Total lif	–0.01	0.019
Alu I Eksen 1	–0.18	0.017
Total lif	–0.01	0.094
Total yağ	–0.005	0.045
Serbest östradiol: östradiolun *tamamı*		
Alu I Eksen 2	0.21	0.013
Total lif	–0.01	0.099
Total östradiol		
Rsa I Eksen 2	0.17	0.028
Total lif	–0.011	0.053

[a] Basamaklı GLM (genel lineer model) ile hormonlar, vücut yağı yüzdesi ve potansiyel olarak bozucu demografik faktörler 0.10 düzeyinde değerlendirilmiştir

[b] Adipozite için düzeltme

ve E_2-3-glukuronidden, E_1'in E_2'den ve östron-3-sulfattan (E_1S) ve E_3'ün 16α-OHE_1'den oluşumunu içerir. Ayrıca in vitro enkübasyonda E_1, E_2, ve 16α-dehidroksiöstronun E_3'e, 16-oksoöstradiolun 16-epiöstriola, ve 15α-hidroksiöstronun 15α-hidroksiöstradiole dönüşümü de gösterilmiştir [77, 78, 94]. Ring-A indirgemesi *Clostridium paraputrificum* ve *Bacteroides* türleri gibi çok çeşitli bakterilerin enzimleri ile katalizlenir. Ring-D'nin redüktif dehidroksilasyonu ve dehidrojenasyon gibi oksidatif reaksiyonlar da *Eubacterium lentum* gibi bakteriler tarafından gerçekleştirilir [24].

Güncel bir çalışmada intestinal mikrobik topluluk kompozisyonu ile dolaşımdaki steroid hormon konsantrasyonları arasındaki ilişkileri 40-45 yaşları arasındaki 115 sağlıklı premenopozal kadında araştırdık [12]. Fekal örneklerdeki intestinal mikrobik topluluğun kompozisyonu Alu I (başlıca Bacteroidetes) ve Rsa I (başlıca Firmicutes) adlı iki restriksiyon enzimi içeren terminal restriksiyon uzunluk polimorfizmi (TRFLP) ve Bacteria, Bacteroides, Clostridia Küme XIVa ve Archaea'daki 16S rRNA genlerinin kuantitatif PCR'ı (qPCR) ile ölçüldü. Regresyon modelleri hormonlar ve intestinal mikrobik topluluk yapısı arasındaki ilişkileri değerlendirmek amacıyla kullanıldı. E_1, E_1S, total ve serbest E_2 ve seks hormonu bağlayıcı globülinin (SHBG) serum konsantrasyonları ile serbest E_2:total E_2 oranları ölçülmüştür. Ayrıca TRFLP analizi ve qPCR'dan elde edilen intestinal mikrobik topluluk çok değişkenli eksen maruziyetleri ölçülmüştür. Alu I TRFLP paternlerinin NMS (non-mass selected) analizlerinin final çözümünde 400 tekrar sonrası 16.65'lik stabil stres değeri elde edilmiştir. Üç eksen her iki alt kümedeki TRFLP verilerindeki varyasyonlarının %79.7'sini kümülatif olarak açıklayabilmiştir. 1, 2 ve 3. eksenler sırasıyla %26.2, %31.7, %21.7 oranında açıklanmıştır. Rsa I TRFLP pa-

ternlerinin NMS (non-mass selected) analizlerinin final çözümünde 400 tekrar sonrası 16.87'lik stabil stres değeri elde edilmiştir. Rsa I TRFLP'nin NMS analizi eksen 1 (%23), eksen 2 (%29) ve eksen 3 (%29) verilerindeki varyasyonların %82'sini açıklamıştır. E_1 ($p<0.004$), E_1S ($p<0.017$), E_2, ve serbest E_2:total E_2 oranı ALU I kullanan intestinal mikrobik topluluk ile anlamlı olarak ilişkili bulunmuştur ($p<0.05$). E_1S, E_2, ve serbest E_2:total E_2 oranı Rsa I ile tanımlanan intestinal mikrobik topluluk ile anlamlı olarak ilişkili bulunmuştur ($p<0.05$). E_2, ve serbest E_2:total E_2 oranı ve SHBG Bacteroides ile ilişkili bulunmuştur. E_1 ve E_1S Archaea ile ilişkilidir ($p<0.05$). Diyet faktörlerine ve demografik özelliklere göre düzeltme yapıldıktan sonra E_1S ile Archaea veya Alu Ekseni I, serbest E_2:total E_2 ve Alu Ekseni 2, ve E_2 ve Rsa Ekseni I arasında anlamlı ilişki bulunmuş olması intestinal mikrobiyomun kompozisyonunun dolaşımdaki steroid hormonlarının konsantrasyonlarının ve tiplerinin belirlenmesinde önemli bir faktör olabileceğini göstermektedir. Bu çalışma diyet gibi maruziyetlerin intestinal mikrobik topluluk ile ilişkisinin değerlendirilmesinin önemli olduğunu vurgulamaktadır (Tablo 2).

5 Sonuçlar

İnsan sağlığı intestinal mikrobiyom, diyet ve konak fizyolojisi arasındaki etkileşimlerden etkilenmektedir. Bu bölümde mikrobik olarak yönetilen kanserle ilgili yolaklar ile ilgili örnekler sunduk. Bu yolaklar 1) Patojeninin insanlar ile direkt temasını ve 2) Mikrobik metabolizmanın eksojen ve endojen substratlar üzerindeki indirekt etkilerini kapsamaktadır. Bu yolaklar enflamasyonun özelliklerini değiştirebilir, DNA'yı modifiye ederek mutasyonlara neden olabilir veya epigenetik ve gen sessizleştirmesinde rol oynayabilirler. Son zamanlarda intestinal mikrobiyomda yapılan metagenomik çalışmalarda, çeşitli kemoheterotrofik ve organoheterotrofik anaerobik metabolizmaların fermentasyonda ve konağa faydalı veya zararlı olabilen metabolitlerin üretiminde rol oynadığı gösterilmiştir [9, 143]. Ayrıca bu yaklaşımlar ile kolondaki tümörlü ve tümörsüz bölgelerdeki intestinal mikrobik topluluğun kompozisyonundaki farklılıklar da tanımlanmıştır [100]. Bireyler arası kanser riskindeki farklılıklar, mikrobik biyokütle, kompozisyon, fonksiyon ve diyet gibi konak faktörleri ile olan etkileşimden kaynaklanabilir. Gelecekteki çalışmalar intestinal mikrobiyomu konağın maruz kaldığı faktörler ile ilişkisine katkı yapan fonksiyonel bir ünite olarak değerlendirmelidir. Böylece hem intestinal mikrobiyomun hem de maruziyetlerin kanser riski üzerindeki etkileri anlaşılarak uygun önleme stratejileri dizayn edilebilir.

Referanslar

1. Abreu MT (2010) Toll-like receptor signalling in the intestinal epithelium: how bacterial recognition shapes intestinal function. Nat Rev Immunol 10:131–144
2. Adlercreutz H, Martin F (1980) Biliary excretion and intestinal metabolism of progesterone and estrogens in man. J Steroid Biochem 13:231–244
3. Adlercreutz H, Martin F, Pulkkinen M et al (1976) Intestinal metabolism of estrogens. J Clin Endocrinol Metab 43:497–505

4. Adlercreutz H, Martin F, Lehtinen T et al (1977) Effect of ampicillin administration on plasma conjugated and unconjugated estrogen and progesterone levels in pregnancy. Am J Obstet Gynecol 128:266–271
5. Amann RI, Binder BJ, Olson RJ et al (1990) Combination of 16S rRNA-targeted oligonucleotide probes with flow cytometry for analyzing mixed microbial populations. Appl Environ Microbiol 56:1919–1925
6. Arai Y, Uehara M, Sato Y et al (2000) Comparison of isoflavones among dietary intake, plasma concentration and urinary excretion for accurate estimation of phytoestrogen intake. J Epidemiol 10:127–135
7. Arora A, Nair MG, Strasburg GM (1998) Antioxidant activities of isoflavones and their biological metabolites in a liposomal system. Arch Biochem Biophys 356:133–141
8. Arts CJM, Govers CARL, Van den Berg H et al (1991) In vitro binding of estrogens by dietary fiber and the in vivo apparent digestibility tested in pigs. J Steroid Biochem Mol Biol 38:621–628
9. Arumugam M, Raes J, Pelletier E et al (2011) Enterotypes of the human gut microbiome. Nature 473:174–180
10. Atkinson C, Skor HE, Dawn Fitzgibbons E et al (2003) Urinary equol excretion in relation to 2-hydroxyestrone and 16alpha-hydroxyestrone concentrations: an observational study of young to middle-aged women. J Steroid Biochem Mol Biol 86:71–77
11. Atkinson C, Berman S, Humbert O et al (2004) In vitro incubation of human feces with daidzein and antibiotics suggests interindividual differences in the bacteria responsible for equol production. J Nutr 134:596–599
12. Atkinson C, Newton KM, Stanczyk FZ et al (2008) Daidzein-metabolizing phenotypes in relation to serum hormones and sex hormone binding globulin, and urinary estrogen metabolites in premenopausal women in the United States. Cancer Causes Control 19:1085–1093
13. Attene-Ramos MS, Wagner ED, Plewa MJ et al (2006) Evidence that hydrogen sulfide is a genotoxic agent. Mol Cancer Res 4:9–14
14. Attene-Ramos MS, Wagner ED, Gaskins HR et al (2007) Hydrogen sulfide induces direct radical-associated DNA damage. Mol Cancer Res 5:455–459
15. Balamurugan R, Rajendiran E, George S et al (2008) Real-time polymerase chain reaction quantification of specific butyrate-producing bacteria, Desulfovibrio and Enterococcus faecalis in the feces of patients with colorectal cancer. J Gastroenterol Hepatol 23:1298–1303
16. Barry DP, Asim M, Leiman DA et al (2011) Difluoromethylornithine is a novel inhibitor of Helicobacter pylori growth, CagA translocation, and interleukin-8 induction. PLoS ONE 6:e17510
17. Bastide NM, Pierre FH, Corpet DE (2011) Heme iron from meat and risk of colorectal cancer: a meta-analysis and a review of the mechanisms involved. Cancer Prev Res (Phila) 4:177–184
18. Bayerdorffer E, Mannes GA, Richter WO et al (1993) Increased serum deoxycholic acid levels in men with colorectal adenomas. Gastroenterology 104:145–151
19. Bayerdorffer E, Mannes GA, Ochsenkuhn T et al (1994) Variation of serum bile acids in patients with colorectal adenomas during a one-year follow-up. Digestion 55:121–129
20. Berg RD (1996) The indigenous gastrointestinal microflora. Trends Microbiol 4:430–435
21. Bernstein C, Holubec H, Bhattacharyya AK et al (2011) Carcinogenicity of deoxycholate, a secondary bile acid. Arch Toxicol 85:863–871
22. Bingham SA, Hughes R, Cross AJ (2002) Effect of white versus red meat on endogenous N-nitrosation in the human colon and further evidence of a dose response. J Nutr 132:3522S–3525S
23. Blaser MJ (2008) Understanding microbe-induced cancers. Cancer Prev Res 1:15–20
24. Bokkenheuser VD, Winter J (1980) Biotransformation of steroid hormones by gut bacteria. Am J Clin Nutr 33:2502–2506

25. Bos JL (1989) ras oncogenes in human cancer: a review. Cancer Res 49:4682–4689
26. Brabban AD, Edwards C (1994) Isolation of glucosinolate degrading microorganisms and their potential for reducing the glucosinolate content of rapemeal. FEMS Microbiol Lett 119:83–88
27. Burnett-Hartman AN, Newcomb PA, Potter JD (2008) Infectious agents and colorectal cancer: a review of Helicobacter pylori, Streptococcus bovis, JC virus, and human papillomavirus. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 17:2970–2979
28. Cammarota R, Bertolini V, Pennesi G et al (2010) The tumor microenvironment of colorectal cancer: stromal TLR-4 expression as a potential prognostic marker. J Transl Med 8:112
29. Cani PD, Neyrinck AM, Fava F et al (2007) Selective increases of bifidobacteria in gut microflora improve high-fat-diet-induced diabetes in mice through a mechanism associated with endotoxaemia. Diabetologia 50:2374–2383
30. Cani PD, Amar J, Iglesias MA et al (2007) Metabolic endotoxemia initiates obesity and insulin resistance. Diabetes 56:1761–1772
31. Castellarin M, Warren RL, Freeman JD et al (2011) *Fusobacterium nucleatum* infection is prevalent in human colorectal carcinoma. Genome Res 22:299
32. Chang YC, Nair MG (1995) Metabolism of daidzein and genistein by intestinal bacteria. J Nat Prod 58:1892–1896
33. Chen RFL, Wang Y et al (2011) LBP and CD14 polymorphisms correlate with increased colorectal carcinoma risk in Han Chinese. World J Gastroenterol 17:2326–2331
34. Christl SU, Eisner HD, Dusel G et al (1996) Antagonistic effects of sulfide and butyrate on proliferation of colonic mucosa: a potential role for these agents in the pathogenesis of ulcerative colitis. Dig Dis Sci 41:2477–2481
35. Conaway CC, Getahun SM, Liebes LL et al (2000) Disposition of glucosinolates and sulforaphane in humans after ingestion of steamed and fresh broccoli. Nutr Cancer 38:168–178
36. Conterno L, Fava F, Viola R et al (2011) Obesity and the gut microbiota: does up-regulating colonic fermentation protect against obesity and metabolic disease? Genes Nutr 6:241–260
37. Coussens LM, Werb Z (2002) Inflammation and cancer. Nature 420:860–867
38. Creely SJ, McTernan PG, Kusminski CM et al (2007) Lipopolysaccharide activates an innate immune system response in human adipose tissue in obesity and type 2 diabetes. Am J Physiol Endocrinol Metab 292:E740–E747
39. Cross AJ, Pollock JR, Bingham SA (2003) Haem, not protein or inorganic iron, is responsible for endogenous intestinal N-nitrosation arising from red meat. Cancer Res 63:2358–2360
40. Cummings JH, Wiggins HS, Jenkins DJ et al (1978) Influence of diets high and low in animal fat on bowel habit, gastrointestinal transit time, fecal microflora, bile acid, and fat excretion. J Clin Invest 61:953–963
41. Dabek M, McCrae SI, Stevens VJ et al (2008) Distribution of beta-glucosidase and beta-glucuronidase activity and of beta-glucuronidase gene gus in human colonic bacteria. FEMS Microbiol Ecol 66:487–495
42. De Flora S, Bonanni P (2011) The prevention of infection-associated cancers. Carcinogenesis 32:787–795
43. Decroos K, Vanhemmens S, Cattoir S et al (2005) Isolation and characterisation of an equol-producing mixed microbial culture from a human faecal sample and its activity under gastrointestinal conditions. Arch Microbiol 183:45–55
44. Deplancke B, Gaskins HR (2003) Hydrogen sulfide induces serum-independent cell cycle entry in nontransformed rat intestinal epithelial cells. FASEB J 17:1310–1312
45. Deplancke B, Hristova KR, Oakley HA et al (2000) Molecular ecological analysis of the succession and diversity of sulfate-reducing bacteria in the mouse gastrointestinal tract. Appl Environ Microbiol 66:2166–2174

46. Deplancke B, Finster K, Graham WV et al (2003) Gastrointestinal and microbial responses to sulfate-supplemented drinking water in mice. Exp Biol Med (Maywood) 228:424–433
47. Doerner KC, Takamine F, LaVoie CP et al (1997) Assessment of fecal bacteria with bile acid 7 alpha-dehydroxylating activity for the presence of bai-like genes. Appl Environ Microbiol 63:1185–1188
48. Duncan AM, Merz-Demlow BE, Xu X et al (2000) Premenopausal equol excretors show plasma hormone profiles associated with lowered risk of breast cancer. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 9:581–586
49. Eckburg PB, Bik EM, Bernstein CN et al (2005) Diversity of the human intestinal microbial flora. Science 308:1635–1638
50. Elfoul L, Rabot S, Khelifa N et al (2001) Formation of allyl isothiocyanate from sinigrin in the digestive tract of rats monoassociated with a human colonic strain of *Bacteroides thetaiotaomicron*. FEMS Microbiol Lett 197:99–103
51. Ernst P (1999) Review article: the role of inflammation in the pathogenesis of gastric cancer. Aliment Pharmacol Ther 13(Suppl 1):13–18
52. Florin T, Neale G, Gibson GR et al (1991) Metabolism of dietary sulfate—absorption and excretion in humans. Gut 32:766–773
53. Frank DN, Pace NR (2001) Molecular-phylogenetic analyses of human gastrointestinal microbiota. Curr Opin Gastroenterol 17:52–57
54. Frankenfeld CL, McTiernan A, Aiello EJ et al (2004) Mammographic density in relation to daidzein-metabolizing phenotypes in overweight, postmenopausal women. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 13:1156–1162
55. Friedrich MW (2002) Phylogenetic analysis reveals multiple lateral transfers of adenosine-5′-phosphosulfate reductase genes among sulfate-reducing microorganisms. J Bacteriol 184:278–289
56. Fukata M, Abreu MT (2007) TLR4 signalling in the intestine in health and disease. Biochem Soc Trans 35:1473–1478
57. Gerner EW (2007) Impact of dietary amino acids and polyamines on intestinal carcinogenesis and chemoprevention in mouse models. Biochem Soc Trans 35:322–325
58. Gerner EW, Meyskens FL Jr (2009) Combination chemoprevention for colon cancer targeting polyamine synthesis and inflammation. Clin Cancer Res 15:758–761
59. Gibson GR, Cummings JH, Macfarlane GT (1988) Use of a three-stage continuous culture system to study the effect of mucin on dissimilatory sulfate reduction and methanogenesis by mixed populations of human gut bacteria. Appl Environ Microbiol 54:2750–2755
60. Gibson GR, Cummings JH, Macfarlane GT (1991) Growth and activities of sulfate-reducing bacteria in gut contents of healthy-subjects and patients with ulcerative-colitis. FEMS Microbiol Ecol 86:103–111
61. Gibson GR, Macfarlane S, Macfarlane GT (1993) Metabolic interactions involving sulfate-reducing and methanogenic bacteria in the human large-intestine. FEMS Microbiol Ecol 12:117–125
62. Gill SR, Pop M, Deboy RT et al (2006) Metagenomic analysis of the human distal gut microbiome. Science 312:1355–1359
63. Goodwin AC, Destefano Shields CE, Wu S et al (2011) Polyamine catabolism contributes to enterotoxigenic *Bacteroides fragilis*-induced colon tumorigenesis. Proc Natl Acad Sci USA 108:15354–15359
64. Hague A, Elder DJ, Hicks DJ et al (1995) Apoptosis in colorectal tumour cells: induction by the short chain fatty acids butyrate, propionate and acetate and by the bile salt deoxycholate. Int J Cancer 60:400–406
65. Hayashi H, Sakamoto M, Benno Y (2002) Phylogenetic analysis of the human gut microbiota using 16S rDNA clone libraries and strictly anaerobic culture-based methods. Microbiol Immunol 46:535–548

66. Hebels DG, Sveje KM, de Kok MC et al (2011) N-nitroso compound exposure-associated transcriptomic profiles are indicative of an increased risk for colorectal cancer. Cancer Lett 309:1–10
67. Hebels DG, Sveje KM, de Kok MC et al (2012) Red meat intake-induced increases in fecal water genotoxicity correlate with pro-carcinogenic gene expression changes in the human colon. Food Chem Toxicol 50:95–103
68. Hirayama A, Kami K, Sugimoto M et al (2009) Quantitative metabolome profiling of colon and stomach cancer microenvironment by capillary electrophoresis time-of-flight mass spectrometry. Cancer Res 69:4918–4925
69. Holst B, Williamson G (2004) A critical review of the bioavailability of glucosinolates and related compounds. Nat Prod Rep 21:425–447
70. Holst JJ, Deacon CF (2004) Glucagon-like peptide 1 and inhibitors of dipeptidyl peptidase IV in the treatment of type 2 diabetes mellitus. Curr Opin Pharmacol 4:589–596
71. Hristova KR, Mau M, Zheng D et al (2000) Desulfotomaculum genus- and subgenus-specific 16S rRNA hybridization probes for environmental studies. Environ Microbiol 2:143–159
72. Huang JQ, Sridhar S, Chen Y et al (1998) Meta-analysis of the relationship between *Helicobacter pylori* seropositivity and gastric cancer. Gastroenterology 114:1169–1179
73. Hughes R, Cross AJ, Pollock JR et al (2001) Dose-dependent effect of dietary meat on endogenous colonic N-nitrosation. Carcinogenesis 22:199–202
74. Hughes R, Pollock JR, Bingham S (2002) Effect of vegetables, tea, and soy on endogenous N-nitrosation, fecal ammonia, and fecal water genotoxicity during a high red meat diet in humans. Nutr Cancer 42:70–77
75. Huycke MM, Gaskins HR (2004) Commensal bacteria, redox stress, and colorectal cancer: mechanisms and models. Exp Biol Med (Maywood) 229:586–597
76. Ignatenko NA, Gerner EW, Besselsen DG (2011) Defining the role of polyamines in colon carcinogenesis using mouse models. J Carcinog 10:10
77. Järvenpää P (1990) In vitro metabolism of catechol estrogens by human fecal microflora. J Steroid Biochem 35:289–292
78. Järvenpää P, Kosunen T, Fotsis T et al (1980) *In vitro* metabolism of estrogens by isolated intestinal micro-organisms and by human faecal microflora. J Steroid Biochem 13:345–349
79. Joshi AD, Corral R, Siegmund KD et al (2009) Red meat and poultry intake, polymorphisms in the nucleotide excision repair and mismatch repair pathways and colorectal cancer risk. Carcinogenesis 30:472–479
80. Kanazawa K, Konishi F, Mitsuoka T et al (1996) Factors influencing the development of sigmoid colon cancer. Bacteriologic and biochemical studies. Cancer 77:1701–1706
81. Kelly GE, Joannou GE, Reeder AY et al (1995) The variable metabolic response to dietary isoflavones in humans. Proc Soc Exp Biol Med 208:40–43
82. Key TJ (1999) Serum oestradiol and breast cancer risk. Endocr Relat Cancer 6:175–180
83. Kitahara M, Takamine F, Imamura T et al (2000) Assignment of *Eubacterium sp*. VPI 12708 and related strains with high bile acid 7alpha-dehydroxylating activity to *Clostridium scindens* and proposal of *Clostridium hylemonae sp*. nov., isolated from human faeces. Int J Syst Evol Microbiol 50(Pt 3):971–978
84. Knudtson LM, Hartman PA (1993) Comparison of fluorescent gentamicin-thallous-carbonate and KF streptococcal agars to enumerate enterococci and fecal streptococci in meats. Appl Environ Microbiol 59:936–938
85. Kristal AR, Lampe JW (2002) Brassica vegetables and prostate cancer risk: a review of the epidemiological evidence. Nutr Cancer 42:1–9
86. Lampe JW (2008) The human microbiome project: getting to the guts of the matter in cancer epidemiology. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 17:2523–2524
87. Lampe J (2010) Emerging research on equol and cancer. J Nutr 140:1369S–1372S
88. Lampe JW, Karr SC, Hutchins AM et al (1998) Urinary equol excretion with a soy challenge: influence of habitual diet. Proc Soc Exp Biol Med 217:335–339

89. Laukaitis CM, Gerner EW (2011) DFMO: targeted risk reduction therapy for colorectal neoplasia. Best Pract Res Clin Gastroenterol 25:495–506
90. Lazcano-Ponce EC, Miquel JF, Munoz N et al (2001) Epidemiology and molecular pathology of gallbladder cancer. CA Cancer J Clin 51:349–364
91. Lee J, Michael AJ, Martynowski D et al (2007) Phylogenetic diversity and the structural basis of substrate specificity in the beta/alpha-barrel fold basic amino acid decarboxylases. J Biol Chem 282:27115–27125
92. Ley RE, Bäckhed F, Turnbaugh P et al (2005) Obesity alters gut microbial ecology. Proc Natl Acad Sci USA 102:11070–11075
93. Li F, Hullar MA, Beresford SA et al (2011) Variation of glucoraphanin metabolism in vivo and ex vivo by human gut bacteria. Br J Nutr 106:408–416
94. Lombardi P, Goldin B, Boutin E et al (1978) Metabolism of androgens and estrogens by human fecal microorganisms. J Steroid Biochem 9:795–801
95. Magee EA, Curno R, Edmond LM et al (2004) Contribution of dietary protein and inorganic sulfur to urinary sulfate: toward a biomarker of inorganic sulfur intake. Am J Clin Nutr 80:137–142
96. Mager DL (2006) Bacteria and cancer: cause, coincidence or cure? A review. J Transl Med 4:14
97. Manco M, Putignani L, Bottazzo GF (2010) Gut microbiota, lipopolysaccharides, and innate immunity in the pathogenesis of obesity and cardiovascular risk. Endocr Rev 31:817–844
98. Maneval ML, Eckert KA (2004) Effects of oxidative and alkylating damage on microsatellite instability in nontumorigenic human cells. Mutat Res 546:29–38
99. Mann CJ (2003) Observational research methods. Research design II: cohort, cross sectional, and case-control studies. Emerg Med J 20:54–60
100. Marchesi JR, Dutilh BE, Hall N et al (2011) Towards the human colorectal cancer microbiome. PLoS ONE 6:e20447
101. Markiewicz L, Garey J, Adlercreutz H et al (1993) *In vitro* bioassays of non-steroidal phytoestrogens. J Steroid Biochem Mol Biol 45:399–405
102. Martin F, Peltonen J, Laatikainen T et al (1975) Excretion of progesterone metabolites and estriol in faeces from pregnant women during ampicillin administration. J Steroid Biochem 6:1339–1346
103. Massey RC, Key PE, Mallett AK et al (1988) An investigation of the endogenous formation of apparent total N-nitroso compounds in conventional microflora and germ-free rats. Food Chem Toxicol 26:595–600
104. McGarr SE, Ridlon JM, Hylemon PB (2005) Diet, anaerobic bacterial metabolism, and colon cancer: a review of the literature. J Clin Gastroenterol 39:98–109
105. Meyskens FL Jr, Gerner EW (2011) Back to the future: mechanism-based, mutation-specific combination chemoprevention with a synthetic lethality approach. Cancer Prev Res (Phila) 4:628–632
106. Mower HF, Ray RM, Shoff R et al (1979) Fecal bile acids in two Japanese populations with different colon cancer risks. Cancer Res 39:328–331
107. Mudd DG, McKelvey ST, Norwood W et al (1980) Faecal bile acid concentration of patients with carcinoma or increased risk of carcinoma in the large bowel. Gut 21:587–590
108. Munro IC, Harwood M, Hlywka JJ et al (2003) Soy isoflavones: a safety review. Nutr Rev 61:1–33
109. Myzak MC, Hardin K, Yan M et al (2006) Sulforaphane inhibits HDAC activity in prostate cancer cells, retards growth of PC3 xenografts, and inhibits HDAC activity in vivo. FASEB J 20:A150–A150
110. Nagel SC, vom Saal FS, Welshons WV (1998) The effective free fraction of estradiol and xenoestrogens in human serum measured by whole cell uptake assays: physiology of delivery modifies estrogenic activity. Proc Soc Exp Biol Med 217:300–309
111. Navarro SL, Li F, Lampe JW (2011) Mechanisms of action of isothiocyanates in cancer chemoprevention: an update. Food Funct 2:579–587

112. Neidhardt FC, Magasanik B (1960) Studies on the role of ribonucleic acid in the growth of bacteria. Biochim Biophys Acta 42:99–116
113. Nettleton JA, Greany KA, Thomas W et al (2005) The effect of soy consumption on the urinary 2:16-hydroxyestrone ratio in postmenopausal women depends on equol production status but is not influenced by probiotic consumption. J Nutr 135:603–608
114. Norat T, Bingham S, Ferrari P et al (2005) Meat, fish, and colorectal cancer risk: the European prospective investigation into cancer and nutrition. J Natl Cancer Inst 97:906–916
115. O'Keefe SJD, Carrim Y, van der Merwe CF et al (2004) Differences in diet and colonic bacterial metabolism that might account for the low risk of colon cancer in native Africans compared with Americans. J Nutr 134:3526S–3527S
116. Parkin DM (2006) The global health burden of infection-associated cancers in the year 2002. Int J Cancer 118:3030–3044
117. Pastor Rojo O, Lopez San Roman A, Albeniz Arbizu E et al (2007) Serum lipopolysaccharide-binding protein in endotoxemic patients with inflammatory bowel disease. Inflamm Bowel Dis 13:269–277
118. Pitcher MCL, Beatty ER, Gibson GR et al (1995) Sulfate-reducing bacteria—prevalence in active and inactive ulcerative-colitis. Gastroenterology 108:A894–A894
119. Qin J, Li R, Raes J et al (2010) A human gut microbial gene catalogue established by metagenomic sequencing. Nature 464:59–65
120. Rimbach G, De Pascual-Teresa S, Ewins BA et al (2003) Antioxidant and free radical scavenging activity of isoflavone metabolites. Xenobiotica 33:913–925
121. Roediger WEW (1998) Decreased sulphur amino acid intake in ulcerative colitis. Lancet 351:1555
122. Roediger WEW, Moore J, Babidge W (1997) Colonic sulfide in pathogenesis and treatment of ulcerative colitis. Dig Dis Sci 42:1571–1579
123. Rooks MG, Garrett WS (2011) Bacteria, food, and cancer. F1000 Biol Rep 3:12
124. Rosset R, Julien J, Monier R (1966) Ribonucleic acid composition of bacteria as a function of growth rate. J Mol Biol 18:308–320
125. Rouzaud G, Rabot S, Ratcliffe B et al (2003) Influence of plant and bacterial myrosinase activity on the metabolic fate of glucosinolates in gnotobiotic rats. Br J Nutr 90:395–404
126. Rouzaud G, Young SA, Duncan AJ (2004) Hydrolysis of glucosinolates to isothiocyanates after ingestion of raw or microwaved cabbage by human volunteers. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 13:125–131
127. Rowland IR (1999) Toxicological implications of the normal microflora. In: Tannock GW (ed) Medical importance of the normal microflora. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht
128. Samuel BS, Gordon JI (2006) A humanized gnotobiotic mouse model of host-archaeal-bacterial mutualism. Proc Natl Acad Sci USA 103:10011–10016
129. Savage DC (1977) Microbial ecology of the gastrointestinal tract. Annu Rev Microbiol 31:107–133
130. Scanlan PD, Shanahan F, Clune Y et al (2008) Culture-independent analysis of the gut microbiota in colorectal cancer and polyposis. Environ Microbiol 10:789–798
131. Schaechter M, Maalow O, Kjelgaard NO (1958) Dependency on medium and temperature of cell size and chemical composition during balanced grown of *Salmonella typhimurium*. J Gen Microbiol 19:592–606
132. Setchell KDR, Adlercreutz H (1988) Mammalian lignans and phyto-oestrogens: recent studies on their formation, metabolism and biological role in health and disease. In: Rowland I (ed) Role of the gut flora in toxicity and cancer. Academic Press, NY, pp 316–345
133. Setchell KD, Brown NM, Lydeking-Olsen E (2002) The clinical importance of the metabolite equol-a clue to the effectiveness of soy and its isoflavones. J Nutr 132:3577–3584

134. Shapiro TA, Fahey JW, Wade KL et al (1998) Human metabolism and excretion of cancer chemoprotective glucosinolates and isothiocyanates of cruciferous vegetables. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 7:1091–1100
135. Shimada Y, Yasuda S, Takahashi M et al (2010) Cloning and expression of a novel NADP(H)-dependent daidzein reductase, an enzyme involved in the metabolism of daidzein, from equol-producing Lactococcus strain 20–92. Appl Environ Microbiol 76:5892–5901
136. Silvester KR, Cummings JH (1995) Does digestibility of meat protein help explain large bowel cancer risk? Nutr Cancer 24:279–288
137. Soreide K (2008) Proteinase-activated receptor 2 (PAR-2) in gastrointestinal and pancreatic pathophysiology, inflammation and neoplasia. Scand J Gastroenterol 43:902–909
138. Spencer JPE, Crozier A (2012) Flavonoids and related compounds. CRC Press, Taylor & Francis Group, Boca Raton
139. Tannock GW (1999) The normal microflora: an introduction. In: Tannock GW (ed) Medical importance of the normal microfloraed. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, pp 1–23
140. Tannock GW, Munro K, Harmsen HJ et al (2000) Analysis of the fecal microflora of human subjects consuming a probiotic product containing *Lactobacillus rhamnosus* DR20. Appl Environ Microbiol 66:2578–2588
141. Thomas LA, Veysey MJ, Bathgate T et al (2000) Mechanism for the transit-induced increase in colonic deoxycholic acid formation in cholesterol cholelithiasis. Gastroenterology 119:806–815
142. Turnbaugh PJ, Ley RE, Mahowald MA et al (2006) An obesity-associated gut microbiome with increased capacity for energy harvest. Nature 444:1027–1031
143. Turnbaugh PJ, Hamady M, Yatsunenko T et al (2009) A core gut microbiome in obese and lean twins. Nature 457:480–484
144. Turner R, Baron T, Wolffram S et al (2004) Effect of circulating forms of soy isoflavones on the oxidation of low density lipoprotein. Free Radic Res 38:209–216
145. Vedavanam K, Srijayanta S, O'Reilly J et al (1999) Antioxidant action and potential antidiabetic properties of an isoflavonoid-containing soyabean phytochemical extract (SPE). Phytother Res 13:601–608
146. Vermeulen M, Van den Berg R, Freidig AP et al (2006) Association between consumption of cruciferous vegetables and condiments and excretion in urine of isothiocyanate mercapturic acids. J Agric Food Chem 54:5350–5358
147. Wang XQ, Terry PD, Yan H (2009) Review of salt consumption and stomach cancer risk: epidemiological and biological evidence. World J Gastroenterol 15:2204–2213
148. Wells JE, Hylemon PB (2000) Identification and characterization of a bile acid 7alpha-dehydroxylation operon in *Clostridium sp*. strain TO-931, a highly active 7alpha-dehydroxylating strain isolated from human feces. Appl Environ Microbiol 66:1107–1113
149. Wells JE, Berr F, Thomas LA et al (2000) Isolation and characterization of cholic acid 7alpha-dehydroxylating fecal bacteria from cholesterol gallstone patients. J Hepatol 32:4–10
150. Wilson KH, Blitchington RB (1996) Human colonic biota studied by ribosomal DNA sequence analysis. Appl Environ Microbiol 62:2273–2278
151. Winter J, Bokkenheuser VD (1987) Bacterial metabolism of natural and synthetic sex hormones undergoing enterohepatic circulation. J Steroid Biochem 27:1145–1149
152. World Cancer Research Fund (2007) Food, nutrition, physical activity, and the prevention of cancer: a global perspective. American Institute for Cancer Research, Washington, D.C
153. Zur Hausen H (2009) The search for infectious causes of human cancers: where and why. Virology 392:1–10
154. Zverlov V, Klein M, Lucker S et al (2005) Lateral gene transfer of dissimilatory (bi)sulfite reductase revisited. J Bacteriol 187:2203–2208

Kanserin Tedavisinde ve Önlenmesinde Enflamatuar Anjiogenez ve Tümör Mikroçevresinin Hedeflenmesi

Antonino Bruno, Arianna Pagani, Elena Magnani, Teresa Rossi, Douglas M. Noonan, Anna Rita Cantelmo ve Adriana Albini

Özet

Tümör hücreleri anormal şekilde transformasyona uğramış hücrelere ek olarak, stromal hücreler, vasküler hücreler ve prekürsorları ile immun hücreler gibi konak komponentlerine de sahiptir. Tüm bu bileşenler birbirleriyle hücresel ve moleküler düzeyde etkileşerek tümör mikroçevresi olarak tanımlanan karmaşık ve heterojen hücre komplekslerinin ve matriksin ortaya çıkmasına neden olur. Bu etkileşimlerde rol oynayan çeşitli yolaklar hem patolojik hem de fizyolojik senaryolar ile incelenmiştir. Günümüzdeki kemoterapötik ve koruyucu tedavilerin hedefinde farklı moleküller mevcuttur. Birçok fitokimyasal ve türevlerinin tümör mikroçevresinde etkili olarak tümör progresyonunu, anjiogenezi ve metastazı engelleyici etki yaptığı gösterilmiştir. Bu incelemede tümör mikroçevresinde rol oynayan başlıca oyuncular ve mekanizmalar ile bu etkileşimleri engelleyerek tümörlerin kontrolsüzlüğünü ve progresyonunu bloke etmeyi amaçlayan bazı ilginç bileşikleri tartışacağız. Bu değerlendirmeler sağlıklı görünen bireylerden oluşan büyük popülasyonlarda kanser riskinin azaltılmasında kullanılacak yeni koruyucu yaklaşımların geliştirilmesinde hayati rol oynayacaktır.

A. Bruno · A. Pagani
Polo Scientificoe Tecnologico, Multi Medica Onlus, Milano, Italy

T. Rossi · A. Albini (✉)
Research Infrastructure, IRCCS Arcispedale Santa Maria Nuova, Reggio Emilia, Italy
mail: adriana.albini@asmn.re.it

A. Pagani · D. M. Noonan
Department of Biotechnologies and Life Sciences, University of Insubria,Varese, Italy

E. Magnani · D. M. Noonan · A. R. Cantelmo
Polo Scientifico e Tecnologico, MultiMedica IRCCS, Milano, Italy

V. Zappia et al. (eds.), *Advances in Nutrition and Cancer,*
Cancer Treatment and Research 159, DOI: 10.1007/978-3-642-38007-5_23,
© Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2014

Anahtar Kelimeler

Tümör mikroçevresi • Anjiogenez • Enflamasyon • Antianjiogenik tedavi • Kemoprevensiyon

Kısaltmalar

IGF1-R	İnsülin benzeri büyüme faktörü 1-reseptörü
IκB	İnhibitör kinaz B
IKK	İnhibitör kinaz kinaz
IL-13	İnterlökin-13
IL-4	İnterlökin-4
IL-6	İnterlökin-6
IL-12	İnterlökin-12
IL1Rα	İnterlökin-1 reseptör-alfa
IL1β	İnterlökin-1 beta
JAK	Aktive Janus kinaz
MAPK	Mitojen aktive protein kinaz
MDM2	Mürin çift dakika 2
MDM4	Mürin çift dakika 4
MDSC	Myeloid-derive supresör hücre
MMP-1	Matriks metalo proteaz-1
MMP-2	Matriks metalo proteaz-2
MMP-7	Matriks metalo proteaz-7
MMP-9	Matriks metalo proteaz-9
mTOR	Memeli rapamisin hedefi
N1	N1-polarize nötrofiller
N2	N2-polarize nötrofiller
NAC	N-asetilsistein
NF-κB	Nükleer faktör kappa B
NSAİD	Nonsteroid antienflamatuar ilaç
NSCLC	Küçük hücreli olmayan akciğer kanseri
PDGF	Platelet derive büyüme faktörü
PDGFR-β	Platelet derive büyüme faktör reseptörü-beta
PDGFR	Platelet derive büyüme faktör reseptörü

PI3K	Fosfoinositid 3-kinaz
PIG3	p53 ile indüklenebilir gen 3
PlGF	Plasenta büyüme faktörü
PMNs	Polimorfonükleer nötrofiller
Raf	Root abundant factor
RAR	Retinoid asit reseptörü
RARβ	Retinoid asit reseptörü-beta
RCC	Renal hücreli karsinom
RelA	NFkB alt ünite-A
RelB	V-rel retiküloendotelioz viral onkojen homoloğu B
RET	Transfeksiyon sırasında yeniden düzenlenmiş
RHD	Rel homoloji alanı
RITA	p53 reaktivasyonu ve tümör hücre apoptozunun indüksiyonu
ROS	Reaktif oksijen türleri
RTK	Reseptör tirozin kinaz
STAT	Sinyal dönüştürücü ve transkripsiyon aktivatörü
STAT3	Sinyal dönüştürücü ve transkripsiyon aktivatörü 3
SV40	Simian virüsü 40
TAM	tümör ile ilişkili makrofaj
TEM	Tie2-eksprese eden makrofaj
TGFα	Transforme olan büyüme faktörü-alfa
TGFβ	Transforme olan büyüme faktörü-beta
Th	Yardımcı T
Th2	Yardımcı T tip-2 polarizasyon
TKİ	Tirozin kinaz inhibitörleri
TNF	Tümör nekroz faktörü
TNFα	Tümör nekroz faktörü-alfa
TP53TG1	TP53 hedefi 1
TSP-1	Trombospondin-1
VEGF-A	Vasküler endotelyal büyüme faktörü A izoformu
VEGF	Vasküler endotelyal büyüme faktörü
VEGFR	Vasküler endotelyal büyüme faktörü reseptörü
wSMC	Vasküler düz kas hücresi
WIP1	Yara ile indüklenen protein 1

İçindekiler

1 Tümör Mikroçevresi 404
1.1 Hücresel Oyuncular 405
1.2 Moleküler Yolaklar 408

2 Kanser Kemoprevensiyonu 412
2.1 N-asetilsistein 412
2.2 Fenretinid 413
3 Tümör Mikroçevresini Hedefleyen Tedaviler 414
4 Sonuçlar 416
Referanslar 417

1 Tümör Mikroçevresi

Konağın karsinogenezde ve tümör progresyonunda önemli bir rol oynadığı biliniyor da olsa, Virchow'un 1863 yılında kanserdeki enflamatuar hücreleri gözlemesi ve Paget tarafından 1889 yılında ortaya atılan ve günümüzde de geçerliliğini koruyan "tohum ve toprak" hipotezi yaklaşık bir yüzyıl boyunca göz ardı edilmiştir [14]. Kanserin bir doku olduğu ve sadece bir hücredeki mutasyonlardan kaynaklanmadığı ve konakta kanser gelişimine izin veren kompleks bir prosesinin mevcut olduğu günümüzde artık kabul edilmektedir [44]. Tümör mikroçevresinin, [46] hem kanser tedavisinde (örneğin giderek artan sayıda tümör tipinde anjiogenezin hedeflenmesi ile) ve belki de daha da önemli olarak kanserin önlenmesinde de [8, 10] bir hedef olabileceği konsepti giderek daha fazla gerçeğe yaklaşmaktadır.

Enflamasyon günümüzde karsinogenezi yöneten bir güç olarak kabul edilmektedir [31, 114]. Kanserin birçok çevresel nedeni ve risk faktörleri kronik enflamasyonun tiplerinden biri ile ilişkilidir. Kanserlerin %20'ye kadar olan kısmı kronik enfeksiyonlarla ilişkilidir. %30'u sigara ve inhale edilen kirleticilerle (örn. silika ve asbest), %35'i de diyet faktörleriyle (kanser yükünün %20'si obezite ile ilişkilidir) bağlantılıdır [77].

Enflamasyonun tümör progresyonundaki etkisi anjiogenezi başlatan "anjiogenetik anahtarı" etkileyebilme yeteneği ile ilişkilidir [7, 89, 106]. Kanser hücreleri vasküler endotelyal büyüme faktörü (VEGF) bir dizi büyüme faktörü salgılarlar. Bu faktörler endotel hücre yerleşimi ve aktivasyonunu indükleyen spesifik reseptörler etkileşirler. Aktive endotel hücreleri tümör damar ağının gelişimini başlatırlar. Tümör anjiogenezi olarak bilinen bu proses normal dokulardaki damar ağından oldukça farklıdır. Karmaşık, disorganize ve delikli damarlar, yüksek makromolekül difüzyon katsayıları ve yüksek interstisyel basınca neden olan yetersiz veya mevcut olmayan lenfatik ağ ile karakterizedir. Tümör vaskülarizasyonu kanser progresyonu için şarttır. Tümörün büyümesi, lokal invazyonu ve metastatik yayılımının bu yolla gerçekleşmesi tümör anjiogenezinin karsinogenez için kritik bir erken olay olduğunu gösterir [22, 47, 54, 59].

1.1 Hücresel Oyuncular

1.1.1 Enflamatuar Hücreler

Birçok çalışmada kanser ve enflamasyon arasında sıkı bir ilişki olduğu gösterilmiştir (Tablo 1). Kanserle ilişkili enflamasyon tümör mikroçevresindeki önemli rolü nedeniyle, yakın zamanda kanserin yedinci ana özelliği olarak tanımlanmıştır [28, 60]. Mikroçevresinin enflamatuar komponentleri, kanserle ilişkili enflamasyonda rol oynayan ve enflamasyonun sürdürülmesini sağlayan çeşitli hücre tiplerinden oluşur. Tümörlere infiltre olan başlıca enflamatuar hücreler, tümörle ilişkili makrofajlar (TAM), Tie2 eksprese eden monositler (TEM), miyeloid kaynaklı supresor hücreler (MDSC) ve nötrofillerdir. Tümöre infiltre olan makrofajların rolleri gayet iyi bilinmektedir. Makrofajlar mikroçevredeki uyarıcılara bağlı olarak, tümör progresyonunu veya spesifik immun cevapların gelişimini destekleyen kemokinler gibi farklı fenotiplere sahip olabilirler [31, 106, 121]. Tümörlere infiltre olabilen en önemli enflamatuar hücreler olan tümörle ilişkili makrofajlar bir dizi büyüme faktörleri, sitokinler ve ekstraselüler matriks modelleme molekülleri üreterek tümör proliferasyonunu ve anjiogenezi indüklerler. Monosit prekürsörlerinden kaynaklanan tümörle il. makrofajlar tümör hücrelerine CCL2 ve CSF-1 vasıtası ile kan dolaşımından ulaşırlar. tümörle il. makrofajlar CCL2 üreterek otokrin pozitif regülasyon döngüsünü oluştururlar [141]. Çeşitli çalışmalarda tümörle il. makrofajların nekrotik ve hipoksik bölgelerde lokalize olarak, TAM migrasyonunu regüle eden HIF-1'e bağımlı molekülleri (VEGF, CXCL12 ve CXCR4) salgıladıkları gösterilmiştir [104]. Aktive TAM'lar tümör büyümesini destekleyen ve sürdüren VEGF, PDGF, TGFβ ve FGF ailesi üyelerini de kapsayan bir dizi proanjiogenik hücre salgılarlar. TAM'lar ayrıca matriks metaloproteinazlar olan MMP-7, MMP-2, MMP-9, MMP-1 ve sikloksijenaz (COX)-2 gibi çok sayıda anjiogenez modüle edici enzim salgılarlar [106].

Çeşitli çalışmalarda infiltre olan TAM ile lenfoma [76, 165] ve meme kanseri [20] gibi malignitelerin prognozunda kötüleşme arasında korelasyon olduğu gösterilmiştir Son zamanlarda mürin gliom modellerinde CCL2'ye karşı geliştirilen ve test edilen bir antikorun TAM oranlarını anlamlı olarak azalttığı ve tümör olan farelerdeki sağkalımı uzattığı gösterilmiştir [182]. TEM'ler endotel hücreler ve tümör anjiogenezi ile yakından ilişkili olan Tie2 eksprese edici TAM'ların bir alt kümesidir [27].

Polimorfonükleer nötrofiller (PMN) lökositlerin kandaki en yaygın bulunan alt kümesini oluşturan ve esas olarak mikroorganizmalara karşı oluşan doğal immun cevapla ilişkili olan hücrelerdir. Esneklikleri ve regüle edebilme kapasiteleri giderek daha fazla anlaşılmaktadır [96, 149]. Nötrofiller stimülasyon sonrası etkilenen dokulara hızlıca yerleşerek degranüle olarak proteazları salgılar ve reaktif oksijen türlerini (ROS) üretirler. Bu faktörler doku hasarı ve hücre lizisine yol açtıkları gibi, hem başlatıcı hem de destekleyici görev yaparak potansiyel DNA hasarına yol açarlar [96]. Nötrofil düzeylerinin artması meme ve kolon kanseri gibi çeşitli kanser türlerinde ve enflamatuar lezyonlarda ve ülserli bölgelerde gözlenmiştir [104]. PMN'ler kemokin bağlayan CXCR2 tarafından

Tablo 1 Bazı kemoprevensiyon ajanlarının etki mekanizması

Bileşik	Fonksiyonel hedefler		Moleküler hedefler			
	↓Enflamasyon	Anjiyoprevensiyon	↓NF-κB	↓AKT	↓STAT3	↑AMPK
NAC	+	+	+	+*	+*	+*
Fenretinid	–	+	?	+	–	–
Aspirin	+	+	+	+	+	+**
Metformin	+	+	+	+	+	+
EGCG	+	+	+	+	+	+
Ksantohumol	+	+	+	+	–	–
Deguelin	+	+	+	+	+	+
Hiperforin	+	+	+	+	–	–
Kurkumin	+	+	+	+	+	+
Resveratrol	+	+	+	+	+	+
CDDO-Me	+	+	+	+	+	+
CDDO-Im	+	+	+	+	+	–
Tamoksifen	–	+	+	–	+***	–

Bu kanser prevensiyon ajanlarının bir çoğunun enflamasyonu (↓), anjiogenezi (anjioprevensiyon), NF-κB ve Akt yolaklarını inhibe ettikleri gösterilmiştir. Bazılarının STAT3 yolağını bloke ettikleri ve AMPK'yi (↑) aktive ettikleri gösterilmiştir (AMPK devamında Akt aşağı yönlü yolağını inhibe eder). +Aktivite var, - Literatürde aktivite kanıtı yok *Aktivite kontrast oksidatif stres kaynaklıdır. **Aktivite in vivo bir metabolit olan salisilat kaynaklıdır. *** Sadece bir makalede raloksifen kullanılmıştır. Referanslar için ekteki makalelere bakınız: [2,8,10,138,139].

indüklenen anjiogenezde direkt rol oynarlar. Kemokin bağlanması PMN'lerin VEGF üretimini indükler Çeşitli kanıtlara dayanarak tümörlerdeki PMN'lerin tümör makrofajları [106], anti-tümör "PMN1" (veya N1) ve protümör "PMN2" (veya N2) alt kümeleri ile benzer fenotipik polarizasyona sahip olabilecekleri hipotezini geliştirdik [73, 107, 142]. Deneysel modellerde yapılan güncel çalışmalarda pro-anjiogenik (N2) veya anti-tümör (N1) nötrofil fenotiplerinin varlığını destekleyen birçok bulgu elde edilmiştir [49]. İki fenotip arasındaki değişimin TGFβ'den kaynaklandığı düşünülmektedir. Çünkü TGFβ düzeylerindeki artış N2 nötrofilleri yönündeki polarizasyonu stimüle etmektedir [48, 49]. Nötrofiller tümör nekroz faktörü α (TNFα), interlökin (IL) 1b, IL12, IL1Rα ve VEGF gibi çok sayıda sitokin, kemokinlerler (CXCL1, CXCL8, CXCL9, CCL3 ve CCL4) ve MMP9 gibi proteazlar üretebilir [106].

1.1.2 Fibroblastlar ve Miyofibroblastlar

Fibroblastlar dokuların yapısal kelepçesi olan stromayı üretir ve tümör mikroçevresinde önemli rol oynarlar. Fizyolojik koşullarda oldukça sessizdirler. Ancak doku hasarı fibroblastları aktive ederek kollajen ve fibronektin gibi ekstraselüler matriks komponentle-

rinin üretimini artırırlar [125]. Ayrıca bazal membranın formasyonunda laminin ve tip IV kollajen salgılayarak rol oynarlar. Fibroblastlar karsinojenik prosesin ilk fazlarındaki tümör progresyonunu aktive fibroblastlar arasındaki ara bağlantılar yoluyla inhibe ederler. Tümör progrese olurken kanserle ilişkili fibroblastlar (CAF) tümörün büyümesini ve progresyonunu tümör stromasını modifiye ederek desteklerler [116]. Mekanik basınçlar aktive fibroblastların miyofibroblastlara farklılaşmasını sağlarlar. Güncel çalışmalarda fibrozisin karsinogenezin majör bir destekçisi olduğu bildirilmiştir [75]. Matriks rijiditesinin invazif tümör büyümesinin ve yayılımının ana yolu olan karsinogenez ve epitelyal mezenkimal geçişin (EMT) belirli özelliklerini regüle ettiği bilinmektedir [74]. CAF'lar tümörü çevreleyen stromaya çeşitli sitokinler ile hepatosit büyüme faktörü (HGF), fibroblast büyüme faktörü (FGF), CXCL2, IL6 ve TGFβ gibi çeşitli büyüme faktörleri salgılarlar [60]. CAF'lar stroma kaynaklı faktör-1 (SDF-1) olarak da bilinen ve endotel hücre prekürsörlerini çeken CXCL12 üreterek anjiogenezi desteklerler [110, 172]. Mobil dil skuamoz hücreli karsinomu olan hastalardaki CAF dansitesinin prognozu tahmin etmekte güvenilir bir faktör olduğu güncel bir çalışmada gösterilmiştir [15].

1.1.3 Endotel Hücreleri ve Perisitler

Tümörlerdeki damarların yapıları normal damarlardan oldukça farklıdır. Bunun en önemli nedeni endotel-endotel ve endotel-perisit etkileşimlerindeki değişimlerin iyi gelişmemiş çapraşık damar gelişimine neden olmasıdır. Bu damarlar delikli duvarlar, perisitlerin az sayıda olması gibi fonksiyonel değişimlere yol açan yapısal varyasyonlara sahiptir. Mevcut damarlardan yeni damarların formasyonu ile karakterize olan anjiogenez farklı basamakları olan kompleks bir prosestir. Başlangıçta, metaloproteinazlar gibi proteinazlar tarafından indüklenen ekstraselüler matriks hasarı ile özellikle VEGF'yi de içeren ve kendileri de permeabiliteye yol açan anjiogenez faktörlerinin etkisi ile vasküler permeabilite artışı görülür [71]. Daha sonra endotel hücreleri anjiogenik uyarının kaynağına doğru yer değiştirerek prolifere ve sonrasında da diferansiye olurlar. Duvar hücreleri yeni damar hücreleri oluşturan endotel hücrelerini stabilize ederler. Bu proses anjipoietinler, integrinler, kemokinler, oksijen sensörleri ve diğer ilgili faktörlerin aracılığındaki uyarıcı ve inhibe edici sinyallerin hassas regülasyonunu gerektirir [21]. Normal damarlardaki perisitler kapiler yatağının entegre parçalarıdır. Sızıntıyı önlemek için damarın endotel hücreleri ile diğer komponentleri arasındaki intraselüler sinyalleri koordine ederler. Kan damarlarının vasküler tonusları ve kontraksiyonları damarların etrafında tek veya multipl tabakalar oluşturan damar düz kas hücreleri tarafından sağlanır [128].

Buna karşın proanjiogenik ve antianjiogenik faktörlerin disregülasyonuna bağlı olarak anjiogenik sitokinlerin ve inhibitörlerin dengesiz ekspresyonu sonucu tümör damarlarının immatür olduğu gözlenir. Tümör mikroçevre tümörijenez esnasında kemik iliğindeki endotel prekürsör hücrelerini çeken uyarılar oluşturur. Sonrasında endotel veya mural hücrelerinin diferansiye olarak olgunlaşmalarını sağlar [66]. Bu prosesin başlıca medyatörlerinden biri çeşitli neoplastik hücrelerden salgılanan VEGF-A'dır. VEGF-A hipoksi varlığında yukarı regüle olarak EPC'lerde bulunan reseptörlere bağlanır ve mo-

bilize olmalarını indükler. VEGF-A ve VEGA-A reseptörleri, monoklonal antikorlar ile antitümör ve antianjiogenik aktiviteleri olan küçük inhibitör moleküller gibi farklı bileşikler tarafından hedeflenirler. Anjiogenezin hedeflenmesi kanserin önlenmesinde kullanılabilecek bir yöntem (Tablo 1) ve terapötik bir modalite olarak değerlendirilmeye başlanan bir konudur [8, 9, 153].

Perisitlerin tümör damar ağı üzerindeki rolü son zamanlarda incelenmektedir. Fibroblastik/düz kas benzeri hücreler olan perisitler endotel hücreleri ile yakın temas halindedir. Yerleşimleri, farklılaşmaları, fonksiyonları ve homeostazları platelet kaynaklı büyüme faktörü (PDGF), TGFβ ve anjiopoietinler gibi bir dizi sinyal yolağı tarafından hassasiyetle regüle edilmektedir [117]. Perisitler endotel hücrelerini anti-VEGF tedaviden koruyabilir. Yeterli miktarda perisite sahip olmayan tümör hücreleri antianjiogenik tedavilere karşı daha hassastırlar [117]. Bu nedenle, çeşitli araştırma grupları, endotel hücrelerin anti-VEGF terapi ile hedeflenmeleri ile perisitlerin anti-PDGF terapi ile hedeflenmelerinin fizibilitesini değerlendirmiştir. Çift hedefli tedavilerin etkinliklerinin daha yüksek olduğu çeşitli fare modellerinde gösterilmiştir [17, 42]. Ancak güncel çalışmalarda klinik araştırmalarla ilgili bazı problemlerin hala mevcut olduğu gösterilmiştir [92]. İlginç biçimde, renal karsinom ve diğer bazı kanser türlerinde onaylı iki küçük moleküllü tirozin kinaz inhibitörü olan (TKİ) antianjiogenik ajanlar (Sorafenib ve Sunitinib) hem VEGFR'leri hem de PDGFR'leri hedeflemektedir. Ancak deneysel çalışmalarda anjiogenez inhibisyonunun metastatik yayılımı destekleyebileceği yönündeki bulgular [43, 111], daha sonra perisitlerin kapsama alanlarının inhibisyonuna ve devamında tümör hücrelerinin damarlara ulaşmalarının kolaylaşmasına bağlanmıştır [26, 170].

1.2 Moleküler Yolaklar

Mikroçevre içindeki moleküler yolakların deregülasyonu sitokinlerin, kemokinlerin ve diğer ilgili faktörlerin yaygın olarak stimüle olması ile karsinogenezin tüm evrelerinde gerçekleşir. Bu durum hücrelerde bir tür yaşam veya ölüm meselesi oluşması anlamına gelir. Bu dinamik dengesizliğin mevcudiyetinde, farklı evrelerdeki sinyal yolaklarını hedefleyen kimyasallar hücresel şartlara uygun şekilde kullanılabilir. Bu bölümde aşağıda açıkladığımız doğal bileşikler tarafından modüle edilen ana yolakları tanımlıyoruz. Bu yolaklar basitçe paralel veya farklı yönlere giden yollar gibi gözükseler de, birbirleri ile çapraşık bir biçimde kesiştikleri için nihai sonucun veya hedefin tahmin edilmesi güç ve rastlantısal bir hale gelmesine neden olurlar [152, 166].

1.2.1 p53

p53 mitojenik onkogenlerin dergülasyonu, DNA hasarı, besin öğesi eksikliği, hipoksi ve stroma desteği kaybı ile indüklenen hücresel strese cevap olarak aktive olan, hücrenin geleceğini belirleyen başlıca regülatörlerden biridir [161]. Moll ve Schramm tanımladıkları "tümörijenezdeki akrobat" ifadesini, p53 proteininin diğer moleküler partnerlerle girdiği multipl etkileşimler sonucunda hücre sağkalımında oynadığı "iyi polis/kötü polis" rolünü anlatmak için kullanmışlardır [136] 1979 yılında bulunan p53, SV40-

dönüştürülmüş hücrelerindeki büyük T antijeni ile ko-immunopresipitasyona uğrayan konak tarafından üretilen bir 55-kDA proteinidir [85]. Normal dokulardaki p53 düzeyleri ölçülemezken, birçok tümörde aşırı derecede eksprese olduğu bulunmuştur [32]. Bu bulgu diğer deneysel kanıtlarla [97, 100] bir arada değerlendirildiğinde hücre proliferasyonunun pozitif regülasyonunda rol oynadığı düşünülebilir. Ancak 1980'lerin sonunda p53'ün insan kanserlerinin yaklaşık yarısında mutasyona uğrayarak fonksiyon kaybına uğradığı bulunmuştur [61, 62]. Büyük T antijeni Rb ve p53 ile bir kompleks oluşturarak her iki molekülü de inaktive ederek SV40 virüsünün potent hücre transformasyon kapasitesinde rol oynar. Ayrıca sıçan fibroblastlarına doğal (wild type) p53 enjeksiyonu başka onkogenler tarafından transforme edilmesini engellemektedir [88]. Bu bulgular geniş kabul görmüş ve p53 tümör baskılayıcı bir gen olarak tanımlanmıştır. Başlangıçta TP53 geni tarafından kodlanan tek ürün olduğu düşünülmüş olsa da, şu anda p53 ailesinin alternatif ayrışma, alternatif promotör kullanımı veya translasyon başlamasından kaynaklanan en az dokuz izoformu mevcuttur. p53 spesifik DNA cevap element sekansları bağlayan, hücre döngüsü kontrolünde (p21, GADD45, WIP1, mdm-2, EGFR, PCNA, Siklin D1, Siklin G, TGFα, ve 14-3-3 s), DNA tamirinde (GADD45, PCNA, ve p21), apoptozda (BAX, Bcl-L, FAS1, FASL, IGF-BP3, PAG608 ve DR5/KILLER ve GML) anjiogenezde (TSP-1, BAI1) ve hücresel stres cevabında (TP53TG1, CSR, ve PIG3) rol oynayan genleri aktive eden bir transkripsiyon faktörüdür [122]. Güncel bulgular, p53 tarafından tetiklenen tümör progresyonunda, sadece hücre döngüsünün durdurulması ve apoptozun değil, senesansın indüksiyonuna bağlı olarak organizma tarafından verilen immun cevapların da rol oynayabileceğini ilginç bir biçimde göstermektedir [173]. Güncel bir çalışmada p53'ün mikroRNA ekspresyonunu [63] regüle edebildiğinin ve Bcl-2 ailesinin üyeleri ile direkt olarak etkileşime girerek sitoplazmadaki otofaji ve apoptozisi tetikleyen nontranskripsiyonel aktiviteye de sahip olduğunun keşfedilmiş olması tümör baskılayıcı rolüne yeni bir kompleks mekanizmanın eklenmesini sağlamıştır [56]. p53 aktivitesi geçiş denetçisi MDM2 tarafından sıkı bir şekilde regüle edilir. MDM2 p53'ün transaktivasyon bölgesine bağlanarak transkripsiyonel aktivitesini bloke ederek [102] ve p53'e ubikutin eklenmesini sağlayarak proteazom için degrade olmasını sağlar [83]. MDM2 p53'ün direkt transkripsiyonel hedefi olduğu için [169], sistem sıkı bir şekilde regüle edilir. MDM4 de MDM2 gibi p53'e bağlanarak degradasyonunda rol oynar [90]. MDM2-p53 döngüsünün ayarlanması antikanser tedavi için ümit verici bir hedeftir.

Onkogen sinyallerin tümör hücrelerindeki anjiogenik programı, HIF1α'yı stabilize ederek [103, 133], VEGF ve diğer proanjiogenik faktörleri de artırarak aktive ettiği tespit edilmiştir [79, 123, 124]. Ancak onkosupresörler hem normal hem de tümör hücrelerindeki anjiogenik programın regülasyonunda rol oynarlar [50, 150]. Anjiogenez birçok kemoterapötikten etkilenen veya kemoterapötiklerin efektörü olan başlıca moleküllerden birisi ve ana regülatör ve kritik tümör supresörü olan p53 tarafından modüle edilir [50, 150]. Multivalan tümör supresörü olan p53'ün tümörlerdeki yolakları sıklıkla inaktive ederek kanseri engelleyici etkiye sahip olduğu gösterilmiştir [109].

p53'e atfedilen birçok fonksiyon arasında tamir ve rekombinasyon üzerinde direkt etki, genom stabilitesinde rol oynayan proteinlerle ilişkisi ve kromatin modifikasyonu

mevcuttur. Ancak en önemli hücresel etkisi transkripsiyon faktörü üzerindedir. p53'ün kontrol ettiği büyük gen ağındaki ana regülatör etkisi, apoptoz, hücre döngüsü regülasyonu, senesans, enerji metabolizması, immun cevap, motilite ve migrasyon ile hücreler arası iletişim gibi çeşitli biyolojik aktivitelerden kaynaklanır [162].

p53'ün anjogenezi çeşitli farklı mekanizmalar yoluyla da suprese ettiğini gösteren kanıtlar giderek artmaktadır: (1) Ektraselüler matrikste bulunan ve kolajen prolil-4-hidroksilazın kolajen aktivitesinden kaynaklanan p53'ün transkripsiyonel hedefi olan antianjiogenik moleküllerin üretimini artırır [151]; (2) VEGF ve bFGF gibi proanjiogenik moleküllerin transkripsiyonunu represe eder [150]; (3) HIF1α degradasyonunu direkt bağlanma ile stimüle eder [126]; (4) miR107 gibi HIF1β'yi modüle eden mikroRNA'ları modüle eder [174]; (5) Tümörlerdeki anjiogenez anahtarını p19ARF ile birlikte inhibe eder[155]. Ayrıca p53 yolağının nongenotoksik aktivatörü olan nutlin-3'ün de endotel hücre migrasyonunu ve tüp formasyonunu inhibe ettiği ancak endotel hücre döngüsü ve apoptoz üzerinde minör etkileri olduğu gösterilmiştir [132]. MDM2-p53 etkileşimini bozan iki ilaç olan nutilinler ve RITA preklinik çalışmalarda önemli antikanser aktivite göstermiştir [70, 157]. Bu etkinin klinikte de test edilmesini umuyoruz.

1.2.2 NF-κB

NF-κB spesifik DNA sekansları bağlayan transkripsiyon faktörüdür [134]. Çok sayıda normal hücresel cevabın kontrolünde (immun ve enflamatuar cevaplar, gelişim, hücresel büyüme ve apoptoz) rol oynar. NF-κB kronik enflamasyon, kalp hastalığı ve kanseri de içeren birçok hastalıkta rol oynar [11, 84].

NF-κB DNA bağlayabilen Rel homoloji alanı (RHD) adı verilen korunan N-terminal bölgesini paylaşan beş farklı proteinin (p50, p52, p65 RelA, RelB, ve c-Rel) hetero- ve homodimerlerinden oluşur. IκB adı verilen inhibitör partner ailesi de mevcuttur [13]. NF-κB birçok hücrede IκB ailesinin yedi üyesinden birine direkt olarak bağlandığı için sitoplazmada tecrit edilmiş halde bulunur. Bu etkileşimin yukarı yönlü regülatörü IκB kinazdır (IKK). İki katalitik alt üniteden (IKKα ve IKKβ) ve bir regülatuar alt üniteden (IKKγ) oluşur. Ektraselüler sinyallarin aktivasyonunu takiben IIK IκB'yi fosforiller. IκB devamında çoklu ubikutin eklenme degradasyon yolağına girerek sitoplazmada tecrit halindeki NF-κB'nin serbestleşmesini sağlar. NF-κB çekirdeğe girince sitokinleri, kemokinleri, immunoreseptörleri, hücre adezyon moleküllerini, hücre yüzey reseptörlerini ve pro- ve antiapoptotik proteinleri kodlayan çok sayıda geni regüle edebilir [53]. Birçok farklı uyarı NF-κB'yi üç farklı yolak ile aktive edebilir. Kanonik yolak proenflamatuar sitokinler ve viral/mikrobik enfeksiyonlar ve IKK aktivasyonu-IκB degradasyonu-p50:ReIa nükleer lokalizasyonu ile tetiklenerek doğal immunitede yer alan genlerin ekspresyonuna ve apoptozun inhibisyonuna yol açar [77, 135]. Nonkanonik yolağında ise, TNF sitokin aile üyeleri tarafından stimüle edildikten sonra prekürsör kompleksi p100:ReIB'nin proseslenmesi ile p52:ReIB oluşur. Bu da adaptif immun cevapta rol oynayan genlerin modülasyonuna ve sekonder lenfoid organ gelişimine yol açar [171]. Atipik olan üçüncü yolak ise IKK aktivasyonuna ihtiyaç duymaz. DNA hasarı (ultraviyole

radyasyon), belir kemoterapötik ilaçlar ve ARF aktivasyonu antiapoptotik genleri aktive etmek yerine p50:ReIA ile represe ederek tümör baskılayıcı fonksiyon yapar [112]. Aktive edici stokinlerin (TNF-a, IL-1b) [51] aşırı üretimleri, ras veya myc gibi onkogenler veya NF-κB kodlayan genlerdeki genetik değişimler [30, 127] birçok malignitedeki NF-κB'nin yapısal ekspresyonunu belirler. NF-κB kanser destekleyici bir faktör olarak apoptozu [140] represe eder, anjiogenezi [24], tümör metastazını [68] ve hücre döngü progresyonunu [67] güçlendirir. NF-κB aracılığındaki kemorezistans apoptozu inhibe edici etkisinden sorumludur. Ancak bazı durumlarda (paklitaksel, doksorubisin) ilaçla indüklenen hücre ölümü için NF-κB gerekir [18, 68]. Araştırmacılar kanser ve enflamasyondaki karmaşık rolü nedeniyle NF-κB yolağını ve sıklıkla natürel bileşiklerden (kurkumin, resveratrol), sentetik ilaçlardan (talidomid) veya biyomoleküler araçlardan (hücre permeabl peptidler, mikroRNA ve tuzak oligodeoksinükleotidler) oluşan regüle edici partnerlerini (Tablo 1) spesifik olarak hedefleyen yeni stratejilerin geliştirilebilmesi için büyük çaba harcamaktadırlar [12, 78, 87].

1.2.3 Sinyal Dönüştürücü ve Transkripsiyon Aktivatörü

Tümör hücreleri tarafından salgılanan sitokinler ve büyüme faktörleri kanser hücrelerindeki ve tümör mikroçevresinin diğer komponentlerindeki yapısal NF-κB aktivasyonunu tetikler [57, 91, 131]. IL-6 ve FGF gibi spesifik faktörler sinyal dönüştürücü ve transkripsiyon aktivatörü 3'ün (STAT3) aktivatörüdür [41, 181]. Memelilerde herbiri farklı bir gende kodlanan yedi STAT proteini mevcut olup, bazılarının farklı alternatif ayrışma izoformları mevcuttur. Orijinal olarak IFN ile indüklenen cevapların [35] araştırılması ile tespit edilen STAT'lar çok farklı olan ve STAT spesifitesine katkı yapan karboksi-terminal transkripsiyonel aktivasyon bölgesi haricinde yapısal ve fonksiyonel olarak korunan alanları paylaşırlar [178]. En yüksek oranda korunan alan olan SH2 alanı sadece STAT'ların homo-heterodimerize edebilme kapasitelerinden değil [137], aynı zamanda spesifik fosfotirozin motiflerine bağlanabilmelerinden de sorumludur. Gerçekten de bu son SH2 özelliği STAT sinyali için vazgeçilmezdir. Sitokin reseptörüne STAT yerleşimini ve aktive edici Janus kinaz (JAK) ile ilişkisini sağlarlar [58] Bilinen yedi STAT proteini içinde, STAT3, STAT5 ve STAT6'nın yapısal aktivasyonunun lösemi, multipl miyelom ve çeşitli solid tümörlerde rol oynadığı bilinmektedir. Bu bulgular, NF-κB sinyal yolağındaki rolleri ile birlikte STAT'ları kanser tedavisi için uygun hedefler haline getirmektedir. STAT3 ilk olarak IL-6'ya cevap veren genlerin transkripsiyonlarında rol oynayan akut faz cevap faktörleri (APRF) olarak tanımlanmıştır [5]. Daha sonra yapılan çalışmalarda STAT3'ün yapısal aktivasyonunun Src gibi onkogenik tirozin kinazlar tarafından transforme edilen hücrelerde gerçekleştiği gösterilmiştir [177, 178]. Yapısal STAT3 aktivasyonunun mekanizması, esas olarak tümördeki enflamatuar ortamda bulunan IL-6'nın, STAT3 fosforilasyonuna yol açan otokrin ve parakrin üretiminden kaynaklanmaktadır. IL-6 ile indüklenen STAT3'ün, devamında ileri beslemeli aktivasyon döngüsü ile IL-6'yı indüklemesi ilginç bir bulgudur. STAT3 aktivasyonu hücreleri apoptozdan korurken, hücre döngüsünün progresyonunu ve metastazı destekler [23]. Çeşitli çalışmalarda

STAT3 ve NF-κB yolakları arasında bağlantılar tanımlanmıştır: STAT3, NF-κB'nin transkripsiyonal hedefleri olan IL-6 [105, 181] ve COX-2 [34] tarafından aktive edilmektedir. Diğer yandan STAT3 normal immun hücrelerdeki NF-κB aktivasyonunu IKK'yı inhibe ederek kontrol etmektedir [166]. Fosrolillenmemiş STAT3, fosforillenmemiş NF-κB'yi bağlayarak çekirdekte akümüle olur ve NF-κB'ye bağımlı genlerin alt kümesini aktive eder [175]. Ayrıca, Lee ve ark. güncel bir çalışmalarında STAT3'ün ReIA ile direkt olarak etkileşerek p300 tarafından asetile edilmesini kolaylaştırıp hem tümör hem de tümör ile ilişkili immun hücrelerdeki NF-κB'nin nükleer retansiyonunu nasıl uzattığı açıklanmaktadır. STAT6'nın önce IL-4 tarafından, devamında da IL-4 ile bir reseptör zinciri paylaşan IL13 tarafından aktive edildiği gösterilmiştir. İnterlökin-4 yardımcı T hücre alt kümelerinin dengelerinin modüle edilmesinde önemli rol oynayarak, Th2 türünün Th1'e göre daha fazla yayılmasını sağlamaktadır. Gerçekten de STAT6 knockout fareler Th2 hücreleri geliştiremezler [148].

2 Kanser Kemoprevensiyonu

2.1 N-asetilsistein

N-asetilsistein (NAC) mikroçevresinin korunmasında ümit vadeden ajanlardan biri [39] olarak görünmektedir (Tablo 1). Vücuttaki en önemli antioksidan olan sistein ve glutatyonun sentetik prekürsörüdür. Glutatyon düzeylerinin artmasına yol açan NAC'ın kendisi de bir antioksidan ilaç olarak kabul edilmekte ve artrit, kanser, kardiyovasküler ve respiratuar hastalıklarda reaktif oksijen türlerinin yol açtığı oksidatif stresi tamponlamakta önemli bir rol oynamaktadır [179]. NAC ilk kez 1960'larda bir mukolitik ilaç olarak [119] kronik obstruktif akciğer hastalığının alevlenmelerine engel olmak amacıyla kullanılmıştır. Daha sonra 1980'lerde hayvan modellerinde yapılan çeşitli deneylerde kanser önleyici potansiyeli ortaya çıkmıştır. NAC'ın karsinojenler aracılığında gerçekleşen oksidatif DNA hasarını önlediği, tümörlerin ve neoplastik lezyonların gelişimini baskıladığı ya da geciktirdiği kemirgenlerde gösterilmiştir [37, 38]. NAC ayrıca HIV1 aracılığında düşük sistein ve glutatyon düzeylerine bağlı olarak oluşan oksidatif stresi takiben oluşan hücresel hasarı engelleyebilir [118].

Son zamanlarda fare epitel hücre dizilerinde DNA eklentilerinin oluşumunu engellediği bildirildiği için meme kanserine karşı korumada uygun bir ilaç olabileceği önerilmiştir [160]. NAC'ın koruyucu rolünün gerçekleşmesinde yer alan moleküler mekanizmalar derinlemesine araştırılmıştır. NF-κB, AP1, MAPK yolaklarını inhibe etmekte, proenflamatuar ve büyüme faktörü sinyalleri ile mücadele etmekte ve kemoterapi ile radyoterapi sonrası görülen hücre hasarını azaltmaktadır [147]. NAC, AKT fosforilasyonunu azalttığı için mikroçevreyi de hedeflemektedir. Anjiogenezi ve tümör metastazlarını deneysel modellerde engellediğinin gösterilmesi antikanser etkilerini destekleyen bulgulardır [6, 94]. İyi bir kemopreventif ilacın birçok özelliğine sahip olmasına rağmen, NAC ile yapılan kli-

nik çalışmalar büyük hayal kırıklığı yaratmıştır: BRONCUS çalışmasında pulmoner hastalıkta bir faydası tespit edilmemiştir [40]; EUROSCAN çalışmasında da boyun, baş veya akciğer kanseri olan hastalarda NAC uygulanması ile herhangi bir fayda tespit edilmemiştir [156]. Ayrıca kardiyovasküler, karaciğer ve böbrek hastalıklarındaki etkisine işaret edebilecek güçlü klinik kanıtlar da mevcut değildir [3]. Deneysel çalışmalarda NAC'ın Cu II varlığında DNA hasarına yol açarak muhtemel karsinojenik etki gösterebilme ihtimali de (diğer antioksidanlar ile benzer şekilde) gösterilmiştir [108].

2.2 Fenrenitid

N-(4-hidroksifenil)retinamid (4HPR) olarak da bilinen fenrenitid kanser kemoprevensiyonunda en sık kullanılan retinoid asit analoğudur. Retinoik asit reseptörünün intraselüler reseptörünün steroid/tiroid hormon üst ailesine ait olduğu biliniyor olsa da, analoğu aktivitesini tümör hücrelerindeki çeşitli yolakları etkileyerek gösterir. 4HPR hepatoselüler karsinom, akciğer, baş, boyun kanseri ve çeşitli ovaryum hücre dizilerinde RARβ bağlayarak kaspaz 3'ü aktive ederek apoptozu indükler [19, 129]. RARβ normal hücre büyüme ve regülasyonunda rol oynayan üç retinoid asit reseptöründen (RAR) birisidir. Fenretinid apoptozu kaspazdan bağımsız olarak redoks dengesini bozarak, reaktif oksijen türlerinin üretimini ve sitokrom c salınımını tetikleyerek de indükleyebilir. Ayrıca seramid/sfingomiyelin aracılığındaki yolakları da aktive eder [159]. Bu etki mekanizmaları miyeloid lösemi hücrelerinde [72], prostat kanseri hücrelerinde [55], insan pankreas hücrelerinde [98], nöroblastom [33], retinoblastom [154, 159] ve karaciğer kanseri hücrelerinde aktiftir [176].

Fenretinid tümör mikroçevresinin anjiogenik komponentini de etkiler (Tablo 1). Direkt olarak endotel fonksiyonunu bozar, çeşitli büyüme faktörlerinin ve sitokinlerin üretim, salınım ve aktivasyonunu etkiler. Pienta ve ark. onbeş yıl önce 4HPR'nin prostat kanser modelinde endotel hücre motilitesini inhibe ettiğini, kapiler benzeri yapılar oluşturabildiğini ve neovaskülarizasyona yol açabildiğini gösterdiler [115]. Biz de daha sonra 4HPR'nin retinoblastom ve Kaposi sarkomu modellerindeki tümör anjiogenezini azalttığını gösterdik [45, 154]. Fehretinid ayrıca IGF1/IGF1 reseptörü, TGFβ ve NF-κB gibi diğer yolakları hedefleyen hücrelerin yaşama yeteneklerini de etkiler [138].

Çeşitli klinik çalışmalarda fenretinidin hem kemopreventif hem de kemoterapötik etkinliği araştırılmıştır. En büyük faz III klinik çalışma İstituto Nazionale dei Tumori of Milan koordinatörlüğünde 1987 yılında başlatılan ve evre I meme kanseri olan hastalardaki tümör insidansı üzerinde fenrenitinidin etkilerini araştıran çok merkezli, randomize, kemoprevensiyon çalışmasıdır. Bu çalışmanın sonuçları fenretinidinin premenopozal kadınlarda kemopreventif etkisi olduğunu göstermiştir. Ancak postmenopozal kadınlarda paradoksik şekilde karşıt etkileri olduğu görülmektedir. Şu anda serviks, mesane ve ovaryum kanserinde fenretinidin kemoprevensiyon özelliğini araştıran klinik çalışmalar sürmektedir. Diğer çalışmalar 4HPR'nin baş ve boyun kanseri, lenfoma, nöroblastom, böbrek kanseri, gliom, küçük hücreli akciğer kanseri ve prostat kanseri hastalarında kemoterapötik ilaç olarak etkinliğini araştırmayı amaçlamaktadır.

3 Tümör Mikroçevresini Hedefleyen Tedaviler

Konvansiyonel kanser tedavisinde tümör hücresinin kendisini hedefleyen tedavilere alternatif veya ek olarak tümör mikroçevresinin hedeflenmesinin ümit verici olduğu açıktır. Bu teori tümör mikroçevresinin kansere yol açan tek neden olduğunu öneren bulgularla desteklenmektedir [163, 164]. Ayrıca tümör mikroçevresinin çeşitli kemoprevensiyon ajanları tarafından hızlıca ve efektif olarak hedeflenebilmesi ile tümörün agresifliği engellenebilmekte ya da geciktirilebilmektedir.

Solid tümörlerin klinik olarak sessiz olan küçük hücre grubu durumundan, onkoloji hastalarının çoğunun ölüm nedeni olan metastaz yapabilecek hale gelebilmesi için anjiogenez şarttır. Bu gerçek araştırmacıların ve endüstrinin efektif antianjiogenik tedaviler geliştirmek için sarf ettikleri büyük enerjinin nedenidir. Folkman 1971 yılında anjiogenezin karsinogenezdeki rolünü öngörmüştür [46]. Tümör hücreleri genetik ve çevresel değişimleri takiben proanjiogenik büyüme faktörlerini (örn. VEGF) salgılayarak tümör damar ağı formasyonuna neden olan "anjiogenik anahtarı" aktive ederler. Bu anjiogenik fenotipin oluşumunda rol oynayan tüm yolaklar ve moleküler oyuncular antianjiogenik terapi için iyi birer adaydır. Çalışmaların çoğu VEGF/VEGFR yolağına odaklanmıştır. Bevakizumab VEGF (VEGF-A) izoformlarını inhibe ederek reseptörlerine bağlanmasını engelleyen hümanize monoklonal antikordur. FDA tarafından kolorektal kanser tedavisinde kemoterapi rejimi ile kombinasyon halinde kullanım için onaylı ilk antianjiogenik ilaçtır. Bevakizumab, muhtemelen tümör damarları üzerindeki "normalizasyon" etkisi nedeniyle, hemen her zaman sadece kemoterapi ile kombine olarak kullanıldığında etkilidir. Bu dengesiz ve düzensiz tümör damar düzeninin "tamiri" sızıntıları azaltarak interstisyel basıncı düşürür. Böylece ilaçların daha iyi dağılmasını ve etkinlik göstermelerini sağlar [71, 80, 99].

Aflibersept (VEGF-Tuzağı) VEGFR-1 ve VEGFR-2'nin ekstraselüler bölgelerinin IgG'nin Fc fragmanı ile birlikte füzyonu sonucunda elde edilen bir moleküldür. Füzyon proteinlerinin preklinik çalışmalarda, VEGF ve PIGF'nin hücresel reseptörlerine bağlanmalarını inhibe ederek anjiogenezi ve tümör büyümesini bloke ettikleri tespit edilmiştir. Akut myeloid lösemi, glioblastom, karsinom, metastatik pankreas kanseri, küçük hücreli akciğer kanseri ile diğer bazı kanser türlerinde yapılmakta olan güncel klinik çalışmalarda değerlendirilmektedir [64].

Yoğun olarak araştırılan bir başka bileşik sınıfı da RTK inhbitörleri olarak da bilinen tirozin kinazların reseptörlerini hedefleyen TKİ'lerdir. Bazı reseptörler hem endotel hem de kanser hücreleri tarafından eksprese edildikleri için, bu moleküller her iki hücre tipinde de etkili olabilirler. Bu sınıfa ait olan ilk bileşik olan semaksanib ilk olarak 5-florourasil ile kombinasyon halinde test edilmiştir. Ancak çalışma hayal kırıklığı yaratan sonuçları ve yüksek toksisite nedeniyle durdurulmuştur [130]. Küçük bir oral molekül olan ve VEGFR, PDGFR, c-kit, RET ve koloni stimüle edici faktör (CSF)-1R'yi hedefleyen sunitinib tedavisi ile metastatik renal hücreli karsinom (RCC) hastalarında yapılan klinik çalışmada ümit verici sonuçlar alınması sonrası metastatik renal hücreli karsinom ve gastrointestinal stromal tümör tedavisinde FDA onayı al-

mıştır [28]. Aynı bileşik grubuna ait olan sorafenib de VEGFR, PDGFR-β ve c-kit'i inhibe eder. Bu molekül çeşitli tümör hücre dizilerinde Raf kinazları ve ERK1/1 MAPK sinyalini de hedefler. Metastastik RCC ve rezeke edilemeyen hepatoselüler karsinom tedavisinde onaylıdır [167].

EGFR/HER1 inhibitörü olan erlotinibin antikanser aktivitesini VEGF'yi de içeren büyüme faktörlerinin ekspresyonunu represe ederek gösterdiği düşünülmektedir. Pankreas kanserinin tedavisinde gemsitabin ile kombine halde ve küçük hücreli olmayan akciğer kanserinin (NSCLC) tedavisinde onaylıdır [120]. PDGFR ve Bcr/Abl inhibitörü olan imatinib kronik miyeloid lösemi tedavisinde kullanılır. İn vitro anjiogenetik etkileri de olan imatinib endotel hücrelerini ve perisitleri PDGFR ile etkileşimi sayesinde etkiler. Perisitlerin hedeflenmesi damar ağını etkilemek için geçerli bir yaklaşımdır. Ancak bu yaklaşım dezavantajı sızdıran damarların metastaza neden olma ihtimalidir. Bu potansiyel yan etkilerden kaçınabilmek için iyi dizayn edilmiş bir tedavi gereklidir [144].

Uzun süreli anti-VEGF tedavinin faydaları yanında kardiyovasküler komplikasyonlar ve direnç kazanımı gibi yan etkileri de vardır. Kardiyovasküler yan etkiler bu bileşiklerin hem tümör hem de tümörle ilişkili olmayan endotel hücrelerinde etki gösteriyor olmalarından kaynaklanır. Tümörle ilişkisiz endotel hücrelerinde etki göstermeleri anjiogenez sinyallerinin çokluğundan kaynaklanır. Bu dezavantajların üstesinde gelebilmek için çok hedefli bir yaklaşım gerekir.

İnter- ve intraselüler iletişimlerin altında yatan kompleks ağ nedeniyle, sinyal yolaklarını hedeflemek üzere geliştirilen birçok bileşik aynı zamanda anjiogenezi de etkilemektedir. EGFR'yi hedefleyen monoklonal antikor olan setuksimab metastatik kolorektal kanserdeki proanjiogenik sitokin ekspresyonunu represe eder [82].

PI3K ailesinin iki inhibitörü olan LY294002 ve wortmannin yüksek toksisiteleri nedeniyle klinik kullanıma girememiştir [145]. AKT/mTOR yolağı perifozin (bir alkilfosfolipid), rapamisin ve analogları (temsirolimus ve everolimus) tarafından hedeflenir; bu bileşikler renal hücreli karsinom tedavisinde etkilidir [69]. Sinyal ağındaki bir diğer merkezde hipoksi ile indüklenebilir faktör HIF'dır. HIF, DNA'ya bağlanmasını (Ekinomisin) [81] ve p300 (Ketomin) [143] veya HSP90 (Geldanamisin) [95] gibi kofaktörlerle etkileşimini engelleyerek, transkripsiyonel aktivitesinin inhibe eden [180] multipl bileşikler tarafından hedeflenir. HIF'ı hedeflemenin diğer yöntemleri ekspresyonunu ve akümülasyonunu (2-Metoksiöstradiol) tioredoksinlerin inhibisyonu (PX-12) ile engellemektir. Geldanamisin, 2-Metoksiöstradiol ve PX-12 ile ilgili süren çalışmalarda bazı ön sonuçlar alınmıştır [29].

Çeşitli epidemiyolojik çalışmalarda antienflamatuar ilaçlarla (NSAİD) ve diğer COX-2 inhibitörleri ile uzun süre tedavi edilen hastalardaki kolon, meme ve gastrik kanserlerin insidansları daha düşük bulunmuştur [10]. COX-2 adenokarsinom, over ve kolon kanseri gibi farklı kanser türleri olan hastalarda kötü prognoz ile koreledir. COX-2 inhibitörü selekoksibin (Celebrex) prostat, baş ve boyun, küçük hücreli akciğer kanserleri gibi çeşitli kanserlerin tedavisinde kullanıldığı klinik çalışmalar sürmektedir [52].

En önemli proenflamatuar moleküllerden biri TNFα'dır. TNFα, tümörlerin büyüme ve yayılımları için gerekli olan NF-κB yolağını ve dokuların yeniden yapılanmasını aktive eder. TNFα aktivitesine engel olmak için çözünür TNF reseptörü, etanersept, TNF'e karşı kimerik bir monoklonal antikor, infliksimab ve pegile hümanize anti-TNFα parçası, CDP870 gibi çeşitli yaklaşımlar kullanılmıştır [1]. Bu inhibitörler günümüzde başta romatoid artrit olmak üzere çeşitli kronik enflamatuar hastalıkların tedavisinde klinikte kullanılmaktadır. TNFα inhibitörlerini anti-neoplastik tedavide kullanımlarını araştıran çeşitli klinik çalışmalar sürmektedir. Ancak şu ana kadar etkinliklerini gösteren net bir kanıt bulunmamıştır (http://clinicaltrials.gov/).

Tanımlanan moleküler yolaklara ek olarak, tümör mikroçevresini oluşturan enflamatuar hücreler de kanser tedavisinde uygun hedefler olabilir. Yukarıda bahsedildiği üzere, TAM'lar kanser ile ilişkili enflamasyonda çok önemli rol oynarlar; çoğunlukla CSF-1 ve CCL-2 tarafından alınırlar. TAM infiltrasyonunu inhibe etmenin muhtemel bir yolu CSF-1/CFS-1 reseptörünü (CSF-1R) veya CCL2/CCL2 reseptör (CCR2) eksenini hedeflemektir. RTK inhibitörü olan sunitinib in vitro deneylerde CSF-1R'yi bloke edebilmektedir [25]. CCR2 inhibitörleri çeşitli ilaç firmaları tarafından araştırılmaktadır. Merck'in son zamanlarda geliştirdiği MK0812 tedavisi ataklar ve remisyonlarla karakterize multipl sklerozda ve romatoid artritte sürmekte olan faz II klinik çalışma ile araştırılmaktadır [168] (http://clinicaltrials.gov/).

TAM'lar yerleşimlerini takiben, karsinojenezi destekleyen çok miktarda proanjiogenik ve protümörijenik faktörler salgılarlar. Bu nedenle diğer stratejiler aktive TAM'ları hedeflerler. Kemik metastazları ile ilgili iskelet problemlerini azalttığı bilinen zoledronik asidin, TAM'lara yönelik miyeloid farklılaşmayı bozarak ve TAM'ların MMP9 salgılamalarını azaltarak da etki gösterdiği güncel çalışmalarda gösterilmiştir [158]. Ayrıca CAF'lar da güncel bir tedavi hedefidir. CAF'lar, endotel hücre prekürsorlarını (EPC) kendilerine çekerek anjiogenezi destekleyen CXCR4 ligandı olan SDF-1 üretirler. CXCR4 inhibitörü olarak geliştirilen AMD3100'ün akut myeloid lösemi, lenfoma, relaps/refrakter multipl miyelom ve diğer malignitelerin tedavisinde kullanımını araştıran klinik çalışmalar sürmektedir [36].

Tümör mikroçevresinin hedeflenmesinin avantajı, (en azından teorik olarak) nontümör hücre popülasyonlarının genetik olarak stabil olmaları nedeniyle kazanılmış ilaç rezistansına yol açan mutasyonların akümülasyonuna daha az eğilimli olmalarıdır. Ancak bu varsayım tam olarak doğru değildir. Örneğin endotel hücrelerinin tümör hücrelerinden kaynaklanabileceği ve tümörle ilişkili endotel hücrelerinde genetik dş.lerin bazı vakalarda görüldüğü güncel deneyler ile gösterilmiştir [4, 93, 113, 146].

4 Sonuçlar

Sonuç olarak etkili bir tümör tedavisi sadece tümör hücresini değil bütün hücresel oyuncuları hedef almalıdır: Bu komplike proseste rol oynayan endotel hücreleri, perisitler, immun hücreler ve fibroblastlar hedeflenmelidir. Bu hedefe ulaşmak için çok sayıda

adım atılmıştır. Ancak kanseri ve karsinogenez prosesini etkili bir şekilde hedefleyebilmek için çok daha fazlasına ihtiyaç vardır. Çok miktarda deneysel veriler, klinik ve preklinik gözlemler göz önüne alındığında kanseri yok edebilmek için tümör hücrelerinin hedeflenmesinin yeterli olmadığı açıktır. Çeşitli terapötik protokollerde bevakizumab, sunitib ve sorafenib gibi antianjiogenik ilaçlar yer almaktadır. Tümör mikroçevresine uyarlanmış antienflamatuar ilaçlar da mevcuttur. Tedaviler bu çok hedefli yaklaşımlara rağmen sıklıkla başarısız olmaktadır. Bu durum kısmen hastalığın ileri evrede teşhis ve tedavi edilmesine bağladır. Bu nedenle tümörlerin henüz klinik olarak teşhis edilemedikleri başlangıç evrelerinde kanser kemoprevensiyonu yoluyla hedeflenmeleri ilginç bir alternatif stratejidir. Bu yaklaşımın başlıca özelliklerinden biri tümör mikroçevresinin hedeflenmesidir. Hatta tümör mikroçevresinin oluşmadan önce engellenerek tümör büyüme ve progresyonunun durdurulması en ideal yaklaşımdır.

Bu yaklaşımın altında yatan bilimsel mantığın bazı yönleri ile tümör, tümör mikroçevresi ve ilaçlar arasındaki etkileşimlerin gerçekleştiği biyolojik senaryoyu tanımladık. Karsinogenezin tüm evreleri, preneoplastik hücrelerdeki genetik mutasyonlar, mikroçevresinin moleküler sinyalleri ve tümör homeostazı ilaçların olası hedefleridir. Bu bölümde hem preklinik hem de klinik çalışmalarda kanser kemoprevensiyonunda kullanımları araştırılmakta olan en fazla ümit vadeden bileşiklerle ilgili güncel bilgilerden bahsettik. Bazıları çelişkili olsa da genel olarak ümit verici olan çalışma sonuçlarında, tümör mikroçevresinin önemi vurgulanmakta ve kemopreventif yaklaşımların kanserin ve progresyonunun önlenmesinde geçerli stratejiler haline gelebileceği bildirilmektedir.

Teşekkürler Bu çalışmalara maddi destke veren kurumlar: AIRC (Associazione Italiana per la Ricerca sul Cancro), Ministero della Salute, ISS (Istituto Superiore della Sanità). AB, FIRC (Fondazione Italiana per la Ricerca sul Cancro) asistanıdır. AP, "Caterina Forni" AIRC bursu almıştır. Veri yönetimi için Dr Paola Corradino'ya (Multimedica IRCCS) teşekkür ediyoruz.

Referanslar

1. Aaltonen KJ, Virkki LM, Malmivaara A, Konttinen YT, Nordstrom DC, Blom M (2012) Systematic review and meta-analysis of the efficacy and safety of existing TNF blocking agents in treatment of rheumatoid arthritis. PLoS One 7:e30275
2. Aggarwal BB, Vijayalekshmi RV, Sung B (2009) Targeting inflammatory pathways for prevention and therapy of cancer: short-term friend, long-term foe. Clin Cancer Res 15:425–430
3. Aitio ML (2006) N-acetylcysteine—passe-partout or much ado about nothing? Br J Clin Pharmacol 61:5–15
4. Akino T, Hida K, Hida Y, Tsuchiya K, Freedman D, Muraki C, Ohga N, Matsuda K, Akiyama K, Harabayashi T, Shinohara N, Nonomura K, Klagsbrun M, Shindoh M (2009) Cytogenetic abnormalities of tumor-associated endothelial cells in human malignant tumors. Am J Pathol 175:2657–2667
5. Akira S, Nishio Y, Inoue M, Wang XJ, Wei S, Matsusaka T, Yoshida K, Sudo T, Naruto M, Kishimoto T (1994) Molecular cloning of APRF, a novel IFN-stimulated gene factor 3 p91-

related transcription factor involved in the gp130-mediated signaling pathway. Cell 77:63–71
6. Albini A, Morini M, D'Agostini F, Ferrari N, Campelli F, Arena G, Noonan DM, Pesce C, De Flora S (2001) Inhibition of angiogenesis-driven Kaposi's sarcoma tumor growth in nude mice by oral N-acetylcysteine. Cancer Res 61:8171–8178
7. Albini A, Noonan DM (2012) Angiopoietin2 and tie2: tied to lymphangiogenesis and lung metastasis. New perspectives in antimetastatic antiangiogenic therapy. J Natl Cancer Inst 104:429–431
8. Albini A, Sporn MB (2007) The tumour microenvironment as a target for chemoprevention. Nat Rev Cancer 7:139–147
9. Albini A, Tosetti F, Benelli R, Noonan DM (2005) Tumor inflammatory angiogenesis and its chemoprevention. Cancer Res 65:10637–10641
10. Albini A, Tosetti F, Li VW, Noonan DM, Li WW (2012) Cancer prevention by targeting angiogenesis. Nat Rev Clin Oncol 9:498–509
11. Aradhya S, Nelson DL (2001) NF-kappaB signaling and human disease. Curr Opin Genet Dev 11:300–306
12. Aravindaram K, Yang NS (2010) Anti-inflammatory plant natural products for cancer therapy. Planta Med 76:1103–1117
13. Baldwin AS Jr (1996) The NF-kappa B and I kappa B proteins: new discoveries and insights. Annu Rev Immunol 14:649–683
14. Balkwill F, Mantovani A (2001) Inflammation and cancer: back to Virchow? Lancet 357:539–545
15. Bello IO, Vered M, Dayan D, Dobriyan A, Yahalom R, Alanen K, Nieminen P, Kantola S, Laara E, Salo T (2011) Cancer-associated fibroblasts, a parameter of the tumor microenvironment, overcomes carcinoma-associated parameters in the prognosis of patients with mobile tongue cancer. Oral Oncol 47:33–38
16. Benelli R, Morini M, Carrozzino F, Ferrari N, Minghelli S, Santi L, Cassatella M, Noonan DM, Albini A (2002) Neutrophils as a key cellular target for angiostatin: implications for regulation of angiogenesis and inflammation. FASEB J 16:267–269
17. Bergers G, Song S, Meyer-Morse N, Bergsland E, Hanahan D (2003) Benefits of targeting both pericytes and endothelial cells in the tumor vasculature with kinase inhibitors. J Clin Invest 111:1287–1295
18. Bian X, McAllister-Lucas LM, Shao F, Schumacher KR, Feng Z, Porter AG, Castle VP, Opipari AW Jr (2001) NF-kappa B activation mediates doxorubicin-induced cell death in N-type neuroblastoma cells. J Biol Chem 276:48921–48929
19. Bu P, Wan YJ (2007) Fenretinide-induced apoptosis of Huh-7 hepatocellular carcinoma is retinoic acid receptor beta dependent. BMC Cancer 7:236
20. Campbell MJ, Tonlaar NY, Garwood ER, Huo D, Moore DH, Khramtsov AI, Au A, Baehner F, Chen Y, Malaka DO, Lin A, Adeyanju OO, Li S, Gong C, McGrath M, Olopade OI, Esserman LJ (2011) Proliferating macrophages associated with high grade, hormone receptor negative breast cancer and poor clinical outcome. Breast Cancer Res Treat 128:703–711
21. Carmeliet P (2003) Angiogenesis in health and disease. Nat Med 9:653–660
22. Carmeliet P, Jain RK (2000) Angiogenesis in cancer and other diseases. Nature 407:249–257
23. Chan KS, Sano S, Kiguchi K, Anders J, Komazawa N, Takeda J, DiGiovanni J (2004) Disruption of Stat3 reveals a critical role in both the initiation and the promotion stages of epithelial carcinogenesis. J Clin Invest 114:720–728
24. Chilov D, Kukk E, Taira S, Jeltsch M, Kaukonen J, Palotie A, Joukov V, Alitalo K (1997) Genomic organization of human and mouse genes for vascular endothelial growth factor C. J Biol Chem 272:25176–25183
25. Chow LQ, Eckhardt SG (2007) Sunitinib: from rational design to clinical efficacy. J Clin Oncol 25:884–896

26. Chung AS, Lee J, Ferrara N (2010) Targeting the tumour vasculature: insights from physiological angiogenesis. Nat Rev Cancer 10:505–514
27. Coffelt SB, Hughes R, Lewis CE (2009) Tumor-associated macrophages: effectors of angiogenesis and tumor progression. Biochim Biophys Acta 1796:11–18
28. Colotta F, Allavena P, Sica A, Garlanda C, Mantovani A (2009) Cancer-related inflammation, the seventh hallmark of cancer: links to genetic instability. Carcinogenesis 30:1073–1081
29. Cook KM, Figg WD (2010) Angiogenesis inhibitors: current strategies and future prospects. CA Cancer J Clin 60:222–243
30. Courtois G, Smahi A (2006) NF-kappaB-related genetic diseases. Cell Death Differ 13:843–851
31. Coussens LM, Werb Z (2002) Inflammation and cancer. Nature 420:860–867
32. Crawford LV, Pim DC, Gurney EG, Goodfellow P, Taylor-Papadimitriou J (1981) Detection of a common feature in several human tumor cell lines–a 53,000-dalton protein. Proc Natl Acad Sci USA 78:41–45
33. Cuperus R, Leen R, Tytgat GA, Caron HN, van Kuilenburg AB (2010) Fenretinide induces mitochondrial ROS and inhibits the mitochondrial respiratory chain in neuroblastoma. Cell Mol Life Sci 67:807–816
34. Dalwadi H, Krysan K, Heuze-Vourc'h N, Dohadwala M, Elashoff D, Sharma S, Cacalano N, Lichtenstein A, Dubinett S (2005) Cyclooxygenase-2-dependent activation of signal transducer and activator of transcription 3 by interleukin-6 in non-small cell lung cancer. Clin Cancer Res 11:7674–7682
35. Darnell JE Jr, Kerr IM, Stark GR (1994) Jak-STAT pathways and transcriptional activation in response to IFNs and other extracellular signaling proteins. Science 264:1415–1421
36. De Clercq E (2010) Recent advances on the use of the CXCR4 antagonist plerixafor (AMD3100, Mozobil) and potential of other CXCR4 antagonists as stem cell mobilizers. Pharmacol Ther 128:509–518
37. De Flora S, Bennicelli C, Zanacchi P, Camoirano A, Morelli A, De Flora A (1984) In vitro effects of N-acetylcysteine on the mutagenicity of direct-acting compounds and procarcinogens. Carcinogenesis 5:505–510
38. De Flora S, D'Agostini F, Izzotti A, Balansky R (1991) Prevention by N-acetylcysteine of benzo[a]pyrene clastogenicity and DNA adducts in rats. Mutat Res 250:87–93
39. De Flora S, Izzotti A, D'Agostini F, Balansky RM (2001) Mechanisms of N-acetylcysteine in the prevention of DNA damage and cancer, with special reference to smoking-related end-points. Carcinogenesis 22:999–1013
40. Decramer M, Rutten-van Molken M, Dekhuijzen PN, Troosters T, van Herwaarden C, Pellegrino R, van Schayck CP, Olivieri D, Del Donno M, De Backer W, Lankhorst I, Ardia A (2005) Effects of N-acetylcysteine on outcomes in chronic obstructive pulmonary disease (Bronchitis Randomized on NAC Cost-Utility Study, BRONCUS): a randomised placebo-controlled trial. Lancet 365:1552–1560
41. Deo DD, Axelrad TW, Robert EG, Marcheselli V, Bazan NG, Hunt JD (2002) Phosphorylation of STAT-3 in response to basic fibroblast growth factor occurs through a mechanism involving platelet-activating factor, JAK-2, and Src in human umbilical vein endothelial cells. Evidence for a dual kinase mechanism. J Biol Chem 277:21237–21245
42. Duignan IJ, Corcoran E, Pennello A, Plym MJ, Amatulli M, Claros N, Iacolina M, Youssoufian H, Witte L, Samakoglu S, Schwartz J, Surguladze D, Tonra JR (2011) Pleiotropic stromal effects of vascular endothelial growth factor receptor 2 antibody therapy in renal cell carcinoma models. Neoplasia 13:49–59
43. Ebos JM, Lee CR, Cruz-Munoz W, Bjarnason GA, Christensen JG, Kerbel RS (2009) Accelerated metastasis after short-term treatment with a potent inhibitor of tumor angiogenesis. Cancer Cell 15:232–239
44. Egeblad M, Nakasone ES, Werb Z (2010) Tumors as organs: complex tissues that interface with the entire organism. Dev Cell 18:884–901

45. Ferrari N, Morini M, Pfeffer U, Minghelli S, Noonan DM, Albini A (2003) Inhibition of Kaposi's sarcoma in vivo by fenretinide. Clin Cancer Res 9:6020–6029
46. Folkman J (1971) Tumor angiogenesis: therapeutic implications. N Engl J Med 285:1182–1186
47. Folkman J (2002) Role of angiogenesis in tumor growth and metastasis. Semin Oncol 29:15–18
48. Fridlender ZG, Albelda SM (2012) Tumor-associated neutrophils: friend or foe? Carcinogenesis
49. Fridlender ZG, Sun J, Kim S, Kapoor V, Cheng G, Ling L, Worthen GS, Albelda SM (2009) Polarization of tumor-associated neutrophil phenotype by TGF-beta: "N1" versus "N2" TAN. Cancer Cell 16:183–194
50. Gabellini C, Del Bufalo D, Zupi G (2006) Involvement of RB gene family in tumor angiogenesis. Oncogene 25:5326–5332
51. Garg AK, Aggarwal BB (2002) Reactive oxygen intermediates in TNF signaling. Mol Immunol 39:509–517
52. Ghosh N, Chaki R, Mandal V, Mandal SC (2010) COX-2 as a target for cancer chemotherapy. Pharmacol Rep 62:233–244
53. Ghosh S, Karin M (2002) Missing pieces in the NF-kappaB puzzle. Cell 109(Suppl):S81–S96
54. Goh PP, Sze DM, Roufogalis BD (2007) Molecular and cellular regulators of cancer angiogenesis. Curr Cancer Drug Targets 7:743–758
55. Gouaze-Andersson V, Flowers M, Karimi R, Fabrias G, Delgado A, Casas J, Cabot MC (2011) Inhibition of acid ceramidase by a 2-substituted aminoethanol amide synergistically sensitizes prostate cancer cells to N-(4-hydroxyphenyl) retinamide. Prostate 71:1064–1073
56. Green DR, Kroemer G (2009) Cytoplasmic functions of the tumour suppressor p53. Nature 458:1127–1130
57. Greten FR, Karin M (2004) The IKK/NF-kappaB activation pathway-a target for prevention and treatment of cancer. Cancer Lett 206:193–199
58. Gupta S, Yan H, Wong LH, Ralph S, Krolewski J, Schindler C (1996) The SH2 domains of Stat1 and Stat2 mediate multiple interactions in the transduction of IFN-alpha signals. EMBO J 15:1075–1084
59. Hanahan D, Folkman J (1996) Patterns and emerging mechanisms of the angiogenic switch during tumorigenesis. Cell 86:353–364
60. Hanahan D, Weinberg RA (2011) Hallmarks of cancer: the next generation. Cell 144:646–674
61. Harris CC (1993) p53: at the crossroads of molecular carcinogenesis and risk assessment. Science 262:1980–1981
62. Harris CC, Hollstein M (1993) Clinical implications of the p53 tumor-suppressor gene. N Engl J Med 329:1318–1327
63. Hermeking H (2007) p53 enters the microRNA world. Cancer Cell 12:414–418
64. Holash J, Davis S, Papadopoulos N, Croll SD, Ho L, Russell M, Boland P, Leidich R, Hylton D, Burova E, Ioffe E, Huang T, Radziejewski C, Bailey K, Fandl JP, Daly T, Wiegand SJ, Yancopoulos GD, Rudge JS (2002) VEGF-Trap: a VEGF blocker with potent antitumor effects. Proc Natl Acad Sci USA 99:11393–11398
65. Hou J, Schindler U, Henzel WJ, Ho TC, Brasseur M, McKnight SL (1994) An interleukin-4-induced transcription factor: IL-4 Stat. Science 265:1701–1706
66. Hristov M, Erl W, Weber PC (2003) Endothelial progenitor cells: mobilization, differentiation, and homing. Arterioscler Thromb Vasc Biol 23:1185–1189
67. Hsia CY, Cheng S, Owyang AM, Dowdy SF, Liou HC (2002) c-Rel regulation of the cell cycle in primary mouse B lymphocytes. Int Immunol 14:905–916
68. Huang S, DeGuzman A, Bucana CD, Fidler IJ (2000) Nuclear factor-kappaB activity correlates with growth, angiogenesis, and metastasis of human melanoma cells in nude mice. Clin Cancer Res 6:2573–2581

69. Hudes GR (2009) Targeting mTOR in renal cell carcinoma. Cancer 115:2313–2320
70. Issaeva N, Bozko P, Enge M, Protopopova M, Verhoef LG, Masucci M, Pramanik A, Selivanova G (2004) Small molecule RITA binds to p53, blocks p53-HDM-2 interaction and activates p53 function in tumors. Nat Med 10:1321–1328
71. Jain RK (2002) Tumor angiogenesis and accessibility: role of vascular endothelial growth factor. Semin Oncol 29:3–9
72. Jiang L, Pan X, Chen Y, Wang K, Du Y, Zhang J (2011) Preferential involvement of both ROS and ceramide in fenretinide-induced apoptosis of HL60 rather than NB4 and U937 cells. Biochem Biophys Res Commun 405:314–318
73. Kaipainen A, Kieran MW, Huang S, Butterfield C, Bielenberg D, Mostoslavsky G, Mulligan R, Folkman J, Panigrahy D (2007) PPARalpha deficiency in inflammatory cells suppresses tumor growth. PLoS One 2:e260
74. Kalluri R (2009) EMT: when epithelial cells decide to become mesenchymal-like cells. J Clin Invest 119:1417–1419
75. Kalluri R, Zeisberg M (2006) Fibroblasts in cancer. Nat Rev Cancer 6:392–401
76. Kamper P, Bendix K, Hamilton-Dutoit S, Honore B, Nyengaard JR, d'Amore F (2011) Tumor-infiltrating macrophages correlate with adverse prognosis and Epstein-Barr virus status in classical Hodgkin's lymphoma. Haematologica 96:269–276
77. Karin M, Lin A (2002) NF-kappaB at the crossroads of life and death. Nat Immunol 3:221–227
78. Kasinski AL, Slack FJ (2010) Potential microRNA therapies targeting Ras, NFkappaB and p53 signaling. Curr Opin Mol Ther 12:147–157
79. Kerbel RS (2008) Tumor angiogenesis. N Engl J Med 358:2039–2049
80. Kim S (1993) Liposomes as carriers of cancer chemotherapy. Current status and future prospects. Drugs 46:618–638
81. Kong D, Park EJ, Stephen AG, Calvani M, Cardellina JH, Monks A, Fisher RJ, Shoemaker RH, Melillo G (2005) Echinomycin, a small-molecule inhibitor of hypoxia-inducible factor-1 DNA-binding activity. Cancer Res 65:9047–9055
82. Ku GY, Haaland BA, de Lima Lopes G (2012) Cetuximab in the first-line treatment of K-ras wild-type metastatic colorectal cancer: the choice and schedule of fluoropyrimidine matters. Cancer Chemother Pharmacol 70:231–238
83. Kubbutat MH, Jones SN, Vousden KH (1997) Regulation of p53 stability by Mdm2. Nature 387:299–303
84. Kumar A, Takada Y, Boriek AM, Aggarwal BB (2004) Nuclear factor-kappaB: its role in health and disease. J Mol Med (Berl) 82:434–448
85. Lane DP, Crawford LV (1979) T antigen is bound to a host protein in SV40-transformed cells. Nature 278:261–263
86. Lee H, Herrmann A, Deng JH, Kujawski M, Niu G, Li Z, Forman S, Jove R, Pardoll DM, Yu H (2009) Persistently activated Stat3 maintains constitutive NF-kappaB activity in tumors. Cancer Cell 15:283–293
87. Leen AM, Christin A, Khalil M, Weiss H, Gee AP, Brenner MK, Heslop HE, Rooney CM, Bollard CM (2008) Identification of hexon-specific CD4 and CD8 T-cell epitopes for vaccine and immunotherapy. J Virol 82:546–554
88. Levine AJ (1989) The p53 tumor suppressor gene and gene product. Princess Takamatsu Symp 20:221–230
89. Lewis CE, Pollard JW (2006) Distinct role of macrophages in different tumor microenvironments. Cancer Res 66:605–612
90. Linares LK, Hengstermann A, Ciechanover A, Muller S, Scheffner M (2003) HdmX stimulates Hdm2-mediated ubiquitination and degradation of p53. Proc Natl Acad Sci USA 100:12009–12014
91. Lu T, Sathe SS, Swiatkowski SM, Hampole CV, Stark GR (2004) Secretion of cytokines and growth factors as a general cause of constitutive NFkappaB activation in cancer. Oncogene 23:2138–2145

92. Lu-Emerson C, Norden AD, Drappatz J, Quant EC, Beroukhim R, Ciampa AS, Doherty LM, Lafrankie DC, Ruland S, Wen PY (2011) Retrospective study of dasatinib for recurrent glioblastoma after bevacizumab failure. J Neurooncol 104:287–291
93. Lyden D, Hattori K, Dias S, Costa C, Blaikie P, Butros L, Chadburn A, Heissig B, Marks W, Witte L, Wu Y, Hicklin D, Zhu Z, Hackett NR, Crystal RG, Moore MA, Hajjar KA, Manova K, Benezra R, Rafii S (2001) Impaired recruitment of bone-marrow-derived endothelial and hematopoietic precursor cells blocks tumor angiogenesis and growth. Nat Med 7:1194–1201
94. Ma WW, Adjei AA (2009) Novel agents on the horizon for cancer therapy. CA Cancer J Clin 59:111–137
95. Mabjeesh NJ, Post DE, Willard MT, Kaur B, Van Meir EG, Simons JW, Zhong H (2002) Geldanamycin induces degradation of hypoxia-inducible factor 1alpha protein via the proteosome pathway in prostate cancer cells. Cancer Res 62:2478–2482
96. Mantovani A, Cassatella MA, Costantini C, Jaillon S (2011) Neutrophils in the activation and regulation of innate and adaptive immunity. Nat Rev Immunol 11:519–531
97. Mercer WE, Avignolo C, Baserga R (1984) Role of the p53 protein in cell proliferation as studied by microinjection of monoclonal antibodies. Mol Cell Biol 4:276–281
98. Messner MC, Cabot MC (2011) Cytotoxic responses to N-(4-hydroxyphenyl) retinamide in human pancreatic cancer cells. Cancer Chemother Pharmacol 68:477–487
99. Miller RB, Reece G, Kroll SS, Chang D, Langstein H, Ziogas A, Robb G, Evans GR (2007) Microvascular breast reconstruction in the diabetic patient. Plast Reconstr Surg 119: 38–45; discussion 46–48
100. Milner BJ, Allan LA, Eccles DM, Kitchener HC, Leonard RC, Kelly KF, Parkin DE, Haites NE (1993) p53 mutation is a common genetic event in ovarian carcinoma. Cancer Res 53:2128–2132
101. Moll UM, Schramm LM (1998) p53–an acrobat in tumorigenesis. Crit Rev Oral Biol Med 9:23–37
102. Momand J, Zambetti GP, Olson DC, George D, Levine AJ (1992) The mdm-2 oncogene product forms a complex with the p53 protein and inhibits p53-mediated transactivation. Cell 69:1237–1245
103. Monti E, Gariboldi MB (2011) HIF-1 as a target for cancer chemotherapy, chemosensitization and chemoprevention. Curr Mol Pharmacol 4:62–77
104. Murdoch C, Muthana M, Coffelt SB, Lewis CE (2008) The role of myeloid cells in the promotion of tumour angiogenesis. Nat Rev Cancer 8:618–631
105. Naugler WE, Karin M (2008) The wolf in sheep's clothing: the role of interleukin-6 in immunity, inflammation and cancer. Trends Mol Med 14:109–119
106. Noonan DM, De Lerma Barbaro A, Vannini N, Mortara L, Albini A (2008) Inflammation, inflammatory cells and angiogenesis: decisions and indecisions. Cancer Metastasis Rev 27:31–40
107. Nozawa H, Chiu C, Hanahan D (2006) Infiltrating neutrophils mediate the initial angiogenic switch in a mouse model of multistage carcinogenesis. Proc Natl Acad Sci USA 103:12493–12498
108. Oikawa S, Yamada K, Yamashita N, Tada-Oikawa S, Kawanishi S (1999) N-acetylcysteine, a cancer chemopreventive agent, causes oxidative damage to cellular and isolated DNA. Carcinogenesis 20:1485–1490
109. Olivier M, Hollstein M, Hainaut P (2010) TP53 mutations in human cancers: origins, consequences, and clinical use. Cold Spring Harb Perspect Biol 2: a001008
110. Orimo A, Gupta PB, Sgroi DC, Arenzana-Seisdedos F, Delaunay T, Naeem R, Carey VJ, Richardson AL, Weinberg RA (2005) Stromal fibroblasts present in invasive human breast carcinomas promote tumor growth and angiogenesis through elevated SDF-1/CXCL12 secretion. Cell 121:335–348

111. Paez-Ribes M, Allen E, Hudock J, Takeda T, Okuyama H, Vinals F, Inoue M, Bergers G, Hanahan D, Casanovas O (2009) Antiangiogenic therapy elicits malignant progression of tumors to increased local invasion and distant metastasis. Cancer Cell 15:220–231
112. Perkins ND (2004) Regulation of NF-kappaB by atypical activators and tumour suppressors. Biochem Soc Trans 32:936–939
113. Pezzolo A, Parodi F, Corrias MV, Cinti R, Gambini C, Pistoia V (2007) Tumor origin of endothelial cells in human neuroblastoma. J Clin Oncol 25:376–383
114. Philip M, Rowley DA, Schreiber H (2004) Inflammation as a tumor promoter in cancer induction. Semin Cancer Biol 14:433–439
115. Pienta KJ, Nguyen NM, Lehr JE (1993) Treatment of prostate cancer in the rat with the synthetic retinoid fenretinide. Cancer Res 53:224–226
116. Pietras K, Ostman A (2010) Hallmarks of cancer: interactions with the tumor stroma. Exp Cell Res 316:1324–1331
117. Pietras K, Pahler J, Bergers G, Hanahan D (2008) Functions of paracrine PDGF signaling in the proangiogenic tumor stroma revealed by pharmacological targeting. PLoS Med 5:e19
118. Pollicita M, Muscoli C, Sgura A, Biasin A, Granato T, Masuelli L, Mollace V, Tanzarella C, Del Duca C, Rodino P, Perno CF, Aquaro S (2009) Apoptosis and telomeres shortening related to HIV-1 induced oxidative stress in an astrocytoma cell line. BMC Neurosci 10:51
119. Poppe JK (1964) Clinical Experiences with Acetylcysteine as a Mucolytic Agent. Dis Chest 46:66–69
120. Pore N, Gupta AK, Cerniglia GJ, Jiang Z, Bernhard EJ, Evans SM, Koch CJ, Hahn SM, Maity A (2006) Nelfinavir down-regulates hypoxia-inducible factor 1alpha and VEGF expression and increases tumor oxygenation: implications for radiotherapy. Cancer Res 66:9252–9259
121. Pucci F, Venneri MA, Biziato D, Nonis A, Moi D, Sica A, Di Serio C, Naldini L, De Palma M (2009) A distinguishing gene signature shared by tumor-infiltrating Tie2-expressing monocytes, blood "resident" monocytes, and embryonic macrophages suggests common functions and developmental relationships. Blood 114:901–914
122. Qian H, Wang T, Naumovski L, Lopez CD, Brachmann RK (2002) Groups of p53 target genes involved in specific p53 downstream effects cluster into different classes of DNA binding sites. Oncogene 21:7901–7911
123. Rak J, Klement G (2000) Impact of oncogenes and tumor suppressor genes on deregulation of hemostasis and angiogenesis in cancer. Cancer Metastasis Rev 19:93–96
124. Rak J, Yu JL, Kerbel RS, Coomber BL (2002) What do oncogenic mutations have to do with angiogenesis/vascular dependence of tumors? Cancer Res 62:1931–1934
125. Rasanen K, Vaheri A (2010) Activation of fibroblasts in cancer stroma. Exp Cell Res 316:2713–2722
126. Ravi R, Mookerjee B, Bhujwalla ZM, Sutter CH, Artemov D, Zeng Q, Dillehay LE, Madan A, Semenza GL, Bedi A (2000) Regulation of tumor angiogenesis by p53-induced degradation of hypoxia-inducible factor 1alpha. Genes Dev 14:34–44
127. Rayet B, Gelinas C (1999) Aberrant rel/nfkb genes and activity in human cancer. Oncogene 18:6938–6947
128. Raza A, Franklin MJ, Dudek AZ (2010) Pericytes and vessel maturation during tumor angiogenesis and metastasis. Am J Hematol 85:593–598
129. Sabichi AL, Lerner SP, Grossman HB, Lippman SM (1998) Retinoids in the chemoprevention of bladder cancer. Curr Opin Oncol 10:479–484
130. Sakamoto J, Kodaira S, Hamada C, Ito K, Maehara Y, Takagi H, Sugimachi K, Nakazato H, Ohashi Y (2001) An individual patient data meta-analysis of long supported adjuvant chemotherapy with oral carmofur in patients with curatively resected colorectal cancer. Oncol Rep 8:697–703
131. Scapini P, Morini M, Tecchio C, Minghelli S, Di Carlo E, Tanghetti E, Albini A, Lowell C, Berton G, Noonan DM, Cassatella MA (2004) CXCL1/macrophage inflammatory protein-2-

induced angiogenesis in vivo is mediated by neutrophil-derived vascular endothelial growth factor-A. J Immunol 172:5034–5040
132. Secchiero P, Corallini F, Gonelli A, Dell'Eva R, Vitale M, Capitani S, Albini A, Zauli G (2007) Antiangiogenic activity of the MDM2 antagonist nutlin-3. Circ Res 100:61–69
133. Semenza GL (2010) Vascular responses to hypoxia and ischemia. Arterioscler Thromb Vasc Biol 30:648–52
134. Sen R, Baltimore D (1986) Inducibility of kappa immunoglobulin enhancer-binding protein Nf-kappa B by a posttranslational mechanism. Cell 47:921–928
135. Senftleben U, Cao Y, Xiao G, Greten FR, Krahn G, Bonizzi G, Chen Y, Hu Y, Fong A, Sun SC, Karin M (2001) Activation by IKKalpha of a second, evolutionary conserved, NF-kappa B signaling pathway. Science 293:1495–1499
136. Sharpless NE, DePinho RA (2002) p53: good cop/bad cop. Cell 110:9–12
137. Shuai K, Horvath CM, Huang LH, Qureshi SA, Cowburn D, Darnell JE Jr (1994) Interferon activation of the transcription factor Stat91 involves dimerization through SH2-phosphotyrosyl peptide interactions. Cell 76:821–828
138. Sogno I, Vene R, Ferrari N, De Censi A, Imperatori A, Noonan DM, Tosetti F, Albini A (2010) Angioprevention with fenretinide: targeting angiogenesis in prevention and therapeutic strategies. Crit Rev Oncol Hematol 75:2–14
139. Sogno I, Vene R, Sapienza C, Ferrari N, Tosetti F, Albini A (2009) Anti-angiogenic properties of chemopreventive drugs: fenretinide as a prototype. Recent Results Cancer Res 181:71–76
140. Sohur US, Dixit MN, Chen CL, Byrom MW, Kerr LA (1999) Rel/NF-kappaB represses bcl-2 transcription in pro-B lymphocytes. Gene Expr 8:219–229
141. Solinas G, Germano G, Mantovani A, Allavena P (2009) Tumor-associated macrophages (TAM) as major players of the cancer-related inflammation. J Leukoc Biol 86:1065–1073
142. Sparmann A, Bar-Sagi D (2004) Ras-induced interleukin-8 expression plays a critical role in tumor growth and angiogenesis. Cancer Cell 6:447–458
143. Staab A, Loeffler J, Said HM, Diehlmann D, Katzer A, Beyer M, Fleischer M, Schwab F, Baier K, Einsele H, Flentje M, Vordermark D (2007) Effects of HIF-1 inhibition by chetomin on hypoxia-related transcription and radiosensitivity in HT 1080 human fibrosarcoma cells. BMC Cancer 7:213
144. Steeghs N, Nortier JW, Gelderblom H (2007) Small molecule tyrosine kinase inhibitors in the treatment of solid tumors: an update of recent developments. Ann Surg Oncol 14:942–953
145. Stein RC (2001) Prospects for phosphoinositide 3-kinase inhibition as a cancer treatment. Endocr Relat Cancer 8:237–248
146. Streubel B, Chott A, Huber D, Exner M, Jager U, Wagner O, Schwarzinger I (2004) Lymphoma-specific genetic aberrations in microvascular endothelial cells in B-cell lymphomas. N Engl J Med 351:250–259
147. Sun Y, Chen J, Rigas B (2009) Chemopreventive agents induce oxidative stress in cancer cells leading to COX-2 overexpression and COX-2-independent cell death. Carcinogenesis 30:93–100
148. Takeda K, Kamanaka M, Tanaka T, Kishimoto T, Akira S (1996) Impaired IL-13-mediated functions of macrophages in STAT6-deficient mice. J Immunol 157:3220–3222
149. Tazzyman S, Lewis CE, Murdoch C (2009) Neutrophils: key mediators of tumour angiogenesis. Int J Exp Pathol 90:222–231
150. Teodoro JG, Evans SK, Green MR (2007) Inhibition of tumor angiogenesis by p53: a new role for the guardian of the genome. J Mol Med (Berl) 85:1175–1186
151. Teodoro JG, Parker AE, Zhu X, Green MR (2006) p53-mediated inhibition of angiogenesis through up-regulation of a collagen prolyl hydroxylase. Science 313:968–971
152. Tergaonkar V (2009) p53 and NFkappaB: fresh breath in the cross talk. Cell Res 19:1313–1315

153. Tosetti F, Ferrari N, De Flora S, Albini A (2002) Angioprevention': angiogenesis is a common and key target for cancer chemopreventive agents. Faseb J 16:2–14
154. Tosetti F, Vene R, Arena G, Morini M, Minghelli S, Noonan DM, Albini A (2003) N-(4-hydroxyphenyl) retinamide inhibits retinoblastoma growth through reactive oxygen species-mediated cell death. Mol Pharmacol 63:565–573
155. Ulanet DB, Hanahan D (2010) Loss of p19 (Arf) facilitates the angiogenic switch and tumor initiation in a multi-stage cancer model via p53-dependent and independent mechanisms. PLoS One 5:e12454
156. van Zandwijk N, Dalesio O, Pastorino U, de Vries N, van Tinteren H (2000) EUROSCAN, a randomized trial of vitamin A and N-acetylcysteine in patients with head and neck cancer or lung cancer. For the European organization for research and treatment of cancer head and neck and lung cancer cooperative groups. J Natl Cancer Inst 92:977–986
157. Vassilev LT (2004) Small-molecule antagonists of p53-MDM2 binding: research tools and potential therapeutics. Cell Cycle 3:419–421
158. Veltman JD, Lambers ME, van Nimwegen M, Hendriks RW, Hoogsteden HC, Hegmans JP, Aerts JG (2010) Zoledronic acid impairs myeloid differentiation to tumour-associated macrophages in mesothelioma. Br J Cancer 103:629–641
159. Vene R, Arena G, Poggi A, D'Arrigo C, Mormino M, Noonan DM, Albini A, Tosetti F (2007) Novel cell death pathways induced by N-(4-hydroxyphenyl) retinamide: therapeutic implications. Mol Cancer Ther 6:286–298
160. Venugopal D, Zahid M, Mailander PC, Meza JL, Rogan EG, Cavalieri EL, Chakravarti D (2008) Reduction of estrogen-induced transformation of mouse mammary epithelial cells by N-acetylcysteine. J Steroid Biochem Mol Biol 109:22–30
161. Vousden KH, Lu X (2002) Live or let die: the cell's response to p53. Nat Rev Cancer 2:594–604
162. Vousden KH, Ryan KM (2009) p53 and metabolism. Nat Rev Cancer 9:691–700
163. Walkley CR, Olsen GH, Dworkin S, Fabb SA, Swann J, McArthur GA, Westmoreland SV, Chambon P, Scadden DT, Purton LE (2007) A microenvironment-induced myeloproliferative syndrome caused by retinoic acid receptor gamma deficiency. Cell 129:1097–1110
164. Walkley CR, Shea JM, Sims NA, Purton LE, Orkin SH (2007) Rb regulates interactions between hematopoietic stem cells and their bone marrow microenvironment. Cell 129:1081–1095
165. Wang L, Zheng GG, Ma CH, Lin YM, Zhang HY, Ma YY, Chong JH, Wu KF (2008) A special linker between macrophage and hematopoietic malignant cells: membrane form of macrophage colony-stimulating factor. Cancer Res 68:5639–5647
166. Welte T, Zhang SS, Wang T, Zhang Z, Hesslein DG, Yin Z, Kano A, Iwamoto Y, Li E, Craft JE, Bothwell AL, Fikrig E, Koni PA, Flavell RA, Fu XY (2003) STAT3 deletion during hematopoiesis causes Crohn's disease-like pathogenesis and lethality: a critical role of STAT3 in innate immunity. Proc Natl Acad Sci USA 100:1879–1884
167. Wilhelm SM, Adnane L, Newell P, Villanueva A, Llovet JM, Lynch M (2008) Preclinical overview of sorafenib, a multikinase inhibitor that targets both Raf and VEGF and PDGF receptor tyrosine kinase signaling. Mol Cancer Ther 7:3129–3140
168. Wisniewski T, Bayne E, Flanagan J, Shao Q, Wnek R, Matheravidathu S, Fischer P, Forrest MJ, Peterson L, Song X, Yang L, Demartino JA, Struthers M (2010) Assessment of chemokine receptor function on monocytes in whole blood: In vitro and ex vivo evaluations of a CCR2 antagonist. J Immunol Methods 352:101–110
169. Wu X, Bayle JH, Olson D, Levine AJ (1993) The p53-mdm-2 autoregulatory feedback loop. Genes Dev 7:1126–1132
170. Xian X, Hakansson J, Stahlberg A, Lindblom P, Betsholtz C, Gerhardt H, Semb H (2006) Pericytes limit tumor cell metastasis. J Clin Invest 116:642–651

171. Xiao ZL, Sun GY, Xia QM, Qian GS (2001) Experimental research on permeability injury of pulmonary microvascular endothelial cells monolayer induced by tumor necrosis factor. Zhongguo Ying Yong Sheng Li Xue Za Zhi 17:79–81
172. Xing F, Saidou J, Watabe K (2010) Cancer associated fibroblasts (CAFs) in tumor microenvironment. Front Biosci 15:166–179
173. Xue W, Zender L, Miething C, Dickins RA, Hernando E, Krizhanovsky V, Cordon-Cardo C, Lowe SW (2007) Senescence and tumour clearance is triggered by p53 restoration in murine liver carcinomas. Nature 445:656–660
174. Yamakuchi M, Lotterman CD, Bao C, Hruban RH, Karim B, Mendell JT, Huso D, Lowenstein CJ P53-induced microRNA-107 inhibits HIF-1 and tumor angiogenesis. Proc Natl Acad Sci U S A 107: 6334-9
175. Yang G, Yu F, Fu H, Lu F, Huang B, Bai L, Zhao Z, Yao L, Lu Z (2007) Identification of the distinct promoters for the two transcripts of apoptosis related protein 3 and their transcriptional regulation by NFAT and NFkappaB. Mol Cell Biochem 302:187–194
176. Yang H, Bushue N, Bu P, Wan YJ (2010) Induction and intracellular localization of Nur77 dictate fenretinide-induced apoptosis of human liver cancer cells. Biochem Pharmacol 79:948–954
177. Yu CL, Meyer DJ, Campbell GS, Larner AC, Carter-Su C, Schwartz J, Jove R (1995) Enhanced DNA-binding activity of a Stat3-related protein in cells transformed by the Src oncoprotein. Science 269:81–83
178. Yu H, Pardoll D, Jove R (2009) STATs in cancer inflammation and immunity: a leading role for STAT3. Nat Rev Cancer 9:798–809
179. Zafarullah M, Li WQ, Sylvester J, Ahmad M (2003) Molecular mechanisms of N-acetylcysteine actions. Cell Mol Life Sci 60:6–20
180. Zhang Q, Zhang ZF, Rao JY, Sato JD, Brown J, Messadi DV, Le AD (2004) Treatment with siRNA and antisense oligonucleotides targeted to HIF-1alpha induced apoptosis in human tongue squamous cell carcinomas. Int J Cancer 111:849–857
181. Zhong Z, Wen Z, Darnell JE Jr (1994) Stat3: a STAT family member activated by tyrosine phosphorylation in response to epidermal growth factor and interleukin-6. Science 264:95–98
182. Zhu X, Fujita M, Snyder LA, Okada H (2011) Systemic delivery of neutralizing antibody targeting CCL2 for glioma therapy. J Neurooncol 104:83–92

DNA Hasarının Önlenmesinde, Telomer Bütünlüğünün Korunmasında ve Kanser Büyümesinin Kontrolünde Nutriomlar ve Bireyselleştirilmiş Beslenme

Michael F. Fenech

Özet

Baz sekans ve kromozom düzeyindeki DNA hasarı gelişimsel ve dejeneratif hastalıkların temel nedenlerinden biridir. Multipl mikrobesinler ve bunların genetik ve/veya edinsel genom ile etkileşimleri DNA hasarının ve genomik instabilite oranlarını belirler. Aşılması gereken ana zorluk her birey için genom stabilitesini optimize edebilecek (telomer bütünlüğü ve fonksiyonelliği ile DNA tamiri dahil) mikrobesin kombinasyonlarının ve dozlarının (örn. nutriom) belirlenmesidir. Nutrient (besin öğesi) dizilim sistemleri ile birlikte DNA hasarı, hücre ölümü ve hücre büyümesinin geniş içerikli analizlerinin kullanımı, DNA hasar kontrolü ve kanser büyüme kontrolü için gereken optimal nutriomun bireysel bazda tespit edilmesine olanak tanır. Bu bilgi terapötiklerde kullanılan hücrelerin kültür sistemlerin geliştirilmesi için de kullanılabilir. Kök hücrelerinin vücuda uygulanmadan önce genetik olarak anormal olmadıklarının tespiti bu kullanıma bir örnektir. Bu bilgiler ayrıca mikrobesin eksikliğine veya fazlalığına bağlı DNA hasarının engellenebilmesi için gereken mikrobesin kombinasyon ve konsantrasyonlarına sahip diyet paternlerinin dizayn edilmesi için de kullanılabilir. Bu yaklaşım ile spesifik kanser türlerinin kontrol edilebilmesi için gereken diyet kısıtlamaları ve/veya takviyeleri hakkında yeni bilgiler elde edilebilir. Bu yaklaşım kanser teşhisi alan bireyler için güvenilir ve valide önerilerin henüz mevcut olmadığı göz önüne alındığında özel olarak önemlidir.

M. F. Fenech (✉)
CSIRO Food and Nutritional Sciences, 10041 Adelaide BC, SA 5000, Australia
e-mail: michael.fenech@csiro.au

V. Zappia et al. (eds.), *Advances in Nutrition and Cancer,*
Cancer Treatment and Research 159, DOI: 10.1007/978-3-642-38007-5_24,
© Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2014

Anahtar Kelimeler

Nutriomlar • DNA hasarı • Telomer • Genom stabilitesi • Bireyselleştirilmiş beslenme

Kısaltmalar

MRI	Manyetik rezonans görüntleme
TRF1; TRF2	Telomerik-tekrar bağlayıcı faktörler 1 ve 2
MTHFR	Metilentetrahidrofolat redüktaz
ADH1	Alkol dehidrogenaz
ALDH2	Aldehit dehidrogenaz
CBMN Cyt	Sitokinez-bloke mikronükleus sitom
MTAP	Metiltioadenozin fosforilaz

İçindekiler

1 Arkaplan ve Güncel Durum 428
2 İn Vivo Ortamda Nutriomlar, DNA Hasarı ve Telomer Koruma 429
3 Nütrisyonel İhtiyaçlar ve Doku Kültür Sistemlerindeki Bilgi Eksiklikleri 432
4 Nutriomların Nutrient Dizilerinde Test Edilmesi 434
5 Kanser Büyümesinin Kontrolü İçin Nutrient Kısıtlaması 436
6 Sonuçlar 438
Referanslar 438

1 Arka Plan ve Güncel Durum

Baz sekans ve kromozom düzeyindeki DNA hasarı gelişimsel ve dejeneratif hastalıkların temel nedenlerinden biridir (yaşlanma hızlanması dahil) ve bu hastalıkların prospektif olarak tahmin edilebilmesini sağlar [1-3]. Genom bütünlüğünde rol oynayan yüzlerce gen mevcuttur. Bireyler arasında enzim aktivitelerinin farklı olmasına yol açan polimorfizmlerde büyük kişisel farklılıklar mevcuttur [4-8]. DNA replikasyonu, DNA tamiri ve potansiyel genotoksinlerin detoksifikasyonunda rol oynayan genler için gerekli olan proteinlerin optimal fonksiyon gösterebilmeleri diyetle alınan önemli kofaktörlere bağlıdır [9-24]. Bireyler arasındaki diyet profilleri edinilmiş veya ailesel diyet tercihlerine ve gıdaların mevcudiyet durumuna göre değişmektedir; ayrıca mikrobesinlerin sindirim sisteminde reabsorbe olmaları ve hücrelere taşınmaları genetik özelliklere ve taşıyıcı ekspresyonunda yaşa bağlı olarak ortaya çıkan değişimlere bağlıdır [25-27]. İn vivo ortamda genomun korunması için gereken nütrisyonel faktörler büyük farklılıklar gösterir. Aynı durum, in vitro ortamda kullanılan farklı kültür ortamları içinde geçerlidir [28-29]. Genom bütünlüğünün in vitro ortamda korunması özellikle uzun süreli hücre

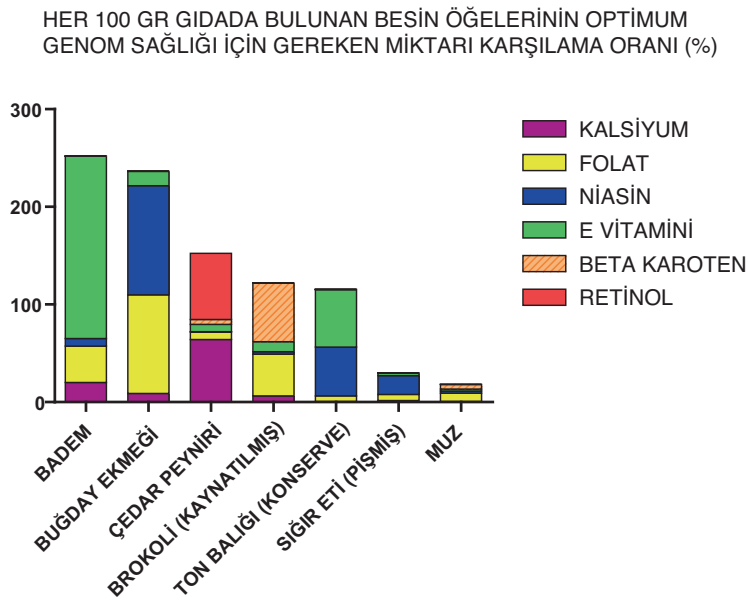
kültürleri (örn. kök hücreler) için kritik öneme sahiptir. Bireyden alınan bu hücreler kültür ortamında çoğaltıldıktan sonra medikal tedavi amaçlı olarak orijinal donöre veya diğer hastalara uygulanır. İn vitro ortamda oluşabilecek DNA hasarı kök hücrelerinde onkojenik olayların gelişimine neden olabilir [30, 31]. Günümüzdeki diyet referans değerleri (örn. tavsiye edilen günlük tüketim miktarları, üst güvenlik sınırları) ve kültür ortamlarının içerikleri ve özellikleri, genom bütünlüğü üzerindeki etkileri dikkate almamaktadır. DNA sekans ve/veya epigenom hasarı hala hücrelerin ve organizmaların sağlıkları ve hastalıkları ile ilişkili en temel ve kritik patolojilerdir.

2 İn Vivo Ortamda Nutriomlar, DNA Hasarı ve Telomer Koruma

Gıdaların tüketim sıklığını sorgulayan anketleri ve DNA hasarının [1] en iyi valide edilmiş biyomarkerlerinden biri olan sitokinez-bloke mikronükleus analizini kullanarak kromozom kırılması veya kaybı ile ilişkili dokuz mikrobesini belirlemeyi başardık. Diyetle alınan E vitamini, folat, retinol ve nikotinik asit tüketimlerinin artması DNA hasarında azalma ile ilişkili bulunurken, riboflavin, pantotenik asit ve biyotin tüketimlerinin artması daha yüksek DNA hasarına neden olmuştur. Beta-karotenin orta derece kullanımının faydalı ancak aşırı tüketimin zararlı olabileceğini gösteren U şekilli bir ilişki tespit edilmiştir [32]. Ayrıca bu faktörlerin kendi aralarında da interaktif etkileşimler olduğu tespit edilmiştir.

Bu çalışmaların sonuçları kullanılarak, DNA hasarının önlenmesine yönelik olarak E vitamini, kalsiyum, folat, retinol, beta karoten ve nikotinik asitten oluşan gıdaların nutriom içeriklerinin şekil 1'de gösterildiği üzere sınıflandırılması mümkündür. Bu sınıflandırmadan sığır eti ve muzun, genom koruyucu nutriom içeriği yönünden badem, buğday kepeği, peynir, brokoli ve ton balığına göre daha fakir olduğu anlaşılmaktadır. Nutriomların bu yaklaşımla incelenmesi, genom düzeyindeki başlıca patolojilere karşı en iyi koruma sağlayan gıdaların ve diyet paternlerinin belirlenmesinde daha etkili bir yöntem olabilir. En önemli komponentlerin analiz edildiği güncel bir çalışmada, plazma nutriomlarının kognitif fonksiyonlarda ve beyin MRI bulgularında düzelmelere yol açtığı ilk kez bildirilmiştir [33]. Benzer yaklaşımlar DNA hasarı ve kanserden korunma ile ilişkili besin öğelerinin biyomarker paternlerinin tanımlanmasında da kullanılabilir.

Bu yolla elde edilecek daha detaylı bilgiler optimal sağlık için uyulması gereken diyet tavsiyelerinin mükemmelleştirilmesine yardımcı olabilir. Örneğin en güncel WHO/FAO raporunda kalp hastalığı, kanser, diyabet ve obeziteden korunmak ve özellikle az gelişmiş ülkelerdeki mikrobesin eksikliklerini engellemek ve mevcut eksiklikleri düzeltebilmek amacıyla günde en az 400 gr. sebze ve meyve tüketimi önerilmektedir [34]. Tablo 1'deki genom bütünlüğü ve normal fetal gelişim için başlıca mikrobesinlerden biri olan folat örneğine bakıldığında bu önerinin yanlış yönlendirici olma ihtimali ortaya çıkmaktadır [35, 36]. Başlıca dört sebze tipi mevcuttur. Meyveler bu sebze tiplerinden



Şekil 1 Sık kullanılan bazı gıdalardaki DNA hasarında azalma ile ilişkili mikrobesinler. Farklı besinleri gösteren sütunların içindeki mikrobesinlerin günlük tavsiye edilen minimum alım miktarını karşılama yüzdeleri Fenech ve ark. tarafından yapılan çalışmada lenfositlerde azalan mikronükleus sıklık indeksi kullanılarak tespit edilmiştir [32]. Her mikrobesinin (mevcut ise) rölatif katkısı farklı renklerdeki sütunların yüksekliği ile gösterilmektedir. Besin öğesi içerikleri USDA Nutrient Veri Tabanı (http://www.nal.usda.gov/fnic/foodcomp/search/) ile McCance ve Widdowson Kompozisyonu (6. Özet Baskı) gibi gıda içerik tabloları kullanılarak belirlenmiştir.

bir tanesidir. Seçilen veya tercih edilen sebzeler içerdikleri folat miktarı veya günlük tüketim ihtiyacını karşılama oranları büyük farklılıklar göstermektedir. Yüksek folat içerikli sebzelerin (örn. baklagiller ve/veya yeşil yapraklı veya turpgiller ailesine ait sebzeler) günde 400 gr tüketilmeleri (günlük 400 µg'lık folat ihtiyacının karşılanabilmesi için) yeterlidir. Ancak kök veya yumru sebzelerin veya "meyve sebzelerin" tercih edilmesi durumunda tüketilmesi gereken miktar pratikte imkansız ve çok pahalı olan 2.5 kg'a yükselmektedir. Ayrıca meyvelerin içindeki folat miktarı kök ve yumru sebzelerin yarısından daha azdır. Tek başına bu örnek bile güncel tavsiyelerin, folat gibi önemli mikrobesinlerin alımının etkili bir şekilde maksimize edilmesinde yetersiz kaldığını göstermektedir. Acil olarak baklagiller ve taneli tahıllar gibi nutrient yönünden zengin olan gıdalara ve genom bütünlüğünün korunmasında etkili kombinasyonlara odaklanan daha kesin tavsiyelere ihtiyaç vardır.

Telomer, genomik ile uğraşan bilim adamlarının giderek daha fazla ilgisini çeken genom bölgesidir. Kromozomların uçlarında bulunan başlıklar olan telomerler TTAGGG tandem tekrar sekanslarıdır. İlişkili oldukları shelterin proteinleri (örn. TRF1 ve TRF2) ile birlikte disentrik kromozomların, anafaz köprülerinin, kromozom

kırığı döngülerinin ve başlıksız kromozomların ortaya çıkmasına bağlı olarak daha ileri füzyonların oluşumuna yol açan kromozom uçlarının füzyonunu engellerler. Bu kırılma-füzyon-köprü döngüsü aşırı telomer kısalması ve/veya telomer/telozom kompleksinin disfonksiyonundan kaynaklanır [37, 38]. Nütrisyon şu nedenlerle muhtemel koruyucu rol oynayabilir: (1) Telomer sekansındaki guaninin oksidasyonu telomer stabilitesi ve fonksiyonu için gereken TRF1 ve TRF2 bağlanmasını engelleyebilir. Guanin oksidasyonu diyetle uygun antioksidan alımı ile engellenebilir; (2) Telomer sekansında urasil akümülasyonuna engel olmak için folat gereklidir. Urasil birikimi telomer ve subtelomerde kırıklara neden olarak telomer silinmeleri ve kaybına yol açarken, subtelomer hipometilasyonu ise telomer uzunluk kontrolünün kaybına ve disfonksiyonuna yol açar; (3) Niasin, tankiraz aktivitesi için NAD sağlanmasında gereklidir. Bu aktivite telomerazın, telomeri korunma işlevini yerine getirebilmesi için gereklidir [39, 40].

İn vivo çalışmalarda folat, D vitamini, omega 3 yağ asitleri, multivitamin kullanımı, kalori kısıtlaması ile kilo kaybı ve tahıl lifinin daha uzun telomerler ile ilişkili olduğu bulunmuştur. Oksidatif stres, yüksek plazma homosisteini, işlenmiş et, lineolik asit, psikolojik stres ve obezite ise daha kısa telomerlerle ilişkilidir [41, 47]. Bu sonuçların büyük bölümü tekil çalışmalardan elde edildiği için anlamlılık dereceleri netleşmemiştir. Telomer kısalmasının sağlıksız yaşlanma ile ilişkisi aşırı uzun ve aşırı kısa telomerlerin kanser riski ile ilişkili olduğu göz önüne alınarak araştırılmıştır [48].

Tablo 1 Sebzelerin folat içerikleri (Her 100gr'da µg olarak diyet folat eşdeğeri)[a]

Yüksek folat içeren sebzeler		Düşük folat içeren sebzeler	
Baklagiller	Yeşil yapraklı sebzeler veya turpgiller	Kökler veya yumrular	"Meyve" sebzeler
Kırmızı barbunya (130)	Brokoli (93)	Soğan (16)	Domates (15)
Maş fasulyesi (60)	Brüksel lahanası (60)	Patates (22)	Bal kabağı (9)
Bezelye (171)	Lahana (43)	Turp (9)	Salatalık (6)
Mercimek (180)	Hindiba (142)	Yabani havuç (57)	Kırmızı biber (11)
Nohut (59)	Ispanak (146)	Şalgam (21)	Patlıcan (14)
Kuru fasulye (50)	Marul (73)	Havuç (14)	Zeytin (0)
Ortalama (108)	Ortalama (93)	Ortalama (23)	Ortalama (10)
	Ortalama (100)		Ortalama (16)

[a]Veriler USDA Nutrient Veri Tabanı (http://www.nal.usda.gov/fnic/foodcomp/search/) Diyet folat eşdeğeri değerleri parantez içinde gösterilmiştir.

3 Nütrisyonel İhtiyaçlar ve Doku Kültür Sistemlerindeki Bilgi Eksiklikleri

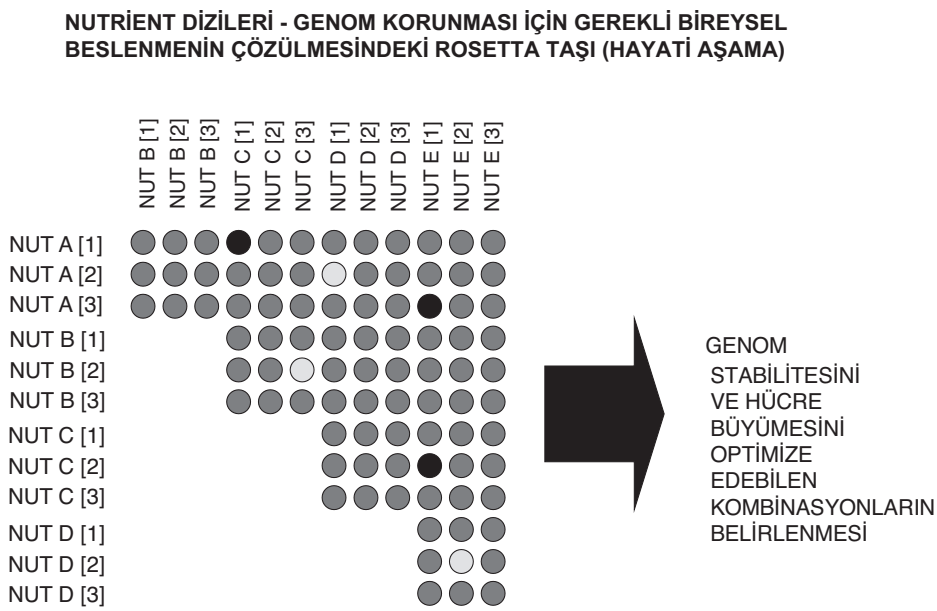
Doku kültüründeki önemli problemlerden bir tanesi hem kültür ortamı hem de oksijen basıncının fizyolojik koşullardan uzak olmasıdır. Her iki faktör de hücre büyümesinde ve kromozomal instabilite düzeylerinde önemli etkilere sahiptir. Örneğin farklı kültür ortamları mineral ve vitamin içerikleri yönünden büyük farklara sahip olup insan serumuna kıyasla da sıklıkla suprafizyolojik ya da normalden düşük konsantrasyonlarda bulunmaktadırlar. RPMI 1640 kültür ortamı insan hücrelerinin kültüründe en sık kullanılan ortamlardandır. Kültürdeki folat, metionin ve riboflavin konsantrasyonları insan serumuna göre suprafizyolojik düzeylerde iken, demir, bakır, çinko, magnezyum ve sülfür oranları ise normalden düşüktür (Tablo 2). Kültür ortamındaki bazı eksiklikler sadece %5-10 oranında eklenen fetal sığır serumu ile kısmen giderilebilir. Ancak kültürde eksik olan ya da hiç olmayan mikrobesinler hala istenilen düzeye gelmeyebilir. Günümüzde kullanılan kültür ortamlarının insan serumuna kıyasla fizyolojik olmadıkları açıktır Bu nedenle in vitro çalışmalardan elde edilen veriler in vivo tahminler yapmak için kullanılacağında dikkatli olunmalıdır. Bu tür tahminler yapmak sadece insan serumuna ve diğer vücut sıvıların (örn. serebrospinal sıvı, interstisyel sıvı) eşdeğer kompozisyona ve oksijen basıncına sahip fizyolojik kültür ortamları geliştirildiğinde makul hale gelecektir. Fizyolojik oksijen basıncı hücre kültür inkübatörlerinde kullanılan atmosferik oksijene göre 2-4 kat daha azdır. Fizyolojik oksijen şartlarında büyüyen hücrelerin daha az oksidatif strese maruz kaldıkları ve atmosferik oksijen inkübatörlerindeki hücrelere göre paradoksik olarak daha yavaş büyüdükleri gösterilmiştir [49, 50]. Daha hızlı büyüme daha iyi genom stabilitesine yol açmayabilir. Çünkü hızlı büyüme, hücre döngüsü kontrol noktalarının izin vermesi ile hücre döngü zamanında kısalmalara ve/veya DNA hasarı olan hücrelerin apoptozunda azalmalara yol açar. Biz ve diğer yazarlar kültür hücrelerindeki DNA hasarının, hücre ölümünün ve büyümesinin önemli mikrobesinlerin konsantrasyonlarından ciddi oranda etkilendiğini göstermiştir. Fizyolojik sınırlara göre hem daha fazla hem de daha az konsantrasyon genoma zarar vererek hücre büyümesi ve sağkalım kinetiklerini değiştirebilmektedir [23, 28, 29, 51–54]. Kültür ortamlarındaki metil donörlerinin (örn. folat, metionin, kolin, b12 vitamini) aşırı yüksek konsantrasyonları teorik olarak advers DNA metilasyon paternine yol açarak, önemli idareci genlerin sessizleşmesine neden olabilir. Ancak bu teoriyi desteklemesi beklenen güçlü kanıtlar henüz mevcut değildir [55]. Genomun korunması ve tamiri için gereken geniş mikrobesin spektrumu göz önüne alındığında, fizyolojik kültür ortamı kompozisyonunun geliştirilmesi, genomik olarak stabil durumda olan insan hücrelerinin büyüyebilmesi için optimal kültür şartlarının sağlanması ve farklı mikrobesin kombinasyonlarının (örn. nutriomlar) ve farklı genetik altyapılardaki dozajların etkilerinin incelenebilmesi için şarttır. Bu gelişmeler in vitro verilerin bireysel bazda in vivo etkilerin tahmin edilmesinde kullanılacağı durumlar için de kritiktir. Bu bağlamda, in vitro ortamda ulaşılabilen

Tablo 2 İnsan serum örneği ile normal komple RPMI 1640 kültür ortamındaki bazı mikrobesinlerin konsantrasyonlarının karşılaştırması (daha önce yayınlanmamış veriler)

Mikrobesinler	Konsantrasyon	İnsan serumu	RPMI 1640 kültür ortamı
Folat	μmol/L	0.028	2.3
Metionin	μmol/L	30	100
Riboflavin	μmol/L	0.05	0.53
Demir	mg/L	0.84	0.19
Bakır	mg/L	1.4	<0.1
Çinko	mg/L	0.94	0.17
Kalsiyum	mg/L	98	26
Magnezyum	mg/L	20	11
Sodyum	mg/L	3,400	3,200
Potasyum	mg/L	154	200
Fosfor	mg/L	121	174
Sülfür	mg/L	1,110	64

mikrobesin konsantrasyonlarına in vivo ortamda dokulardaki yeniden dağılım nedeniyle ulaşılamayacağı dikkate alınmalıdır. Ayrıca vücut sıvıları dikkate alındığında kan plazmasındaki mikrobesin konsantrasyonları hakkında oldukça iyi bilgilere sahibiz. Ancak organların çevreleyen interstisyel sıvı (örn. serebrospinal sıvı) ve dokulardaki konsantrasyonlarla ilgili bilgilerimiz oldukça yetersizdir. Hem fizyolojik hem de suprafizyolojik olarak en uygun sınırları göz önünde bulundurmalıyız. Ancak sadece in vivo ortamda ulaşılabilen "fizyolojik doz aralıklarını" in vitro modellerin in vivo tahmininde kullanabiliriz.

In vitro ve in vivo hücre sağlığı ile ilgili genom ve epigenom hasar parametrelerinin mikrobesin konsantrasyonlarındaki değişimlere "normal" fizyolojik sınırlarda bile son derece duyarlı oldukları giderek daha fazla kabul görmektedir [23, 28, 29, 52, 55, 56]. Bu nedenle diyet referans değerlerinin DNA hasarını minimize edebilecek doku konsantrasyonlarına ulaşılmasını sağlayacak şekilde yeniden gözden geçirilmesi pratik, makul ve arzu edilen bir durumdur. DNA hasarının validasyon statüsü ile ilgili detaylı bir inceleme, malnütrisyonun genomik etkilerini ölçen biyomarkerler ve optimal gen koruması için gereken nutrient ve nutriom gerekliliklerinin belirlenmesinde kullanılabilecek bir yol haritası için Fenech çalışmasına başvurabilirsiniz [1, 18].



Şekil 2 Basit nutrient dizilerinin mikrokültür sistemi için teorik bir örnek NUT = tek nutrient veya multipl nutrient kombinasyonu; A-E = farklı nutrient veya nutrient kombinasyonları; 1-3= artan doz düzeyleri. Farklı gri tonları, kullanılan kombinasyona bağlı olarak ortaya çıkabilen hücre büyümesi, canlılığı ve genom stabilitesindeki potansiyel varyasyonların göstergesidir. Buradaki en önemli zorluk her birey için en iyi kombinasyonun tanımlanmasıdır.

4 Nutriomların Nutrient Dizilerinde Test Edilmesi

Nütrisyonel genomik ile ilgili en büyük zorluk indirgeyici tek-nutrient-tek-gen etkileşimi yaklaşımından komple nutrient kombinasyonunun (örn. nutriom) bireysel bazda bir bireyin tüm genomu ile etkileşiminin incelenmesidir. Nihai hedef her bireyin genomuna en uygun nutriomu bulmaktır. Böylece hücresel fonksiyon, genom ve epigenomun optimal bir biçimde sürdürülebilmesi sağlanabilecektir. Bu bulmacayı çözebilmek için gereken "Rosetta Taşı" (mekanizma veya kod) mikrokültür sistemleri içinde nutrient dizileri geliştirmektir. Böylece multipl nutriomlar eş zamanlı olarak test edilirken, farklı dozajların etkileri de değerlendirilmiş olur (Şekil 2). Hücre üreten mikrokuyucuk uygun ve tutarlı bir şekilde prolifere olurken genom ve epigenom stabilitesinin korunması ile bireyin hücrelerine en uygun nutriomun tespit edilmesi mümkün olacaktır. Geniş içerikli otomatikleştirilmiş DNA hasar analizlerinin geliştirilebilmesi kantitatif görüntü sitometrisi kullanımı ile uygulanabilir hale gelmiştir [57-60]. Bu yöntem interfaz hücrelerin sayıları ve nükleer DNA içeriklerini de kapsayan multipl ölçütler içerebilir. Genom

stabilitesi ile ilgili telomer uzunluğu ve FISH ile aneuploidi ölçümü gibi multipl ölçütler, immunohistokimyasal yöntemlerle oksidize guanin ve DNA metilasyonu tespiti, sitokinez bloke çift çekirdekli hücrelerde mikronükleus sitom testleri ile kromozom hasarı ve telomer uç füzyonları gibi ölçütler ve daha birçok ölçüt örnek olarak verilebilir.

Bu tür bir sistemde basit bir tarama ile multipl mikrobesinlerin eksikliği veya güvenli üst sınır aralıkları bireysel bazda tespit edilebilir. Ayrıca normalde tahmin edilemeyecek şekilde sitotoksik veya genotoksik olabilen beklenmedik kombinasyonlar da tespit edilebilir. Bu tür bir ihtimalin akla yakın olabileceği genom instabilitesinin, düşük folat konsantrasyonlarında (20 nM) ve riboflavin konsantrasyonları doygun hale geldiğinde arttığını gösteren gözlemlerimizle desteklenmiştir [20]. Bu bulgu muhtemelen MTHFR'nin FAD kofaktörünün prekürsörü olan riboflavinin, 5,10-metilentetrahidrofolatın 5-metiltetrahidrofolata irreversibl dönüşümünü katalizleyen MTHFR aktivitesini artırmasıyla, dUMP'den dTMP sentezi için gereken öncel folat türlerinin miktarını azaltıp DNA'daki urasili artırmasından kaynaklanıyor olabilir. DNA'da aşırı urasil bulunması abazik bölgelerin oluşmasına ve urasil glikozilazlar bu yüksek oranda mutajenik lezyonu tamir etmeye çalışırken DNA zincir kırıklarına yol açar [1, 18, 55]. Bu nedenle farklı dozajlardaki multipl mikrobesin kombinasyonlarını etkili bir biçimde incelemeye olanak tanıyacak nutrient dizi sistemlerinin geliştirilmesi önemlidir. Bu tür bir yaklaşım bireylerin genetik geçmişlerini bilmeye gerek kalmadan genom sağlığının koruması için gereken bireysel nutriomların tanımlanmasına olanak sağladığı için avantajlıdır. Ayrıca bu tür sistemler farklı genotiplerin benzer nutriom şartlarındaki cevaplarını karşılaştırmak ve ölçülen biyomarkerların değişim yüzdelerini karşılaştırmak için de kullanılabilir. Bu değişimler test edilen nutriomlardaki farklı genotipler ve farklı nutrientler ile aralarındaki etkileşimlerden kaynaklanmaktadır.

DNA hasarı, hücre ölümü ve hücre büyümesi ile ilişkili aşağıdaki interaktif etkileri araştırmayı amaçlayan bu yaklaşımın kullanıldığı prototipler bizim grubumuz ve farklı araştırmacılar tarafından geliştirilmiştir:

1. Sabit fizyolojik metionin konsantrasyonlarında farklı sülfür- ve seleno-metionin oranları [54].
2. Alkolde folat konsantrasyonları [61].
3. Alkol/asetaldehit konsantrasyonları ve ADH1 veya ADLH2 genotipi [62, 63].
4. BRCA1 veya BRCA2 genotipinde folat konsantrasyonları [64, 65].
5. MRHFR C677T genotipinde riboflavin konsantrasyonu ile folat konsantrasyonu [29].

Bu çalışmalarda CBMN Cyt testi kromozomal instabilite, hücre ölümü ve hücre bölünmesi ile ilişkili multipl ölçümlerin yapılması için kullanılmıştır [66, 67]. Bu yaklaşımın sonuçları oldukça ümit vericidir. Çünkü sadece spesifik bir mikrobesin, genotip ve bu parametreler arasındaki etkileşimler ile ilişkili genotoksisite, sitotoksisite, metabolit ve hücre büyüme markerlerindaki yüzdesel varyasyonların tanımlanmasında değil, genetik olarak tanımlanmış hücre tiplerindeki nutrient/DNA hasarı doz-cevap eğrisinin şeklinin belirlenmesinde de kullanılabilir. CBMN Cyt testinin kullanılması bu amaç için özellikle uygundur. Çünkü bir nutriomdaki multipl kombinasyonlardaki mikrobesinler

ve konsantrasyonları arttığında veya azaldığında rölatif DNA hasarı, hücre ölüm olayları ve sitostaz insidansları da değişmektedir. Tek bir metabolik yolakla ilgili nutriomlar ikiden fazla mikrobesin içerebilir. Örneğin folat-metionin döngüsü substrat olarak farklı folat formlarına ve kofaktörler olarak da betain, B12 vitamini, B6 vitamini ve B2 vitaminine ihtiyaç göstermektedir. Bu nedenle nutrient dizilerinin multipl mikrobesinlerin kombinasyonlarını eş zamanlı ve dozla ilişkili şekilde inceleyecek biçimde dizayn edilmeleri de gerekir. Bu dizayn bir mikrobesinin farklı veya çelişkili doz düzeylerinin diğer mikrobesinlerle karşılaştırılmasını da içermelidir.

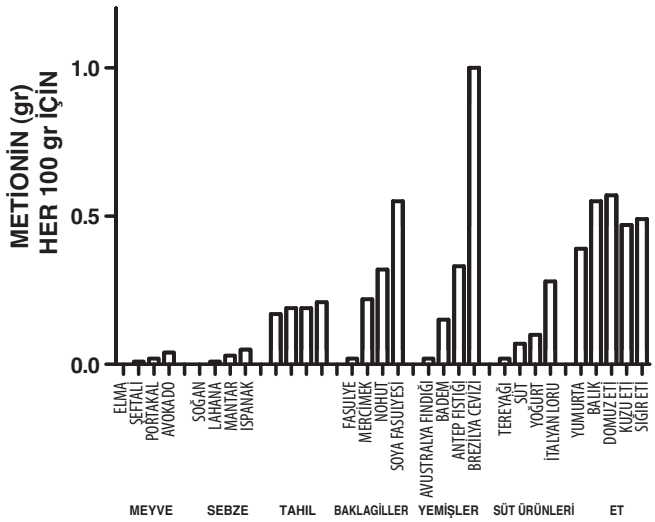
İn vitro nutrient dizi sistemi çeşitli spesifik ve önemli metabolik yolaklar ile ilgili geliştirilmekte olan nutrigenomik matematiksel modellerin [68, 69] doğruluklarının test edilmesinde de ideal bir mekanizma olabilir. Çünkü bu sistemin in vivo insan modellerine kıyasla, diyet girişimlerine uyum, beklenmeyen hayat tarzları, stres ve uyuşturucu kullanımı gibi sorunlardan ve genom hasarı ölçümlerini etkileyebilen çevresel genotoksik etkenlerden daha az etkilenmesi olasıdır. Ayrıca multipl mikrobesinlerin in vivo ortamda test edilmesi oldukça pahalıdır.

5 Kanser Büyümesinin Kontrolü İçin Nutrient Kısıtlaması

Yaşlanmakta olan popülasyonlardaki en önemli problemlerden birisi yaşla artan kanserlerin proliferasyonlarının engellenmesi gereksinimidir. Günümüzde kanser teşhisi alan bireylerde kullanılabilecek valide diyet önerileri mevcut değildir. Çünkü kanserde nutrient-gen ilişkisi ile ilgili bilgilerimiz çok sınırlıdır. Ayrıca genom koruması ve hücre büyümesi (örn. folat, metionin) için takviye amaçlı kullanılan bazı nutrientlerin kanser büyümesini stimüle edebilecekleri yönünde endişeler de mevcuttur. Her kanser türünün büyümesini engelleyebilecek nutriomların tanımlanması mümkün müdür?

Nutriomlar ve nutrient dizi sistemleri ideal olarak, sadece bir bireydeki normal hücrelerde büyüme ve genom koruması için gerekli nütrisyonel gereksinimleri incelemekle kalmamalıdır. Aynı zamanda bu tür bir nutriomun bireyde mevcut olma ihtimali olan kanser hücrelerinin büyümesini stimüle etmediği de doğrulanmalıdır. Kanser hücrelerinin genotiplerinin konağın diğer normal hücrelerine göre farklılıklar göstermesi olasıdır. Bu nedenle aynı nutriomlara farklı cevaplar verebilirler. Örneğin bazı kanser hücreleri folik asit reseptörlerine yüksek afinitelerini artırarak [68] normal hücrelere göre potansiyel olarak avantajlı hale gelirler. Ortamdaki folat miktarı kısıtlandığında çevre sıvılardaki folatı kullanabilirler. Yaşlanmakta olan veya kansere duyarlı bireylerdeki ideal nutriom, normal hücrelerin yenilenmelerinin korunmasını genetik bütünlük içinde sağlarken, kanser hücrelerinin büyümelerini de inhibe etmelidir. Bir bireyde bulunan hem normal hem de kanser hücrelerinin eş zamanlı olarak aynı tek-nutrient dizi sisteminde test edilmesi mantıklı bir yaklaşımdır.

Kanser büyümesinin engellenmesi için nutrigenetik diyet kısıtlaması uygun olabilir. Önerdiğim strateji aşağıdaki basamakları içermektedir:



Şekil 3 Tipik meyveler, sebzeler, tahıllar, baklagiller, sert kabuklu yemişler, süt ve etin her 100 gramında bulunan metionin içeriği: Metionin içerikleri USDA Nutrient Veri Tabanı (http://www.nal.usda.gov/fnic/foodcomp/search/) ile McCance ve Widdowson Kompozisyonu (6. Özet Baskı) gibi gıda içerik tabloları kullanılarak belirlenmiştir.

1. DNA tamir ve büyümesi için gereken mikrobesinlerle spesifik ve güçlü olarak bağlantılı olan kansere yol açan genetik defektin tanımlanması.
2. Nutriom-nutrient dizi sistemi kullanarak mikrobesin kısıtlamasına karşı oluşan duyarlılığın test edilmesi.
3. (1) Genotoksik ilaçlarla yapılan tedavinin tedavi edebilme oranını artırabilmek için bireysel diyet kısıtlamalarının dizaynı, veya (2) Tedavi sonrası kalan kanser kalıntılarındaki hücre büyümesini inhibe edebilecek veya hücre ölümünü indükleyebilecek bireysel diyet kısıtlamalarının dizayn edilmesi.

Sağlıklı hayat süresini uzatabilmek ve kanserlerin büyümelerini kontrol edebilmek amacıyla uygulanan metionin kısıtlaması son zamanlarda önemli derecede ilgi çeken bir konudur (Güncel incelemesi Cavuoto ve Fenech tarafından yapılmıştır [70]). Bu ihtimalin nedeni birçok kanserin metionine bağımlı fenotipe sahip olmasıdır. Kanserlerin metionin metabolizma genlerindeki yan yolaklardaki veya yeni oluşan yolaklardaki mutasyonlardan kaynaklandığı düşünülmektedir. Bu mutasyonların en sık görülen ve en iyi tanımlanmış örneği yan yolaktaki MTAP geninin silinmesidir. Bu mutasyon sıklıkla, kanserlerin tipine bağlı olarak %8-60'ında görülen CDKN2A (p16INK4) silinmesi ile birlikte görülür. Bu iki önemli genetik olayın birlikte görülmesi iki genin 9. kromozomun p koluna çok yakın konumda olmalarından kaynaklanmaktadır. Yüksek metionin düzeyleri hücre büyümesini artırma eğilimi gösterir. Çünkü poliamin sentezi için metionin gereklidir. Kanser hücrelerindeki MTAP silindiği zaman, metionini rejenere edemez hale geldikleri, için tamamen diyetle metionin tedarikine bağımlı hale gelirler. Kanserin

metionine bağımlı olduğu bilgisi, (yukarıda tanımlanan kritik mutasyona sahip olduğu durumlarda) kanserin kontrolü amacıyla diyet metionin kısıtlamasının önerilebileceği düşüncesini doğurmaktadır. Bu yaklaşımın fizibilitesi şu anda laboratuarımızda test edilmektedir. Metionin kısıtlamasının bireysel kanser büyüme kontrolünde (özellikle MTAP silinmesi olan bireylerde) rol oynama ihtimali diyet metionin kaynaklarına daha fazla konsantre olunması gereksinimini doğurmaktadır.

Şekil 3 incelendiğinde en zengin metionin kaynaklarının et, yumurta, bazı süt ürünleri (örn. peynir), bazı sert kabuklu yemişler (örn. Brezilya cevizi) ve bazı baklagiller (örn. soya fasulyesi) olduğu görülmektedir. En fakir kaynaklar ise meyve ve sebzelerdir. Dikkatli olarak düzenlenen meyve ve sebze yönünden zengin vegan diyetlerinin metionin alımını en çok kısıtlayan diyet olacağı açıktır.

6 Sonuçlar

Sonuç olarak nutriomların incelenmesi ve multipl nutrient dozlarına ve kombinasyonlarına verilen genomik cevapların araştırılması makul bir yaklaşım olup aynı zamanda takviye ve kısıtlamaları da içeren tüm nütrisyonel gereksinimlerin eksiksiz olarak tanımlanmasında çok ümit vadeden bir yöntemdir. Bu şekilde normal şekilde farklılaşan propenitor hücrelerin ve kök hücrelerinin büyüme veya çoğalmalarının genetik olarak stabil bir şekilde korunması ve kanser hücrelerinin büyümelerinin baskılanarak yok edilmeleri mümkün olabilecektir.

Referanslar

1. Fenech MF (2010) Dietary reference values of individual micronutrients and nutriomes for genome damage prevention: current status and a road map to the future. Am J Clin Nutr 91(5):1438S–1454S
2. Hoeijmakers JH (2009) DNA damage, aging, and cancer. N Engl J Med 361:1475–1485
3. Larsson NG (2010) Somatic mitochondrial DNA mutations in mammalian aging. Annu Rev Biochem 79:683–706
4. Behrens MI, Lendon C, Roe CM (2009) A common biological mechanism in cancer and Alzheimer's disease? Curr Alzheimer Res 6:196–204
5. Coppede F, Migliore L (2009) DNA damage and repair in Alzheimer's disease. Curr Alzheimer Res 6:36–47
6. Iarmarcovai G, Bonassi S, Botta A, Baan RA, Orsiere T (2008) Genetic polymorphisms and micronucleus formation: a review of the literature. Mutat Res 658:215–233
7. Jiang J, Zhang X, Yang H, Wang W (2009) Polymorphisms of DNA repair genes: ADPRT, XRCC1, and XPD and cancer risk in genetic epidemiology. Methods Mol Biol 471:305–333
8. Mocellin S, Verdi D, Nitti D (2009) DNA repair gene polymorphisms and risk of cutaneous melanoma: a systematic review and meta-analysis. Carcinogenesis 30:1735–1743
9. Ames BN (2003) The metabolic tune-up: metabolic harmony and disease prevention. J Nutr 133:1544S–1548S
10. Ames BN, Wakimoto P (2002) Are vitamin and mineral deficiencies a major cancer risk? Nat Rev Cancer 2:694–704

11. Claycombe KJ, Meydani SN (2001) Vitamin E and genome stability. Mutat Res 475:37–44
12. Dreosti IE (2001) Zinc and the gene. Mutat Res 475:161–167
13. Fenech M (2001) Recommended dietary allowances (RDAs) for genomic stability. Mutat Res 480–481:51–54
14. Fenech M (2001) The role of folic acid and Vitamin B12 in genomic stability of human cells. Mutat Res 475:57–67
15. Fenech M (2003) Nutritional treatment of genome instability: a paradigm shift in disease prevention and in the setting of recommended dietary allowances. Nutr Res Rev 16:109–122
16. Fenech M (2008) Genome health nutrigenomics and nutrigenetics–diagnosis and nutritional treatment of genome damage on an individual basis. Food Chem Toxicol 46:1365–1370
17. Fenech M, Ferguson LR (2001) Vitamins/minerals and genomic stability in humans. Mutat Res 475:1–6
18. Fenech M (2010) Folate, DNA damage and the aging brain. Mech Ageing Dev 131(4):236–241
19. Ferguson LR, Philpott M (2008) Nutrition and mutagenesis. Annu Rev Nutr 28:313–329
20. Hageman GJ, Stierum RH (2001) Niacin, poly (ADP-ribose) polymerase-1 and genomic stability. Mutat Res 475:45–56
21. Halliwell B (2001) Vitamin C and genomic stability. Mutat Res 475:29–35
22. Hartwig A (2001) Role of magnesium in genomic stability. Mutat Res 475:113–121
23. Ho E, Ames BN (2002) Low intracellular zinc induces oxidative DNA damage, disrupts p53, NFkappa B, and AP1 DNA binding, and affects DNA repair in a rat glioma cell line. Proc Natl Acad Sci USA 99:16770–16775
24. Keen CL, Zidenberg-Cherr S (2003) Manganese. In: Zeigler EE, Filer LJ (eds) Present knowledge in nutrition. ILSI Press, Washington DC
25. Lovell MA (2009) A potential role for alterations of zinc and zinc transport proteins in the progression of Alzheimer's disease. J Alzheimers Dis 16:471–483
26. Park S, Johnson MA (2006) What is an adequate dose of oral vitamin B12 in older people with poor vitamin B12 status? Nutr Rev 64:373–378
27. van Ommen B, El-Sohemy A, Hesketh J, Kaput J, Fenech M, Evelo CT, McArdle HJ, Bouwman J, Lietz G, Mathers JC, Fairweather-Tait S, van Kranen H, Elliott R, Wopereis S, Ferguson LR, Meplan C, Perozzi G, Allen L, Rivero D (2010) The micronutrient genomics project: a community-driven knowledge base for micronutrient research. Genes Nutr 5:285–296
28. Crott JW, Mashiyama ST, Ames BN, Fenech M (2001) The effect of folic acid deficiency and MTHFR C677T polymorphism on chromosome damage in human lymphocytes in vitro. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 10:1089–1096
29. Kimura M, Umegaki K, Higuchi M, Thomas P, Fenech M (2004) Methylenetetrahydrofolate reductase C677T polymorphism, folic acid and riboflavin are important determinants of genome stability in cultured human lymphocytes. J Nutr 134:48–56
30. Holzwarth C, Vaegler M, Gieseke F, Pfister SM, Handgretinger R, Kerst G, Muller I (2010) Low physiologic oxygen tensions reduce proliferation and differentiation of human multipotent mesenchymal stromal cells. BMC Cell Biol 11:11
31. Vukicevic V, Jauch A, Dinger TC, Gebauer L, Hornich V, Bornstein SR, Ehrhart-Bornstein M, Muller AM (2010) Genetic instability and diminished differentiation capacity in long-term cultured mouse neurosphere cells. Mech Ageing Dev 131:124–132
32. Fenech M, Baghurst P, Luderer W, Turner J, Record S, Ceppi M, Bonassi S (2005) Low intake of calcium, folate, nicotinic acid, vitamin E, retinol, beta-carotene and high intake of pantothenic acid, biotin and riboflavin are significantly associated with increased genome instability–results from a dietary intake and micronucleus index survey in South Australia. Carcinogenesis 26:991–999
33. Bowman GL, Silbert LC, Howieson D, Dodge HH, Traber MG, Frei B, Kaye JA, Shannon J, Quinn JF (2012) Nutrient biomarker patterns, cognitive function, and MRI measures of brain aging. Neurology 78:241–249

34. Nishida C, Uauy R, Kumanyika S, Shetty P (2004) The joint WHO/FAO expert consultation on diet, nutrition and the prevention of chronic diseases: process, product and policy implications. Public Health Nutr 7:245–250
35. Fenech M (2012) Folate (vitamin B9) and vitamin B12 and their function in the maintenance of nuclear and mitochondrial genome integrity. Mutat Res 733:21–33
36. Stover PJ (2009) One-carbon metabolism-genome interactions in folate-associated pathologies. J Nutr 139:2402–2405
37. de Lange T (2010) How shelterin solves the telomere end-protection problem. Cold Spring Harb Symp Quant Biol 75:167–177
38. Sfeir A, de Lange T (2012) Removal of shelterin reveals the telomere end-protection problem. Science 336:593–597
39. Bull C, Fenech M (2008) Genome-health nutrigenomics and nutrigenetics: nutritional requirements or 'nutriomes' for chromosomal stability and telomere maintenance at the individual level. Proc Nutr Soc 67:146–156
40. Paul L (2011) Diet, nutrition and telomere length. J Nutr Biochem 22:895–901
41. Bull CF, O'Callaghan NJ, Mayrhofer G, Fenech MF (2009) Telomere length in lymphocytes of older South Australian men may be inversely associated with plasma homocysteine. Rejuvenation Res 12:341–349
42. Cassidy A, De Vivo I, Liu Y, Han J, Prescott J, Hunter DJ, Rimm EB (2010) Associations between diet, lifestyle factors, and telomere length in women. Am J Clin Nutr 91:1273–1280
43. Farzaneh-Far R, Lin J, Epel ES, Harris WS, Blackburn EH, Whooley MA (2010) Association of marine omega-3 fatty acid levels with telomeric aging in patients with coronary heart disease. JAMA 303:250–257
44. Nettleton JA, Diez-Roux A, Jenny NS, Fitzpatrick AL, Jacobs DR Jr (2008) Dietary patterns, food groups, and telomere length in the multi-ethnic study of atherosclerosis (MESA). Am J Clin Nutr 88:1405–1412
45. O'Callaghan NJ, Clifton PM, Noakes M, Fenech M (2009) Weight loss in obese men is associated with increased telomere length and decreased abasic sites in rectal mucosa. Rejuvenation Res 12:169–176
46. Richards JB, Valdes AM, Gardner JP, Paximadas D, Kimura M, Nessa A, Lu X, Surdulescu GL, Swaminathan R, Spector TD, Aviv A (2007) Higher serum vitamin D concentrations are associated with longer leukocyte telomere length in women. Am J Clin Nutr 86:1420–1425
47. Xu Q, Parks CG, DeRoo LA, Cawthon RM, Sandler DP, Chen H (2009) Multivitamin use and telomere length in women. Am J Clin Nutr 89:1857–1863
48. Hou L, Zhang X, Gawron AJ, Liu J (2012) Surrogate tissue telomere length and cancer risk: shorter or longer? Cancer Lett 319:130–135
49. Atkuri KR, Herzenberg LA (2005) Culturing at atmospheric oxygen levels impacts lymphocyte function. Proc Natl Acad Sci USA 102:3756–3759
50. Atkuri KR, Herzenberg LA, Niemi AK, Cowan T (2007) Importance of culturing primary lymphocytes at physiological oxygen levels. Proc Natl Acad Sci USA 104:4547–4552
51. Bull CF, Mayrhofer G, Zeegers D, Mun GL, Hande MP, Fenech MF (2012) Folate deficiency is associated with the formation of complex nuclear anomalies in the cytokinesis-block micronucleus cytome assay. Environ Mol Mutagen 53:311–323
52. de Vogel S, Bongaerts BW, Wouters KA, Kester AD, Schouten LJ, de Goeij AF, de Bruine AP, Goldbohm RA, van den Brandt PA, van Engeland M, Weijenberg MP (2008) Associations of dietary methyl donor intake with MLH1 promoter hypermethylation and related molecular phenotypes in sporadic colorectal cancer. Carcinogenesis 29:1765–1773
53. Sharif R, Thomas P, Zalewski P, Graham RD, Fenech M (2011) The effect of zinc sulphate and zinc carnosine on genome stability and cytotoxicity in the WIL2-NS human lymphoblastoid cell line. Mutat Res 720:22–33
54. Wu J, Lyons GH, Graham RD, Fenech MF (2009) The effect of selenium, as selenomethionine, on genome stability and cytotoxicity in human lymphocytes measured using the cytokinesis-block micronucleus cytome assay. Mutagenesis 24:225–232

55. Chango A, Abdel Nour AM, Niquet C, Tessier FJ (2009) Simultaneous determination of genomic DNA methylation and uracil misincorporation. Med Princ Pract 18:81–84
56. Bistulfi G, Vandette E, Matsui S, Smiraglia DJ (2010) Mild folate deficiency induces genetic and epigenetic instability and phenotype changes in prostate cancer cells. BMC Biol 8:6
57. Decordier I, Papine A, Plas G, Roesems S, Vande Loock K, Moreno-Palomo J, Cemeli E, Anderson D, Fucic A, Marcos R, Soussaline F, Kirsch-Volders M (2009) Automated image analysis of cytokinesis-blocked micronuclei: an adapted protocol and a validated scoring procedure for biomonitoring. Mutagenesis 24:85–93
58. Varga D, Johannes T, Jainta S, Schuster S, Schwarz-Boeger U, Kiechle M, Patino Garcia B, Vogel W (2004) An automated scoring procedure for the micronucleus test by image analysis. Mutagenesis 19:391–397
59. Zhao H, Albino AP, Jorgensen E, Traganos F, Darzynkiewicz Z (2009) DNA damage response induced by tobacco smoke in normal human bronchial epithelial and A549 pulmonary adenocarcinoma cells assessed by laser scanning cytometry. Cytometry A 75:840–847
60. Zhao H, Traganos F, Darzynkiewicz Z (2010) Kinetics of the UV-induced DNA damage response in relation to cell cycle phase correlation with DNA replication. Cytometry A 77:285–293
61. Teo T, Fenech M (2008) The interactive effect of alcohol and folic acid on genome stability in human WIL2-NS cells measured using the cytokinesis-block micronucleus cytome assay. Mutat Res 657:32–38
62. Ishikawa H, Ishikawa T, Yamamoto H, Fukao A, Yokoyama K (2007) Genotoxic effects of alcohol in human peripheral lymphocytes modulated by ADH1B and ALDH2 gene polymorphisms. Mutat Res 615:134–142
63. Kim JS, Kim YJ, Kim TY, Song JY, Cho YH, Park YC, Chung HW (2005) Association of ALDH2 polymorphism with sensitivity to acetaldehyde-induced micronuclei and facial flushing after alcohol intake. Toxicology 210:169–174
64. Beetstra S, Salisbury C, Turner J, Altree M, McKinnon R, Suthers G, Fenech M (2006) Lymphocytes of BRCA1 and BRCA2 germ-line mutation carriers, with or without breast cancer, are not abnormally sensitive to the chromosome damaging effect of moderate folate deficiency. Carcinogenesis 27:517–524
65. Beetstra S, Suthers G, Dhillon V, Salisbury C, Turner J, Altree M, McKinnon R, Fenech M (2008) Methionine-dependence phenotype in the de novo pathway in BRCA1 and BRCA2 mutation carriers with and without breast cancer. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 17:2565–2571
66. Fenech M (2006) Cytokinesis-block micronucleus assay evolves into a “cytome” assay of chromosomal instability, mitotic dysfunction and cell death. Mutat Res 600:658–666
67. Fenech M (2007) Cytokinesis-block micronucleus cytome assay. Nat Protoc 2:1084–1104
68. Kelemen LE (2006) The role of folate receptor alpha in cancer development, progression and treatment: cause, consequence or innocent bystander? Int J Cancer 119:243–250
69. Nijhout HF, Gregory JF, Fitzpatrick C, Cho E, Lamers KY, Ulrich CM, Reed MC (2009) A mathematical model gives insights into the effects of vitamin B-6 deficiency on 1-carbon and glutathione metabolism. J Nutr 139:784–791
70. Cavuoto P, Fenech MF (2012) A review of methionine dependency and the role of methionine restriction in cancer growth control and life-span extension. Cancer Treat Rev 38:726–736

Melanomun Önlenmesi ve Tedavisinde Özgün Yaklaşımlar

Antonio M. Grimaldi, Pamela B. Cassidy, Sancy Leachmann ve Paolo A. Ascierto

Özet

Kutanöz melanom insidansı diğer malignitelere göre anlamlı olarak daha yüksek oranlarda artmaktadır. Bu artış popülasyonların hem güneş hem de solaryum kaynaklı aşırı ultraviyole (UV) radyasyonu maruziyetlerinin tehlikeleri hakkında bilgilendirilme çabalarına rağmen sürmektedir. Melanom görece daha genç popülasyonları etkileyen ve metastaz yapma eğilimi ile mevcut terapötik rejimlere zayıf cevap vermesi ile tanınan bir hastalıktır. Bu faktörler melanomun önlenmesini, hastalık ile ilişkili mortalitenin azaltılması için gösterilen çabaların vazgeçilmez bir komponenti haline getirmiştir. Melanositlerin malign melanoma dönüşmesinde genetik faktörler, ultraviyole radyasyon ve tümör mikroçevresi arasındaki etkileşimler rol oynar. UV radyasyonunun melanom etyolojisindeki rolü hem foto ürünlerinin formasyonu ile oluşan DNA hasarından hem de reaktif oksijen türlerinin üretiminden kaynaklanmaktadır. Melanomun önlenmesi amacıyla geliştirilmekte olan ümit verici antioksidan ajanların çoğu gıda kaynaklıdır. Serin/treonin-spesifik protein kinazlar içeren Raf kinaz ailesinin bir üyesi olan B-Raf, MAP kinaz/ERK sinyal yolağının regülasyonunda rol oynamaktadır. Melanomların yaklaşık %50'sinde BRAF mutasyonları mevcuttur. Melanomlarda bulunan BRAF mutasyonları gövde ve kol-

A. M. Grimaldi · P. A. Ascierto (✉)
Unit of Melanoma, Immunotherapy and Innovative Therapies, Istituto Nazionale per lo Studio e la Cura dei Tumori Fondazione G. Pascale, Via Mariano Semmola, 80131, Naples, Italy
e-mail: paolo.ascierto@gmail.com

P. B. Cassidy · S. Leachmann
Huntsman Cancer Institute, University of Utah, Melanoma and Cutaneous Oncology Program, Salt Lake, UT, USA

V. Zappia et al. (eds.), *Advances in Nutrition and Cancer,*
Cancer Treatment and Research 159, DOI: 10.1007/978-3-642-38007-5_25,
© Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2014

ları aralıklı olarak güneşe maruz kalanların %59'unda oluşurken, aynı mutasyon akral melanomların sadece %23'ünde, mukozal melanomların %11'inde mevcuttur. Üveal melanomlarda bu mutasyon görülmez. İki yeni ajan olan ipilimumab ve vemurafenibin ileri melanomun sonuçlarında iyileşmelere yol açtığı Amerikan Klinik Onkoloji Derneği'nin 2011 yılındaki yıllık toplantısında sunulmuştur. Vemurafenib BRAFV600 mutasyonu olan metastatik melanomda progresyonsuz sağkalımda ve genel sağkalımda iyileşmeye yol açtığı gösterilen ilk bileşiktir. Aynı zamanda antiproliferatif etkisini yüksek oranda spesifik moleküler bir hedefin inhibisiyonu ile gösteren ilk ilaç sınıfına ait ilk ilaçtır. GSK2118436 (dabrafenib) faz I ve faz II çalışmalarda vemurafenib ile benzer sonuçlar veren ikinci BRAF inhibitörüdür. Bir faz III çalışması şu anda sürmektedir. Vemurafenib ve dabrafenibin klinik geliştirme süreçlerinde, BRAF inhibitörlerinin bu mutasyonu taşıyan melanomların progresyonlarını durdurabildiği veya tersine çevirebildiği net olarak gösterilmiştir. BRAF inhibitörleri tarihsel standart tedavilere göre de sağkalım zamanlarını artırmıştır (kemoterapi ve interlökin-2). RAF265 ve LGX818 gibi BRAF inhibitörlerinin klinik geliştirme süreçleri de devam etmektedir. BRAF inhibitörlerinin ipilimumab, bir anti-CTLA-4 antikoru ve/veya MEK inhibitörleri veya metformin ile kombinasyon stratejileri klinik çalışmalarda araştırılmaktadır.

Anahtar Kelimeler

Melanom • BRAF • İpilimumab • Vemurafenib • Dabrafenib

Kısaltmalar

GTE	Yeşil çay ekstresi
EGCG	Epigallokateçin-3-gallat
CSD	kronik güneş hasarı
CTLA-4	sitotoksik T lenfosit ile ilişkili antijen 4
cSCC	Kutanöz skuamöz hücreli karsinom
VEGFR-2	vasküler endotelyal büyüme faktörü reseptörü 2

İçindekiler

1 Giriş 445
2 Melanom Önleme Stratejileri 445
2.1 Diyet ve Melanom 446
2.2 BRAF Proteininin Melanomdaki Rolü 447
2.3 İleri Melanom Tedavisi 449
3 Sonuçlar 452
Referanslar 453

1 Giriş

Kutanöz melanom insidansı diğer malignitelere göre anlamlı olarak daha yüksek oranlarda artmaktadır. Son 30 yıl içinde beyaz ırkta yıllık yaklaşık %3'lük artış görülmüştür. Bu artış halkın, hem güneş hem de solaryum kaynaklı aşırı ultraviyole radyasyonu maruziyetlerinin tehlikeleri hakkında bilgilendirilme çabalarına rağmen sürmektedir [1]. Melanom ile ilişkili diğer risk faktörleri arasında açık renkli ve bronzlaşamayan cilt, kızıl saç, açık göz rengi, çok sayıda veya atipik benler, >50 yaş, erkek cinsiyet ve kişisel veya ailesel hikaye mevcuttur [2]. Erken evrelerde tespit edilen kutanöz melanom vakalarının %90'ından fazlası cerrahi eksizyon ile kesin tedavi edilir. Ancak bölgesel metastaz varlığındaki 5 yıllık sağkalım %60'a, uzak metastaz varlığında ise %16'nın altına düşmektedir [3]. Melanom görece daha genç popülasyonları etkileyen ve metastaz yapma eğilimi ile mevcut terapötik rejimlere zayıf cevap vermesi ile tanınan bir hastalıktır. Bu faktörler melanomun önlenmesini, hastalık ile ilişkili mortalitenin azaltılması için gösterilen çabaların vazgeçilmez bir komponenti haline getirmiştir.

Epidemiyolojik veriler UV radyasyonunun melanom için majör çevresel karsinojen olduğunu göstermektedir. B (UV-B; 260–320 nm) ve A (UV-A; 320–400 nm) dalga boylarında UV maruziyeti sporadik melanom gelişimi ile biyolojik olarak en ilişkili çevresel risk faktörüdür. Ancak UV radyasyonunun melanomu indükleme mekanizması henüz tam olarak anlaşılamamıştır. Melanositlerin malign melanoma dönüşmesinde genetik faktörler, ultraviyole radyasyon ve tümör mikroçevresi arasındaki etkileşimlerin rol oynadığı günümüzde anlaşılmıştır [4].

Dokuz farklı ülkeden 20 araştırmacı solaryum kullananlarda görülen cilt kanseri insidansları ile ilişkili 20'den fazla epidemiyolojik çalışmanın analizini yapmıştır. Verilerin incelenmesi ile 30 yaşından önce solaryum kullanmaya başlayanlardaki melanom riskinin %75 arttığı bulunmuştur. Bu metaanalizin ayrıntılı makalesi "The Lancet Oncology" dergisinde yayınlanmıştır [5]. Makale Dünya Sağlık Örgütünün (WHO) solaryumdan ve aşırı güneş ışığından kaçınılması yönündeki önerisini desteklemektedir. Uluslararası Kanser Araştırma Ajansı (IARC) UV ışınları yayan bronzlaşma cihazlarını "muhtemel karsinojen" kategorisinden "insanlar için karsinojen" kategorisine yükseltmiştir (WHO IARC Çalışma Grubu) [6]. Bu yeni sınıflandırma solaryum ve güneş ışığı lambalarını asbest, radon, sigara, alkol ve hepatitin de bulunduğu faktörleri içeren kanser risk faktörleri grubuna sokmuştur.

2 Melanom Önleme Stratejileri

Melanomun önlenmesi primer, sekonder ve tersiyer stratejilerden oluşur. Primer önleme stratejileri karsinogenezin en erken evresinde yani kanserin ilk etkisinin görülmesinden önce uygulanır. Güneş kremleri gibi primer önleme stratejileri "normal" bir hücrenin maruz kaldığı ilk mutasyonları azaltmaktadır. Sekonder korumayı oluşturan,

tarama protokolleri kullanılan önleme rejimleri, premalign lezyonları erkenden tespit etmeyi veya bu lezyonların kansere dönüşmesini engelleyen ajanlarla tedaviyi içerir. Tersiyer koruma kanser tedavisi gören hastalardaki reküransların önlenmesi ve sağkalım süresinin uzatılmasını amaçlar.

UV radyasyonuna maruziyet foto ürünlerinin formasyonu ile direkt DNA hasarına yol açarken, reaktif oksijen türleri de indirekt oksidatif hasara neden olur. Her iki etki de UV ile indüklenen karsinogeneze ve foto yaşlanmaya neden olur [7]. Melanomdan koruma amaçlı geliştirilmekte olan ümit verici antioksidan ajanların büyük bölümü gıda kaynaklarından elde edilir ve oksidatif DNA hasarını azaltarak etki gösterir.

2.1 Diyet ve Melanom

2.1.1 Likopen

Likopen sıklıkla domateste bulunan kırmızı renkli bir bileşiktir. Tüm karotenoidlerin en etkili oksijen söndürücü (ve antioksidan) olanıdır. İngiltere'de yayınlanan yeni bir makalede UV ile indüklenen ışın hasarı, 12 hafta boyunca günlük olarak zeytinyağı içinde 55 gram domates salçası (16 mg likopen) tüketen kadınlarda sadece zeytinyağı tüketenlere göre anlamlı olarak azalmıştır [8]. Ancak primer melanomun önlenmesinde likopen kullanımı için hala fare melanom modellerinde preklinik değerlendirme yapılmasına ihtiyaç vardır.

2.1.2 Sulforafan

Brokoli filizlerinden izole edilen küçük moleküllü bir antioksidan olan sulforafan (SF), turpgiller ailesine ait sebzelerin büyük oranda tüketiminin kanser riskini azalttığı gözlemini açıklamak amacıyla dizayn edilen bir çalışmada tespit edilen kimyasal maddelerden biridir. Reaktif oksijen türlerini direkt olarak etkileyen karotenoidlerin aksine, SF antioksidan kapasitesini dokulardaki doğal antioksidan enzimleri yukarı regüle ederek gösterir. SF'nin topikal olarak uygulanması ile antioksidan enzimlerin indüklendiği ve insan cildindeki UV radyasyonuna karşı oluşan MED'i (minimal eritem dozu) artırdığı bulunmuştur [9]. İkinci bir çalışmada farelerin brokoli filizlerinden oluşan takviye ile oral yoldan beslenmesinin UV ile indüklenen skuamoz hücreli karsinomları azalttığı gösterilmiştir [10]. Ancak SF'nin melanomdan primer korunmadaki kullanımı henüz fare modelinde test edilmemiştir.

2.1.3 Yeşil çay ekstresi

Yeşil çayın antikanser özelliklerinin içerdiği polifenollerden (özellikle (-) epigallokateçin-3-gallat (EGCG)) kaynaklandığı düşünülmektedir. EGCG'nin kimyasal özellikleri hem güneş kremi hem de serbest radikal söndürücüsü olarak etki yapabileceğini göstermektedir. Ancak bu özelliklerin tek başına biyolojik aktivite göstermesi için yetip yetmediği

şüphelidir [11]. Yeşil çay ekstresi ve EGCG fare modellerindeki UV kaynaklı melanom üzerinde test edilmemiştir. EGCG'nin eşgenetikli fare melanom modelinde kuyruk venine B16 melanom hücrelerinin enjekte edilmesi sonrasında akciğer metastazlarını azalttığı bulgusu sekonder önleme modalitesinde kullanılabileceğini göstermiştir [12]. Topikal EGCG uygulaması UV radyasyonuna maruz kalan insan cildinde eritem, oksidatif stres ve enflamatuar lökositlerin infiltrasyonunu azaltmış ve DNA'daki pirimidin dimer tamirini iyileştirmiştir. Güneş kremlerini de içeren birçok cilt bakımı ürünü yeşil çay ekstresi içermektedir. Ancak birçoğunun polifenol içeriği standardize değildir. Yeşil çay ekstresinin ve EGCG'nin melanomu da kapsayan cilt kanserlerinin önlenmesini araştıran daha ileri klinik çalışmalara kesinlikle ihtiyaç vardır.

2.2 BRAF Proteininin Melanomdaki Rolü

B-Raf, serin/treonin-spesifik protein kinazlar içeren Raf kinaz ailesinin bir üyesidir. Bu protein MAP kinaz/ERK sinyal yolağının regülasyonunda hücre bölünme, farklılaşma ve sekresyonunu etkileyerek rol oynar [13]. Bu gendeki mutasyonlar melanom, papiler tiroid karsinomu, kolorektal kanser, non-Hodgkin lenfoma, küçük hücreli olmayan akciğer karsinomu ve akciğer adenokarsinomu gibi farklı kanser türlerinde görülür [14].

İnsan kanserlerinde BRAF geninin otuzdan fazla mutasyonu tespit edilmiştir. BRAF mutasyonlarının sıklığı insanlardaki kanserin türüne göre büyük farklılıklar gösterir. Melanomların yaklaşık %50'sinde BRAF mutasyonları mevcuttur. Bu mutasyonların %90'ı kodon 600 düzeyindedir (örn. V600E mutasyonu). En sık görülen ikinci mutasyon BRAFV600 K'dır [15]. Kutanöz melanomlardaki yüksek BRAF mutasyonu prevalansı ve UV ile melanom arasındaki epidemiyolojik link, BRAFV600E mutasyonunun UV hasarına bağlı olarak ortaya çıktığı spekülasyonunu doğurmuştur. Melanomlarda bulunan BRAF mutasyonları gövde ve kolları aralıklı olarak güneşe maruz kalanların %59'unda oluşurken, aynı mutasyon akral melanomların sadece %23'ünde, mukozal melanomların %11'inde [16] mevcuttur. Üveal melanomlarda bu mutasyon görülmez [17, 18]. UV-BRAF arasındaki bağlantı kronik olarak güneşe maruz kalan (solar elastoza işaret eden histopatolojik kanıtlar ile tanımlanır) bölgelerdeki BRAFV600E mutasyonunun sadece %11 olduğunun tespit edilmesiyle komplike hale gelmiştir [19]. Bu çelişkili gözlemler BRAF mutasyonlarının oluşumunda rol oynayan ve özellikle güneş maruziyetini de içeren moleküler faktörlerle ilgili belirsizlikleri vurgulamaktadır. BRAFV600E, melanom progresyonu ile ilişkili farklı mekanizmalar da rol oynamaktadır: Aşağı yönlü MEK/ERK yolağının aktivasyonu, senesans ve apoptozdan sakınma, kontrolsüz replikatif potansiyel, anjiogenez (MEK'ye bağımlı HIF-1α ve VEGF aktivasyonu yoluyla), doku invazyonu, metastaz (migrasyon, integrin sinyali, hücre kontraktilitesi, tümör ve mikroçevre kaynaklı interlökin-8 gibi çeşitli proteinlerin yukarı regülasyonu), immun cevaptan sakınma [20]. Primer melanomların klinikopatolojik özellikleri şu bulgularla tutarlı olarak ilgilidir: Genç yaşlarda da görülen mutant BRAF,

çevre dokularda kronik güneş hasarının daha az sayıda markeri, daha yüksek total vücut beni sayısı, spesifik histopatolojik bulgular (büyük epiteloid kriptomorfoloji, ağır melanizasyon ve melanositlerin belirgin yukarı yönlü epidermal yayılımı). Bir Avustralya araştırma grubu [21] metastatik melanomdaki onkogenik BRAF mutasyonlarının sıklık ve tiplerini araştıran çalışmanın sonuçlarını ve BRAF statüsünün klinikopatolojik özellikler ve sonuçlarla ilişkisini yayınlamıştır. Cerrahi olarak çıkarılması mümkün olmayan AJCC evre IIIC ve evre IV melanomu olan 197 hasta çalışmaya alınmıştır. 95 hastada mutasyonlu BRAF tespit edilmiştir (%48). Mutant BRAF melanomu olan hastalar normal (wild-type) BRAF melanomu olan hastalara gör hem uzak metastaz tanısı esnasında (medyan yaş, sırasıyla 55.8'e karşı 63.1) hem de primer melanom tanısı esnasında (medyan yaş, sırasıyla 55.8'e karşı 63.1) daha genç yaştaydı. Metastatik melanomu olan hastaların hastalıksız intervali de içeren diğer özellikleri, mutant BRAF veya normal BRAF olan hastalar arasında anlamlı farklılıklar göstermemiştir. Bu çalışma BRAF mutant metastatik melanomu olan hastaların genel prognozunun hastalıksız sağkalım yönünden normal BRAF olan hastalardan daha iyi olmadığını göstermiştir. Buna rağmen çalışma periyodu sırasında yeni teşhis edilen melanomu olan BRAF mutant hastaların üçte ikisine BRAF inhibitörü tedavisi verilmemiş ve bu hastalardaki genel sağkalım normal BRAF olan hastalara göre tutarlı olarak daha kötü bulunmuştur. Primer melanomdaki mutant BRAF ile bağlantılı olan faktörler kanserin bölgesi (gövde), kronik güneş hasarı, nodüler ve yüzeysel yayılan histopatolojik alt tipler, ve mitoz sayılarıdır. Bu bulgular mutant BRAF olan melanomun biyolojik olarak heterojen olduğu ve özel bir fenotip oluşturacak şekilde diğer genetik değişimlerle birlikte etki yaptığı görüşünü desteklemektedir. BRAF onkogeninde aktive edici mutasyon varlığı uzak ve rezeke edilemeyen metastazların gelişim zamanı üzerinde bir etki yapmamıştır. Ancak devamında daha kötü sonuçlar ile ilişkilidir. Uzak metastaz teşhisi sonrası yapılan sağkalım analizlerinde, BRAF inhibitörü kullanan BRAF mutant hasta alt kümesinden dolayı iki nedenle karışıklık oluşmuştur. Birincisi BRAF inhibitörlerinin genel sağkalımı uzatmasıdır; ikincisi klinik çalışmalarda yer almak üzere seçilen hastaların daha iyi performans statüsü, semptomatik beyin metastazlarının yokluğu ve diğer ölçülemeyen faktörleri de kapsayan daha iyi prognostik faktörlere sahip olma ihtimalleridir. Metastatik melanom olan hastalarda mutant BRAF varlığı, ilk melanomun teşhisinden ilk uzak metastaz teşhisine kadar olan interval üzerinde bir etki yapmamıştır (ilk rezeke edilemeyen lokorejyonal rekürans dahil). BRAF inhibitörlerinin BRAF mutant hastalardaki sağkalım analizinde karışıklığa neden olması kısmen bu gruptaki hastaların diğer hastalara göre daha uzun sağkalıma sahip olmalarından kaynaklanmaktadır. BRAF mutasyonunun varlığı metastatik melanom hastalarında daha kısa sağkalım ile ilişkili gözükmektedir. Ancak bu bulgu BRAF inhibitörlerinin henüz mevcut olmadığı zamanlardaki hasta kohortlarında konfime edilmelidir.

2.3 İleri Melanom Tedavisi

2.3.1 2011'den Önce İleri Melanom Tedavisi

ABD Gıda ve İlaç İdaresi (FDA) tarafından 2011 öncesinde metastatik melanom tedavisinde onaylı olan tek kemoterapötik ajan olan dakarbazin ile yapılan faz III çalışmalardaki cevap oranı %7-12, medyan genel sağkalım ise tedavi başlangıcından itibaren 5.6-7.8 ay bulunmuştur [22].

2.3.2 2011'den Sonra İleri Melanom Tedavisi

İpilimumab ve vemurafenibın ileri melanom tedavisinde kullanıldığı iki farklı çalışmanın sıradışı ilerlemeler içeren pozitif sonuçları yayınlanmıştır. ipilimumab CTLA-4'e bağlanan (sitotoksik T lenfosit ile ilişkili antijen 4) tam bir insan antikoru olan ve doğal immun cevapların regülasyonunda kritik rol oynadığına inanılan sitotoksik T lenfositleri etkileyen bir moleküldür [23]. CTLA-4'ün varlığı immun sistemin hastalıklarla savaşan T-hücre cevabının zayıflamasına neden olurken, yokluğu ise bu cevabın güçlenmesine neden olur. İpilimumab CTLA-4 aktivitesini bloke edecek şekilde dizayn edildiği için melanom hücrelerine saldırırken aynı zamanda aktif immun cevabın ortaya çıkmasına da neden olur. İpilimumabın melanomda görülen immun toleransı tersine çevirici etkisi bir hasta popülasyondan uzun süreli yanıt alınmasına neden olmuştur. Aynı zamanda otoimmun yan etkiler de indüklenmiştir [24].

Onkogenik mutant BRAF'ın selektif ve potent inhibitörü [25] olan vemurafenib (PLX4032/RG7204/RO5185426) klinik çalışmalarda çok iyi sonuçlar vermiştir. Daha önce melanom tedavisi gören ve BRAFV600E mutasyonu olan hastalarda yapılan faz II çalışmada vemurafenibin aktivitesi, genel cevap oranı (tedavi edilen hastalardaki tümör cevabını ölçen primer sonlanım noktası), cevabın süresi ve genel sağkalım ölçülerek tespit edilmiştir. Çalışmaya alınan 132 hasta günde iki kez 960 mg oral vemurafenib ile (kabul edilemeyen yan etkiler veya progresyon görülene kadar) tedavi edilmiştir. Çalışmada konfirme cevap oranının %53, cevabın süresinin 6.7 ay, medyan genel sağkalımın 15.9 ay bulunmuş olması melanom hastaları için eşi görülmemiş sonuçlar anlamına geliyordu [26].

Takip süresi boyunca (medyan 12.9 ay, aralık 0.6-20.1) vemurafenib kullanırken progresyon görülen hastaların %24'üne ipilimumab tedavisi uygulanmıştır. Planlanmamış bir post hoc analizde medyan genel sağkalım 15.9 ayda kalmıştır (%95 CI %11.6-%18.3) [27].

2.3.3 BRIM-3 Sonuçları

İki kollu, randomize, faz III BRIM-3 (melanomda BRAF inhibitörü-3) çalışmasında günde iki kez 960 mg oral vemurafenib ile 1000 mg/m^2 dozunda her üç haftada bir kullanılan dakarzabin kemoterapisinin birinci basamak tedavi olarak kullanımları metastatik melanom hastalarında karşılaştırılmıştır. Progresyonsuz sağkalım ve genel sağkalım çalışmanın primer sonlanım noktasını oluşturuyordu. Daha önce tedavi görmemiş, rezeke edilemeyen evre IIIC veya evre IV metastatik melanomu ve BRAFV600E mutasyonu

olan 675 hasta çalışmaya alınmıştır. Çalışmanın sonuçları BRAFV600E mutasyonu olan hastalardaki ölüm riskinin %63, tümör progresyonu riskinin ise %74 azaldığını göstermiştir. Uzun süreli takipte vemurafenib kolundaki genel sağkalım 13.2 ay, dakarzabin kolunda ise 9.9 ay bulunmuştur. Vemurafenib kolundaki hastaların %38'inin doz azaltımına ihtiyaç duymuş olması dikkat çekicidir [28]. Vemurafenib ile en sık görülen advers olaylar kutanöz olaylar, artralji ve yorgunluktur. BRIM-3 çalışmasında fotosensitiviteye bağlı 2 ve 3. derecede deri reaksiyonları hastaların %12'sinde görülmüştür. Su toplama ile karakterize 3. derece reaksiyonlar sıklıkla güneş kremi ile engellenebilmiştir. BRIM-3 çalışmasındaki vemurafenib grubundaki 336 hastanın 129'unda (%38) doz modifikasyonu veya tedavinin kesilmesi gerekmiştir. 61 hastada (%18) kutanöz skuamöz hücreli karsinom (cSCC), keratoakantom veya her iki rahatsızlık birlikte görülmüştür Tüm lezyonlar basit eksizyon ile tedavi edilmiştir. Vemurafenib bugüne kadar tamamlanan tüm klinik çalışmalarda iyi tolere edilmiştir. BRIM-3 çalışmasında, 1-2 derece ve 3-4 derece advers olayların oranı daha önce yapılan çalışmalar ile benzer bulunmuştur.

Vemurafenib BRAFV600 mutasyonu olan metastatik melanomda progresyonsuz sağkalım ve genel sağkalımı artırdığı gösterilen ilk bireyselleştirilmiş bileşiktir. BRIM-3 çalışmasının sonuçları metastatik melanom tedavisinde bugüne kadar elde edilen en dramatik ilerlemelerin gösterildiği çalışmadır. ABD Gıda ve İlaç İdaresi (FDA) 17 Ağustos 2011'de rezeke edilemeyen veya BRAFV600E mutasyonu (FDA tarafından onaylı bir test ile tespit edilen) olan metastatik melanomun birinci ve ikinci basamak tedavisinde vemurafenib kullanımını onaylamıştır. Avrupa İlaç Ajansının (EMA) İnsan İlaç Ürünleri Komitesi (CHMP) 15 Aralık 2011'de vemurafenibin metastatik veya rezeke edilemeyen BRAFV600 mutasyonlu melanom tedavisinde kullanım için pazara verilmesine izin verilmesini tavsiye etmiştir. Avrupa komisyonu 17 Şubat 2012'de 27 Avrupa Birliği ülkesinde pazarlama izni vermiştir (Patient W.A.I.T. Indicator EFPIA 2010).

2.3.4 BRAF İnhibitörü Tedavisinin Geleceği

İkinci BRAF inhibitörü olan GSK2118436 (dabrafenib) ile yapılan faz I ve faz II çalışmalarda [29] vemurafenib çalışmalarına benzer sonuçlar elde edilmiştir. Dabrafenib mutant V600EBRAF'ın (mt BRAF) yüksek oranda spesifik bir inhibitörüdür. Dabrafenib melanom hücre dizilerindeki mutant BRAF'ı vemurafenibden dört kat daha güçlü inhibe ederken, mutant BRAF olan selektivitesi de (doğal BRAF'a göre) vemurafenib ile benzer düzeydedir. Faz I sonuçları hem güvenlik hem de etkinlik anlamında en az vemurafenib ile yapılan faz I çalışmaların sonuçları kadar etkileyicidir. Dabrafenib ile yapılan faz I çalışmasının dizaynı vemurafenib çalışmasının dizaynına benzerdir. Elde edilen sonuçlar ise daha çarpıcıdır. Çalışmanın doz artırma fazında kaydedilen 93 hastanın 85'inde metastatik melanom mevcuttu. Melanom hastalarının 76'sında aktive edici BRAF mutasyonları vardı. En yüksek iki dozla tedavi edilen 16 hastanın 10'unda ölçülebilir cevap elde edilmiştir (%63 cevap oranı). Bir faz III çalışma ise hala sürmektedir. Ayrıca beyin metastazı olan melanom hastalarında da cevaplar görülmüştür. Vemurafenib ve dabrafenibin klinik geliştirme süreçleri BRAF inhibitörlerinin bu mutasyonu taşıyan

melanomların progresyonlarını durdurabildiği veya tersine çevirebildiği (en azından geçici olarak) net olarak gösterilmiştir. BRAF inhibitörleri ayrıca standart tarihsel tedavilere kıyasla sağkalım zamanlarını da artırmıştır (kemoterapi ve interlökin-2).

RAF265 ise BRAF, CRAF ve mutant BRAF'ı da inhibe edebilen oral kullanılan bir başka selektif RAF inhibitörüdür. RAF265 vasküler endotelyal büyüme faktörü reseptörü 2'yi (VEGFR-2) inhibe ederek antianjiogenik aktivite de gösterir. RAF265 BRAF mutant ksenogreft fare modelinde doza bağlı tümör regresyonuna yol açmıştır ([30] Stuart ve ark. 2001). RAF265 ileri malign melanomlu hastalarda yapılmakta olan faz I çalışmada araştırılmaktadır.

LGX818 [31] mükemmel bir farmakolojik profile imkan veren özgün biyokimyasal özelliklere sahip potent ve selektif RAF kinaz inhibitörüdür. LGX818, BRAFV600E eksprese eden hücreler üzerinde selektif antiproliferatif ve apoptotik etkiye sahiptir. LGX818, A375 (BRAFV600E) insan melanom hücre dizilerinde fosfo-ERK'i (EC_{50} = 3 nM) suprese ederek potent proliferasyon inhibisyonuna yol açar. LGX818 bağışıklık sistemi zayıflatılmış fare ve sıçanlardaki multipl insan ksenogreft modellerinde tümör regresyonunu 1 mg/kg gibi düşük dozlarda indükleyebilmektedir. BRAF mutant tümörleri olan hastalarda yapılan faz I çalışma halen sürmektedir (http://cancertrialaustraliaa.com/Clinical-Trials-Register.aspx.Cancer Trials Australia).[32]

2.3.5 Kombinasyon Stratejileri

Vemurafenib ile ipilimumab kombinasyonunun güvenlik, tolerabilite ve etkinliğini araştıran faz I/II çalışma dizayn edilmiştir [33]. Bu tedavi hedefe yönelik ve immunoterapi yaklaşımlarını kombine etmektedir. İki ilacın etki mekanizmaları farklıdır. İpilimumab (ABD'de birinci ve ikinci basamak tedavide, Avrupa'da ikinci basamak tedavide 3 mg/kg dozunda ileri evre rezeke edilemeyen melanom hastalarının tedavisinde kullanılır) aktif immun cevabın sürdürülmesini sağlar. Vemurafenib ve ipilimumab farklı etki paterni de gösterirler: Vemurafenib hızlı etki göstererek metabolizmayı durdurur. Ancak hastalık medyan olarak 6-8 ay sonra progresyon gösterir. İpilimumab ise daha yavaş etki gösterir ve hastalığı kronik hale getirme yeteneği vardır.

Başka bir kombinasyon da BRIM-7 çalışmasında test edilmektedir [34]. Bu faz Ib, doz yükseltme çalışması tek başına vemurafenib tedavisi ile progresyon görülen BRAFV600E pozitif metastatik melanom hastalarında, vemurafenib ile GDC-0973 kombinasyonunun güvenlik, tolerabilite ve farmakokinetiklerini araştırmayı amaçlamaktadır. GDC-0973, BRAF'ın aşağı yönlü hedefi olan MEK1/2'nin potent ve yüksek oranda selektif inhibitörüdür. Bu kombine tedavinin altında yatan mantık iki aşamalıdır: Birincisi progresyonsuz sağkalım üzerinde aditif ve muhtemelen de sinerjistik etki beklentisidir; ikincisi ise BRAF inhibitörleri tek başlarına kullanıldığında MEK yolağının paradoksik olarak stimüle olabilmesi ile ortaya çıkabilen muhtemel toksisitenin engellenmesidir. BRAF inhibitörlerinin tek başlarında kullanıldığı çalışmaların çoğunda bildirilen kutanöz skuamöz hücreli karsinom ve keratoakantomaların ortaya çıkmalarının nedeni bu paradoksik etki olabilir. Güncel faz I ve faz II çalışmalarda bu yaklaşımın güvenli olduğu ve her iki ajanın tek

başlarına kullanımları ile oluşan toksisiteyi azalttığı gösterilmiştir. Faz I çalışmasına 43 BRAF mutasyonlu melanom hastası (tümü BRAF inhibitörü naif) kaydedilmiştir. 3. derece advers etkiler olarak generalize döküntü (%2.4) ve nötropeni (%2.4) görülmüştür. 2. derece ve daha ileri cilt toksisiteleri 9 hastada (%20) görülmüştür. Bunlar arasında 2. derece döküntü (%4.8) ve maküler döküntü mevcuttur (n=1). Herhangi bir doz düzeyinde kutanöz skuamöz hücreli karsinom ve hiperproliferatif cilt lezyonları görülmemiştir. Değerlendirilen 16 hastadan 13'ü parsiyel cevap verirken, 3'ünde hastalık stabil hale gelmiştir. Objektif cevap oranı (ORR) %81'dir (%95CI %54.4-96.0). İki hasta dışındaki tüm hastalar tamamlamıştır. Bir başka kombinasyon çalışmasında günde iki kez 150 mg dabrafenib + günde bir kez ≥1 mg trametinib uygulanan 10 hastanın, 9'u parsiyel cevap verirken, 1'inde de hastalık stabil hale gelmiştir. Günde bir kez 2 mg uygulanan trametinib, günde iki kez 150 mg dabrafenib ile güvenle kombine edilmiştir. Şu ana kadar skuamöz hücreli karsinom vakasına rastlanmamıştır. Ayrıca bu kombinasyon ile daha önce tek başına dabrafenib veya trametinib kullanılan çalışmalarda görülen deri döküntüleri de azalmıştır [35]. Preliminer antitümör aktivitesi için daha ileri çalışmalara ihtiyaç vardır. Şu anda faz II randomize bir çalışma (3. bölüm) sürmektedir.

Tek başına metformin tedavisi 19 hücre dizisinden 12 tanesindeki proliferasyonu BRAF mutasyon statüsünden bağımsız olarak inhibe etmiştir. Ancak bir $NRAS^{Q61K}$ mutant hücre dizisindeki hücre büyümesini güçlü bir şekilde stimüle etmiştir [36]. Metformin ile vemurafenib kombinasyonunun sinerjistik antiproliferatif etkisi 11 BRAFV600E mutantının 6 tanesinde gözlenmiştir. Bunlar arasında 2 BRAFV600E mutant melanom hücre dizisindeki yüksek oranda sinerjistik etki de mevcuttur. Özellikle tek ajan olarak uygulanan vemurafenibe dirençli BRAFV600E mutant hücre dizilerini de kapsayan bazı hücre dizilerinde antagonistik etkiler gözlenmiştir. Kombinasyon tedavisi ile 8 mutasyonsuz BRAF hücre dizisinin yedisinde marjinal sinerjistik antiproliferatif etki görülmüştür. Bu hücre dizilerinden bir tanesi kombinasyon ile yüksek düzeyde antagonistik etki göstermiştir. Bu farklı sonuçlar sadece her bir ilaca karşı olan sensitiviteye bağlı olmayıp, hücre döngüsü veya sinyal yolakları üzerindeki etkilerden de kaynaklanmaktadır. Vemurafenib ile metformin kombinasyonunun BRAFV600E mutant hücre dizileri üzerinde daha güçlü antiproliferatif etki gösterme eğilimi vardır [36]. Ancak bu kombinasyonun potansiyel klinik kullanımı test edilmeden önce vemurafenib ve metformin sinerjizminin veya antagonizminin belirleyicilerinin daha detaylı anlaşılması gerekmektedir.

3 Sonuçlar

UV radyasyonu melanom gelişimi için majör bir çevresel karsinojendir. UV radyasyonunun melanoma yol açma mekanizması belirlenememiştir. Ancak melanositlerin malign melanoma dönüşümünün genetik faktörler, UV maruziyeti ve tümör mikroçevresi arasındaki etkileşimden kaynaklandığı artık bilinmektedir. Cilt kanseri ile ilgili 20'den fazla epidemiyolojik çalışmanın analizinde 30 yaşından önce solaryum kullanan bireylerdeki melanom riskinin %75 arttığı tespit edilmiştir. Bu sonuçlara bağlı olarak UV ışınları yayan bronzlaşma cihazlarının kategorisi "muhtemel karsinojen" kategorisinden

"insanlar için karsinojen" kategorisine yükseltilmiştir. Bu yeni sınıflandırma solaryum ve güneş ışığı lambalarını asbest, radon, sigara, alkol ve hepatitin de bulunduğu faktörleri içeren kanser risk faktörleri grubuna sokmuştur. UV radyasyonunun melanom etyolojisindeki rolü foto ürünlerinin formasyonu ile oluşan DNA hasarından ve reaktif oksijen türlerinin üretiminden (UV ile indüklenen oksidatif stres, enflamasyon ve fotoyaşlanmaya katkı yaparlar) kaynaklanmaktadır. Melanomun önlenmesi amaçlı geliştirilmekte olan ümit vadeden antioksidan ajanların çoğu gıda kaynaklıdır. Primer, sekonder ve tersiyer önleme stratejilerinin geliştirilmelerinin, kansere neden olan mutasyonların ve devamında malignite oluşumunun güvenli bir şekilde önlenebilme potansiyeli vardır. Başarılı önleme stratejilerinin melanom kaynaklı morbidite ve mortaliteyi azaltmakta çok büyük potansiyeli mevcuttur.

Metastatik melanomun prognozu geleneksel kemoterapötiklere (dakarzabin) cevap alınamaması nedeniyle oldukça kötüdür. Tüm melanomların yaklaşık %50'si aktive edici BRAF mutasyonuna sahiptir. BRAF inhibitörleri sahip oldukları çok iyi klinik etkinlik ve iyi güvenlik profili nedeniyle hedefe yönelik antikanser tedavisine mükemmel bir örnek oluşturmaktadırlar. Metastatik melanom hastalarındaki BRAF'ın mutasyonlu veya normal alt kümelere ayrılarak sınıflandırılması, hastalığın prognoz ve tedavine yaklaşımın değişmesine neden olmuştur. Diğer kanser tiplerine benzer şekilde, moleküler bir hedefin keşfi, terapötik hedefin tanımlanmasına yol açmaktadır (örn. meme kanseri için HER2, NH lenfomalar için CD20, kolorektal ve rektal kanserler için EGFR). Aynı patern BRAF mutant melanomlar için de geçerlidir. Bu mutasyonun varlığı daha genç yaşta başlangıç ve agresif seyir ile ilişkilidir. Ancak spesifik inhibitörlerin geliştirilmesi ile bu melanomlu hasta grubundaki prognoz dramatik bir şekilde iyileşmiştir. Gerçekten de BRAF inhibitörlerinin ipilimumab gibi diğer aktif ajanlarla veya aynı yolağı hedefleyen MEK inhibitörleri gibi diğer sinerjistik ajanlarla kombinasyonları, etkinliğin daha da artması ve toksisitenin veya yan etkilerin azalması potansiyeline sahiptir. Tek ajanla yapılan bu çalışmaların ümit vadeden sonuçlarına dayanarak melanom hastalarının geleceğini farklı şekilde dizayn etme zamanı olabilir: Kombinasyon stratejileri [37].

Referanslar

1. Lazovich DA, Vogel RI, Berwick M, Weinstock MA, Anderson KE, Warshaw EM (2010). Indoor tanning and Risk of Melanoma: A case-control study in a highly exposed population. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 19(6):1557–1568.
2. Pho L, Grossman D, Leachman SA (2006) Melanoma genetics: a review of genetic factors and clinical phenotypesin familian melanomas. Curr Opin Oncol 18(2):173–179
3. Balch CM, Buzaid AC, Soong SJ, Atkins MB, Cascinelli N, Coit DG, Fleming ID, Gershenwald JE, Houghton A Jr, Kirkwood JM, McMasters KM, Mihm MF, Morton DL, Reintgen DS, Ross MI, Sober A, Thompson JA, Thompson JF (2001) Final version of the American joint committee on cancer staging system for cutaneous melanoma. J Clin Oncol 19:3635–3648
4. Gruijl FR (2003) IL-40 UV carcinogenesis and melanocytes. Pigment Cell Res 16:591
5. Ghissassi F, Baan R, Straif K, Grosse Y, Secretan B, Bouvard V, Benbrahim-Tallaa L, Guha N, Freeman C, Galichet L, Cogliano V (2009) On behalf of the WHO international agency for

research on cancer monograph working group. Special report: policy a review of human carcinogens—Part D: radiation. Lancet Oncol, 10(8):751–752
6. WHO (2006) International agency for fresearch on cancer. exposure to artificial UV radiation and skin cancer. IARC working group reports. Vol 1
7. Meyskens FL, Jr McNulty SE, Buckmeier JA, Tohidian NB, Spillane TJ, Kahlon RS, Gonzalez RI (2001) Aberrant redox regulation in human metastatic melanoma cells compared to normal melanocytes. Free Radic Biol Med 31:799–808
8. Rizwan M, Rodriguez-Blanco I, Harbottle A, Birch-Machin MA, Watson RE, Rhodes LE (2011) Tomato paste rich in lycopene protects against cutaneous photo damage in humans in vivo: a randomized controlled trial. Br J Dermatol 164:154–162
9. Talalay P, Fahey JW, Healy ZR, Wehage SL, Benedict AL, Min C, Dinkova-Kostova AT (2007) Sulforaphane mobilizes cellular defenses that protect skin against damage by UV radiation. Proc Natl Acad Sci USA 104: 17500–17505
10. Dinkova-Kostova AT, JW Fahey, AL Benedict, SN Jenkins, L Ye, SL Wehage, P Talalay (2010) Dietary glucoraphanin-rich broccoli sprout extracts protect against UV radiation-induced skin carcinogenesis in SKH-1 hairless mice. Photochemical and Photobiological Sciences 9: 597–600
11. Nichols JA, Katyar SK (2010) Skin photoprotection and natural polyphenol:anti-inflammatory, antioxidant and DNA repair mechanisms. Arch Dermatol Res 302(2):71–83
12. Taniguchi S, Fujiki H, Kobayashi H, Go H, Miyado K, Sadano H, Shimokawa R (1992) Effect of (-)-epigallocatechin gallate, the main constituent of green tea, on lung metastasis with mouse B16 melanoma cell lines. Cancer Lett 65:51–54
13. Wellbrock C, Karasarides M, Marais R (2004) The RAF proteins take centre stage. Nat Rev Mol Cell Biol 5:875–885
14. Namba H, Nakashima M, Hayashi T, Hayashida N, Maeda S, Rogounovitch TI, Ohtsuru A, Saenko VA, Kanematsu T, Yamashita S (2003) Clinical implication of hot spot BRAF mutation, V599E, in papillary thyroid cancers. J Clin Endocrinol Metab 88(9):4393–4397. doi:10.1210/jc.2003-030305.PMID12970315
15. Curtin JA, Fridlyand J, Kageshita T, Patel HN, Busam KJ, Kutzner H, Cho KH, Aiba S, Bröcker EB, LeBoit PE, Pinkel D, Bastian BC (2005) Distinct sets of genetic alterations in melanoma. N Engl J Med, 353:2135–2147
16. Edwards RH, Ward MR, Wu H, Medina CA, Brose MS, Volpe P, Nussen-Lee S, Haupt HM, Martin AM, Herlyn M, Lessin SR, Weber BL (2004) Absence of BRAF mutations in UV-protected mucosal melanomas. J Med Genet 41:270–272
17. Cohen Y, Goldenberg-Cohen N, Parrella P, Chowers I, Merbs SL, Pe'er J, Sidransky D (2003) Lack of BRAF mutation in primary uveal melanoma invest. Ophthalmol Vis Sci, 44:72876–2878
18. Cruz F, Rubin BP, Wilson D, Town A, Schroeder A, Haley A, Bainbridge T, Heinrich MC, Corless CL (2003) Absence of *BRAF* and *NRAS* mutations in uveal melanoma. cancer res, 63(18):5761–5766
19. Maldonado JL, Fridlyand J, Patel H, Jain AN, Busam K, Kageshita T, Ono T, Albertson DG, Pinkel D, Bastian BC (2003) Determinants of BRAF Mutations in Primary Melanomas. J Natl Cancer Inst 95(24):1878–1890
20. Maurer G, Tarkowski B, Baccarini M (2011) Raf kinases in cancer-roles and therapeutic opportunities. Oncogene 30:3477–3488
21. Long GV, Menzies AM, Nagrial AM, Haydu LE, Hamilton AL, Mann GJ, Hughes TM, Thompson JF, Scolyer RA, Kefford RF (2011) Prognostic and clinicopathologic associations of oncogenic BRAF in metastatic melanoma. JCO April 1, 29(10):1239–1246
22. Huncharek M, Caubet JF, McGarry R (2001) Single-agent DTIC versus combination chemotherapy with or without immunotherapy in metastatic melanoma: a meta-analysis of 3,273 patients from 20 randomized trials. Melanoma Res, 11(1):75–81
23. Tarhini AA, Iqbal F (2010) CTLA-4 blockade: therapeutic potential in cancer treatments. Onco Targets Ther 3:15–25

24. Robert C, Ghiringhelli F (2009) What is the role of cytotoxic T lymphocyte-associated antigen 4 blockade in patients with metastatic melanoma? Oncologist 8:848–861
25. Bollag G, Hirth P, Tsai J, Zhang J, Ibrahim PN, Cho H, Spevak W, Zhang C, Zhang Y, Habets G et al (2010) Clinical efficacy of a RAF inhibitor needs broad target blockade in BRAF-mutant melanoma. Nature 467:596–599
26. Flaherty KT, Puzanov I, Kim KB, Ribas A, McArthur GA, Sosman JA, O'Dwyer PJ, Lee RJ, Grippo JF, Nolop K, Chapman PB (2010) Inhibition of mutated, activated BRAF in metastatic melanoma. N Engl J Med 363:809–819
27. Sosman JA, Kim KB, Schuchter L, Gonzalez R, Pavlick AC, Weber JS, McArthur GA, Hutson TE, Moschos SJ, Flaherty KT et al (2012) Survival in BRAF V600-mutant advanced melanoma treated with Vemurafenib. N Engl J Med 366:707–714
28. Chapman PB, Hauschild A, Robert C, Haanen JB, Ascierto P, Larkin J, Dummer R, Garbe C, Testori A, Maio M et al (2011) Improved survival with vemurafenib in melanoma with BRAF V600E mutation. N Engl J Med 364:2507–2516
29. Kefford R et al (2010) Phase I/II study of GSK2118436, a selective inhibitor of oncogenic mutant BRAF kinase, in patients with metastatic melanoma and other solid tumors. J Clin Oncol 28:15 s, (suppl; abstr 8503)
30. Amiri P, Aikawa ME, Dove J et al (2006) CHIR-265 is a potent selective inhibitor of c-Raf/B-Raf/$_{mut}$B-Raf that effectively inhibits proliferation and survival of cancer cell lines with RAS/RAF pathway mutations. Proc Am Assoc Cancer Res, 47 (Abstract 4855)
31. Stuart DD, Li N, Poon DJ, Aardalen K, Kaufman S, Merritt H, Salangsang F, Lorenzana E, Li A, Ghoddusi M, Caponigro G, Sun F, Kulkarni S, Kakar S, Turner N, Zang R, Tellew J, Pryer N. Preclinical profile of LGX818: a potent and selective RAF kinase inhibitor.#3790
32. http://www.cancertrialsaustralia.com/Clinical-Trials-Register.aspx. Cancer Trials Australia
33. http://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01400451?term=Vemurafinib&rank=5.U.S. NIH
34. Halaban R, Zhang W, Bacchiocchi A, Cheng E, Parisi F, Ariyan S, Krauthammer M, McCusker JP, Kluger Y, Sznol M (2010) PLX4032, a selective BRAF (V600E) kinase inhibitor, activates the ERK pathway and enhances cell migration and proliferation of BRAF melanoma cells. Pigment Cell Melanoma Res 23:190–200
35. Infante JR et al (2011) Phase I/II study to assess safety, pharmacokinetics, and efficacy of the oral MEK 1/2 inhibitor GSK1120212 (GSK212) dosed in combination with the oral BRAF inhibitor GSK2118436 (GSK436). J Clin Oncol 29: (suppl; abstr CRA8503)
36. Niehr et al (2011) Combination therapy with Vemurafinib (PLX4032/RG7204) and Metformin in melanoma cell lines with distinct driver mutations. J Trans Med, 9:76
37. Ascierto PA, Streicher HZ, Sznol M (2010) Melanoma: a model for testing new agents in combination therapies. J Trans Med 8:38

Sonsöz

Rodolfo Saracci

İçindekiler

Referanslar..... 459

Mayıs 2012'de Napoli'de yapılan 3. Nütrisyon ve Kanserdeki İlerlemeler Konferasında sunulan ve bu kitapta yer alan çok çeşitli konuları ve araştırma perspektiflerini özetlemeye çalışma çabası en iyi ihtimalle tekrar, en kötü ihtimalle de kafa karıştırıcı olacaktır. Bu nedenle, burada yapacağımız özet Ekim 1998'de Napoli'de yapılan 2. Nütrisyon ve Kanserdeki İlerlemeler Konferansında ortaya çıkan veya ortaya çıkmakta olan birkaç önemli konuyu kapsayacaktır.

Kesin olan birşey varsa o da dünyanın ve özellikle de insan sağlığına ilişkin nütrisyon dünyasının 1998 yılından itibaren ciddi anlamda değişime uğramış olmasıdır. İnsanoğlunun sayı, ağırlık ve boyları artmaktadır. Dünya nüfusu altı milyardan yedi milyara doğru büyüdükçe, fazla kilo ve obezite sadece ekonomik anlamda gelişmiş ülkelerde değil, dünyanın daha az zengin bölgelerinde de hızla yayılmaktadır. Ortalama insan boyunun azaldığı bir ülke yoktur. Aksine ortalama boylar ya artmakta ya da sabit seyretmektedir. Bu majör ve hala devam etmekte olan trendlerin ana belirleyicisi gıda tüketimidir. Dünya çapında nütrisyona yönelik etkili önlemler alınmadığı sürece bu trendler gelecekte de sürerek mutlak kanser rakamlarının artışına yol açacaktır.

R. Saracci
Institute of Clinical Physiology, National Research Council, via Trieste 41, 56100, Pisa, Italy

R. Saracci (✉)
Istituto di Fisiologia Clinica, CNR, via Trieste 41, 56100, Pisa, Italy
e-mail: saracci@hotmail.com

V. Zappia et al. (eds.), *Advances in Nutrition and Cancer,*
Cancer Treatment and Research 159, DOI: 10.1007/978-3-642-38007-5_26,
© Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2014

Ayrıca fazla kilo (hayat boyu süren kalorik dengesizliğin göstergesi) ile veya boy (erken yaşamdaki nütrisyonun göstergesi) ile ilgili olduğu gösterilen kanser türlerinde de muhtemel artışlar olacaktır. Nütrisyonun intrauterin hayat, çocukluk ve adolesan dönemdeki rolü ile erişkin yaşamdaki uzun dönemli sağlık ve kanseri de içeren hastalıklar üzerindeki etkilerini verimli bir şekilde "hayat seyri" boyunca araştıran çalışma alanı gelişmiştir [1].

Ayrıca biyolojide de devrim niteliğinde gelişmeler olmuştur. İnsan genomunun tümünün yapısı 2003 yılında belirlenmiştir. Bu başarı, şaşırtıcı bir hızla gelişen genomik ve sonrasında da epigenomik bilimleri nedeniyle adeta çok uzun süre önce yapılmış bir keşif hissi vermektedir. Hem genomik hem epigenomik bilimleri, son iki dekaddaki kayda değer teknolojik gelişmelerle hızla büyüyerek günümüzdeki biyolojik araştırmalara sistematik ve global yaklaşımı mümkün kılmıştır. Bu araştırma konularına örnek olarak, intestinal floranın seçilmiş mikroorganizmaları yerine intestinal mikrobik topluluğun kollektif genomları adı verilen insan intestinal mikrobiyom "evreninin" diyet bileşenlerini etkileyerek karsinogenezde çeşitli rolleri olan bileşikler oluşturma yetenekleri verilebilir [2]. Benzer şekilde çeşitli bitki ekstrelerinin tüm metabolitlerinde (metabolom) mevcut olan ve (onkolojiyi de içeren) insan farmakolojisi ile potansiyel olarak ilişkili bileşikler günümüzde mevcut olan nükleer manyetik rezonans teknikleriyle ölçülebilmektedir. DNA'nın lezyonlara karşı korunma düzeyini optimize edebilecek veya karsinogenezde potansiyel epigenetik yolaklar olan DNA metilasyon paternlerini etkileyebilecek bireysel düzeydeki mikrobesinlerin optimal kombinasyonunu (bireysel "nütriom") belirlemekte genom boyunca yapılan metilasyon testleri kullanılmaktadır [4]. Bu yaklaşımların gelecek 10 yıl içinde nütrisyonel faktörlerin kanserin oluşumunda rol oynayan ana mekanizmaları ile ilgili anlayışımızı nasıl değiştireceğini görmek en fazla ilgi çeken alan olacaktır. Bu yaklaşımlar ile ortaya çıkan çok büyük miktardaki veriyi analiz etmek için yaratıcı yöntemlere ihtiyaç olduğu kesindir.

Genomik ve epigenomik (bu yeni sistemik yaklaşımlara ek olarak), kanser hücrelerine özgü ölümü indükleyen epigenetik dönüştürücülerden [5], normal ve kanseröz insan hücrelerinin hayat sürelerini belirleyen telomeraz üzerindeki epigenetik etkileri oluşturan nütrientler ile ilgili araştırmalara kadar olan hedefe yönelik çalışmaların boyutlarını ve derinliklerini büyük oranda artırmıştır [6].

Bu kadar hızla ilerleyen alanların mevcudiyetine karşın, diğer bazı araştırma konuları görece olarak yavaş ilerlemektedir. Bazı konular ile ilgili 15 yıl önce hatırladıklarımı hala bugün de hatırlıyor olmam, ilerlemenin umulandan çok daha yavaş olduğunun göstergesidir. Bu konuların en başta geleni, iyileşme, konsantrasyon ve yer değiştirme kategorileri ile ilgili nutrient ve gıdalara spesifik maruziyet biyomarkerlerine olan ihtiyaçtır. Örneğin altın standart olarak kabul edilen iyileşme biyomarkerleri kategorisinde, enerji alımını ve idrardaki nitrojen, potasyum ve sodyumu ölçmek için hala ciddi anlamda kısıtlı olan çift etiketli su yöntemini kullanıyoruz. İnsanların bugün , dün ve geçmişte neyi ne şekilde yedikleri konusu, araştırma ajandasında sürekli yer alan bir problem olmaya devam etmektedir. Yukarıda bahsettiğimiz sistemik yaklaşımlarla korelasyon halindeki

kapsamlı gıda ve besin öğesi tüketim paternleri, bu tür profillerin spesifik gıda tüketimleri için güvenilir biyomarkerler olup olmadığını inceleyen yeni araştırma alanlarıdır. Gıda ve besin öğesi alımının sağlık üzerindeki erken ve geç etkilerinin biyomarkerleri arasındaki nedensel bağlantıları değerlendiren kontrollü randomize çalışmalar yapılmaya devam etmektedir. Ancak bunlar çeşitli pratik uygulamalar yönünden sıklıkla zahmetli ve problemli çalışmalar olup sayıları giderek azalmaktadır.

Bu çok hızlı ve yavaş ilerleyen araştırma konuları arasında, insanların yemek yeme alışkanlıklarının nütrisyonel analizi mevcuttur. Bu konuda 1998 yılından beri bazı yeni bulgular bildirilmiş, eskiden bildirilen bazı sonuçlar da konfirme edilmiştir. Bir diyette bulunan multipl besin öğelerinin birlikte etki göstererek absorpsiyon, metabolizma ve biyolojik etkileri modifiye ettikleri uzun süredir bilinmektedir. Bu nedenle sadece besin öğelerinin değil, belirli gıdaların, gıda sınıflarının ve gıda paternlerinin araştırılması gerekmektedir. Antioksidan içerikleri yönünden zengin olan sebze ve meyvelerin kolorektal kanseri de içeren çeşitli kanser türlerini engelleyici etkileri olduğu kabul edilmektedir. 2010 yılının sonuna kadar yayınlanan tüm prospektif çalışmaları içeren güncel bir metaanaliz bu koruyucu etkiyi sadece kısmen konfirme etmektedir [7]. Fark sadece yüksek miktarda meyve ve sebze tüketen bireylerle çok az tüketen bireyler arasında gösterilebilmiştir. Ancak uygun miktarda sebze ve meyve tüketen bireylerin tüketimlerinin günlük 100 gramın üstüne yükseltilmesi ilave bir koruma sağlamamaktadır. 1990'lardan itibaren "Akdeniz diyetlerinin" sadece kardiyovasküler hastalıklara karşı değil, aynı zamanda metabolik hastalıklara ve kanserlere karşı da koruyucu olduğunu gösteren kanıtlar farklı platformlarda konfirme edilmiştir [8]. Alınan kalori ile harcanan kalori arasındaki temel ve ince ayar gerektiren dengeyi sağlayabilen bu diyetler (formda kalmaya yardımcı olan düzenli fiziksel aktivite yardımıyla) İtalya'daki makarna tüketimi gibi bazı lokal farklılıklar içermelerine rağmen ortak komponentler içerirler. Ortak komponentler şunlardır: Yüksek tahıl, baklagiller, sebze ve balık tüketimi; düşük kırmızı et, işlenmiş et ve alkol tüketimi; diyet kombinasyonunda önemli bir faktör olan zeytinyağı ile yüksek monoansatüre yağ oranı.

Bu kalitatif ve kantitatif özellikler şu genel tavsiye ile hoş bir uyum sergilemektedir: "Her şeyi aşırıya kaçmadan kararında tüketiniz. Aşırıya kaçmamada da aşırıya kaçmayınız". Bu sadece iyi bir sağlık için değil, Aristo'nun da çok önceden bildiği gibi "iyi bir yaşam" için de gereken dengeli ve dinamik bir reçetedir.

Referanslar

1. Lillycrop KA, Burdge GC (2013) Breast cancer and the importance of early life nutrition. In: Zappia V, Russo GL, Panico S, Budillon A, Della Ragione F (eds) Advances in nutrition and cancer 3. Springer-Verlag GmbH, Heidelberg
2. Hullar MAJ, Burnett-Hartman AN, Lampe JW (2013) Gut microbes, diet and cancer. In: Zappia V, Russo GL, Panico S, Budillon A, Della Ragione F (eds) Advances in nutrition and cancer 3. Springer-Verlag GmbH, Heidelberg

3. Fenech MF (2013) Nutriomes and personalised nutrition for DNA damage prevention, telomere integrity maintenance and cancer growth control. In: Zappia V, Russo GL, Panico S, Budillon A, Della Ragione F (eds) Advances in nutrition and cancer 3. Springer-Verlag GmbH, Heidelberg
4. van Veldhoven K, Rahman S, Vineis P (2013) Epigenetics and epidemiology: models of study and examples. In: Zappia V, Russo GL, Panico S, Budillon A, Della Ragione F (eds) Advances in nutrition and cancer 3. Springer-Verlag GmbH, Heidelberg, Germany
5. Conte M, Altucci L (2013) Functions, aberrations and advances for chromatin modulation in cancer. In: Zappia V, Russo GL, Panico S, Budillon A, Della Ragione F (eds) Advances in nutrition and cancer 3. Springer-Verlag GmbH, Heidelberg
6. Tollefsbol TO (2013) Dietary Epigenetics in cancer and aging. In: Zappia V, Russo GL, Panico S, Budillon A, Della Ragione F (eds) Advances in nutrition and cancer 3. Springer-Verlag GmbH, Heidelberg
7. Norat T, Aune D, Chan D, Romaguera D (2013) Fruits and vegetables. Updating the epidemiologic evidence for the WCRF-AICR lifestyle recommendations for cancer prevention. In: Zappia V, Russo GL, Panico S, Budillon A, Della Ragione F (eds) Advances in nutrition and cancer 3. Springer-Verlag GmbH, Heidelberg
8. Panico S, Mattiello A, Panico C, Chiodini P (2013) Mediterranean dietary pattern and chronic diseases. In: Zappia V, Russo GL, Panico S, Budillon A, Della Ragione F (eds) Advances in nutrition and cancer 3. Springer-Verlag GmbH, Heidelberg

Türkiye Kanserle Savaş Vakfı'nın hekimlere armağanıdır.

www.nobeltip.com

ISBN 978-975-96147-3-7

Kanser Tedavisi ve Araştırmaları

Cilt 159

Seri Editörü

Steven T. Rosen, Chicago, IL, USA

Türkiye Kanserle Savaş Vakfı'nın hekimlere armağanıdır.

Editörler

Vincenzo Zappia
Fulvio Della Ragione
Department of Biochemistry and Biophysics
Second University of Naples
Naples
Italy

Salvatore Panico
Clinical and Experimental Medicine
University of Naples "Federico II"
Naples
Italy

Gian Luigi Russo
Institute of Food Sciences
National Research Council
Avellino
Italy

Alfredo Budillon
Department of Experimental Oncology
National Cancer Institute
Naples
Italy

Diğer bölümler için:
http://www.springer.com/series/5808

Vincenzo Zappia · Salvatore Panico
Gian Luigi Russo · Alfredo Budillon
Fulvio Della Ragione
Editörler

Nütrisyon ve Kanser Tedavisindeki Gelişmeler

Çeviri Editörleri

Prof. Dr. Gül Başaran
Acıbadem Üniversitesi Tıp Fakültesi
Medikal Onkoloji

Prof. Dr. Mert Başaran
İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesi
Onkoloji Enstitüsü, Medikal Onkoloji

NOBEL TIP KİTABEVLERİ

© 2015
Türkiye Kanserle Savaş Vakfı adına sahibi:
Prof. Dr. Metin Ertem

Nütrisyon ve Kanser Tedavisindeki Gelişmeler
Çeviri Editörleri: Prof. Dr. Gül Başaran, Prof. Dr. Mert Başaran
ISBN: 978-975-96147-3-7

Advances in Nutrition and Cancer
Vincenzo Zappia • Salvatore Panico
Gian Luigi Russo • Alfredo Budillon
Fulvio Della Ragione

ISBN: 978-3-642-38006-8
© Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2014

Bu kitabın Türkçeye çeviri hakkı ©Springer-Verlag Berlin Heidelberg tarafından Nobel Tıp Kitabevleri Tic. Ltd. Şti.'ne verilmiştir. 5846 ve 2936 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri yasası hükümleri gereğince herhangi bir bölümü, resmi veya yazısı, yazarların ve yayınlayıcısının yazılı izni alınmadan tekrarlanamaz, basılamaz, kopyası çıkarılamaz, fotokopisi alınamaz veya kopya anlamı taşıyabilecek hiçbir işlem yapılamaz.

Yayımcı	:	Nobel Tıp Kitabevleri Tic. Ltd. Şti. Millet Cad. No:111 34104 Fatih-İstanbul
Yayımcı Sertifika No	:	15710
Baskı / Cilt	:	No-bel Matbaacılık San. Tic. Ltd. Şti. Kurtini Mevki, General Şükrü Kanatlı Cad. Ömerli - Hadımköy - İstanbul
Matbaa Sertifika No	:	12565
Sayfa Tasarımı - Düzenleme	:	Nobel Tıp Kitabevleri, Hakkı Çakır
Kapak Tasarım	:	Hakkı Çakır
Baskı Tarihi	:	Aralık 2014 - İstanbul

Önsöz

Bu kitap Mayıs 2012'de Napoli İtalya'da yapılan Üçüncü Uluslararası Nütrisyon ve Kanserde İlerlemeler Konferansında sunulan 26 makaleyi içermektedir.

Konferansın başlıca amacı bu alandaki en güncel ve yaratıcı projelerin sunulması ve hem kemoprevensiyon hem de moleküler epidemiyoloji ve diyet girişimi programları ile ilgili özgün stratejilerin sunulmasını sağlamaktı. Konferansta farklı alanlardaki uzmanlardan oluşan bir grup bilim adamı, insanda nütrisyon ve maligniteler arasındaki etkileşimlerle ilgili önemli ve güncel konuları tartışmıştır.

Bu konferansta tartışılan konular ile daha önce yapılan iki toplantının (1992, 1998) konuları karşılaştırıldığında, en önemli bilimsel ilerlemelerin moleküler biyoloji, moleküler epidemiyoloji ve nütrisyon araştırmalarındaki çeşitli epigenetik yaklaşımların yoğun biçimde kullanılmasından kaynaklandığı kesindir.

Günümüzde dünya çapında 24 milyon insanı etkileyen kanser, yılda altı milyonun üzerinde ölüme neden olmaktadır. Erken teşhis ile belirli faydalar sağlanmasına rağmen, birçok tümör vakasının hala ileri evrelerde tedavi edilmeleri ile elden edilen başarı düzeyi kısıtlıdır. Bundan dolayı bu ciddi pandemi ile savaşmanın başlıca yolu hastalığın önlenmesidir. Doll ve Peto'nun (1981) hala geçerli olan, tüm kanserlerin en az %30'unun diyet uygulamaları ile önlenebileceği yönündeki önemli çıkarımları farklı çalışmalardaki birçok sonuç ile konfirme edilmiştir: Diyet, nütrisyon ve kanser riski arasındaki ilişki şüpheye yer vermeyecek şekilde kesindir.

Kitabın ilk bölümü hayata tarzı, diyet ve kanser ile ilgili genel özelliklere odaklanmaktadır. Obezite, enerji dengesi, fiziksel aktivite ve kanser riski ile progresyonunun altında yatan moleküler mekanizmalar ile tuz kullanımı ile alkollü ve gazlı içeceklerin sindirim kanalı kanserleriyle ilgisi detaylı olarak incelenmektedir.

Özellikleri gayet iyi tanımlanmış olan çok çeşitli bitkisel kaynaklı kimyasallar ve doğal antioksidanlar potansiyel kemopreventif/kemoterapötik ajanlar olarak önerilmiştir. Resveratrol, kuersetin, sulforafanın etkileri ve etki mekanizmaları ile selenyum ve selenoproteinler hakkındaki çelişkili sonuçlar ikinci bölümde yer almaktadır.

Diyetin farklı dokulardaki hücrelerin metilasyonlarını etkileyebildiği iyi bilinmekte ve diyet tarafından etkilenen epigenetik faktörler kanserin önlenmesinde ve terapötik hedefler olarak ciddi anlamda ilgi çekmektedir. Üçüncü bölüm bu hayati ve en çok ümit

vadeden konulara atfedilmiştir. Yeni ve önemli bir başka alan da maternal diyetin intrauterin yaşam üzerindeki advers etkileri ile ilgilidir. Diyet DNA metilasyonunu etkileyerek bireyi erişkinlik dönemindeki hastalıklara predispozan hale getirmektedir.

Dördüncü bölümde fonksiyonel bir gıda olan zeytin yağının kanserin önlenmesindeki yararlı etkileri incelenmektedir. Akdeniz diyetindeki majör yağ kaynağı olan natürel sızma zeytin yağının kemopreventif etkilerinin, kardiyovasküler hastalığın ve meme kanseri gibi bazı tümörlerin düşük insidansı ile ilişkili olduğunu gösteren kanıtlar incelenmektedir. Antioksidanların insan hepatom hücreleri üzerindeki etkileri ve diğer gıda içerikleri ile kimyasal etkileşimlerinin nütrisyonel ve duyusal kalite üzerindeki etkileri özel olarak vurgulanmaktadır.

Son iki bölümde hayat tarzı değişimlerinin (diyeti de kapsayan) kanserin reküransını efektif olarak engelleyebildiğini gösteren epidemiyolojik kanıtları da içeren önemli sonuçlara odaklanılmıştır.

Antianjiogeneze de yer ayrılmıştır: Çeşitli preklinik, kimyasal ve epidemiyolojik veriler anjiogenez İnhibisyonunun kanserin önlenmesinde kullanılabileceğini göstermektedir. Diyet kaynaklı çeşitli kemopreventif komponentler de anjiogenezi genel olarak hedefleyebilmektedir. İnsan intestinal mikrobiyomu ile gastrointestinal maligniteler arasındaki ilişki de tartışılmıştır; intestinal mikrobiyom, immun sistem ve diyete maruziyet arasındaki dinamik etkileşimler gelecekteki kanser önleme stratejilerine katkı yapabilir.

Bu kitapta vurgulandığı üzere, kanser gelişimi ile ilgili temel bilgilerimize ciddi katkılar yapan disiplinler arası yaklaşım, gelecekte dönüm noktası olacak klinik gelişmelerin temelini atacaktır. Kitabımız bu çok önemli ve sağlam temelli araştırma alanındaki yüksek teknolojik uygulamalar hakkında, okuyuculara genel bir bakış açısı sağlamayı amaçlamaktadır. Bu toplantının multidisipliner yapısının katılımcıları olduğu kadar okuyucuyu da bilgilendirip stimüle etmesinden mutluluk duyacağız. Kitabın bu ilgi çekici ve kompleks alanın tüm yönlerini kapsayan daha ileri araştırmalara ilham kaynağı olması en büyük dileğimizdir.

Vincenzo Zappia

Sunuş

Türkiye Kanserle Savaş Vakfı olarak son iki yıldır eğitime ağırlık vermeyi kararlaştırdı. Vakıf olarak onkoloji alanında genç uzman hekim arkadaşlarımızın, geliştirdikleri projeler kapsamında verdiğimiz karşılıksız burs ile yurt dışında eğitimlerine katkı sağlamaktayız. Amacımız ülkemizde onkoloji alanında dünya standartlarında hizmet sağlayacak bilgi birikimini oluşturmaktır.

Yine onkoloji alanındaki çalışmaları teşvik etmek amacıyla gelenek haline gelen ve yıllardır sürdürdüğümüz, onkolojinin üç dalında, radyasyon onkolojisi, medikal onkoloji ve cerrahi onkoloji dallarında bilimsel çalışmalara vermekte olduğumuz ödüllere bir yenisini ilave ederek '2014 Bilim Ödülü' başlığında ülkemizde onkoloji alanına katkılarından dolayı bir bilim adamımıza ödül verdik. Bu saygın ödülü her yıl tekrarlayarak sürdürmeyi uygun gördük.

Türkiye Kanserla Savaş Vakfı olarak yılda dört sayı olarak 'Kanser Gündemi' isimli periyodik dergimizi çıkartmaya devam ediyoruz. Hekimlerimize yönelik her bir sayısında bir kanser konusunun işlendiği güncel bilgilerin aktarıldığı bu dergi arşivimize ve halkımızı bilinçlendirmeye yönelik sanat ve tıbbi bilgilerin yer aldığı 'Menekşe ve Yaşam' dergilerine www.kanservakfi.com'dan ulaşabilirsiniz.

Kanser konusunda öne çıkan güncel, yabancı dilde yazılmış bilimsel kitapları türkçeye kazandırmayı ve hekimlerimize ulaştırmayı kararlaştırdık. Bu amaçla ilkini 2013 yılında 'Kanser Evreleme Atlası' olarak gerçekleştirdik ve bin adet basılan bu kitabı ücretsiz olarak Ulusal Kanser Kongresi'nde hekimlerimize ulaştırdık.

Bu yıl, oldukça güncel olan kanser ve beslenme konusunda bir kitabın çevirisini tercih ettik. Kanser ve beslenme konusu bildiğiniz gibi her zaman suistimal edilmiştir. Bu konuda maalesef bilimsel temelleri olmayan değişik görüşler ileri sürülmüş ve sürülmektedir. Bu konuda hekimlerimize referans oluşturacak 'Nütrisyon ve Kanser tedavisindeki gelişmer' Başlıklı kitabı iki değerli hocamızı katkılar ile Türkçe'ye kazandırdık.

Kanser ve beslenme kitabımızın çeviri editörlüğünü gerçekleştiren sayın Prof. Dr. Gül Başaran ve sayın Prof. Dr. Mert Başaran'a ve kitabın baskı aşamalarını gerçekleştiren Nobel Tıp kitap evine teşekkür ederiz.

Bu kitabı bilgilerimize katkı oluşturacağını düşünerek hekimlerimize hediye ediyoruz.

Türkiye Kanserle Savaş Vakfı
Yönetim Kurulu Başkanı
Prof. Dr. Metin Ertem

Çeviri Editörlerinin Önsözü

Bu kitabın tercümesini yapmamızdaki en önemli neden, son yıllarda basılı ve sözlü medyada kanser tedavisi ve önleminde çok sayıda görüş ve tedavi yöntemlerinden bahsedilmesidir. Ne yazık ki, çoğu akademisyen, diyetisyen ve konu üzerine eğitim ve bilgisi olmayan kişi, ilgi çekmesi sebebi ile konu hakkında fikir verir ve toplumu yönlendirir olmuştur.

Kitabın bu konuda bir eksikliği gidereceği fikrini sayın Prof. Dr. Metin Erten vermiş ve kitabın seçiminde öncü olmuştur.

Kanserin etyolojisinde genetik, edinsel faktörler yanında çevresel faktörler de rol oynamaktadır. Kanserojen gazlar, kimyasal bileşimler, radyasyon gibi faktörlerin yanı sıra kanser gelişiminde insanın aklını karıştıran en önemli faktörlerden biri yediği içtiği olmuştur. Bazı gıdaların aşırı tüketilmesi, mineral eksikliği, ya da fazlalığı ile kanser arasında ilişkilendirme hep kurulmuştur. Ancak direk olarak bir gıdanın kesinlikle kanser yaptığını söylemek mümkün olmamaktadır. Bugün tüm kanser olgularının üçte birinin etyolojisinde beslenme alışkanlıklarının olduğu öngörülmektedir.

Doğum öncesi anne karnında başlayan ve hayatımızın sonuna kadar geçen süre sadece beslenme içeriği ile değil, bunun yanında obeziteye kadar giden aşırı beslemenin de kanser gelişiminde risk yarattığı bilinmektedir.

Daha sağlıklı bir hayat için fazla kilodan kaçınmak, düzenli egzersiz yapmak, doğal üretilen ve kontrolü yapılan gıdalarla beslenmek, tüm besinlerden yeterli ve dengeli şekilde almaya özen göstermek kanserle savaşmada en önemli yöntemlerdir.

Asbest, radon gazı, sigara gibi bilinen kanserojenler yanında bazı gıda ve çevresel faktörlerin kanser gelişiminde daha düşük de olsa risk yarattığı bilinmektedir. Farklı gıdalardan alınan vitamin, mineral veya moleküllerin de kanserden koruyabileceği düşünülmektedir. Bazen bir gıdayla ilgili, olduğundan daha fazla yarar sağlayacağına dair yanlış kanılar da oluşmaktadır.

Bu kitapta gıdaların içeriği ve toplumların beslenme alışkanlıklarına göre kanser gelişimi ve önlenmesi, bilimsel veriler ışığında irdelenmiştir.

Kitabın bütününde kişilerin kendi inandıklarını ifade etmekten öte; bilimsel veriler ışığında yapılan yayınların derlemesi ile yorumlar yapılmış, meta-analizler oluşturulmuştur.

Bir yayından veya bir gözlemden oluşan bilgiyi tüm topluma uyarlamaya çalışmak ve bunu medya önünde farklı bir alternatifi yokmuş gibi göstermek, toplumu yanlış bilinçlendirebilmektedir. Bu kitapta bu tarzda yorumlardan kaçınılmış olması güncel beslenme ve kanser arasındaki ilişkiyi bilimsel ortamda değerlendirmesi referans danışma kitabı olmasını sağlamaktadır.

Kanserde yeni yolakların ortaya konulması, gıdaların ve minerallerin bu yolaklar üzerindeki etkilerinin hızlanıp yavaşlaması üzerine etkilerinin bilinmesi ile belki ilerleyen yıllar içerisinde daha doğru beslenmenin detayları da ortaya çıkacaktır.

Tercümesinde bulunduğumuz bu kitabın beslenme ve kanser gelişimi hakkında doğru bilgiye daha hızlı ulaşmada herkes için faydalı ve yararlı olacağına inanıyoruz.

Prof. Dr. Gül Başaran
Acıbadem Üniversitesi Tıp Fakültesi
Medikal Onkoloji

Prof. Dr. Mert Başaran
İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesi
Onkoloji Enstitüsü, Medikal Onkoloji

Teşekkürler

Mayıs 2012'de düzenlenen Üçüncü Uluslararası Nütrisyon ve Kanserde İlerlemeler Konferansının sponsorları: Ulusal Kanser Araştırma Enstitüsü "Fondazione G. Pascale", Napoli; Kar amacı gütmeyen Arfacid Onlus, Napoli; Mercogliano Onkoloji Araştırma Merkezi; Napoli İkinci Üniversitesi Biyokimya ve Genel Patoloji Departmanları; Napoli Üniversitesi Klinik Tıp ve Moleküler Onkoloji Departmanları, Ulusal Araştırma Konseyi "Federico II" Gıda Bilim Enstitüsü, Avellino; İtalya Napoli'deki İtalyan Filozofik Çalışmalar Enstitüsü.

Toplantıya saygın destekleri ile katkıda bulunan kurumlar: Accademia Nazionale dei Lincei, Consiglio Nazionale delle Ricerche, Regione Campania, Comune di Napoli, Provincia di Napoli, Seconda Università degli Studi di Napoli, Università degli Studi di Napoli "Federico II," Lega Italiana per la Lotta contro i Tumori— Sezione di Napoli, Associazione Italiana di Oncologia Medica, Società Italiana di Biochimica, Società Italiana di Cancerologia, ve Ordine dei Medici di Napoli.

Konferansa destek olanlar diğer kurumlar: Banca di Credito Popolare, Roche, Acen, Biorad, DBA Italia, Delchimica, Diasorin, Euroclone, Farmacia Morrica, Istituto Varelli, Life Technologies, Microtech, Strategies Consulting, Vinci Biochem ve Carl Zeiss.

Editörler, yazarlar ve Springer Verlag arasındaki editoryal koordinasyon Janet Gates ve Paola Colonna ve Pina Carfora yönetimindeki organizasyon sekreterliği tarafından yürütülmüştür.

Editörler olarak Dr. Giuseppe Lacomino'ya konferansın organizasyonundaki değerli katkıları için teşekkür ediyoruz. Ayrıca yazarlara makaleleri için, Springer Verlag'a bu kitabın basımını mümkün kıldığı için teşekkürü borç biliriz.

İçindekiler

1. Bölüm Hayat Tarzı, Diyet ve Kanser

Kanserin Oluşumunda ve Önlenmesinde Metabolik Karsinogenezin Rolü: Prospektif Avrupa Çalışmasından Kanser ve Nütrisyonla İlgili Kanıtlar 3
Elio Riboli

Obezite, Enerji Dengesi ve Kanser: Mekanik Perspektif 21
Stephen D. Hursting

Meyve ve Sebzeler: WCFR/AICR Kanserin Önlenmesi İçin Hayat Tarzı Önerilerindeki Epidemiyolojik Kanıtların Güncellenmesi 35
Teresa Norat, Dagfinn Aune, Doris Chan ve Dora Romaguera

İnsanda Prostat Kanseri Nedeni Olarak Diyet 51
William G. Nelson, Angelo M. DeMarzo ve Srinivasan Yegnasubramanian

Akdeniz Diyet Paterni ve Kronik Hastalıklar 69
Salvatore Panico, Amalia Mattiello, Camilla Panico ve Paolo Chiodini

Diyetle Tuz Tüketimi ve Mide Kanseri Riski. 83
Lanfranco D'Elia, Ferruccio Galletti ve Pasquale Strazzullo

Alkollü İçkiler ve Gazlı İçecekler: Tüketim ve Gastrointestinal Kanser Riski 97
Rosario Cuomo, Paolo Andreozzi ve Francesco Paolo Zito

2. Bölüm Doğal Diyet Molekülleri

Doğal Antienflamatuar ve Antikanser İlaçlar 123
Barbora Orlikova, Noémie Legrand, Jana Panning, Mario Dicato ve Marc Diederich

Selenyum ve Kanser: Unutulmaması Gereken Bir Hikaye-Genom Biliminden Örnekler 145
Catherine Méplan ve John Hesketh

Resveratrol: Temel Çalışmalardan Yatak Başına 167
Adriana Borriello, Debora Bencivenga, Ilaria Caldarelli, Annunziata Tramontano, Alessia Borgia, Vincenzo Zappia ve Fulvio Della Ragione

Kuersetin: Kansere Karşı Pleiotropik Kinaz İnhibitörü 185
Gian Luigi Russo, Maria Russo, Carmela Spagnuolo, Idolo Tedesco, Stefania Bilotto, Roberta Iannitti ve Rosanna Palumbo

Sulforafan: Kanserle Savaşta Ümit Vadeden Bir Molekül 207
Monia Lenzi, Carmela Fimognari ve Patrizia Hrelia

3. Bölüm Genetik ve Epigenetik

Kanserde Kromatin Modülasyonunun Fonksiyonları, Anormallikleri ve Gelişmeler 227
Mariarosaria Conte ve Lucia Altucci

Epigenetik ve Epidemiyoloji: Çalışma Modelleri ve Örnekler 241
Karin van Veldhoven, Shati Rahman ve Paolo Vineis

Kanser ve Yaşlanmada Diyet Epigenetiği 257
Trygve O. Tollefsbol

Meme Kanseri ve Erken Yaşlardaki Beslenmenin Önemi 269
Karen A. Lillycrop ve Graham C. Burdge

4. Bölüm Zeytinyağı ve Kanserin Önlenmesi

Meme Kanserinde Zeytinyağı ve Diğer Diyet Lipidleri 289
Eduard Escrich, Montserrat Solanas ve Raquel Moral

Doğal Antioksidanların Enflamasyon ve Karaciğer Kanseri Üzerindeki Etkilerinin Araştırılmasına Holistik Bir Yaklaşım 311
Susan Costantini, Giovanni Colonna ve Giuseppe Castello

Natürel Sızma Zeytinyağı: Kompozisyondan Moleküler Gastronomiye . . . 325
Raffaele Sacchi, Antonello Paduano, Maria Savarese, Paola Vitaglione ve Vincenzo Fogliano

5. Bölüm Kanserin Hayat Tarzı Değişimleri ile Önlenmesi

Kanser Reküransının Hayat Tarzı Değişimleri ile Önlenmesi: Yin ve Yang 341
Franco Berrino

6. Bölüm Çığır Açan Yenilikler

Eski Bir Antidiyabetik İlaca Yeni Yaklaşım: Antikanser Ajan Olarak Metformin 355
Alessandra Leone, Elena Di Gennaro, Francesca Bruzzese, Antonio Avallone ve Alfredo Budillon

İntestinal Mikroplar, Diyet ve Kanser 377
Meredith A. J. Hullar, Andrea N. Burnett-Hartman ve Johanna W. Lampe

Kanserin Tedavisinde ve Önlenmesinde Enflamatuar Anjiogenez ve Tümör Mikroçevresinin Hedeflenmesi 401
Antonino Bruno, Arianna Pagani, Elena Magnani, Teresa Rossi, Douglas M. Noonan, Anna Rita Cantelmo ve Adriana Albini

DNA Hasarının Önlenmesinde, Telomer Bütünlüğünün Korunmasında ve Kanser Büyümesinin Kontrolünde Nutriomlar ve Bireyselleştirilmiş Beslenme 427
Michael F. Fenech

Melanomun Önlenmesi ve Tedavisinde Özgün Yaklaşımlar 443
Antonio M. Grimaldi, Pamela B. Cassidy, Sancy Leachmann ve Paolo A. Ascierto

Sonsöz 457
Rodolfo Saracci

Yazarlar

Adriana Albini, IRCCS Multimedica, Milan, Italy, e-mail: adriana.albini@multimedica.it

Lucia Altucci Department of Biochemistry, Biophysics and General Pathology, Second University of Naples, Naples, Italy, e-mail: lucia.altucci@unina2.il

Paolo A. Ascierto Unit of Medical Oncology and Innovative Therapies, National Cancer Institute "G. Pascale" Foundation, Naples, Italy, e-mail: paolo.ascierto@gmail.com

Franco Berrino Department of Preventive and Predictive Medicine, Istituto Nazionale Tumori Milano, Milan, Italy, e-mail: franco.berrino@istitutotumori.mi.it

Alfredo Budillon Experimental Pharmacology Unit, Department of Research, National Cancer Institute "G. Pascale" Foundation, Naples, Italy, e-mail: abudillon@yahoo.com

Susan Costantini, Cancer Research Center Mercogliano, CROM, Mercogliano, Italy, e-mail: susan.costantini@cro-m.eu

Rosario Cuomo Department of Clinical and Experimental, University of Naples "Federico II", Naples, Italy, e-mail: rcuomo@unina.it

Fulvio Della Ragione Department of Biochemistry, Biophysics and General Pathology, Second University of Naples, Naples, Italy, e-mail: fulvio.dellaragione@unina2.it

Marc Diederich Laboratoire de Biologie Moléculaire et Cellulaire du Cancer, "Fondation de Recherche Cancer et Sang", Hôpital Kirchberg, Kirchberg, Luxembourg, e-mail: marc.diederich@lbmcc.lu

Eduard Escrich Department of Cell Biology, Physiology and Immunology Medicine School, Universitat Autònoma de Barcelona, Barcelona, Spain, e-mail: Eduard.Escrich@uab.es

Michael F. Fenech, CSIRO Food and Nutritional Sciences, Adelaide, Australia, e-mail: Michael.Fenech@csiro.au

John E. Hesketh Institute for Cell and Molecular Biosciences, University of Newcastle Medical School, Newcastle Upon Tyne, UK, e-mail: j.e.hesketh@newcastle.ac.uk, j.e.hesketh@ncl.ac.uk

Patrizia Hrelia Department of Pharmacology, Alma Mater Studiorum-University of Bologna, Bologna, Italy, e-mail: patrizia.hrelia@unibo.it

Steven D. Hursting Department of Nutritional Sciences, Dell Pediatric Research Institute, University of Texas, Smithville, USA, e-mail: shursting@austin.utexas.edu

Johanna W. Lampe, Fred Hutchinson Cancer Research Center, Seattle, USA, e-mail: jlampe@fhcrc.org

Karen A. Lillycrop School of Biological Sciences, Institute of Developmental Sciences, University of Southampton, Southampton, UK, e-mail: K.A.Lillycrop@soton.ac.uk

William G. Nelson Environmental Health Sciences, The Sidney Kimmel Comprehensive Cancer Center, Johns Hopkins University, Baltimore, USA, e-mail: bnelson@jhmi.edu

Teresa Norat Department of Epidemiology and Biostatistics, School of Public Health, Imperial College, London, UK,

Salvatore Panico Department of Clinical and Experimental, University of Naples "Federico II", Naples, Italy, e-mail: spanico@unina.it

Elio Riboli School of Public Health, Imperial College, London, UK, e-mail: e.riboli@imperial.ac.uk

Gian Luigi Russo Institute of Food Sciences, National Research Council, Avellino, Italy, e-mail: gianluigi.russo@gmail.com

Raffaele Sacchi Department of Food Science, Faculty of Agriculture, Portici, Naples, Italy, e-mail: raffaele.sacchi@unina.it

Rodolfo Saracci, IFC-National Research Council, Pisa, Italy, e-mail: saracci@hotmail.com

Montserrat Solanas Department of Cell Biology, Physiology and Immunology Medicine School, Universitat Autònoma de Barcelona, Barcelona, Spain, e-mail: Montserrat.Solanas@uab.es

Pasquale Strazzullo Department of Clinical and Experimental, University of Naples "Federico II", Naples, Italy, e-mail: strazzul@unina.it

Trygve O. Tollefsbol Department of Biology, The University of Alabama, Birmingham, USA, e-mail: trygve@uab.edu

Paolo Vineis School of Public Health, MRC/HPA Centre for Environment and Health, Imperial College, London, UK, e-mail: p.vineis@imperial.ac.uk

Kanserin Oluşumunda ve Önlenmesinde Metabolik Karsinogenezin Rolü: Prospektif Avrupa Çalışmasından Kanser ve Nütrisyonla İlgili Kanıtlar

Elio Riboli

Özet

Nütrisyonun kanserin oluşmasında ve kanserden korunmada rol oynayabileceği teorisi 100 yıldan uzun süre önce diyetin tümör büyümesindeki etkilerini inceleyen laboratuvar çalışmalarından doğmuştur. Yirminci yüzyılın ortalarında ise kanser epidemiyolojisinin ana odak noktası tütün ve alkolün rolüydü. Doll ve Peto 1980'lerin ilk yıllarında kanser nedenleri ile ilgili orijinal makaleyi yayınlayana kadar kanser ve beslenme ile ilgili majör araştırma programları başlatılmamıştı. Avrupa Prospektif Kanser ve Nütrisyon Araştırması (EPIC) IARC-WHO tarafından diyet, nütrisyonel faktörler, antropometri ve fiziksel aktivitenin kanser riskiyle ilişkisini araştırmak amacıyla özel olarak dizayn edilen büyük ölçekli, prospektif, kohort çalışmasıdır. EPIC bu faktörlerin kanser riski üzerindeki etkilerinin anlaşılmasında 1990'ların ilk yıllarından itibaren büyük katkılar yapmıştır. Bu bölümde nütrisyonel kanser epidemiyolojisinin gelişimi ile kanser ve nütrisyon ilişkisini araştıran EPIC çalışmasının dizaynı özetlenmektedir. EPIC Çalışmasının nütrisyonel ve metabolik faktörlerin kanserdeki rolü ile ilgili ana bulguları vurgulanmaktadır.

Anahtar Kelimeler

Nütrisyon • Diyet • Metabolik faktörler • Steroid hormonlar • Kanser • Epidemiyoloji • Büyük ölçekli prospektif kohort çalışması • Avrupa Prospektif Kanser ve Nütrisyon Araştırması

E. Riboli (✉)
School of Public Health, Imperial College, London, UK
e-mail: e.riboli@imperial.ac.uk

V. Zappia et al. (eds.), *Advances in Nutrition and Cancer,*
Cancer Treatment and Research 159, DOI: 10.1007/978-3-642-38007-5_1,
© Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2014

İçindekiler

1 Tarihsel Arkaplan 4
2 EPIC Projesinin Dizaynı ve Hayata Geçirilmesi 8
3 Nütrisyon, Metabolik Faktörler ve Kanser ile İlgili Araştırma Bulguları 10
3.1 Gıdalar ve Besin Öğeleri 10
3.2 Obezite 11
3.3 Boy 12
3.4 İnsülin Rezistansı 13
3.5 Seks Steroid Hormonları 14
4 Sonuçlar 14
Referanslar 16

1 Tarihsel Arkaplan

Nütrisyonun kanserin oluşumunda ve kanserden korunmada rol oynayabileceği teorisinin gelişimine, 1900'lü yılların başlarında farklı diyetlerin, tümörlerin gelişim ve büyümeleri üzerindeki etkilerini araştıran laboratuvar çalışmaları yol açmıştır. Bu ilk araştırmalarda kemirgenlerdeki spontan ya da transplante tümörlerin iyi beslenenlerde büyüdüğü, kısıtlı kalori alanlarda ise bu büyümenin inhibe olduğu gözlenmiştir. Tümör büyümesini inhibe etmek için, kalori alımının dilediği kadar kalori alan gruba göre ciddi oranda kısıtlanması gerekiyordu. Daha sonraki çalışmalarda kalori kısıtlamasının eksizyon sonrası transplante edilen spontan tümörlerin reküransını da önlediği gösterilmiştir [30, 36, 42].

Albert Tannenbaum ve çalışma arkadaşları kemirgen modellerinde yüksek kalorili, yüksek yağlı ve yüksek proteinli diyetlerin kanserle ilişkisini otuz yıl boyunca araştırdıkları laboratuar çalışmalarına 1930'larda başlamışladır [44, 46, 47]. Özellikle meme bezleri, karaciğer ve akciğerde görülenleri de içeren bazı tümör tiplerinin yüksek kalorili veya yüksek yağlı diyetlerden (ya da her ikisinden) daha fazla etkilendiğini tespit etmişlerdir. Bu veriler yüksek yağlı diyetin tümör gelişimine katkısının (en azından bir kısmının) yağ artışı ile yükselen kalori miktarına bağlı olduğunu gösteren Baumann tarafından bildirilmiştir [29].

İnsanlarda diyet ve kanser epidemiyolojisi ile ilgili bilinen ilk çalışma 1933 yılında yayınlanmıştır. 462 kanser hastası ve 435 kontrol deneği ile gerçekleştirilen çalışmada sebze tüketimindeki artışın kanser riskini azalttığı, fazla bira içenlerde ise üst gastrointestinal sistem kanserlerinin arttığı bulunmuştur [41].

Tannenbaum obezitenin kanser ve diğer hastalıklara bağlı mortalite ile ilişkisini araştıran ve muhtemelen ilk kez yapılan retrospektif kohort çalışmasını yönetmiştir. Çalışmada Kuzey Amerika hayat sigortası şirketlerinden alınan veriler kullanılmıştır. İlk kez hayat sigortası satın aldığı esnada obez olan bireylerdeki kansere bağlı mortalitenin %30-50 oranında arttığı bulunmuştur [45].

Bu sonuçlar kanser araştırmalarında kullanılan yaygın yaklaşımlar üzerinde önemli bir değişime yol açmamıştır. O dönemde kanserin hava, içme suyu, besinler (kontami-

nantlar veya kimyasal katkılar) veya iş ortamında mevcut olan kimyasal veya fiziksel bileşiklerin etkisi ile oluştuğu hipotezine yaygın olarak inanılıyordu. Bu nedenle kanser ile ilgili çalışmaların çoğu yeni karsinojenlerin tanımlanması ile kimyasal ve fiziksel karsinogenezin mekanizmasının anlaşılmasına yönelik olarak dizayn ediliyordu.

O dönemde araştırma konusu olan majör faktörler, yaşam tarzı ile ilişkili iki potansiyel karsinojen olan tütün ve alkol kullanımı idi. 1950'lerde İngiltere'de Richard Doll ve Bradford Hill [5–8], ABD'de ise Ernst Wynder [51] tarafından yapılan çalışmalarda tütünün rolü net olarak belirlenmişti. Bu çalışmalarda yaşamları boyunca sigara içenlerde çok yüksek oranda karsinojenik etki tespit edilmişti. Örneğin sigaraya 18-20 yaşında başlayan ve günde 20-30 sigara içen bir bireydeki akciğer kanseri riskinin 30 ile 40 kat arttığı bulunmuştu. Sigarada bulunan kimyasal bileşiklerin tanımlanarak laboratuar karsinogenez modellerinde test edilmeleri ile epidemiyolojik çalışmalar için hızlı ve güçlü destek sağlanmıştır.

Bu çerçevede ortaya çıkan bilimsel kanıtlar alkol tüketimi ile kanser arasında doğrusal ilişkinin çok daha az olduğunu ortaya koymuştur. Bu durum alkol tüketimi ile kanser arasındaki ilişkinin gücü gibi birçok nedenden kaynaklanır. Gerçekte alkol tüketimi rölatif kanser riskini önemli oranda artırmaktadır. Ancak bu artış sigara ile akciğer kanseri ilişkisindeki kadar güçlü değildir. Artan alkol tüketimi (örn. günde 70-80gr alkol, bir şişe şarap veya dört büyük şişe bira eşdeğeridir) üst sindirim ve solunum yolu kanserlerini (ağız, farenks, larenks ve özofagus) tipik olarak 5 ila 6 kat artırmaktadır. Aynı zamanda sigara kullanımı da mevcutsa bu artış birkaç kat daha yükselir. Ancak diğer birçok kanser türündeki rölatif risk artışı (örn. kolorektal, karaciğer ve meme kanserleri) 1.5 kat gibi çok daha düşük seviyelerdedir.

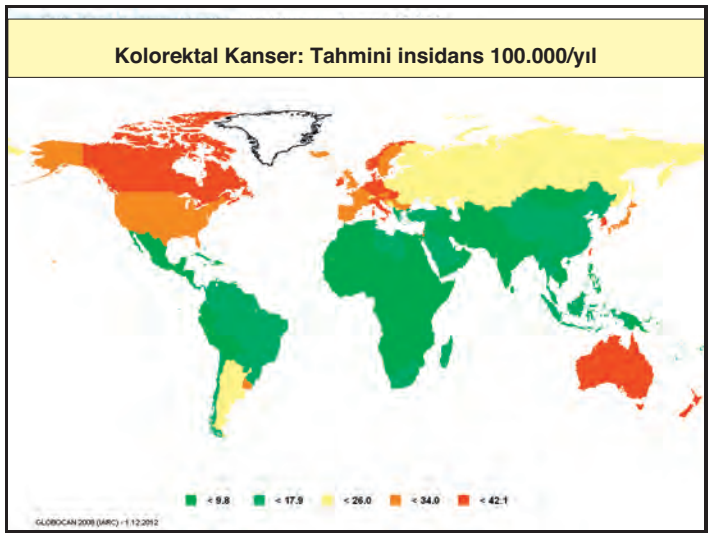
Deneysel hayvan modellerinden elde edilen ve alkolün kansere neden olduğunu gösteren kanıtların toplanabilmesi sigaradaki kimyasalların tespitinden çok daha uzun sürmüştür. Alkolün kanser riski üzerindeki etkisi ile ilgili olarak tanımlanabilen mekanizmalar arasında [19], özellikle üst gastrointestinal sistem ve karaciğerle ilişkili olarak asetaldehite bağlı DNA hasarı; meme kanseriyle ilişkili olarak östrojen sekresyon ve biyoyararlanımında artış; reaktif oksijen ve nitrojen türlerinin üretimi ve folat metabolizmasındaki değişimler sayılabilir.

Diyetin kanser gelişimindeki muhtemel rolünü araştırmak amacıyla modern epidemiyolojik yöntemlerle dizayn edilen ilk vaka kontrol çalışmaları ise 1960'lı ve 1970'li yıllara kadar yapılamamıştır. İlk çalışmalarda çoğunlukla gastrointestinal (mide, kolon, rektum) ve respiratuar (larenks, akciğer) sistemlerle ilgili kanserler araştırılmıştır [31]. Nütrisyona ilginin tekrar artmasını, farklı global popülasyonlardaki kanser insidanslarının yayınlanması tetiklemiştir [9, 10].

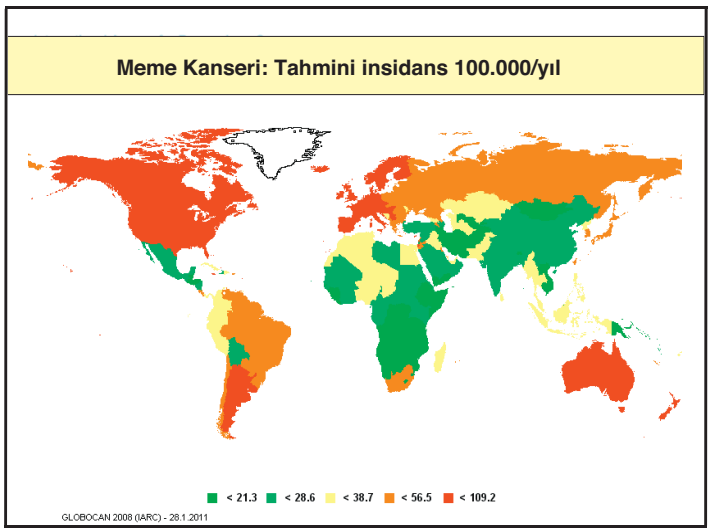
Popülasyon tabanlı kanser kayıt çalışmaları verileri birçok kanserin global insidanslarının ciddi anlamda farklı olduğunu ortaya koydu. Dünya'daki farklı popülasyonlardaki bazı kanserlerin insidansları arasında 15 ila 20 kata varan farklar mevcuttur (Şekil 1).

Tütün kullanım hikayesi ve prevalansındaki farklılıklar veya son zamanlarda gösterildiği üzere hepatit B ve C insidans ve prevalansı veya küf ile kontamine olmuş yiyecek veya alkollü içki kullanımı ile aflatoksinlere maruz kalınması akciğer ve karaciğer kanse-

(a)



(b)



Şekil 1 GLOBOCAN 2008 Dünya genelinde tahmini kanser insidansları 100.000/yıl (**a**) Kolorektal (**b**) Meme kanseri. [14] nolu referanstan uyarlanmıştır.

ri gibi bazı kanser türlerinde görülen varyasyonların ortaya çıkmasında rol oynayan en muhtemel nedenlerdir. Meme, kolon ve rektum, prostat ve mide kanserleri gibi birçok diğer kanser türündeki büyük varyasyonların nedenlerinin bilinmiyor oluşu etyolojilerinde diyetin rol oynayabileceği hipotezini doğurmuştur.

İlk yapılan epidemiyolojik çalışmalarda belirli bazı besinlerle kanser riski arasındaki ilişki araştırılmıştır. Zaman içinde özellikle meyve, sebze ve zengin lifli tahıllar gibi belirli bazı yiyeceklerin tüketilmesi ile kanser riskinin azalabileceğini gösteren bazı kanıtlar ortaya konulmuştur. Buna karşın çok tuz içeren (sebze turşuları, korum amaçlı tuzlanmış et), kırmızı et ve hayvan yağları (bitkisel yağların aksine) kanser riskini artırabilir.

Bu çalışma ile diyet ile kanser riski arasındaki ilişki daha iyi anlaşılmış da olsa, araştırma tüketilen gıdaların toplam tüketim miktarının, alınan besin ve enerji içeriğinin kesin bir ölçümüne değil gıdanın tipine odaklanmıştır. Ayrıca vücut ağırlığı ve fiziksel aktivitenin kanser riskindeki potansiyel önemini incelemeye yönelik bir girişim de yapılmamıştır. O dönemde yağ alımının toplam kalori alımını aşırı düzeyde artırabildiği için değil sadece kimyasal ve nütrisyonel özellikleri nedeniyle kanser riskini artırdığı düşünülüyordu. Obezite majör risk faktörü olarak görülmüyordu. Yapılan çalışmaların hiçbirinde kalori alımının etkileri ile tüketilen yağ miktarının etkisi birbirinden ayrılmamıştı.

1981 yılında Richard Doll ve Richard Peto tarafından kanser nedenleri hakkında yayınlanan dönüm noktası sayılan makalede ABD'deki kanser türlerinin tahmini olarak %35'inin beslenme kaynaklı olabileceği bilgisi mevcuttu. Ancak %10 ila %70 arasında çok geniş bir güven aralığı mevcuttu [11]. Bu makalenin ABD Ulusal Bilim Akademisi'nin (National Academy of Science 1982) diyet ve kanser hakkında yayınladığı başka bir makale ile kombinasyon halinde yayınlanması IARC-WHO'yu harekete geçirerek Dr. Rodolfo Saracci direktörlüğündeki Analitik Epidemiyoloji Ünitesi'nde nütrisyon ve kanser konulu yeni araştırma programının başlatılmasını sağlamıştır.

Diyet, nütrisyonel faktörler, antropometri ve fiziksel aktivitenin kanser riski ile ilişkisini araştırmak üzere özel dizayn edilmiş büyük ölçekli, prospektif, kohort çalışmaları kanser epidemiyolojisinde yeni bir dönemin başlamasına katkı sağlamıştır. Bu çalışmaların ilki Kuzey Amerika'da başlamıştır. Özellikle Harvard Üniversitesi'nden Walter Willett çok büyük kohort çalışmalarında kullanıma uygun anketlerin geliştirilmesinde, makrobesinlerin tüketim ve enerjilerinin hesaplanma ve ayarlanmalarında kullanılan yöntemlerin formülize edilmesinde çok önemli çalışmalar yapmıştır.

Avrupa'da İsveç Lund Üniversitesi IARC kolaborasyonu, Malmö'de prospektif kohort çalışması dizayn etmeye başlamıştır. Paralel olarak Danimarka Kanser Derneği de Kopenhag ve Aarhus'ta benzer bir projenin planlamasına başlamıştır.

Hollanda, İngiltere (Cambridge), İtalya (Milan) ve Fransa'daki (Paris) farklı araştırmacılar da nütrisyon ile ilgili prospektif çalışmaların dizaynlarını yapmaktadır.

Bu yeni ilgi alanında IARC bünyesinde geliştirilen nütrisyon ve kanser araştırma programı, çok merkezli Avrupa prospektif kohort çalışmasının planlamasının temelini oluşturmuş ve sonuç olarak Avrupa Prospektif Kanser ve Nütrisyon Araştırması (EPIC) ortaya çıkmıştır.

2 EPIC Projesinin Dizaynı ve Hayata Geçirilmesi

1989 yılında başlatılan EPIC projesi büyük ölçekli, çok merkezli ve çok dilli kohort çalışmalarında kullanılmak üzere dizayn edilen diyet ölçüm yöntemlerinin rölatif geçerlilik ve tekrarlanabilirliklerini test etmeyi amaçlayan bir dizi metodolojik çalışma ile birlikte başlatılmıştır.

Bu metodolojik çalışmalar bir yıllık periyodun başlangıcında ve bitiminde yeni geliştirilen diyet değerlendirme anketi kullanılarak iki ölçüm yapmayı hedefleyen basit bir dizayna sahiptir. Diyet anketlerinin sonuçları, çalışma süresince aylık olarak yapılan ve 12 kez tekrar edilen 24 saatlik hatırlama (hastaya sorarak görüşmeden önceki gün içindeki yiyecek alımını tanımlama ve oranını saptama) yöntemi ile diyetle ortalama enerji alımını tahmin eden referans yöntemle karşılaştırılmıştır.

Dörder kez tekrar edilen kan ve idrar örneklerinde ölçülen biyomarkerler ile diyetle alınan tahmini besin öğeleri ve gıdalar karşılaştırılmıştır.

Aynı zamanda çok sayıda çalışma deneğinden maliyet etkin bir yöntem ile toplanan yaşam tarzı ve medikal hikaye bilgileri ile alınan biyolojik örneklerin de fizibilitesi test edilmiştir. Bu metodolojik ve pilot fazın başarılı bir şekilde tamamlanması ile Avrupa Komisyonu'nun "Kansere Karşı Avrupa" programı ve birçok ulusal enstitüden sağlanan ve tam ölçekli projenin başlaması için gereken maddi desteğin de önü açılmış oldu.

EPIC kayıtları 7 ana EPIC ülkesindeki (Fransa, Almanya, Yunanistan, İtalya, Hollanda, İspanya ve İngiltere) 17 merkezde 1992 yılında başladı. Devamındaki 2-3 yıl içinde Danimarka, Norveç ve İsveç'te benzer çalışmalar yapan araştırma merkezleri de EPIC konsorsiyumuna katıldı.

Kayıtların büyük bölümü 1993-1999 yılları arasında gerçekleştirildi. Çalışmaya çoğu belirli coğrafi bölgelerde yaşayan genel popülasyondan, 35-70 yaşları arasındaki bireyler davet edildi. Bazı istisnalar da mevcuttu. Örneğin Utrecht kohortu meme kanseri taraması yapılan kadınlardan, Oxford kohortu hem genel popülasyon hem de vejeteryan ve veganlardan, Fransız kohortu da ulusal sağlık sigortası kapsamındaki okul çalışanlarından oluşuyordu.

EPIC, çalışmaya kayıt fazının sona erdiği 1999 yılında 10 Avrupa ülkesindeki 23 çalışma merkezinden 521.330 katılımcı ile kanser ve nütrisyon arasındaki ilişkiyi incelemek üzere dizayn edilen en büyük prospektif kohort çalışması olmuştur (Şekil 2).

Prospektif kohort yaklaşımı diyet ve hayat tarzı faktörleri ile ilgili başlangıç anketlerini, antropometrik karakteristiklerin standardize protokollere göre ölçümünü (vücut ağırlığı, boy, oturma yüksekliği, bel ve kalça çevresi), kan basıncı ve nabız değerlerinin toplanmasını kapsar. EPIC aynı zamanda çok fazla sayıda katılımcıdan kan örneklerinin toplanarak saklandığı ilk çalışmaydı: Her biri 30 ml olan 388.467 kan örneği alındıktan sonra her örnek sitratlı plazma ve serum içeren 28 plastik pipete bölünerek, sıvı nitrojen içinde saklandı. Örnekler güvenlik amacıyla bölünerek IARC'nin ana deposunda ve her ulusal merkezde depolandı.

Avrupa Prospektif Kanser ve Nütrisyon Araştırması (EPIC): Sorumlu Araştırmacılar ve Katılımcı Merkezler

Imperial College Londra (ICL)
• Elio Riboli (EPIC Koordinatörü), Gwyneth Davey†, Marc Gunter, Teresa Norat.

Uluslararası Kanser Araştırmaları Ajansı Dünya Sağlık Örgütü (IARC, Lyon)
• Isabelle Romieu, Paul Brennan, Pietro Ferrari, Mazda Jenab, Nadia Slimani, Rodolfo Saracci.

Danimarka
• Kim Overvad, Aarhus Üniversitesi
• Anne Tjønneland, Danimarka Kanser Derneği, Kopenhag.

Fransa
• Marie-Christine Boutron-Ruault, Françoise Clavel-Chapelon, Laure Dossus, INSERM U1018, Paris South Üniversitesi and Gustave Roussy Enstitüsü, Villejuif.

Almanya
• Heiner Boeing, Alman İnsan Nütrisyon Enstitüsü, Potsdam.
• Rudolf Kaaks, DKFZ, Heidelberg.

Yunanistan
• Antonia Trichopoulou, Hellenic Sağlık Vakfı; Atina Üniversitesi Tıp Fakültesi
• Dimitrios Trichopoulos, Harvard Halk Sağlığı Fakültesi Atina Akademisi
• Pagona Lagiou, Atina Üniversitesi Tıp Fakültesi

İtalya
• Franco Berrino and Vittorio Krogh, Ulusal Kanser Enstitüsü, Milan.
• Domenico Palli, Giovanna Masala, Kanser Araştırma ve Önleme Merkezi-CSPO, Floransa
• Salvatore Panico, Federico II Üniversitesi, Napoli.
• Rosario Tumino, Kanser Kayıt, Associazione Iblea Ricerca Epidemiologica - ONLUS and ASP, Ragusa.
• Paolo Vineis, Turin Üniversitesi ve HuGeF Vakfı.

Hollanda
• Bas Bueno-de-Mesquita, Ulusal Halk Sağlığı ve Çevre Enstitüsü, Bilthoven
• Petra Peeters, Julius Sağlık Bilimleri ve Birinci Basamak Merkezi, Üniversite Medikal Merkezi, Utrecht.

Norveç
• Eiliv Lund,Guri Skeie, Elisabete Weiderpass, Toplum Sağlığı Departmanı, Tromsø Üniversitesi



İspanya
• Carlos A. González, Antonio Agudo, Eric Duell, Katalan Onkoloji Enstitüsü, Barcelona
• Aurelio Barricarte, Navarre Halk Sağlığı Enstitüsü, Pamplona.
• Miren Dorronsoro, Guipuzcoa Halk Sağlığı Ofisi, San Sebastian.
• Carmen Navarro, Murcia Bölgesel Sağlık Konseyi, Murcia
• María José Sánchez Pérez, Andalusian Halk Sağlığı Okulu, Granada.
• J. Ramon Quirós Halk Sağlığı Direktörlüğü, Asturias.

İsveç
• Göran Berglund, Jonas Manjer, Malmö Diyet ve Kanser Çalışması, Lund Üniversitesi, Malmö.
• Göran Hallmans, Mattias Johannson, Malin Sund, Umeå Üniversitesi.

İngiltere
• Nicholas E Day, Kay-Tee Khaw, Sheila Bingham†, Nicolas Wareham, John Danesh, Cambridge Üniversitesi.
• Timothy J Key, Ruth C Travis, Oxford Üniversitesi.

Şekil 2 EPIC konsorsiyumunda yer alan Avrupa merkezleri ve sorumlu araştırmacıları.

EPIC Çalışmasının ana özelliklerinden birisi geniş coğrafi kapsama alanı sayesinde değişken diyet ve hayat tarzı alışkanlıkları ile farklı kanser insidanslarına sahip popülasyonlardan oluşmasıdır. Çalışma dizaynındaki maruziyet ve hastalık sonuçları ile ilgili heterojeniteler, diyet ile hastalıklar arasındaki ilişkilerin belirlenmesindeki genel istatistiksel gücü artırması yönünden önemlidir.

Ancak çalışma merkezleri arasındaki diyet ve dil farklılıkları, belirli gıda ve besin öğelerinin alım miktarlarının sistematik olarak gerçekte olandan daha az ya da daha çok tahmin edilmesine yol açabilir. Bu metodolojik zorluğun üstesinden gelebilmek amacıyla içerdiği kalibrasyon alt çalışması ile diyet ölçümünü iyileştirmeyi amaçlayan bir araştırma programı geliştirildi. Her EPIC ülkesinde tüm kohortun %7'sini (38.000 kişi) kapsayan

detaylı 24 saatlik diyet hatırlama değerlendirmeleri yapıldı. Bu veriler kullanılarak her merkezden alınan veriler kalibre edildi. Böylece çalışmanın başlangıcındaki diyet değerlendirmelerindeki olası sistematik tahmin hatalarının düzeltilmesi amaçlandı.

Katılımcılar başlangıç verilerinin toplanmasından sonra diyet ve hayat tarzlarında olabilecek majör değişiklikler ile sık görülen hastalıklar ve medikal problemler yönünden takip edildiler.

Takibin amacı EPIC kohortunda gelişen kanser vakalarının popülasyon kanser kayıt verilerinden faydalanarak belirlenmesiydi. Yaşadıkları bölge itibarı ile kayıt çalışmaları kapsamına girmeyen deneklerin mevcut olduğu bazı EPIC ülkelerinde (örn. Fransa, Almanya, Yunanistan) kanser insidans bilgilerine çalışma deneklerinin ve yakınlarının aktif takibi, sağlık sigortası kayıtları, klinik ve patolojik kayıtlar gibi yöntemler ile ulaşıldı.

IARC-WHO bünyesindeki güvenli merkezi veri tabanında saklanan bu veriler spesifik çalışmalar için EPIC araştırmacılarının hizmetine sunulmaktadır. Şu ana kadar 60.000'in üzerinde yeni kanser vakası bildirilmiştir. Bunlar arasında yaklaşık 14.000 meme, 3600 akciğer, 5200 kolorektal, 1180 pankreas ve 1400 endometrium kanseri vakası mevcuttur. Bu veriler kanser nedenlerini araştıracak yeterli güce sahip çalışmalar için altyapı oluşturmaktadır.

3 Nütrisyon, Metabolik Faktörler ve Kanser ile İlgili Araştırma Bulguları

EPIC kanser etyolojisi ile ilgili epidemiyolojik çalışmalar için gelişmiş ve büyük ölçekli bir kaynaktır. Diyet, fiziksel aktiviteler, antropometri ve biyomarker ölçümü ile ilgili çalışma verileri, nütrisyonun ve metabolik faktörlerin kanserde oynadığı rol ile ilgili büyük resmi oluşturabilmek amacıyla entegre edilebilir. Aşağıda EPIC kapsamındaki araştırmanın bazı önemli noktaları özetlenmiştir.

3.1 Gıdalar ve Besin Öğeleri

Belirli gıda ve besin öğelerinin kanser riski ile ilişkisi hakkında EPIC kapsamında gerçekleştirilen spesifik araştırma projelerinde spesifik kanser türlerinin gelişimi ile ilgili birçok ilişki belirlemiştir. Bunlar aşağıda kısaca özetlenmektedir.

Özellikle tahıl kaynaklı lif tüketiminin kolorektal kanser gelişim riskini istikrarlı ve yüksek oranda anlamlı olarak azalttığı bulunmuştur [2, 3]. Kırmızı et ve işlenmiş et ürünleri mide, kolon ve rektumu da kapsayan sindirim kanalı kanserlerinde artışla ilişkilidir [17, 32].

Bazı besin öğelerinin belirli kan düzeylerinde bulunmaları anlamlı olarak azalmış kanser riski ile ilişkili bulunmuştur. B vitaminlerinin kolorektal kanserler [12] ile akciğer kanserine [23], askorbik asit ve bazı karotenoidlerin mide kanserine [20], D vitamininin kolorektal kanserlere [22] karşı koruyucu etkileri ile ilgili kayda değer bağlantılar bulunmuştur.

Ancak bu makalenin ana odak noktası antropometrik ve metabolik faktörler ile kanser riski arasındaki ilişkiyle ilgili majör bulgulardır.

3.2 Obezite

Vücut kütle indeksi (VKİ) ile diğer antropometrik ölçütler ve kanser riski arasındaki ilişki EPIC popülasyonundaki birçok kanser tipi için araştırılmıştır. Vücut ağırlığı ve VKİ erkeklerdeki kolon kanseri riskiyle pozitif ilişkili bulunmuştur. Aynı ilişki kadınlarda zayıftır ya da mevcut değildir. Ancak abdominal obezitenin göstergesi olan bel çevresi ve bel-kalça oranı (BKO) analizlerinin hem kadın hem de erkeklerdeki kolon kanserini tahmin etmekte kullanılabilecekleri bulunmuştur. En yüksek BKO'ya sahip beşte birlik dilim ile en düşük BKO'ya sahip beşte birlik dilim arasındaki rölatif risk erkeklerde 1.51 (%95 CI = 1.06-2.15); kadınlarda ise 1.52 (%95 CI = 1.12-2.05) bulunmuştur [33].

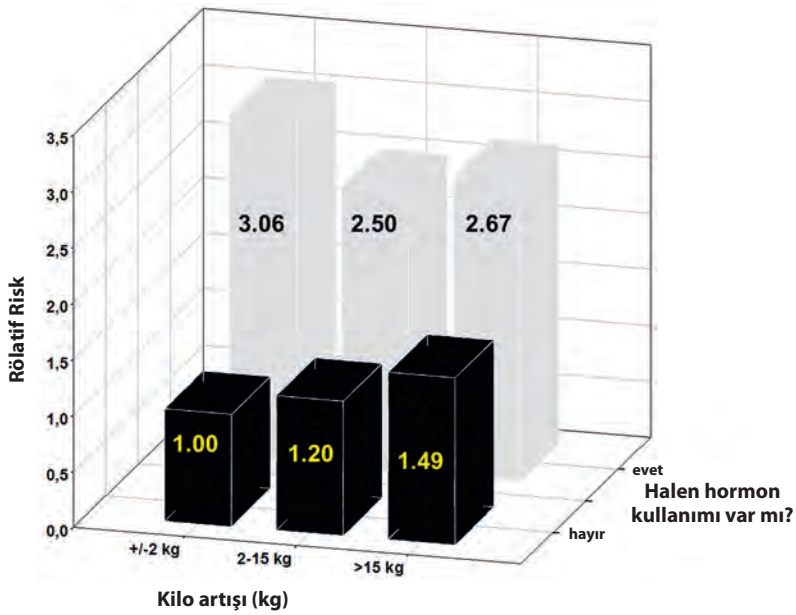
Postmenopozal kadınlardaki abdominal obezitenin kolon kanseri ile ilişkisi hormon replasman tedavisi (HRT) kullanımına bağlı olarak değişimler gösterir. Hiç HRT uygulanmamış kadınlarda daha sıklıkla ortaya çıkıyor görünmektedir. Bu konunun incelenmesi için ilave çalışmalara ihtiyaç vardır [33].

Bel çevresi ≥88 cm olan kadınlarda kolon kanserinin rölatif riski bel çevresi <80 cm olanlara göre 1.76'dır (%95 CI = 1.42-2.19); kilo, bel, kalça çevresi ve BKO ile artmış endometrial kanser riski arasında da güçlü bir ilişki mevcuttur [16].

Fazla kilolu olmanın (VKİ ile gösterilir) HRT uygulanmayan postmenopozal kadınlardaki meme kanseri riskinin anlamlı bir göstergesi olduğu bulunmuştur. Analiz başlangıçta veya başlangıçtan birkaç yıl önce HRT kullanan kadınlar ile sınırlandığında VKİ ile meme kanseri arasındaki ilişkinin gözle görülür şekilde zayıfladığı gözlenmiştir [27]. Diğer bazı kohort çalışmalarında da benzer sonuçlar bildirilmiştir [18]. Ancak bu sonuçlar yorumlanırken her iki risk faktörünün gerçek zamanlı sıralaması göz önüne alınmamıştır. Gerçekte bu kadınlar önce kilo almış, daha sonra da HRT tedavisi kullanmaya başlamışlardır (veya başlamamışlardır). Bu nedenle HRT ile normal kilolu kadınlardaki meme kanseri riski daha fazla artarken, fazla kilolu ve obez kadınlarda progresif olarak daha az artış görüldüğü yönünde yorumlanmalıdır (Şekil 3.).

Premenopozal kadınlarda meme kanseri ile vücut ağırlığı ve VKİ arasında zayıf bir ters orantı mevcuttur. EPIC çalışmasında bu ilişki anlamlı bulunmamıştır. Ancak bazı çalışmaların sonuçlarının da benzer yönde olması beklenmeyen bir araştırma sorusunun doğmasına neden olmuştur. Fazla kilolu ve obez kadınlardaki meme kanseri riskinin 45-50 yaşlarından önce niçin azaldığını açıklayabilecek bir mekanizma mevcut değildir.

Bu beklenmeyen bağlantı, EPIC çalışmasında bir insülin rezistansı markeri olan C-peptid düzeylerinin artmasının meme kanseri riski ile ters orantılı olduğunun bulunması ile desteklenmiştir. Bu markerin artışı menopoz öncesi meme kanserinde hafif azalmanın, menopoz sonrasındaki riskte de artışın göstergesidir.[49].



Şekil 3 EPIC çalışmasındaki postmenopozal kadınlarda çok değişkenli, düzeltilmiş, rölatif meme kanseri riskinin kilo alımı ve hormon kullanımı yönünden değerlendirilmesi.

Popülasyonun çeşitli segmentlerdeki etki farklılıkları göz önüne alındığında obezitenin hangi mekanizmalarla kanser riskini etkilediğinin anlaşılması önem kazanmaktadır. Meme kanseri etyolojisinde hormonal mekanizmaların rol oynadığı teorisini destekleyen çok önemli kanıtlar mevcuttur.

Orta ve yüksek düzeyde fiziksel aktivite ile eğlence ve ev aktivitelerinin kombinasyonunun fazla kilodan bağımsız olarak meme kanseri riskini azalttığı bulunmuştur. Meme kanseri ile hormon reseptör durumu arasındaki heterojen bağlantılar, hormonlarla ilgili mekanizmaların rol oynadığını göstermektedir [28, 40].

Benzer şekilde artan fiziksel aktivitenin kolorektal kanser riskini de azalttığı bulunmuştur. Fiziksel olarak aktif ve zayıf olan bireylerdeki bu risk fazla kilolu ve sedanter bireylere göre yarı yarıya azalmıştır [15].

Fiziksel aktivite ile lenfoid neoplazmaları da içeren diğer birçok kanser tipi arasında bir ilişki tespit edilememiştir [48].

3.3 Boy

Erken boy uzamasının hayatın ilerleyen dönemlerindeki kanser riskini artırabileceği teorisi ile uyumlu olarak, boyun bazı kanserlerin riskinde ve genel kanser insidansı ile kanser mortalitesinde artış ile ilişkili olduğu gösterilmiştir [50].

Bu ilişkinin özellikle kolorektal ve meme kanseri için geçerli olduğu EPIC çalışmasında gösterilmiştir. Uzun boylu erkek (≥180.5 cm) ve kadınlardaki (≥167.5 cm) kolorektal kanser rölatif riski (RR) kısa boylu erkek (<168 cm) ve kadınlara (<156 cm) göre sırasıyla 1.40 (95% CI = 0.99–1.98) ve 1.79 (%95 CI = 1.30–2.46)bulunmuştur. Boy farkları arasında lineer bir ilişki mevcuttur [33].

Uzun boylu kadınlarda kısa boylu kadınlara göre meme kanseri riski premenopozal kadınlarda 1.33 (%95 CI 0.96–1.84) postmenopozal kadınlarda ise 1.40 (%95 CI 1.16–1.69) bulunmuştur.

Burada da boy farkları arasında lineer ilişki mevcuttur. Her 5 cm daha uzun boy premenopozal kadınlarda 1.05 (%95 CI 1.00–1.16) postmenopozal kadınlarda ise 1.10 (%95 CI 1.05–1.16) risk artışına yol açmaktadır.

Boy uzunluğunun kanser üzerindeki etkilerinin mekanizması bilinmemekle birlikte, muhtemelen genetik, çevresel, hormonal ve nütrisyonel faktörlerin bir kombinasyonundan kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Burada ilgi çekici olan nokta metabolik faktörlerin erken yaşlarda, birey en uzun boyuna ulaşmadan önce etki ederek hayatın ilerleyen dönemlerinde etkisini gösterecek kalıcı bir "damga" bırakmasıdır. Hem büyümeyi hem de hayatın devamında ortaya çıkan bulaşıcı olmayan kanser, kardiyovasküler ve respiratuar hastalıkları etkileyen faktörlerin anlaşılması henüz bilinmeyen hastalık mekanizmalarının anlaşılması için gelecekte yapılacak araştırmalarda incelenecek önemli konular olmalıdır.

3.4 İnsülin Rezistansı

Kompleks bir metabolik durum olan insülin rezistansında hücrelere glukoz girişi için normalden daha yüksek insülin düzeyleri gerekmektedir. Pankreas bozukluğun hafif seviyelerinde insülin sentezini artırarak artan ihtiyaca cevap verebilir. İnsülin rezistansı ilerledikçe pankreas gereken insülin miktarını sağlayamaz hale gelir. Böylece yüksek insülin seviyeleri ile hiperglisemi birlikte görülür. Bu bozukluk yıllar içinde ilerleyerek belirgin tip 2 diyabet gelişimine yol açabilir ya da bireyin hayatı boyunca hafif düzeyde seyrederek diyabete yol açmaz.

İnsülin rezistansının tespiti için en yaygın kullanılan serum markerleri C-peptid ve glikolize hemoglobindir (HbA1c). Yükselen C-peptid düzeyleri insülin rezistansını HbA1c'ye göre daha erken gösteren bir markerdir. Glikolize hemoglobin ancak periferik insülin rezistansını kompanse etmek ve glisemiyi kontrol etmek için gereken yüksek insülin sekresyonu yeterli olmadığı zaman normal seviyelerin üzerine yükselir. Buna karşın insülin sekresyonunun bir markeri olan C-peptid ise glisemi ve HbA1c henüz normal değer aralığında iken bile yükselebilir. Bu nedenle EPIC çalışmasındaki insülin rezistansının kanser riski ile ilişkisini inceleyen birçok araştırmada C-peptid değerlerini kullanmayı tercih ettik.

İlk olarak New York Üniversitesi Kadın Sağlığı Çalışmasında serum C-peptid düzeyleri ile kolon ve rektum kanserinin rölatif riski arasında güçlü bir ilişki bildirdik. C-peptid değerleri yönünden en yüksek ve düşük beşte birlik dilimler arasındaki olasılık oranını 2.92 (%95 CI 1.26-6.75) olarak tespit ettik [24]. Aynı ilişki EPIC çalışmasındaki çok daha fazla sayıdaki kolon ve rektum kanser vakaları için de tespit edilmiş olsa da aradaki ilişkinin gücü daha düşük bulunmuştur [21].

Tüm yaşlardaki endometrium kanseri için de pozitif bir ilişki gözlenmiştir [4]. Meme kanseri için premenopozal ve postmenopozal kadınlarda ise birbirinin karşıtı etkiler tespit edilmiştir (aşağıda tanımlanmıştır, [49]). Meme kanseri tanısı sırasında 50 yaşından genç olan ve başlangıç C-peptid düzeyleri yüksek olan hastalardaki meme kanseri riskinin anlamlı olarak azaldığı tespit edilmiştir [49].

3.5 Seks Steroid Hormonları

Kanserin yukarıda tanımlanan antropometrik özellikleri ile ilgili altta yatan hormonal mekanizmalar mevcuttur. Bu durum EPIC çalışmasının meme kanseri araştırmaları gibi hormonal faktörler ile kanser riskini araştıran birçok detaylı çalışmanın doğmasına yol açmıştır.

VKİ ile meme kanseri riski arasında doğru orantı bulunan postmenopozal kadınlarda VKİ ile östron, serbest östradiol ve serbest testosteron düzeyleri arasında da doğru orantı mevcuttur [25]. Seks hormonu bağlayıcı globülin (SHBG) düzeyleri ile VKİ arasında ters orantı mevcuttur. Bu glikoprotein androjen ve östrojenleri tecrit ederek hücre reseptörlerine bağlanmalarına engel olur. Bu gözlemlere ek olarak, bir grup hormonun seviyelerindeki artmanın artan meme kanseri riski ile güçlü ilişkisi mevcuttur. SHBG meme kanseri riskinde azalma ile ilişkili olan tek faktördür (Şekil 4.) [25].

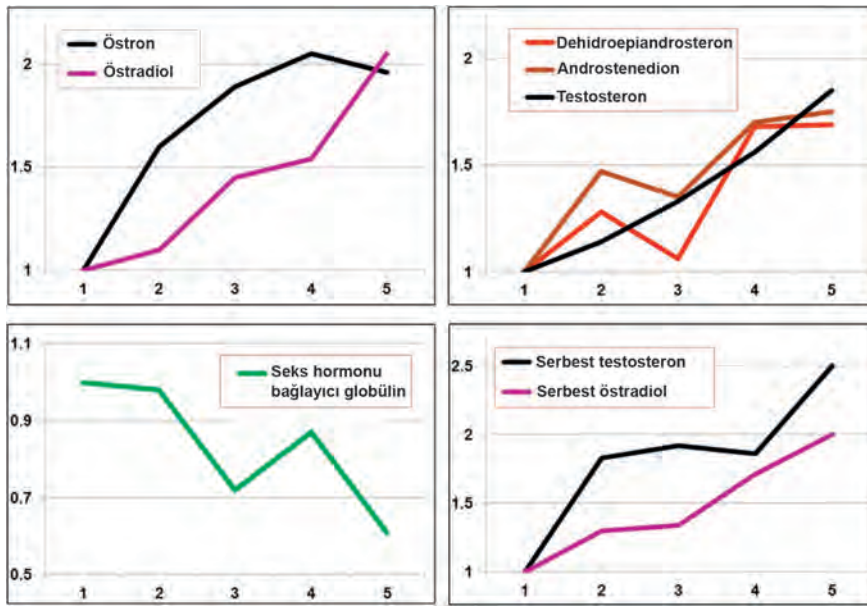
Buna karşın (VKİ ile meme kanseri arasında ters orantı mevcut olan) premenopozal kadınlardaki östrojen veya SHBG ilişkileri gözlenmemiştir. Ancak artmış androjen düzeyleri meme kanseri riskinde artış ile ilişkilidir [26].

4 Sonuçlar

Kanserin oluşumunda bir dizi kimyasal, fiziksel ve biyolojik karsinojenlerin rol oynadığı kesindir. Bu faktörler bazı durumlarda Dünya'daki kanser insidanslarındaki varyasyonların çoğundan da sorumludur. Ancak bu faktörler dünyadaki kanser yükünün önemli bir kısmını oluşturan birçok kanser türündeki global varyasyonları açıklayamamaktadırlar.

Geçmiş dekadlarda gerçekleştirilen özellikle EPIC gibi büyük ölçekli prospektif çalışmaları da içeren araştırmalarda diyet, nütrisyon, fiziksel aktivite ve antropometrinin popülasyonlardaki kanser riski üzerinde majör rol oynadıkları tespit edilmiştir.

Bilimsel bir bakış açısı ile Batı tipi diyet ve hayat tarzının bazı komponentleri ile ilişkili olan yüksek kanser riskinin altında yatan mekanik etkilerin anlaşılması oldukça zordur. Bu etki genel bir bozukluktan ziyade normal fizyolojik prosesin ince modülasyonu veya hafif bozukluğundan kaynaklanabilir. Bu durum bazı güçlü eksojen karsinojenler için geçerli olabilir.



Şekil 4 EPIC çalışmasında ortalama 8 yıl takip edilen 300.000 postmenopozal kadındaki serum seks steroid düzeylerine göre (beşte birlik dilimlere ayrılmış) rölatif meme kanseri riski Çalışma merkezinde koşullu lojistik regresyon ile hesaplanan olasılık oranı, kan alımı sırasındaki yaş, zaman ve açlık durumu, meme kanseri olan vakalar ile kontroller arasında eşleştirme faktörleri olarak kullanılarak tahmin edilmiştir. x ekseni: düşükten [45] yükseğe [10] beşte birlik hormon konsantrasyon dilimleri; y ekseni: rölatif risk

Bu metabolik hayat tarzı faktörleri halk sağlığı açısından bakıldığında bilinen majör kardiyovasküler ve diyabet risk faktörleri ile büyük oranda örtüştükleri için büyük ilgi çekmekte ve aynı halk sağlığı girişimlerinin kullanılarak birçok bulaşıcı olmayan hastalığın önlenebilmesine imkân sunmaktadırlar [13].

Claire Westwood'da metnin hazırlanmasındaki yardımları için teşekkür ederim. Aşağıdakilere EPIC çalışmasına yaptıkları finansal destekler için teşekkür ederim: European Commission (DG-SANCO); International Agency for Research on Cancer; Danish Cancer Society (Denmark); Ligue Contre le Cancer, Institut Gustave Roussy, Mutuelle Générale de l'Education Nationale, Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale (INSERM) (France); Deutsche Krebshilfe, Deutsches Krebsforschungszentrum and Federal Ministry of Education and Research (Germany); Ministry of Health and Social Solidarity, Stavros Niarchos Foundation and Hellenic Health Foundation (Greece); Italian Association for Research on Cancer (AIRC) and National Research Council (Italy); Dutch Ministry of Public Health, Welfare and Sports (VWS), Netherlands Cancer Registry (NKR), LK Research Funds, Dutch Prevention Funds, Dutch ZON (Zorg Onderzoek Nederland), World Cancer Research Fund (WCRF), Statistics Netherlands (The Netherlands); ERC-2009-AdG 232997 and Nordforsk, Nordic Centre of Excellence programme on Food, Nutrition and Health. (Norway); Health Research Fund (FIS), Regional Governments of Andalucía, Asturias, Basque Country, Murcia and Navarra, ISCIII RETIC (RD06/0020) (Spain); Swedish Cancer Society, Swedish Scientific Council and

Regional Government of Skåne and Västerbotten (Sweden); Cancer Research UK, Medical Research Council, Stroke Association, British Heart Foundation, Department of Health, Food Standards Agency, and Wellcome Trust (United Kingdom).

Referanslar

1. Belanger C, Speizer FE, Hennekens CH, Rosner B, Willett W, Bain C (1980) The nurses' health study: current findings. Am J Nurs 80:1333
2. Bingham SA, Day NE, Luben R, Ferrari P, Slimani N, Norat T, Clavel-Chapelon F, Kesse E, Nieters A, Boeing H, Tjonneland A, Overvad K, Martinez C, Dorronsoro M, Gonzalez CA, Key TJ, Trichopoulou A, Naska A, Vineis P, Tumino R, Krogh V, Bueno-De-Mesquita HB, Peeters PH, Berglund G, Hallmans G, Lund E, Skeie G, Kaaks R, Riboli E (2003) Dietary fibre in food and protection against colorectal cancer in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC): an observational study. Lancet 361:1496–1501
3. Bingham SA, Norat T, Moskal A, Ferrari P, Slimani N, Clavel-Chapelon F, Kesse E, Nieters A, Boeing H, Tjonneland A, Overvad K, Martinez C, Dorronsoro M, Gonzalez CA, Ardanaz E, Navarro C, Quiros JR, Key TJ, Day NE, Trichopoulou A, Naska A, Krogh V, Tumino R, Palli D, Panico S, Vineis P, Bueno-De-Mesquita HB, Ocke MC, Peeters PH, Berglund G, Hallmans G, Lund E, Skeie G, Kaaks R, Riboli E (2005) Is the association with fiber from foods in colorectal cancer confounded by folate intake? Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 14:1552–1556
4. Cust AE, Allen NE, Rinaldi S, Dossus L, Friedenreich C, Olsen A, Tjonneland A, Overvad K, Clavel-Chapelon F, Boutron-Ruault MC, Linseisen J, Chang-Claude J, Boeing H, Schulz M, Benetou V, Trichopoulou A, Trichopoulos D, Palli D, Berrino F, Tumino R, Mattiello A, Vineis P, Quiros JR, Agudo A, Sanchez MJ, Larranaga N, Navarro C, Ardanaz E, Bueno-De-Mesquita HB, Peeters PH, van Gils CH, Bingham S, Khaw KT, Key T, Slimani N, Riboli E, Kaaks R (2007) Serum levels of C-peptide, IGFBP-1 and IGFBP-2 and endometrial cancer risk; results from the European prospective investigation into cancer and nutrition. Int J Cancer 120:2656–2664
5. Doll R, Hill AB (1950) Smoking and carcinoma of the lung; preliminary report. Br Med J 2:739–748
6. Doll R, Hill AB (1952) A study of the aetiology of carcinoma of the lung. Br Med J 2:1271–1286
7. Doll R, Hill AB (1954) The mortality of doctors in relation to their smoking habits; a preliminary report. Br Med J 1:1451–1455
8. Doll R, Hill AB (1956) Lung cancer and other causes of death in relation to smoking; a second report on the mortality of British doctors. Br Med J 2:1071–1081
9. Doll R, Payne P, Waterhouse JAH (eds) (1966) Cancer Incidence in Five Continents: a Technical Report Union Internationale Contre le Cancer, Geneva
10. Doll R, Muir CS, Waterhouse JAH (eds) (1970) Cancer Incidence in Five Continents, vol II. Union Internationale Contre le Cancer, Geneva
11. Doll R, Peto R (1981) The causes of cancer: quantitative estimates of avoidable risks of cancer in the United States today. J Natl Cancer Inst 66:1191–1308
12. Eussen SJ, Vollset SE, Hustad S, Midttun O, Meyer K, Fredriksen A, Ueland PM, Jenab M, Slimani N, Boffetta P, Overvad K, Thorlacius-Ussing O, Tjonneland A, Olsen A, Clavel-Chapelon F, Boutron-Ruault MC, Morois S, Weikert C, Pischon T, Linseisen J, Kaaks R, Trichopoulou A, Zilis D, Katsoulis M, Palli D, Pala V, Vineis P, Tumino R, Panico S, Peeters PH, Bueno-de-Mesquita HB, van Duijnhoven FJ, Skeie G, Munoz X, Martinez C, Dorronsoro M, Ardanaz E, Navarro C, Rodriguez L, VanGuelpen B, Palmqvist R, Manjer J, Ericson U, Bingham S, Khaw KT, Norat T, Riboli E (2010) Plasma vitamins B2, B6, and B12, and

related genetic variants as predictors of colorectal cancer risk. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 19:2549–2561
13. Ezzati M, Riboli E (2012) Can noncommunicable diseases be prevented? Lessons from studies of populations and individuals. Science 337:1482–1487
14. Ferlay J, Shin HR, Bray F, Forman D, Mathers C and Parkin DM. GLOBOCAN 2008 v2.0, Cancer Incidence and Mortality Worldwide: IARC CancerBase No. 10 [Internet]. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer; 2010. Available from: http://globocan.iarc.fr. accessed on 01 Dec 12 (colorectum); 28 Jan 2011 (breast)
15. Friedenreich C, Norat T, Steindorf K, Boutron-Ruault MC, Pischon T, Mazuir M, Clavel-Chapelon F, Linseisen J, Boeing H, Bergman M, Johnsen NF, Tjonneland A, Overvad K, Mendez M, Quiros JR, Martinez C, Dorronsoro M, Navarro C, Gurrea AB, Bingham S, Khaw KT, Allen N, Key T, Trichopoulou A, Trichopoulos D, Orfanou N, Krogh V, Palli D, Tumino R, Panico S, Vineis P, Bueno-De-Mesquita HB, Peeters PH, Monninkhof E, Berglund G, Manjer J, Ferrari P, Slimani N, Kaaks R, Riboli E (2006) Physical activity and risk of colon and rectal cancers: the European prospective investigation into cancer and nutrition. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 15:2398–2407
16. Friedenreich C, Cust A, Lahmann PH, Steindorf K, Boutron-Ruault MC, Clavel-Chapelon F, Mesrine S, Linseisen J, Rohrmann S, Boeing H, Pischon T, Tjonneland A, Halkjaer J, Overvad K, Mendez M, Redondo ML, Garcia CM, Larranaga N, Tormo MJ, Gurrea AB, Bingham S, Khaw KT, Allen N, Key T, Trichopoulou A, Vasilopoulou E, Trichopoulos D, Pala V, Palli D, Tumino R, Mattiello A, Vineis P, Bueno-De-Mesquita HB, Peeters PH, Berglund G, Manjer J, Lundin E, Lukanova A, Slimani N, Jenab M, Kaaks R, Riboli E (2007) Anthropometric factors and risk of endometrial cancer: the European prospective investigation into cancer and nutrition. Cancer Causes Control 18:399–413
17. Gonzalez CA, Jakszyn P, Pera G, Agudo A, Bingham S, Palli D, Ferrari P, Boeing H, Del GG, Plebani M, Carneiro F, Nesi G, Berrino F, Sacerdote C, Tumino R, Panico S, Berglund G, Siman H, Nyren O, Hallmans G, Martinez C, Dorronsoro M, Barricarte A, Navarro C, Quiros JR, Allen N, Key TJ, Day NE, Linseisen J, Nagel G, Bergmann MM, Overvad K, Jensen MK, Tjonneland A, Olsen A, Bueno-De-Mesquita HB, Ocke M, Peeters PH, Numans ME, Clavel-Chapelon F, Boutron-Ruault MC, Trichopoulou A, Psaltopoulou T, Roukos D, Lund E, Hemon B, Kaaks R, Norat T, Riboli E (2006) Meat intake and risk of stomach and esophageal adenocarcinoma within the European Prospective Investigation Into Cancer and Nutrition (EPIC). J Natl Cancer Inst 98:345–354
18. Huang Z, Hankinson SE, Colditz GA, Stampfer MJ, Hunter DJ, Manson JE, Hennekens CH, Rosner B, Speizer FE, Willett WC (1997) Dual effects of weight and weight gain on breast cancer risk. JAMA 278:1407–1411
19. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans (2010) Alcohol Consumption and Ethyl Carbamate, vol 96. IARC, Lyon, France
20. Jenab M, Riboli E, Ferrari P, Sabate J, Slimani N, Norat T, Friesen M, Tjonneland A, Olsen A, Overvad K, Boutron-Ruault MC, Clavel-Chapelon F, Touvier M, Boeing H, Schulz M, Linseisen J, Nagel G, Trichopoulou A, Naska A, Oikonomou E, Krogh V, Panico S, Masala G, Sacerdote C, Tumino R, Peeters PH, Numans ME, Bueno-de-Mesquita HB, Buchner FL, Lund E, Pera G, Sanchez CN, Sanchez MJ, Arriola L, Barricarte A, Quiros JR, Hallmans G, Stenling R, Berglund G, Bingham S, Khaw KT, Key T, Allen N, Carneiro F, Mahlke U, Del GG, Palli D, Kaaks R, Gonzalez CA (2006) Plasma and dietary vitamin C levels and risk of gastric cancer in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC-EURGAST). Carcinogenesis 27:2250–2257
21. Jenab M, Riboli E, Cleveland RJ, Norat T, Rinaldi S, Nieters A, Biessy C, Tjonneland A, Olsen A, Overvad K, Gronbaek H, Clavel-Chapelon F, Boutron-Ruault MC, Linseisen J, Boeing H, Pischon T, Trichopoulos D, Oikonomou E, Trichopoulou A, Panico S, Vineis P, Berrino F, Tumino R, Masala G, Peters PH, van Gils CH, Bueno-De-Mesquita HB, Ocke MC, Lund E, Mendez MA, Tormo MJ, Barricarte A, Martinez-Garcia C, Dorronsoro M, Quiros JR, Hallmans G, Palmqvist R, Berglund G, Manjer J, Key T, Allen NE, Bingham S,

Khaw KT, Cust A, Kaaks R (2007) Serum C-peptide, IGFBP-1 and IGFBP-2 and risk of colon and rectal cancers in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition. Int J Cancer 121:368–376

22. Jenab M, Bueno-De-Mesquita HB, Ferrari P, van Duijnhoven FJ, Norat T, Pischon T, Jansen EH, Slimani N, Byrnes G, Rinaldi S, Tjonneland A, Olsen A, Overvad K, Boutron-Ruault MC, Clavel-Chapelon F, Morois S, Kaaks R, Linseisen J, Boeing H, Bergmann MM, Trichopoulou A, Misirli G, Trichopoulos D, Berrino F, Vineis P, Panico S, Palli D, Tumino R, Ros MM, van Gils CH, Peeters PH, Brustad M, Lund E, Tormo MJ, Ardanaz E, Rodriguez L, Sanchez MJ, Dorronsoro M, Gonzalez CA, Hallmans G, Palmqvist R, Roddam A, Key TJ, Khaw KT, Autier P, Hainaut P, Riboli E (2010) Association between pre-diagnostic circulating vitamin D concentration and risk of colorectal cancer in European populations:a nested case-control study. BMJ 340:b5500
23. Johansson M, Relton C, Ueland PM, Vollset SE, Midttun O, Nygard O, Slimani N, Boffetta P, Jenab M, Clavel-Chapelon F, Boutron-Ruault MC, Fagherazzi G, Kaaks R, Rohrmann S, Boeing H, Weikert C, Bueno-de-Mesquita HB, Ros MM, van Gils CH, Peeters PH, Agudo A, Barricarte A, Navarro C, Rodriguez L, Sanchez MJ, Larranaga N, Khaw KT, Wareham N, Allen NE, Crowe F, Gallo V, Norat T, Krogh V, Masala G, Panico S, Sacerdote C, Tumino R, Trichopoulou A, Lagiou P, Trichopoulos D, Rasmuson T, Hallmans G, Riboli E, Vineis P, Brennan P (2010) Serum B vitamin levels and risk of lung cancer. JAMA 303:2377–2385
24. Kaaks R, Toniolo P, Akhmedkhanov A, Lukanova A, Biessy C, Dechaud H, Rinaldi S, Zeleniuch-Jacquotte A, Shore RE, Riboli E (2000) Serum C-peptide, insulin-like growth factor (IGF)-I, IGF-binding proteins, and colorectal cancer risk in women. J Natl Cancer Inst 92:1592–1600
25. Kaaks R, Rinaldi S, Key TJ, Berrino F, Peeters PH, Biessy C, Dossus L, Lukanova A, Bingham S, Khaw KT, Allen NE, Bueno-De-Mesquita HB, van Gils CH, Grobbee D, Boeing H, Lahmann PH, Nagel G, Chang-Claude J, Clavel-Chapelon F, Fournier A, Thiebaut A, Gonzalez CA, Quiros JR, Tormo MJ, Ardanaz E, Amiano P, Krogh V, Palli D, Panico S, Tumino R, Vineis P, Trichopoulou A, Kalapothaki V, Trichopoulos D, Ferrari P, Norat T, Saracci R, Riboli E (2005) Postmenopausal serum androgens, oestrogens and breast cancer risk: the European prospective investigation into cancer and nutrition. Endocr Relat Cancer 12:1071–1082
26. Kaaks R, Berrino F, Key T, Rinaldi S, Dossus L, Biessy C, Secreto G, Amiano P, Bingham S, Boeing H, Bueno de Mesquita HB, Chang-Claude J, Clavel-Chapelon F, Fournier A, van Gils CH, Gonzalez CA, Gurrea AB, Critselis E, Khaw KT, Krogh V, Lahmann PH, Nagel G, Olsen A, Onland-Moret NC, Overvad K, Palli D, Panico S, Peeters P, Quiros JR, Roddam A, Thiebaut A, Tjonneland A, Chirlaque MD, Trichopoulou A, Trichopoulos D, Tumino R, Vineis P, Norat T, Ferrari P, Slimani N, Riboli E (2005) Serum sex steroids in premenopausal women and breast cancer risk within the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC). J Natl Cancer Inst 97:755–765
27. Lahmann PH, Hoffmann K, Allen N, van Gils CH, Khaw KT, Tehard B, Berrino F, Tjonneland A, Bigaard J, Olsen A, Overvad K, Clavel-Chapelon F, Nagel G, Boeing H, Trichopoulos D, Economou G, Bellos G, Palli D, Tumino R, Panico S, Sacerdote C, Krogh V, Peeters PH, Bueno-De-Mesquita HB, Lund E, Ardanaz E, Amiano P, Pera G, Quiros JR, Martinez C, Tormo MJ, Wirfalt E, Berglund G, Hallmans G, Key TJ, Reeves G, Bingham S, Norat T, Biessy C, Kaaks R, Riboli E (2004) Body size and breast cancer risk: findings from the European Prospective Investigation into Cancer And Nutrition (EPIC). Int J Cancer 111:762–771
28. Lahmann PH, Friedenreich C, Schuit AJ, Salvini S, Allen NE, Key TJ, Khaw KT, Bingham S, Peeters PH, Monninkhof E, Bueno-De-Mesquita HB, Wirfalt E, Manjer J, Gonzales CA, Ardanaz E, Amiano P, Quiros JR, Navarro C, Martinez C, Berrino F, Palli D, Tumino R, Panico S, Vineis P, Trichopoulou A, Bamia C, Trichopoulos D, Boeing H, Schulz M, Linseisen J, Chang-Claude J, Chapelon FC, Fournier A, Boutron-Ruault MC, Tjonneland A, Fons JN, Overvad K, Kaaks R, Riboli E (2007) Physical activity and breast cancer risk: the

European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 16:36–42
29. Lavik PS, Baumann CA (1943) Further studies on the tumor-promoting action of fat. Cancer Res 3:749–756
30. Moreschi C (1909) Beziehungen zwischen Ernahrung und Tumorwachstum. Z fur Immunitatsforsch. 2:661–675
31. National Academy of Sciences (1982) Diet nutrition and cancer. National Academy Press, Washington DC
32. Norat T, Bingham S, Ferrari P, Slimani N, Jenab M, Mazuir M, Overvad K, Olsen A, Tjonneland A, Clavel F, Boutron-Ruault MC, Kesse E, Boeing H, Bergmann MM, Nieters A, Linseisen J, Trichopoulou A, Trichopoulos D, Tountas Y, Berrino F, Palli D, Panico S, Tumino R, Vineis P, Bueno-De-Mesquita HB, Peeters PH, Engeset D, Lund E, Skeie G, Ardanaz E, Gonzalez C, Navarro C, Quiros JR, Sanchez MJ, Berglund G, Mattisson I, Hallmans G, Palmqvist R, Day NE, Khaw KT, Key TJ, San JM, Hemon B, Saracci R, Kaaks R, Riboli E (2005) Meat, fish, and colorectal cancer risk: the European Prospective Investigation into cancer and nutrition. J Natl Cancer Inst 97:906–916
33. Pischon T, Lahmann PH, Boeing H, Friedenreich C, Norat T, Tjonneland A, Halkjaer J, Overvad K, Clavel-Chapelon F, Boutron-Ruault MC, Guernec G, Bergmann MM, Linseisen J, Becker N, Trichopoulou A, Trichopoulos D, Sieri S, Palli D, Tumino R, Vineis P, Panico S, Peeters PH, Bueno-De-Mesquita HB, Boshuizen HC, Van GB, Palmqvist R, Berglund G, Gonzalez CA, Dorronsoro M, Barricarte A, Navarro C, Martinez C, Quiros JR, Roddam A, Allen N, Bingham S, Khaw KT, Ferrari P, Kaaks R, Slimani N, Riboli E (2006) Body size and risk of colon and rectal cancer in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC). J Natl Cancer Inst 98:920–931
34. Riboli E (1992) Nutrition and cancer: background and rationale of the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC). Ann Oncol 3:783–791
35. Riboli E, Kaaks R (1997) The EPIC Project: rationale and study design. European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition. Int J Epidemiol 26 Suppl 1:S6-14
36. Rous P (1914) The influence of diet on transplanted and spontaneous mouse tumors. J Exp Med 20:433–451
37. Slimani N, Deharveng G, Charrondiere RU, van Kappel AL, Ocke MC, Welch A, Lagiou A, van LM, Agudo A, Pala V, Brandstetter B, Andren C, Stripp C, van Staveren WA, Riboli E (1999) Structure of the standardized computerized 24-h diet recall interview used as reference method in the 22 centers participating in the EPIC project. European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition. Comput Methods Programs Biomed 58:251–266
38. Slimani N, Ferrari P, Ocke M, Welch A, Boeing H, Liere M, Pala V, Amiano P, Lagiou A, Mattisson I, Stripp C, Engeset D, Charrondiere R, Buzzard M, Staveren W, Riboli E (2000) Standardization of the 24-hour diet recall calibration method used in the european prospective investigation into cancer and nutrition (EPIC): general concepts and preliminary results. Eur J Clin Nutr 54:900–917
39. Slimani N, Kaaks R, Ferrari P, Casagrande C, Clavel-Chapelon F, Lotze G, Kroke A, Trichopoulos D, Trichopoulou A, Lauria C, Bellegotti M, Ocke MC, Peeters PH, Engeset D, Lund E, Agudo A, Larranaga N, Mattisson I, Andren C, Johansson I, Davey G, Welch AA, Overvad K, Tjonneland A, van Staveren WA, Saracci R, Riboli E (2002) European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC) calibration study: rationale, design and population characteristics. Public Health Nutr 5:1125–1145
40. Steindorf K, Ritte R, Eomois PP, Lukanova A, Tjonneland A, Johnsen NF, Overvad K, Ostergaard JN, Clavel-Chapelon F, Fournier A, Dossus L, Teucher B, Rohrmann S, Boeing H, Wientzek A, Trichopoulou A, Karapetyan T, Trichopoulos D, Masala G, Berrino F, Mattiello A, Tumino R, Ricceri F, Quiros JR, Travier N, Sanchez MJ, Navarro C, Ardanaz E, Amiano P, Bueno-De-Mesquita HB, van DF, Monninkhof E, May AM, Khaw KT, Wareham N, Key TJ, Travis RC, Borch KB, Sund M, Andersson A, Fedirko V, Rinaldi S, Romieu I, Wahrendorf J, Riboli E, Kaaks R (2012) Physical activity and risk of breast cancer overall

and by hormone receptor status: The European prospective investigation into cancer and nutrition. Int J Cancer
41. Stocks P, Karn MN (1933) A cooperative study of the habits, home life, dietary and family histories of 45 cancer patients and of an equal number of control patients. Ann Eugenics 5(3–4): 237–280
42. Sugiura K, Benedict SR (1926) The influence of insufficient diets upon tumor recurrence and growth in rats and mice. J Cancer Res 10(309–31):8
43. Supplement 1, 1997 Int. J. Epidemiol. Feb; 26(Suppl 1): S1-S189
44. Tannenbaum A (1940a) The initiation and growth of tumours—Introduction: effects of undernutrition. Am J Cancer 38:335–350
45. Tannenbaum A (1940b) Relationship of body weight to cancer incidence. Arch Pathol 30:509–517
46. Tannenbaum A (1942a) The genesis and growth of tumors II effects of caloric restriction per se. Canc Res 2:460–467
47. Tannenbaum A (1942b) The genesis and growth of tumors III effects of a high fat diet. Canc Res 2:468–475
48. van Veldhoven CM, Khan AE, Teucher B, Rohrmann S, Raaschou-Nielsen O, Tjonneland A, Overvad K, Vigl M, Boeing H, Benetou V, Trichopoulou A, Trichopoulos D, Masala G, Mattiello A, Krogh V, Tumino R, Vermeulen R, Monninkhof E, May AM, Bueno-de-Mesquita B, Lund E, Ardanaz E, Huerta JM, Jakszyn P, Dorronsoro M, Arguelles M, Sanchez MJ, Hallmans G, Manjer J, Borgquist S, Allen NE, Travis RC, Khaw KT, Wareham N, Boffetta P, Vineis P, Riboli E (2011) Physical activity and lymphoid neoplasms in the European Prospective Investigation into Cancer and nutrition (EPIC). Eur J Cancer 47:748–760
49. Verheus M, Peeters PH, Rinaldi S, Dossus L, Biessy C, Olsen A, Tjonneland A, Overvad K, Jeppesen M, Clavel-Chapelon F, Tehard B, Nagel G, Linseisen J, Boeing H, Lahmann PH, Arvaniti A, Psaltopoulou T, Trichopoulou A, Palli D, Tumino R, Panico S, Sacerdote C, Sieri S, van Gils CH, Bueno-de-Mesquita BH, Gonzalez CA, Ardanaz E, Larranaga N, Garcia CM, Navarro C, Quiros JR, Key T, Allen N, Bingham S, Khaw KT, Slimani N, Riboli E, Kaaks R (2006) Serum C-peptide levels and breast cancer risk: results from the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC). Int J Cancer 119:659–667
50. Wiseman M (2008) The second World Cancer Research Fund/American Institute for Cancer Research expert report. Food, nutrition, physical activity, and the prevention of cancer: a global perspective. Proc Nutr Soc 67:253–256
51. Wynder EL, Graham EA (1950) Tobacco smoking as a possible etiologic factor in bronchiogenic carcinoma; a study of 684 proved cases. J Am Med Assoc 143:329–336

Obezite, Enerji Dengesi ve Kanser: Mekanik Perspektif

Stephen D. Hursting

Özet

ABD'de yaşayan erişkinlerin yaklaşık %36'sı, çocukların ise %20'si obezdir. Obezite vücut kütle indeksinin (VKİ) ≥30 kg/m^2 olmasıdır. Metabolik regülasyon bozukluğu ile seyreden obezite sıklıkla birçok kanser türü için bilinen bir risk faktörü olan metabolik sendrom ile birlikte seyreder. Obezitenin büyümeyi uyaran, proenflamatuar ortamında kanser riskini ve/veya progresyonunu uyarabilen obezite ile ilgili hormonlar, sitokinler ve diğer medyatörlerin etkileri ile makrofajlar, adipozitler ve epitel hücreleri birbirleri ile etkileşime girerler. Bu bölümde obezite ile kanser arasındaki bağlantıda rol oynayan biyolojik mekanizmalarla ilgili kanıtları inceleyeceğiz. Özellikle obezitenin hızlandırdığı büyüme faktörü sinyali, enflamasyon, vasküler entegrasyon prosesleri gibi faktörlere ve obeziteye bağlı olarak epitelyal mezenkimal geçişi de içeren mikroçevre bozukluklarına odaklanacağız. Birbiri ile ilgili bu mekanizmalar obezite kanser bağlantısını kırmaya yardımcı olabilecek muhtemel mekanik hedefler olabilirler.

Anahtar Kelimeler

Obezite • Enflamasyon • Büyüme faktörü sinyali • Vasküler bozukluklar • İnsülin rezistansı

S. D. Hursting (✉)
Department of Nutritional Sciences, Dell Pediatric Research Institute, University of Texas at Austin, 1400 Barbara Jordan Blvd, Austin, TX 78723, United States
e-mail: shursting@austin.utexas.edu

V. Zappia et al. (eds.), *Advances in Nutrition and Cancer,*
Cancer Treatment and Research 159, DOI: 10.1007/978-3-642-38007-5_2,
© Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2014

Kısaltmalar

AMPK	AMP-aktive kinaz
COX-2	Siklooksijenaz-2
DIO	Diyetle indüklenen obezite
EMT	Epitelyal mezenkimal geçiş
FGF-2	Fibroblast büyüme faktörü-2
IGF-1	İnsüline benzer büyüme faktörü
JAK	Janus kinaz
mTOR	Rapamisin memeli hedefi
MCP-1	Monosit kemoatraktan protein-1
NF-κB	Aktive B hücrelerinde nükleer faktör kappa hafif zincir güçlendirici
PAI-1	Plazminojen aktivatör inhibitörü-1
PI3K	Fosfatidilinositol 3-kinaz
STAT	Sinyal ileticisi transkripsiyon aktivatörü
TNF-α	Tümör nekroz faktörü-α
tPA	Doku tipi plazminojen aktivatörleri
uPA	Ürokinaz tipi plazminojen aktivatörleri
VEGF	Vasküler endotelyal büyüme faktörü
VKİ	Vücut kütle indeksi
ZEB1	Zinc finger E-box-binding homeobox

İçindekiler

1 Giriş 23
2 Disregüle Büyüme Sinyalleri 24
2.1 İnsülin ve IGF-1 24
2.2 Aşağı Yönlü İnsülin Reseptörü ve IGF-1R Sinyal Yolakları 24
2.3 Leptin, Adiponektin ve Oranları 24
3 Kronik Enflamasyon 2
3.1 Sitokinler ve Adipositlerin, Makrofajların ve Epitel Hücrelerinin Etkileşimi (Cross Talk) 25
3.2 Enflamasyon ve Kanser 26
4 Mikroçevresel Faktörler 26
4.1 Vasküler Bozukluklar 26
4.2 Epitelyal Mezenkimal Geçiş 27
5 Özet ve Sonuçlar 29
Referanslar 30

1 Giriş

Vücut kütle endeksinin (VKİ, vücut ağrılığının [kg] boy uzunluğunun [metre] karesine bölümü) ≥30/m^2 olması ile ifade obezite son dekadlarda dramatik olarak artmıştır. ABD'deki yetişkinlerin yaklaşık %36'sı ile çocukların %20'sinde obezite mevcuttur [1]. Obez erişkinlerin yaklaşık %60'ı insülin rezistansı, hiperglisemi, dislipidemiler (özellikle hipertrigliseridemi) ve hipertansiyondan oluşan metabolik sendrom kriterlerine sahiptir [2]. Obezite ve/veya metabolik sendromda dolaşımdaki insülin, biyolojik olarak kullanılabilir insülin benzeri büyüme faktörü (IGF-1), adipokinler (örn. leptin ve adiponektin), enflamatuar faktörler (örn. sitokinler) ve vasküler entegrasyonla ilgili faktörler (örn. vasküler endotelyal büyüme faktörü [VEGF] ve plazminojen aktivatör inhibitörü [PAI]-1) düzeylerinde değişimler olur [3, 4]. Obezite ve metabolik sendrom bu medyatörler vasıtası ile kardiyovasküler hastalık, tip 2 diyabet ve bu incelemenin konusu olan kanser gibi çeşitli kronik hastalıklar [3, 5] ile bağlantılıdır.

Kanıta dayalı kanser önleme kılavuzlarında obezitenin önlenmesi gerektiği net olarak vurgulanmaktadır [6]. Erkeklerdeki kanser ölümlerinin %14'ü, kadınlardaki kanser ölümlerinin ise %20'si fazla kilo ve obezite ile ilişkilidir [7] Obezite erkeklerdeki prostat ve mide kanseri ölümlerini artırır. Kadınlarda ise meme (postmenopozal), endometrium, serviks, uterus ve ovaryum kanserlerinden ölümü artırır. Böbrek (renal hücreli), kolon, özofagus (adenokarsinom), pankreas, safra kesesi ve karaciğer kanseri ise her iki cinsiyette artar [7]. Metabolik sendrom ile spesifik kanser türleri arasındaki ilişki bu kadar net değildir. 580.000 erişkini kapsayan bir Avrupa kohortunda gerçekleştirilen Metabolik Sendrom ve Kanser Projesi metabolik sendromdaki obezite (veya VKİ) ile kolorektal, tiroid ve servikal kanser arasındaki ilişkiyi göstermiştir [8]. Obezite ve metabolik sendrom prevalanslarının sürekli arttığı bir ortamda bu bozukluklar ile kanser arasındaki ilişkiyi ortadan kaldıracak stratejilere acil olarak ihtiyaç vardır [3].

Bu bölümde obezite, metabolik sendrom ve kanser arasındaki ilişkinin mekanizmasını, obezitenin birçok kanser türündeki büyüme sinyalizasyonu, enflamasyon, anjiogenik prosesler ile makrofaj, adiposit, endotel hücreleri arasındaki etkileşimi (cross talk) artırıcı etkisine odaklanacağız. Özellikle obezite mevcudiyetinde kanser süreçlerine multifaktöryel katkı yapabilen büyüme sinyallerinin (insülin, IGF-1, aşağı yönlü sinyal yolakları ve adipokinler), sitokinlerin, hücresel etkileşimin ve vasküler entegrasyon faktörlerinin disregülasyonunu tanımlayacağız. Muhtemelen, birbirleriyle ilişkili olan bu yolakların komponentleri aşırı vücut ağırlığı veya metabolik sendrom nedeniyle oluşan (veya ilgili olan) kanserlerin önlenmelerini ve kontrol edilmelerini sağlayabilecek, mekanizmaya dayalı hedefler sunabilirler. Ancak obezite, metabolik sendrom ve kanser arasındaki ilişkiyi ve bu ilişkiyi ortadan kaldırma ihtimali olan varsayımsal stratejilerle ilgili henüz cevaplanamamış soruları da tartışacağız.

2 Disregüle Büyüme Sinyalleri

2.1 İnsülin ve IGF-1

İnsülin pankreasın beta hücrelerinde üretilen ve kan glukozundaki artışa cevap olarak salgılanan peptid hormondur. Metabolik sendromun önemli bir özelliği olan hiperglisemi, insülin rezistansı, anormal glukoz metabolizması, kronik enflamasyon ve IGF-1, leptin ve adiponektin gibi diğer metabolik hormonların salgılanması ile ilişkilidir [9]. İnsülin ile yaklaşık %50 homolog olan IGF-1 primer olarak büyüme hormonu tarafından stimüle edilen karaciğer tarafından salgılan bir peptid büyüme faktörüdür. IGF-1 özellikle prenatal dönemde birçok dokunun büyüme ve gelişimlerini regüle eder [10]. Dolaşımdaki IGF-1 tipik olarak IGF bağlayıcı proteinlere (IGFBP) bağlıdır. Bu protein biyolojik olarak kullanılabilir serbest IGF-1 miktarını regüle ederek IGF-1 reseptörüne (IGF-1R) bağlanmasını, büyümeyi ve sağkalım sinyalini sağlar [10]. Metabolik sendromda muhtemelen hiperglisemi tarafından indüklenen IGFBP sentezinin supresyonu ve/veya hiperinsülinemi tarafından indüklenen hepatik büyüme hormonu reseptör ekspresyonu ve IGF-1 sentezi ile dolaşımdaki IGF-1 miktarı artar [9]. Dolaşımdaki IGF-1 düzeylerinin artışı birçok kanser riski için bilinen risk faktörüdür [10, 11].

2.2 Aşağı Yönlü İnsülin Reseptörü ve IGF-1R Sinyal Yolakları

İnsülin reseptörünün ve IGF-1R'nin aşağı yönlü yolağı fosfatidilinositol 3-kinaz (PI3K)/Akt epitel kanserlerinde en çok değişime uğrayan yolaklardan biridir. Bu yolak hücresel sağkalımı, proliferasyonu, protein dönüşümünü ve metabolizmayı regüle edebilmek için büyüme faktörü konsantrasyonları ve besin öğeleri mevcudiyeti gibi intraselüler ve çevresel işaretleri entegre eder. İnsülin reseptörü veya IGF-1R gibi reseptör tirozin kinazların aktivasyonu Akt kaskadının aktivasyonunu kolaylaştıran lipid habercilerinin üretimi için PI3K'yı stimüle eder. Akt hücre büyümesini, hücre proliferasyonunu aşağı yönlü medyatörler ile regüle eden rapamisin memeli hedefini (mTOR) regüle eder[13]. mTOR aktivasyonu AMP aktive kinaz (AMPK) tarafından düşük derecede besin öğeleri mevcudiyetinde inhibe olur [13]. Artmış mTOR aktivasyonu tümörlerde ve obez ve/veya diyabetik farelerdeki birçok normal dokuda sıklıkla görülür [15]. Spesifik mTOR inhibitörleri obezitenin fare modellerindeki tümör geliştirici etkilerini inhibe eder.

2.3 Leptin, Adiponektin ve Oranları

Adipositler tarafından salgılanan bir peptid hormon olan leptin, adipöz depoları ve nutrisyonel durum ile pozitif korelasyona sahiptir. Beyine iştahı azaltma sinyali gönderen enerji sensörü olarak görev yapar. Obez durumda adipoz dokunun aşırı derecede leptin

sağlaması sonucu beyin sinyale cevap vermez hale gelir. İnsülin, glukokortikoidler, tümör nekroz faktörü alfa (TNF-α) ve östrojenler leptin salınımını stimüle ederler[18]. Leptin periferik dokuları direkt, hipotalamik yolakları indirekt olarak etkileyerek immun fonksiyonu, sitokin üretimini, anjiogenezi, karsinogenezi ve diğer biyolojik prosesleri modüle eder [18]. Leptin reseptörü, Janus kinaz ve sinyal ileticisi transkripsiyon aktivatörü (JAK/STAT) yoluyla sinyal veren klas 1 sitokinlere benzer homolojiye sahiptir. Bu yolak kanserde sıklıkla disregüle olur [19].

Adiponektin başlıca viseral adipoz dokudan salgılanan bir hormondur. Adiponektin düzeyleri, leptinin aksine adipozite ile negatif korelasyona sahiptir. Adiponektin obezite ve hiperleptinemi ile ilişkili metabolik programı engellemek için glukoz metabolizmasını modüle eder, yağ asidi oksidasyonunu ve insülin sensitivitesini artırır ve enflamatuar sitokinlerin üretimini azaltır [20]. Adiponektinin antikanser etkisinin muhtemel mekanizmaları arasında insülin sensitivitesini artırması ve AMPK aktivasyonu ile de insülin/IGF-1 ve mTOR sinyalizasyonunu azaltması mevcuttur. Adiponektin proenflamatuar sitokin ekspresyonunu aktive B hücrelerindeki nükleer faktör kappa hafif zincir güçlendiriciyi de (NF-κB) inhibe ederek azaltır [21-23].

Leptin [23-25] veya adiponektinin [21, 26-28] kanser riski ile ilişkisi hakkında farklılıklar gösteren in vitro, hayvan ve epidemiyolojik kanıtlar vardır. Adiponektinin leptine oranı ile metabolik sendrom [29-31] ve bazı kanser türleri [32--34] arasında ilişkiler bildirilmiştir. Bu ilişkilerin daha ileri araştırmalara ihtiyaç vardır

3 Kronik Enflamasyon

3.1 Sitokinler ve Adipositlerin, Makrofajların ve Epitel Hücrelerinin Etkileşimi (Cross Talk)

Obezite ve metabolik sendrom, dolaşımda serbest yağ asitlerinin artışı ve immun hücrelerin (örn. enflamatuar medyatörler salgılayan makrofajlar) lokal ortama kimyasal çekimleri ile karakterize düşük dereceli ve kronik enflamasyon ile ilişkilidir [35-37]. Bu etkiler interlökin (IL)-1β, IL-6, TNF-α ve monosit kemoatraktan protein (MCP)-1 gibi enflamatuar sitokinlerin salgılanması ile daha da güçlenir. Adipositler efektif oksijen difüzyonunu bozarak hipoksiye ve nihayetinde nekroza neden olabilirler. Serbest yağ asitleri tıkanmış/nekrotik adipositlerden kaçarak diğer dokularda birikirler ve insülin rezistansı, diyabet (insülin reseptörlerinin ve glukoz taşıyıcılarının aşağı regülasyonu ile), hipertansiyon ve yağlı karaciğer hastalığını artırırlar. Aynı zamanda NF-κB gibi epitel karsinogenezinde rol oynayan sinyalizasyon moleküllerini aktive ederler [38].

NF-κB bakteryel ve viral stimülasyon, büyüme faktörleri ve enflamatuar moleküller (örn. Tnf-α, IL-6 ve IL-1β) ile aktive olan bir transkripsiyon faktörüdür. Hücre proliferasyonu, apoptoz, enflamasyon, metastaz ve anjiogenez ile ilişkili gen ekspresyonu-

nu indüklerler. Birçok tümörün genel karakteristiği olan NF-κB aktivasyonu, insülin rezistansı, dolaşımdaki leptin, insülin ve/veya IGF-1 düzeylerinin artışı ile ilişkilidir [39, 40].

3.2 Enflamasyon ve Kanser

Kronik enflamasyon ile kanser arasındaki bağlantı ilk olarak yaklaşık 150 yıl önce neoplastik dokularda aşırı miktarda lökosit olduğunu gözleyen Rudolph Virchow tarafından fark edildi [41]. Günümüzde kanserin ana özelliklerinden biri olan enflamasyonun kanser riskinde artışa yol açtığını gösteren kanıtlar giderek artmaktadır [42-44]. Çeşitli dokuların spesifik enflamatuar lezyonlarının invazif kanserin neoplastik prekürsorları olduğu tespit edilmiştir. Gastrik kanser için gastrit, kolon kanseri için enflamatuar barsak hastalığı ve pankreatik kanser için pankreatit bu prekürsorlardan bazılarıdır [45-46].

Tümör mikroçevreleri epitel hücreleri, fibroblastlar, mast hücreleri ve immun sistemin kalıtsal ve adaptif hücreleri gibi birçok hücre tipinden oluşmaktadır [46, 47]. Yukarıda da anlatıldığı üzere, obezlerde aktive olan makrofajlar tümörlere infiltre olarak çoğunlukla NF-κB'ye bağımlı sitokin ve anjiogenik faktörlerin üretimi ile enflamatuar tümör mikroçevresini şiddetlendirirler [46]. Birçok tümör tipinde yukarı regüle olan kanserle ilişki başka bir önemli enflamatuar medyatör olan siklooksijenaz (COX)-2, potent enflamatuar lipid metaboliti prostoglandin E2 sentezini katalize eder. COX-2'nin aşırı ekspresyonu birçok kanser tipi için kötü prognoz göstergesidir [48].

Bazı kanserlerde enflamatuar şartlar malign değişikliklerin (yukarıda da bahsedildiği üzere) öncüsü iken diğer bazı kanser tiplerinde ise genetik değişimler ve premalign değişimler enflamatuar mikroçevre ve neoplaziden önce görülür [44]. Bundan dolayı enflamasyon maligniteleri başlatabilir veya şiddetlendirebilir. Enflamasyon markerlerinin artması kanserin nedeni ve/veya sonucu olabilir [43, 44]. Enflamatuar mikroçevre her iki senaryoda da, genetik instabilite ve kanserle ilgili hücre proliferasyonu ve sağkalımı, anjiogenez ve metastazla ilgili olan disregüle enflamasyon yolakları ile tümörlerin gelişimine katkı yapar [42, 43, 49].

4 Mikroçevresel Faktörler

4.1 Vasküler Bozukluklar

Adipositler ve tümör hücreleri tarafından üretilen bir heparin bağlayıcı protein olan VEGF endotel hücrelerine spesifik olarak anjiogenik, mitojenik ve vasküler permeabilite artıcı aktiviteye sahiptir [50]. Obezlerde VEGF'nin dolaşımdaki düzeyleri normal kilolu insanlar ve hayvanlara göre artmıştır. VEGF'nin tümöral ekspresyonunun artma-

sı, obezite ile ilişkili bazı kanser türlerindeki kötü prognoz ile ilişkilidir [51]. Besinler ve oksijen tümör hücrelerinin VEGF üretimini tetikleyerek hızlı büyüyen tümörü besleyen yeni kan damarlarının oluşumuna yol açarak tümör hücrelerinin metastatik yayılımını kolaylaştırabilirler [50].

Adipositler endotel hücreleri ile bir dizi proanjiogenik ve vasküler permeabilite artırıcı faktör üreterek iletişime geçerler. Bunlar arasında VEGF, IGF-1, PAI-1, leptin, hepatosit büyüme faktörü ve fibroblast büyüme faktörü-2 mevcuttur [52]. Bu faktörler tümör bulunmayan obezlerde artan yağ kütlesini destekleyebilmek için neovaskülarizasyonu stimüle edebilirler. Adipoz doku kaynaklı bu faktörler obezite ile bağlantılı tümör anjiogenezine de katkı yapabilirler. Konvansiyonel kemoterapi ile kombine edilen bevakizumab bazlı tedavi (örn. anti-VEGF tedavi) ileri kolorektal kanseri olan hastalarda birinci basamak tedavi opsiyonudur. Ancak tedavi etkisinin obez hastalarda azaldığı bildirilmiştir. Bu durumun viseral beyaz adipoz doku tarafından üretilen VEGF düzeylerinde (ve/veya proanjiogenik faktörlerde) artış ile ilişkili olduğu speküle edilmiştir [53, 54]. Tümör kaynaklı ve adiposit kaynaklı proanjiogenik faktörlerin tümör gelişimi, progresyonu ve metastazı üzerindeki rölatif katkı düzeyleri henüz netleşmemiştir.

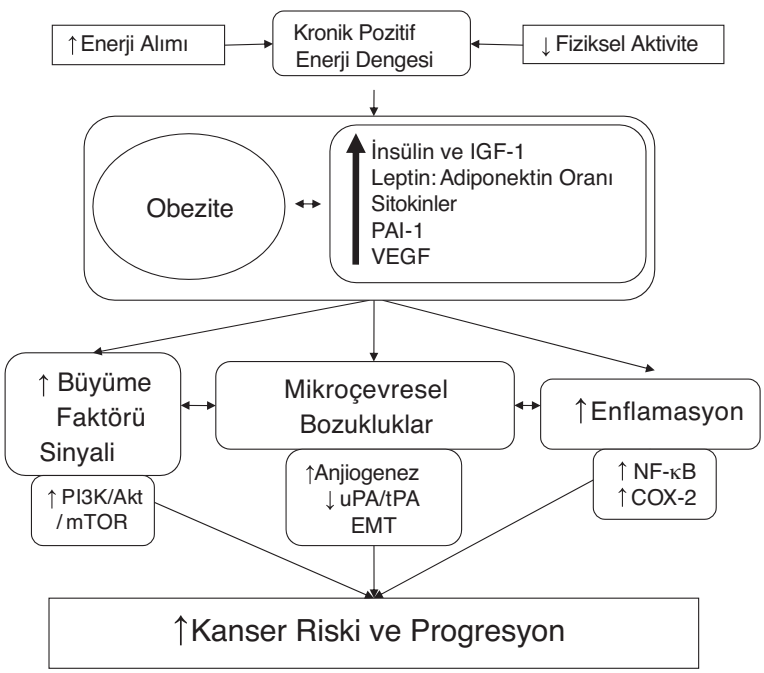
PAI-1 endotel hücreleri, stroma hücreleri ve viseral beyaz adipoz doku tarafından salgılanan serin proteaz inhibitörüdür [55]. Obez bireylerde sıklıkla görülen dolaşımdaki PAI-1 düzeylerinin yükselmesinin aterojenez, kardiyovasküler hastalık, diyabet ve çeşitli kanser risklerinde artış ile ilişkili olduğu bulunmuştur [4, 55]. PAI-1 ürokinaz tipi ve doku tipi plazminojen aktivatörlerini inhibe ederek fibrinolizi ve ekstraselüler matriksin entegrasyonunu regüle eder. PAI-1 aynı zamanda anjiogenez ile de ilgili olduğu için tümör hücrelerinin büyüme, invazyon ve metastazlarına katkı yapabilir [4]. Obez bireylerdeki PAI-1 düzeyleri kilo kaybı veya Tnf-α blokajı ile azaltılabiliyor da olsa [56, 57], tümör gelişimindeki rolü hala tartışmalıdır [55].

4.2 Epitelyal Mezenkimal Geçiş

Kanserle ilgili fare modeli çalışmaları tipik olarak insan tümör hücrelerinin immun yetmezlikli fareye ksenotransplantasyonu ile yapılır [58, 59]. Ancak ksenogreft modelleri normal tümör mikroçevresinden yoksun olmaları nedeniyle son derece kısıtlıdır. Meme bezi gelişimleri bozulmuş olan immun yetmezlikli fareler normal immun/enflamatuar cevap oluşturamazlar. Diyetle indüklenen obezite ve kalori kısıtlaması fenotiplerinin geliştirilmesine karşı dirençli olmaları, bu sistemdeki enerji dengesi ile kanser gelişimi ve progresyonu arasındaki ilişkinin aydınlatılmasına engel olmaktadır. Bu kısıtlamaları aşmanın bir yolu immunolojik yönden normal olan farelerde eş genetiğe sahip transplant modelleri oluşturarak enerji dengesi-kanser ilişkisinin incelenmesini sağlamaktır. Örneğin laboratuvarımızın güncel bir yayınında klaudin-düşük ve bazal hücreli benzeri meme kanserinde transplant modelinin geliştirilmesi ve karakteristikleri tanımlanmaktadır. Bu model ile mevcut ksenograft modellerinin kısıtlamaları aşılmıştır: (a) MMTV-Wnt-1 faresinin spontan meme tümöründen alınan hücreler kadınlardaki bazal hücreli benzeri meme kanserleri gibi kalori kısıtlamasına ve obeziteye cevap verir, ve (b) Doğal

türden üretilmiş eş genetiğe sahip farelerin immun fonksiyonları, meme bezi gelişimi ve enerji dengesi modülasyonuna verdikleri cevaplar normaldir [60].

Bu modeldeki bulgularımız enerji dengesi ile epitelyal mezenkimal geçiş (EMT) ve meme kanseri progresyonundaki tümör başlatıcı hücreler arasında mekanik bir link olduğunu göstermektedir [60]. Diyetle indüklenen obezitenin verimli toprağı (tümör mikroçevresi) EMT, intratümöral adipositler, lokal ve sistemik hormonlar, büyüme faktörleri ve sitokinlerdeki değişimleri de kapsayacak şekilde hazırlayabileceğini spekülе ettik. Hazırlanan bu ortamdaki büyümenin belirleyicileri arasında bitki çeşitliliği (intrinsik meme kanseri alt tipi) ve/veya tohum dansitesi (tümör başlatıcı hücrelerin kapsamı) mevcuttur. Buna karşın kalori kısıtlaması ile (diyetle indüklenen obezitenin aksine etki ile) epitel farklılaşmasının artışı, EMT'nin engellenmesi, intratümöral adiposit infiltrasyonunun engellenmesi, sistemik hormonların, büyüme faktörlerinin ve sitokinlerin azaltılması ile tümör gelişimi yavaşlatılabilir. Diyetle indüklenen obezitenin meme kanserinin farklı alt tipleri ile diğer epitel kanserlerindeki tümör geliştirici etkisinin, tümör başlatıcı hücrelerin kapsamına bağlı olup olmadığının anlaşılması ve kalori kısıtlamasının meme kanseri progresyonunda diyetle indüklenen obeziteye göre farklı bir yolağı (belki de tümör başlatıcı hücrelerden bağımsız olarak) hedefleyip hedeflemediğinin tespiti için yeni çalışmalara ihtiyaç vardır.



Şekil 1. Obezite ve kanser: Mekanizmalara genel bakış Metindeki oklar etkinin yönünü gösterir (örn. aktivite veya konsantrasyon). Kısaltmalar: *IGF-1* İnsülin benzeri büyüme faktörü-1; *uPA* ürokinaz tipi plazminojen aktivatörü; *VEGF* vasküler endotelyal büyüme faktörü; *EMT* epitelyal mezenkimal geçiş.

Bundan dolayı EMT komponentleri kanserin önlenmesinde ve kontrolünde yeni ve özgün bir hedef olabilir. Ayrıca özellikle obez kadınlarda enerji denge modülasyonu ve diğer girişimler için özgün bir yanıt biyomarkeri olabilir. Enerji modülasyonuna cevap veren büyüme sinyalizasyon yolaklarının tümör hücrelerinin farklılaşmalarını ve tümör başlatıcı hücrelerin proliferasyonunu, obezite ile ilişkili serum hormonları ve sitokinlerin (bu inceleme de sözü geçenler de dahil) yukarı regülasyonu ile kontrol etmeleri akla yakın bir varsayımdır. Örnek olarak dolaşımdaki IGF-1 düzeylerinin artmasının pre- ve postmenopozal kadınlarda meme kanseri riskinde artışla ilgili olması [61, 62] ve hayvan modellerinde tümör büyümesini hızlandırması verilebilir [16, 17, 63]. IGF-1 meme bezinin gelişimi sırasında normal meme kök hücrelerinin büyümelerinin stimüle edilmesinde de önemli rol oynamaktadır [64]. Ayrıca IGF-1 reseptör sinyali hepatositlerdeki SLUG-aracılığı ile gerçekleşen EMT'yi güçlendirir [65] ve prostat kanseri hücrelerinde ZEB1 aracılığı ile gerçekleşen EMT'yi artırır [66]. Ancak IGF-1 reseptörünün meme kanseri hücrelerindeki EMT ile ilişkisi hakkında bilgi yoktur. Diyabette kullanılan standart bir ilaç olan ve insülin sensitivitesini artıran metformin tümör başlatıcı hücrelerin proliferasyon ve sağkalımlarını efektif olarak inhibe etmektedir [67, 68]. Obezite ile ilişkili olarak serum leptin seviyelerinin artışının, meme kanseri riski ve prognoz ile ilişkili olduğu daha önce gösterilmiştir [69]. Leptin hücrelerin kaderine ve hepatik stellat hücrelerdeki EMT'ye katkı yapan Hedgedhog sinyalini aktive ederek gen ekspresyon programlarını değiştirir [70].

5 Özet ve Sonuçlar

Obezite sıklıkla aşırı enerji alımı ve/veya azalmış enerji harcaması sonucunda ortaya çıkan kronik pozitif enerji dengesinden kaynaklanır (Şekil 1). Metabolik sonuçları arasında, dolaşımdaki insülin ve biyolojik olarak kullanılabilir IGF-1 düzeylerini artırması ile adipokin, sitokin ve proanjiogenik/vasküler entegrasyon faktörlerinde değişimlere yol açması vardır. Bu kritik sistem regülatörlerinin yolaklarının aşağı yönlü aktivasyonu ile büyüme faktörü sinyallerinde artış, vasküler bozukluklar, enflamasyon, mikroçevrenin kanser lehine değişimi (örn. EMT) görülür. Bu nedenle kanser gelişimi ve/veya progresyonu hızlanabilir. **Birbiri ile ilişkili olan bu yolakların komponentleri, obez veya metabolik regülasyonu bozuk bireylerdeki kanserin önlenmesi veya kontrolünde uygulanabilecek hayat tarzı veya farmakolojik girişimler için mekanizmaya dayalı ümit verici hedefler ortaya koymaktadır.** Obeziteyle ilgili kanserlerin önlenmesi ve kontrolü amacıyla kullanılacak mekanizmaya dayalı yeni girişim hedeflerinin belirlenebilmesini hızlandırmak için obeziteye cevap veren büyüme sinyali, enflamasyon, mikroçevre regüle edici yolaklar ile kanserin spesifik komponentleri arasındaki ilişkiyi tespit edecek çalışmalara ihtiyaç vardır.

Teşekkürler: Dr. S. Hursting'e kısmi maddi destek sağlayanlar: the National Cancer Institute (R01CA129409 and R01CA135306), the Breast Cancer Research Foundation (UTA09-001068), ve the National Institute of Environmental Health Sciences (P30ES007784).

Referanslar

1. Flegal KM, Carroll MD, Ogden CL, Curtin LR (2010) Prevalence and trends in obesity among US adults, 1999–2008. JAMA 303:235–241
2. Ford ES, Li C, Zhao G (2010) Prevalence and correlates of metabolic syndrome based on a harmonious definition among adults in the US. J Diabetes 2:180–193
3. Hursting SD, Berger NA (2010) Energy balance, host-related factors, and cancer progression. J Clin Oncol 28:4058–4065
4. Carter JC, Church FC (2009) Obesity and breast cancer: the roles of peroxisome proliferator-activated receptor-gamma and plasminogen activator inhibitor-1. PPAR Res 345320:13
5. Poirier P, Giles TD, Bray GA, Hong Y, Stern JS, Pi-Sunyer FX, Eckel RH (2006) Obesity and cardiovascular disease: pathophysiology, evaluation, and effect of weight loss. Arterioscler Thromb Vasc Biol 26:968–976
6. World Cancer Research Fund/American Institute for Cancer Research (2007) Food, nutrition, physical activity and the prevention of cancer: a global perspective. AICR, Washington, DC
7. Calle EE, Rodriguez C, Walker-Thurmond K, Thun MJ (2003) Overweight, obesity, and mortality from cancer in a prospective studied cohort of U.S. adults. N Engl J Med 348:1625–1638
8. Stocks T, Borena W, Strohmaier S, Bjorge T, Manjer J, Engeland A, Johansen D, Selmer R, Hallmans G, Rapp K, Concin H, Jonsson H, Ulmer H, Stattin P (2010) Cohort profile: the metabolic syndrome and cancer project (Me-Can). Int J Epidemiol 39:660–667
9. Braun S, Bitton-Worms K, LeRoith D (2011) The link between the metabolic syndrome and cancer. Int J Biol Sci 7:1003–1015
10. Pollak M (2008) Insulin and insulin-like growth factor signalling in neoplasia. Nat Rev Cancer 8:915–928
11. Hursting SD, Smith SM, Lashinger LM, Harvey AE, Perkins SN (2010) Calories and carcinogenesis: lessons learned from 30 years of calorie restriction research. Carcinogenesis 31:83–89
12. Wong KK, Engelman JA, Cantley LC (2010) Targeting the PI3K signaling pathway in cancer. Curr Opin Genet Dev 20:87–90
13. Memmott RM, Dennis PA (2009) Akt-dependent and -independent mechanisms of mTOR regulation in cancer. Cell Signal 21:656–664
14. Lindsley JE, Rutter J (2004) Nutrient sensing and metabolic decisions. Comp Biochem Physiol B: Biochem Mol Biol 139:543–559
15. Moore T, Beltran LD, Carbajal S, Strom S, Traag J, Hursting SD, DiGiovanni J (2008) Dietary energy balance modulates signaling through the Akt/mammalian target of rapamycin pathway in multiple epithelial tissues. Cancer Prev Res 1:65–76
16. De Angel RE, Conti CJ, Wheatley KE, Brenner AJ, deGraffenried LA, Hursting SD. The enhancing effects of obesity on mammary tumor growth and Akt/mTOR pathway activation persist after weight loss and are reversed by Rad001. Mol Carcinog Jan 30 [epub ahead of print]
17. Nogueira LM, Dunlap SM, Ford NA, Hursting SD (2012) Calorie restriction and rapamycin inhibit MMTV-Wnt-1 mammary tumor growth in a mouse model of postmenopausal obesity. Endocr Relat Cancer 19:57–68
18. Gautron L, Elmquist JK (2011) Sixteen years and counting: an update on leptin in energy balance. J Clin Invest 121:2087–2093
19. Villanueva EC, Myers MG (2008) Leptin receptor signaling and the regulation of mammalian physiology. Int J Obes (Lond). 32(Suppl 7):S8–S12
20. Vaiopoulos AG, Marinou K, Christodoulides C, Koutsilieris M (2012) The role of adiponectin in human vascular physiology. Int J Cardiol 155:188–193
21. Barb D, Williams CJ, Neuwirth AK, Mantzoros CS (2007) Adiponectin in relation to malignancies: a review of existing basic research and clinical evidence. Am J Clin Nutr 86:s858–s866

22. Stofkova A (2009) Leptin and adiponectin: from energy and metabolic dysbalance to inflammation and autoimmunity. Endocr Regul 43:157–168
23. Stattin P, Lukanova A, Biessy C, Soderberg S, Palmqvist R, Kaaks R, Olsson T, Jellum E (2004) Obesity and colon cancer: does leptin provide a link? Int J Cancer 109:149–152
24. Wu MH, Chou YC, Chou WY, Hsu GC, Chu CH, Yu CP, Yu JC, Sun CA (2009) Circulating levels of leptin, adiposity and breast cancer risk. Br J Cancer 100:578–582
25. Fenton JI, Hord NG, Lavigne JA, Perkins SN, Hursting SD (2005) Leptin, insulin-like growth factor-1, and insulin-like growth factor-2 are mitogens in ApcMin/+ but not Apc+/+ colonic epithelial cells. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 14:1646–1652
26. Grossmann ME, Nkhata KJ, Mizuno NK, Ray A, Cleary MP (2008) Effects of adiponectin on breast cancer cell growth and signaling. Br J Cancer 98:370–379
27. Rzepka-Gorska I, Bedner R, Cymbaluk-Ploska A, Chudecka-Glaz A (2008) Serum adiponectin in relation to endometrial cancer and endometrial hyperplasia with atypia in obese women. Eur J Gynaecol Oncol 29:594–597
28. Tian YF, Chu CH, Wh MH, Chang CL, Yang T, Chou YC, Hsu GC, Yu CP, Yu JC, Sun CA (2007) Anthropometric measures, plasma adiponectin, and breast cancer risk. Endocr Relat Cancer 14:669–677
29. Jung CH, Rhee EJ, Choi JH, Bae JC, Yoo SH, Kim WJ, Park CY, Mok JO, Kim CH, Lee WY, Oh KW, Park SW, Kim SW (2010) The relationship of adiponectin/leptin ratio with homeostasis model assessment insulin resistance index and metabolic syndrome in apparently healthy Korean male adults. Korean Diabetes J 34:237–243
30. Mirza S, Qu HQ, Li Q, Martinez PJ, Rentfro AR, McCormick JB, Fisher-Hoch SP (2011) Adiponectin/leptin ratio and metabolic syndrome in a Mexican American population. Clin Invest Med 34:E290
31. Labruna G, Pasanisi F, Nardelli C, Caso R, Vitale DF, Contaldo F, Sacchetti L (2011) High leptin/adiponectin ratio and serum triglycerides are associated with an "at-risk" phenotype in young severely obese patients. Obesity 19:1492–1496
32. Cleary MP, Ray A, Rogozina OP, Dogan S, Grossman ME (2009) Targeting the adiponectin:leptin ratio for postmenopausal breast cancer prevention. Front Biosci 1:329–357
33. Ashizawa N, Yahata T, Quan J, Adachi S (2010) Yoshihara, Tanaka K. Serum leptin-adiponectin ratio and endometrial cancer risk in postmenopausal female subjects. Gynecol Oncol 119:65–69
34. Chen DC, Chung YF, Yeh YT, Chaung HC, Kuo FC, Fu OY, Chen HY, Hou ME, Yuan SS (2006) Serum adiponectin and leptin levels in Taiwanese breast cancer patients. Cancer Lett 237:109–114
35. Harvey AE, Lashinger LM, Hursting SD (2011) The growing challenge of obesity and cancer: an inflammatory subject. Ann NY Acad Sci 1229:45–52
36. Subbaramaiah K, Howe LR, Bhardway P, Du B, Gravaghi C, Yantiss RK, Zhou XK, Blaho VA, Hia T, Yang P, Kopelovich L, Hudis CA, Dannenberg AJ (2011) Obesity is associated with inflammation and elevated aromatase expression in the mouse mammary gland. Cancer Prev Res 4:329–346
37. Olefsky JM, Glass CK (2010) Macrophages, inflammation, and insulin resistance. Annu Rev Physiol 72:219–246
38. O'Rourke RW (2009) Inflammation in obesity-related diseases. Surgery 145:255–259
39. Renehan AG, Roberts DL, Dive C (2008) Obesity and cancer: pathophysiological and biological mechanisms. Arch Physiol Biochem 114:71–83
40. Karin M (2006) Nuclear factor-kappaB in cancer development and progression. Nature 441:431–436
41. Virchow R (1863) Die Krankenhasften Geschwulste. Verlag von August Hirchwald; Berlin, Germany. Aetologie der neoplastichen Geschwelste/Pathogenie der neoplastischen Geschwulste p 58
42. Aggarwal BB, Gehlot P (2009) Inflammation and cancer: how friendly is the relationship for patients? Curr Opin Pharmacol 9:351–369

43. Ono M (2008) Molecular links between tumor angiogenesis and inflammation: inflammatory stimuli of macrophages and cancer cells as targets for therapeutic strategy. Cancer Sci 99:1501–1506
44. Del Prete A, Allavena P, Santoro G, Fumarulo R, Corsi MM, Mantovani A (2011) Molecular pathways in cancer-related inflammation. Biochem Med 21:264–275
45. Foltz CJ, Fox JG, Cahill R, Murphy JC, Yan L, Shames B, Schauer DB (1998) Spontaneous inflammatory bowel disease in multiple mutant mouse lines: association with colonization by Helicobacter hepaticus. Helicobacter 3:69–78
46. Coussens LM, Werb Z (2002) Inflammation and cancer. Nature 420:860–867
47. Allavena P, Sica A, Garlanda C, Mantovani A (2008) The Yin-Yang of tumor-associated macrophages in neoplastic progression and immune surveillance. Immunol Rev 222:155–161
48. Koki A, Khan NK, Woerner BM, Dannenberg AJ, Olson L, Seibert K, Edwards D, Hardy M, Isakson P, Masterrer JL (2002) Cyclooxygenase-2 in human pathological disease. Adv Exp Med Biol 507:177–184
49. Kunku JK, Surh YJ (2008) Inflammation: gearing the journey to cancer. Mutat Res 659:15–30
50. Byrne AM, Bouchier-Hayes DJ, Harmey JH (2005) Angiogenic and cell survival functions of vascular endothelial growth factor (VEGF). J Cell Mol Med 9:777–794
51. Liu Y, Tamimi RM, Collins LC, Schnitt SJ, Gilmore HL, Connolly JL, Colditz GA (2011) The association between vascular endothelial growth factor expression in invasive breast cancer and survival varies with intrinsic subtypes and use of adjuvant systemic therapy: results from the Nurses' Health Study. Breast Cancer Res Treat 129:175–184
52. Cao Y (2007) Angiogeneis modulates adipogenesis and obesity. J Clin Invest 117:2362–2368
53. Renehan AG (2010) Body fatness and bevacizumab-based therapy in metastatic colorectal cancer. Gut 59:280–290
54. Simkens LH, Koopman M, Mol L, Veldhuis GJ, Ten Huinink Bokkel D, Muller EW, Derleyn VA, Teerenstra S, Punt CJ (2011) Influence of body mass index on outcome in advanced colorectal cancer patients receiving chemotherapy with or without targeted therapy. Eur J Cancer 47:2560–2567
55. Iwaki T, Urano T, Umemura K (2012) PAI-1, progress in understanding the clinical problem and its aetiology. Br J Haematol 157:291–298
56. Skurk T, Hauner H (2004) Obesity and impaired fibrinolysis: role of adipose production of plasminogen activator inhibitor-1. Int J Obes Relat Metab Disord 28:1357–1364
57. Muldowney JA, Chen Q, Blakemore DL, Vaughan DE (2012) Pentoxifylline lowers plasminogen activator inhibitor 1 levels in obese individuals: a pilot study. Angiology 21 Feb [epub ahead of print]
58. de Jong M, Maina T (2010) Of mice and humans: are they the same?–implications in cancer translational research. J Nucl Med 51:501–504
59. Charafe-Jauffret E, Monville F, Ginestier C, Dontu G, Birnbaum D, Wicha MS (2008) Cancer stem cells in breast: current opinion and future challenges. Pathobiology 75:75–84
60. Dunlap SM, Chiao LJ, Nogueira L, Usary J, Perou CM, Varticovski L, Hursting SD (2012) Obesity enhances epithelial-to-mesenchymal transition, cancer stem cell enrichment, and tumor progression in a novel Wnt-1 mammary cancer model. Cancer Prev Res 15 May (Epub ahead of print)
61. DeLellis K, Ingles S, Kolonel L, McKean-Cowdin R, Henderson B, Stanczyk F et al (2003) IGF1 genotype, mean plasma level and breast cancer risk in the Hawaii/Los Angeles multiethnic cohort. Br J Cancer 88:277–282
62. Baglietto L, English DR, Hopper JL, Morris HA, Tilley WD, Giles GG (2007) Circulating insulin-like growth factor-I and binding protein-3 and the risk of breast cancer. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 16:763–768
63. Nunez NP, Perkins SN, Smith NC, Berrigan D, Berendes DM, Varticovski L, Barrett JC, Hursting SD (2008) Obesity accelerates mouse mammary tumor growth in the absence of ovarian hormones. Nutr Cancer 60:534–541

64. Ruan W, Kleinberg DL (1999) Insulin-like growth factor I is essential for terminal end bud formation and ductal morphogenesis during mammary development. Endocrinology 140:5075–5081
65. Sivakumar R, Koga H, Selvendiran K, Maeyama M, Ueno T, Sata M (2009) Autocrine loop for IGF-I receptor signaling in SLUG-mediated epithelial-mesenchymal transition. Int J Oncol 34:329–338
66. Graham TR, Zhau HE, Odero-Marah VA, Osunkoya AO, Kimbro KS, Tighiouart M et al (2008) Insulin-like growth factor-I-dependent up-regulation of ZEB1 drives epithelial-to-mesenchymal transition in human prostate cancer cells. Cancer Res 68:2479–2488
67. Wysocki PJ, Wierusz-Wysocka B (2010) Obesity, hyperinsulinemia and breast cancer: novel targets and a novel role for metformin. Expert Rev Mol Diagn 10:509–519
68. Hirsch HA, Iliopoulos D, Tsichlis PN, Struhl K (2009) Metformin selectively targets cancer stem cells, and acts together with chemotherapy to block tumor growth and prolong remission. Cancer Res 69:7507–7511
69. Wu MH, Chou YC, Chou WY, Hsu GC, Chu CH, Yu CP et al (2009) Circulating levels of leptin, adiposity and breast cancer risk. Br J Cancer 100:578–582
70. Choi SS, Syn WK, Karaca GF, Omenetti A, Moylan CA, Witek RP et al (2010) Leptin promotes the myofibroblastic phenotype in hepatic stellate cells by activating the hedgehog pathway. J Biol Chem 285:36551–36560

Meyve ve Sebzeler: WCFR/AICR Kanserin Önlenmesi İçin Hayat Tarzı Önerilerindeki Epidemiyolojik Kanıtların Güncellenmesi

Teresa Norat, Dagfinn Aune, Doris Chan ve Dora Romaguera

Özet

Dünya Kanser Araştırma Fonu/Amerikan Kanser Araştırma Enstitüsü (WCRF/AICR) tarafından yayınlanan kanserden korunma amaçlı güncel diyet önerileri "günde en az 5 porsiyon çeşitli nişastasız sebze ve/veya meyve tüketilmesi gereklidir" cümlesini içermektedir. WCRF/AICR'nin en güncel yayınında (2007) meyve ve sebzelerin kanserden koruyucu etkileri ile ilgili ağız, farenks ve larenks, özofagus, mide, akciğer kanseri için "muhtemel", nasofarenks, akciğer, kolorektum, over, endometrium, pankreas, karaciğer kanserleri için de "sınırlı anlamlı" ifadeleri yer almaktadır. WCRF/AICR tarafından 1997 yılında yayınlanan daha önceki bir bildiride ise meyve ve sebzelerin kanser riskiyle ilişkileri hakkındaki kanıtların ikna edici olduğu belirtilmiştir. Bu yargı esas olarak vaka kontrol çalışmalarına dayanmaktaydı. Meyve ve sebze tüketiminin kolorektal, meme ve pankreas kanseri ile ilişkisi Sürekli Güncelleme Projesi (CUP) tarafından tekrar incelenmiştir. Elde edilen sonuçlar metaanalizlerde kantitatif olarak özetlenmiştir. CUP elindeki yeni verilerle WCRF/AICR'nin meyve ve sebzelerin kanser etyolojisindeki rolleri hakkında ikna edici kanıtlar olmadığını bildiren ikinci uzman raporunu konfirme etmiştir. Ancak diyet lif tüketiminin kolorektal kanserdeki rolü ile ilgili CUP tarafından toplanan veriler daha tutarlıdır. CUP uzman paneli diyet lifinin kolorektal kanser etyolojisindeki rolünü kısa süre önce "muhtemel" düzeyinden "ikna edici" düzeyine yükseltmiştir.

T. Norat (✉) · D. Aune · D. Chan · D. Romaguera
Department of Epidemiology and Biostatistics, School of Public Health, Imperial College London, St. Mary's Campus, Norfolk, Place, Paddington, UK W2 1PG, London
e-mail: t.norat@imperial.ac.uk

V. Zappia et al. (eds.), *Advances in Nutrition and Cancer,*
Cancer Treatment and Research 159, DOI: 10.1007/978-3-642-38007-5_3,
© Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2014

Anahtar Kelimeler
Hayat Tarzı Tavsiyeleri • Kanserin önlenmesi • Kanser riski

Kısaltmalar

WCRF/AICR	Dünya Kanser Araştırma Fonu/Amerikan Kanser Araştırma Enstitüsü
CUP	Sürekli Güncelleme Projesi
RR	Rölatif Risk
EPIC	Avrupa Kanser ve Nütrisyon Araştırması

İçindekiler

1 Giriş 36
2 Sürekli Güncelleme Projesi 39
3 Meyve, Sebze ve Kanser Riskinin ilişkisi ile İlgili Epidemiyolojik Kanıtlar 40
4 Sürekli Güncelleme Projesinden Bitkisel Gıdaların Meme, Kolorektal ve Pankreas Kanserleri ile İlişkisi Hakkında Güncel Kanıtlar 41
5 WCRF/AICR Önerilerine Uyum Bir Popülasyondaki Kanser Riskini Azaltır mı? 46
5 Sonuç Değerlendirmesi 48
Referanslar 49

1 Giriş

Dünya Kanser Araştırma Fonu (WCRF) ve Amerikan Kanser Araştırma Enstitüsü (AICR) 2007 yılında "Gıda, Nütrisyon, Fiziksel Aktivite ve Kanserin Önlenmesi: Global bir Perspektif" başlıklı İkinci Uzman Raporu'nu yayınladı [24]. İkinci Uzman Raporu kanserin önlenmesi için bu alandaki bilimsel kanıtların kapsamlı incelemesine dayanan on adet öneri içermektedir. Bu raporu "Kanser Önleme Politikası ve Faaliyetleri: Gıda, Nütrisyon ve Fiziksel Aktivite - Global bir Perspektif" başlıklı ikinci yayın [25] takip etti. Rapor politikalar ve politikacılar ile ilgili faaliyetler, politika yapıcılar, sağlık profesyonelleri ve diğer partiler ile ilgili öneriler içeriyordu. Öneriler gıda tüketimi ve fiziksel aktivite paternlerinin sosyal, kültürel, politik ve ekonomik faktörlerden etkilendiği prensibinden yola çıkarak hazırlanmıştı.

İkinci Uzman Raporu bu konuda yayınlamış en otoriter analiz olma özelliğini de taşıyordu. İkinci Uzman Raporunun yazılma süreci bir grup uzmanın (Çalışma Grubu) sistematik analizler, gözlemsel epidemiyolojik çalışmalar ve kanser etyolojisinin gıda, nütrisyon ve fiziksel aktivite ile ilişkisini araştıran girişimsel çalışmalarda kullanılan detaylı metodolojileri değerlendirilmesi ile başlamıştır [23, http://www.dietandcancerreport.org/cancer_resource_center /downloads/SLR_Manual.pdf]. Kullanılan spesifikasyon kılavuzunun fizibilitesi, kullanışlılığı ve çoğaltılabilirlik düzeyi endometrium kanserini test konusu olarak kullanan iki bağımsız akademik enstitü tarafından test edildi [22]. Gıda, nütrisyon ve fiziksel aktivitenin on yedi kanser türü ve kanser sağkalımı ile ilişkisi hakkındaki epidemiyolojik kanıtlar ve obezitenin belirleyici faktörleri Avrupa ve ABD'deki dokuz akademik araştırma kurumunda sistematik olarak incelendi.

Epidemiyolojik, deneysel ve laboratuvar araştırmalarının sistematik analizi WCRF/AICR tarafından atanan uluslararası uzman panelinin gıdaların, nütrisyonun, fiziksel aktivitenin ve şişmanlığın kanser etyolojisindeki rolüyle ilgili kanıtları değerlendirip kategorilendirerek kanserin önlenmesi ile ilgili öneriler ve halk sağlığı hedefleri belirlemelerinin temelini oluşturmuştur. Diğer hastalıkların önlenmesi ile ilgili önerilerde bulunan ulusal ve uluslararası raporlarda göz önüne alınarak kanserin önlenmesi ile ilgili önerilerin geniş bir halk sağlığı bakış açısıyla oluşturulması amaçlanmıştır. Panel kanıtları sunmadan önce her kategori için gerekli olan minimum kriterler üzerinde fikir birliğine varmıştır. Kategoriler ikna edici, muhtemel, sınırlı ve risk üzerinde anlamlı etki yapma olasılığı az olarak belirlenmiştir. Sınırlı kategorisi, nedensel ilişki düşünülen durumlar için "sınırlı anlamlı", çıkarım yapılamayan durumlar için de "sınırlı - çıkarım yok" olarak ikiye ayrılmıştır. Bunlara ek olarak esneklik sağlamak amacıyla, kanıtların belirli özellikleri çıkarımların derecesini yükseltmek veya düşürmek amacıyla kullanılmıştır. Önerilerin temelini çıkarımlar oluşturmuştur. Önerilerin oluşturulmasında sadece muhtemel veya ikna edici olarak sınıflandırılan çıkarımlar kullanılmıştır.

İkinci uzman raporu sekiz genel ve iki özel öneri içermektedir (Tablo 1). Öneriler halk sağlığına hitap edebilmek amacıyla geniş tabanlı bir yaklaşım kullanmıştır. Kanseri önlemeyi amaçlayan gıda ve diyet tavsiyeleri spesifik besin öğeleri ve kanser türlerine odaklanmak yerine genel bir yaklaşımla hazırlanmıştır.

Ancak bilimsel kanıtlar sürekli olarak artmaya devam etmektedir. Mevcut kanıtların ışığında yeni çalışmaların yapılması gerekmektedir. WCRF/AICR kanıtların sürekli olarak güncellenmesini sağlayabilmek için Londra Imperial College araştırmacıları ile işbirliği içinde Sürekli Güncelleme Projesini (CUP) yürütmektedir.

Tablo 1 2007 Dünya Kanser Araştırma Fonu/Amerikan Kanser Araştırma Enstitüsü Kanserin Önlenmesinde Bireysel Öneriler

Öneriler
ŞİŞMANLIK
Normal sınırlar içindeki vücut ağırlığına mümkün olduğu kadar yakın olunuz
Çocukluk ve adolesan dönemdeki vücut ağırlığından tahmin edilen 21 yaşındaki olası VKİ'nin normalin alt sınırına yakın olmasını sağlayınız
Vücut ağırlığının 21 yaşından itibaren normal sınırlar içinde kalmasını sağlayınız
Erişkin yaşam boyunca kilo alımını ve bel çevresi artışını engelleyiniz
FİZİKSEL AKTİVİTE
Fiziksel aktiviteyi günlük yaşamın bir parçası haline getirerek aktif kalınız
Günde en az 30 dakika tempolu yürüyebilecek şekilde orta derecede aktif kalınız
Egzersiz faydalı olduğu için hergün ≥ 60 dakika orta düzeyde veya ≥ 30 dakika hızlı tempolu egzersiz yapınız.
Televizyon seyretmek gibi sedanter alışkanlıkları azaltınız
KİLO ALIMINA YOL AÇAN YİYECEK VE İÇECEKLER
Enerji yoğun besinlerin tüketimini azaltınız Şekerli içeceklerden kaçınız
Enerji yoğun yiyecekleri az miktarda tüketiniz
Şekerli içeceklerden kaçınınız
"Fast food" ürünlerini az miktarda tüketiniz
BİTKİSEL BESİNLER
Çoğunlukla bitkisel kaynaklı gıdalar tüketiniz
Günde en az beş porsiyon (400 gr veya 14 oz) farklı çeşitlerde nişastasız sebze ve/veya meyve tüketiniz
Her öğünle görece olarak az işlenmiş tahil (taneli) ve/veya bakliyat tüketiniz
Rafine nişastalı besinleri azaltınız
Nişastalı kök ve yumru sebzeleri tüketenlerin nişastasız sebze, meyve ve baklagilleri de yemeleri gereklidir
HAYVANSAL GIDALAR
Kırmızı et tüketimini azaltınız ve işlenmiş et ürünlerinden kaçınınız
Kırmızı etin haftada 500 gr'dan (18oz) az tüketilmesi, işlenmiş et ürünlerinin de çok az miktarda yenilmesi uygundur
ALKOLLÜ İÇKİLER
Alkollü içecekleri azaltınız
Alkollü içkiler kullanılıyorsa, erkekler için günde iki kadeh, kadınlar için de günde bir kadeh ile sınırlayınız.
KORUMA, İŞLEME, HAZIRLAMA

*(*devam ediyor*)*

Tablo 1 (devam ediyor)

Öneriler
Tuz tüketimini azaltınız
Küflü tahıl (taneli) ve baklagillerden sakınınız
Koruma amaçlı tuz eklenen, tuzlanmış veya tuzlu gıdalardan sakınınız. Besinleri tuz kullanmadan koruyunuz
Tuz eklenerek işlenmiş gıdaları azaltınız. Günde 6 gr'dan (2.4 gr sodyum) tuz tüketiniz
Küflü tahıl (taneli) ve baklagilleri yemeyiniz
DİYET TAKVİYELERİ
Nütrisyonel hedefleri sadece diyet ile karşılamaya çalışınız
Diyet takviyeleri kanserin önlenmesinde tavsiye edilmemektedir
EMZİRME
Anneler emzirmeli; çocuklar emzirilmelidir
Bebek altı ay boyunca sadece anne sütü ile emzirilmelidir. Sonrasında ilave gıdalar ile devam edilir
KANSER HASTALARI
Kanser hastalığı ile ilişkili önerilere uyunuz
Her kanser hastası uygun eğitimli bir profesyonelden nütrisyon desteği almalıdır.
Yapılabiliyorsa farklı tavsiye edilmediği sürece diyet, sağlıklı kilo ve fiziksel aktivite ile ilgili önerilere uyulması hedeflenmelidir.
[24] nolu referanstan uyarlanmıştır

2 Sürekli Güncelleme Projesi

CUP gıda, nütrisyon, fiziksel aktivite, şişmanlık ve kanser riski ile ilgili literatürlerin sürekli olarak değerlendirildiği projedir [http://www.wcrf.org/cancer_ research/cup/index.php]. CUP yayınlanan kanıtlarla ilgili sistematik literatür analizini WCRF/AICR ikinci uzman raporunda kullanılan yönteme benzer şekilde gerçekleştirerek kanıtların incelenmesinde tutarlı bir yaklaşım sağlamayı hedeflemektedir. Ayrıca WCRF/AICR'nin atadığı diyet, fiziksel aktivite, obezite ve kanser konusunda lider bilim adamlarından oluşan bağımsız uzmanlar paneli de (CUP paneli) önerilerin yayınlanmasından önce CUP'ın ürettiği sistematik literatür analiz sonuçlarını mekanik çalışmaların kanıtları ile birlikte değerlendirerek gereken sonuçları çıkarmaktadır. Verileri toplayan ve özetleyenler ile bu verileri değerlendirenlerin farklı uzmanlar olmasının amacı, CUP'ın yaptığı veri analiz ve yorumlarının bağımsız bir şekilde gerçekleşmesini sağlayarak 2007 WCRF/ AICR kanser önleme önerilerinin gözden geçirilmesini ve gerektiğinde güncellenmesini sağlayacak temeli oluşturmaktır.

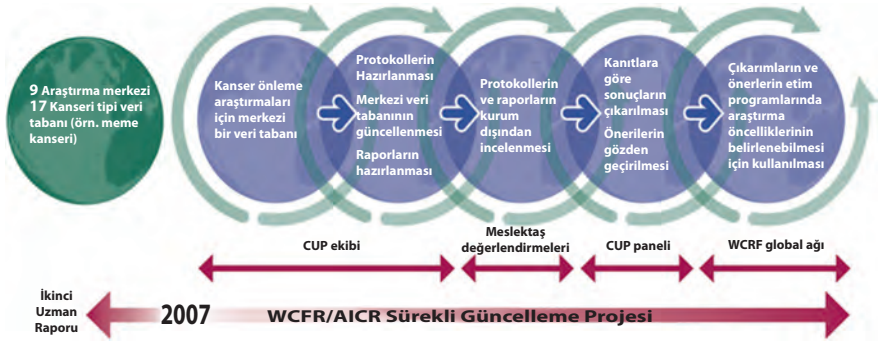
İkinci uzman raporundaki önerilerin çoğu prospektif ve randomize kontrollü çalışmaların sonuçları baz alınarak geliştirilmiştir. Bu süreçte yer alan iki çalışmanın dizaynları kanıt hiyerarşisinin üst basamağında yer almıştır [15]. Nütrisyon ve kanserle ilgili vaka kontrol ve kohort çalışmalarının birbirleri ile uyumlu sonuçlar vermediğini gösteren yaygın kanıtlar da mevcuttur [20]. Bu nedenle kohort ve randomize kontrollü çalışmalardan elde edilen kanıtlar CUP tarafından sürekli olarak incelenmektedir. Analizlerde vaka kontrol çalışmaları, kesitsel çalışmalar ve ekolojik çalışmalar yer almamaktadır.

CUP'ın bir özelliği de gıda, nütrisyon, fiziksel aktivite ve obezitenin kanser riski ile ilişkisini araştıran tüm kohort ve randomize kontrollü çalışmaların sonuçlarını içeren büyük veri tabanının sürekli olarak güncellenmesidir (Şekil 1). CUP veri tabanının sürekli güncellenmesinin ilk adımı sistematik kanser analizleri ile oluşturulan veri tabanlarının tek bir özgün veri tabanı içinde kombine edilerek toplanan tüm verilerin aynı formatla standardize edilmesidir. CUP nütrisyon ve kanser ile ilgili epidemiyolojik verileri içeren bilinen en büyük veri tabanına sahiptir. Bu veri tabanı uzman panelini bilgilendirmekte kullanılan CUP metaanalizlerinin kaynağıdır.

3 Meyve, Sebze ve Kanser Riskinin ilişkisi ile İlgili Epidemiyolojik Kanıtlar

2003 yılında meyve ve sebze tüketiminin kanser ile ilişkisini konu alan büyük ölçekli sistematik analizde vaka kontrol çalışmalarından alınan genel veriler meyve ve sebze tüketiminin özofagus, akciğer, mide ve kolorektal kanser riskini azalttığı görüşünü desteklemektedir. Meme kanseri riski sebze tüketimi ile ters orantılıdır. Ancak bu ilişki meyve tüketimi için geçerli değildir. Meyve tüketimi mesane kanseri ile ilişkili bulunurken bu ilişki sebze tüketimi için geçerli değildir. Ancak meyve ve sebze tüketiminin birçok kanser türünden koruyucu etkilerini araştıran kohort çalışmalarından elde edilen veriler, vaka kontrol çalışmaları verileri kadar ikna edici değildir. Kohort çalışmalarında sadece akciğer ve mesane kanserinin meyve tüketimi ile anlamlı bir bağlantısı tespit edilmiştir [20]. Vaka kontrol ve kohort çalışmalarının genel sonuçları arasındaki bu çelişkiler hatırlama veya seçim sapmalarından kaynaklanıyor olabilir. Diğer yandan bazı prospektif çalışmalarda da her kohorttaki diyet ölçümlerinin yanlış yapılmasından veya diyetle alınan gıda miktarlarındaki varyasyonların sınırlı olmasından kaynaklanan bazı ilişkilerin yeterince dikkate alınmamış olması mümkündür.

2007 yılında kohort çalışmalarından alınan daha kapsamlı kanıtlarla yayınlanan WCRF/AICR ikinci uzman raporunda meyve ve sebze kullanımının kanser riskini modifiye edebileceği yönündeki kanıtların tatminkar olmadığı sonucuna varılmıştır (Tablo 2). Raporda meyve ve sebze tüketiminin ağız, farenks, özofagus ve mide kanserleriyle muhtemelen ilişkili olduğu ifadesi de yer almıştır. Meyve tüketiminin akciğer kanseriyle,



Şekil 1 Sürekli Güncelleme Projesinin İşleyişi.

karoten içeren gıdaların prostat kanseriyle, folat içeren gıdaların da pankreas kanseriyle muhtemel ilişkisi olduğu bildirilmiştir.

Bu yargıların büyük bölümü vaka kontrol çalışmalarının sonuçlarına dayanmaktadır. Kanser riskinde azalmaya yol açan diyetlerin çoğunun bitkisel gıdalardan oluştuğu yönündeki entegre bir yaklaşımı [24] değerlendiren uzman paneli, farklı çeşitlerdeki nişastasız sebzelerin ve meyvelerin her gün tüketilmesini önermiştir. Ayrıca işlenmemiş tahıl ve baklagiller tüketimini önerirken nişastalı gıdaların tüketiminin de sınırlanmasını tavsiye etmiştir.

4 Sürekli Güncelleme Projesinden Bitkisel Gıdaların Meme Kolorektal ve Pankreas Kanserleri ile İlişkisi Hakkında Güncel Kanıtlar

CUP meme, kolorektal ve pankreas kanserleri ile ilgili sistematik literatür analizleri Londra Imperial College'deki araştırıcılar tarafından gerçekleştirilmektedir. WCRF/AICR ikinci uzman raporu için yapılan sistematik literatür analizinde (Haziran 2006'ya kadar) yayınlanmış makalelerin araştırılması ve verilerin toplanması işlemi Milan İtalya'daki İstituo Nazionale Tumori (meme kanseri), Hollanda'daki Wageningen Üniversitesi (kolorektal kanser) ve İngiltere'deki Leeds Üniversitesi (pankreas kanseri) araştırmacıları tarafından gerçekleştirilmiştir. Bu merkezlerde toplanan veriler güncel CUP analizlerinde kullanılmıştır.

CUP metaanalizlerinde kullanılan yöntemlerden bu bölümün farklı yerlerinde bahsedilmektedir [11]. En yüksek tüketim miktarları ile en düşük tüketim miktarları ve doz cevap analizinin risk oranlarının (RR) ve güven aralıklarının (%95 CI) hesaplanmasında kısa rastgele etki modelleri kullanılmıştır.[13]. Risk oranının doğal logaritması tahmin edilmiştir. Her çalışmanın risk oranı varyansının karşıtı ile dengelenmiştir. Greenland ve Longnecker [14] tarafından tanımlanan yöntem, tüketim kategorileri boyunca risk oranlarının ve güven aralıklarının doğal logaritmalarından lineer trendleri ve %95 güven aralıklarını hesaplamak amacıyla doz cevap analizlerinde kullanılmıştır. WCRF/

Tablo 2 WCRF/AICR ikinci uzman raporunda meyve, sebze ve kanser riski ilişkisindeki kanıtların uzman paneli tarafından sınıflandırılması

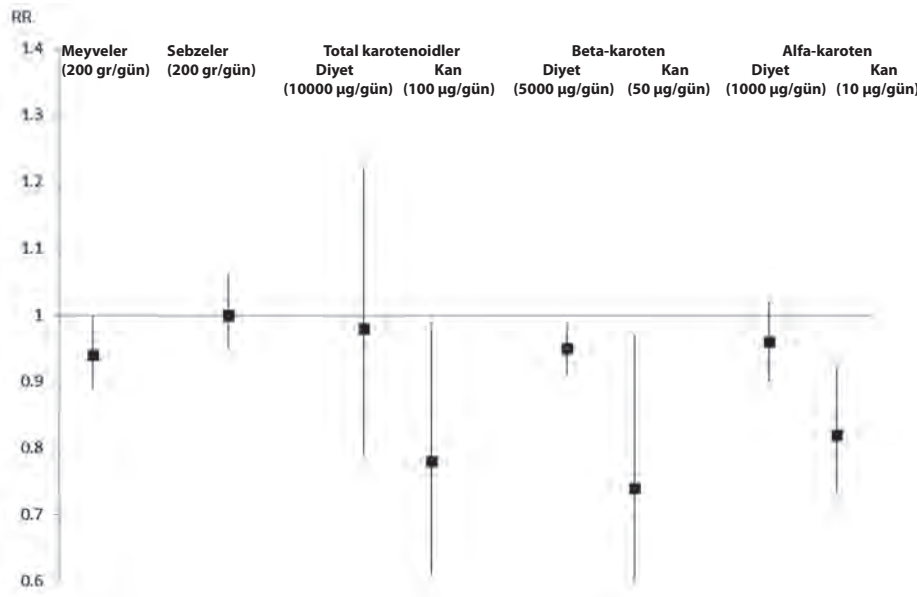
Kanıt Düzeyi	Risk azalması	
	Maruziyet	Kanser bölgesi
İkna edici	Meyve ve sebzelerin kanser riskini modifiye etmeleri ile ilgili ikna edici kanıt yoktur	
Muhtemel	Nişastasız sebzeler	Ağız, farenks, larenks
		Özofagus
		Mide
	Alyum bitkileri	Mide
	Sarımsak	Kolorektum
	Meyveler	Ağız, farenks, larenks
		Özofagus
		Akciğer
		Mide
	Folat içeren besinler	Pankreas
Sınırlı anlamlı	Nişastasız sebzeler	Nazofarenks
		Akciğer
		Kolorektum
		Over
		Endometrium
	Havuç	Serviks
	Meyveler	Nazofarenks
		Pankreas
		Karaciğer
		Kolorektum

[24] nolu referanstan adapte edilmiştir

AICR ikinci uzman raporu için yapılan literatür araştırmasında ortaya çıkan eksik veriler için eldeki verilerden doz cevap eğrilerinin ve güven aralığının tahmin edilmesinde birkaç farklı yaklaşım kullanılmıştır [8]. İkinci uzman raporu için meyve ve sebze tüketiminin kanser riskiyle ilişkisi hakkında daha önce yapılan literatür analizlerinde kullanıldığı üzere, tüketimi frekans olarak bildiren çalışmalardaki tüketimlerin ortak bir ölçek üzerinde [gram/gün] yeniden hesaplanabilmesi için porsiyon miktarı olarak 8 gr kullanılmıştır [7]. Çalışmalar arasındaki heterojenite Q ve I^2 istatistikleri ile değerlendirildi [17]. İstatistiksel analizler için STATA programı kullanıldı.

- Meme kanseri, meyve ve sebzelerle ilgili sürekli güncelleme

2007 WCRF/ AICR raporunda meyve ve sebze ile meme kanseri arasındaki ilişki ile ilgili kanıtların bir sonuç çıkarabilmek için çok kısıtlı veya tutarsız oldukları bildirilmiştir.



Şekil 2 Meme ve kolorektal kanserlerin diyetle total lif alımına ve gıda kaynağına göre lineer doz cevaplarını inceleyen metaanaliz sonuçlarının özeti. Rölatif riskler ve güven aralıkları 10 gr/gün artışa göre hesaplanmıştır (şekiller CUP verilerini baz almaktadır [1, 2]).

Nisan 2011'e kadar yayınlanan 15 prospektif çalışmanın sonuçlarını içeren güncel CUP analizinde meyve ve sebze tüketiminin meme kanserini azalttığı yönünde kanıt mevcut değildir [3, 4]. En yüksek meyve tüketim kategorisi ile en düşük meyve tüketim kategorisinin karşılaştırılmasında heterojenite kanıtı olmaksızın zayıf bir ters orantı gözlenmiştir (rölatif risk [RR] = 0.92; %95 CI=0.86-0.98). Lineer doz cevap eğrilerinde meyve tüketimindeki 200 gr artış ile meme kanserinde görülen %6'lık hafif azalma istatistiksel olarak (sınırda) anlamlıdır ([RR] = 0.94; %95 CI=0.89-1.00). Doz cevap modellerindeki sebze tüketimi (sebze tüketiminde 200 gr artış için [RR] = 1.00; %95 CI = 0.95-1.06) ile veya en yüksek tüketim kategorisi ile en düşük kategorinin karşılaştırılmasında (RR = 1.00; %95 CI = 0.95–1.06) bir ilişki gösterilememiştir [4].

Diyet biyomarkerlerinin kullanıldığı farklı gözlemsel çalışmalarda (diyet anket verileri ile tahmin edilen ilişkilere göre) diyet ve hastalık sonlanım noktaları arasında daha güçlü ilişkiler bildirilmiştir [9, 16, 18]. Bu sonuçlar bazı diyet hastalık ilişkilerinin diyet ölçüm hataları nedeniyle eksik değerlendirildiğini düşündürmektedir [12]. CUP kapsamındaki diyetle alınan karotenoidler ve kan karotenoid düzeyleri ile ilgili metaanalizler bu gözlemi desteklemektedir (Şekil 2). CUP metaanalizlerinde meme kanseri ile diyet karotenoidleri arasında bir ilişki bulunmamıştır (10,000 için RR = 0.98; %95 CI = 0.79–1.22). Ancak kan karotenoid düzeyleri ile meme kanseri anlamlı bir ilişki gözlenmiştir

(100 μg/dl için RR = 0.78; %95 CI = 0.61–0.99) [3]. Kandaki alfa ve beta-karoten seviyeleri ile gözlenen anlamlı ters orantılı ilişkiler, aynı makrobesinleri kullananlardaki anketlerin sonuçlarından daha güçlü bulunmuştur. Karotenoidlerin kan konsantrasyonları diyet ile orta derecede korele olduğu için, sıklıkla meyve ve sebze tüketimi ile ilgili biyomarkerler olarak kullanılmaktadırlar (korelasyon aralığı 0.2 değerinden 0.5 değerinin üstüne kadar değişmektedir). Karotenoidler yağda çözündükleri için biyoyararlanımları diyetin yağ içeriği veya diğer kişisel faktörler ve muhtemelen de genetik farklılıklardan etkilenebilir. Karoteinlerin kandaki düzeyleri, farklı popülasyonlardaki biyoyararlanımları veya vücudun tamamındaki maruziyet hakkında iyi bir tahmin aracı olabilir ([19] nolu referansta incelenmiştir).

Meme tümörlerinin karakteristik özelliklerine göre mevye ve sebze tüketimi ile ilişkisinin de farklılıklar gösterebilme ihtimali mevcuttur. CUP kapsamında meme kanserini tümör özelliklerine göre sınıflandıran metaanalizlerin yapılabilmesi için gerekli olan sayıda çalışma mevcut değildir. 18 prospektif kohort çalışmasındaki 33.380 hastayı içeren Kohort Çalışmaları Havuzu Projesi, alfakaroten, betakaroten ve lutein/zeaksantin tüketiminin östrojen reseptörü negatif meme kanseri ile ters orantılı olduğunu ancak östrojen reseptörü pozitif meme kanseri ile bu ilişkinin mevcut olmadığını bildirmiştir. Projede yer alan çalışmalardaki karoteinod tüketimi anket verileri kullanılarak tahmin edilmiştir [26].

Meyve, sebze ve tahıllar birçok toplumdaki diyet lifinin ana kaynağıdır. Güncel CUP meme kanseri analizinde diyetle lif tüketimi ile meme kanseri arasında ters orantı bulunmuştur (her 10 gr/gün için RR = 0.95 CI = %95 = 0.91–0.98). Meyve lifi (RR = 0.88; %95 CI = 0.75–1.03) veya tahıl lifi tüketimi (RR = 0.91; %95 CI = 0.79–1.04) ile ters orantılı ancak anlamlı olmayan ilişkiler bulunmuştur. Ancak sebzelerden alınan lifler ile ilgili bir ilişki tespit edilmemiştir (RR = 0.97; %95 CI = 0.55–1.12) [1].

- Kolorektal kanser, meyve ve sebzelerle ilgili sürekli güncelleme

2007 WCRF/AICR raporunda meyve ve sebzelerin kolorektal kansere karşı koruyuculukları hakkında sınırlı kanıt olduğu yönünde panel kararı vardır. Meyve, sebze ve kolorektal kanser ilişkisi hakkında birçok çalışma mevcut olsa da sonuçları tam olarak tutarlı değildir.

Kolorektal kanser hakkındaki güncel CUP analizi için 31 Aralık 2010'a kadar yayınlanmış 19 prospektif çalışma belirlemiştir. Bu kohort çalışmalarının genel sonuçları (en yüksek ve en düşük tüketimler karşılaştırıldığında) kolorektal kanser ile meyve tüketimi arasında zayıf bir ilişki göstermiştir (RR = 0.90; %95 CI = 0.83–0.98). Ancak doz cevap ilişkisi mevcut değildir (Her 100 gr/gün için RR = 0.98; %95 CI = 0.94–1.01). Sebze tüketimi ile ters orantılı doz cevap ilişkisi gözlenmiştir (Her 100 gr/gün için RR = 0.98; 95 %CI = 0.97–0.99). Aynı ilişki en yüksek ve en düşük tüketimlerin karşılaştırılmasında da mevcuttur (RR = 0.91; 95 %95 CI = 0.86–0.96). Meyve, sebze ve kolorektal kanser ilişkisi fraksiyonel polinominal modeller ile de incelenmiştir [6]. Nonlineer modeller doz cevap ilişkilerinin çok düşük tüketim düzeylerinde daha belirgin olduğunu göstermiştir. Bu bulgu çok az meyve ve sebze tüketen bireylerin orta derecede artmış kolorektal kanser riski altında olduğunu ve meyve, sebze tüketimini

Tablo 3 Sürekli güncelleme projesinin kolorektal kanserle ilgili "ikna edici" ve "muhtemel" sonuçları

Gıda, nütrisyon, fiziksel aktivite ile kolon ve rektum kanserlerinin ilişkisi		
	Risk azalması	Risk artışı
İkna edici	Fiziksel aktivite	Kırmızı et
	Diyet lifi içeren besinler İşlenmiş et	İşlenmiş et
		Alkollü içkiler (erkek)
		Obezite
		Abdominal obezite
		Erişkin boyu
Muhtemel	Sarımsak	Alkollü içkiler (kadın)
	Süt	
	Kalsiyum	

WCRF/AICR Sürekli Güncelleme Projesi 2011, http://www.wcrf.org/cancer_research/cup/colorectal_cancer.php

100gr/gün düzeyinin üzerine çıkarmanın da az miktarda fayda sağladığını düşündürmektedir [5].

Diyet lifiyle ilgili WCRF/AICR ikinci uzman raporunda lif içeren gıdaların yüksek miktarda tüketiminin kolorektal kansere karşı muhtemel koruyucu etkisi değerlendirilmiştir. Lif tüketimi ve kolorektal kanser ile ilgili çalışmalarda tutarsız sonuçlar görüldüğü ve lif tüketimi sağlıklı yaşam tarzı ile ilişkili olma eğilimi gösterdiği için, gözlenen ilişkilerin (en azından kısmen) sağlıklı hayat tarzının rezidüel etkisi ile ilişkili olabileceği panel tarafından bildirilmiştir.

16 prospektif çalışmanın güncel CUP metaanalize kolorektal kanser riskinin diyetle lif tüketimi ile ters orantılı olduğunu konfirme etmiştir (10 gr/gün için RR = 0.90; %95 CI = 0.86–0.94) [2]. Gıda kaynağı ile ilgili CUP metaanalizleri bu ters orantılı ilişkinin tahıllardan alınan lif ile sınırlı olduğunu göstermiştir (10 gr/gün için RR = 0.90; 95 %CI = 0.83–0.97); meyvelerden alınan lif miktarı ile de ters orantılı bir ilişki gözlense de anlamlılık düzeyine ulaşılamamıştır (10 gr/gün için RR = 0.93; 95 %CI = 0.82–1.05). Sebzelerden alınan lif ile ilgili bir ilişki tespit edilmemiştir (10 gr/gün için RR = 0.98; %95 CI = 0.91–1.06) (Şekil 2). Diyet lifi ve kolorektal kanser ile ilgili veriler genel olarak tutarlıdır; çalışma sonuçları içinde anlamlı bir heterojenite tespit edilmemiştir (I^2 = %0). CUP uzman paneli 2011 yılındaki CUP sonuçlarının ışığında 2007 yılındaki WCRF/AICR ikinci uzman raporu panelinin çıkarımlarını modifiye etmiştir. Diyet lifi içeren gıdaların kolorektal kanserden koruyuculuk statüsü muhtemelden ikna edici seviyesine çıkarılmıştır (Tablo 3).

- Pankreas kanseri, meyve ve sebzelerle ilgili sürekli güncelleme

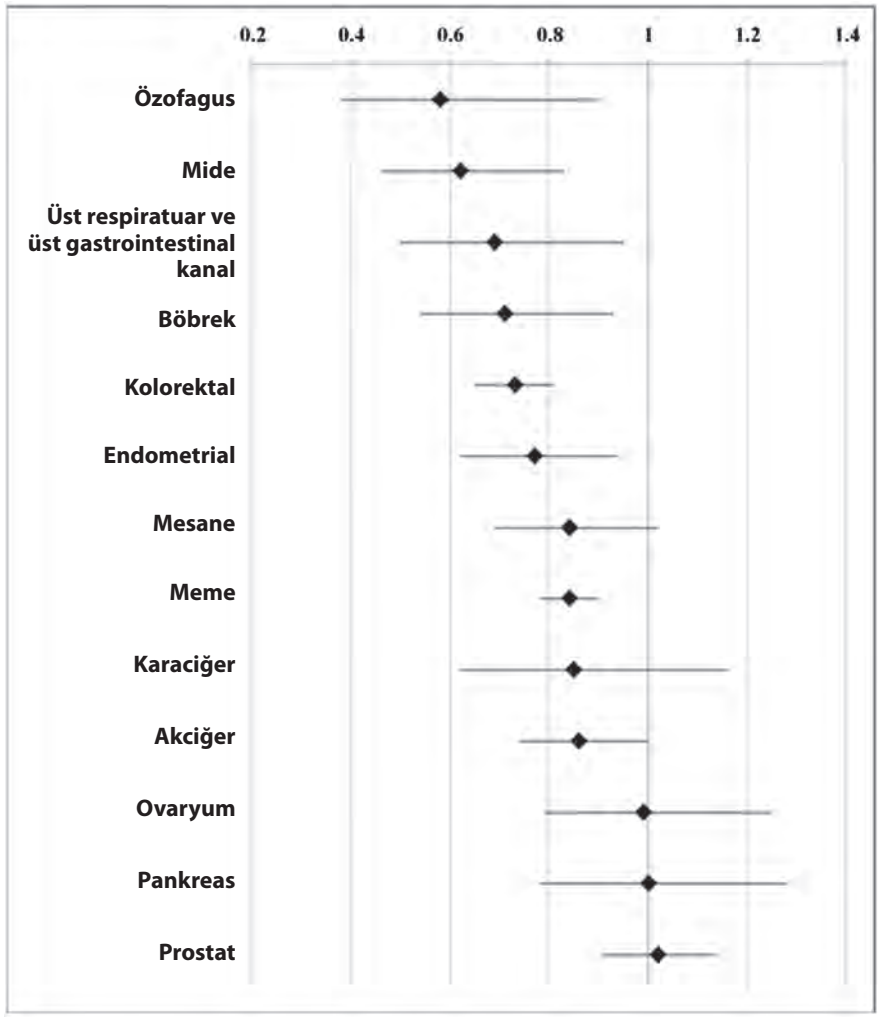
Pankreas kanseri ile ilişkili CUP analizi 31 Aralık 2011'e kadar yayınlanan çalışmaların sonuçları ile güncellenmiştir. İkinci uzman raporunun yayınlandığı 2007 yılından sonra pankreas kanseri hakkındaki prospektif çalışmalarla ilgili yayınların sayısında ciddi bir artış olmuştur. Pankreas kanseri insidansı ile mortalite ve sebzelerle ilgili 10, meyvelerle ilgili 12 çalışma belirlenmiştir. Bu çalışmaların 8 tanesi ikinci uzman raporundan sonra yayınlanmıştır.

CUP metaanalizleri meyve ve sebze tüketiminin pankreas kanseri ile ilişkisi hakkında herhangi bir kanıt içermemektedir. 100 gr'lık tüketim artışının rölatif riski sebzeler için 1.00 (%95 CI = 0.96–1.03), meyveler için de 1.00 (%95 CI = 0.95–1.05) bulunmuştur (yayınlanmamış veriler).

5 WCRF/AICR Önerilerine Uyum Bir Popülasyondaki Kanser Riskini Azaltır mı?

WCRF önerilerine uymanın bir popülasyondaki kanser riskini modifiye edebileceği varsayımındaki olası nedensel ilişkiye direkt kanıt sağlayabilecek araştırmalar randomize kontrollü çalışmalardır. Ancak bu tür çalışmalar sadece çalışma popülasyonu için gereken sayıdaki deneğin toplanmasında harcanacak zaman ve kaynak nedeniyle değil, aynı zamanda girişimin uygulanması ve sürdürülebilmesindeki metodolojik zorluklar, uyum ölçümü, girişim sırasında modifiye olabilen faktörlerin kontrolü ve etkilerin sapmalara meydan vermeksizin ölçümlerinin zorluğu gibi nedenler yüzünden her zaman uygulanabilir değildir. Bunun yerine gözlemsel prospektif çalışmalardan alınan indirekt kanıtlar kullanılarak WCRF/AICR önerilerine uygun hayat tarzı süren bireylerin daha düşük kanser riski taşıyıp taşımadıkları belirlenebilir. Bu görüş 1992-2000 yılları arasında kaydedilen 25-70 yaşları arasındaki, 521.330 kadın ve erkek ile gerçekleştirilen Avrupa Prospektif Kanser ve Nütrisyon Araştırması (EPIC) ile test edilmiştir. Çalışmaya 10 Avrupa ülkesi katılmıştır: Danimarka, Fransa, Almanya, Yunanistan, İtalya, Hollanda, Norveç, İspanya, İsveç ve İngiltere. Katılımcılar çalışmaya kayıt esnasında alkol kullanımı, sigara, fiziksel aktivite, eğitim, üreme geçmişi, emzirme, ekzojen hormon kullanımı ve geçirilmiş hastalık detaylarını da kapsayan medikal, diyet ve hayat tarzı anketleri doldurdular. Merkezlerin çoğunda vücut ağırlığı ve boy ölçümü ile ülkelere spesifik olarak valide edilmiş anketlerle rutin gıda tüketimleri belirlendi. EPIC çalışmasının detayları diğer bölümlerde anlatılmıştır [10].

WCRF/AICR önerileri ile uyum derecesinin değerlendirilmesi için önerilere uyum skorlaması geliştirilmiş ve çalışmaya kayıt esnasında toplanan veriler kullanılarak 386.355 EPIC katılımcısına uygulanmıştır. Başlangıçtaki skor ile devamında gelişebilecek kanser riski arasındaki ilişki araştırılmıştır. Medyan 11 yıllık takip süresi sonunda 36.994 EPIC katılımcısında kanser tespit edilmiştir. Sonuçlarda WCRF/AICR'nin kanseri önleme amaçlı diyet, nütrisyon, fiziksel aktivite ve kilo kontrolü ile ilgili öne-



Şekil 3 EPIC popülasyonundaki WCRF-AICR önerilerine en yüksek ve en düşük uyum skorları ile ilişkili spesifik kanser tiplerinin risk oranları (%95 CI). [21] nolu referanstan alınmıştır.

rilerine uymanın kanserin birçok türünün gelişme riskini azalttığı tespit edilmiştir. En yüksek WCRF/AICR uyum skoru grubunda (erkekler için ≥5 puan, kadınlar için ≥6 puan) alan katılımcıların herhangi bir kanser gelişme riski en düşük skor grubuna göre (erkekler için ≤2 puan, kadınlar için ≤3 puan) %18 daha az bulunmuştur. WCRF-AICR önerileri ile uyumun üst respiratuar sistem, üst gastrointestinal sistem, özofagus, mide, kolorektum, endometrium ve meme kanserini tahmin etmekte kullanılabileceği tespit edilmiştir (Şekil 3). WCRF-AICR skoru ile prostat, over, pankreas

ve mesane kanserleri tespit edilememektedir. Bu ilişkiler ikinci uzman raporundaki çıkarımlarla da uyumludur.

Skoru oluşturan komponentler arasında bitkisel gıdalarla ilgili önerilere uyum derecesinin kanser tahminindeki en güçlü gösterge olduğu bulunmuştur. Bitkisel gıda önerilerine en yüksek uyum skoru alan gruptaki (erkekler için ≥5 puan, kadınlar için ≥6 puan) herhangi bir kanser gelişme riski en düşük skor grubuna göre (erkekler için ≤2 puan, kadınlar için ≤3 puan) %11 (%95 CI = %6-16) daha az bulunmuştur [21]. Diğer komponentler ile ilişkili rölatif risk azalmaları %4 ile %6 arasında değişmektedir. Kilo artışına yol açan gıdalar ve emzirme ile ilgili önerilerin genel kanser riski ile ilişkili olmadığı (skorun diğer komponentlerine göre düzeltildikten sonra) bulunmuştur. Analizler sigara, eğitim durumu, kadınlarda (herhangi bir zamanda) oral kontraseptif kullanımı, hormon replasman tedavisi, ilk menarş yaşı, ilk hamilelik yaşı ve menopozal duruma göre düzeltilmiştir.

6 Sonuç Değerlendirmesi

2007 WCRF-AICR ikinci uzman raporu meyve ve sebzelerin kansere karşı koruyuculukları hakkındaki kanıtların ikna edici olmadığı sonucuna varmıştır. Daha fazla veriyi analiz eden CUP, WCRF-AICR ikinci uzman raporunun sonuçlarını konfirme etmiştir.

Buna karşın CUP öncesinde ve sırasına toplanan kanıtlar yüksek kan karotenoid düzeylerinin meme kanseri riskinde azalma ile ilişkili olduğunu göstermiştir. Ancak bu ilişki diyet karotenoidleri ile yapılan birçok çalışmada gözlenememiştir. Diyet ölçümündeki hatalardan kaynaklanma ihtimali olan bu çelişki diyet değerlendirme yöntemlerinin geliştirilebilmesi için daha fazla biyomarkera ihtiyaç olduğunu göstermektedir. Diğer taraftan diyetle az miktarda meyve ve sebze tüketen bireylerdeki kolorektal kanser ihtimalinin artabileceği CUP sonuçları tarafından desteklenmektedir. CUP lif tüketiminin kolorektal kanseri önlemedeki rolünü gösteren ikna edici veriler toplamış ve özetlemiştir.

EPIC çalışmasında yer alan bir popülasyonda WCRF/AICR önerilerine uyum skorunun belirlenmesi ile bu önerilere uymanın popülasyondaki kanser riskini azaltabileceği gösterilmiştir. Bitkisel gıdaların tüketimi ile ilgili önerilere uyum skorunun en önemli kanser tahmin öğesi olduğu bildirilmiştir.

Randomize kontrollü çalışmalar dizaynları gereği kanserin diyet modifikasyonları ile önlenip önlenemeyeceğini gösterebilmek için gereken neden sonuç ilişkisini inceleyen çalışmalardır. Ancak metodolojik problemler bu amaçla yapılabilecek randomize kontrollü çalışmaların yapılmasını sıklıkla uygulanabilir olmaktan çıkarmaktadır. Hayata geçirilebilmeleri için besin öğelerinin mevcudiyetini ölçecek biyomarkerlerin ve ara sonlanım noktalarının tanımlanması, spesifik besin öğeleri ile ilgili biyolojik yolakların ve mekanizmaların incelenmesinde önemli olabilir.

Diyet ve kanseri araştıran prospektif çalışmaların da diyet anketlerinin ölçüm hataları, valide biyomarkerlerin kısıtlı sayıları ve takip sürecinde tekrar değerlendirmelerin yapılmaması gibi kısıtlamaları mevcuttur. Ancak CUP tarafından gerçekleştirilen kapsamlı literatür analizleri ve daha önce yayınlanan makalelerde de görüldüğü gibi kanser riskinin gıda, nütrisyon, fiziksel aktivite ve obezite ile ilişkisi hakkındaki en önemli güncel veri kaynağı prospektif çalışmalardır.

Referanslar

1. Aune D, Chan DS, Greenwood DC, Vieira AR, Rosenblatt DA, Vieira R, Norat T (2012) Dietary fiber and breast cancer risk: a systematic review and meta-analysis of prospective studies. Ann Oncol 23:1394–1402
2. Aune D, Chan DS, Lau R, Vieira R, Greenwood DC, Kampman E, Norat T (2011) Dietary fibre, whole grains, and risk of colorectal cancer: systematic review and dose-response meta-analysis of prospective studies. BMJ 343:d6617. doi:10.1136/bmj.d6617.D6617
3. Aune D, Chan DS Vieira, AR, Navarro-Rosenblatt DA, Vieira R, Greenwood D, Norat T (2012) Dietary compared with blood concentrations of carotenoids and breast cancer risk: a systematic review and meta-analysis of prospective studies. Am J Clin Nutr 96:356
4. Aune D, Chan DS Vieira AR, Rosenblatt DA Vieira R, Greenwood DC, Norat T (2012) Fruits vegetables and breast cancer risk: a systematic review and meta-analysis of prospective studies. Breast Cancer Res Treat 134:479
5. Aune D, Lau R, Chan DS, Vieira R, Greenwood DC, Kampman E, Norat T (2011) Nonlinear reduction in risk for colorectal cancer by fruit and vegetable intake based on meta-analysis of prospective studies. Gastroenterology 141:106–118
6. Bagnardi V, Zambon A, Quatto P, Corrao G (2004) Flexible meta-regression functions for modeling aggregate dose-response data, with an application to alcohol and mortality. Am J Epidemiol 159:1077–1086
7. Bandera EV, Kushi LH, Moore DF, Gifkins DM, McCullough M (2007) Fruits and vegetables and endometrial cancer risk: a systematic literature review and meta-analysis. Nutr Cancer 58:6–21
8. Bekkering GE, Harris RJ, Thomas S, Mayer AM, Beynon R, Ness AR, Harbord RM, Bain C, Smith GD, Sterne JA (2008) How much of the data published in observational studies of the association between diet and prostate or bladder cancer is usable for meta-analysis? Am J Epidemiol 167:1017–1026
9. Bingham S, Luben R, Welch A, Low YL, Khaw KT, Wareham N, Day N (2008) Associations between dietary methods and biomarkers, and between fruits and vegetables and risk of ischaemic heart disease, in the EPIC Norfolk Cohort Study. Int J Epidemiol 37:978–987
10. Bingham S, Riboli E (2004) Diet and cancer—the European prospective investigation into cancer and nutrition. Nat Rev Cancer 4:206–215
11. Chan DS, Lau R, Aune D, Vieira R, Greenwood DC, Kampman E, Norat T (2011) Red and processed meat and colorectal cancer incidence: meta-analysis of prospective studies. PLoS ONE 6:e20456
12. Day NE, Wong MY, Bingham S, Khaw KT, Luben R, Michels KB, Welch A, Wareham NJ (2004) Correlated measurement error–implications for nutritional epidemiology. Int J Epidemiol 33:1373–1381
13. DerSimonian R, Laird N (1986) Meta-analysis in clinical trials. Control Clin Trials 7:177–188
14. Greenland S, Longnecker MP (1992) Methods for trend estimation from summarized dose-response data, with applications to meta-analysis. Am J Epidemiol 135:1301–1309

15. Guyatt GH, Sackett DL, Sinclair JC, Hayward R, Cook DJ, Cook RJ (1995) Users' guides to the medical literature. IX. A method for grading health care recommendations. Evidence-based medicine working group. JAMA 274:1800–1804
16. Harding AH, Wareham NJ, Bingham SA, Khaw K, Luben R, Welch A, Forouhi NG (2008) Plasma vitamin C level, fruit and vegetable consumption, and the risk of new-onset type 2 diabetes mellitus: the European prospective investigation of cancer–Norfolk prospective study. Arch Intern Med 168:1493–1499
17. Higgins JP, Thompson SG (2002) Quantifying heterogeneity in a meta-analysis. Stat Med 21:1539–1558
18. Jenab M, Riboli E, Ferrari P, Friesen M, Sabate J, Norat T, Slimani N, Tjonneland A, Olsen A, Overvad K, Boutron-Ruault MC, Clavel-Chapelon F, Boeing H, Schulz M, Linseisen J, Nagel G, Trichopoulou A, Naska A, Oikonomou E, Berrino F, Panico S, Palli D, Sacerdote C, Tumino R, Peeters PH, Numans ME, Bueno-de-Mesquita HB, Buchner FL, Lund E, Pera G, Chirlaque MD, Sanchez MJ, Arriola L, Barricarte A, Quiros JR, Johansson I, Johansson A, Berglund G, Bingham S, Khaw KT, Allen N, Key T, Carneiro F, Save V Del G.G, Plebani M, Kaaks R, Gonzalez CA (2006). Plasma and dietary carotenoid, retinol and tocopherol levels and the risk of gastric adenocarcinomas in the European prospective investigation into cancer and nutrition. Br J Cancer 95:406–415
19. Jenab M, Slimani N, Bictash M, Ferrari P, Bingham SA (2009) Biomarkers in nutritional epidemiology: applications, needs and new horizons. Hum Genet 125:507–525
20. Riboli E, Norat T (2003) Epidemiologic evidence of the protective effect of fruit and vegetables on cancer risk. Am J Clin Nutr 78:559S–569S
21. Romaguera D, Vergnaud AC, Peeters PH, Van Gils CH, Chan DS, Ferrari P, Romieu I, Jenab M, Slimani N, Clavel-Chapelon F, Fagherazzi G, Perquier F, Kaaks R, Teucher B, Boeing H, Von RA, Tjonneland A, Olsen A, Dahm CC, Overvad K, Quiros JR, Gonzalez CA, Sanchez MJ, Navarro C, Barricarte A, Dorronsoro M, Khaw KT, Wareham NJ, Crowe FL, Key TJ, Trichopoulou A, Lagiou P, Bamia C, Masala G, Vineis P, Tumino R, Sieri S, Panico S, May AM, Bueno-de-Mesquita HB, Buchner FL, Wirfalt E, Manjer J, Johansson I, Hallmans G, Skeie G, Benjaminsen BK, Parr CL, Riboli E, Norat T (2012) Is concordance with World Cancer Research Fund/American Institute for Cancer Research guidelines for cancer prevention related to subsequent risk of cancer? Results from the EPIC study. Am J Clin Nutr 96:150–163
22. Thompson R, Bandera E, Burley V, Cade J, Forman D, Freudenheim J, Greenwood D, Jacobs D, Kalliecharan R, Kushi L, McCullough M, Miles L, Moore D, Moreton J, Rastogi T, Wiseman M (2008) Reproducibility of systematic literature reviews on food, nutrition, physical activity and endometrial cancer. Public Health Nutr 11:1006–1014
23. Wiseman M (2008) The second World Cancer Research Fund/American Institute for Cancer Research expert report. Food, nutrition, physical activity, and the prevention of cancer: a global perspective. Proc Nutr Soc 67:253–256
24. World Cancer Research Fund/American Institute for Cancer Research (2007) Food, nutrition, physical activity and the prevention of cancer: a global perspective. AICR, Washington DC
25. World Cancer Research Fund/American Institute for Cancer Research (2009) Policy and action for cancer prevention food, nutrition and physical activity: a global perspective. AICR, Washington DC
26. Zhang X, Spiegelman D, Baglietto L, Bernstein L, Boggs DA, Van den Brandt PA, Buring JE, Gapstur SM, Giles GG, Giovannucci E, Goodman G, Hankinson SE, Helzlsouer KJ, Horn-Ross PL, Inoue M, Jung S, Khudyakov P, Larsson SC, Lof M, McCullough ML, Miller AB, Neuhouser ML, Palmer JR, Park Y, Robien K, Rohan TE, Ross JA, Schouten LJ, Shikany JM, Tsugane S, Visvanathan K, Weiderpass E, Wolk A, Willett WC, Zhang SM, Ziegler RG, Smith-Warner SA (2012) Carotenoid intakes and risk of breast cancer defined by estrogen receptor and progesterone receptor status: a pooled analysis of 18 prospective cohort studies. Am J Clin Nutr 95:713–725

İnsanda Prostat Kanseri Nedeni Olarak Diyet

William G. Nelson, Angelo M. DeMarzo ve Srinivasan Yegnasubramanian

Özet

Asemptomatik prostat enflamasyonu ve prostat kanseri gelişmiş dünyadaki erkeklerde epidemik boyutlara ulaşmıştır. Hayvan deneylerinde fazla pişirilmiş etlerdeki heterosiklik aminler gibi diyet kaynaklı karsinojenler, başta östrojen olmak üzere seks steroid hormonları prostat kanserine aday etyolojiler olarak gösterilmektedir. Herbiri kronik veya reküran bir hal alabilen enflamatuar cevabı tetikleyerek epitel hücre hasarına yol açmaktadır. Bu ortamda prostat kanserinin prekürsor lezyonlarının ilkini temsil eden bir tür fokal atrofi olan proliferatif enflamatuar atrofinin (PİA) gelişimi kolaylaşmaktadır. Yüksek c-Myc ekspresyonu, kısalmış telomer segmentleri, GSTP1 gibi bazı genlerin epigenetik olarak sessizleştirilmesi, π-sınıfı glutatyon S-transferazın kodlanması gibi prostatik intraepitelyal neoplazi (PİN) ve prostat kanserinin tüm özelliklerini taşıyan hücreler içeren PİA lezyonları nadir olarak görülür. Devamında görülen gen translokasyonları/silinmeleri gibi genetik değişimler androjenle regüle olan genlerle (örn. TMPRSS2) ETS ailesine ait transkripsiyon faktörlerini şifreleyen genler arasında (örn. ERG1) füzyon transkriptleri oluşturarak PİN lezyonlarının oluşumuna yol açarak prostatik adenokarsinom hücrelerinin invazif karakteristiğini artırabilirler. Letal prostat kanserleri belirgin olarak bozulmuş genomlar ve epigenomlar içerirler. Diyet karsinojenlerinin ve/veya östrojenlerin etkisiyle yüzlerce geni etkileyen ve klonal evrimleşmeyi metastatik yayılım yoluyla yöneten epigenetik "facianın" bir parçası olarak ortaya çıkan epigenetik sessizleştirme iltihaplı mikroçevreye bir cevap olarak ortaya çıkıyor görünmektedir. İlk epigene-

W. G. Nelson (✉) · A. M. DeMarzo · S. Yegnasubramanian
Departments of Oncology, Pathology, and Urology, Sidney Kimmel Comprehensive Cancer Center, Johns Hopkins University School of Medicine, Weinberg Bldg 1100, 1650 Orleans Street, Baltimore, MD 21231, USA
e-mail: bnelson@jhmi.edu

V. Zappia et al. (eds.), *Advances in Nutrition and Cancer,*
Cancer Treatment and Research 159, DOI: 10.1007/978-3-642-38007-5_4,
© Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2014

tik facianın nedeni belirlenememiş olmasına rağmen, muhtemelen aşırı DNA metilasyonu veya histon modifikasyonunun yol açtığı kromatin yapının korunmasında defektler içermektedir. Gelişmiş ülkelerdeki diyet karsinojenlerinin ve östrojenlerin indüklediği prokarsinojenik enflamasyon varlığında, diyetle ilgili komponentlerin prostat kanserini azaltabileceği ile ilgili spekülasyonlar caziptir. Özellikle domates ve turpgillerin kronik ve reküran enflamatuar prosesleri düzeltebilme potansiyellerini de içeren meyve ve sebze kullanımı bunlara örnek olarak verilebilir. Nütrisyonel ajanlar PIA lezyonlarının gelişimini önleyebilir veya PIA lezyonlarının epigenom bozulması ile oluşan genetik facia eğilimini azaltabilirler.

Anahtar Kelimeler

Prostat · Proliferatif enflamatuar atrofi · Heterosiklik aminler · Epigenetik · DNA metilasyonu

Kısaltmalar

PSA	Prostat spesifik antijen
BPH	Benign prostat hiperplazisi
PIA	Proliferatif enflamatuar atrofi
PIN	Prostatik intraepitelyal neoplazi
PhIP	Fenilimidazopiridin
GST	Glutatyon S-transferaz
TLRs	Toll benzeri reseptörler
COX	Siklooksijenaz
NSAİD	Nonsteroid antienflamatuar ilaç

İçindekiler

1 Proliferatif Enflamatuar Atrofi: Prostat Kanseri ile İlişkili Epitel Hasarı 53
2 Diyet: Prostat Epitel Hasarına ve PİA'ya yol Açabilen Karsinojen Kaynağı 55
3 Prostat Epitel Hasarına, Prostat Enflamasyonuna ve PİA'ya Yol Açabilen Diyet Dışı Faktörler 57
4 Enflamasyon, PİA ve Prostat Kanserinin Moleküler Patojenezi 59
5 Prostat Kanserini Önlemede Rasyonel Girişimler 61
6 Özet ve Sonuçlar 63
Referanslar 64

Prostat kanseri ABD ve Batı Avrupa'daki erkeklerde en sık teşhis edilen kanser türüdür. Geçmişte dünyanın geri kalan kısmında nadir görülen prostat kanseri, Asya ülkeleri ile diğer birçok gelişmekte olan ülkede artmaya başlamıştır. Diyet ve hayat tarzının yaş, aile

hikayesi, seks steroidleri gibi faktörlerle beraber prostatik karsinogenezisde rol oynadığı uzun süredir düşünülmektedir [57]. Ancak daha yakın zamanda yapılan moleküler patoloji çalışmaları, prostat kanseri gelişiminin erken basamaklarında kronik ve reküran epitel hücre hasarı ile birlikte seyreden kalıtsal ve adaptif enflamatuar cevapların sorumlu olduğunu düşündürmektedir [18]. Çok pişirilmiş etlerde oluşan heterosiklik aminler gibi bu tür bir hasara yol açabilen diyet komponentlerinin prostat kanseri karsinojeni olma ihtimalleri ağır basmaktadır. Bazı diyet komponentleri de hücre ve genom hasarını sınırlayarak ve/veya prostat enflamasyonunu azaltarak prostat kanserinden korunmaya yardımcı olabilirler. Diyet komponentleri, genetik yatkınlık ve seks steroidlerinin epitel hasarına yol açmaları ve/veya enflamatuar prosesleri yönlendirmelerinin altında yatan mekanizmaların daha iyi anlaşılması prostat kanserinden korunmada, kanser tarama stratejilerinin gelişmesinde ve belki de tedavi sonuçlarının iyileştirilmesinde yeni fırsatlar sunabilir.

1 Proliferatif Enflamatuar Atrofi: Prostat Kanseri ile İlişkili Epitel Hasarı

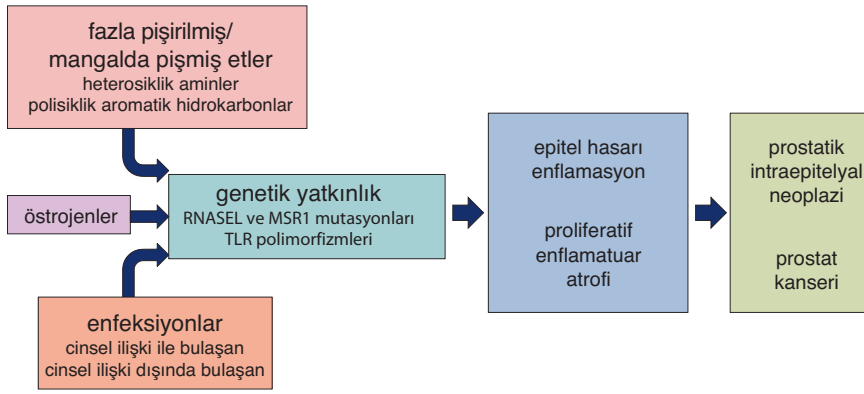
Dünyada prostat kanseri insidansının yüksek olduğu bölgelerde prostat enflamasyonu oldukça yaygın görülür [18]. Özellikle kanserin sık görüldüğü bölge olan periferik zonu etkileyen ve sıklıkla asemptomatik seyreden prostatitin serum prostatik antijeni (PSA) yükseltme özelliğinin olması nedeniyle prostat kanseri teşhisini yönlendirdiği (prostat kanserine yol açabilme eğiliminden bağımsız olarak) bilinmektedir. Enflamasyonlu prostatta, epitelin bariyer fonksiyonunun bozulması PSA gibi proteinleri de içeren prostat salgılarının geriye doğru akışına neden olur. Bu da salgıların prostat parankimine ve sonrasında da kan dolaşımına geçmesine yol açar. PSA'nın serumda tespiti prostat kanseri teşhisinde kullanılan prostat biyopsisini tetikler. Prostat enflamasyonu ABD'de her yıl gerçekleştirilen 30 milyon PSA testinden ve bir milyondan fazla biyopsiden sorumludur [36]. Bununla birlikte 40'lı yaşlar civarında serum PSA artışlarının görülmesi ilerleyen yaşlardaki prostat kanserinde artışla ilişkilidir [23, 24].

Prostat enflamasyonunun PSA düzeylerini artırma eğilimi popülasyon çalışmalarında prostatit ile prostat kanseri arasındaki ilişkinin test edilmesini büyük oranda zorlaştırmaktadır. Kanserle ilişkilendirme çalışmalarının sadece semptomatik prostatit ile sınırlandırılması da çok yardımcı olmamıştır. Semptomatik prostatit tipik olarak üretra yakınında benign prostat hiperplazisinin de (BPH) görüldüğü transizyon zonunda görülür. ABD'de her birinde PSA testi de uygulanan yıllık 2 milyon doktor başvurusuna yol açan irritatif idrar yapma problemleri yapar [50]. Sonuç olarak, epidemiyolojik çalışmalarda semptomatik prostatit ve prostat kanseri arasında tespit

edilen birçok korelasyonun, aslında prostatit hastalarına çok daha fazla biyopsi uygulanmasının yarattığı yanılgıdan (bias) kaynaklandığı düşünülmektedir [19]. Ayrıca semptomatik prostatit prostat kanserinin görüldüğü periferik zondaki enflamasyonu yansıtmadığı için, prostatitin prokarsinojenik enflamatuar prosesin zayıf bir göstergesi olduğu söylenebilir. Bu sınırlamaların üstesinden gelmek ve periferik zon enflamasyonunun prostat kanseri ile korele olup olmadığını anlayabilmek için serum PSA düzeyleri <3ng/ml olan asemptomatik hastalarda yapılan (finasterid ile) Prostat Kanseri Önleme Çalışmasının sonunda plasebo kullanan hastalardan alınan biyopsiler analiz edilmiştir [83]. Sonuçlarının yakın zamanda açıklanması beklenen çalışmanın prostattaki enflamasyonun kanser ile direkt olarak ilgili olup olmadığının kesin olarak anlaşılmasını sağlaması beklenmektedir.

Prostat enflamasyonunun en büyük nedeni diyet karsinojenleri, östrojenler ve enflamatuar oksidanların neden olduğu epitel hasarıdır [18]. Özellikle prostat kanseri olan prostat dokularının mikroskobik analizinde kronik olarak tekrarlanan doku hasarlarının ve yerleşik immün cevapların uzun süreli mevcudiyetleri ile ilgili kanıtlar bulunmuştur. Örneğin çok sayıda korpora amilasea, kalprotektin içeren mikroskobik lamine cisimler, miyeloperoksidaz ve nötrofil granüllerinden α-defensinler sıklıkla prostat bezi boyunca yaygın halde bulunurlar [71]. Bu cisimler akut enflamasyon sırasında nötrofil deşarjı ile oluşur ve enflamasyon hafifledikten sonra da kalırlar (kullanılmış mermi kovanları gibi). Sıçan prostat dokusunun prostat enflamasyonuna ve kanserine yatkın olması ve bol miktarda korpora amilasea içermesi de ilginçtir [32]. Prostat epiteli hasar gördüğünde dilate glandular lümenler ve immatür epitel hücreleri ile karakterize fokal atrofi lezyonları oluşur [16, 17]. Strese cevap olarak salgılanan α- ve π- sınıfı glutatyon S-transferazlar, siklooksijenaz-2 ve genom hasar savunması ve hücresel sağkalımla ilgili diğer medyatörlerin de indüklenmesi ile epitel hücreleri normal sekretuar hücre farklılaşma yolağı devre dışı kalmış gibi davranırlar [60, 86, 94]. Korpora amilasea ile çevrelenmiş fokal atrofik lezyonlar hücre ve organ hasarı olan prostat dokusunu işaretler ve prokarsinojenik bir ortam oluşur.

Prostattaki fokal atrofik tip hasar cevaplarından oluşan proliferatif enflamatuar atrofi (PİA) lezyonları (Şekil 1) enflamatuar hücrelerin çok yüksek epitel proliferasyonu ve infiltrasyon göstermeleri ile oluşur [67]. Epitel hasarına verilen cevabın tipi, diğer organlarda görülen atrofik gastrik, hepatit ve siroz gibi kanser oluşumuna yol açtığı bilinen bir dizi hastalıktaki cevapları andırır. PİA lezyonlarının prekürsor kanser lezyonları olarak prostatik intraepitelyal neoplaziye (PİN) ya da direkt olarak prostat kanserine yol açmaları şaşırtıcı değildir [64]. PİA gelişimine yol açan epitel hasarının prostat kanserini başlatabileceği yönündeki kanıtlar son dekadda artmıştır: (1) PİN ve prostat kanserinde görülenler ile tıpatıp aynı olan somatik genom ve epigenom defektlerinin bulunması, (2) PİA ve PİN ile PİA ve prostat kanseri arasında direkt morfolojik geçişlerin görülmesi, (3) PİN ve PİA lezyonlarındaki kanserde somatik genetik ve epigenetik değişimlerin sıklıkla gözlenmesi. Bunlar çoğunlukla normal ve neoplazi arasında bir derecededir, (4) prostat periferik zonundaki yüksek PİA lezyon prevalansının dünyada yüksek prostat kanseri



Şekil 1 Prostat kanserinin etyolojik faktörleri Prostat karsinogenezi, proliferatif enflamatuar atrofik lezyonlara yol açan prostat epitel hasarı, rejeneratif proliferasyon ve kronik/reküran enflamasyonu takip eder. c-Myc aktivasyonunun, telomer kısalmasının ve epigenetik aktivasyonun prostatik intraepitelyal neoplaziye ve prostat kanserine yol açabilme etkisi nedeniyle, bu lezyonlar, yeniden yapılanmış hedef genler, mutasyonlar ve ileri düzeyde bozulmuş epigenoma sahip hücrelerin oluşmasına neden olurlar.

riski olan bölgelerde görülmesi, (5) Diyet karsinojenlerini de içeren preklinik prostatik karsinogenez modellerinde kanserden önce PİA lezyonlarının ortaya çıktığının gösterilmiş olması [18].

Bozulmuş kalıtsal immün cevap ve doku hasarı cevabının takip ettiği prostat hasarı, diyetten prostat kanseri gelişimine kadar olan süreçleri de içeren ve çevresel maruziyetleri birbirine bağlayan bir yolak olabilir. Hem popüler çalışmalarda hem de moleküler patolojik analizlerde prostat enflamasyonu, PIA ve prostat kanseri arasındaki ilişki gayet nettir. Ancak diyet alışkanlıklarının ve diğer maruziyetlerin prostat kanseri oluşumuna yol açma mekanizmaları henüz tam olarak anlaşılamamıştır.

2 Diyet: Prostat Epitel Hasarına ve PİA'ya yol Açabilen Karsinojen Kaynağı

Prostat kanseri ile ilgili epidemiyoloji çalışmalarında diyetin prostat kanserini modüle eden majör bir faktör olduğu gösterilmiştir. Prostat kanseri insidansı ve mortalite çeşitli coğrafi bölgeler arasında farklılıklar gösterir. ABD ve Avrupa'da yüksek, Asya'da düşük prostat kanser riski mevcuttur. Ancak düşük riski bölgelerden yüksek riskli bölgelere göç edenlerdeki risk özellikler kültürel asimilasyonun etkisi ile tipik olarak artmaktadır [27, 73]. Bu durum muhtemelen diyet farklılıklarının yansımasıdır: Yüksek riskli bölgelerdeki diyet alışkanlıkları prostat kanseri riskini artırmakta ve/veya düşük riskli bölgelerdeki diyet alışkanlıkları bu riski azaltmaktadır. Detaylı incelemede prostat kanseri riskiyle kırmızı et ve/veya hayvan yağlarının tüketimi arasındaki ilişki, riski artıran

en tutarlı diyet faktörü olarak görünmektedir [26, 43]. Kırmızı etlerin yüksek ısılarda veya mangalda pişirilmesi ile aromatik amin ve polisiklik hidrokarbon yapısında karsinojenler oluşmaktadır [39, 44]. Bu pişirme alışkanlıkları prostat kanseri riskinde artış ile de ilişkili olup ABD'de yaşayan Afrika-Amerikalılardaki prostat kanseri gelişim riskinin beyazlara göre niçin daha fazla olduğunu da kısmen açıklayabilir [37, 82].

Bu karsinojenlerin en iyi araştırılmış olanı olan 2-amino-1-metil6-fenilimidazopiridin (PhIP), fazla pişirilen etlerde oluşabilen >20 heteroksiklik amin arasında en çok bulunanıdır [8, 85, 87]. Hayvan modellerinde PHIP alımının PİA ve prostat kanserine yol açtığı gösterilmiştir [74]. PhIP nontoksik ve nonmutajeniktir. Ancak aktivasyon sonrası ilk olarak karaciğerde veya diğer bölgelerde CYP1A1 veya CYP1A2 ile N-OH-PhIP'ye sonra da prostattaki epitel hücrelerinde sülfoniltransferaz veya kinaz fosfataz ile farklı reaktif türlere dönüşen PhIP, belirgin prostat epitel hasarı ve enflamatuar cevaplara yol açarak DNA ile promutajenik katım bileşikleri oluşturabilir [51]. Enflamatuar cevabın eşlik ettiği epitel hasarı sıçanlardaki PhIP prostat karsinogenezinin kritik bir özelliğidir. PhIP ile beslenen sıçanlardaki ventral, dorsolateral ve anterior prostat loblarında genom mutasyonları oluştuğu gösterilmiştir. Ancak epitel hücre hasarı, enflamasyon ve PİA sadece ventral loblarda oluşmaktadır [51]. Epidemiyolojik çalışmalarda kullanılan ve yemek hazırlama tercihleri ile ilgili sorular da içeren yemek yeme sıklığı anketleri ile kesin bir PhIP maruziyet tahmini yapmak zordur. Bu durum muhtemelen pişirme şekillerinin birçok heterosiklik amin oluşturmasından kaynaklanmaktadır. Ancak yine de sıklıkla et tüketen ve tam pişmiş, tavada kızartılmış veya ızgara olarak yemeyi tercih eden erkeklerdeki prostat kanseri riskinin artabileceği düşünülmektedir [15]. Daha güncel çalışmalarda ise P450 enzimleri, sülfoniltransferazlar ve UDP-glukuronid transferazları da içeren PhIP'leri metabolize eden enzimlerdeki germline varyantlarının çok pişirilmiş et tüketimine bağlı hasar ile ilişkili olabileceği gösterilmiştir. [40].

Et tüketiminin etkisi sadece prostat kanserinin başlangıç aşaması ile sınırlı olmayabilir. İnsandaki prostat kanserinin doğal gelişim süreci yıllar sürmektedir. ABD'de 20-30 yaşlarındaki bireylerde yapılan otopsi çalışmalarında bile küçük prostat kanserleri tespit edilebilmekte veya 60-70 yaşlarında lokalize kanser teşhisi koyulabilmektedir. Prostat kanserinden ölüm 70 yaş ve üstünde gerçekleşmektedir. Bu veri kronik PhIP alımının prostat kanseri patojenezini etkileyebilme potansiyeli için geniş bir fırsat penceresi sağlamaktadır. PhIP kullanılan sıçan modellerinde, karsinojen puberte esnasında kısa süreli uygulandıktan sonra aylar boyunca takip edilmiştir. PhIP'nin karsinogenezin sadece başlangıç ve erken evrelerinde etkili olduğu tespit edilmiştir [74]. Ancak insan prostat kanserinin patojenezinde en sık tespit edilen somatik gen defekti GSTP1'in epigenetik olarak sessizleştirilmesidir. Bu da π-sınıfı glutatyon S-transferaz (GST) ekspresyonunun kaybına yol açar. Bu fenotip PhIP'nin aracılığı ile gerçekleşen hücre ve genom hasarına belirgin olarak duyarlı olabilir [56]. İlk olarak PİA lezyonlarında görülen bu değişim prostat karsinom hücrelerinin metasatik diseminasyonu boyunca devam eder [52, 91]. Bu nedenle PhIP sadece PİA formasyonuna yol açan epitel hasarı yapmakla kalmayıp hücre ve genom hasarını birçok dekad boyunca destekleyerek malign prostat kanseri progresyonuna yol açabilir.

3 Prostat Epitel Hasarına, Prostat Enflamasyonuna ve PİA'ya Yol Açabilen Diyet Dışı Faktörler

Seks steroid hormonları, enfeksiyonlar ve kalıtsal faktörlerin prostat kanseri gelişiminde etkili oldukları düşünülmektedir. Testosteron ve dihidrotestosteron gibi android hormonlar ve androjen reseptörleri, prostat ve seminal vezikülleri de içeren aksesuar üreme glandlarının normal büyüme ve gelişimleri için gereklidir. Ancak androjenlerin tek başlarına prostat kanserine yol açtıklarını gösteren kanıtlar çok azdır. 21 yaşında en yüksek düzeye ulaşan androjen düzeyleri erişkin hayat boyunca düşmeye devam eder. Prostat kanseri de bu süreçte oluşur [66, 88]. ABD'deki Afrika-Amerikalı erkeklerde beyaz ırk ile benzer androjen düzeylerine karşın (yaşa göre düzeltilmiş) daha sık prostat kanseri görülür [66]. Ayrıca erişkin erkeklerde kolumnar epitelyal hücre fenotipinin terminal farklılaşması için androjen sinyali gerekir. Böylece PSA ve TMPRSS2 genlerinin transkripsiyon ve translasyonunun indüklenmesi ile ejakülattaki sekresyonların üretimi desteklenir. Androjenler bu etkileri ile epitel hücre proliferasyonunu baskılama eğilim gösterirler.

Androjen sinyalinin yerleşik prostat kanserlerinin progresyonunda önemli bir rol oynadığı kesindir. Bunun mekanizması androjenlerle regüle edilen TMPRSS2 gibi transkripsiyon genleri ve ETS transkripsiyon faktör ailesinden ERG ve ETV1 gibi onkojenlerden meydana gelen füzyon transkriptlerini oluşturan somatik genom translokasyonlarının ve silinmelerinin kazanımını kapsar [84]. Bu somatik gen defektlerine sahip olan prostat kanser hücreleri neoplastik fenotipin sürdürülebilmesi için gereken androjen sinyalini oluşturur. Bu durum ileri prostat kanserlerinin androjen deprivasyonuna veya antiandrojenlere sıklıkla verdiği cevapların mekanik temeli olabilir: Androjen sinyali ile etkileşim prostat kanser hücrelerindeki TMPRSS2-ERG veya diğer füzyon transkriplerinin düzeylerinde azalmaya yol açarak hücre büyümesini zayıflatır ve hücre sağkalımını sınırlar. Androjenlerin prostat kanserini başlatmaktan ziyade mevcut prostat kanserini etkiledikleri bilinmesine rağmen, yeni verilerde androjen hedef gen transkripsiyonunun başlatılmasının, DNA'daki düğümleri çözme yeteneği olan androjen reseptörü ile ilişkili TOP2B'nin TMPRSS2'deki sıklıkla translokasyonlar ve silinmeler ile ilişkili olan bölgelere yönlendirilmesi ile DNA çift sarmallarında kırılmalardan kaynaklanabileceğinin bildirilmesi dikkat çekicidir [28]. TMPRSS2-ERG füzyonlarına yol açan bu kırıkların PİA lezyonlarının oluşumundan sonra ortaya çıkmaları muhtemel olup, PİN hücrelerinin daha invazif karsinom hücreleri haline dönüşmelerini indükleme ihtimalleri mevcuttur. Topoizomerazlar sarmal geçişini sağlayabilmek amacıyla kırılma/tekrar birleşme reaksiyonlarını katalizleyerek DNA düğümlenmesini engellemektedirler. Bu enzimlerin tekrar birleşme reaksiyonlarını bozabilen ve rekombinojenik DNA çift sarmal kırıklarına yol açan birçok bileşiğe duyarlı oldukları bilinmektedir. Ancak diyet faktörlerinin, prostat kanseri patojenezinde TOP2B medyatörlüğünde oluşan DNA çift sarmal kırıklarından sorumlu olup olmadığı konusunda bilgi yoktur.

Östojenler androjenlerin aksine prostat epiteline hasar vererek prostat kanserinin erken evrelerinde rol oynayabilirler. Dünyadaki meme ve prostat kanserlerinin benzer dağılımı, östrojenlerin her iki hastalığa da neden olabileceği hipotezini doğurmuştur [14]. Kemirgen modelleri ile büyük oranda desteklenen bu hipotez östrojene maruziyetin hem prostat enflamasyonuna hem de prostat kanserine yol açabileceği öne sürülmektedir [59]. Erişkin erkek Wistar sıçanlarının 17ß-östradiole maruz bırakılmaları ile dihidrotestosteron uygulanıp uygulanmadığından bağımsız olarak prostat enflamasyonu gelişmesi örnek olarak verilebilir [55]. Neonatal dönemde östrojene maruz kalan erkek kemirgenler erişkinliğe ulaştıklarında prostatit görülmektedir [55, 75, 76]. Östrojenler kemirgen prostatında otoimmünite indüksiyonu ile enflamasyonu tetikleyebilirler. Çünkü 17ß-östradiol uygulanan erişkin erkek farelerden transer edilen adoptif T-hücreleri ile nonöstrojen uygulanan sıçanlarda prostatit indüklenebilir [69]. Östrojenlerin otoimmün prostat enflamasyonuna neden olma mekanizmaları henüz tam olarak anlaşılamamıştır. Ancak pitütier prolaktin sekresyonu, östrojenik hormonların prostattaki östrojen reseptör izoformları üzerinde farklı etkiler göstermeleri ve/veya östrojen redoks döngüsü ile reaktif oksijen türlerinin oluşumu gibi nedenleri kapsayabilir. Ayrıca erkeklerde büyük oranda yağ dokusundaki aromatazların androjenler üzerindeki etkisi sonucu oluşan östrojen düzeylerinin diyet alışkanlıkları ile ilişkisi henüz belirlenememiştir. Ancak, ABD'de daha yüksek prostat kanseri riski altındaki Afrika-Amerikalılardaki östrojen düzeylerinin beyaz ırka göre daha yüksek olma eğiliminde olduğu da dikkate alınmalıdır [66].

Prostat kanserine yol açan enfeksiyöz nedenlerin saptanması daha zordur. Prostat doku örneklerinde veya prostat sekresyonlarında birçok enfeksiyöz ajan tespit edilmiş olmasına rağmen, bunların hangilerinin gerçekten prostat hasarına yol açarak prostatın enflamatuar cevaplarını tetikledikleri henüz sistematik olarak tespit edilememiştir [70]. En iyi araştırılan enfeksiyonlar cinsel yolla bulaşanlardır. Gonore ve klamidya enfeksyonlarında prostattaki epitelyal bariyer fonksiyonunun bozulduğunu gösteren serum PSA düzeylerinin artışı vakaların en az %32'sinde mevcuttur [78]. Efektif antibiyotik tedavisi sonrasında, kronik epitel hasarı ve disfonksiyonunun göstergesi olan PSA düzeylerinin aylar boyunca yüksek seyretmesi dikkat çekicidir. Bu bulgu popülasyon çalışmalarında erken yaşta serum PSA yüksekliği ve/veya cinsel yolla bulaşan hastalık hikayesi olanlarda artan prostat kanseri riski ile uyumludur [23, 24, 79]. Bu durum kohort çalışmalarında prostat kanserinin enfeksiyöz etyolojilerinin araştırılmasını komplike hale getirmektedir. Prostat enfeksiyonu genç erkeklerde prostat epitel hasarı oluşturarak, yaşla birlikte kalıcı kolonizasyon olmaksızın PİA ve kronik prostat enflamasyonuna yol açabiliyorsa, hangi enfeksiyöz patojenin bu "vur ve kaç" fenomenine yol açtığını tespit etmek çok güçtür. Ancak kemirgen prostatlarına direkt bakteri veya virüs inokülasyonu ile belirgin enflamatuar cevaplar ve devamında prostat kanserinin prekürsor lezyonları tetiklenmektedir [21, 22].

Ayrıca prostat kanseri gelişimi ile ilgili kalıtsal yatkınlık yerleşik enflamatuar cevapların aktivasyonunu ve yoğunluğunu yönlendiren genlerin varlığı ile açıklanabilir. Bu genlerden ikisi olan RNASEL ve MSR1'in prostat kanseri ile ilişkili bazı ailesel kümelerden sorumlu olduğu düşünülmektedir [11, 90]. RNASEL viral enfeksiyon veya diğer hücre hasarına yol açan stresler ile aktive olan, interferon ile indüklenen RNA yıkım

yolağında rol alan bir ribonükleazı kodlar; MSR1 ise bakteryel liposakarid ve lipoteikoik asidi bağlayan makrofaj süpürücü bir reseptörün alt ünitelerini kodlar. Farelerde her iki proteinin fonksiyonlarının kaybı çeşitli enfeksiyonları tam olarak temizleyebilme yeteneğinin azalmasına yol açar [80, 86]. Popülasyon çalışmalarında prostat kanseri ile TLR ve TLR1-TLR6-TLR10 kümesi gibi toll benzeri reseptörleri kodlayan genlerin polimorfik varyantları arasında oldukça tutarlı ilişkiler tespit edilmiştir [77, 95]. Birçok patojen türünü ve/veya hasarlı hücre komponentlerini bağlayabilen TLR'ler, NF-jB sinyali ile etki göstererek güçlü kalıtsal immün cevapları desteklerler [12].

Diyet ile ilişkili etkilerin yokluğunda, östrojen ve enfeksiyonların PİA'ya yol açabilen prostat epitel hasarına neden oldukları gözlenmiş olsa da, bu süreçlerin her biri dünyada prostat kanseri riskinin yüksek olduğu bölgelerdeki diyet alışkanlıklarından etkilenmiş olabilir. Yağ dokusu fazla olan erkeklerdeki östrojen miktarının daha yüksek olma eğilimi vardır. Enfeksiyon veya enfeksiyonlara karşı kolonizasyon direnç kaynağı olan mikrobiyomlar, diyet alışkanlıklarına bağlı olarak büyük değişiklikler göstermektedirler. Diyet, östrojen ve enfeksiyonların prostat hasarına yol açma eğilimlerini etkileyerek prostat kanserini indirekt olarak destekleyebilir. Benzer şekilde diyetle alınan heterosiklik aminlerin yol açtıkları prostat hasarının derecesi de muhtemelen, konağın prostat enfeksiyonlarına verdiği cevabın yoğunluğunu regüle eden aynı genetik faktörler tarafından belirlenmektedir. RNASEL hem insan RNA'sını hem de viral RNA'yı degrade ederek apoptoza yol açabilir [89]. MSR1 serumdaki okside düşük dansiteli lipoproteinlerin temizlenmesine yardım eder [41]. TLR'ler hasarlı insan hücre komponentleri tarafından aktive edilir [12]. Bu nedenle, diyetin insandaki prostat kanserinin gelişimi üzerinde direkt ve indirekt etkilere sahip olması muhtemeldir.

4 Enflamasyon, PİA ve Prostat Kanserinin Moleküler Patojenezi

Hayatı tehdit eden prostat kanseri hücreleri 3866 mutasyon (20 sessiz olmayan gen kodlayan mutasyon), 108 yeniden yapılanma, 5408 DNA hipermetilasyon bölgesi, kısalmış telomer sekansları ve aktive olmuş c-Myc protein içerirler [7, 58, 92]. Somatik mutasyonların, prostatik karsinogenezi tetikleyen tek bir faktörü veya bir karsinojenin diğer bir karsinojene göre daha tutarlı bir genetik kod değişimine yol açtığını işaret etmemeleri ilginçtir. Bunun yerine gen tamir anormalliklerinden ve/veya promutajenik tedavilerin kullanımından etkilenen bireysel kanserlerdeki mutasyonların, zaman içinde akümüle oldukları düşünülmektedir. Daha tutarlı somatik defektler yukarıda tanımlanan translokasyonlardan kaynaklanır. Özellikle TMPRSS2-ERG gibi kanser genlerine tutunan androjen sinyal gen hedeflerini içeren ve androjen etkisine cevap olarak oluşan transkripsiyon hatalarının başlatılmasına yol açarak TOP2B ile ilişkili DNA çift sarmal kırıklarına yol açanlar önemlidir [28]. PİN lezyonlarında oluştuğu düşünülen somatik genom defektleri muhtemelen karsinomun invazif karakteristiğinden sorumludur. Prostat kanser hücrelerindeki tüm somatik değişimler arasında en tutarlısı ve en erken ortaya çıkanının epigenetik gen sessizleştirmesi, telomer kısalması ve c-Myc indüksiyonu olduğu düşünülmektedir [58].

Genleri regüle eden sekanslardaki DNA metilasyonunun artması ile ortaya çıkan gen sessizleştirilmesi insanda prostat kanserini başlatabilen bir olay olmaya adaydır. Örnek vermek gerekirse, p-sınıfı GST kodlayan ve oksidan ve karsinojenleri detoksifiye eden bir enzim olan GSTP1'in, PİA lezyonlarının %5-10'unda epigenetik olarak sessizleştirildiği bulunmuştur [9, 52, 58]. GSTP1'in sessizleştirilmesi, genin 50 regüle edici bölgesindeki yeni bir DNA hipermetilasyonuna atfedilmiştir [45]. DNA metilasyonu potansiyel olarak reversibl olduğu için DNA sekansı bozulmadan korunur; prostat kanserinin progresyonu sırasındaki GSTP1 inaktivasyonunun inatçı bir şekilde devam etmesi prostatik karsinogenezin selektif büyüme veya sağkalım avantajının öncül kanıtıdır. Bu selektif avantajın mekanizması henüz anlaşılmamıştır. GSTP1'in karsinogenez esnasındaki gen fonksiyonunun genel bir koruyucusu olduğu kesindir. GSTP1'siz insan prostat kanser hücreleri, hücre ve genom hasarına yol açan PhIP'yi daha kolay aktive ederken, bozulmuş Gstp 1/2 genleri taşıyan farelerde (normal farelere göre) topikal karsinojenlere yanıt olarak daha fazla cilt tümörü görüldüğü ve yoğun enflamasyon varlığında daha fazla intestinal tümör oluştuğu tespit edilmiştir [30, 65]. Pbc-Myc transgenlerini taşıyan ve prostat kanseri gelişen fareler seçilmiş fenotip için bir ipucu olabilir [33]. Ön veriler bu farelerdeki p-sınıfı GST fonksiyon kaybının hızlanmış prostat karsinogenezini tetiklediğini düşündürmektedir.

GSTP1 muhtemelen prostatik karsinogenez sırasında epigenetik olarak sessizleştirilen ve bazı proseslerle prostat enflamasyonu ve PİA ile ilişkilendirilen birçok genden birisidir [58]. Bu genlerin prostatın enflamasyonlu mikroortamındaki veya kanser gelişebilen diğer organlardaki epigenetik sessizleştirilmelerinin mekanizması şu ana kadar maalesef anlaşılamamıştır. Ancak yine de enflamasyon ve epigenetik sessizleştirmenin epitelyal karsinogenezin erken basamaklarına katkı yapan majör faktörler oldukları düşünülmektedir. Prostattaki PİA lezyonlarına ek olarak, enflamatuar barsak hastalığı, hepatit, gastrit ile ilgili net örnekler bu görüşü desteklemektedir [81]. Enflamasyonlu mikroçevre, epigenetik gen sessizleştirmeyi ve anormal DNA metilasyonunu desteklediği varsayılmaktadır. Bunu kromatin yapısının regülasyonunu etkileyerek, DNA metilasyon paterninin korunmasını bazı belirli gen bölgelerindeki aşırı metilasyonu desteklemek suretiyle engelleyerek veya hem kromatin yapısını hem de DNA metilasyonunun sürdürülmesini bozarak sağlamaktadır. İntestinal tümörijenezi araştıran bir fare modelinde enflamasyonlu dokulardaki 250 gen lokusunda yeni DNA metilasyon değişimleri tespit edilmiştir. Bu genlerin %70'inin represyona yol açan polikomb kompleksler tarafından hedef alındığı bilinmektedir [29]. Bu gözlem polikomb kompleks represyonunun, proneoplastik enflamasyon varlığında yeni DNA metilasyon değişimlerinde rol oynayan faktörlerden biri olduğunu düşündürmektedir. Bu tür bir mekanizmadaki DNA metilasyonu polikomb kompleks represyonunu, epigenetik gen sessizleştirmesini sürdürebilmek için bir şekilde sağlamlaştırır. Tamamlayıcı olduğu düşünülen bir mekanizmada rol oynayan enflamatuar sitokin interlökin 1b'nin DNA metiltransferazın aşırı aktivasyonuna yol açan nitrik oksit üretimini destekleyerek belirli bazı hücrelerde gen sessizleştirilmesini tetiklediği bulunmuştur [31]. Prostattaki PİA lezyonlarındaki epigenetik faciayı yöneten mekanizmalar net olarak anlaşılamamıştır. GSTP1'in ekspresyonu, stres yanıtı oluşturan diğer genlerle birlikte PİA lezyonlarında yüksek derecede indüklenme

eğilimindedir. Sadece az sayıda PİA hücresinde GSTP1 ekspresyonu ve yeni metilasyon görülmez [52]. Bu nedenle transkripsiyonal transaktivasyona rağmen epigenetik sessizleştirme ve DNA metilasyonu oluşmak zorundadır.

DNA metilasyonuna ek olarak ortaya çıkan telomer kısalması ve cMyc proteininin aşırı ekspresyonu, insan prostat karsinogenezine sıklıkla eşlik ederler [33, 49]. Telomeraz enzimindeki 50-TTAGGG-30 sekansının ~2000 tekrarını içeren özel yapılar olan kromozom telomerleri, replikasyon sırasında DNA sarmal sentezindeki gecikmelere bağlı DNA sekans kaybını ve uygun olmayan rekombinasyonları azaltma görevi yaparlar [48]. Telomeraz enziminin veya bir tür telomer sekans hasarının kritik bir göstergesi olan kısa telomerler PİN lezyonlarının ve prostat kanser hücrelerinin özelliğidir [49]. Kısa telomer sekanslarının aynı zamanda hepatit ve enflamatuar barsak hastalığı ile de ilgili olabileceği akılda tutulmalıdır [2, 38]. Enflamasyon bölgelerindeki oksidanların prostattaki telomerlere hasar verebilme ve kısaltabilmeleri de mümkündür. İnsan prostat kanser hücrelerinde de yaygın olarak rastlanan c-Myc ekspresyonu farelerdeki prostat tümörijenezini de yönlendirebilir: Fare prostatındaki forse cMyc ekspresyonu ile nükleer ve nükleolar boyutları artmış, farklılaşması bozulmuş ve prostata spesifik homeodomain transkripsiyon faktörü ve tümör supresörü olan Nkx3.1'in ekspresyonu azalmış neoplastik hücrelerin oluştuğu tespit edilmiştir [33]. c-Myc'nin aşırı ekspresyonunun, telomer kısalması gibi enflamatuar ortamdan etkilenme ihtimali vardır. Defektif Apc geni taşıyan fareler intestinal mikrofloradaki TLR ligandlarına maruz kaldıkları için c-Myc fosforilasyonu ve stabilizasyonu ile karakterize tümörijenezise eğilimlidirler [42].

Doku ve hücre hasarına cevap olarak oluşan PİA lezyonları, enflamatuar lezyonların indüklenmesi ve diyet karsinojenlerine ve östrojenlerine maruz kalma sonucu prostat kanserine dönüşebilir. PİA lezyonlarında en erken stereotipik moleküler olaylar olan epigenetik gen sessizleştirilmesi, telomer kısalması ve c-Myc aktivasyonu görülür. Ancak bu moleküler olaylara yol açan kesin mekanizmalar tam olarak açıklanamamıştır. Her biri farklı bir nedenden kaynaklanabilir ya da diyet karsinojenleri veya enflamatuar cevap gibi hasar verici olaylardan en azından kısmen etkilenebilirler. Prostat karsinogenezi bu yolla bir çok organdaki maruziyete bağlı kanser gelişimine benzer bir seyir gösterebilir.

5 Prostat Kanserini Önlemede Rasyonel Girişimler

Gelişmiş ülkelerdeki prostat kanseri epidemisi kronik prostat enflamasyonuna yol açabilen diyet karsinojenlerine ve/veya östrojenlere maruziyet ile açıklanabilir. Prostat kanserinin önlenmesindeki rasyonel yaklaşım şunları içermelidir: (1) Maruziyetlerin engellenmesi, (2) Karsinojenler tarafından oluşturulan prostat hücre ve doku hasarının hafifletilmesi, ve/veya (3) Prostattaki enflamasyonun yoğunluk ve süresinin azaltılması. Bu yaklaşımları destekleyen epidemiyolojik ve klinik çalışma verilerinin ortaya çıkıyor olması sürpriz değildir.

Diyette bulunan heterosiklik aminlere maruziyetin azaltılması sadece bireylerin aşırı pişmiş et tüketmeme yönünde eğitilmesinden değil, aynı zamanda yemek pişirme şe-

killerinin toplum bazında modifiye edilmesinden de geçmektedir. Buharda ve mikrodalgada pişirme ve marine etme yöntemlerinin, daha az heterosiklik amin oluşumunda yağda kızartma, mangal ve kızartma yağının tekrar kullanımı gibi yöntemlerden daha faydalı olduğu bilinmektedir [85]. Uygun önlemlerle birlikte, pişmiş olarak satılan gıdalardaki heterosiklik amin içeriğinin ölçülmesi restoran ve marketlerin daha güvenli pişirme şekillerine yönelmelerini sağlayabilir. Bu ortam sağlanana kadar, fazla pişirilmiş etlerin devam eden tüketimine rağmen, karsinojenlere bağlı prostat hasarının azaltılması mümkün olabilir. PhIP gibi heterosiklik amin yapısındaki karsinojenlerin hücre ve genom hasarını tetikleyebilmeleri için metabolizma tarafından aktive edilmeleri gerektiği için, karsinogenezin azaltımı için biyoaktivasyonun engellenmesi cazip bir strateji olabilir. Keap1-Nrf2 yolağını aktive eden faz 2 metabolik enzim ekspresyonu indükleyicilerinden zengin diyetler hayvan modellerindeki karsinojen hasarı genel olarak azaltırlar. Ayrıca epidemiyolojik çalışmalarda insan prostat kanseri riskini de azaltırlar [1, 13, 20]. İzotiosiyanat sulforafan gibi en fazla faz 2 metabolik enzim indükleyici içeren gıdalar turpgillerden brokoli, brüksel lahanası, karnıbahar ve diğerleridir. İnsan gönüllülerde yapılan bir çalışmada pişmiş et yemeği tüketimine cevap olarak oluşan PhIP'nin DNA'ya eklenmesinin turpgiller tarafından engellendiği bildirilmiştir [88]. Östrojene maruziyetin azaltılması daha zordur. Östrojenler yağ dokusunda aromataz ve androjenlerin etkisi ile üretilir. Bu ABD ve diğer gelişmiş ülkelerdeki artan obezite epidemisi göz önüne alındığında endişe verici bir gelişmedir. Afrika-Amerikalı erkeklerdeki östrojen düzeylerinin (androjen düzeyleri benzerdir) beyaz erkeklerden daha yüksek olması nedeniyle prostat kanseri riski daha yüksektir [66]. Obezitenin kontrol altına alınması muhtemelen prostat kanseri riskinde azalmaya yol açacaktır.

Prostat kanserini önlemede kullanılan antienflamatuar yaklaşımlardan farklı sonuçlar alınmıştır. Kronik ve reküran enflamasyon, hücre ve doku hasarına yol açabilen reaktif oksijen ve nitrojen türlerinin oluşmasına neden olabilir [3, 34]. Bu nedenle diyetle alınan antioksidan ve antienflamatuar ajanların (PİA lezyonları oluşmuş olsa bile) prostat hücrelerini süregelen hasardan koruyabilmesi mümkündür. Örneğin Asya'da daha sık ve bol miktarda tüketilen soya gibi diyet komponentlerinin prostatla ilgili antienflamatuar etkileri olması mümkündür; soyadan zengin diyetlerin sıçan modellerindeki prostat enflamasyonunu azalttığı gösterilmiştir [72]. Ayrıca gelişmiş ülkelerdeki kohortlara odaklanan prostat kanser epidemiyolojisi çalışmalarında, vitamin E, selenyum, domatesteki likopenler gibi bir dizi antioksidan mikrobesinin yetersiz alımının prostat kanseri riskinde artışa yol açmasının kuvvetle muhtemel olduğunu bildirilmektedir [10, 25, 93]. Ancak yakın zamanda yapılan SELECT çalışmasında (Selenyum ve Vitamin E Kanser Önleme Araştırması) sadece selenyumun (risk oranı (HR) 1.04; %99 güven aralığı; 0.87–1.24) veya sadece E vitamininin (risk oranı (HR) 1.13; %99 güven aralığı; 0.95–1.35) ya da her ikisinin kombinasyonunun (risk oranı (HR) 1.05; %99 güven aralığı; 0.88–1.25) prostat kanseri insidansını azaltmadığı gösterilmiştir [46]. Bu çalışmanın halen antioksidan tüketimi yetersiz (ya da yeterli) olan erkeklerde yapılıp yapılmadığı belirtilmemiştir.

Diyet ve antienflamatuar ilaçlar prostat kanseri riskini azaltmakta farklı bir strateji sunabilirler [6]. Aspirini de içeren siklooksijenaz (COX) inhibitörleri ve nonsteroid an-

tienflamatuar ilaçlar (NSAİD'ler) insanlardaki bir çok kanserin insidansında ve mortalitesinde azalma ile ilişkilidir [5]. Bu ilaçlar nadir de olsa gastrointestinal kanama ve kardiyovasküler olaylara yol açtıkları için kanserin önlenmesinde ne yazık ki yaygın olarak kullanılmazlar. Bu ilaçların prostat kanserine karşı koruma amaçlı kullanılmaları birçok probleme neden olmuştur. Selekoksib ve rofekoksibi de içeren selektif COX-2 inhibitörleri ile (kemirgen prostat kanseri modellerinde ümit verici olmakla beraber) şu ana kadar yapılan insan çalışmalarında özel bir etki tespit edilememiştir [4, 53, 54]. İnsan ve kemirgenler arasındaki farklardan birisi, insanlardaki COX-2'yi kodlayan PTGS2'nin hemen tüm prostat kanserlerinde genetik olarak sessizleştirilmiş olması olabilir. Bu durum kemirgenler için geçerli değildir [91, 94]. COX inhibitörlerinin prostat kanseri riskinin azaltılmasındaki etkinliği ile ilgili veriler zayıf olmasına rağmen, düzenli aspirin kullanımı ile prostat kanseri arasında tutarlı bir ters korelasyon tespit edilmiştir [35, 47, 61]. Bu potansiyel faydanın aspirinin nonselektif COX inhibisyonundan mı yoksa diğer antienflamatuar etkilerinden mi kaynaklandığı henüz çözülememiştir. Antienflamatuar etkilerde gösterebilen statinlerin prostat kanseri riskindeki azalma ile ilişkili bulunmuş olması da henüz tam olarak açıklanamamıştır [62, 63].

6 Özet ve Sonuçlar

Diyetteki karsinojenlere veya aşırı östrojen miktarına ya da her ikisine de cevap olarak ortaya çıkan prostat epitel hasarı gelişmiş ülkelerdeki prostat karsinogenezinin epidemik düzeye ulaşmasına katkı yapmaktadır. Bu patojenez mekanizmanın PİN ve prostat kanserinin öncü lezyonu olan PİA'nın oluşumunda devreye girdiği bulunmuştur. PİA lezyonlarındaki hücrelerin süregelen enflamatuar streslere rağmen prostat epitelini rejenere etmeye çalışırlar. Bu hücrelerin GSTP1'in sessizleştirilmesi, yeni DNA metilasyonu, telomer kısalması ve c-Myc aktivasyonunu ile tespit edilen epigenom hasarından muzdarip oldukları düşünülmektedir. Bu hücrelerdeki androjen sinyali, prostat kanseri farklılaşma genlerinin lokuslarındaki TOP2B bağlanma bölgelerinde androjen tutulumu ile aktive olur. Bu da malign prostat kanser progresyonunu indükleyen TMPRSS2-ERG gibi gen transkript füzyonlarının oluşumuna yol açar. Toplum bazındaki diyet alışkanlıklarına odaklanarak pişirme yöntemlerinin değiştirilmesi ile karsinojen üretimi kısıtlanabilir. Turpgillerin tüketimlerinin artırılması ile karsinojen biyoaktivasyonu, antienflamatuar ve antioksidan mikrobesinlerin tüketimlerinin artırılması ile de prostat enflamasyonu azaltılarak prostat kanserinin toplumsal yükünün azaltılmasına katkı yapılabilir.

Referanslar

1. Ahn YH, Hwang Y, Liu H et al (2010) Electrophilic tuning of the chemoprotective natural product sulforaphane. Proc Natl Acad Sci USA 107:9590–9595

2. Aikata H, Takaishi H, Kawakami Y et al (2000) Telomere reduction in human liver tissues with age and chronic inflammation. Exp Cell Res 256:578–582
3. Ames BN, Gold LS, Willett WC (1995) The causes and prevention of cancer. Proc Natl Acad Sci USA 92:5258–5265
4. Antonarakis ES, Heath EI, Walczak JR et al (2009) Phase II, randomized, placebo-controlled trial of neoadjuvant celecoxib in men with clinically localized prostate cancer: evaluation of drug-specific biomarkers. J Clin Oncol 27:4986–4993
5. Bardia A, Ebbert JO, Vierkant RA et al (2007) Association of aspirin and nonaspirin nonsteroidal anti-inflammatory drugs with cancer incidence and mortality. J Natl Cancer Inst 99:881–889
6. Bardia A, Platz EA, Yegnasubramanian S et al (2009) Anti-inflammatory drugs, antioxidants, and prostate cancer prevention. Curr Opin Pharmacol 9:419–426
7. Berger MF, Lawrence MS, Demichelis F et al (2011) The genomic complexity of primary human prostate cancer. Nature 470:214–220
8. Bordas M, Moyano E, Puignou L et al (2004) Formation and stability of heterocyclic amines in a meat flavour model system. Effect of temperature, time and precursors. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci 802:11–17
9. Brooks JD, Weinstein M, Lin X et al (1998) CG island methylation changes near the *GSTP1* gene in prostatic intraepithelial neoplasia (PIN). Cancer Epid Biom Prev 7:531–536
10. Brooks JD, Metter EJ, Chan DW et al (2001) Plasma selenium level before diagnosis and the risk of prostate cancer development. J Urol 166:2034–2038
11. Carpten J, Nupponen N, Isaacs S et al (2002) Germline mutations in the ribonuclease L gene in families showing linkage with HPC1. Nat Genet 30:181–184
12. Caruso C, Balistreri CR, Candore G et al (2009) Polymorphisms of pro-inflammatory genes and prostate cancer risk: a pharmacogenomic approach. Cancer Immunol Immunother 58:1919–1933
13. Cohen JH, Kristal AR, Stanford JL (2000) Fruit and vegetable intakes and prostate cancer risk. J Natl Cancer Inst 92:61–68
14. Coffey DS (2001) Similarities of prostate and breast cancer: evolution, diet, and estrogens. Urology 57:31–38
15. Cross AJ, Peters U, Kirsh VA et al (2005) A prospective study of meat and meat mutagens and prostate cancer risk. Cancer Res 65:11779–11784
16. De Marzo AM, Marchi VL, Epstein JI et al (1999) Proliferative inflammatory atrophy of the prostate: implications for prostatic carcinogenesis. Am J Pathol 155:1985–1992
17. De Marzo AM, Platz EA, Epstein JI et al (2006) A working group classification of focal prostate atrophy lesions. Am J Surg Pathol 30:1281–1291
18. De Marzo AM, Platz EA, Sutcliffe S et al (2007) Inflammation in prostate carcinogenesis. Nat Rev Cancer 7:256–269
19. Dennis LK, Lynch CF, Torner JC (2002) Epidemiologic association between prostatitis and prostate cancer. Urology 60:78–83
20. Dinkova-Kostova AT, Talalay P (2008) Direct and indirect antioxidant properties of inducers of cytoprotective proteins. Mol Nutr Food Res 52(Suppl 1):S128–S138
21. Elkahwaji JE, Zhong W, Hopkins WJ et al (2007) Chronic bacterial infection and inflammation incite reactive hyperplasia in a mouse model of chronic prostatitis. Prostate 67:14–21
22. Elkahwaji JE, Hauke RJ, Brawner CM (2009) Chronic bacterial inflammation induces prostatic intraepithelial neoplasia in mouse prostate. Br J Cancer 101:1740–1748
23. Fang J, Metter EJ, Landis P et al (2001) Low levels of prostate-specific antigen predict long-term risk of prostate cancer: results from the Baltimore longitudinal study of aging. Urology 58:411–416
24. Gann PH, Hennekens CH, Stampfer MJ (1995) A prospective evaluation of plasma prostate-specific antigen for detection of prostatic cancer. JAMA 273:289–294

25. Gann PH, Ma J, Giovannucci E et al (1999) Lower prostate cancer risk in men with elevated plasma lycopene levels: results of a prospective analysis. Cancer Res 59:1225–1230
26. Giovannucci E, Rimm EB, Colditz GA et al (1993) A prospective study of dietary fat and risk of prostate cancer [see comments]. J Natl Cancer Inst 85:1571–1579
27. Haenszel W, Kurihara M (1968) Studies of Japanese migrants. I. Mortality from cancer and other diseases among Japanese in the United States. J Natl Cancer Inst 40:43–68
28. Haffner MC, Aryee MJ, Toubaji A et al (2010) Androgen-induced TOP2B-mediated double-strand breaks and prostate cancer gene rearrangements. Nat Genet 42:668–675
29. Hahn MA, Hahn T, Lee DH et al (2008) Methylation of polycomb target genes in intestinal cancer is mediated by inflammation. Cancer Res 68:10280–10289
30. Henderson CJ, Smith AG, Ure J et al (1998) Increased skin tumorigenesis in mice lacking pi class glutathione S- transferases. Proc Natl Acad Sci USA 95:5275–5280
31. Hmadcha A, Bedoya FJ, Sobrino F et al (1999) Methylation-dependent gene silencing induced by interleukin 1beta via nitric oxide production. J Exp Med 190:1595–1604
32. Isaacs JT (1984) The aging ACI/Seg versus Copenhagen male rat as a model system for the study of prostatic carcinogenesis. Cancer Res 44:5785–5796
33. Iwata T, Schultz D, Hicks J et al (2010) MYC overexpression induces prostatic intraepithelial neoplasia and loss of Nkx3.1 in mouse luminal epithelial cells. PLoS ONE 5:e9427
34. Jackson AL, Loeb LA (2001) The contribution of endogenous sources of DNA damage to the multiple mutations in cancer. Mutat Res 477:7–21
35. Jacobs EJ, Rodriguez C, Mondul AM et al (2005) A large cohort study of aspirin and other nonsteroidal anti-inflammatory drugs and prostate cancer incidence. J Natl Cancer Inst 97:975–980
36. Jemal A, Siegel R, Ward E, Hao Y, Xu J, Thun MJ (2009) Cancer statistics, 2009. CA Cancer J Clin 59:225–249
37. Kidd LC, Stillwell WG, Yu MC et al (1999) Urinary excretion of 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine (PhIP) in White, African–American, and Asian–American men in Los Angeles county. Cancer Epidemiol Biomarkers Prevent 8:439–445
38. Kinouchi Y, Hiwatashi N, Chida M et al (1998) Telomere shortening in the colonic mucosa of patients with ulcerative colitis. J Gastroenterol 33:343–348
39. Knize MG, Salmon CP, Mehta SS et al (1997) Analysis of cooked muscle meats for heterocyclic aromatic amine carcinogens. Mutat Res 376:129–134
40. Koutros S, Berndt SI, Sinha R et al (2009) Xenobiotic metabolizing gene variants, dietary heterocyclic amine intake, and risk of prostate cancer. Cancer Res 69:1877–1884
41. Krieger M, Herz J (1994) Structures and functions of multiligand lipoprotein receptors: macrophage scavenger receptors and LDL receptor-related protein (LRP). Annu Rev Biochem 63:601–637
42. Lee SH, Hu LL, Gonzalez-Navajas J et al (2010) ERK activation drives intestinal tumorigenesis in Apc(min/+) mice. Nat Med 16:665–670
43. Le Marchand L, Kolonel LN, Wilkens LR et al (1994) Animal fat consumption and prostate cancer: a prospective study in Hawaii. Epidemiology 5:276–282
44. Lijinsky W, Shubik P (1964) Benzo(a)pyrene and other polynuclear hydrocarbons in charcoal-broiled meat. Science 145:53–55
45. Lin X, Tascilar M, Lee W-H et al (2001) *GSTP1* CpG island hypermethylation is responsible for the absence of GSTP1 expression in human prostate cancer cells. Am J Pathol 159:1815–1826
46. Lippman SM, Klein EA, Goodman PJ et al (2009) Effect of selenium and vitamin E on risk of prostate cancer and other cancers: the selenium and vitamin E cancer prevention trial (SELECT). JAMA 301:39–51
47. Mahmud S, Franco E, Aprikian A (2004) Prostate cancer and use of nonsteroidal anti-inflammatory drugs: systematic review and meta-analysis. Br J Cancer 90:93–99
48. Maser RS, DePinho RA (2002) Connecting chromosomes, crisis, and cancer. Science 297:565–569

49. Meeker AK, Hicks JL, Platz EA et al (2002) Telomere shortening is an early somatic DNA alteration in human prostate tumorigenesis. Cancer Res 62:6405–6409
50. Murphy AB, Macejko A, Taylor A et al (2009) Chronic prostatitis: management strategies. Drugs 69:71–84
51. Nakai Y, Nelson WG, De Marzo AM (2007) The dietary charred meat carcinogen 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine acts as both a tumor initiator and promoter in the rat ventral prostate. Cancer Res 67:1378–1384
52. Nakayama M, Bennett CJ, Hicks JL et al (2003) Hypermethylation of the human glutathione S-transferase-pi gene (GSTP1) CpG island is present in a subset of proliferative inflammatory atrophy lesions but not in normal or hyperplastic epithelium of the prostate: a detailed study using laser-capture microdissection. Am J Pathol 163:923–933
53. Narayanan BA, Condon MS, Bosland MC et al (2003) Suppression of N-methyl-N-nitrosourea/testosterone-induced rat prostate cancer growth by celecoxib: effects on cyclooxygenase-2, cell cycle regulation, and apoptosis mechanism(s). Clin Cancer Res 9:3503–3513
54. Narayanan BA, Narayanan NK, Pittman B et al (2004) Regression of mouse prostatic intraepithelial neoplasia by nonsteroidal anti-inflammatory drugs in the transgenic adenocarcinoma mouse prostate model. Clin Cancer Res 10:7727–7737
55. Naslund MJ, Strandberg JD, Coffey DS (1988) The role of androgens and estrogens in the pathogenesis of experimental nonbacterial prostatitis. J Urol 140:1049–1053
56. Nelson CP, Kidd LC, Sauvageot J et al (2001) Protection against 2-hydroxyamino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5- b]pyridine cytotoxicity and DNA adduct formation in human prostate by glutathione S-transferase P1. Cancer Res 61:103–109
57. Nelson WG, De Marzo AM, Isaacs WB (2003) Prostate cancer. N Engl J Med 349:366–381
58. Nelson WG, De Marzo AM, Yegnasubramanian S (2009) Epigenetic alterations in human prostate cancers. Endocrinology 150:3991–4002
59. Palapattu GS, Sutcliffe S, Bastian PJ et al (2005) Prostate carcinogenesis and inflammation: emerging insights. Carcinogenesis 26:1170–1181
60. Parsons JK, Nelson CP, Gage WR et al (2001) GSTA1 expression in normal, preneoplastic, and neoplastic human prostate tissue. Prostate 49:30–37
61. Platz EA, Rohrmann S, Pearson JD et al (2005) Nonsteroidal anti-inflammatory drugs and risk of prostate cancer in the Baltimore longitudinal study of aging. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 14:390–396
62. Platz EA, Leitzmann MF, Visvanathan K et al (2006) Statin drugs and risk of advanced prostate cancer. J Natl Cancer Inst 98:1819–1825
63. Platz EA, Till C, Goodman PJ et al (2009) Men with low serum cholesterol have a lower risk of high-grade prostate cancer in the placebo arm of the prostate cancer prevention trial. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 18:2807–2813
64. Putzi MJ, De Marzo AM (2000) Morphologic transitions between proliferative inflammatory atrophy and high-grade prostatic intraepithelial neoplasia. Urology 56:828–832
65. Ritchie KJ, Walsh S, Sansom OJ et al (2009) Markedly enhanced colon tumorigenesis in ApcMin mice lacking glutathione S-transferase Pi. Proc Natl Acad Sci USA 106:20859–20864
66. Rohrmann S, Nelson WG, Rifai N et al (2007) Serum estrogen, but not testosterone, levels differ between black and white men in a nationally representative sample of Americans. J Clin Endocrinol Metab 92:2519–2525
67. Ruska KM, Sauvageot J, Epstein JI (1998) Histology and cellular kinetics of prostatic atrophy. Am J Surg Pathol 22:1073–1077
68. Sakr WA, Grignon DJ, Crissman JD et al (1994) High grade prostatic intraepithelial neoplasia (HGPIN) and prostatic adenocarcinoma between the ages of 20–69: an autopsy study of 249 cases. In Vivo 8:439–443
69. Seethalakshmi L, Bala RS, Malhotra RK et al (1996) 17 beta-estradiol induced prostatitis in the rat is an autoimmune disease. J Urol 156:1838–1842

70. Sfanos KS, Sauvageot J, Fedor HL et al (2008) A molecular analysis of prokaryotic and viral DNA sequences in prostate tissue from patients with prostate cancer indicates the presence of multiple and diverse microorganisms. Prostate 68:306–320
71. Sfanos KS, Wilson BA, De Marzo AM et al (2009) Acute inflammatory proteins constitute the organic matrix of prostatic corpora amylacea and calculi in men with prostate cancer. Proc Natl Acad Sci USA 106:3443–3448
72. Sharma OP, Adlercreutz H, Strandberg JD et al (1992) Soy of dietary source plays a preventive role against the pathogenesis of prostatitis in rats. J Steroid Biochem Mol Biol 43:557–564
73. Shimizu H, Ross RK, Bernstein L et al (1991) Cancers of the prostate and breast among Japanese and white immigrants in Los Angeles County. Br J Cancer 63:963–966
74. Shirai T, Sano M, Tamano S et al (1997) The prostate: a target for carcinogenicity of 2-amino-1-methyl-6- phenylimidazo[4,5-b]pyridine (PhIP) derived from cooked foods. Cancer Res 57:195–198
75. Stoker TE, Robinette CL, Britt BH et al (1999) Prepubertal exposure to compounds that increase prolactin secretion in the male rat: effects on the adult prostate. Biol Reprod 61:1636–1643
76. Stoker TE, Robinette CL, Cooper RL (1999) Perinatal exposure to estrogenic compounds and the subsequent effects on the prostate of the adult rat: evaluation of inflammation in the ventral and lateral lobes. Reprod Toxicol 13:463–472
77. Sun J, Wiklund F, Zheng SL et al (2005) Sequence variants in Toll-like receptor gene cluster (TLR6-TLR1-TLR10) and prostate cancer risk. J Natl Cancer Inst 97:525–532
78. Sutcliffe S, Zenilman JM, Ghanem KG et al (2006) Sexually transmitted infections and prostatic inflammation/cell damage as measured by serum prostate specific antigen concentration. J Urol 175:1937–1942
79. Sutcliffe S, Platz EA (2008) Inflammation and prostate cancer: a focus on infections. Curr Urol Rep 9:243–249
80. Suzuki H, Kurihara Y, Takeya M et al (1997) A role for macrophage scavenger receptors in atherosclerosis and susceptibility to infection. Nature 386:292–296
81. Suzuki H, Toyota M, Kondo Y et al (2009) Inflammation-related aberrant patterns of DNA methylation: detection and role in epigenetic deregulation of cancer cell transcriptome. Methods Mol Biol 512:55–69
82. Tang D, Liu JJ, Bock CH et al (2007) Racial differences in clinical and pathological associations with PhIP-DNA adducts in prostate. Int J Cancer 121:1319–1324
83. Thompson IM, Goodman PJ, Tangen CM et al (2003) The influence of finasteride on the development of prostate cancer. N Engl J Med 349:215–224
84. Tomlins SA, Rhodes DR, Perner S et al (2005) Recurrent fusion of TMPRSS2 and ETS transcription factor genes in prostate cancer. Science 310:644–648
85. Turesky RJ (2007) Formation and biochemistry of carcinogenic heterocyclic aromatic amines in cooked meats. Toxicol Lett 168:219–227
86. van Leenders GJ, Gage WR, Hicks JL et al (2003) Intermediate cells in human prostate epithelium are enriched in proliferative inflammatory atrophy. Am J Pathol 162:1529–1537
87. Wakabayashi K, Ushiyama H, Takahashi M et al (1993) Exposure to heterocyclic amines. Environ Health Perspect 99:129–134
88. Walters DG, Young PJ, Agus C et al (2004) Cruciferous vegetable consumption alters the metabolism of the dietary carcinogen 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine (PhIP) in humans. Carcinogenesis 25:1659–1669
89. Xiang Y, Wang Z, Murakami J et al (2003) Effects of RNase L mutations associated with prostate cancer on apoptosis induced by 2′, 5′-oligoadenylates. Cancer Res 63:6795–6801
90. Xu J, Zheng SL, Komiya A et al (2002) Germline mutations and sequence variants of the macrophage scavenger receptor 1 gene are associated with prostate cancer risk. Nat Genet 32:321–325

91. Yegnasubramanian S, Kowalski J, Gonzalgo ML et al (2004) Hypermethylation of CpG islands in primary and metastatic human prostate cancer. Cancer Res 64:1975–1986
92. Yegnasubramanian S, Wu Z, Haffner MC et al (2011) Chromosome-wide mapping of DNA methylation patterns in normal and malignant prostate cells reveals pervasive methylation of gene-associated and conserved intergenic sequences. BMC Genomics 12:213
93. Yoshizawa K, Willett WC, Morris SJ et al (1998) Study of prediagnostic selenium level in toenails and the risk of advanced prostate cancer. J Natl Cancer Inst 90:1219–1224
94. Zha S, Gage WR, Sauvageot J et al (2001) Cyclooxygenase-2 is up-regulated in proliferative inflammatory atrophy of the prostate, but not in prostate carcinoma. Cancer Res 61:8617–8623
95. Zheng SL, Augustsson-Balter K, Chang B et al (2004) Sequence variants of toll-like receptor 4 are associated with prostate cancer risk: results from the cancer prostate in Sweden study. Cancer Res 64:2918–2922
96. Zhou A, Paranjape J, Brown TL et al (1997) Interferon action and apoptosis are defective in mice devoid of 2′,5′- oligoadenylate-dependent RNase L. EMBO J 16:6355–6363

Akdeniz Diyet Paterni ve Kronik Hastalıklar

Salvatore Panico, Amalia Mattiello, Camilla Panico ve Paolo Chiodini

Özet

Akdeniz tipi beslenme ile ekonomik olarak gelişmiş ülkelerde tipik olarak görülen hastalıkların ilişkisinin araştırılması nütrisyonel epidemiyolojinin başlangıç noktası olarak kabul edilir. 1950'lerde yapılan Yedi Ülke Çalışmasından günümüzdeki EPIC kolaborasyonuna kadar kardiyovasküler hastalık ve kanser gibi diyetten etkilenen hastalıkların komponentlerinin değerlendirilmesi esas olarak Akdeniz diyet alışkanlıklarını oluşturan gıda ve besin öğelerinin analizine dayanıyordu. Bu uzun araştırma geçmişi zaman içinde tek besin öğesi/gıda gruplarının veya daha kompleks diyet paternlerinin analizlerinin sonucunda tutarlı verilerin ortaya çıkmasına neden oldu: Akdeniz tipi beslenme kardiyovasküler hastalıklar ve birçok kanser türünden koruyucu özelliğe sahiptir. İtalya 1950'lerden başlamak üzere kardiyovasküler hastalıklarla başlayan ve majör kanserlerle devam eden araştırmaların doğal merkezi olmuştur. İtalyan toplumunun sağlıksız alışkanlıkların globalizasyonu nedeniyle (daha zengin diyet ve daha düşük fiziksel aktivite) hayat tarzında oluşan istenmeyen değişikliklere rağmen, Akdeniz diyet tarzını izleyenler hala anlamlı oranda koruma altındadırlar. EPIC çalışmasındaki İtalyan kohortlarında yer alan 50.000 kişiden elde edilen güncel veriler bu bulguları onaylar nitelikte olup diğer Avrupa toplumları ve bazı durumlarda da Kuzey Amerika toplumlarının verileri ile

S. Panico (✉) · A. Mattiello
Department of Clinical and Experimental Medicine, Federico II University, Naples, Italy
e-mail: spanico@unina.it

C. Panico
School of Medicine, Federico II University, Naples, Italy

P. Chiodini
Medical Statistics Unit, Department of Public, Clinical and Preventive Medicine,
Second University, Naples, Italy

V. Zappia et al. (eds.), *Advances in Nutrition and Cancer,*
Cancer Treatment and Research 159, DOI: 10.1007/978-3-642-38007-5_5,
© Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2014

de uyum içindedir. Ayrıca çeşitli çalışmalar bu tür bir diyetin kronik hastalıklardaki metabolik risk durumunu düzelttiğini hastalıkların ortaya çıkmasını engellediğini göstermiştir. Sonuç olarak Akdeniz diyet paternlerinden esinlenen beslenme şekilleri sadece kronik hastalık epidemilerine karşı koruyucu olmayıp aynı zamanda lezzetli seçeneklerdir.

Anahtar Kelimeler

Akdeniz diyeti • Kronik hastalık • Nütrisyonel epidemiyoloji

Kısaltmalar

EPIC Avrupa Kanser ve Nütrisyon Araştırması

İçindekiler

1 Avrupa'da Son Birkaç Dekaddaki Diyet Alışkanlıkları ... 71
2 Keys Diyet- Kalp Hipotezi ... 71
3 Sadece Basit Bir Diyet Yağ ve Lipid Problemi mi? ... 72
4 Diyet Göstergeleri: Gıda, Besin Öğeleri ve Kronik Hastalıkların Etyolojisini Araştıran Çalışmaların Paternleri ... 73
5 Akdeniz Skorları ve Kronik Hastalıklar ... 74
6 Akdeniz Diyet Paternleri ve İtalya'daki Güncel Popülasyon Çalışmalarındaki Kronik Hastalıklar ... 75
7 Son Yorumlar ... 77
Referanslar ... 78

Yemek kültürü her uygarlığın önemli bir özelliğidir; tarihsel kimliği çeşitli popülasyonların günlük yaşamlarından gelişmiştir. Avrasya insan gelişim konsepti çerçevesinde Akdeniz havzası içinde üç önemli gıda (şarap, zeytin yağı ve ekmek) kültürün temel unsurları olmuş ve bu miras Santral-Kuzey Avrupa yemek kültürleri (et, domuz yağı ve tereyağı) ile karışana kadar korunmuştur [40]. Yüzyıllar boyunca süregelen kültürel gıda değişimine rağmen Avrupa'daki farklılıklar ortadan kalkmamıştır. Globalize Avrupa'da bile tipik Akdeniz diyetini uygulayan bireyleri belirleyen spesifik gıda markerları mevcuttur.

Tablo 1 EPIC çalışmasında yer alan 4 ülkede en sık tüketilen diyet komponentleri

Almanya	Tereyağı, işlenmiş etler, meyve suları
İngiltere	Çay, kekler, alkolsüz içkiler, süt, tereyağı
Yunanistan	Bitkisel yağlar, baklagiller ve sebzeler, balık
İtalya	Bitkisel yağlar, tahıllar ve tahıl ürünleri, meyve

1 Avrupa'da Son Birkaç Dekaddaki Diyet Alışkanlıkları

Yirminci yüzyıl Avrupa istatistiklerinden 1950'ler ve 1960'larda dünyadaki en uzun yaşam beklentisine Yunanlıların (özellikle Girit halkı) sahip olduğunu biliyoruz. Yunanlıları Güney İtalya, İspanya ve Fransa halkları takip etmekteydi [61]. Ancel Keys ve çalışma arkadaşları 1950'lerden itibaren koroner kalp hastalığının Santral ve Kuzey Avrupa ile Kuzey Amerika'ya göre çok daha az görüldüğü Akdeniz havzasındaki toplumların diyetleri hakkında araştırma yapmaya başlamışlardır. O zaman tespit edilen Akdeniz diyeti yüksek miktarda tahıl, sebze, kuru fasulye, zeytin yağı, sarımsak, taze baharatlar, deniz ürünleri, meyve ile ölçülü miktarda şarap içeriyordu. Et ve kümes hayvanları tüketimi de ölçülüydü. Kümes hayvanları kırmızı ete göre daha fazla tüketiliyordu. Tereyağı, krema ve domuz yağını içeren hayvan yağları diyette yer almıyordu [10]. Akdeniz bölgesi ile diğer bölgeler arasındaki gıda tüketim farklarının çarpıcı bir şekilde azalmasına yol açan diyet alışkanlıklarının tüm Avrupa'da değişmiş olmasına rağmen, EPIC çalışması bazı spesifik özellikleri belirleyebilmiştir (Tablo 1). Bu özellikler belirli bazı Avrupa popülasyonlarının tipik gıda tüketim alışkanlıklarını göstermektedir [53].

Avrupa'da yürütülen nütrisyon ile kronik hastalıkları inceleyen majör çalışma olan EPIC, kanser ve kardiyovasküler hastalıklar ile ilgili özgün bir bilimsel kaynaktır. Çoğunluğu 35-69 yaşları arasında olan 370.000 kadın ve 150.000 erkekten oluşan EPIC kohortunun kayıtları 1992 ile 1998 yılları arasında 10 Avrupa ülkesindeki 23 merkezde yapılmıştır (Danimarka, Fransa, Almanya, Yunanistan, İtalya, Norveç, İspanya, İsveç, Hollanda ve İngiltere). Başlangıç anketleri mevcut diyet alışkanlıkları hakkında detaylı sorular içeriyordu. Ayrıca ölçüm hatalarına engel olabilmek amacıyla tüm kohortu temsil eden örnek bir grupta ek diyet araştırması da yapılmıştır [47, 48].

2 Keys Diyet-Kalp Hipotezi

Ancel Keys 2. Dünya Savaşı sırasında ABD ordusunda görev yaparken, ABD ile Akdeniz bölgesinde yaşayan İtalyan ve Yunanlılar arasındaki miyokard enfarktüsü oranlarında farklılıklar olduğunu gözlemlemişti. Popülasyon düzeyinde derinlemesine

araştırma yapma inisiyatifini alan Keys, "zengin" diyetin (Akdeniz dışındaki ülkelerin tipik diyeti), daha yüksek plazma kolesterol düzeylerine ve sinsi koroner kalp hastalığı eğilimine yol açabilme ihtimalini inceledi: Sonuç gerçek bir dönüm noktasıydı. Çalışmasını tartışmak amacıyla 1954 yılında İtalya'nın Napoli kentinde farklı ülkelerden seçkin araştırmacıların katıldığı bir toplantı düzenledi [34]. Amaç diyet-kalp konseptini farklı popülasyonlarda karşılaştıracak bir araştırmanın organize edilmesiydi. Bu toplantı Finlandiya, Yunanistan, İtalya, Japonya, Hollanda, ABD ve Yugoslavya'dan popülasyon örnekleri ile gerçekleştirilen "Yedi Ülke Çalışmasının" başlangıcı olmuştu. Çalışmanın amacı hastalığın gelecek yıllardaki gelişim sıklığını araştırmaktı. 50 yıldan uzun süren analizlerin yapıldığı çalışmadan elde edilen veriler hala değerlidir. Diyet-kalp konsepti Yedi Ülke Çalışmasının sonuçları ile net olarak konfirme edilmişti [32, 33]. Popülasyonlar arası analizlerde 10 yıllık koroner mortalitenin diyetle alınan ortalama doymuş yağ asidi miktarıyla anlamlı olarak ilişkili olduğu bulunmuştu. Serum kolesterol düzeyleri için de benzer sonuçlar bulunmuştu. Ortalama örnek kolesterol seviyesi arttıkça koroner mortalite oranı da artmaktaydı. Ayrıca diyetle alınan doymuş yağ asitlerinin serum kolesterol düzeyleri ile yakından ilişkili olduğu da bulunmuştu. Üç yönlü ilişkiye dayanan temel konsept şu gözlemler tarafından kuvvetle desteklenmiştir: Bulunan kanıtlar diyetle alınan lipid miktarının serum kolesterolünü, serum kolesterolünün ise kalp hastalığını belirlediğini göstermiştir. Keys ve çalışma arkadaşlarının yaptığı dönüm noktası oluşturan çeşitli (metabolik koğuş) besleme çalışmalarının sonuçları, geliştirdikleri kritik öneme sahip (izokalorik koşullarda diyet lipidlerindeki değişimlerin serum total kolesterolündeki değişim ile ilişkisi hakkındaki) denklemin alt yapısını oluşturan verileri sağlamıştır: ATC=1.35 (2 ΔSFA- ΔPFA) +1.5 ΔCHOL 1/2. ATC serum kolesterolündeki değişimi, ΔSFA ve ΔFPA sırasıyla satüre ve poliansatüre yağ asitlerinin total diyet kalorisi içindeki yüzdesinin değişimini, ΔCHOL de diyet kolesterolündeki değişimi (mg/1000 kcal) göstermektedir. Nütrisyon araştırmalarında sürekli olarak kullanılmakta olan bu denklem araştırmacılar arasında "Keys denklemi" olarak bilinmektedir [20, 31]. Keys grubunun yaptığı diğer tarihi (metabolik koğuş) çalışmalarında "Batı" diyetindeki kalori dengesinin kan kolesterolünü etkilediği, kilo alımının serum kolesterolünü artırdığı, obez hastalardaki kilo kaybının serum kolesterolünü azalttığı ve diyetteki suda çözünebilen liflerin serum kolesterolünü azalttığı gösterilmiştir [7, 30]. 1970 yılından önce yapılan tüm bu bilimsel katkılar zaman içinde dünya genelindeki araştırmacıların çalışmalarında tekrarlanmıştır. Bu katkılar toplum düzeyinde epidemik kardiyovasküler hastalıktan korunmanın temelini oluşturan majör koroner risk faktörlerinin tanımlanmasında kritik öneme sahiptir [25]. Bu önemli çalışma Akdeniz diyetinin kardiyovasküler hastalıklardan koruyan standart diyet haline gelmesine katkı yapmıştır.

3 Sadece Basit Bir Diyet Yağ ve Lipid Problemi mi?

Koroner kalp hastalığının az veya çok görüldüğü toplumlar arasındaki diyetle alınan lipid ve kan kolesterolü düzeylerinin farklılığı ile ilgili bariz kanıtlar, kardiyovasküler hastalıkların etyolojisi ile ilgili çalışmalar üzerinde tarihi bir etki yapmıştır: Yıllar boyunca diyet komponentlerinin bütünsel olarak değerlendirilmesi bir şekilde ihmal edilmiştir.

1980'lerde İtalya'da (tüm ülkeden seçilen randomize örneklerle) yapılan toplum tabanlı bir çalışmanın diyet ve kardiyometabolik risk faktörleri ile ilgili ilk sonuçları Akdeniz tipi diyetin koruyucu etkisini açıklamanın karmaşıklığını ortaya koymuştur. Daha fazla "aterojenik" gıda tüketimi ile serum kolesterol ve kan basıncı arasında bulunan ilişkiye ek olarak daha yüksek kan glukoz düzeyleri ile de ilişkili bulunmuştur [55]. Yaygın olarak zeytin yağı tüketen bireylerin yaygın olarak tereyağı tüketenlerle karşılaştırmasında da kan glukoz düzeyleri ile ilişkili sonuçlar bulunmuştur [56]. Akdeniz bölgesinde yaşayanlarla Kuzey Avrupa ve Avustralya'da yaşayan bireylerin karşılaştırıldığı kültürler arası bir çalışmada, diyetteki monoansatüre yağ asitlerinin satüre yağ asitleri ile değiştirilmesinin insülin sensitivitesini bozduğu tespit edilmiştir [60].

Bu çalışmaların sonuçları diyet ve kardiyovasküler hastalıkla ilişkili diğer metabolik yolakların önemini ortaya koymuştur; diyet komponentlerinin kardiyovasküler hastalıkları sadece lipid metabolizması yoluyla değil karbonhidratlar yoluyla da etkilediği ortaya koyulmuştur. Bir çok metabolik çalışma kardiyovasküler hastalık etyolojisi ile ilişkili bu gözlemleri konfirme etmiştir. Ayrıca karbonhidrat metabolizmasının birçok kanser türünün etyoloji ve patojenezindeki önemini gösteren bazı güncel çalışmalar, özellikle insülinin büyüme faktörleri üzerindeki proliferatif etkiyi regüle edici etkisine odaklanmaktadır. Bu gözlemler diyetin kardiyovasküler hastalılar ve kanser gibi kronik hastalıklardan koruyucu etkilerinin anlaşılabilmesi için daha kompleks bir yaklaşım gerektiğini ortaya koymaktadır.

4 Diyet Göstergeleri: Gıda, Besin Öğeleri ve Kronik Hastalıkların Etyolojisini Araştıran Çalışmaların Paternleri

Nütrisyonel epidemiyoloji ile ilgili geleneksel analizlerde bir veya az sayıda besin öğesi ve gıdanın hastalıklarla ilgileri araştırılmaktadır. Bu yaklaşımla elde edilen önemli miktarda kanıta rağmen bazı kavramsal ve metodolojik kısıtlamaları olduğu da göz önünde bulundurulmalıdır. İnsanlar izole besin öğeleri tüketmezler. Yemekler interaktif ve sinerjistik olabilen farklı besin öğelerinin kompleks kombinasyonlarından oluşurlar [41]. Bu nedenle tek besin öğesinin değerlendirilmesi doğru olmayabilir. Ancak çok sayıda besin öğesi veya gıda ile yapılan analizlerde istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunma ihtimali de şansa bağlı bir durumdur [15]. Aynı zamanda bazı besin öğelerinin birbirleri ile yüksek oranda ilişkili olması etkilerinin ayrı ayrı incelenmesini çok zorlaştırmakta-

dır; bu durum besin öğelerinin aynı modelde kullanılması ile bağımsız varyasyon oranlarının azalmasına bağlıdır [36].

Bir diyet paterninde yer alan multipl besin öğelerinin kümülatif etkileri yeterince büyük olduğu için muhtemelen tespit edilebilirken, tek bir besin öğesinin etkisi çok küçük olduğu için fark edilemeyebilir [50]. Bazı önemli diyet girişim çalışmaları ile ilgili literatürleri incelediğimizde, kan basıncı düşürme çalışmalarında görüldüğü gibi tek bir besin öğesi yerine diyet paternlerini değiştirmenin daha efektif olabileceğini gözlemledik [8].

Sonuç olarak belirli besin öğelerinin tüketimi genel olarak belirli diyet tipleri ile ilişkili oldukları için [27, 46], besin öğelerinin tek olarak analizleri diyet paternlerinden etkilenerek sonuçlarda karışıklık meydana gelebilir. Düşük diyet yağı; meyve, sebze, fiber, folat ve tam tahıl tüketimi ile ilişkili ise, bu durum her birinin bağımsız olarak koroner kalp hastalığı riskini azaltmasından kaynaklanıyor olabilir. Bu da diyet yağı ve koroner hastalık arasındaki ilişki değerlendirildiğinde potansiyel karışıklığa yol açabilecekleri anlamına gelir [59]. Diyet komponentleri arasındaki etkileşim nedeniyle oluşan karmaşanın ortadan kaldırılması zor olduğu için bu durumun istatistiksel analizle kontrol edilmeye çalışılması da başarısızlıkla sonuçlanabilir. Bu durumu çözmenin bir yolu gıda ve besin öğelerinin kombinasyonlar halinde nasıl tüketildiğini değerlendirmek amacıyla genel diyet paterninin kullanılmasıdır [2, 13, 21, 23, 24, 26, 28, 57]. Diyet paternleri kullanılarak yapılan analizlerde, paternler yemek yeme alışkanlıklarına göre belirlendiği için gıda ve besin öğeleri arasındaki eş bağlantıların kullanılması avantajlı olabilir [22].

5 Akdeniz Skorları ve Kronik Hastalıklar

Önceki paragrafta vurgulandığı üzere diyet paternlerinin belirlenebilmesi amacıyla kompleks bir indeksin kullanılması bireylerin yemek yeme kategorilerine göre gruplanabilmesini sağladığı için diyet alışkanlıkları daha iyi karakterize edilebilir. Bilimsel literatürde diyet patern göstergeleri ile ilgili farklı örnekler mevcuttur; bu makalede Akdeniz paterninin göstergeleri ve kronik hastalıklara odaklanacağız.

Yedi Ülke Çalışmasının araştırıcıları diyetlerin sağlığa uygunluk derecesini incelemek için geliştirdikleri Akdeniz Uygunluk İndeksini (MAİ) 1960 yılında pilot çalışma bölgesi olarak seçilen Güney İtalya'nın kırsal kesimindeki Nicotera'da test ettiler [4, 5, 17].

Yedi Ülke Çalışmasının 25 yıllık takibinde MAİ ile koroner kalp hastalığına bağlı mortalite arasında güçlü ters orantılı ilişki tespit edilmiştir [18]. Yedi Ülke Çalışmasındaki iki kırsal İtalyan kohortundaki sağlıklı Akdeniz diyet paterni 20. ve 40. yıllardaki kardiyovasküler olay gelişimini azaltmıştır [39].

MEDSCORE'u (Yunan diyetinin komponentlerini baz alan Akdeniz uygunluk indeksi) geliştiren araştırmacılar yaşlı bir Yunan kohortundaki sağkalımın Akdeniz-Yunan diyetine uyum sağlandığı oranda arttığını bulmuşlardır [57]. Yunan indeksinin modifiye bir versiyonu (m-MEDSCORE) EPIC çalışmasındaki çeşitli analizlerde kul-

lanılmaktadır. Modifikasyon Santral ve Kuzey Avrupa toplumlarının diyet özellikleri dikkate alınarak yapılmıştır. Ancak indeksin Akdeniz tipi diyete uyumun derecesini ölçebilme yeteneği korunmuştur. Yüksek m-MEDSCORE değerlerinin Avrupa ülkelerindeki yaşam sürelerine pozitif katkı yapmada tekli besin öğelerinden daha önemli olduğu bulunmuştur [58]. Skorun İspanyol EPIC kohortunda kullanımı ile başlangıçta sağlıklı olan orta yaşlı bireylerdeki fatal ve nonfatal kardiyovasküler hastalık insidansı ile Akdeniz diyetine uyum arasında ters orantılı ilişki tespit edilmiştir [37].

EPIC Çalışması m-MEDSCORE ile ölçülen Akdeniz diyetine uyum derecesi ile tüm kanser tipleri arasındaki ilişki ile ilgili önemli bir kanıt sağlamıştır: Skor ne kadar yükselirse kanser riski o kadar azalmıştır [11]. m-MEDSCORE'un Asya-Amerikalı kadınlardan oluşan kohorta uygulanması ile Akdeniz diyetine yüksek uyumun meme kanserine karşı koruyucu etkisi olduğu tespit edilmiştir [63]. Ayrıca m-MEDSCORE kullanılan popülasyonlarda diyet ve kognitif bozulma ilişkisi hakkında güncel kanıtlar mevcuttur: Yüksek indeks skorlarının manyetik rezonans kullanılarak ölçümlenen beyaz maddede görülen bozulmaları da azalttığı bulunmuştur [19].

EPIC çalışmasının Avrupa kohortlarında m-MEDSCORE skoru ile metabolik sendrom gibi yüksek insülin rezistansı ile karakterize rahatsızlıkları da kapsayan bazı metabolik özelliklerin ilişkisi analiz edilmiştir. Yüksek m-MEDSCORE düzeylerinin zaman içinde bel çevresinde daha az artış görülmesi ile ilişkili olduğunun bulunmuş olması [49], Akdeniz popülasyonlarında son yıllarda görülen kilo artışının [16, 42], yüksek enerji alımından (gıdanın kalitesinde değil miktarındaki artış) kaynaklandığının ve bazı diyet alışkanlıklarının değişerek Batı tarzı diyete yaklaştığının [35] ve Akdeniz avantajını azalttığının [45] göstergesidir. Ayrıca daha düşük metabolik sendrom prevalansı da azalmış endometrial [12], kolorektal [6] ve meme kanseri [1] riski ile ilişkili bulunmuştur. Bu bulgu Akdeniz diyetinin bu kanser türlerinin riskleri üzerindeki etkisini indirekt olarak konfirme edebilir. Güncel metaanalizlerde Akdeniz diyeti ile metabolik sendrom komponentlerinin düşük yağlı diyete göre [43], anlamlı olarak azaldığı ve Akdeniz diyeti ile beslenenlerde daha az metabolik sendrom görüldüğü yönünde ikna edici kanıtlar mevcuttur [29].

6 Akdeniz Diyet Paternleri ve İtalya'daki Güncel Popülasyon Çalışmalarındaki Kronik Hastalıklar

İtalya'daki en büyük ölçekli kronik hastalık etyoloji araştırması (başlıca kanser ve kardiyovasküler hastalıklar ile ilgili) EPIC çalışmasının İtalyan kohortunda sürdürülmektedir. İtalya'daki beş merkezde 1993-1998 yılları arasında 47.749 gönüllü (15.171 erkek; 32.578 kadın) kaydedilmiştir: Kuzey İtalya'da iki merkez (Varese, n=12.083; Turin, n=10.604), Orta İtalya'da bir merkez (Floransa, n=13.597), ve Güney İtalya'da iki merkez (Ragusa, n=6403; Napolis, n=5062) mevcuttur. Tüm maruziyet değişkenleri ile kanser insidansını ve mortaliteyi belirlemekte kullanılan tüm prosedürler Avrupa Araştırmasında olduğu

Tablo 2 İtalyan Akdeniz İndeksi: Skoru oluşturan komponentler

Yüksek oranda tüketim ile pozitif skor	Makarna
Yüksek oranda tüketim ile pozitif skor	Tipik Akdeniz sebzeleri (örn. çiğ ya da pişmiş yeşil yapraklı sebzeler, çiğ domates, soğan ve sarımsak, lahana ve kök bitkiler dışındaki diğer tüm sebzeler)
	Meyve
	Bakliyat
	Zeytin yağı
	Balık
Az miktarda tüketim ile pozitif skor	Alkolsüz
	Tereyağ
	Kırmızı et
	Patates

WCRF/AICR Sürekli Güncelleme Projesi 2011, http://www.wcrf.org/cancer_research/cup/colorectal_cancer.php

gibi belirlenmiştir [48]. Diyet lokal yeme alışkanlıklarını tespit etmeyi amaçlayan semi-kantitatif yeme sıklığı anketleri ile değerlendirilmiştir [44]. EPICOR, EPIC İtalya'nın kardiyovasküler hastalıklarla ilgili bölümüdür. Koroner ve serebrovasküler olayların insidanslarının belirlenmesinde spesifik olarak valide edilen prosedürler dizayn edilmiş ve uygulanmıştır [2, 9, 14, 51].

Diyet paternlerinin kronik hastalıklardaki rolünü değerlendirebilmek amacıyla İtalyan Akdeniz Diyet İndeksi geliştirilmiştir. Bu indeksin analizinde ortaya 11 gıdanın tüketimine dayanan bir skor çıkmıştır: 6 tipik Akdeniz gıdası yüksek miktarda tüketilmektedir (makarna, tipik Akdeniz sebzeleri olan çiğ ya da pişmiş yeşil yapraklı sebzeler, çiğ domates, soğan ve sarımsak ile lahana ve kök bitkiler dışındaki tüm diğer sebzeler, meyve, bakliyat, zeytin yağı ve balık); Akdeniz için tipik olmayan 4 gıda düşük miktarda tüketilmektedir (alkolsüz içkiler, tereyağı, kırmızı et ve patates) ve alkol. Tipik Akdeniz gıdalarının tüketim miktarı dağılımın üçüncü üçte birlik diliminde ise 1 puan, diğer tüm tüketimler için 0 puan verildi. Akdeniz için tipik olmayan gıdaların tüketimi dağılımın birinci üçte birlik diliminde ise 1 puan verildi. Etanole 12 $g \cdot d^{-1}$ dozuna kadar 1 puan, hiç kullanmayanlar ile >12 $g \cdot d^{-1}$ dozları için de 0 puan verildi.

İtalyan indeksi Yunan MEDSCORE indeksinden biraz farklıdır. Majör farklardan biri tipik İtalyan gıdası olan makarnanın komponentleri arasındadır [2]. Antropoloji bağlayıcıdır: İtalyanların yemek kültürü belirgin olarak makarna tarafından karakterize edilir. Bu durum ülkenin özellikle Akdeniz'deki kısmı için geçerlidir. İtalya'nın yeniden birleşmesi sırasında (1860-1861), Savoia Krallığı Başbakanı (Camillo Benso di Cavour, Kuzey

İtalya'daki Turin'de yaşıyordu) Güney İtalya'nın Giuseppe Garibaldi tarafından fethedilmesini beklerken Paris'teki elçisine şu şifreli sözleri yazmıştı: "Kısa süre sonra hepimiz makarna yiyeceğiz" [40]. EPIC'te yer alan yüksek kaliteli diyet verilerine paralel olarak diğer hayat tarzı değişkenleri ile ilgili veriler de yüksek kalitededir. Bu veriler analiz için önem arz etmektedir. Bu değişkenlerin bazıları göz önüne alındığında Akdeniz diyet paterninin kardiyovasküler hastalıklar ve kansere karşı potansiyel koruyucu rolü hakkında elde edilen sonuçlar oldukça etkileyicidir. İtalyan Akdeniz İndeksi kullanılarak yapılan analizler diğer gruplardaki tipik Akdeniz diyet komponentlerinin analizleri ile paralellik göstermektedir.

Yeşil yapraklı sebzelerin ve zeytin yağının yüksek oranda tüketiminin (düşük tüketime göre) kadınlardaki koroner kalp hastalığına karşı koruyucu olduğu bulunmuştur [9]. Bilimsel bir toplantıda sunulan preliminer veriler İtalyan Akdeniz İndeksinin koroner kalp hastalığı (fatal ve nonfatal) insidansı ile ters orantılı olduğunu göstermiştir. Kadınlardaki fark istatistiksel anlamlılığa yakındır. Ayrıca izokalorik Akdeniz diyeti için tipik olmayan şekilde glisemik indeksi yüksek olan karbonhidratlar yönünden zengin diyetin (yüksek glisemik yük) koroner kalp hastalığı riskinde %50'den daha fazla anlamlı risk artışına yol açtığı tespit edilmiştir [51].

İtalyan Akdeniz İndeksi yüksek olan bireylerdeki inme riskinin skoru düşük olanlara göre azaldığı bulunmuştur: Anlamlı rölatif risk tüm inme tipleri için 0.47, iskemik inme için 0.37 bulunmuştur [2]. Gıdaların total antioksidan kapasitelerinin koruyucu olduğu indirekt olarak konfirme edilmiştir: Üst ve alt üçte birlik dilimler karşılaştırıldığında bulunan 0.57'lik rölatif risk anlamlıdır [14].

İtalyan Akdeniz İndeksi yüksek olan bireylerdeki kolorektal kanser riski düşük skorlu bireylere göre anlamlı olarak azalmıştır: Erkeklerdeki rölatif risk 0.54; kadınlardaki rölatif risk 0.46 [3].

Meme kanseri için de bir dizi tutarlı sonuç açıklanmıştır. Kohortun bir bölümü (Milano kohortu) ile ilgili verilerin sunulduğu bilimsel toplantıda İtalyan Akdeniz indeksinin anlamlı derecede azalmış riskle ilişkili olduğu bildirilmiştir (üst ve alt üçte birlik dilimler arasındaki rölatif risk 0.64). Glisemik yük ile koroner kalp hastalığı arasında da anlamlı ilişki mevcuttur (yüksek glisemik yük ile düşük glisemik yük karşılaştırılmasındaki rölatif risk 1.46) [52]. Sebze tüketimi ile ilgili analizler de tüm sebze tiplerinin anlamlı koruma sağladığını göstermiştir (tüm sebzeler için 0.65; yeşil yapraklı sebzeler için 0.70) [38].

7 Son Yorumlar

Uzun bir tarihe sahip olan Akdeniz diyeti ile kardiyovasküler hastalık etyolojisi arasındaki ilişki güncel veriler tarafından da desteklenmektedir. Bu durum özellikler İtalya için geçerlidir. İtalyan popülasyonunun diyet alışkanlıklarındaki olumsuz değişimlere rağmen, hala Akdeniz tipi diyete yakın olan bireyler anlamlı düzeyde korunmaktadır.

Bir diğer iyi haber de aynı diyet paterninin sık görülen kanser türlerine karşı da koruyucu olmasıdır (örn. meme ve kolorektal kanserler). İtalyan verileri diğer Avrupa toplumlarından ve kısmen de Kuzey Amerika toplumlarından elde edilen verilerle uyumludur: Kapsamlı bir metaanaliz bu verileri desteklemektedir [54]. WHO bu kanıtların ışığında, kronik hastalıkların önlenebilmesi için uygulanan diyetlerin Akdeniz diyetine göre modifiye edilmesini kuvvetle desteklemektedir [62]. Sonuç olarak Akdeniz diyet paternlerinden esinlenen beslenme şekilleri kronik hastalık epidemilerine karşı koruyucu olan lezzetli seçeneklerdir.

Referanslar

1. Agnoli C, Berrino F, Abagnato CA, Muti P, Panico S, Crosignani P, Krogh V (2010) Metabolic syndrome and postmenopausal breast cancer in the ORDET cohort: a nested case-control study. Nutr Metab Cardiovasc Dis 20(1):41–48
2. Agnoli C, Krogh V, Grioni S, Sieri S, Palli D, Masala G, Sacerdote C, Vineis P, Tumino R, Frasca G, Pala V, Berrino F, Chiodini P, Mattiello A, Panico S (2011) A priori-defined dietary patterns are associated with reduced risk of stroke in a large Italian cohort. J Nutr 141(8):1552–1558
3. Agnoli C, Grioni S, Sieri S, Palli D, Masala G, Sacerdote C, Vineis P, Tumino R, Giurdanella MC, Pala V, Berrino F, Mattiello A, Panico S, Krogh V (2012) Italian mediterranean index and risk of colorectal cancer in the Italian section of the EPIC cohort. Int J Cancer. doi: 10.1002/ijc.27740
4. Alberti-Fidanza A, Fidanza F, Chiuchiu MP, Verducci G, Fruttini D (1999) Dietary studies on two Italian population groups of the seven countries study. 3. Trends in food and nutrient intake from 1960 and 1991. Eur J Clin Nutr 53:854–860
5. Alberti-Fidanza A, Fidanza F (2004) Mediterranean adequacy index of Italian diets. Public Health Nutr 7:937–941
6. Aleksandrova K, Boeing H, Jenab M, Bas Bueno-de-Mesquita H, Jansen E, van Duijnhoven FJ, Fedirko V, Rinaldi S, Romieu I, Riboli E, Romaguera D, Overvad K, Østergaard JN, Olsen A, Tjønneland A, Boutron-Ruault MC, Clavel-Chapelon F, Morois S, Masala G, Agnoli C, Panico S, Tumino R, Vineis P, Kaaks R, Lukanova A, Trichopoulou A, Naska A, Bamia C, Peeters PH, Rodríguez L, Buckland G, Sánchez MJ, Dorronsoro M, Huerta JM, Barricarte A, Hallmans G, Palmqvist R, Khaw KT, Wareham N, Allen NE, Tsilidis KK, Pischon T (2011) Metabolic syndrome and risks of colon and rectal cancer: the European prospective investigation into cancer and nutrition study. Cancer Prev Res (Phila) 4(11):1873–1883
7. Anderson JT, Lawer A, Keys A (1957) Weight gain from simple overeating. Serum lipids and blood volume. J Clin Invest 36:81–88
8. Appel L, Moore TJ, Obrazanek E, for the DASH collaborative research group (1997) A clinical trial of the effects of dietary patterns on blood pressure. N Engl J Med 336:1117–1124
9. Bendinelli B, Masala G, Saieva C, Salvini S, Calonico C, Sacerdote C, Agnoli C, Grioni S, Frasca G, Mattiello A, Chiodini P, Tumino R, Vineis P, Palli D, Panico S (2011) Fruit, vegetables, and olive oil and risk of coronary heart disease in Italian women: the EPICOR Study. Am J Clin Nutr 93(2):275–283
10. Contaldo F, Pasanisi F, Mancini M (2003) Beyond the traditional interpretation of mediterranean diet. Nutr Metab Cardiovasc Dis 13:117–119.)
11. Couto E, Boffetta P, Lagiou P, Ferrari P, Buckland G, Overvad K, Dahm CC, Tjønneland A, Olsen A, Clavel-Chapelon F, Boutron-Ruault M-C, Cottet V, Trichopoulos D, Naska A,

Benetou V, Kaaks R, Rohrmann S, Boeing H, von Ruesten A, Panico S, Pala V, Vineis P, Palli D, Tumino R, May A, Peeters PH, Bueno-de-Mesquita HB, Buchner FL, Lund E, Skeie G, Engeset D, Gonzalez CA, Navarro C, Rodrıguez L, Sanchez M-J, Amiano P, Barricarte A, Hallmans G, Johansson I, Manjer J, Wirfart E, Allen NE, Crowe F, Khaw K-T, Wareham N, Moskal A, Slimani N, Jenab M, Romaguera D, Mouw T, Norat T, Riboli E, Trichopoulou A (2001) Mediterranean dietary pattern and cancer risk in the EPIC cohort. Br J Cancer 104:1493–1499

12. Cust AE, Kaaks R, Friedenreich C, Bonnet F, Laville M, Tjønneland A, Olsen A, Overvad K, Uhre Jakobsen M, Chajes V, Clavel-Chapelon F, Boutron-Ruault M-C, Linseisen J, Lukanova A, Boeing H, PischonT Trichopoulou A, Bamia C, Trichopoulos D, Palli D, Berrino F, Panico S, Tumino R, Sacerdote C, Gram IT, Lund E, Quiros JR, Travier N, Martınez-Garcıa N, Larranaga N, Chirlaque MD, Ardanaz E, Berglund G, Lundin E, Bueno-de-Mesquita HB, van Duijnhoven FJB, Peeters PHM, Bingham S, Khaw K-T, Allen NE, Key T, Ferrari P, Rinaldi S, Slimani N, Riboli E (2007) Metabolic syndrome, plasma lipid, lipoprotein and glucose levels, and endometrial cancer risk in the European prospective investigation into cancer and nutrition (EPIC). Endocr Relat Cancer 14:755–767
13. Department of Health and Human Services and USDA (2005) Dietary guidelines for Americans. Government Printing Office, Washington, DC
14. Del Rio D, Agnoli C, Pellegrini N, Krogh V, Brighenti F, Mazzeo T, Masala G, Bendinelli B, Berrino F, Sieri S, Tumino R, Rollo PC, Gallo V, Sacerdote C, Mattiello A, Chiodini P, Panico S (2011) Total antioxidant capacity of the diet is associated with lower risk of ischemic stroke in a large italian cohort. J Nutr 141:118–123
15. Farchi G, Mariotti S, Menotti A et al (1989) Diet and 20-year mortality in two rural population groups of middle-aged men in Italy. Am J Clin Nutr 50:1095–1103
16. Ferro-Luzzi A, James WP, Kafatos A (2002) The high-fat Greek diet: a recipe for all? Eur J Clin Nutr 56:796–809
17. Fidanza F (1991) The mediterranean Italian diet; keys to contemporary thinking. Proc Nutr Soc 50:519–526
18. Fidanza F, Alberti A, Lanti M, Menotti A (2004) Mediterranean adequacy index: correlation with 25-year mortality from coronary heart disease in the seven countries study. Nutr Metab Cardiovasc Dis 14:254–258
19. Gardener H, Scarmeas N, Gu Y, Boden-Albala B, Elkind MS, Sacco RL, DeCarli C, Wright CB (2012) Mediterranean diet and white matter hyperintensity volume in the Northern Manhattan study. Arch Neurol 69(2):251–256
20. Grande F, Anderson JT, Chlouverakis C, Proja M, Keys A (1965) Effect of dietary cholesterol on man's serum lipids. J Nutr 87(1):52–62
21. Guenther PM, Reedy J, Krebs-Smith SM (2008) Development of the healthy eating index-2005. J Am Diet Assoc 108:1896–1901
22. Hu FB (2002) Dietary pattern analysis: a new direction in nutritional epidemiology. Curr Opin Lipidol 13:3–9
23. Huijbregts PPCW, Feskens EJM, Kromhout D (1995) Dietary patterns and cardiovascular risk factors in elderly men: the Zutphen Elderly study. Int J Epidemiol 24:313–320
24. Huijbregts P, Feskens E, Rasanen L et al (1997) Dietary pattern and 20 year mortality in elderly men in Finland, Italy, and the Netherlands: longitudinal cohort study. BMJ 315:13–17
25. Inter-Society Commission for Heart Disease Resources, Atherosclerosis Study Group and Epidemiology Study Group (1970) Primary prevention of the atherosclerotic diseases. Circulation 42:A55–A95
26. Jacobson HN, Stanton JL (1986) Pattern analysis in nutrition. Clin Nutr 5:249–253
27. Kant AK, Schatzkin A, Block G et al (1991) Food group intake patterns and associated nutrient profiles of the US population. J Am Diet Assoc 91:1532–1537
28. Kant AK (1996) Indexes of overall diet quality: a review. J Am Diet Assoc 96:785–791

29. Kastorini KM, Milionis HJ, Esposito K, Giugliano D, Goudevenos JA, Panagiotakos DB (2011) The effect of mediterranean diet on metabolic syndrome and its components: A meta-analysis of 50 Studies and 534,906 individuals. J Am Coll Cardiol 57:1299–1313
30. Keys A, Grande F, Anderson JT (1961) Fiber and pectin in the diet and serum cholesterol concentration in man. Proc Soc Exp Biol Med 106:555–562
31. Keys A, Anderson JT, Grande F (1965) Serum cholesterol response to changes in the diet (I-IV). Metabolism 14:776
32. Keys A (1970) Coronary heart disease in seven countries. Circulation 41(Suppl. 1):1–2
33. Keys A et al (1980) Seven countries. A multivariate analysis of death and coronary heart disease. A commonwealth fund book. Harvard University Press, Cambridge
34. Keys A (1993) The inception and pilot surveys. In: Kromhout D, Menotti A, Blackburn H (eds) The Seven Countries Study. Brower, Utrecht
35. Keys A (1995) Mediterranean diet and public health: personal reflections. Am J Clin Nutr 61(6 Suppl):1321S–1323S
36. Lee CN, Reed DM, MacLean CJ et al (1988) Dietary potassium and stroke. N Engl J Med 318:995–996
37. Martınez-Gonzalez MA, Garcıa-Lopez M, Bes-Rastrollo M, Toledo E, Martınez-Lapiscina EH, Delgado-Rodriguez M, Vazquez Z, Benito S, Beunza JJ (2011) Mediterranean diet and the incidence of cardiovascular disease: a Spanish cohort nutrition. Metab Cardiovasc Dis 21:237–244
38. Masala G, Assedi M, Bendinelli B, Ermini I, Sieri S, Grioni S, Sacerdote C, Ricceri F, Panico S, Mattiello A, Tumino R, Giurdanella MC, Berrino F, Saieva C, Palli D (2012) Fruit and vegetables consumption and breast cancer risk: the EPIC Italy study. Breast Cancer Res Treat 132(3):1127–1136
39. Menotti A, Alberti-Fidanza A, Fidanza F (2012) The association of the mediterranean adequacy index with fatal coronary events in an Italian middle-aged male population followed for 40 years. Nutr Metab Cardiovasc Dis 22:369–375
40. Montanari M (2010) L'identità italiana in cucina—Laterza Editore
41. National Research Council—Committee on Diet and Health. Diet and health (1989) Implications for reducing chronic disease risk. National Academy Press, Washington, DC
42. Newby PK, Muller D, Hallfrisch J, Qiao N, Andres R, Tucker KL (2003) Dietary patterns and changes in body mass index and waist circumference in adults. Am J Clin Nutr 77:1417–1425
43. Nordmann AJ, Suter-Zimmermann K, Bucher HC, Shai I, Tuttle KR, Estruch R, Briel M (2011) Meta-analysis comparing mediterranean to low-fat diets for modification of cardiovascular risk factors. Am J Med 124:841–851
44. Palli D, Berrino F, Vineis P, Tumino R, Panico S, Masala G et al (2003) A molecular epidemiology project on diet and cancer: the EPIC-Italy prospective study. Design and baseline characteristics of participants. Tumori 89:586–593
45. Panico S, Palmieri L, Donfrancesco C, Vanuzzo D, Chiodini P, Cesana G, Ferrario M, Mattiello A, Pilotto L, Sega R, Giampaoli S, Stamler J (2008) Preventive potential of body mass reduction to lower cardiovascular risk: the Italian progetto CUORE study. Prev Med 47(1):53–60
46. Randall E, Marshall JR, Graham S, Brasure J (1990) Patterns in food use and their associations with nutrient intakes. Am J Clin Nutr 52:739–745
47. Riboli E, Kaaks R. (1997) The EPIC project: rationale and study design. European prospective investigation into cancer and nutrition. Int. J. Epidemiol 26(suppl. 1):S6–S14
48. Riboli E, Hunt KJ, Slimani N et al (2002) European prospective investigation into cancer and nutrition (EPIC): study populations and data collection. Public Health Nutr 5:1113–1124
49. Romaguera D, Norat T, Mouw T, May AM, Bamia C, Slimani N, Travier N, Besson H, Luan J, Wareham N, Rinaldi S, Couto E, Clavel-Chapelon F, Boutron-Ruault MC, Cottet V, Palli P, Agnoli C, Panico S, Tumino R, Vineis P, Agudo A, Rodriguez L, Sanchez MJ, Amiano P, Barricarte A, Huerta JM, Key TJ, Spencer EA, Bueno-de-Mesquita HB, Buchner FL, Orfanos P, Naska A, Trichopoulou A, Rohrmann S, Kaaks R, Bergmann M, Boeing H, Johansson J,

Hellstrom V, Manjer J, Wirfalt E, Uhre Jacobsen M, Overvad K, Tjonneland A, Halkjaer J, Lund E, Braaten T, Engeset D, Odysseos A, Riboli E, Peeters PHM (2009) Adherence to the Mediterranean diet is associated with lower abdominal adiposity in European men and women. J Nutr 139:1728–1737

50. Sacks FM, Obarzanek E, Windhauser MM, for the DASH investigators (1994) Rational and design of the dietary approaches to stop hypertension trial (DASH): a multicenter controlled-feeding study of dietary patterns to lower blood pressure. Ann Epidemiol 5:108–118
51. Sieri S, Krogh V, Berrino F, Evangelista A, Agnoli C, Brighenti F, Pellegrini N, Palli D, Masala G, Sacerdote C, Veglia F, Tumino R, Frasca G, Grioni S, Pala V, Mattiello A, Chiodini P, Panico S (2010) Dietary glycemic load and index and risk of coronary heart disease in a large Italian cohort: the EPICOR study. Arch Intern Med 170(7):640–647
52. Sieri S, Pala V, Brighenti F, Agnoli C, Grioni S, Berrino F, Scazzina F, Palli D, Masala G, Vineis P, Sacerdote C, Tumino R, Giurdanella MC, Mattiello A, Panico S, Krogh V (2012) High glycemic diet and breast cancer occurrence in the Italian EPIC cohort. Nutr Metab Cardiovasc Dis 23(7):650–657 [Epub ahead of print]
53. Slimani N, Fahey M, Welch AA, Wirfält E, Stripp C, Bergström E, Linseisen J, Schulze MB, Bamia C, Chloptsios Y, Veglia F, Panico S, Bueno-de-Mesquita HB, Ocké MC, Brustad M, Lund E, González CA, Barcos A, Berglund G, Winkvist A, Mulligan A, Appleby P, Overvad K, Tjønneland A, Clavel-Chapelon F, Kesse E, Ferrari P, Van Staveren WA, Riboli E (2002) Diversity of dietary patterns observed in the European prospective investigation into cancer and nutrition (EPIC) project. Public Health Nutr 5(6B):1311–1328
54. Sofi F, Cesari F, Abbate R, Gensini GF, Casini A (2008) Adherence to mediterranean diet and health status: meta-analysis. BMJ 337:a1344
55. Trevisan M, Krogh V, Freudenheim JL, Blake A, Muti P, Panico S, Farinaro E, Mancini M, Menotti A, Ricci G (1990) Diet and coronary heart disease risk factors in a population with varied intake. The research group ATS-RF2 of The Italian National Research Council. Prev Med 19(3):231–241
56. Trevisan M, Krogh V, Freudenheim J, Blake A, Muti P, Panico S, Farinaro E, Mancini M, Menotti A, Ricci G (1990) Consumption of olive oil, butter, and vegetable oils and coronary heart disease risk factors. The Research Group ATS-RF2 of the Italian National Research Council. JAMA 263(5):688–692
57. Trichopoulou A, Kouris-Blazos A, Wahlqvist ML, Gnardellis C, Lagiou P, Polychronopoulos E et al (1995) Diet and overall survival in elderly people. BMJ 311:1457–1460
58. Trichopoulou A, Orfanos P, Norat T, Bueno-de-Mesquita B, Ocke MC, Peeters PH et al (2005) Modified Mediterranean diet and survival: EPIC-elderly prospective cohort study. BMJ 330:991
59. Ursin G, Ziegler RG, Subar AF et al (1993) Dietary patterns associated with a low-fat diet in the National Health Examination follow-up study: identification of potential confounders for epidemiologic analyses. Am J Epidemiol 137:916–927
60. Vessby B, Uusitupa M, Hermansen K, Riccardi G, Rivellese AA, Tapsell LC, Nälsén C, Berglund L, Louheranta A, Rasmussen BM, Calvert GD, Maffetone A, Pedersen E, Gustafsson IB, Storlien LH; KANWU Study (2001) Substituting dietary saturated for monounsaturated fat impairs insulin sensitivity in healthy men and women: The KANWU Study. Diabetologia 44(3):312–319
61. Willett WC, Sacks F, Trichopoulou A, Drescher G, Ferro-Luzzi A, Helsing E et al (1995) Mediterranean diet pyramid: a cultural model of healthy eating. Am J Clin Nutr 61:1402S–1406S
62. World Health Organization Study Group (2003) Diet, nutrition, and the prevention of chronic disease. WHO Tech Rep Ser, p 9166
63. Wu AH, Yu MC, Tseng CC, Stanczyk FZ, Pike MC (2009) Dietary patterns and breast cancer risk in Asian American women. Am J Clin Nutr 89(4):1145–1154

Diyetle Tuz Tüketimi ve Mide Kanseri Riski

Lanfranco D'Elia, Ferruccio Galletti ve Pasquale Strazzullo

Özet

İnsanlar yaklaşık 5000 yıl önce gıdaların korunması amacıyla büyük miktarda tuz kullanmaya başladılar. Günümüzde gelişen teknolojiler gıdaların saklaması için gereken tuz miktarının büyük oranda azaltılabilmesine olanak verdiği halde diyetle aşırı tuz tüketimi hala yaygındır. Sık görülen bir neoplazi olan mide kanserinin oluşumunda tuz tüketimini de içeren diyetle ilgili faktörlerin rol oynadığı düşünülmektedir. Bir dizi deneysel çalışmanın sonuçları tuzun Helicobacter pylori enfeksiyonu ile sinerjistik etki göstererek kokarsinojen etki yaptığı görüşünü desteklemektedir. Tuz ayrıca hücre proliferasyonu ve endojen mutasyonları artırıcı bağımsız etkiye de sahiptir. Birçok epidemiyolojik çalışmada aşırı tuz tüketimi ile mide kanseri arasındaki ilişki incelenmiştir. Hem kesitsel hem de prospektif çalışmalarda doza bağlı bir ilişki olabileceği gösterilmiştir. Özellikle longitudinal çalışmaları inceleyen kapsamlı bir metaanalizde toplam tuz tüketimi ve tuzdan zengin yiyeceklerin genel popülasyondaki gastrik kanser riski üzerinde olumsuz etkileri olduğu gösterilmiştir. Epidemiyolojik, klinik ve deneysel kanıtlar bir araya geldiğinde popülasyondaki tuz tüketiminin progresif olarak azaltımının gastrik kanser oranlarını da önemli oranda azaltabileceği ihtimalini desteklemektedir.

L. D'Elia · F. Galletti · P. Strazzullo
Department of Clinical and Experimental Medicine, "Federico II" University of Naples, Naples, Italy

P. Strazzullo (✉)
Department of Clinical and Experimental Medicine ESH—Excellence Center of Hypertension, "Federico II" University Medical School, via S. Pansini, 5, 80131, Naples, Italy
e-mail: strazzul@unina.it

V. Zappia et al. (eds.), *Advances in Nutrition and Cancer,*
Cancer Treatment and Research 159, DOI: 10.1007/978-3-642-38007-5_6,
© Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2014

Anahtar Kelimeler

Tuz tüketimi · Gastrik kanser · Risk · Gıda depolama · Helicopbacter pylori · Risk faktörü

Kısaltmalar

HP	*Helicobacter pylori*
COX-2	Siklooksijenaz-2
iNOS	İndüklenebilir nitrik oksit sentetaz
CagA	Sitotoksin ile ilişkili A geni
MNNG	Metilnitronitrozo guanidin
MNU	N-nitrozo-N-metilüre

İçindekiler

1 Giriş 84
2 Tuz Tüketimi ve Gastrik Kanser: Epidemiyolojik Kanıtlar 85
3 Tuz Tüketimi ve Helicobacter Pylori Enfeksiyonu 88
4 Diğer Biyolojik Mekanizmalar ve Deneysel Kanıtlar 91
5 Perspektifler 92
Referanslar 92

1 Giriş

Ekstraselüler sıvıda en fazla bulunan elektrolit olan sodyum vücut sıvı hacmi, plazma ozmolaritesi ve hücre membran potansiyelinin regülasyonunda majör rol oynamaktadır. İnsan vücudu evrim esnasında sodyum ve klorür miktarlarını korumak ve ekstraselüler sıvıdaki sodyum konsantrasyonunu rölatif olarak dar bir aralıkta tutabilmek için güçlü mekanizmalar geliştirmiştir [1]. Yaklaşık 5000 yıl önce doğal gıdalardaki sodyum miktarları oldukça düşük olduğu için insanların diyetindeki sodyum oranları son derece düşüktü [2]. Yüksek tuz tüketimine geçiş birçok gıdaya tuz eklenmesi ile çabuk bozulmalarının engellenebileceğinin keşfedilmesi ile başlamıştı [3]; bu yüksek tuz tüketimi yiyeceklerin korunmasında kullanılan modern teknolojilerin yaygın olarak mevcudiyetine rağmen hala devam etmektedir. Günümüzdeki tuz tüketiminin kabul edilemeyecek biçimde artmış olması ile tüm dünyada majör bir sağlık problemi olduğu anlaşılan tuz tüketimi hipertansiyon [4, 5], kardiyovasküler olaylar [6],renal disfonksiyon [8] ve osteoporoz [9] gibi epidemik rahatsızlıkların gelişimi ile ilişkilidir.

Yaygın bir neoplazi olan gastrik kanser tüm dünyadaki kanser ölümlerinin üçüncü en sık nedenidir [10, 11, 12]. Mide kanseri insidansının büyük coğrafi ve etnik farklılıklar göstermesine ve son dekadlardaki görülme oranı yavaşça azalmasına rağmen hala önemli bir halk sağlığı yüküdür. Tüm dünyada en azından kısmen engellenebilir bir halk sağlığı problemidir [10, 11, 12]. Kanıtlar diyetteki tuz miktarı ve çok tuzlu gıdaların tüketilme alışkanlıklarını da içeren bir dizi diyet faktörü ile gastrik kanser arasında az ya da çok ilişki olduğunu ortaya koymaktadır. Bu bağlamda yüksek tuz tüketiminin gastrik kanser riski üzerindeki advers etkileri birçok vaka kontrol çalışması tarafından ortaya konulmuştur [13]. Ayrıca tuz ve tuzlu gıdaların tüketimi ile mide kanseri riski arasındaki ilişkiyi araştırmak amacıyla birkaç prospektif çalışma da gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmaların güncel bir metaanalizinde diyetle alınan tuzun gastrik kanser riski ile direkt olarak ilişkili olduğu ve habitüel tüketim miktarı arttıkça riskin de progresif olarak arttığı gösterilmiştir [14]. Epidemiyolojik kanıtlar yüksek tuz tüketiminin koruyucu gastrik mukus bariyerinin viskozitesini değiştirdiğini [15] ve gastrik kanseri için risk faktörü olduğu kabul edilen Helicobacter pylori (HP) kolonizasyonunu artırdığını [16] gösteren klinik ve deneysel çalışmalar tarafından desteklenmektedir. Yüksek intragastrik sodyum konsantrasyonlarının mukoza hasarı ve enflamasyonu yaptığı gösterilmiştir. Bu durumun da hücre proliferasyonunu ve endojen mutasyonları artırdığı bildirilmiştir [17, 18].

Esas olarak aşırı tuz tüketimi ile gastrik kanser riski arasındaki ilişkiyle ilgili güncel epidemiyolojik gelişmelere odaklanan bu bölümde, aşırı tuz tüketiminin gastrik kanser gelişimine yol açma ihtimali olan mekanizmaları ile ilgili bilgiler de mevcuttur.

2 Tuz Tüketimi ve Gastrik Kanser: Epidemiyolojik Kanıtlar

Gastrik kanserin insidans oranları coğrafi bölgelere göre farklılıklar göstermektedir. Bu farklılıklar genetik faktörlere ek olarak hayat tarzı ve/veya çevresel faktörlere bağlı olarak ortaya çıkıyor olabilir. Göçmen çalışmaları tuz ve gastrik kanser arasındaki ilişkiye odaklanmaktadır. Japon göçmenlerin analizinde Hawaii'de yaşayan Japonlardaki gastrik kanserin azalma oranlarının Brezilya'ya yerleşen Japonlardan daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Analizin devamında Brezilya'daki Japonlardaki gastrik kanser oranlarının Japonya'da kalanlarla benzer düzeyde olduğu da bulunmuştur [19]. Bu farklılıklar yüksek tuz tüketme alışkanlığının göç edilen ülkelerde sürdürülme düzeyleri ile açıklanabilir.

Daha eski ekolojik araştırmalarda da yüksek tuz tüketiminin gastrik kanser riski üzerindeki olumsuz etkileri gösterilmiştir: 24 ülkede gerçekleştirilen INTERSALT çalışmasında 24 saatlik üriner sodyum atılımı (diyet tuz tüketiminin geçerli bir göstergesi) ile gastrik kansere bağlı mortalite arasında anlamlı bir direkt ilişki gösterilmiştir [20]. Çin'in 65 kırsal eyaletinde yapılan bir analizde de tuz kullanılarak muhafaza edilen sebzelerin tüketimi ile mide kanserine bağlı mortalite arasında pozitif ilişki gösterilmiştir

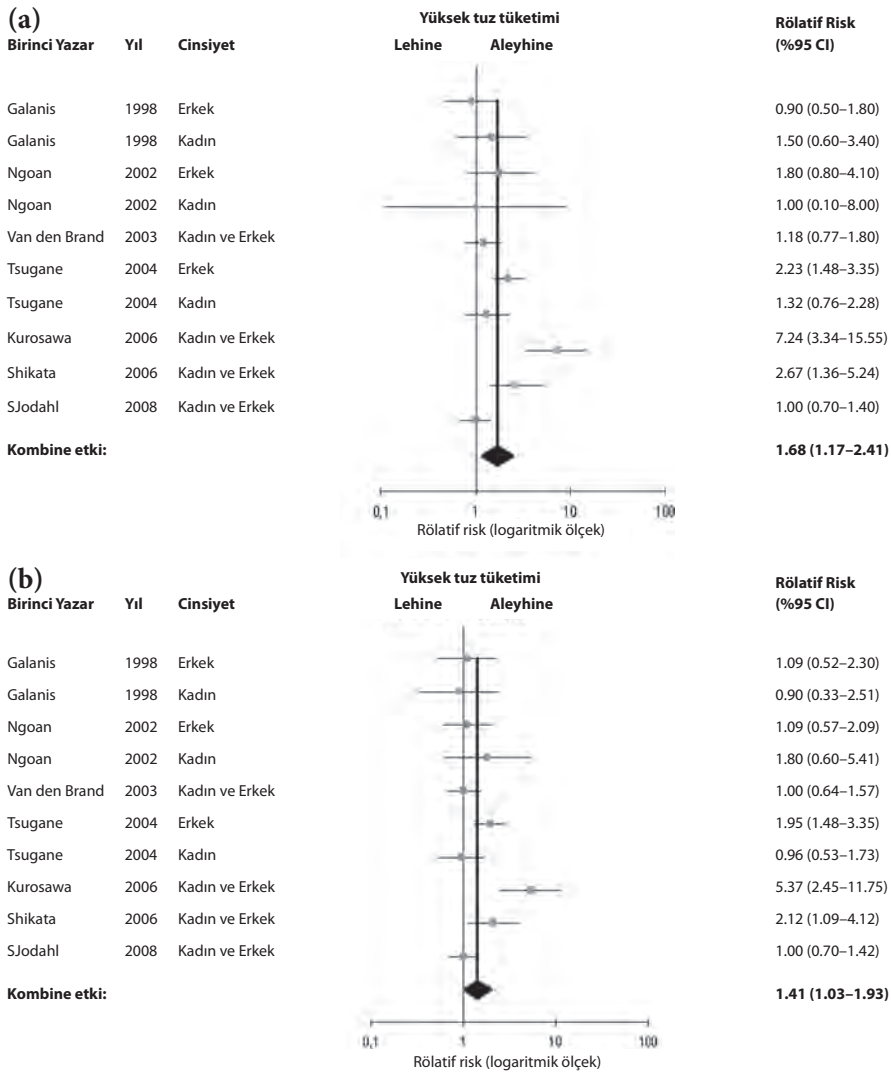
[21]. Benzer sonuçlar araştırmacıların 24 saatlik üriner sodyum atılımı ile gastrik kanser mortalitesi arasındaki pozitif ilişki tespit ettiği Japonya'nın 5 bölgesinde elde edilmiştir [22, 23].

Farklı ülkelerdeki gastrik kanser prevalansı büyük farklılıklar göstermektedir. Ancak çok sayıda vaka kontrol çalışmasında diyetle yüksek miktarda tuz alımının veya tuzlu gıdaların fazla tüketiminin sadece Asya ülkelerinde [24, 25] değil, Amerika [26, 27] ve Avrupa [28, 29, 30] ülkelerindeki gastrik kanser riskini de olumsuz etkilediği gösterilmiştir. En güncel Avrupa vaka kontrol çalışması da yüksek tuz tüketiminin, HP enfeksiyonu, tümörün bölgesi ve histolojik tipinden bağımsız olarak gastrik kanser riskini artıran önemli bir faktör olduğu sonucunu desteklemektedir [31]. Dünya Kanser Araştırma Fonunun 2007 yılında yayınladığı konsensus da tuz tüketimi ile gastrik kanser riski arasındaki ilişkiyi desteklemekte olup o esnada mevcut olan vaka kontrol çalışmalarının metaanaliz sonuçlarını da yayınlamıştır [13]. Bu analizde özellikle tuzlu gıdaların tüketim alışkanlığının gastrik kanser ile doğru orantılı ilişkiye sahip olduğu ve günlük tüketilen her porsiyon ile riskin beş kat arttığı gösterilmiştir.

Sonuç olarak, daha önce de bahsedildiği üzere çok sayıda prospektif çalışmada diyetle tuz alımının gastrik kanser riskini tahmin etmede önemli rol oynadığı bildirilmiştir. Bu çalışmaların çoğu Japonya'da gerçekleştirilmiştir. Ortalama 11 yıl boyunca takip edilen 39.065 kadın ve erkek Japon katılımcıdan oluşan büyük kohort çalışmasında anket soruları ile tespit edilen toplam tuz tüketimi ile gastrik kanser arasındaki ilişki erkeklerde anlamlı olarak yüksek bulunmuştur (RR=2.23). Kadınlarda da pozitif bir ilişki bulunmuş olsa da anlamlılık seviyesine ulaşılamamıştır (RR=1.32) [32]. Ayrıca yine Japonya'da yapılan ve 11 ve 14 yıllık takip sürelerine sahip iki farklı araştırmada da yüksek tuz tüketimi ile gastrik kanser arasında benzer bir ilişki bulunmuştur [33, 34]. Bu sonuçların aksine 12.000 kadın ve erkeğin 15 yıl süreyle takip edildiği Hawai kohortunda ise sadece kadınlarda pozitif bir ilişki tespit edilmiştir [35]. Hollanda'da gerçekleştirilen büyük bir popülasyon çalışmasında da bildirilen tuz tüketimi ile gastrik kanser arasında anlamlı bir ilişki tespit edilememiştir (RR=1.18) [36].

Çok tuzlu gıdaların tüketimine odaklanan prospektif çalışmalarda genel olarak tuz tüketiminin artmasının mide kanseri riskini olumsuz yönde etkilediği gösterilmiştir. 520.000 kadın ve erkeği içeren bir Avrupa kohortunda ise işlenmiş et tüketimi ile gastrik kanser arasında güçlü bir pozitif ilişki tespit edilmiştir. Çalışmada daha yüksek oranda işlenmiş et tüketenlerdeki risk (daha az tüketenlere göre %68 daha fazla bulunmuştur [37]. Yüksek oranda işlenmiş et tüketimi ile görülen benzer bir etki 970.000 Amerikalının ortalama 14 yıl süreyle takip edildiği büyük ölçekli prospektif araştırmada da tespit edilmiştir [38].

Tuzlu balık tüketimi ile de benzer sonuçlar elde edilmiştir. 17.600 Amerikalı erkeği içeren bir çalışmada daha fazla tuzlu balık tüketiminin daha yüksek gastrik kanser mortalitesi ile korele olduğu gösterilmiştir (RR=1.90) [39]. Bir Japon kohortunda yapılan araştırmada erkeklerdeki daha yüksek tuzlu balık tüketiminin gastrik kanser insidansını anlamlı olarak artırdığı bulunmuştur (RR=1.77). Kadınlardaki artış ise anlamlılık düzeyine ulaşamamıştır (RR = 1.17) [32].



Şekil 1 *Diyet Tuz Tüketimi ve Mide Kanseri Riski* **a** "*Yüksek" tuz tüketimi*: "Yüksek" veya "düşük" tuz tüketimi ile ilişkili gastrik kanser riskinin karşılaştırıldığı 7 yayınlanmış prospektif çalışmadaki 10 popülasyon kohortunun meta analiz diyagramı **b** *"Orta-yüksek" tuz tüketimi*: "Orta-yüksek" veya "düşük" tuz tüketimi ile ilişkili gastrik kanser riskinin karşılaştırıldığı 7 yayınlanmış prospektif çalışmadaki 10 popülasyon kohortunun meta analiz diyagramı Total popülasyon n=268.718; olay sayısı n=1474; Sonuçlar rölatif risk (RR) ve %95 güven aralığı (%95 CI) ile gösterilmektedir. ([14] nolu referanstan adapte edilmiştir).

Ancak yazarlar yüksek salamura gıda tüketiminin de hem kadın hem de erkeklerde daha yüksek gastrik kanser ile ilişkili olduğunu da bildirmiştir [32]. Atom bombası sonrası sağ kalan 55.000 Japon'dan oluşan bir kohorttaki 20 yıllık takipte yüksek sa-

lamura gıda tüketiminin gastrik kanser riskini artırma eğilimine sahip olduğu gösterilmiştir. Ancak bu farklılık istatistiksel anlamlılık düzeyine ulaşmamıştır (RR = 1.11) [40].

Ayrıca yine Asya diyetinde sık tüketilen çok tuzlu bir gıda olan miso çorbasının analizinde de artmış tüketimin hem küçük bir Amerikan kohortunda [35] hem de büyük bir Japon popülasyonunda [41] görülen gastrik kanser olaylarında anlamlı olmayan bir yükselişe neden olduğu tespit edilmiştir.

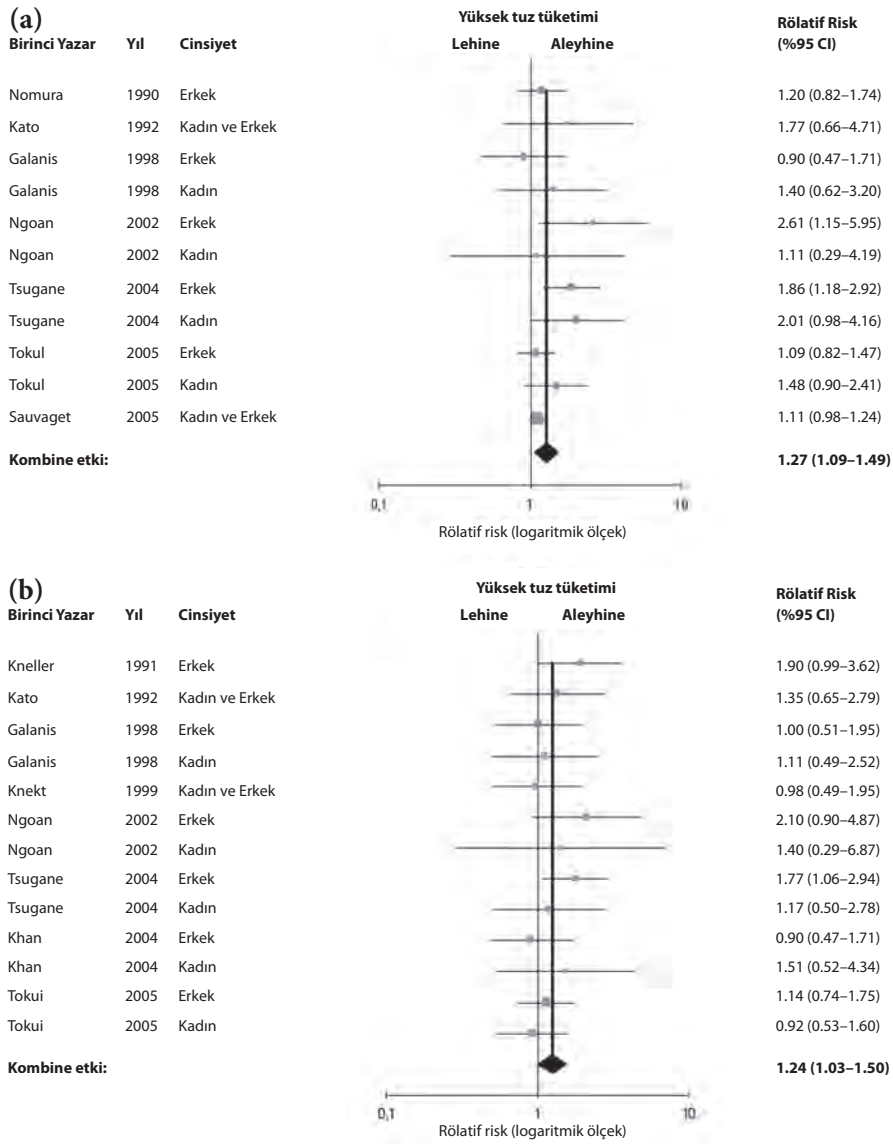
Tüm prospektif çalışmaları içeren güncel bir sistematik analizde de yüksek tuz tüketimi ile gastrik kanser arasında tartışmasız direkt ve anlamlı bir ilişki olduğunu gösterilmiştir [14]. Bu metaanaliz 1998 ile 2008 yılları arasında 270.000 hasta ile yapılan (1474 olay görülen), çalışmaların sonuçlarını kapsamaktadır. 6-15 yıl süre ile takip edilen hastalardan elde edilen verilerin ortak analizinde tuz tüketim alışkanlıkları ile gastrik kanser insidansı arasında kademeli pozitif ilişki olduğu gösterilmiştir. "Yüksek" ve "orta-yüksek" tuz tüketimin "düşük" tuz tüketimine göre sırasıyla %68 ve %41 daha fazla kanser riski ile ilişkili olduğu bulunmuştur (Şekil 1). Bu ilişki kadın ve erkekler arasında anlamlı farklılık göstermediği gibi takibin süresi, yayın yılı ve kayıt esnasındaki yaş gibi faktörlerden de etkilenmemiştir. Özellikle Japon popülasyonlarda gerçekleştirilen çalışmalardaki tuz tüketiminin gastrik kanser için güçlü bir gösterge olduğu tespit edilmiştir. Farklı analizlerde zengin tuz içeren gıdaları tüketme alışkanlığı olanlardaki gastrik kanser riskinin daha yüksek olduğu gösterilmiştir: Özellikle salamura gıdalar, tuzlu balık ve işlenmiş et tüketiminin gastrik kanser riskinde sırasıyla %27, %24 ve %24 artış ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Ancak miso çorbası ile görülen artış anlamlılık düzeyine ulaşamamıştır (RR = 1.05) (Şekil 2).

Son olarak Dias-Neto ve ark. [42] tarafından yapılan analizde de tuzlu gıda tüketimi ve tuzlu gıda tercihi (veya tuzluk kullanımı) ile gastrik intestinal metaplazi arasındaki ilişki incelenmiştir. Kohort, vaka kontrol ve kesitsel analizleri içeren çalışmada yüksek tuz tüketimi ile görülen artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır.

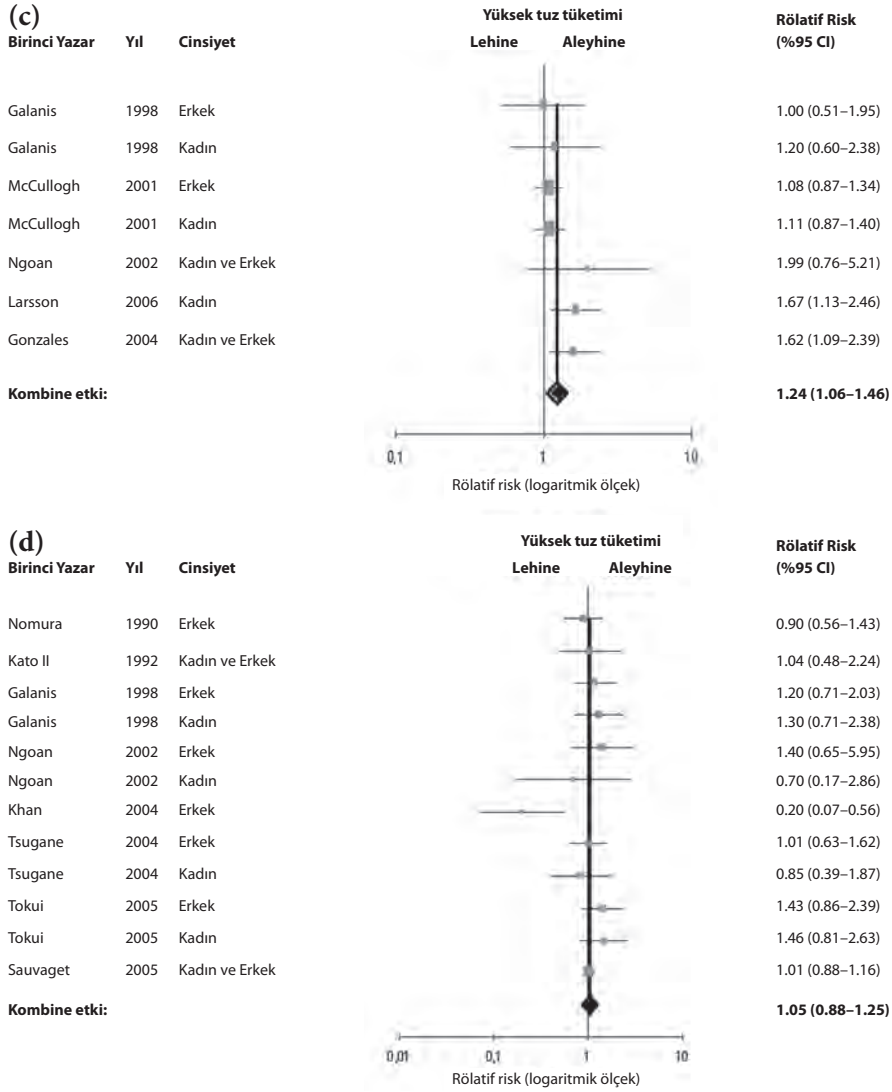
3 Tuz Tüketimi ve Helicobacter Pylori Enfeksiyonu

Helicobakter pylori (HP) enfeksiyonu gastrik kanser gelişiminin ana göstergelerinden birisidir. Yüksek tuz tüketimi HP kolonizasyonunu artırırken [16], inatçı HP enfeksiyonu da mukoza hasarını indüklemiştir [16]. Birkaç çalışmada da aşırı tuz tüketimi, HP enfeksiyonu ve karsinogenez arasında muhtemel bir ilişki olabileceği bildirilmiştir [34, 43, 44].

40-49 yaşları arasındaki 634 Japon erkekle gerçekleştirilen kesitsel çalışmada yüksek oranda tuz içeren gıdaların (özellikle miso çorbası ve salamura sebzeler) tüketim alışkanlıklarının yüksek HP enfeksiyonu prevalansı ile ilişkili olduğu bulunmuştur [45]. 24 saatlik üriner sodyum atılımını ulusal HP oranları ile ilişkilendiren uluslararası INTERSALT projesinde tespit edilen benzer bir ilişki EUROGAST tarafından



Şekil 2 *Yüksek oranda tuz içeren gıdalar ve gastrik kanser riski* **a** *Salamura gıdalar*: "Yüksek" veya "düşük" salamura gıda tüketimi ile ilişkili gastrik kanser riskinin karşılaştırıldığı 7 yayınlanmış prospektif çalışmadaki 11 popülasyon kohortunun meta analiz diyagramı. Total popülasyon, n=242.568; olay sayısı, n=2858 **b** *Tuzlanmış balık*: "Yüksek" veya "düşük" tuzlanmış balık tüketimi ile ilişkili gastrik kanser riskinin karşılaştırıldığı 8 yayınlanmış prospektif çalışmadaki 13 popülasyon kohortunun meta analiz diyagramı. Total popülasyon, n=209.704; olay sayısı, n=1447 **c** İşlenmiş et: "Yüksek" veya "düşük" işlenmiş tüketimi ile ilişkili gastrik kanser riskinin karşılaştırıldığı 5 yayınlanmış prospektif çalışmadaki 7 popülasyon kohortunun meta analiz diyagramı. Total popülasyon, n=1.578.092; olay sayısı, n=2002 Salamura gıdalar: "Yüksek" salamura gıda tüketimi ve "düşük" salamura gıda tüketimi ile ilişkili gastrik kanser riskinin karşılaştırıldığı 7 yayınlanmış prospektif çalışmadaki 11 popülasyon kohortunun meta analiz diyagramı. Total popülasyon, n=242.568; olay sayısı, n=2858 **d** *Miso çorbası*: "Yüksek" veya "düşük" miso çorbası tüketimi ile ilişkili gastrik kanser riskinin karşılaştırıldığı 8 yayınlanmış prospektif çalışmadaki 12 popülasyon kohortunun meta analiz diyagramı. Total popülasyon, n=249.931; olay sayısı, n=3022. Sonuçlar rölatif risk (RR) ve %95 güven aralığı (%95 CI) ile gösterilmektedir. ([14] nolu referanstan adapte edilmiştir).



Şekil 2 (Devamı)

da bildirilmiştir. HP enfeksiyonu oranları ile üriner sodyum atılımı arasında hemen hemen tüm yaş ve cinsiyet kategorilerini kapsayan pozitif bir ilişki tespit edilmiştir [46].

Japon [44] ve Korelilerde [34] gerçekleştirilen iki küçük vaka kontrol çalışmasında gastrik kanser gelişenlerde HP enfeksiyonu ve tuz tüketiminin ilişkisi incelenmiştir. Yazarlar yüksek tuz tüketimi ile HP enfeksiyonunun kombinasyonunun düşük tuz tüketi-

mi ve negatif HP enfeksiyonuna göre daha yüksek gastrik kanser riski taşıdığını tespit etmişlerdir. Ayrıca Japonlardaki yüksek tuz tüketimi ve HP enfeksiyonu varlığının, düşük tuz tüketimi ve HP enfeksiyonu pozitif olanlara göre daha yüksek gastrik kanser riski ile ilişkili olduğu gösterilmiştir [44].

İnsanlardaki tuz tüketimi ile HP enfeksiyonu arasındaki potansiyel ilişkiyi inceleyen Japon prospektif çalışmasında sadece HP enfeksiyonu pozitif olan gruptaki yüksek tuz tüketimi ile gastrik kanser arasında bir ilişki bulunmuştur [34]. Sonuçlarda hem atrofik gastrit hem de HP enfeksiyonu olan bireylerdeki yüksek tuz tüketiminin gastrik karsinogenez üzerinde güçlü bir etki yaptığı da gösterilmiştir.

Diyetle yüksek tuz tüketimi ve HP enfeksiyonunun gastrik karsinogenez üzerindeki sinerjistik etkileri hayvan deneylerinde de tespit edilmiştir. Helicobacter pylori (HP) enfeksiyonu tuzlu diyet uygulanan farelerdeki gastrik mukoza hasarını artırmaktadır [47]. Ayrıca HP enfeksiyonu olan Moğol çöl farelerinde yapılan bir çalışmada yüksek tuz tüketiminin kokarsinojenik etkisi teyit edilmiştir. Yüksek tuz tüketiminin anti HP antikorların titresinde artış, hipergastrinemi ve enflamatuar hücre infiltrasyonu ile de ilişkili olduğu gösterilmiştir [43].

4 Diğer Biyolojik Mekanizmalar ve Deneysel Kanıtlar

Bir dizi deneysel çalışmada aşırı tuz tüketiminin gastrik kanser eğilimi üzerindeki olumsuz etkisinin muhtemel mekanizmaları araştırılmıştır. Daha önce de bahsettiğimiz gibi, aşırı tuz tüketimi ile HP enfeksiyonu arasında güçlü bir etkileşim mevcuttur. Yüksek tuz tüketimi gastrik mukozadaki HP kolonizasyonunu artırır [16], yüzeydeki mukus hücrelerini çoğaltır ve mukus bez hücrelerinden salgılanan müsini azaltır [43]. Sıçanlarda yapılan bir çalışmada yüksek tuz tüketiminin hücre salgısını azalttığı ve mutajeneze duyarlı S faz hücrelerinin sayısını artırdığı gösterilmiştir [17]. Aynı türde tuz uygulanması ile yüzey mukus hücre katmanında doza bağlı hasar ve replikatif DNA sentezinde artış olmaktadır [18]. Ayrıca HP enfeksiyonu olan çöl farelerinde yüksek tuz tüketiminin etkisi ile COX-2 ve İNOS yukarı regüle olurken [48], HP enfeksiyonunun etkileri güçlenerek gastrik kanser progresyonuna neden olmuştur [49]. Yüksek tuz tüketimi CagA ekspresyonunu (HP geni) güçlendirirerek bu genin gastrik epitel hücrelerinin için doğru yer değiştirme kapasitesini artırır. HP enfeksiyonunun epitel hücrelerinin fonksiyonlarını değiştirme kapasiteleri de artar [50].

Ek olarak HP enfeksiyonu varlığında yüksek tuz tüketimi ile indüklenen hipergastrinemi [43] ile kronik hipergastrinemi ve HP enfeksiyonunun sinerjistik etkisi parietal hücre kaybına ve gastrik kanser progresyonuna katkıda bulunabilir [51].

Birçok çalışmada tuz tüketimindeki artışın gıda kaynaklı karsinojenlerin etkilerini desteklediği veya artırdığı gösterilmiştir. Örneğin farklı bölgelerde tümör oluşumuna

yol açabilen [53] potent karsinojen olan N-nitrozo bileşikleri [1, 15, 52] koruyucu mukus bariyerinin [43] viskozitesini etkileyerek gastrik epitel hasarına yol açar.

Sonuç olarak hayvan modellerinde yapılan bazı deneysel araştırmalardaki yüksek tuz tüketiminin kimyasal karsinojenlerle (MNNG ve MNU) sinerjistik etki göstererek gastrik kanser gelişiminde rol oynadığı gösterilmiştir [54, 55].

5 Perspektifler

Dünya çapında en yaygın görülen kanser türlerinden olan gastrik kanser yılda yaklaşık 870.000 yeni vaka [56, 57] ile tüm yeni kanser vakalarının %9.9'unu oluşturmaktadır [58]. Gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde (benzer oranlarda görülen) 628.000'den fazla ölüm vakası (%12.1) ile seyreden mortalite oranları da yüksek seyretmeye devam etmektedir [59]. Mide kanserinin dünya çapındaki insidansı son dekadlar içinde hızla azalmaktadır. Bu azalma Batı ülkeleri, Çin ve diğer Doğu Asya ülkelerinde diğer ülkeler kadar yüksek değildir. İnsidans artışı en yaşlı ve en genç yaş gruplarında gözlenmiştir [60]. Gastrik kanser Çin toplumunda Batı'ya göre daha erken yaşlarda başlamaktadır. Bu da yeni çevresel faktörlerin bir göstergesi olabilir.

Dünyadaki erişkin popülasyonların çoğundaki tuz tüketimi günde 6 gr'dan daha fazladır [1, 61, 62]. Birçok Doğu Avrupa ve Asya ülkesindeki tüketim de günde 12 gr'ın üstündedir [63]. WHO ortalama popülasyon tuz tüketim oranlarının günde 5 gr'ın altında olmasını tavsiye etmektedir [64]. Hem gelişmiş hem de gelişmekte olan ülkelerdeki tuz tüketiminin azaltılması yüksek maliyetli kardiyovasküler hastalık epidemilerinin engellenebilmesi için global öncelik olarak kabul edilmiştir [1, 65, 66, 67, 68, 69]. Bu politikanın kardiyovasküler hastalıklar üzerindeki olumlu etkilerine ek olarak farklı faydalar sunduğu yönünde de çok sayıda kanıt mevcuttur [70].

Referanslar

1. Antunes-Rodrigues J, de Castro M, Elias LL et al (2004) Neuroendocrine control of body fluid metabolism. Physiol Rev 84(1):169–208
2. Cordain L, Eaton SB, Miller JB et al (2002) The paradoxical nature of huntergatherer diets: meat-based, yet non-atherogenic. Eur J Clin Nutr 56 Suppl1:S42–S52
3. Eaton SB, Konner M (1985) Paleolithic nutrition. A consideration of its nature and current implications. N Engl J Med 312:283–289
4. Elliott P, Stamler J, Nichols R et al (1996) Intersalt revisited: further analysis of 24 hour sodium excretion and blood pressure within and across populations. Intersalt Coop Res Group. BMJ 312:1249–1253
5. Kupari M, Koskinen P, Virolainen J (1994) Correlates of left ventricular mass in a population sample aged 36 to 37 years. Focus on lifestyle and salt intake. Circulation 89:1041–1050
6. Strazzullo P, D'Elia L, Kandala NB et al (2009) Salt intake, stroke, and cardiovascular disease: meta-analysis of prospective studies. BMJ. doi:10.1136/bmj.b4567
7. Cianciaruso B, Bellizzi V, Minutolo R et al (1998) Salt intake and renal outcome in patients with progressive renal disease. Miner Electrolyte Metab 24(4):296–301

8. Cappuccio FP, Kalaitzidis R, Duneclift S et al (2000) Unravelling the links between calcium excretion, salt intake, hypertension, kidney stones and bone metabolism. J Nephrol 13:169–177
9. Devine A, Criddle RA, Dick IM et al (1995) A longitudinal study of the effect of sodium and calcium intakes on regional bone density in postmenopausal women. Am J Clin Nutr 62:740–745
10. Stewart BW, Kleihues P (2003) World cancer report. IARC Press, Lyon
11. Kamangar F, Dores GM, Anderson WF (2006) Patterns of cancer incidence, mortality, and prevalence across five continents: defining priorities to reduce cancer disparities in different geographic regions of the world. J Clin Oncol 24:2137–2150
12. Parkin DM (2006) The global health burden of infection associated cancers in the year 2002. Int J Cancer 118:3030–3044
13. World Cancer Research Fund/American Institute for Cancer Research (2007) Food, nutrition, physical activity, and the prevention of cancer: a global perspective. AICR, Washington DC
14. D'Elia L, Rossi G, Ippolito R et al (2012) Habitual salt intake and risk of gastric cancer: a meta-analysis of prospective studies. Clin Nutr. doi:10.1016/j.clnu.2012.01.003
15. Tatematsu M, Takahashi M, Fukushima S et al (1975) Effects in rats of sodium chloride on experimental gastric cancers induced by N-methyl-N-nitro-N-nitrosoguanidine or 4-nitroquinoline-1-oxide. J Natl Cancer Inst 55:101–106
16. Fox JG, Dangler CA, Taylor NS et al (1999) High-salt diet induces gastric epithelial hyperplasia and parietal cell loss, and enhances Helicobacter pylori colonization in C57BL/6 mice. Cancer Res 59:4823–4828
17. Charnley G, Tannenbaum SR (1985) Flow cytometric analysis of the effect of sodium chloride on gastric cancer risk in the rat. Cancer Res 45:5608–5616
18. Furihata C, Ohta H, Katsuyama T (1996) Cause and effect between concentration-dependent tissue damage and temporary cell proliferation in rat stomach mucosa by NaCl, a stomach tumor promoter. Carcinogenesis 17:401–406
19. Tsugane S, de Souza JM, Costa ML Jr et al (1990) Cancer incidence rates among Japanese immigrants in the city of Sao Paulo, Brazil, 1969–78. Cancer Causes Control 1:189–193
20. Joossens JV, Hill MJ, Elliott P et al (1996) Dietary salt, nitrate and stomach cancer mortality in 24 countries. European cancer prevention (ECP) and the INTERSALT cooperative research group. Int J Epidemiol 25:494–504
21. Kneller RW, Guo WD, Hsing AW et al (1992) Risk factors for stomach cancer in sixty-five Chinese counties. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 1:113–118
22. Tsugane S, Gey F, Ichinowatari Y et al (1992) Cross-sectional epidemiologic study for assessing cancer risks at the population level. I. Study design and participation rate. J Epidemiol 2:75–81
23. Tsugane S, Gey F, Ichinowatari Y et al (1992) Cross-sectional epidemiologic study for assessing cancer risks at the population level. II. Baseline data and correlation analysis. J Epidemiol 2:83–89
24. Ji BT, Chow WH, Yang G et al (1998) Dietary habits and stomach cancer in Shanghai, China. Int J Cancer 76:659–664
25. Lee JK, Park BJ, Yoo KY et al (1995) Dietary factors and stomach cancer: a case-control study in Korea. Int J Epidemiol 24:33–41
26. Graham S, Haughey B, Marshall J et al (1990) Diet in the epidemiology of gastric cancer. Nutr Cancer 13:19–34
27. López-Carrillo L, López-Cervantes M, Ward MH et al (1999) Nutrient intake and gastric cancer in Mexico. Int J Cancer 83:601–605
28. Coggon D, Barker DJ, Cole RB et al (1989) Stomach cancer and food storage. J Natl Cancer Inst 81:1178–1182
29. La Vecchia C, Negri E, Franceschi S et al (1997) Case-control study on influence of methionine, nitrite, and salt on gastric carcinogenesis in northern Italy. Nutr Cancer 27:65–68

30. Ramón JM, Serra-Majem L, Cerdó C et al (1993) Nutrient intake and gastric cancer risk: a case-control study in Spain. Int J Epidemiol 22:983–988
31. Peleteiro B, Lopes C, Figueiredo C et al (2011) Salt intake and gastric cancer risk according to Helicobacter pylori infection, smoking, tumour site and histological type. Brit J Cancer. doi:10.1038/sj.bjc.6605993
32. Tsugane S, Sasazuki S, Kobayashi M et al (2004) Salt and salted food intake and subsequent risk of gastric cancer among middle-aged Japanese men and women. Br J Cancer 90:128–134
33. Kurosawa M, Kikuchi S, Xu J et al (2006) Highly salted food and mountain herbs elevate the risk for stomach cancer death in a rural area of Japan. J Gastroenterol Hepatol 21:1681–1686
34. Shikata K, Kiyohara Y, Kubo M et al (2006) A prospective study of dietary salt intake and gastric cancer incidence in a defined Japanese population: the Hisayama study. Int J Cancer 119:196–201
35. Galanis DJ, Kolonel LN, Lee J et al (1998) Intakes of selected foods and beverages and the incidence of gastric cancer among the Japanese residents of Hawaii: a prospective study. Int J Epidemiol 27:173–180
36. Van den Brandt PA, Botterweck AA, Goldbohm RA (2003) Salt intake, cured meat consumption, refrigerator use and stomach cancer incidence: a prospective cohort study (Netherlands). Cancer Causes Control 14:427–438
37. González CA, Jakszyn P, Pera G et al (2006) Meat intake and risk of stomach and esophageal adenocarcinoma within the European prospective investigation into cancer and nutrition (EPIC). J Natl Cancer Inst 98(5):345–354
38. McCullough ML, Robertson AS, Jacobs EJ et al (2001) A prospective study of diet and stomach cancer mortality in United States men and women. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 10(11):1201–1205
39. Kneller RW, McLaughlin JK, Bjelke E et al (1991) A cohort study of stomach cancer in a high-risk American population. Cancer 68(3):672–678
40. Sauvaget C, Lagarde F, Nagano J et al (2005) Lifestyle factors, radiation and gastric cancer in atomic-bomb survivors (Japan). Cancer Causes Control 16(7):773–780
41. Tokui N, Yoshimura T, Fujino Y et al (2005) Dietary habits and stomach cancer risk in the JACC study. J Epidemiol 15(Suppl. 2):S98–108
42. Dias-Neto M, Pintalhao M, Ferreira M et al (2010) Salt intake and risk of gastric intestinal metaplasia: systematic review and meta-analysis. Nutr Cancer 62:133–147
43. Kato S, Tsukamoto T, Mizoshita T et al (2006) High salt diets dose-dependently promote gastric chemical carcinogenesis in Helicobacter pylori-infected Mongolian gerbils associated with a shift in mucin production from glandular to surface mucous cells. Int J Cancer 119:1558–1566
44. Machida-Montani A, Sasazuki S, Inoue M et al (2004) Association of Helicobacter pylori infection and environmental factors in non-cardia gastric cancer in Japan. Gastric Cancer 7:46–53
45. Tsugane S, Tei Y, Takahashi T et al (1994) Salty food intake and risk of Helicobacter pylori infection. Jpn J Cancer Res 85:474–478
46. Beevers DG, Lip GY, Blann AD (2004) Salt intake and Helicobacter pylori infection. J Hypertens 22:1475–1477
47. Shimizu N, Kaminishi M, Tatematsu M et al (1998) Helicobacter pylori promotes development of pepsinogen-altered pyloric glands, a preneoplastic lesion of glandular stomach of BALB/c mice pretreated with N-methyl-N-nitrosourea. Cancer Lett 123:63–69
48. Toyoda T, Tsukamoto T, Hirano N et al (2008) Synergistic upregulation of inducible nitric oxide synthase and cyclooxygenase-2 in gastric mucosa of Mongolian gerbils by a high-salt diet and Helicobacter pylori infection. Histol Histopathol 23:593–599
49. Nozaki K, Shimizu N, Inada K et al (2002) Synergistic promoting effects of Helicobacter pylori infection and high-salt diet on gastric carcinogenesis in Mongolian gerbils. Jpn J Cancer Res 93:1083–1089

50 Loh JT, Torres VJ, Cover TL (2007) Regulation of Helicobacter pylori cagA expression in response to salt. Cancer Res 67:4709–4715
51. Wang TC, Dangler CA, Chen D et al (2000) Synergistic interaction between hypergastrinemia and Helicobacter infection in a mouse model of gastric cancer. Gastroenterology 118:36–47
52. Takahashi M, Nishikawa A, Furukawa F et al (1994) Dose-dependent promoting effects of sodium chloride (NaCl) on rat glandular stomach carcinogenesis initiated with N -methyl-N'-nitro- N -nitrosoguanidine. Carcinogenesis 15:1429–1432
53. Tricker AR, Preussmann R (1991) Carcinogenic N-nitrosamines in the diet: occurrence, formation, mechanisms and carcinogenic potential. Mutat Res 259:277–289
54. Takahashi M, Hasegawa R (1985) Enhancing effects of dietary salt on both initiation and promotion stages of rat gastric carcinogenesis. Princess Takamatsu Symp 16:169–182
55. Leung WK, Wu KC, Wong CY et al (2008) Transgenic cyclooxygenase-2 expression and high salt enhanced susceptibility to chemical-induced gastric cancer development in mice. Carcinogenesis 29:1648–1654
56. Ferlay J, Bray F, Parkin DM, Pisani P (eds) (2001) Gobocan 2000: cancer incidence and mortality worldwide (IARC cancer bases no. 5). IARC Press, Lyon
57. Lau M, Le A, El-Serag HB (2006) Noncardia gastric adenocarcinoma remains an important and deadly cancer in the United States: secular trends in incidence and survival. Am J Gastroenterol 101:2485–2492
58. Parkin DM (1998) Epidemiology of cancer: global patterns and trends. Toxicol Lett 102–103:227–234
59. Parkin DM, Pisani P, Ferlay J (1999) Global cancer statistics. CA Cancer J Clin 49:33–64
60. Jemal A, Siegel R, Ward E et al (2006) Cancer statistics. CA Cancer J Clin 56(2):106–130
61. Donfrancesco C, Ippolito R, Lo Noce C et al (2012) Excess dietary sodium and inadequate potassium intake in Italy: results of the MINISAL study. Nutr Metab Cardiovasc Dis. doi: 10.1016/j.numecd.2012.04.004
62. MRC, Human Nutrition Research, National Centre for Social Research (2008) An assessment of dietary sodium levels among adults (aged 19–64) in the UK general population in 2008, based on analysis of dietary sodium in 24 hour urine samples. 2008/0730 http://www.food.gov.uk/news/pressreleases/2008/jul/sodiumrep08. Accessed 22 July 2008
63. Brown IJ, Tzoulaki I, Candeias V et al (2009) Salt intakes around the world: implications for public health. Int J Epidemiol 38:791–813
64. World Health Organization (2003) Diet, nutrition and the prevention of chronic diseases: report of a joint WHO/FAO expert consultation
65. Campbell N, Correa-Rotter R, Neal B et al (2011) New evidence relating to the health impact of reducing salt intake. Nutr Metab Cardiovasc Dis 21(9):617–619
66. Cappuccio FP, Capewell S, Lincoln P et al (2011) Policy options to reduce population salt intake. BMJ 343:d4995
67. Geneau R, Stuckler D, Stachenko S et al (2010) Raising the priority of preventing chronic diseases: a political process. Lancet 376(9753):1689–1698
68. Strazzullo P, Cairella G, Campanozzi A et al (2012) Population based strategy for dietary salt intake reduction: Italian initiatives in the European framework. Nutr Metab Cardiovasc Dis 22(3):161–166
69. World Health Organization (2007) Reducing salt intake in populations. Report of a WHO Forum and Technical Meeting, Geneva
70. Capewell S, O'Flaherty M (2011) Rapid mortality falls after risk-factor changes in populations. Lancet. doi:10.1016/S0140-6736(10)62302-1

Alkollü İçkiler ve Gazlı İçecekler: Tüketim ve Gastrointestinal Kanser Riski

Rosario Cuomo, Paolo Andreozzi ve Francesco Paolo Zito

Özet

Alkollü içkiler (Aİ) ve gazlı içecekler (Gİ) Dünya çapında yaygın olarak tüketilmektedir. Bu içeceklerin yüksek tüketimi bilim camiasının dikkatini sağlık üzerindeki etkilerine çekmiştir. Alkollü içkilerin tüketimi ile sindirim sistemi kanserleri arasındaki nedensel ilişki ile ilgili epidemiyolojik veriler mevcuttur. Ancak alkolün kanserdeki rolü tam olarak belirlenmemiştir. Deneysel çalışmalarda karsinogenezde rol alan çeşitli mekanizmalar belirlenmiştir; etanol karsinojenik olmamasına rağmen her ikisi de etanol metabolizmasının ürünü olan asetaldehit (AA) ve reaktif oksijen türleri karsinogenezi indükleyen genotoksik etkiye sahiptir. Diğer karsinogenetik mekanizmalar arasında nutrisyonel defisitler, DNA metilasyonunda değişimler ve bozulmuş immun gözetim mevcuttur. Alkollü içkilerin sıklıkla belirli gastrointestinal bozuklara yol açtığından şüphelenildiği için bazı araştırıcılar gastrointestinal kanserlerde rol oynadıkları hipotezini ortaya atmıştır. Karbondioksit gastrointestinal fizyolojiyi direkt mukozal etki ile değiştirmesi ve gaz olmasının yarattığı mekanik basınç ile oluşan indirekt etkisi ile diğer tüm bileşenler arasında ön plana çıkmaktadır. Şeker ve yapay tatlandırıcıların da karsinojenik proseste rol oynayabileceği yönünde tartışmalar mevcuttur. Ancak yapılan çeşitli araştırmalarda gazlı içecekler ile özofagus, gastrik ve kolon kanserleri arasında herhangi bir ilişki gösterilememiştir. Diğer yandan gazlı içeceklerin tüketimi ile pankreas kanseri arasında hafif bir korelasyon bulunmuştur.

R. Cuomo (✉) · P. Andreozzi · F. P. Zito
Department of Clinical & Experimental Medicine, Hospital School of Medicine, Federico II University, Via S. Pansini 5, Building no. 6, 80131, Naples, Italy
e-mail: rcuomo@unina.it

P. Andreozzi
e-mail: paoloandre.85@gmail.com

V. Zappia et al. (eds.), *Advances in Nutrition and Cancer,*
Cancer Treatment and Research 159, DOI: 10.1007/978-3-642-38007-5_7,
© Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2014

Anahtar Kelimeler

Etanol • Gazlı içecekler • Gastrointestinal kanser

Kısaltmalar

AA	Asetaldehit
Aİ	Alkollü İçkiler
ADH	Alkol dehidrogenaz
ALDH	Aldehit dehidrogenaz
CI	Güven aralığı
Gİ	Gazlı içecekler
CYP2E1	Sitokrom P450 2E1
EGJAC	Özofagogastrik bileşimin adenokarsinomu
GCA	Gastrik kardiya adenokarsinomu
Gİ	Gastrointestinal
HCC	Hepatoselüler karsinom
MNNG	N-metil-N0-nitro-N-nitrozoguanidin
NCGA	Kardiya dışı gastrik adenokarsinom
NIH-AARP	Ulusal Sağlık Enstitüleri-Amerikan Emekliler Birliği
RR	Rölatif risk
SAMe	S-adenozil metionin

İçindekiler

1 Giriş 99
2 Alkollü İçkiler ve Gastrointestinal Kanser 100
2.1 İnsan Çalışmaları 101
2.2 Alkol Hasarı: Hayvan Deneyleri 103
2.3 Alkollü İçkiler ve Gastrointestinal Kanserler: Muhtemel Mekanizmalar 104
3 Gazlı içecekler ve Gastrointestinal Kanser 106
3.1 Gazlı içecekler ve Gastrointestinal Kanser: İnsan Çalışmaları 108
3.2 Gazlı içecekler ve Gastrointestinal Kanser: Hayvan Deneyleri 113
3.3 Muhtemel Mekanizmalar 113
4 Sonuçlar Referanslar 115
Referanslar 116

1 Giriş

Alkollü içkiler (Aİ) ve gazlı içecekler (Gİ) Dünya çapında yaygın olarak tüketilmektedir. Dünya Sağlık Örgütü'nün son raporunda 2005 yılındaki yetişkin başına yıllık alkol tüketimi 6.13 litredir. Bu rakam batı uygarlıklarında ve ekonomisi büyüyen ülkelerde daha yüksektir. Etanol tüketimi 1990 yılında beri sabit kalmış olsa da gençler arasında tüketim artışı görülmektedir [26]. Gazlı içecekler son birkaç dekadda hızla yaygınlaşarak Aİ tüketimini geçmiştir. Gazlı içecekler günümüzdeki en popüler meşrubat tipidir. Birçok insanın bunları günlük olarak tüketmeleri enerji alımının majör komponentlerinden birisi haline gelmelerini sağlamıştır [67]. 2006 yılındaki kişi başına yıllık Gİ tüketimi 30.2 litredir. Tüketimleri gelişmekte olan ülkelerde artarken Kuzey Amerika ve Avrupa'da sabit seyretmekte veya azalmaktadır [74]. Alkollü içkiler ve gazlı içeceklerin insan sağlığı üzerindeki etkilerini araştıran çeşitli çalışmalarda ortaya farklı sonuçlar çıkmıştır. Alkol nedeniyle oluşan sağlık yükü çok yüksektir: Önemli kronik hastalıklara yol açmakta ve dünyadaki ölüm nedenleri arasında üçüncü sırada yer almaktadır (global ölümlerin %3-8'i). Alkollü İçecekler nöropsikiyatrik, kardiyovasküler, gastrointestinal ve karaciğer hastalığı ile ilişkilidir. Aynı zamanda intihar, şiddet ve yaralanmalara da yol açarlar [58]. Ayrıca başta gastrointestinal kanal kanserleri olmak üzere çeşitli kanser tiplerinin etanol tüketimi ile ilişkisi alkol tüketimi ile ilişkili global ve spesifik kanser riskini araştıran çok sayıda insan çalışması ile konfirme edilmiştir.

Gazlı içeceklerin kompleks içerikleri nedeniyle insan sağlığı üzerindeki etkilerini tespit etmek çok zordur. Şeker veya yapay tatlandırıcılar içeren hem düşük hem yüksek kalorili gazlı içecekler mevcuttur. Gazlı içeceklerde farklı yapay tatlandırıcılar kullanılmaktadır: aspartam, sakarin, sukraloz, sorbitol, mannitol ve diğer birçok çeşit. Uluslararası bilim camiası bu içeceklerin metabolik etkileri ile ilgili olarak alarm halindedir. Ana endişe yüksek kalorili gazlı içeceklerin çocuk ve adolesanlar tarafından tüketilmesidir. Çünkü çeşitli çalışmalarda gazlı içeceklerin sıklıkla daha besleyici olan süt ve meyve suyunun yerini aldığını göstermektedir [39]. Gazlı içecekler ile obezite ve metabolik sendrom arasındaki ilişki olduğu hipotezi mevcuttur. Ayrıca dental, pulmoner ve kardiyovasküler hastalıklar da bu içeceklerin tüketimi ile ilişkilidir. Gazlı içeceklerin bazı bileşenlerinin direkt ve indirekt etkisi olduğu varsayılmış olsa da tüketimleri ile çeşitli kanser türleri arasındaki ilişki hala net değildir. Bu makalede etanol ve Gİ tüketiminin neoplastik hastalıklarla ilişkilerini incelerken esas olarak gastrointestinal kanserlere odaklanacağız. Bu ilişkinin doğru bir şekilde değerlendirilebilmesi için Aİ ve gazlı içecekleri ayrı ayrı değerlendireceğiz. Amacımız bu içeceklerin tüketimiyle ilişkili kanser riski ile ilgili epidemiyolojik verilere ve olası karsinojenik mekanizmalara odaklanmaktır. Gazlı içecekler çok sayıda bileşen içerdikleri için başlıca karbondioksit, şeker, tatlandırıcı ve katkı maddelerinin insan sağlığı üzerindeki etkilerini değerlendireceğiz.

2 Alkollü İçkiler ve Gastrointestinal Kanser

Alkol ve kanser ilişkisine ilginin giderek artması bu içeceklerin tüm dünyada yaygın olarak kullanılmasından kaynaklanmaktadır. Alkollü İçeceklerin çeşitli kanserler için risk faktörü olduğunu gösteren çok miktarda kanıt mevcuttur. Orta derecede tüketilse bile, alkolün sindirim sistemi, oral kavite, larenks ve meme kanseri ile ilişkisi vardır [10]. Bu korelasyon etanolün (veya metabolitlerinin) insanda karsinogenezise katkı yapan bir faktör olduğunu gösteren çok sayıda epidemiyolojik ve hayvan çalışmasıyla desteklenmektedir.

Güncel bir makalede tüm kanser vakalarının %3.6'sının alkol ile ilişkili olduğu tespit edilmiştir. Bu oran dünyanın farklı coğrafi bölgelerindeki tüketim farklılıkları nedeniyle büyük değişkenlikler göstermektedir [10]. Bu veriler alkol tüketimi ile ilişkili büyük sağlık yükünü konfirme etmektedir. Alkolün karsinojenik etkileri ilgili artan kanıtlar Uluslararası Kanser Araştırma Ajansının alkollü içkilerde bulunan etanol ve asetaldehiti (AA) insanlar için kesinlikle karsinojen olarak sınıflamasına neden olmuştur [79]. Ancak alkol karsinogenezinin mekanizması henüz kesin olarak belirlenememiştir. Bu süreçte rol oynayan mekanizmalar muhtemelen çeşitli hedef organlara göre farklılıklar göstermektedir [10].

Tablo 1 Alkollü içki tüketimi ile ilişkili rölatif gastrointestinal kanser riski

Organ	Alkol tüketimi	RR	CI	Sinerji
Özofagus				
Skuamoz hücreli karsinom	210-420 gr/hafta	1.93	1.08–3.45	Sigara
Pandeya ve ark.[71]	>420 gr/hafta	4.67	2.28–9.55	
Adenokarsinom	210-420 gr/hafta	0.67	0.37–1.21	
Pandeya ve ark.[71]	>420gr/hafta	0.89	0.42–1.89	
Mide	>25gr/gün	1.07	1.04–1.10	Sigara
Bagnardi ve ark.[3]	>100gr/gün	1.32	1.18–1.49	
	1-4 kez/14 gün	1.30	0.78–2.16	
Sjodahl ve ark.[81]	>4 kez/14 gün	1.49	0.78–2.83	
Kolon ve rektum	30-45 gr/gün	1.16	0.99–1.36	Folat eksikliği
Cho ve ark.[14]	>45gr/gün	1.41	1.16–1.72	
Karaciğer	>0 gr/gün	2.4	1.3–4.4	Viral hepatit
Hassan ve ark.[40]	>80 g/gün	4.5	1.4–14.8	
Pankreas	>60 g/gün	1.38	0.86–2.23	Sigara-alkol-kadın cinsiyet
Michaud ve ark.[62]				

2.1 İnsan Çalışmaları

Çeşitli epidemiyolojik çalışmalarda kanser ve alkol tüketimi arasındaki korelasyon incelenmiştir. Kanada'da yapılan popülasyon tabanlı, vaka kontrol çalışmasında alkol tüketenlerdeki çeşitli kanser türlerinin (özofagus, mide, kolon, karaciğer, pankreas, akciğer, prostat) rölatif riskinin (RR) alkol kullanmayanlara veya ara sıra kullananlara göre daha yüksek olduğu gösterilmiştir [7].

Ancak mevcut veriler, özellikle bazı kanser türleri için (mide, pankreas ve kolon) çelişkilidir. Bu farklılıklar kısmen güvenli alkol kullanımı ile ilgili kabul edilen bir eşik değer olmamasından kaynaklanmaktadır [97]. Bu eşik değerin yokluğu bireylerin kanser riskine maruz kalıp kalmadığını anlamamıza engel olmaktadır. Bir başka neden de bir bireyin alkol tüketiminin tahmin edilmesindeki güçlüktür. Diğer taraftan birçok çalışmada kanser gelişiminde etkili olma ihtimali olan çeşitli tiplerdeki içecekler (şarap, sert içkiler, bira vs.) ve sigara gibi diğer risk faktörleri göz önüne alınmamaktadır. Ayrıca çalışmalara kaydedilen denek sayılarının farklı olması alkol kullanımına bağlı kanser riski ile ilgili çelişkili sonuçların bir başka nedeni olabilir.

Bu makalede sadece alkollü içecekler ile gastrointestinal kanal kanserleri arasındaki ilişkiyi araştıran epidemiyolojik çalışmalara odaklanacağız (bkz. Tablo 1).

2.1.1 Özofagus Kanseri

Çeşitli epidemiyolojik çalışmalarda kronik alkol tüketimi ile skuamoz hücreli özofagus karsinomu (ESCC) arasında nedensel bir ilişki gösterilmiştir; tüketim dozuna bağlı olan bu ilişki sigara kullanımı ile de sinerjistik etkiye sahiptir. Büyük bir vaka kontrol çalışmasında özofagus kanseri ile alkol kullanımı arasındaki ilişki değerlendirilmiştir; veriler ESCC'nin rölatif riskinin 210-419.9 gr/hafta alkol tüketenlerde 1.93 (CI 1.08-3.45), 420 gr/hafta'dan daha fazla tüketenlerde de 4.67 (CI 2.28-9.55) seviyesine yükseldiğini göstermiştir. 420 gr/hafta'dan daha fazla alkol tüketen ve sigara kullananlardaki rölatif risk 21.87 (CI 3.90-122.49) bulunmuştur [71]. Çeşitli çalışmalar da bulunan bu ilişkiyi konfirme etmektedir: Boffetta ve ark. [9] günde 12 gr (RR=1.37) alkol tüketenlerde tespit ettikleri risk artışının günde 72 gr alkol tüketenlerde (RR=5.8) daha da arttığını tespit etmişlerdir.

Eski çalışmalarda da özofagus adenokarsinomu riskinin alkol tüketimi ile anlamlı olarak arttığı ortaya koyulmuştur [98]. Ancak popülasyon tabanlı çalışmalara alkol tüketimi ile Barrett özofagusu ve özofagus adenokarsinomu arasında bir ilişki gösterilememiştir [2, 47, 71].

2.1.2 Mide Kanseri

Alkol tüketiminin mide kanserini etkilediği yönünde tutarlı veriler mevcut değildir. Epidemiyolojik çalışmaların verileri alkolün mide kanseri gelişimindeki zararlı etkilerini kesin olarak desteklememektedir.

Vaka kontrol ve kohort çalışmalarının bir metaanalizinde 25 gr/gün ve 100 gr/gün alkol tüketimi ile rölatif riskin hafifçe arttığı bulunmuştur. 25 gr/gün tüketim için RR=1.07

(CI 1.04-1.10); 100 gr/gün tüketim için RR=1.32 (CI 1.18-1.49) [3]. Devamında yapılan büyük ölçekli kohort çalışmasında bira, şarap ve sert içki tüketimi ile gastrik kanser arasında bir ilişki gösterilememişken, orta-sert/sert bira tüketiminin rölatif riski 2.09 (CI 1.11-3.93) bulunmuştur [50]. Çalışmanın yazarları alkolden ziyade biranın içindeki bileşenlerin mide kanseri riskinde artış ile ilişkili olabileceğini bildirmişlerdir.

Ek olarak Norveç'te yapılan güncel bir kohort çalışmasında tek başına alkol tüketiminin kanser risk ile anlamlı ilişkisi olmadığı, ancak yüksek sigara (>20 adet/gün) ve alkol (>5 kez/ 14 gün) kullanımı ile görülen gastrik kanser riskinin sigara içmeyen veya alkol kullanmayan bireylere göre yükseldiği bildirilmiştir (RR = 4.38 CI 1.72–11.17) [81].

2.1.3 Kolorektal Kanser

Alkolün kolon ve rektum üzerindeki karsinojenik etkileri tartışmalıdır. Kronik alkoliklerde bozulan metabolizma ve diyetle yetersiz alım sonucu oluşan düşük folat seviyeleri kolorektal kanserde artışa yol açabilmektedir. Breslow ve Enstrom 1974 yılında bira tüketimi ile rektal kanser ilişkisini ilk kez araştıran bilim adamlarıdır [13]. Devamında gerçekleştirilen bazı çalışmalar ve metaanalizler alkol tüketiminin kolorektal kanser riskini hafifçe artırdığı hipotezini desteklemiştir [17, 27]. Kohort çalışmalarının güncel bir toplu analizi de alkol ve kolorektal kanser arasındaki ilişkiyi desteklemektedir. 30-45 gr/gün ve 45 gr/gün'den daha yüksek etanol tüketenlerdeki rölatif riskler içki içmeyenler ile kıyaslandığında sırasıyla 1.16 (CI 0.99-1.36) ve 1.41 (CI 1.16-1.72) şeklindedir. Farkı alkollü içeceklerin kolon ve rektum kanseri riskini etkileme dereceleri arasında bir fark gözlenmemiştir [14].

2.1.4 Hepatoselüler Karsinom

Alkol ve karaciğer kanseri arasındaki ilişki özellikle hepatoselüler kanser (HCC) bazında iyi bilinmektedir [72]. Alkol tüketiminin ABD ve Kuzey Avrupa gibi hepatit A ve B virüs enfeksiyonlarının prevalanslarının düşük olduğu popülasyonlarda HCC gelişimi için en önemli risk faktörü olduğu kabul edilmektedir. Alkole bağlı HCC gelişiminde rol oynayan ana karsinojenik mekanizmanın karaciğer sirozu gelişimine bağlı olması muhtemeldir. Ancak reaktif oksijen türleri veya AA ve karsinojenlerin hepatik metabolizmalarının artışı ile indüklenen DNA hasarının da bir rolü olabilir. Ayrıca tütün ve hepatit B veya C virüsü gibi eşlik eden diğer faktörler de HCC riskini artırabilir. Global alkol tüketimi için rölatif risk 2.4 (CI 1.3-4.4) seviyesinde iken, bu oran aşırı alkol tüketenlerde (>80 gr/gün) 4.5 (CI 1.4-14.8) bulunmuştur. Kronik viral hepatit ve ağır alkol tüketimi birlikteliğindeki rölatif risk ise 53.9 (CI 7.0-415.7) bulunmuştur [40].

2.1.5 Pankreas Kanseri

Alkol tüketimine bağlı olarak gelişen kronik pankreatit, alkollü içkilerin pankreatik karsinogenezde de rol oynayabileceği düşüncesini doğurmuştur. Bazı çalışmalarda alkol

tüketiminin pankreatik adenokarsinom için muhtemel bir risk faktörü olduğu belirlenmiştir. Ancak bu ilişkinin geçerliliği hala tartışılmaktadır.

14 kohort çalışmasını değerlendiren güncel bir metaanalizde >30 gr/gün alkol tüketen kadınlardaki pankreas kanseri riskinin alkol kullanmayanlara göre arttığı (RR 1.41, CI 1.07–1.85) bulunurken erkeklerde bir ilişki tespit edilememiştir ve çeşitli alkollü içkilerin kanser riski üzerinde farklı etkileri bulunmamıştır. Bu veriler maruz kalınan yıl sayısı, yaş, sigara, vücut kütle indeksi ve diyabete göre düzeltilmiştir [32]. İkinci bir metaanalizde de karıştırıcı faktörlere göre düzeltilen veriler alkol tüketimi ile kanser arasında anlamlı bir ilişki göstermemiştir (RR 1.38, CI 0.86–2.23). Ancak ciddi içki tüketen erkeklerdeki risk artmıştır (>45 gr/gün) (RR 2.23, CI 1.02–4.87) [62].

Pankreas kanseri ile alkol tüketimi arasındaki muhtemel ilişkinin netleştirilebilmesi için yeni çalışmalara ihtiyaç vardır.

2.2 Alkol Hasarı: Hayvan Deneyleri

Deneysel hayvan çalışmalarında alkol karsinogenezinde rol oynayan bazı mekanizmaların rolü gösterilebilmiştir. Alkolün hayvanlardaki karsinojenik etkisi kullanılan deney yöntemine bağlıdır. Alkolün lokal uygulanması ile oluşan tümör irritan etkiye bağlıdır. Ancak sistemik uygulamada kimyasal yolla indüklenen karsinogenezi stimüle edici etki göstermektedir [72]. Alkolün tek başına bir karsinojen olmadığı ile ilgili kanıtlar uzun süredir mevcuttur: Alkol farelere transplante edilen tümörlerdeki DNA mutasyonlarını, tümör büyümesini veya metastatik yayılımı stimüle edemez [46]. Alkol tek başına kanser gelişimine yol açamıyor da olsa direkt karsinojenlerin etkilerini artırdığı için kokarsinojen olarak değerlendirilir. Ayrıca deneysel çalışma verileri alkolün karsinojenik etkilerinin kendisinden değil, yol açtığı AA üretiminden kaynaklandığı görüşünü desteklemektedir [80].

Sıçanlara AA uygulanması ile üst gastrointestinal kanal epitelinde hiperplastik ve hiperproliferatif değişimlerin indüklenebildiği gösterilmiştir [42]. Çeşitli bakterilerin alkolü AA'ya metabolize edebilmesini değerlendiren bazı araştırmacılar alkolle ilişkili üst gastrointestinal sistem kanserlerinde oral bakterilerin olası rolü ile ilgili bir hipotez geliştirmişlerdir [80].

Alkolün gastrik kanserdeki rolü ile ilgili hayvan deneyi verileri çelişkilidir. Alkolün bilinen gastrik karsinojenlerin etkisini artırıcı özelliği ile ilgilenen bazı araştırmacılar birlikte uygulama yaparak olası sinerjistik etkileri araştırmışlardır. Ancak N-metil-N0-nitro-N-nitrozoguanidin (MNNG) uygulanan sıçanlara içme suyu içinde verilen %10'luk kronik etanol ile görülen gastrik tümör gelişimi kontrol grubundan bir farklılık göstermemiştir [94].

Ayrıca deney hayvanlarından elde edilen veriler alkolün karaciğer kanserini tek başına indükleyemediğini göstermektedir. Tümör indükleyici bileşik olarak nitrozamin uygulaması yapılan hayvan deneylerinde tek başına etanolün hepatokarsinogenezi inhibe edebildiği gösterilmiştir [72]. Sadece, alkol ile hepatektomi [86] veya düşük metil donör

diyeti [92] gibi diğer karsinojenik faktörlerin kombinasyonunun hayvan modellerindeki karaciğer tümörlerinin gelişimi ile ilişkili olduğu gösterilmiştir.

2.3 Alkollü İçkiler ve Gastrointestinal Kanserler: Muhtemel Mekanizmalar

Alkol karsinogenezisinin altında yatan faktörler tam olarak anlaşılamamıştır. Muhtemelen birçok farklı bölgede etki yapabilen diğer karsinojenlere bağlı olarak hedef organ bazında farklılıklar gösterebilir. Eldeki kanıtlar etanolün tek başına karsinojen olmadığını göstermektedir [46]. Ancak mukozanın karsinojenlere maruziyetini artıran lokal bir etkiye sahip olabilir. Ancak etanol metabolizması (AA üretimi veya sitokrom P450 2E1'in indüksiyonu), nutrisyonel defisitler ve bozulmuş gen ekspresyonu ya da immun gözetim sistemi, alkol ile ilişkili karsinogenezde rol oynadığı düşünülen ana mekanizmalardır [72] (bkz. Tablo 2).

Ayrıca alkol ve folat metabolizması ile ilişkili genlerdeki varyantlar alkol kullananlardaki kanser gelişimini etkileyebilmektedir. Etanole maruziyet sonucunda oluşan hücresel toksik etkiler ile kişisel duyarlılık derecesi arasındaki ilişkinin sonucunda kanser gelişiminin etkilendiğini gösteren kanıtlar mevcuttur [22].

2.3.1 Lokal Etkiler

Akut etanol uygulamasının solvent etkisi göstererek biyolojik membranların geçirgenliğini artırdığını ve karsinojenik moleküllerin hücre içine girişini kolaylaştırdığını gösteren güçlü kanıtlar mevcuttur [96].

Tablo 2 Alkollü içkilere bağlı karsinogenezin olası mekanizmaları

	Etanol etkisi	Karsinojenik mekanizma
Lokal etkiler	Etanolün solvent etkisi	Karsinojenlerin epitel hücrelerine girişlerinin kolaylaşması
	Tükürük bezlerinin morfolojik ve fonksiyonel değişimleri	
	Reaktif oksijen ve nitrojen türlerinin üretimi	Oksidatif stres, lipid peroksidasyonu ve DNA hasarı
Etanol metabolizması	Asetaldehit üretimi	Stabil katım ürünlerinin DNA ile üretimi
	Sitokrom CYP2E1 indüksiyonu	Prokarsinojen metabolizmanın bozulması
Gen ekspresyon değişimleri	Folat eksikliği, metioninsentetaz ve DNA metilaz inhibisyonu	Tümör yapıcı genlerin azalmış metilasyonu
İmmun gözetim	Doğal katil hücrelerin bazı aktivitelerinin inhibisyonu	Kanser büyümesinin kolaylaşması
Nutrisyonel bozukluklar	Folat, vitamin A ve beta karoten eksiklikleri	DNA metilasyonunun bozulması ve oksidatif stres artışı

Bu etkiler alkol ve sigaranın baş ve boyun kanserlerindeki sinerjistik etkisini açıklayabilir. Aynı etki sigara içmeyenlerde mevcut değildir. Diğer yandan oral kavitenin kronik alkole maruz kalması ile spesifik bir savunma mekanizmasında bir dizi morfolojik ve fonksiyonel değişimler oluşabilmektedir: Parotis ve submaksiller bezlerin alkole bağlı atrofileri sonucunda tükürük miktarının azalması ve vizkozitesinin artışı oral kavitedeki karsinojenlerin temizlenmelerinin azalmasına yol açar. Böylece epitel hücreleri daha yüksek konsantrasyonda karsinojene maruz kalmış olur [55].

2.3.2 Etanol Metabolizması

Etanol metabolizması alkol karsinogenezinde önemli bir rol oynar: Etanol primer olarak karaciğer hücrelerinde alkol dehidrogenaz (ADH) veya sitokrom P450 2E1 (CYP2E1) etkisiyle etanol metabolizmasının ana ürünü olan AA'ya okside olur. AA devamında aldehit dehidrogenaz (ALDH) tarafından asetata dönüştürülür. AA ve reaktif oksijen türleri DNA hasarı yaparak karsinogenezi indükleyebilirler.

Etanolün ana metaboliti olan AA'nın direkt mutajenik ve karsinojenik etkileri çok sayıda deney tarafından gösterilmiştir. AA özellikle DNA'ya bağlanarak ve stabil katım ürünleri üreterek replikasyon hatalarını ve onkojen veya onkolojik baskılayıcılardaki mutasyonları tetikleyebilir [24]. AA üretimi multipl genler tarafından kodlanan ADH ve ALDH aktivitesine bağlıdır. Bazı polimorfizmler, bu genlerin sahip oldukları çeşitli varyantlar nedeniyle AA düzeylerini artırarak alkolle ilişkili kanserlere karşı predispozisyonu indükleyebilirler. Giderek artan sayıda çalışmada insanlardaki genetik duyarlılık ile alkol tüketiminin kanser riski ile ilişkili olduğu bildirilmektedir. Mevcut verilerin çoğu alkol karsinogenezinde ADH1B ve ALDH2 polimorfizmlerinin güçlü, CYP2E1 polimorfizminin ise daha az güçlü rol oynadığını desteklemektedir [22].

Ayrıca reaktif oksijen ve nitrojen türlerinin üretimleri de alkol ile ilişkili karsinogenez de rol oynayan bir mekanizmayı harekete geçiriyor olabilir: Etanol metabolizması oksidatif stresi artırırken lipid peroksidasyonunu indükler. Lipid peroksidasyon ürünlerinin ekzosiklik DNA katım ürünleri oluşturmak amacıyla DNA ile etkileştiği bilinmektedir. Bu karaciğer karsinogenezinde özel rol oynayan mekanizmalardan birisidir [23, 41, 64].

Sonuç olarak alkollü içkilerin kronik tüketimi ile sitokrom CYP2E1 indüklenir. CYP2E1 nitrozaminler, aflatoksin ve vinil klorid gibi düşük alkol tüketimiyle (40 gr/gün) bile oluşabilen prokarsinojen özelliğe sahip çeşitli ksenobiyotiklerin metabolizmalarında rol oynamaktadır [70]. Etanol ve prokarsinojen metabolizma arasındaki ilişki karmaşık olup CYP2E1 indüksiyonunun derecesine, prokarsinojenin kimyasal yapısına ve prokarsinojen metabolizması sırasında vücutta alkol bulunup bulunmamasına bağlı olabilir [80].

2.3.3 Nütrisyonel Bozukluklar

Alkolizm dünyadaki malnütrisyonun ana nedenlerinden birini oluşturur. Kronik tüketime bağlı olarak oluşabilen çeşitli vitamin ve mikrobesin eksiklikleri kanser gelişimine katkı yapabilir. Ancak bu süreçteki rolleri henüz net olarak anlaşılamamıştır. Ağır alkol tüketiminin folat metabolizmasını hem az tüketim hem de AA tarafından parçalanması

nedeniyle etkilediği düşünülmektedir. Folat eksikliği transmetilasyonun inhibisyonunu etkileyerek karsinogenezde potansiyel rol oynayabilen gen ekspresyon değişimine yol açabilir [85]. Ayrıca kronik alkoliklerde görülen B12 ve B6 vitaminlerinin alım ve metabolizmalarındaki bozukluklar DNA metilasyonunun bozulmasına katkı yapabilir [10]. Çeşitli çalışmalarda A vitamini ve beta-karoten eksikliğinin alkol karsinogenezinde önemli olabileceği vurgulanmıştır [93]. Uzun süreli alkol kullanımının retinoid ve karotenoid alımında azalmaya neden olduğu ve reaktif oksijen türlerinin üretimi ile de retinolun yıkılmasına katkı yaptığı gösterilmiştir [53].

2.3.4 Gen Ekspresyon Değişimleri

DNA metilasyonu gen ekspresyonunu engeller. Metilasyon azaldığında ise gen ekspresyonu artar. Tümör indükleyici genlerin metilasyonlarının azalmasının alkol ile ilişkili kanser gelişiminde rol oynayan bir mekanizma olduğu hipotezi geliştirilmiştir. Bu mekanizmanin karaciğer kanseri gelişiminde kritik bir rol oynadığı düşünülmektedir. Bazı kanıtlar kronik alkol tüketiminin DNA metilasyon düzeyinde önemli değişiklikleri indüklediğini doğrulamaktadır [15].

Deneysel çalışmalarda alkol tüketiminin DNA metilasyonunu farklı şekillerde etkilediği gösterilmiştir: Folat eksikliği, metil gruplarını DNA'ya transfer eden metionin sentetazın (homosisteini metionine remetile eden ve DNA metilazı inhibe eden enzim) aktivitesinin azalması [72]. Kronik alkol kullananlarda DNA metiltransferaz enzimlerinin inhibisyonuyla ilgili homosistein artışı ve metiladenoziltransferaz aktivitesinin azalması sonucunda S-adenozil metioninin (SAMe: DNA metilasyon reaksiyonlarının metil donörü) azaldığını gösteren kanıtlar mevcuttur. SAMe eksikliği DNA hipometilasyonunu indükleyip, DNA instabilitesini artırdığı için kanser riskinde artış ile ilişkilidir [65].

2.3.5 Alkol ve İmmun Gözetim

Alkolün kötüye kullanımının immun yetmezlikle ilişkisi ve kronik alkoliklerin enfeksiyonlara karşı daha duyarlı oldukları iyi bilinmektedir. Alkol tüketiminin hem doğal hem de spesifik immun cevabı bozabildiğini ve kanser hücre gelişimini kolaylaştırabildiğini gösteren kanıtlar mevcuttur [16]. Hayvan deneylerinde tek bir etanol dozu sonrasında doğal katil hücrelerin sayı ve litik aktivitelerinin azalarak immun gözetimin bozulduğu gösterilmiştir [99]. Kronik alkol tüketiminde görülen malnütrisyon ve vitamin eksikliği gibi faktörlerin de immun gözetimi bozabildiği ve kanser gelişimini indükleyebildiği bilinmektedir.

3 Gazlı içecekler ve Gastrointestinal Kanser

Gazlı içecekler dünyadaki en popüler meşrubatlardır. Tüm gazlı içecekler arasında en sık tüketileni normal Cola'dır. 1886 yılında Atlanta'da yaşayan bir eczacı tarafından karbonatlı su, şeker şurubu, fosforik asit, kafein ve diğer doğal bazı aromaların tesadüf eseri karıştırılması ile dünyadaki en popüler alkolsüz içecek ortaya çıkmıştır. Gazlı içeceklerin

Tablo 3 Gazlı içecek tüketimi ile ilişkili gastrointestinal kanserlerin rölatif riskleri

Organ	Gazlı içecek tüketimi	RR	CI
Özofagus			
Skuamöz hücreli karsinom	1 kutu/hafta	0.70	0.41–1.18
	2-6 kutu/hafta	0.66	0.39–1.11
Ren ve ark.[75]	>6 kutu/hafta	0.85	0.46–1.56
	1-6 içecek/hafta	0.68	0.45–1.03
	7-20 içecek/hafta	0.67	0.45–1.01
Ibiebele ve ark.[44]	>20 içecek/hafta	0.40	0.20–0.78
Adenokarsinom	1 kutu/hafta	1.52	0.97–2.38
	2-6 kutu/hafta	1.36	0.88–2.12
Ren ve ark. [75]	>6 kutu/hafta	1.11	0.66–1.85
	1-6 içecek/hafta	1.12	0.74–1.70
	7-20 içecek/hafta	1.01	0.65–1.58
Ibiebele ve ark.[44]	>20 içecek/hafta	0.94	0.53–1.66
Mide			
Kardiya adenokarsinomu	12-103 içecek/yıl toplam gazlı içecek	0.86	0.52–0.40
	104-364 içecek/yıl toplam gazlı içecek	0.97	0.62–1.51
Mayne ve ark.[59]	>365 içecek/yıl toplam gazlı içecek	0.74	0.46–1.16
Kardiya dışı adenokarsinom	12-103 içecek/yıl toplam gazlı içecek	0.79	0.52–1.21
	104-364 içecek/yıl toplam gazlı içecek	0.78	0.52–1.16
Mayne ve ark.[59]	>365 içecek/yıl toplam gazlı içecek	0.65	0.43–0.98
Kolon ve rektum	0-250 gr/gün	0.96	0.90–1.02
	250-550 gr/gün	1.08	0.87–1.34
Zhang ve ark.[100]	>550 gr/gün	0.94	0.66–1.32
Pankreas	≤3/hafta	1.05	0.84–1.31
Schernhammer ve ark.[77]	>3/hafta	1.13	0.81–1.58
	≤2/hafta	0.73	0.40–1.33
Muelleretal.[66][a]	>2/hafta	1.87	1.10–3.15

[a] Çin populasyonu

bileşenleri çok çeşitli olduğu için sağlık üzerindeki etkilerini analiz etmek güçtür. Bu nedenle birçok çalışmada tek bir bileşenin değil içeceğin tamamının hastalık riski üzerindeki etkileri tanımlanmaktadır.

Gazlı içeceklerin gastrointestinal sistem üzerindeki etkisi ile ilişkili farklı görüşler mevcuttur. Bazı görüşler zararlı olduğunu savunurken bazıları da belirli bazı durumlarda tüketildiğinde faydalı olabileceklerini savunmaktadırlar. Bu eğilimin tüketimlerindeki artışa paralel olarak arttığı gözlenmektedir. Gazlı içeceklerin reflü veya özofagus adenokarsinomu riskini artırdıkları hipotezi mevcuttur. Ancak bazı vaka kontrol çalışmalarında larenks ve özofagus kanserleri ile gazlı içecek tüketimi ters orantılı ya da ilişkisiz bulunmuştur [44, 48, 59, 101].

Alkolsüz içecekler ABD halkının diyetindeki en önemli ilave şeker kaynağıdır [37]. Bu durum hiperglisemi ve hiperinsülinemiye büyük oranda katkı yapar [12]. Bazı çalışmalarda yüksek oranda alkolsüz meşrubat tüketenlerde obezite [33, 56, 78], tip 2 diyabet [20, 21] ve pankreas kanserine yol açabilme ihtimali olan bozuklukların [43, 51, 97] görülme riskinin artmış olduğu gösterilmiştir (bkz. Tablo 3).

3.1 Gazlı içecekler ve Gastrointestinal Kanser: İnsan Çalışmaları

3.1.1 Özofagus Kanseri

Gazlı içecekler özofagus adenokarsinomu gelişimi için bilinen bir risk faktörü olan gastroözofageal reflü ile ilişkilidir. ABD'nin üç coğrafi bölgesinde gerçekleştirilen çok merkezli, popülasyon tabanlı, vaka kontrol çalışmasında gazlı içecek tüketimi ile özofagus karsinomu arasındaki ilişki incelenmiştir [59]. Çalışmaya katılan hastalara teşhisten önceki 3-5 yıl içindeki "diyet meşrubat veya diyet kola" ve "normal meşrubat veya normal kola" tüketimlerinin sıklığı (her gün, hafta, ay, yıl) sorulmuştur. Aynı bilgi içecekler kontrol deneklerinden de alınmıştır. Bu içeceklerin sıklığı toplam tüketimi tahmin etmekte kullanılmıştır. Elde edilen sonuçlar dörtte birlik dilimlere bölünmüştür. Analizde 687 kontrol ile 282 özofagus adenokarsinom, 255 gastrik kardiya adenokarsinom, 352 de kardiya dışı gastrik adenokarsinom hastası yer almıştır. Öne sürülen hipoteze aykırı olarak gazlı içecek tüketiminin (primer olarak düşük kalorili gazlı içeceklerin) özofagus adenokarsinomu ile ters orantılı olduğu tespit edilmiştir. Yüksek gazlı içecek tüketimi kadın ve erkeklerdeki herhangi bir özofagus kanseri alt tipinin artışına neden olmamıştır. Bu bulgular gazlı içeceklerin (özellikle düşük kalorili olanların) özofagus kanseri riski ile ters orantılı oldukları için insidans oranlarının artmasına katkı yapmalarının küçük bir ihtimal olduğunu göstermiştir.

Mayne ve ark. tarafından bu çalışma için yapılan yorumda kontrol deneklerinin özofagus kanseri hastalarına göre daha genç oldukları ifade edilmiştir [57]. Ayrıca kontrol hastalarının özofagus adenokarsinomu olan hastalara göre anlamlı olarak daha yüksek gelire sahip oldukları da yorumda yer almıştır. Devam etmekte olan gıda tüketim araştırmasında gazlı içecek tüketiminin gelir düzeylerine göre önemli farklılıklar gösterdiği bildirilmiştir [89]. Mayne çalışmasını hedef alan bir başka eleştiri de gazlı içecek tüketim sürelerinin çalışmada yer almamasıdır. Gerçekten de çalışmadaki gazlı içecek tüketimi kanser teşhisinden 3-5 yıl öncesine kadar soruşturulmuş olmasına rağmen gazlı içecek-

lerin oluşturdukları gastroözofageal reflünün birkaç dekad sürerek özofagus adenokarsinomuna etki yaptığı hipotezi geliştirilmiştir.

Ulusal Sağlık Enstitüleri ve Amerikan Emekliler Birliği (NIH-AARP) Diyet ve Sağlık Çalışmasından alınan verileri inceleyen bazı araştırmacılar sıcak çay, buzlu çay, kahve ve gazlı içecek tüketimi ile üst gastrointestinal kanser riski arasındaki ilişkiyi incelemiştir [75]. Sekiz ABD eyaletinde oturan (Kaliforniya, Florida, Louisiana, New Jersey, Kuzey Carolina, Pennsylvania, Georgia ve Michigan) 50-71 yaşlarındaki AARP üyelerine diyet ve sağlıkla ilgili davranışları içeren anketler postalanmıştır. Veri tabanından elde edilen bilgiler araştırıcıların 428 kanser vakasındaki alkolsüz içecek tüketimi ile kanser gelişimi arasındaki ilişkiyi tanımlamalarına olanak vermiştir (özofagus skuamöz hücreli karsinomu ve özofagus adenokarsinomu). Çalışma kutu sayısına göre tespit edilen tüketim miktarları göz önüne alınarak yapılmıştır (hiç, >1 kutu/hafta, 2–6 kutu/hafta, ≥1 kutu/gün). ≤ 1 kutu/hafta tüketenlerde özofagus adenokarsinomu ile (sınırda) anlamlı olmayan bir ilişki bulunmuştur (RR 1.52, CI o.97-1.58). Ancak ≥ 1 kutu/gün (en yüksek grup) tüketenlerdeki RR 1.11'dir (CI 0.66-1.85).

Bir başka çalışmada gazlı içecekler ile özofagus adenokarsinomu (EA), özofagogastrik bileşimin adenokarsinomu (EGJAC) ve ESCC arasındaki ilişki AE insidansının hızla arttığı bir ülke olan Avustralya'da araştırılmıştır [44]. Bu çalışmada gazlı içeceklerin tüketimi ile ilgili veriler gıda sıklığı anketi ile toplanmıştır; demografik, sosyoekonomik ve hayat tarzını ilgilendiren faktörlerle ilgili anket 1484 kontrol, 294 EA, 325 EGJAC ve 238 ESCC hastası tarafından doldurulmuştur. Çalışmanın sonuçları yüksek gazlı içecek tüketiminin EA (RR 0.94, CI 0.53–1.66, trend için p = 0.85) veya EGJAC (RR 1.07, CI 0.67–1.73, trend için p = 0.89) riski ile bir ilişkisi olmadığını, ESCC (RR 0.40, CI 0.20–0.78, trend için p= 0.04) riski ile de ters orantılı bir ilişkisi olduğunu göstermiştir. Araştırıcılar çalışmaya katılan Avustralyalı popülasyondaki ESCC ve diğer özofagus kanseri vakalarının kontrollere göre daha az gazlı içecek tüketme eğiliminde olduklarını gözlemişlerdir. ESCC hastaları aynı zamanda daha yaşlı, daha az obez ve daha nadir reflü görülen grubu oluşturuyordu. Araştırıcılar bu faktörleri düzelterek analizlerinde kullanmış olmalarına rağmen bulgularda bir miktar yanıltıcı verinin kalmış olma ihtimali dışlanamamıştır. Her durumda, gazlı içecek tüketimi ile hiçbir özofagus kanseri tipi arasında bir ilişki bulunmamıştır.

ESCC riski ile gazlı içecek tüketimi arasındaki ters orantılı ilişkiyi gösteren bir başka çalışma da 1992-1997 yılları arasında Kuzey İtalya'daki hastane tabanlı vaka kontrol çalışması verilerini analiz eden Gallus ve ark [29] tarafından yapılmıştır. Çalışmaya histolojik olarak konfirme edilmiş ESCC tanısı olan 304 hasta alınmıştır. Kontrol hastaları ise aynı hastanelere neoplastik, sigara, alkol tüketimi ve uzun süreli diyet modifikasyonu dışındaki çeşitli akut rahatsızlıklarla başvuran 743 hastadan oluşuyordu. Kontrol hastaları ile kanser hastaları yaş, cinsiyet, görüşme yılı ve oturulan bölge yönünden eşleştirilmiştir. Bu çalışmada da gazlı içecek tüketiminin özofagus kanseri riskini artırmadığı ve ESCC riski ile gazlı içecek tüketimi arasında orta derecede ters orantı olduğu bulunmuştur.

İsveç'te yapılan popülasyon tabanlı, vaka kontrol çalışmasında gazlı içecek tüketimi ile EA veya gastrik kardiya adenokarsinomu (GCA) arasındaki ilişki analiz edilmiştir [48]. 1995-1997 yılları arasında EA olan 189, GCA olan 262 hasta ve 820 kontrol hastası ile kişisel görüşme yapılmıştır. Tüm kanserler histolojik olarak sınıflandırılmıştır. Bu çalışmada da gazlı içecek tüketimi ile EA riski ilişkili bulunmamıştır; yüksek oranda tüketenlerdeki (haftada altı kezden fazla) risk hiç gazlı içecek tüketmeyenlere göre anlamlı olmayan düzeyde daha düşük bulunmuştur (RR 0.89, CI 0.49–1.64; p = 0.77). Ayrıca gazlı düşük alkollü bira ve gazlı içeceklerin birlikte tüketiminin de EA ile ilişkili olmadığı ifade edilmiştir.

Farklı popülasyonlardan elde edilen bu tutarlı bulgular [29, 44, 48, 75] gazlı içecek tüketimi ile EA arasındaki riski dışlamaktadır. ESCC ile ilgili veriler, bu kanserin riskinin gazlı içecek tüketimi ile ters orantılı olduğu sonucunu doğrulamaktadır. Ancak bu ilişkinin mekanizmasının tanımlanması güçtür.

3.1.2 Gastrik Kanser

Gastrik kanser ile gazlı içecek tüketimi arasındaki ilişkinin analizi Ulusal Sağlık Enstitüleri ve Amerikan Emekliler Birliği (NIH-AARP) Diyet ve Sağlık Çalışmasından alınan verilerle yapılmıştır [75]. Çalışma kohortu 286.402'si erkek, 195.161'i kadın olan 481.563 katılımcıdan oluşuyordu. Araştırmacılar 455 gastrik kanser hastasında (231 gastrik kardiya; 224 gastrik kardiya dışı) gazlı içecek tüketimi ile gastrik kanser arasında doza bağlı bir ilişki gözlemlememişlerdir.

Mayne ve ark. 255 gastrik kardiya ve 352 kardiya dışı gastrik adenokarsinomu olan hasta ile görüşmüştür [59]. Hastalara diyet veya normal gazlı içecekleri teşhisten önceki (kanser hastaları) veya görüşmeden önceki (kontroller) 3-5 yıl içindeki rutin tüketme sıklıkları sorulmuştur. Bu çalışmada da gastrik kanser ile gazlı içecek tüketimi arasında bir ilişki bulunmamıştır.

Benzer veriler gastrik kardiya adenokarsinomu olan 262 hastayı inceleyen Lagergren ve ark. tarafından da bildirilmiştir [48]. Yüksek gazlı içecek tüketimi ile (haftada >6 kez) gastrik kanserin bu tipi arasında bir ilişki bulamamışlardır (RR 1.09, CI 0.64–1.85; p = 0.64).

3.1.3 Pankreas Kanseri

Şekerli meşrubatlar hızla absorbe edilen şekerlerin çok sık kullanılan bir kaynağıdır. Aynı zamanda yüksek obezite ve diyabet riski ile de ilişkileri vardır. Diabetes mellitus ve glisemik yükü yüksek diyetler pankreas kanseri gelişimi için risk faktörüdür. Bazı çalışmalarda gazlı içecek tüketimi ile pankreas kanseri arasındaki ilişki araştırılmıştır.

Hemşire Sağlık Çalışması ve Sağlık Profesyonelleri Takip Çalışmasının veri tabanının analizinde başlangıçta kanser olmayan 88.794 kadın ve 49.364 erkek arasından pankreas kanseri gelişen 392 hasta seçilmiştir [77]. Çalışma başlangıcında tespit edilen alkolsüz meşrubat tüketimi 1980-1988 yılları arasında periyodik olarak güncellenmiştir. Haftada

üç adetten fazla şekerli meşrubat tüketen hastalardaki pankreas kanserinde anlamlı olmayan bir rölatif risk artışı gözlenmiştir. En fazla şekerli meşrubat tüketen kadınlardaki (3 içecek/hafta) risk anlamlı olarak artmıştır (RR 1.57; CI 1.02–2.41; trend için p = 0.05); ancak şekerli meşrubat tüketen erkeklerdeki pankreas kanserinde bir artış olmamıştır. Yüksek oranda şekerli meşrubat tüketen kadınlarda gözlenen sınırda risk artışı vücut kütle endeksi yüksek olanlarla (>25 kg/m^2; RR 1.89, CI 0.96–3.72; p = 0.10) ve düşük fiziksel aktiviteye sahip (RR 2.02, CI 1.06–3.85; p = 0.05) olanlarla sınırlıydı. Buna karşın diyet meşrubatların tüketimi her iki kohorttaki pankreas kanserinde bir artış bulunmamıştır.

Başka bir ankette meşrubat tüketimi ile pankreas kanseri arasında sınırda pozitif ilişki bulunmuştur [49]. 131 pankreas kanseri vakasındaki en yüksek ile en düşük tüketim kategorilerinin karşılaştırılmasında elden edilen çok değişkenli RR 1.69'dur (CI 0.97–2.36, trend için p= 0.05).

Çinlilerde yapılan prospektif kohort çalışmasında 14 yıl süre ile takip edilen 60.254 bireyde pankreas kanseri riski takip edilmiştir. Pankreas kanseri vakaları kohort veritabanı kayıtlarının Singapur Kanser Kayıt ve Singapur Doğum ve Ölüm Kayıt veritabanları verileri ile karşılaştırılması ile tespit edilmiştir [66]. Analizde 142 pankreas kanseri vakası tespit edilmiştir. Tüketimi ≥2 içecek/hafta olan bireylerdeki pankreas kanseri kanseri riski meşrubat kullanmayanlara göre anlamlı olarak daha yüksek bulunmuştur (RR 1.87, CI 1.10–3.15; p = 0.02).

Ayrıca, güncel bir analizde de gazlı içecek tüketimi ile pankreas kanseri arasındaki risk incelenmiştir. Dünya'daki çeşitli ülkelerde büyük ölçekli uluslararası konsorsiyum tarafından gerçekleştirilen Diyet ve Kanserle İlgili Prospektif Çalışmaların Toplu Analizi Projesinde 14 kohort çalışmasının toplu analizi gerçekleştirilmiştir [31]. Çalışmada 7 ila 20 yıl süre ile takip edilen 853.894 bireyde gelişen 2185 kanser vakası tespit edilmiştir. Pankreas kanseri riski ile gazlı içecek tüketimi arasında anlamlı bir ilişki bulunmamıştır (RR 1.19, CI 0.98–1.46 vs. >250–0 gr/gün). Ancak gazlı içecek tüketimi sürekli bir değişken olarak modellendiğinde, ortaya pankreas kanseri riski ile pozitif bir ilişki çıkmıştır (RR 1.06, CI 1.02–1.12).

Gazlı içecek tüketimi ile pankreas kanseri riski arasındaki ilişki 1991-2008 yılları arasında 328 pankreas kanseri hastası ve 652 eşleştirilmiş kontrol hastası ile gerçekleştirilen İtalyan vaka kontrol çalışmasında da araştırılmıştır [30]. Çalışmada gazlı içecek tüketiminin pankreas kanseri riski ile ilişkili olmadığı sonucuna varılmıştır.

Farklı iki çalışmada da meşrubat tüketimi ile pankreas kanseri arasında herhangi bir ilişki bulunamamıştır [4, 68].

3.1.4 Kolon Kanseri

Şekerli meşrubat tüketiminin kolon kanseri riskini artırdığını gösteren tek çalışma mevcuttur [100]. Bu çalışma uluslararası kohort çalışmaları konsorsiyumu tarafından Diyet ve Kanserle İlgili Prospektif Çalışmaların Toplu Analizi Projesi kapsamında yapılmıştır. Bu toplu analizde yer alan 13 çalışmada 6-20 yıl süreyle takip edilen 239.193

erkek ve 492.248 kadın arasından 5604 invazif kolon kanseri (1858 erkek ve 3746 kadın) vakası tespit edilmiştir. Şekerli meşrubat tüketimi kolon kanseri riski ile ilişkili bulunmamıştır (toplu çok değişkenli RR 0.94, CI 0.66-1.32, >550 gr/gün tüketim ile meşrubat tüketmeyenler karşılaştırılmıştır) Diyet meşrubatların incelenmesinde her 375 gr/gün tüketim artışı için bulunan toplu çok değişkenli RR değeri 1.01'dir (CI = 0.94-1.08; dört çalışmada ölçülmüştür, n=1928 kanser hastası). Gazlı içecekler Cola ve Cola dışı olarak kategorize edildiklerinde de kolon kanseri riski ile herhangi bir ilişki tespit edilememiştir.

3.1.5 Diğer Gastrointestinal Kanserler

Gazlı içecekler ile gastrointestinal kanser riski hakkında yukarıda bahsedilenler dışında literatür verisi mevcut değildir.

3.1.6 Aspartam ve Gastrointestinal Kanser

Endüstri ülkelerinde kısmen fast food ve meşrubat tüketimine bağlı olarak artan obezite oranları düşük kalorili gıdalara talebin artmasına neden olmuştur. Diyet ya da hafif (light) olarak adlandırılan ürünlerin pazarındaki büyümeye paralel olarak aspartamı da içeren yeni jenerasyon tatlandırıcılar geliştirilmiştir. Aspartamın insanlardaki rolü ile ilgili epidemiyolojik veriler yetersizdir [95]. Aspartamın potansiyel karsinojen etkisi ile ilgili uyarılar, beyin kanseri insidansında görülen artışların yapay tatlandırıcıların piyasaya sürülmesi ile ilişkili olduğunu bildiren bir çalışmadan kaynaklanmaktadır [69]. Bu çalışma sonrasında, beyin kanseri trendlerindeki belirsizlikler yüzünden eleştirilmiştir [90]. Ayrıca bu çalışmadan sonra yapılan vaka kontrol çalışmalarında aspartamın beyin kanserinde artışa yol açtığını gösteren tutarlı kanıtlar bulunamamıştır [36].

İtalya'da entegre vaka kontrol çalışmaları ağını kullanarak gerçekleştirilen bir çalışmada sakarin ve diğer tatlandırıcılar ile oral kavite, farenks, özofagus, kolorektal ve vücudun diğer bölgelerinde görülen kanser riskleri arasında ilişki bulunmamıştır [28]. Bu çalışmanın temeli olan entegre vaka kontrol çalışmaları ağı 1991-2004 yılları arasında İtalya'da gerçekleştirilmiştir. Histolojik olarak konfirme edilen üst gastrointestinal kanser vakaları 598 oral kavite ve farenks, 304 özofagus, 1225 kolon, 728 rektum kanseri hastasından oluşuyordu. 7028 kontrol hastası (3301 erkek ve 3727 kadın) ise aynı hastaneye akut, kanser dışı rahatsızlıklarla kabul edilmişti. Aspartam tüketimine bağlı rölatif risk oral kavite ve farenks kanserleri için 0.77 (CI 0.39–1.53), özofagus kanseri için 0.77 (CI 0.34–1.75), kolon kanseri için 0.90 (CI 0.70–1.16), rektal kanser için de 0.71 (CI 0.50–1.02) bulunmuştur. Bu sonuçlar aspartam ile sık görülen gastrointestinal kanserler arasında bir ilişki olmadığını göstermiştir.

İki yıl sonra bu çalışmanın güncel versiyonu yayınlanmıştır [11]. Çalışmada histolojik olarak konfirme mide kanseri olan 230 hasta ve 547 eşleştirilmiş kontrol hastası ile 326 pankreas kanseri hastası ve 652 eşleştirilmiş kontrol hastası yer almıştır. Tüm kontroller aynı hastaneye akut, kanser dışı nedenlerden dolayı kabul edilen bireylerden

oluşmaktaydı. Tatlandırıcı kullananlarla hiç tatlandırıcı kullanmayanların karşılaştırılmasının rölatif riski, gastrik kanser için 0.80 (CI 0.45–1.43), pankreas kanseri için ise 0.62 (CI 0.37–1.04) bulunmuştur.

3.2 Gazlı içecekler ve Gastrointestinal Kanserler: Hayvan Deneyleri

Belpoggi ve ark. [6] en iyi bilinen gazlı içecek olan Coca Cola'nın uzun süreli etkilerini içme suyu yerine Coca Cola verilen Sprague Dawley sıçanları üzerinde test etmiştir. Projenin amacı Coca Cola'nın test hayvanlarındaki tümör gelişimini (tümorigram) etkileyip etkilemediğinin tespit edilmesiydi. Embriyonik hayattan veya 7 haftalıktan itibaren veya 30, 39, 55 haftalıktan itibaren içeceğe maruz kalan çeşitli yaşlardaki dişi ve erkek sıçanlara biyoanalizler uygulanmıştır Hayvanlar spontan ölüme kadar gözlenmiş, sonrasında da otopsiye alınmışlardır. Sonuçlara bakıldığında (a) tüm hayvanların vücut ağırlıklarında artış; (b) hem damızlık hem de yavru dişilerde malign meme tümörü insidansında istatistiksel olarak anlamlı artış, (c) hem damızlık hem de yavru erkek ve dişilerde pankreas ekzokrin adenomlarının insidanslarında istatistiksel olarak anlamlı artış görülürken, (d) gastrointestinal sistem de dahil olmak üzere tüm vücut bölgelerindeki diğer tümörlerde artış görülmemiştir. İnsanlar bu içeceği deneysel ortamdaki gibi son derece paradoksal şekilde tüketmemektedir. Ancak normal meşrubatlar gibi yüksek kalorili içeceklerin aşırı kullanımının kilo artımında anlamlı artışa yol açmasının, kanser riskini de artırabileceği çalışma tarafından konfirme edilmiştir.

Hayvan çalışmalarında aspartam ve diğer tatlandırıcılar ile ilgili karsinojenik aktivite gösterilememiştir [35, 95]. Sadece üç hayvan çalışmasında (Sprague Dawley sıçanları ve İsviçre fareleri) farklı aspartam dozları uygulanan hayvanların ölene kadar takiplerinde, dişi sıçanlarda başlıca lenfomalar ve lösemilerde, erkek farelerde ise hepatoselüler karsinomlarda artış görülmüştür [82–84]. Ancak bu bariz artışlar aspartam uygulanan hayvanların daha uzun süre yaşamaları ve çalışma hayvanlarında görülen daha yüksek enfeksiyon oranları ile açıklanabilir [87]. Hiçbir hayvan çalışmasında gastrointestinal kanser riskinde bir artış gösterilememiştir [54].

3.3 Muhtemel Mekanizmalar

Gazlı içeceklerin özellikleri incelenirken şu üç önemli nokta göz önünde bulundurulmalıdır: (a) içeceklerde bulunan karbondioksit; (b) şeker veya tatlandırıcı; (c) hazırlanmalarında kullanılan diğer maddeler. Bunlar arasında en ilginç ve muhtemelen de en değerli olanı karbondioksittir. Gazlı içeceklerin gastrointestinal sistem hasarına yol açarak potansiyel karsinojenik etki gösterebilmeleri ile ilgili çeşitli mekanizmalar önerilmiştir

Tablo 4 Gazlı içeceklerle ilgili karsinogenezin olası mekanizmaları

	Meşrubatların etkileri	Olası karsinojenik mekanizma
CO_2 içeriği	Gastrik basınç artışı	Özofageal reflünün kolaylaşması ve intestinal metaplazinin indüksiyonu (Barrett özofagusu)
	HCl sekresyonunda artış	
Şeker	Yüksek insülin düzeyleri insülin benzeri büyüme faktörünü artırır	Pankreatik kanser hücrelerinin proliferasyonu
Aspartam	Formaldehit gibi direkt karsinojenlerin üretimi	DNA hasarı (formaldehit katım ürünlerinin üretimi) ve kromozomal aberasyon artışı

[18] (bkz. Tablo 4). Gazlı içecekler ile gastrointestinal hasar arasındaki ilişki hakkındaki bilgilerin çoğu gastroözofageal reflü hastalığı (GERD) ile ilişkilidir. Reflünün ana semptomu özofagus gastrik içeriğe maruz kalınca oluşan mide yanmasıdır. Hekim tavsiyeleri kilo kaybı, gerektiğinde hayat tarzı değişiklikleri, vücut postürü, diyet alışkanlıkları ile ilgilidir. Gazlı içeceklerini tüketimlerinin genel olarak azaltılması önerilmektedir. Çok az sayıda çalışmada gazlı içeceklerin GERD nedeni olduğu kabul edilmektedir [25, 38, 61]. Fass ve ark. [25] çok değişkenli bir analizde gazlı içecek tüketiminin GERD semptomları ile ilişkili olduğunu tespit etmişlerdir. Sağlıklı bireylerde yapılan bir başka çalışmada ise gazlı (karbonatlı) su içilmesinden hemen sonra manometrik değerlendirme ile ölçülen alt özofagus sfinkter basıncı normal su içilmesi ile oluşandan daha düşük bulunmuştur [38]. Ancak sağlıklı bireylerde yapılan daha güncel bir çalışmada şekerli (sukroz %10) suya giderek artan konsantrasyonlarda karbondioksit eklenmesi ile yapılan ölçümlerde gazlı (karbonatlı) su ile normal su arasında gastroözofageal reflü yönünden bir fark olmadığı gösterilmiştir [19].

Gazlı içeceklerin mide fonksiyonunu hem mekanik hem de kimyasal yolla etkilediği düşünülmektedir. Farklı çalışmalardan alınan veriler gaz ve sıvı tarafından mide duvarına uygulanan basınç üzerine yoğunlaşmaktadır [19, 73]. Bu çalışmalarda gastrik distresin sadece 300 ml'nin üzerinde gazlı içecek alımı ile oluştuğu gösterilmiştir [1]. Diğer yandan karbondioksit kimyasal etki ile hidroklorik asitte hafif bir artışa yol açarak sindirim prosesini etkiler ve asitle ilişkili hastalıkları kötüleştirebilir [60]. Karbondioksitin hem mekanik hem de kimyasal etkiyle karsinojeniteyi etkilediğini gösteren herhangi bir çalışma mevcut değildir.

İnsülin ve glukoz seviyelerini artırarak obeziteye ve diyabete yol açabilen şekerli gazlı içecekler [78] gibi faktörler pankreas kanseri riski ile ilişkili olabilirler. Yüksek insülin konsantrasyonları IGF-bağlayıcı proteinleri azaltarak insülin benzeri büyüme faktörü (IGF) düzeylerini artırır [34]. Eldeki veriler IGF'ye maruz kalmanın pankreatik kanser hücre dizilerinin proliferasyonuna neden olduğunu göstermektedir [8]. Yüksek insülin konsantrasyonlarının IGF reseptörlerini aktive ederek kanser hücrelerinin proliferasyonuna yol açabileceği düşünülmektedir [52]. Yükleme sonrası ve açlık plazma glukozu-

nun [5, 45] ve tokluk plazma C-peptid düzeylerinin [63] artışı pankreas kanseri riskinde artış ile ilişkilidir. Bu mekanizma yüksek glisemik yüke sahip şekerli meşrubatların pankreas kanseri riskini artırabileceği hipotezini doğrulamaktadır [66].

İncelenecek son konu son yıllarda gazlı içeceklerde giderek daha fazla kullanılmaya başlanan aspartam gibi tatlandırıcılardır. Bunların güvenlikleri ile ilgili bazı uyarılar mevcuttur. Son yıllarda aspartamın hayvanlardaki neoplaziyi indükleyici etkisi hakkında aynı araştırıcılar tarafından üç farklı makale yayınlanmıştır [82–84]. Araştırmacıların aspartamın potansiyel karsinojen etkisi üzerindeki ilgisi genotoksisite ile ilgili in vitro testlerden doğmuştur. İn vitro kromozomal aberasyon testi ile değerlendirilen aspartam anormal (aberant) hücrelerin yüzdesinde veya hücre başına düşen kromozom anormalliklerinin sayısında test edilen tüm dozlarda anlamlı artışa yol açmış (kontrol değerlerine göre 2.5-4.2 kat), ancak mutajenik özellik göstermemiştir [76]. Yazarlar İsviçre farelerindeki karaciğer karsinojenitesi ile ilgili olarak aspartamın gastrointestinal kanalda fenilalanin, aspartik asit ve metanole tamamen metabolize olması nedeniyle, karsinojen etkinin aspartamdan değil daha ziyade metabolitlerinden kaynaklanabileceği hipotezini geliştirmiştir [83]. Özellikle metanolün karaciğerde formaldehite dönüşmesi ile formaldehit katım ürünleri oluşabilir [91]. Bu mekanizma erkek faredeki hepatokarsinojenik etkiyi açıklayan makul bir neden olabilir. Diğer yandan Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi bilimsel camiada ciddi kanıtlarla desteklenen genel bir konsensusa göre farelerde nongenotoksik bileşikler ile indüklenen hepatik tümörlerin, insandaki riskin değerlendirilmesinde kullanılamayacağını bildirmiştir [88].

4 Sonuçlar

Alkollü içkilerin ve gazlı içeceklerin yüksek oranda tüketilmeleri, son birkaç yıl içindeki dikkatlerin insan sağlığı ve gastrointestinal kanserler üzerindeki etkilerine odaklanmasına neden olmuştur. Ancak bu alandaki çalışmaların çoğu klinik, epidemiyolojik ve deneysel anlamda yeterli değildir. Mevcut veriler alkol tüketimi ile bazı kanser tipleri arasında pozitif korelasyon olduğunu göstermektedir. Doza bağımlı olan bu bağlantı sigaranın sinerjistik etkisi ile güçlenmektedir. Bu doğrultuda alkolle ilgili kanserlerin önlenmesindeki ana hedef ağır alkol ve sigara tüketiminin engellenmesidir.

Diğer yandan gazlı içeceklerin heterojen yapıları nedeniyle gastrointestinal karsinogenez üzerindeki etkilerini araştırmak oldukça zordur. Çeşitli çalışmalarda gazlı içecek tüketimi ile özofageal ve gastrik kanser arasında bir ilişki gösterilememişken, az sayıda bazı çalışmada da gazlı içecekler ile pankreas kanseri arasındaki pozitif ilişki vurgulanmıştır. Bu bulgular tek başına gazlı içecek tüketiminden ziyade muhtemelen kalori alımı ve glukoz metabolizmasındaki hasara bağlıdır. Ancak gazlı içeceklerin gastrointestinal karsinogenezisteki rolünü tamamen dışlamak için yeni çalışmalara ihtiyaç vardır.

Referanslar

1. Almiron-Roig E, Drewnowski A (2003) Hunger, thirst, and energy intakes following consumption of caloric beverages. Physiol Behav 79(4–5):767–773
2. Anderson LA, Cantwell MM, Watson RG et al (2009) The association between alcohol and reflux esophagitis, Barrett's esophagus, and esophageal adenocarcinoma. Gastroenterology 136(3):799–805
3. Bagnardi V, Blangiardo M, La Vecchia C et al (2001) Alcohol consumption and the risk of cancer: a meta-analysis. Alcohol Res Health 25:263–270
4. Bao Y, Stolzenberg-Solomon R, Jiao L et al (2008) Added sugar and sugar-sweetened foods and beverages and the risk of pancreatic cancer in the National Institutes of Health-AARP diet and health study. Am J Clin Nutr 88:431–440
5. Batty GD, Shipley MJ, Marmot M et al (2004) Diabetes status and post-load plasma glucose concentration in relation to site-specific cancer mortality: findings from the original Whitehall Study. Cancer Causes Control 15:873–881
6. Belpoggi F, Soffritti M, Tibaldi E et al (2006) Results of long-term carcinogenicity bioassays on Coca-Cola administered to Sprague-Dawley rats. Ann NY Acad Sci 1076:736–752
7. Benedetti A, Parent ME, Siemiatycki J (2009) Lifetime consumption of alcoholic beverages and risk of 13 types of cancer in men: results from a case-control study in Montreal. Cancer Detect Prev 32(5–6):352–362
8. Bergmann U, Funatomi H, Yokoyama M et al (1995) Insulin-like growth factor I overexpression in human pancreatic cancer: evidence for autocrine and paracrine roles. Cancer Res 55:2007–2011
9. Boffetta P, Garfinkel L (1990) Alcohol drinking and mortality among men enrolled in an American Cancer Society prospective study. Epidemiology 1:342–348
10. Boffetta P, Hashibe M (2006) Alcohol and cancer. Lancet Onco l7(2):149–156
11. Bosetti C, Gallus S, Talamini R et al (2009) Artificial sweeteners and the risk of gastric, pancreatic, and endometrial cancers in Italy. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 18(8):2235–2238
12. Bray GA, Nielsen SJ, Popkin BM (2004) Consumption of high-fructose corn syrup in beverages may play a role in the epidemic of obesity. Am J Clin Nutr 79:537–543
13. Breslow NE, Enstrom JE (1974) Geographic correlations between mortality rates and alcohol, tobacco consumption in the US. J Natl Cancer Inst 53:631–639
14. Cho E, Smith-Warner SA, Ritz J et al (2004) Alcohol intake and colorectal cancer: a pooled analysis of 8 cohort studies. Ann Intern Med 140:603–613
15. Choi SW, Stickel F, Baik HW et al (1999) Chronic alcohol consumption induces genomic but not p53-specific DNA hypomethylation in rat colon. J Nutr 129:1945–1950
16. Cook RT (1998) Alcohol abuse, alcoholism, and damage to the immune system—a review. Alcohol Clin Exp Res 22:1927–1942
17. Corrao G, Bagnardi V, Zambon A et al (1999) Exploring the dose-response relationship between alcohol consumption and the risk of several alcohol-related conditions: a meta-analysis. Addiction 94:551–573
18. Cuomo R, Sarnelli G, Savarese MF et al (2009) Carbonated beverages and gastrointestinal system: between myth and reality. Nutr Metab Cardiovasc Dis 19(10):683–689
19. Cuomo R, Savarese MF, Sarnelli G et al (2008) Sweetened carbonated drinks do not alter upper digestive tract physiology in healthy subjects. Neurogastroenterol Motil 20(7):780–789
20. Daly M (2003) Sugars, insulin sensitivity, and the postprandial state. Am J Clin Nutr 78:865S–872S
21. Dhingra R, Sullivan L, Jacques PF et al (2007) Soft drink consumption and risk of developing cardiometabolic risk factors and the metabolic syndrome in middle-aged adults in the community. Circulation 116:480–488

22. Druesne-Pecollo N, Tehard B, Mallet Y et al (2009) Alcohol and genetic polymorphisms: effect on risk of alcohol-related cancer. Lancet Oncol 10(2):173–180
23. el Ghissassi F, Barbin A, Nair J et al (1995) Formation of 1, N6- ethenoadenine and 3, N4-ethenocytosine by lipid peroxidation products and nucleic acid bases. Chem Res Toxicol 8:278–283
24. Fang JL, Vaca CE (1997) Detection of DNA adducts of acetaldehyde in peripheral white blood cells of alcohol abusers. Carcinogenesis 18:627–632
25. Fass R, Quan SF, O'Connor GT et al (2005) Predictors of heartburn during sleep in a large prospective cohort study. Chest 127:1658–1666
26. Fleischmann A, Fuhr D, Poznyak V et al (2011) Global status report on alcohol and health. WHO Press, Geneva (www.who.int)
27. Franceschi S, La Vecchia C (1994) Alcohol and the risk of cancers of the stomach and colon-rectum. Dig Dis 12:276–289
28. Gallus S, Scotti L, Negri E et al (2007) Artificial sweeteners and cancer risk in a network of case-control studies. Ann Oncol 18:40–244
29. Gallus S, Talamini R, Fernandez E Et al (2006) Re: carbonated soft drink consumption and risk of esophageal adenocarcinoma. J Natl Cancer Inst 98(9):645–646
30. Gallus S, Turati F, Tavani A et al(2011) Soft drinks, sweetened beverages and risk of pancreatic cancer. Cancer Causes Control 22(1):33–39
31. Genkinger JM, Li R, Spiegelman D, Anderson KE et al (2012) Coffee, tea, and sugar-sweetened carbonated soft drink intake and pancreatic cancer risk: a pooled analysis of 14 cohort studies. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 21(2):305–318
32. Genkinger JM, Spiegelman D, Anderson KE et al (2009) Alcohol intake and pancreatic cancer risk: a pooled analysis of fourteen cohort studies. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 18:765–776
33. Gibson S (2008) Sugar-sweetened soft drinks and obesity: a systematic review of the evidence from observational studies and interventions. Nutr Res Rev 21:134–147
34. Giovannucci E (2003) Nutrition, insulin, insulin-like growth factors and cancer. Horm Metab Res 35:694–704
35. Gunnels SR, Carver PH, Coker KK et al(2003) National toxicology program USDoHaHS. Toxicity studies of aspartame (CAS No. 22839-47-0) in FVB/N-TgN (v-Ha-ras) Led(Tg.AC) hemizygous mice and carcinogenicity studies of aspartame in B6.129-Trp53tm1Brd (N5) haploinsufficient mice. NTP Technical Report (NIH Publication No. 03-4459 http://ntp.niehs.nih.gov/ntp/htdocs/GMM_rpts/GMM1.pdf
36. Gurney JG, Pogoda JM, Holly EA et al (1997) Aspartame consumption in relation to childhood brain tumor risk: results from a case-control study. J Natl Cancer Inst 89:1072–1074
37. Guthrie JF, Morton JF (2000) Food sources of added sweeteners in the diets of Americans. J Am Diet Assoc 100:43–51
38. Hamoui N, Lord RV, Hagen JA et al (2006). Response of the lower esophageal sphincter to gastric distention by carbonated beverages. J Gastrointest Surg 10(6):870–877
39. Harnack L, Stang J, Story M (1999) Soft drink consumption among US children and adolescents: nutritional consequences. J Am Diet Assoc 99(4):436–441
40. Hassan MM, Hwang LY, Hatten CJ et al (2002) Risk factors for hepatocellular carcinoma: synergism of alcohol with viral hepatitis and diabetes mellitus. Hepatology 36(5):1206–1213
41. Hoek JB, Pastorino JG (2002) Ethanol, oxidative stress, and cytokine-induced liver cell injury. Alcohol 27:63–68
42. Homann N, Kärkkäinen P, Koivisto T, Nosova T, Jokelainen K, Salaspuro M (1997) Effects of acetaldehyde on cell regeneration and differentiation of the upper gastrointestinal tract mucosa. J Natl Cancer Inst 89(22):1692–1697
43. Huxley R, Ansary-Moghaddam A, Berrington de Gonzalez A et al (2005) Type-II diabetes and pancreatic cancer: a meta-analysis of 36 studies. Br J Cancer 92:2076–2083

44. Ibiebele TI, Hughes MC, O'Rourke P et al (2008) Australian cancer study. Cancers of the esophagus and carbonated beverage consumption: a population-based case-control study. Cancer Causes Control 19(6):577–584
45. Jee SH, Ohrr H, Sull JW et al (2005) Fasting serum glucose level and cancer risk in Korean men and women. JAMA 293:194–202
46. Ketcham AS, Wexler H, Mantel N (1963) Affects of alcohol in mouse neoplasia. Cancer Res 23:667–670
47. Kubo A, Levin TR, Block G et al (2009) Alcohol types and sociodemographic characteristics as risk factors for Barrett's esophagus. Gastroenterology 136(3):806–815
48. Lagergren J, Viklund P, Jansson C (2006). Carbonated soft drinks and risk of esophageal adenocarcinoma: a population-based case-control study. J Natl Cancer Inst 16 98(16):1158–1161
49. Larsson SC, Bergkvist L, Wolk A (2006) Consumption of sugar and sugar sweetened foods and the risk of pancreatic cancer in a prospective study. Am J Clin Nutr 84:1171–1176
50. Larsson SC, Giovannucci E, Wolk A et al (2007) Alcoholic beverage consumption and gastric cancer risk: a prospective population-based study in women. Int J Cancer 120:373–377
51. Larsson SC, Orsini N, Wolk A (2007) Body mass index and pancreatic cancer risk: a meta-analysis of prospective studies. Int J Cancer 120:1993–1998
52. Le Roith D (1997) Seminars in medicine of the Beth Israel Deaconess Medical Center: insulin-like growth factors. N Engl J Med 336:633–640
53. Leo MA, Lieber CS (1999) Alcohol, vitamin A, and beta-carotene: adverse interactions, including hepatotoxicity and carcinogenicity. Am J Clin Nutr 69:1071–1085
54. Magnuson BA, Burdock GA, Doull J et al (2007) Aspartame: a safety evaluation based on current use levels, regulations, and toxicological and epidemiological studies. Crit Rev Toxicol 37:629–727
55. Maier H, Born IA, Veith S, Adler D, Seitz HK (1986) The effect of chronic ethanol consumption on salivary gland morphology and function in the rat. Alcohol Clin Exp Res 10:425–427
56. Malik VS, Schulze MB, Hu FB (2006) Intake of sugar-sweetened beverages and weight gain: a systematic review. Am J Clin Nutr 84:274–288
57. Mallath MK (2006) Re: carbonated soft drink consumption and risk of esophageal adenocarcinoma. J Natl Cancer Inst 3 98(9):644–645
58. Mathers C, Stevens G, Mascarenhas M (2009) Global health risks: mortality and burden of disease attributable to selected major risks. WHO Press, Geneva (www.who.int)
59. Mayne ST, Risch HA, Dubrow R et al (2006) Carbonated soft drink consumption and risk of esophageal adenocarcinoma. J Natl Cancer Inst 4 98(1):72–75
60. McCloy RF, Greenberg GR, Baron JH (1984) Duodenal pH in health and duodenal ulcer disease: effect of a meal, Coca-Cola, smoking, and cimetidine. Gut 25(4):386–392
61. Meining A, Classen M (2000) The role of diet and lifestyle measures in the pathogenesis and treatment of gastroesophageal reflux disease. Am J Gastroenterol 95:2692–2697
62. Michaud DS, Vrieling A, Jiao L et al (2010) Alcohol intake and pancreatic cancer: a pooled analysis from the pancreatic cancer cohort consortium (PanScan). Cancer Causes Control 21:1213–1225
63. Michaud DS, Wolpin B, Giovannucci E et al (2007) Prediagnostic plasma C-peptide and pancreatic cancer risk in men and women. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 16:2101–2109
64. Molina PE, Hoek JB, Nelson S et al (2003) Mechanisms of alcohol induced tissue injury. Alcohol ClinExp Res 27:563–575
65. Morgan TR, Mandayam S, Jamal MM (2004) Alcohol and hepatocellular carcinoma. Gastroenterology 127:S87–S96

66. Mueller NT, Odegaard A, Anderson K et al (2010) Soft drink and juice consumption and risk of pancreatic cancer: the Singapore Chinese Health Study. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 19(2):447–455
67. Nielsen SJ, Siega-Riz AM, Popkin BM (2002) Trends in energy intake in U.S. between 1977 and 1996: similar shifts seen across age groups. Obes Res 10(5):370–378
68. Nothlings U, Murphy SP, Wilkens LR et al (2007) Dietary glycemic load, added sugars, and carbohydrates as risk factors for pancreatic cancer: the Multiethnic Cohort Study. Am J Clin Nutr 86:1495–1501
69. Olney JW, Farber NB, Spitznagel E et al (1996) In creasing brain tumor rates: is there a link to aspartame? J Neuropathol Exp Neurol 55:1115–1123
70. Oneta CM, Lieber CS, Li JJ et al (2002) Dynamics of cytochrome P4502E1 activity in man: induction by ethanol and disappearance during withdrawal phase. J Hepatol 36:47–52
71. Pandeya N, Williams G, Green AC et al (2009) Australian cancer study. Alcohol consumption and the risks of adenocarcinoma and squamous cell carcinoma of the esophagus. Gastroenterology 136(4):1215–1224
72. Pöschl G, Seitz HK (2004) Alcohol and cancer. Alcohol Alcohol 39:155–165
73. Pouderoux P, Friedman N, Shirazi P et al (1997) Effect of carbonated water on gastric emptying and intragastric meal distribution. Dig Dis Sci 42:34–39
74. Reda A, Pattison J (2007) The global carbonates report. Canadean Ltd, England (www.candean.com)
75. Ren JS, Freedman ND, Kamangar F et al (2010) Tea, coffee, carbonated soft drinks and upper gastrointestinal tract cancer risk in a large United States prospective cohort study. Eur J Cancer 46(10):1873–1881
76. Rencüzoğullari E, Tüylü BA, Topaktaş M et al (2004) Genotoxicity of aspartame. Drug Chem Toxicol 27(3):257–268
77. Schernhammer ES, Hu FB, Giovannucci E et al (2005) Sugar-sweetened soft drink consumption and risk of pancreatic cancer in two prospective cohorts. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 14(9):2098–2105
78. Schulze MB, Manson JE, Ludwig DS et al (2004) Sugar-sweetened beverages, weight gain, and incidence of type 2 diabetes in young and middle-aged women. JAMA 292:3455–3457
79. Secretan B, Straif K, Baan R et al (2009) A review of human carcinogens—part E: tobacco, areca nut, alcohol, coal smoke, and salted fish. Lancet Oncol 10(11):1033–1034
80. Seitz HK, Meier P (2007) The role of acetaldehyde in upper digestive tract cancer in alcoholics. Transl Res 149(6):293–297
81. Sjodahl K, Lu Y, Nilsen TI et al (2007) Smoking and alcohol drinking in relation to risk of gastric cancer: a population-based, prospective cohort study. Int J Cancer 120:128–132
82. Soffritti M, Belpoggi F, Degli Esposti D et al (2006) First experimental demonstration of the multipotential carcinogenic effects of aspartame administered in the feed to Sprague-Dawley rats. Envir Health Perspect 114:379–385
83. Soffritti M, Belpoggi F, Manservigi M et al (2010) Aspartame administered in feed, beginning prenatally through life span, induces cancers of the liver and lung in male Swiss mice. Am J Ind Med 53(12):1197–1206
84. Soffritti M, Belpoggi F, Tibaldi E et al (2007) Life-span exposure to low doses of aspartame beginning during prenatal life increases cancer effects in rats. Environ Health Perspect 115:1293–1297
85. Stickel F, Seitz HK (2004) Ethanol and methytransfer: its role in liver disease and hepatocarcinogenesis. In: Watson RR, Preedy VR (eds) Nutrition and alcohol: linking nutrient interactions and dietary intake. CRC Press, London
86. Takada A, Nei J, Takase S, Matsuda Y (1986) Effects of ethanol on experimental hepatocarcinogenesis. Hepatology 6:65–72
87. The European Food Safety Authority (2006) Opinion of the scientific panel AFC related to new long-term carcinogenicity study on aspartame. EFSA J 356:1–44

88. The European Food Safety Authority (2011) EFSA statement on the scientific evaluation of two studies related to the safety of artificial sweeteners. EFSA J 9(2):2089
89. Tippett KS, Cypel YS (1998) Food and nutrient intakes by income. In: Design and operation: the continuing survey of food intakes by individuals and the diet and health knowledge survey, 1994–1996. United States Department of Agriculture, Agricultural Research Service, Washington, D.C. Data Table available at: www.ars.usda.gov/SP2UserFiles/Place/12355000/pdf/Income.pdf
90. Trichopoulos D (1999) Response to Schwartz GR. Aspartame and breast and other cancers. West J Med 171:301
91. Trocho C, Pardo R, Rafecas I (1998) Formaldehyde derived from dietary aspartame binds to tissue components in vivo. Life Sci 63:337–349
92. Wainfan E, Dizik M, Stender M, Christman JK (1989) Rapid appearance of hypomethylated DNA in livers of rats fed cancerpromoting, methyl-deficient diets. Cancer Res 49(4094–4097):164
93. Wang XD (2003) Retinoids and alcohol-related carcinogenesis. J Nutr 133:287S–290S
94. Watanabe H, Takahashi T, Okamoto T, Ogundigie PO, Ito A (1992) Effects of sodium chloride and ethanol on stomach tumorigenesis in ACI rats treated with N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine: a quantitative morphometric approach. Jpn J Cancer Res 83:588–593
95. Weihrauch MR, Diehl V (2004) Artificial sweeteners—do they bear a carcinogenic risk? Ann Oncol 15:1460–1465
96. Wight AJ, Ogden GR (1998) Possible mechanisms by which alcohol may influence the development of oral cancer—a review. Oral Oncol 34:441–447
97. Wiseman M (2008) the second world cancer research fund/American Institute for Cancer Research expert report. Food, nutrition, physical activity, and the prevention of cancer: a global perspective. Proc Nutr Soc 67:270–271
98. Wu AH, Wan P, Bernstein L (2001) A multiethnic population-based study of smoking, alcohol and body size and risk of adenocarcinomas of the stomach and esophagus (United States). Cancer Causes Control 12(8):721–732
99. Wu WJ, Wolcott RM, Pruett SB (1994) Ethanol decreases the number and activity of splenic natural killer cells in a mouse model for binge drinking. J Pharmacol Exp Ther 271:722–729
100. Zhang X, Albanes D, Beeson WL et al (2010) Risk of colon cancer and coffee, tea, and sugar-sweetened soft drink intake: pooled analysis of prospective cohort studies. J Natl Cancer Inst 2 102(11):771–783
101. Zvrko E, Gledovic Z, Ljaljevic A (2008) Risk factors for laryngeal cancer in Montenegro. Arh Hig Rada Toksikol 59(11–8):9

Doğal Antienflamatuar ve Antikanser İlaçlar

Barbora Orlikova, Noémie Legrand, Jana Panning, Mario Dicato ve Marc Diederich

Özet

Bitki ekstreleri çeşitli hastalıkların tedavisinde yüzyıllar boyunca kullanılmıştır. Bugüne kadar toprak ve deniz bitkilerinden veya mikroorganizmalarından elde edilen ve antioksidan, antiproliferatif ve antianjiogenik özelliklere sahip oldukları için tümör büyümesini azaltabilen beşyüzden fazla bileşik kanser tedavisinde önemli bir rol oynamıştır. Günümüzde bitki, hayvan, deniz organizmaları ve mikroorganizmaların verimli ve hızlı bir biçimde incelenebilmesine olanak veren özgün teknolojiler ile yeni doğal ürünlerin keşif süreçleri hızlanmıştır. Bitkilerden elde edilen bileşikler olan vinkristin, irinotekan, etopozid ve paklitaksel kanser tedavisinde kullanılan örneklerdir. Aktinomisin D, mitomisin C, bleomisin, doksorubisin ve lasparaginaz da mikroorganizmalardan benzer şekilde elde edilen ilaçlardır. Bu incelemede antienflamatuar ve antikanser aktiviteye sahip doğal bileşiklerin moleküler mekanizmalarını tanımlayacağız.

Anahtar Kelimeler

Doğal bileşikler · Kanser · Enflamasyon · Siklooksijenaz · Nükleer faktör kappa B · Kemoterapi · Kemoprevensiyon

B. Orlikova · N. Legrand · J. Panning · M. Dicato · M. Diederich (✉)
Laboratoire de Biologie Moléculaire et Cellulaire du Cancer, Fondation de Recherche Cancer et Sang, Hôpital Kirchberg, 9, rue Edward Steichen, L-2540, Luxembourg, Luxembourg
e-mail: marc.diederich@lbmcc.lu

M. Diederich
College of Pharmacy, Seoul National University, Seoul, 151-742, South Korea

V. Zappia et al. (eds.), *Advances in Nutrition and Cancer,*
Cancer Treatment and Research 159, DOI: 10.1007/978-3-642-38007-5_8,
© Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2014

Kısaltmalar

VEGF	Vasküler endotelyal büyüme faktörü
ROS	Reaktif oksijen türleri
NF-κB	Transkripsiyon faktörü nükleer faktör κB
N-pirazinekarbonil-L-fenil-alanin-L-lösin boronik asit	Bortezomib
BAFF	B-hücresi aktive edici faktör
NIK	NF-κB-indükleyici kinaz
STAT	Sinyal dönüştürücü ve transkripsiyon aktivatörü
COX-2	Siklooksijenaz-2
CDK	Sikline bağımlı kinaz
EEF2	Ökaryotik uzama faktörü 2
PKC	Protein kinaz C
PI3K	Fosfoinositid 3-kinaz
MAPK	Mitojen aktive protein kinaz
MLCK	Miyozin hafif zincirli kinaz
ATM	Ataksi telanjiektazi mutasyonu
PAL	Fenilalanin amonyak-liyaz
EGCG	Epigallokateşin gallat
IKK	IκB kinazı inhibe eder
DHA	Dokosaheksaenoik asit
EPA	Eikosapentaenoik asit
ETA	11, 14, 17-eikosatrienoik asit

İçindekiler

1 Giriş 125
2 Kanser ve Lösemi 126
2.1 Giriş 126
2.2 Kanserin Özellikleri 127
3 Etkinleştirici Özellikler: Enflamasyon 129
3.1 Giriş 129
3.2 Nükleer Faktör Kappa B Hücresi Sinyal Yolakları 129
3.3 Siklooksijenaz-2: Enflamasyonun Önemli bir Medyatörü 132
4 Antikanser Ajanı Olarak Doğal Bileşikler 132
4.1 Kara Bitkilerinden Elde Edilen Antikanser Bileşikler 132
4.2 Deniz Organizmalarından Elde Edilen Bileşikler 133
4.3 Mikroorganizmalardan Elde Edilen Bileşikler 133
4.4 Diyet Bileşikleri 134

4.5 Kalkonlar 134
5 Siklooksijenaz-2'nin Doğal Ürünlerle Modülasyonu 135
5.1 Transkripsiyonel Düzeyde Regülasyon 135
5.2 Posttranskripsiyonel Düzeyde Regülasyon 136
5.3 Posttranslasyonel Regülasyon 137
6 Sonuçlar 138
Referanslar 138

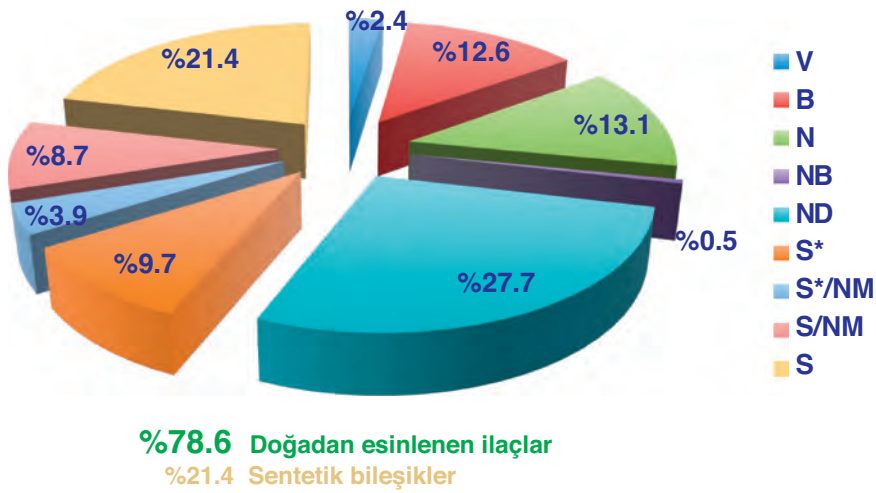
1 Giriş

Doğal bir bileşiğin tanımlanması çok karmaşıktır. Doğal ürünler geleneksel olarak yaşayan organizmalar tarafından üretilen ve biyolojik veya farmakolojik aktiviteye sahip kimyasal bileşikler olarak tanımlanırlar. Doğal bir ürün kimyasal olarak doğal ürünle özdeş olarak sentezlenebilir. Newman ve Cragg tarafından doğal ürünlerin kemoterapötik ilaç keşfi ve gelişimine katkılarını açıklamak amacıyla 1940-2010 yılları arasında onaylanan tüm antikanser ilaçların değerlendirilmesi sonucunda bir ilaç sınıflandırması geliştirilmiştir. Analizlerinde onaylı 206 antikanser ajanını net olarak tanımlayıp gruplara sınıflamışlardır [1].

İlk 8 kategorideki bileşikler doğal olarak üretilen veya doğadan esinlenen ürünlerden oluşurken, son kategorideki ürünler ise herhangi bir doğal yöntem kullanılmadığı için tamamen sentetik olan tek grubu oluşturmaktadırlar. Onaylı antikanser ajanlarının %78.6'sı ya doğal ya da doğal ürünlerden kaynaklanan ya da doğal ürünleri farklı şekillerde taklit eden ajanlardır (Şekil 1). Bu ajanların sadece %24.1'i doğada prototipi veya konsepti mevcut olmayan tamamen sentetik ürünlerdir. Bu veriler göz önüne alındığında Tabiat Ana'nın modern tedavilerdeki predominant rolü net olarak anlaşılmaktadır. Bu sınıflandırma doğal kaynaklar kullanılarak üretilen ilaçların önemini de vurgulamaktadır.

Ancak canlı organizmaların aslında dikkat çekici olan biyoaktif bileşikleri bazı durumlarda çok az miktarlarda sentezleyebilmeleri ve natürel ürünlerin sınırlı biyoaktiviteleri nedeniyle kullanımlarına yönelik kısıtlamalar mevcuttur. Molekülün polaritesi hücre içine alımını sıklıkla komplike hale getirerek aktivitesini azalmaktadır.

Buna karşın aktif ürün yapısına fonksiyonel grupların eklenmesi, çıkartılması veya modifiye edilmeleri ile natürel ürünlerin optimize edilebilmeleri mümkündür. Diğer taraftan, natürel ürünlerden esinlenen kombine sentezler kısa zamanda çok sayıda bileşiğin ortaya çıkmasına neden olmuştur. Gelecekte kuvvetli ilaç geliştirilebilmesi adına ümit vadeden stratejiler mevcuttur.



Şekil 1 Newman ve Cragg'e göre kanser ilaçlarının sınıflandırılması [1]. Bu sınıflandırma 9 kategori içermektedir. *N* modifiye edilmemiş doğal ürünler *ND* doğal bir üründen elde edilen (genellikle natürel bir ürünün yarı sentetik modifikasyonu ile) ürünler *NB* Amerikan Gıda ve İlaç idaresi (FDA) veya benzer bir organizasyon tarafından onaylı, tanımlı natürel-botanik karışım *V* Aşılar *B* Genel olarak büyük bir peptid veya proteinden oluşan biyolojik ajanlar *S** Doğal bir üründen esinlenen farmakora sahip, sentetik bileşikler *S*/NM* Doğal bir üründen esinlenen farmakora sahip, doğal ürün substratını yarışmalı olarak inhibe eden (doğal ürünü taklit eden) sentetik bileşikler *S/NM* Doğal ürün substratını yarışmalı olarak inhibe eden sentetik bileşikler *S* Doğal ürünler ile ilişkisi olmayan bileşikler.

2 Kanser ve Lösemi

2.1 Giriş

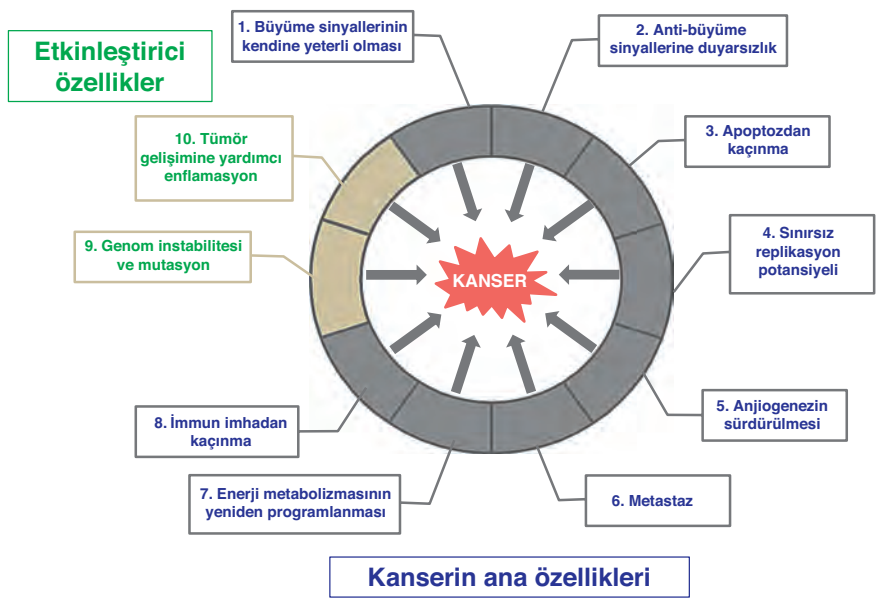
2008 yılında Avrupa'da yaşayan 2.46 milyon kişi kansere yakalanmıştır. Ortalama morbidite yaşı hem erkek hem de kadınlar için 69'dur. Kadınlarda en sık meme kanseri görülürken, erkeklerde prostat kanseri birinci sıradadır. Kanserle ilgili bilinen risk faktörleri sigara, obezite, diyet ve fiziksel inaktivitedir. Ayrıca UV ışınlarının ve viral enfeksiyonların da zararlı oldukları kabul edilir. Kanser yaşla artan ve kontrolsüz hücre üremesi ve yayılımı ile karakterize bir hastalıktır. Günümüzde genetik bir hastalık olarak kabul edilen kanserin gelişimi komplike ve çok aşamalı bir prosestir. Kanser gelişimine yol açan birkaç tane önemli neden vardır. Birincisi kanserin onkogenlerin aktivasyonu ile oluşabilmesidir. Sigara, iyonize radyasyon ve UV ışınları ile ortaya çıkabilen DNA mutasyonları onkogenlerin aktivasyonuna yol açarak büyüme faktörleri ve sekonder haberciler gibi anormal hücre büyümesinin promotörlerini kodlarlar. Onkogenlerin aktivasyonu kromozomal translokasyonlar ile de gerçekleşebilir. Bu durumda bir genin son kısmı diğer bir genin başlangıç kısmına transloke olarak bir onkogen olabilen füzyon geninin gelişimine yol açar. Son olarak viral RNA, revers trankriptazın etkisi ile insan hücre

DNA'sına entegre olabilen cDNA'ya kopyalanabilir. Bu entegrasyon bir onkogenin içinde gerçekleşirse onkogen aktive olabilir. Ayrıca hücre siklusunu, hücre farklılaşmasını ve apoptozisi kontrol eden tümör baskılayıcı genlerin deaktivasyonu da kanser başlangıcına neden olabilir. İnaktivasyonları kontrolsüz büyümeye yol açabilir. Tümör baskılayıcı genlerin fonksiyonlarının baskılanması sıklıkla kopyalanan proteinin deaktivasyonu ile gerçekleşir. Örneğin viral proteinlerin tümör baskılayıcı proteinlere bağlanmaları bu inhibisyonu aktive edebilir.

2.2 Kanserin Ana Özellikleri

Düzenleyici devrelerin etkisizleşmesi kanser hücrelerini karakterize eden özelliktir. Normal hücrelerden farklı olarak kanser hücrelerindeki proliferasyon ve homeostaz artık kontrol altında değildir [2]. Hanahan ve Weinberg yakın zamanda güncelledikleri kanserin özellikleri ile ilgili öncü makalelerinde sekiz ana özellik ve iki etkinleştirici özellikten oluşan on tane moleküler değişimin malign hücre büyümesine katkı yaptığını belirtmişlerdir (Şekil 2) [3].

Büyüme sinyallerinin kendine yeterli olması Kanser hücreleri kronik proliferasyonu sürdürebilirler. Diğer taraftan kanser hücreleri otokrin stimülasyona yol açan kendi büyüme faktörlerini de sentezlerler. Ayrıca büyüme faktörlerinden faydalanabilmek için çevrelerindeki normal hücreleri de stimüle edebilirler. Hücre yüzeyindeki reseptörlerin artan ekspresyonu veya mutasyonu ile kanser hücrelerinin büyüme faktörlerinin sinyallerine aşırı duyarlı hale gelmesine de neden olabilirler.



Şekil 2 Karsinogenez on farklı moleküler değişime dayanır; [3] nolu referanstan modifiye edilmiştir.

Tümör baskılayıcı genlerin büyümeyi inhibe edici sinyallerine duyarsızlık Hücre büyümesi ve proliferasyonun sınırlı olmasını sağlar. Yukarıda da anlatıldığı üzere kanser hücrelerindeki tümör baskılayıcı genlerin sıklıkla deaktive olmaları sürekli hücre proliferasyonuna yol açmaktadır.

Apoptozdan kaçınma Apoptoz kanser gelişiminin önünde doğal bir bariyerdir. Ancak kanser hücreleri tarafından inhibe edilebilir veya hücreler apoptozun etkisinden kaçınabilirler. Bu durum tümör baskılayıcı genlerdeki mutasyonlara, antiapoptotik Bcl-2 ve Bcl-xL genlerinin aşırı ekspresyonuna veya Bax gibi proapoptotik faktörlerin aşağı regülasyonuna bağlı olarak oluşur.

Sınırsız replikasyon potansiyeli Kromozom uçlarındaki tandem heksanükleotid kopyaları olan telomerler sınırlı sayıda hücre döngüsüne izin verirler. Proliferasyonun ilerlemesi ile kromozomların uçlarına kadar kısalan telomerler artık korunamazlar. Kromozomlar uçtan uca füzyonlar ile kararsız hale gelirler. Hücre apoptoz döngüsüne girer. Telomeraz ekspresyonu özelleşmiş bir DNA polimerazın telomer kopya segmentlerini telomerik DNA'ya eklemesini sağlar. Kanser hücreleri bu kısıtlamanın üstesinden gelerek ölümsüzlük özelliği kazanırlar.

Anjiogenezin korunması Vasküler endotelyal büyüme faktörü (VEGF) gibi proanjiogenik faktörlerin aşırı ekspresyonu veya trombospondin-1 gibi inhibitörlerin aşağı regülasyonu sonucu tümörün beslenmesi ve oksijen kullanımı düzelirken, metabolik atık ve karbondioksiti atması da kolaylaşır.

Metastaz Bu tehlikeli özellik E-kaderin gibi hücreler arası adezyon moleküllerinin kaybı ile ortaya çıkar. Metastaz, invazyon-metastaz kaskadı adı verilen bir dizi aşama ile ilerler. Birinci aşama invazyonu hücrelerin kan damarlarına intravazasyonunun takip etmesidir. Hücreler daha sonra lenfatik ve hematojen sistemler ile taşınmaya başlarlar. Kanser hücreleri bir sonraki ekstravazasyon aşamasında parenkime taşınarak mikrometastazları oluştururlar. Son olarak mikrometastazlar büyüyerek kolonizasyon adı verilen bir proses ile makroskopik tümörleri oluştururlar.

Son zamanlarda iki yeni özellik daha tanımlanmıştır:

Enerji metabolizmasının yeniden programlanması Kanser hücreleri kontrolsüz hücre proliferasyonunu sağlayabilmek için metabolizmalarını yeterli enerji kazanacak şekilde ayarlamak zorundadırlar. Onkogenlerin ve hipoksinin etkisi altındaki hücre metabolizmasının bazı durumlarda glikolitik ara ürünlerin akümülasyonuna yol açan anaerobik glikolize değiştiği bulunmuştur. Bu enerji yolağı için gereken glukoz ihtiyacı arttığı için, kanser hücreleri glukoz taşıyıcılarını sıklıkla aşırı miktarda eksprese ederek hücre içine glukoz girişini artırırlar.

İmmun imhadan kaçınma immun sistem tümör gelişimine karşı doğal bir bariyer oluşturur. Ancak kanser hücreleri tespit ve imha edilmekten immun hücreleri engelleyerek kaçınırlar. Örneğin immunosupresif faktörler salgılayarak veya immunosupresif enflamatuar hücrelerin başka yöne konsantre olmalarını sağlayarak bunu gerçekleştirirler.

Hanahan ve Weinberg'e göre bu özelliklerin kazanılmasını iki etkinleştirici özellik kolaylaştırmaktadır (Şekil 2).

Genomik instabilite ve mutasyon Kanser hücrelerinin mutasyon kapasiteleri, mutajenik bileşiklere daha yüksek duyarlı olmaları, doğal genomik tamir sisteminin ve genomun bütünlüğünü kontrol eden takip sistemlerinin bozulması nedeniyle artmıştır. Yukarıda açıklanan bu özelliklerin gelişimi büyük oranda genomdaki değişimlere bağlıdır [3].

Kronik enflamasyon Tümöre biyoaktif büyüme faktörleri, sağkalım faktörleri ve proanjiogenik faktörler gibi biyoaktif moleküller ile reaktif oksijen türleri sağlayan enflamasyon kanser, özelliklerinin gelişim sürecine katkı yapmaktadır [3].

Bu özellikler ve etkinleştirici karakteristikler modern antikanser tedavinin hedefi olarak değerlendirilebilir. Doğal bileşikler bu moleküler hedeflerin incelenmesinde kullanılabilecek mükemmel araçlardır. Biyomedikal uygulamalarda kullanılabilen özgün terapötik ve kemopreventif bileşikleri de sağlayabilirler [4–8].

3 Etkinleştirici Özellikler: Enflamasyon

3.1 Giriş

Kanserin özelliklerinden ve etkinleştirici karakteristiklerinden birisi olan enflamasyon ve ilgili hücre sinyal mekanizmaları son yıllarda ciddi anlamda ilgi çekmektedir. Enflamatuar bir ortamın kanser gelişimine yol açabileceği Mantovani ve ark. tarafından gayet iyi dökümante edilmiştir (Şekil 3) [9]. DNA hasarı nedeniyle etkinleşen proliferasyon özelliği ile prolifere olmaya devam eden hücrelerin büyümeleri, salgılanan sitokinler, kemokinler ile değişime uğrayan enflamatuar hücreler tarafından üretilen büyüme faktörleri tarafından desteklenir [9, 10]. Doğal bileşikler bu özelliği etkin bir şekilde inhibe edebilirler [11].

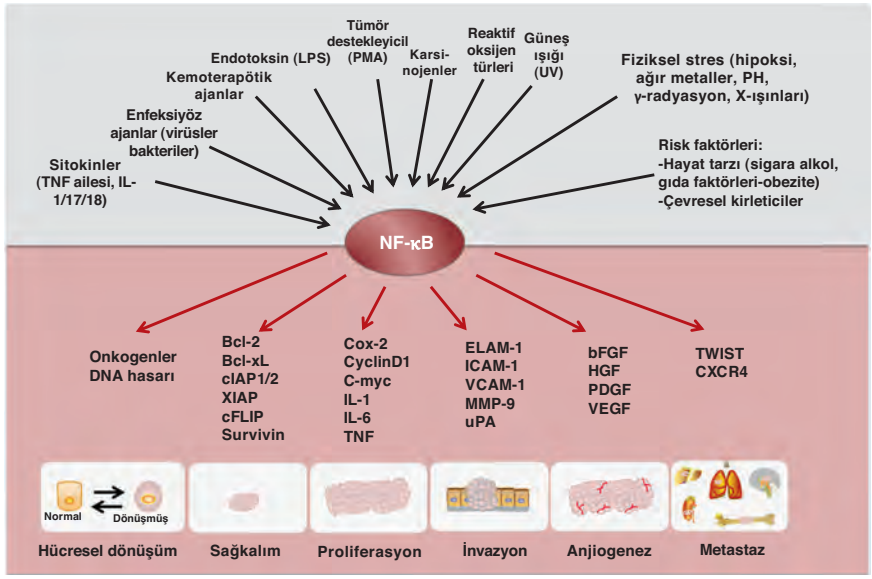
3.2 Nükleer Faktör Kappa B Hücresi Sinyal Yolakları

Enflamatuar ve yerleşik immun cevapta rol oynayan santral bir moleküler mekanizma transkripsiyon faktörü nükleer faktör κB'dir (NF-κB) [12]. NF-κB'nin yukarıda bahsedilen değişimlerin hepsini değilse bile çoğunu kontrol eden 550'den fazla geni transaktive ettiği gösterilmiştir [13, 14]. Bu nedenle bortezomib (N-pirazinkarbonil-L-alanin-L-lösin boronik asit) gibi proteazomu inhibe eden NF-κB inhibitörlerinin kanser tedavisinde ümit vadeden yeni bir yaklaşım getirdiği düşünülmektedir [14, 15].

NF-κB ailesi beş üyeden oluşur: relA (p65), relB, cRel, NF-κB1 (p50), ve NF-κB2 (p52) [14]. Bu proteinler homodimer ve heterodimerleri oluşturur [10, 14].

NF-κB aktivasyonuna yol açan dört yolak mevcuttur (Şekil 4).

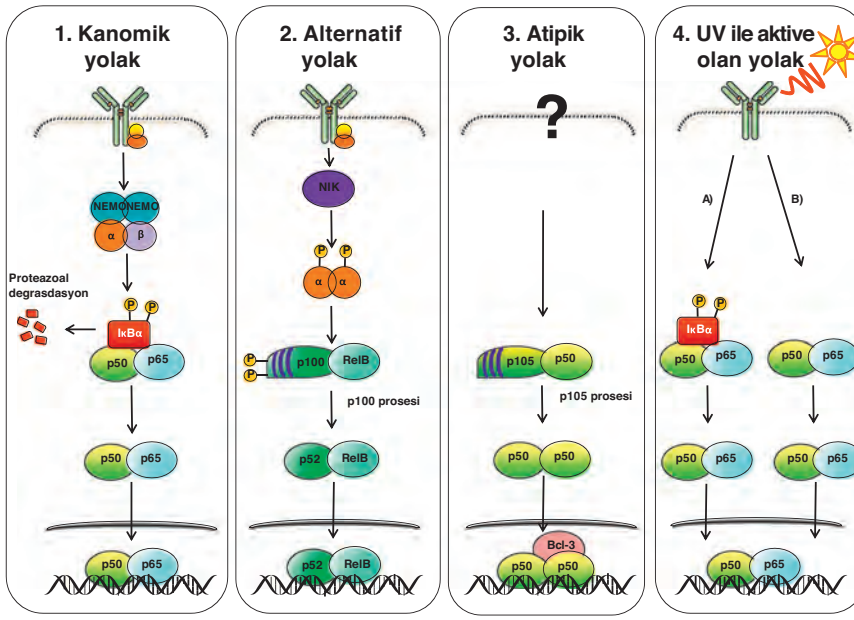
1. Birincisine kanonik NF-κB aktivasyon yolağı adı verilir. ReIA-p50 dimerleri nonstimüle şartlarda κB İnhbitörü (IκB) adı verilen inhibitör protein ile ilişkili oldukları için sitoplazmada inaktif formda kalırlar. Hücre yüzey reseptörlerinin TNF-α stres



Şekil 3 Enflamasyon, NF-κB ve kanser arasındaki ilişki; [10] nolu referanstan modifiye edilmiştir.

sinyalleri gibi proenflamatuar sitokinlerle veya lipopolisakaridler gibi patojenle ilişkili moleküler paternler (PAMP'ler) ile stimülasyonu sonrası IκB kinaz (IKK) aktive olarak IκB'yi fosforlar. Devamında IκB'ye ubikutin eklendikten sonra proteazom tarafından degrade edilir. Serbest bırakılan NF-κB transkripsiyon faktörü çekirdeği transloke ederek kanserin başlamasında, desteklenmesinde ve progresyonunda rol oynayan birçok hedef genin transkripsiyonunu aktive eder [14, 16, 17].

2. Nonkanonik ve alternatif NF-κB sinyal yolağı adı verilen ikinci yolak p100-ReIB kompleksini aktive eder. Bu durumda B-hücresi aktive edici faktör (BAFF) gibi TNF-üst ailesinin üyeleri veya CD40 ligandı, NF-κB indükleyici kinazı (NIK) reseptörlerine bağlanarak aktive eder. NIK devamında IKKα'yı aktive eder. IKKα p100'ün IκB benzeri bölgesinin iki serin kalıntısını fosforlar. Sonuçta p100 proteazom tarafından kısmen degrade edilir ve p52-ReIB kompleksi serbest kalır [10, 14, 17].
3. Üçüncü NF-κB aktivasyon yolağı (atipik yolak) IκB degradasyonunda bağımsızdır. Bu aktivasyonu regüle eden uyarıcılar hala net olarak bilinmemektedir. p105 stimülasyon sonrası p50 ile birlikte komplekste bulunur ve bir IκB benzeri bölgedeki serin kalıntılarındaki IKK'lar tarafından fosforillenir. Daha sonra ubikutin eklenen ve kısmen proteazom tarafından degrade edilen p105, p50 formasyonuna yol açar. Bcl-3 devamında p50 homodimere bağlanarak trimerik bir kompleks oluşturur. Kompleks daha sonra Bcl-3'ün CBP/p300 ile etkileşerek bir transkripsiyon aktivatörü görevi yaptığı ortamda çekirdeğe transloke olur [17, 18].



Şekil 4 NF-κB aktivasyonunun dört yolağı **a** Toll benzeri, TNF veya T hücre reseptörü tarafından aktive edilen klasik veya kanonik NF-κB aktivasyon yolağı. **b** BAFF reseptörü ve CD40 tarafından aktive edilen alternatif veya nonkanonik NF-κB sinyal yolağı. **c** Atipik yolak. **d** UV ile indüklenen yolak A erken faz yolağı ile B geç faz yolağı ile ([17] nolu referanstan uyarlanmıştır).

4. Dördüncü yolak UV tarafından indüklenen NF-κB aktivasyon yolağıdır. UV ışınları NF-κB'yi iki farklı mekanizma ile aktive eder: (a) erken faz IκB'ye bağımlı yolak, IκBa fosforilasyonuna ve proteazomal degradasyona yol açar (b) geç faz IκB'den bağımsız yolakta NF-κB bilinmeyen bir mekanizma ile serbest kalır [19, 20].

Sağlıklı hücrelerdeki NF-κB aktivasyonu regüle bir prosestir. Doğal NF-κB inhibitörü olan IκB de bu transkripsiyon faktörünün kontrolü altındadır [10]. Bu otoregüle döngüdeki NF-κB aktivasyonunun zaman ve yoğunluğu sınırlanmıştır [15]. Tümör hücrelerindeki moleküler değişimler NF-κB aktivasyonunun patolojik ve anlamlı yukarı regülasyonuna yol açarak kanser gelişiminde rol oynayan genlerin ekspresyonunu sağlar [10, 13]. Birçok tümörde NF-κB aktivasyonu tanımlanmıştır [10].

Ancak çeşitli kaynaklardan elde edilen doğal bileşikler NF-κB aktivasyonu ve ilgili hücre sinyal mekanizmaları ile etkili bir biçimde savaşabilir. Yakın zamanda, doğanın sunduğu mükemmel NF-κB inhibitörler ile ilişkili kanıtları sunmuş bulunuyoruz: kurkumin [21–23]; β-lapakon ve emodin, sanguinarin, ve kapsaisin [24]; kawainler [25]; naftopironlar [26]; kardenolidler [27, 28]; heteronemin [29]; poliketid türevleri [30]; kalkonlar [31, 32]; ve maun yaprağı ekstresinin [33] NF-κB hücre sinyal yolaklarını etkili olarak inhibe ettiklerini gösterdik. Güncel makalelerde bu konunun dünya çapında çok

aktif bir araştırma konusu olduğundan bahsedilmektedir [6, 22, 34–39]. Dikkate değer bir nokta da NF-κB'nın çok sık olarak sinyal dönüştürücü ve transkripsiyon aktivatörü (STAT) sinyal kaskadlarıyla ko-regüle olduğu ve doğal bileşiklerin bu yolakları etkili bir şekilde inhibe ettikleridir [40, 41].

3.3 Siklooksijenaz-2: Enflamasyonun Önemli bir Medyatörü

NF-κB yolağına ek olarak, siklooksijenaz ailesinin indüklenebilir bir formu olan siklooksijenaz-2'nin (COX-2) meme, kolon ve prostatı da içeren birçok kanser türünde ciddi oranda eksprese olduğu bulunmuştur [42]. Birçok çalışmada COX-2'nin erken preneoplastik evrelerden itibaren sabit bir şekilde eksprese olduğu gösterilmiştir. Bu bulgu birçok araştırıcının COX-2'yi kemoprevensiyon ve kanser tedavisinde potansiyel hedef olarak belirlemeye teşvik etmiştir. Enzimatik aktiviteyi hedefleyen sentetik COX-2 inhibitörleri COX-2'yi etkisizleştirebilen tek klinik stratejidir. Ancak bu bileşiklerin ciddi yan etkileri kemoprevensiyon veya kanser tedavisi için gerekli olan uzun süreli kullanımlarını kısıtlamaktadır. Doğal COX-2 inhibitörlerinin keşfi yan etkilerin önlenmesini sağlayabileceği için, günümüzde aktif araştırmalar yapılan bir alan haline gelmiştir [43].

4 Antikanser Ajanı Olarak Doğal Bileşikler

4.1 Kara Bitkilerinden Elde Edilen Antikanser Bileşikler

Bitkiler hayatta kalabilmek ve kendilerini savunabilmek için alkaloidler gibi bileşiklere dayanan ve diğer bitkilerin büyümelerine engel olan multipl mekanizmalar geliştirmişlerdir. Örnek olarak Catharantus roseus'dan (Cezayir Menekşesi) elde edilen bir Vinca alkaloidi olan vinkristin verilebilir. Serbest tubulin dimerlerini bağlayıp mikrotubul polimerizasyonuna engel olarak metafazı durdurur. Bir diğer iyi bilinen bileşik ise Mayıs Elmasının (Podophyllum peltatum) doğal bir podofilotoksini olan etopoziddir. Etopozid mitozdaki tümör hücrelerinin girişini topoizomeraz II aktivitesini inhibe edip çift sarmalı DNA'nın kırılmasını sağlayarak engeller. Ayrıca taksan ailesine ait moleküller olan paklitaksel ve dosetaksel de meme ve ovaryum kanserlerine karşı antitümör aktivite gösterirler. Paklitaksel Pasifik Okyanusu bölgesindeki Porsuk Ağacının (Taxus brevifolia) kabuğundan, dosetaksel ise aynı ağacın iğne yapraklarından elde edilir. Tubulin dimerlerindeki mikrotubullerin birleşimini stimüle ederek, mikrotubulleri depolimerizasyonu önleyerek stabilize ederler. Bu stabilite mikrotubuler ağın dinamik reorganizasyonunu engelleyrek mitozun durmasına yol açar. Flavopiridol ise ilk bulunan sikline bağımlı kinaz (CDK) inhibitörüdür [44]. Semisentetik bir flavono-

iddir. CDK'ların fosforilasyonuna müdahil olup G1 ve G2 fazlarındaki progresyonu engelleyerek hücre bölünmesini inhibe eder ve tümör hücrelerinin apoptozunu indükler. Flavopiridol ayrıca meme kanseri hücrelerinde aşırı eksprese olan siklin D1'in [45] ekspresyonunu azaltır. Bu bileşik diğer CDK'ların fosforilasyonunda rol oynayan kompleks cdk7/siklin H'nın da aktivitesini engeller. Bu bileşik ile yapılan klinik çalışmalar ve paklitaksel ve sisplatin gibi diğer doğal bileşiklerle yapılan kombinasyon testleri halen sürmektedir [46, 47].

4.2 Deniz Organizmalarından Elde Edilen Bileşikler

Deniz bitkileri büyük kimyasal çeşitlilik gösterirler. Deniz kaynaklarından elde edilen ürünler birçok kanser türüne karşı sitotoksik aktiviteye sahiptir [5, 29, 34, 35, 38, 48–51].

Didemnin B 1981'de Karayip Zarlısından (Tridemnum solidum) izole edilen ilk deniz kaynaklı bileşiktir. Ökaryotik uzama faktörü 2'nin (EEF2) translokasyonunu engelleyerek protein sentezini inhibe eder [52]. Didemnin B kaspazları aktive ederek hücre apoptozuna yol açar [53].

Dolastatinler Hint Okyanusu yumuşakçası Dollabella auriculariadan elde edilen peptidlerdir. Antineoplastik özellik taşırlar. Örneğin dolastatin 15 mikrotübül formasyonuna müdahil olup, metafazdaki hücre bölünmesini bloke ederek mitozu engeller [54].

Bryostatinler yosun türü olan Bugula neritinadan izole edilmiştir. Bu tür, aktif bir biyomolekül olan bryostatin salgılayan bir bakteri ile simbiyoz halinde yaşarlar. Bileşik bryozoaların larvalarını yırtıcı balıkları kaçırarak korur. Makrolid olan bryostatinler 15 farklı türevi olan bir ailedir. Bryostatin 1 en iyi bilinen antikanser ajandır. Bu bileşikler lenfoblastik lösemide Bcl-2'ye ubikutin eklenmesini ve proteazom degradasyonunu indükler ve kemik iliği hücrelerinde progenitör hücrelerin üremesine izin verir [55]. Bryostatinler protein kinaz C'nin (PKC) potent aktivatörleridir. Hücrelerin aktivasyon, büyüme ve farklılaşmalarını regüle ederler [46, 47].

4.3 Mikroorganizmalardan Elde Edilen Bileşikler

Mikroorganizmalar tehlikeli ortamlarda ve doku/organlarda sağ kalabilmek çok gelişmiş immun sistemlerini de içeren sofistike mekanizmalar geliştirmişlerdir. Bu nedenle bir dokuyu istila ederken farklı stratejiler kullanırlar. İmmun sistem hücrelerini yok eden toksinlerin salgılanması ve savunma sistemleri tarafından tanınmalarına engel olan kamuflaj özelliği örnek olarak verilebilir. Mikroorganizmalar elde edilen bileşikler bu multipl özellikleri nedeniyle kanser tedavisi için ilgi çekici bir konu oluşturmaktadır.

Streptomyces hygroscopicusdan izole edilen rapamisinin antifungal ve antiproliferatif özellikleri vardır. Rapamisin hücre büyüme ve proliferasyonunu kontrol eden mTOR

yolağını inhibe eder [56]. mTOR aktivasyonu hücrelerin hücre döngüsü içine girmelerine izin verir. Rapamisin transplantasyon sonrası allogreft reddini engeller. İn vivo ve in vitro ortamda çok sayıda tümör üzerinde antiproliferatif etki gösterir [56]. T ve B hücrelerindeki G1, osteosarkom ve diğer tümör hücrelerinin hücre döngüsündeki progresyonlarını bloke eder.

Wortmannin, Penicillium fumiculosumdan izole edilen fosfoinositid 3-kinaz (PI3K), mitojen aktive protein kinaz (MAPK) ve düz kas hücre kontraksiyonunda rol oynayan hafif miyozin zincirlerini fosforlayan bir serin treonin kinaz olan miyozin hafif zincirli kinazı (MLCK) inhibe eder [57]. Wortmannin DNA hasarı ile oluşan kinaz ataksi telenjiektazi mutasyonunu (ATM) bloke eder. Ayrıca sitokinlerin antiapoptotik etkilerini ve p53 stabilizasyonunu da inhibe eder [46, 47].

4.4 Diyet Bileşikleri

Sinnamik asit 1834 yılında Peligot ve Dumas tarafından keşfedilen ve saflaştırılan bir fenolik asittir. Cinnamomum cassiadan izole edilir ve antiseptik ve antifungal özellikleri ile tanınır. Sinnamik asit, şikimik asit ve tüm fenilpropanoidlerin biyosentetik yolağının aracısıdır. Fenilalanin amonyak-liyaz (PAL) enzimi ile fenilalaninden elde edildikten sonra sinnamat 4-hidroksilaz tarafından parakumarik aside dönüştürülür. Sinnamik asit, hidroksisinnamik asitler (kafeik asit, ferulik asit ve sinapik asit), dahili siklizasyon ile kumarinler (p-kumarik asit), flavonoidler (kuersetin) ve ligninler (koniferil alkol) gibi bileşiklere de dönüşebilir. Sinnamik asit ayrıca benzoik asit, salisilik asit ve gallik asitinde prekürsorudur. Sinnamik asitin melanom, glioblastom ile akciğer ve karaciğer adenokarsinomuna karşı antitümör etkisi olduğu gösterilmiştir [58]. Sinnamik asit kolorektal kanser hücreleri (Caco-2) üzerinde de antiproliferatif etki ve doza bağımlı DNA sentezi inhibisyonu yapar [59].

4.5 Kalkonlar

Polifenoller her molekülde birden fazla fenol içeren önemli besin bileşiklerindendir [60]. Bu aile bitki, meyve ve sebzelerde bulunan ve ultraviyole radyasyonuna ve patojen agresyonuna karşı koruyan mekanizmalarda rol alan binlerce molekülden oluşur. Hücreleri serbest radikallerin ve kanser, enflamasyon ve kardiyovasküler hastalık gibi patolojilerin hasarlarına karşı korurlar [61]. Kalkonlar antioksidan, antibakteryel, antienflamatuar, antikanser, sitotoksik ve immunosupresif potansiyeli olan önemli bir polifenolik alt gruptur. Kalkonlar özellike turunçgiller, elma gibi meyvelerde ve bitkisel tıpta geleneksel olarak kullanılan sebzelerde bol miktarda bulunurlar [62]. Kalkonların (spesifik olmamalarına rağmen) aşağı yönlü sinyal yolaklarını modüle eden belirgin regülatuar proteinleri hedefledikleri bildirilmiştir. Spesifik yapı gereksinimleri önemli rol

oynamakta olup, gözlenen biyoaktiviteleri ile korele olabilir [63-67]. Doğal kalkonların nütrasötik veya özgün terapötik ajanlar olarak tanımlanmaları ve karakterize edilmeleri enflamasyon ve kanser tedavisinde ümit verici bir yaklaşım olabilir [31, 32, 39].

5 Siklooksijenaz-2'nin Doğal Ürünlerle Modülasyonu

COX-2'yi transkripsiyon, posttranskripsiyon ve posttranslasyon düzeyinde modüle edebilen birçok doğal ürün mevcuttur (Şekil 5) [43].

5.1 Transkripsiyonel Düzeyde Regülasyon

Polifenoller kemoterapi ve kemoprevensiyonda kullanılan çok sayıda bileşiğin kaynağıdır. Bu bileşikler ilginç antienflamatuar ve antikanser özelliklere sahiptir. Bu bileşiklerin hedeflerinin bir tanesi faktör NFκB'dir. Birçok çalışmada bu bileşiklerin COX'un transkripsiyon düzeyindeki ekspresyonunu regüle ederek fonksiyonunu azaltma yetenekleri araştırılmıştır (Şekil 5).

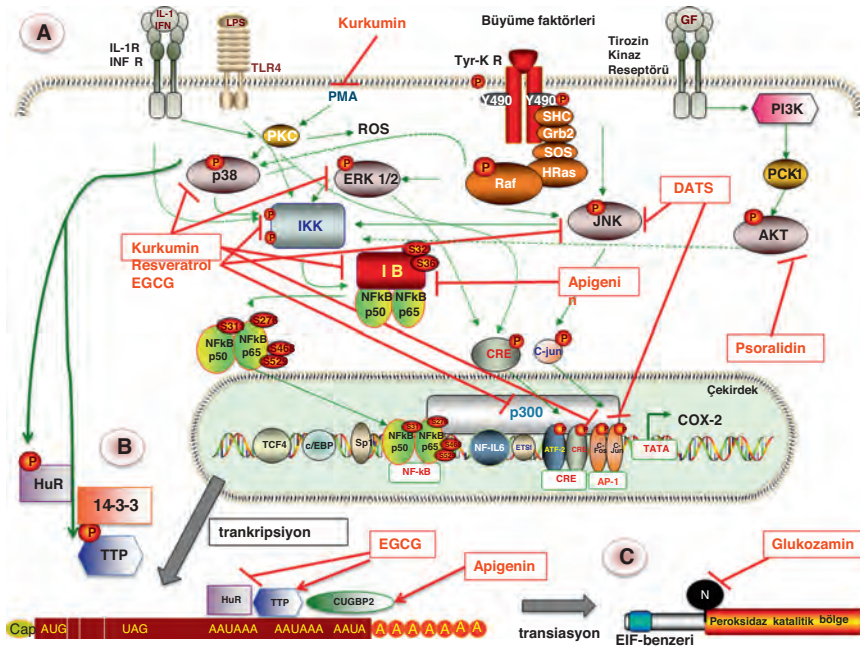
Birçok bileşik COX-2'nin ekspresyonunu MAPK sinyal yolaklarını etkileyerek modüle eder. Gerçekten de Curcuma longa kökünden ekstrakte edilen ve antienflamatuar ve antikanser etkileri olan kurkumin p38 ve ERK'nın fosforilasyonunu engelleyebilir [68]. Aynı etkiyi yapan resveratrol esas olarak kırmızı şarap ve üzümde bulunurken [69], epigallokateşin gallat (EGCC) ise yeşil çaydan elde edilen bir polifenoldür [70].

JNK'nın aktivasyonu ile transkripsiyon faktörü AP-1 aktive olur. Bu aktivasyon sarımsak ve soğandan elde edilen dialil polisülfidler tarafından inhibe edilir [71]. Ek olarak Psoralea corylifolia tohumlarından elde edilen bir bileşik olan psoralidin, PI3K/Akt yolağını inhibe eder [72].

MAPK'lerin aktivasyonlarının inhibe edilmesi COX-2 promotörünün spesifik bölgelerine bağlanan transkripsiyon faktörlerinin aktivasyon ve nükleer translokasyonlarını engelleyerek COX-2 ekspresyonunu inhibe eder.

Doğal ürünler transkripsiyon faktörlerinin direkt aktivasyonunda da rol oynayabilirler. Örneğin papatyada bulunan bir flavon olan apigenin, IκBa'yı fosforlayan ve inhibe eden IκB kinazı (IKK) inhibe eder. IκBa NF-κB'yi tecrit ederek çekirdeğe transportuna ve alt ünitelerinin (p65, p50) promotör ile iletişimine engel olur.

Diğer transkripsiyon faktörleri de doğal ürünlerin hedefleri arasındadır. c-jun ve c-FOS alt ünitelerinden oluşan AP-1 endometrium karsinomunda kurkumin tarafından inhibe edilir. Bu faktör nonkarsinojenik LDC'ler [73], dialil trisülfitleri [71] ve flavonoid kuersetin [74] ile stimüle edilen memeli epitel hücrelerindeki resveratrol ile inhibe edilir. AP-1 aktivasyonu enflamasyon, hücre transformasyonu ve immun cevaba yol açar. AP-1 metastaz formasyonunun erken bir evresi olan epitelyal mezenkimal transisyona izin



Şekil 5 COX-2 ekspresyonunun doğal bileşiklerle modülasyonu **a** Transkripsiyonal regülasyon: Kurkumin, resveratrol ve EGCG, p38, ERK ve JNK aktivasyonunu ve IκBa degradasyonunu ve IKK aktivasyonunu inhibe eder. Kurkumin, PMA ve ETS-1 nükleer translokasyonunun etkilerini inhibe eder. Dialil trisülfitler JNK aktivasyonunu ve c-Fos ve c-Jun'un nükleer translokasyonunu engellerler. Apigenin IκBa degradasyonunu engeller. Psoralidin AKT aktivasyonunu engeller. **b** Posttranskripsiyonel regülasyon: EGCG ARE'lere HuR bağlanmasını inhibe eder ve TTP ekspresyonunu destekler. Apigenin ARE'lere CUGBP2 bağlanmasına ve HuR ile iletişimine izin verir. **c** Posttranslasyonel regülasyon: Glukozamin COX-2 proteininin transformasyonunun N-glikozilasyonunu ve immün cevabı engeller.

verir [75]. Transkripsiyon faktörü Ets-1, anjiogenezde rol oynayan VEGF gibi faktörlerin ekspresyonlarını regüle eder. İnsandaki endometrium karsinomlarındaki ekspresyonu kurkumin ile inhibe edilebilir [68]. PMA COX-2 ekspresyonunun indükleyicisidir. PKC'nin diasilgliserol bölgesine (DAG) bağlanarak aktive olmasını sağlar. PKC reaktif oksijen türlerinin formasyonunu destekler. Kurkumin PMA etkinliğini bloke eden antioksidan özelliklere sahiptir [75].

5.2 Posttranskripsiyonel Düzeyde Regülasyon

mRNA stabilite ve translasyon etkinliğinin modülasyonu immun hastalıklar ve kanserde COX-2 stabilitesi için çok önemlidir. Kolorektal kanserdeki COX-2 mRNA yüksek oranda stabildir. Birkaç çalışmada doğal ürünlerin posttranskripsiyonel seviyedeki COX-2 ekspresyonu üzerindeki etkileri araştırılmıştır (Şekil 5).

HuR ve TTP'yi de içeren çeşitli moleküller COX-2'nin stabilitesini modüle eder. Ayrıca 30 translasyona uğramayan bölgede (UTR) miR-199 ve miR-16 gibi AUUUUA yönünden zengin elemanları (ARE) bağlayan mikro RNA'lar, mRNA kodlayan COX-2'yi regüle ederler. Bazı doğal ürünler mRNA'yı stabilize veya destabilize etmek amacıyla regüle ederler. Örneğin EGCG, mRNA stabilizasyonunda rol oynayan HuR proteinini inhibe ederken, mRNA COX-2'yi destabilize eden TTP proteinini indükler [70]. Kurkumin çeşitli miRNA'ların ekspresyonlarını aşağı veya yukarı regüle edebilir. Gerçekten de kurkumin miR-199'u aşağı regüle ederken miR-22'yi ise yukarı regüle eder [76].

P38 MAPK, mRNA stabilitesinin regülasyonunda önemlidir. p38, HuR ve TTP'yi fosforilleme yeteneğine sahiptir. HuR fosforilasyonunun aktivasyonu sitoplazmaya transportuna ve ARE sekanslarına bağlanmasına izin verir [77]. Buna karşın TTP fosforilasyonu proteine bağlanan 14-3-3 kompleksi tarafından tanınarak ARE'lere bağlanması engellenir [78]. Kurkumin [79] ve resveratrol [69], p38 aktivasyonunu engeller.

Diğer bileşikler, ARE'lerdeki TIA-1, TIAR gibi bazı proteinlerin bağlanmalarını modüle ederek COX-2'nin mRNA'sının translasyon etkinliğinde rol oynarlar. Örneğin apigenin COX-2 transkriptini stabilize ederken translasyonu inhibe eden HuR ve CUGBP2 ile etkileşimi nedeniyle de proteine translasyonunu engeller [80]. Tarçın, glukokortikoidler ve yeşil çayın TTP transkripsiyonunu desteklediği gösterilmiştir [81].

p38'in aktivasyonu COX-2'nin transkripsiyonel ve posttranskripsiyonel seviyelerdeki ekspresyonunun regülasyonunda önemlidir. Transkripsiyon düzeyinde NF-κB veya AP-1 gibi transkripsiyon faktörlerini aktive ederek COX-2'nin transkripsiyonunu sağlar. Posttranskripsiyonel seviyede HuR fosforilasyonunu destekleyerek ve nükleositoplazmik transportuna izin vererek COX-2 mRNA'yı stabilize eder.

Bazı bileşikler COX-2'yi sadece posttranskripsiyonel düzeyde etkilemektedir. Bu durum COX-2'nin mRNA stabilitesini, mikroglial hücrelerde liposakaridler ile stimüle edilen COX-2'nin transkripsiyon etkinliğini etkilemeden azaltan mango ağacından (Mangifera indica) elde edilen glukozilksanton ekstresi mangiferin için geçerlidir [82].

5.3 Posttranslasyonel Regülasyon

COX-2'nin posttranslasyonel modifikasyonları güncel bir araştırma alanının konusudur. İlk sonuçlar kemopreventif ajanların COX-2'nin bu seviyedeki ekspresyonunda rol oynadığını düşündürmektedir (Şekil 5).

Balıktan veya keten tohumundan elde edilen omega-3 gibi poliansatüre yağ asitlerinin kardiyovasküler hastalıklardan koruyucu ajanlar olduğu düşünülmektedir. Başlıca iki omega-3 yağ asidi türü olan dokosaheksaenoik asit (DHA) ve eikosapentaenoik asit (EPA) kolon kanseri [83], prostat kanseri [84] ve hepatoselüler karsinomda [85] antiproliferatif etki gösterirler. Prostat kanserinin agresif formlarının gelişme olasılığı ile düzenli omega-3 yağ asidi tüketimi arasında ters bir korelasyon olduğu gösterilmiştir [84]. Ek olarak DHA, EPA veya 11, 14, 17-eikostrienoik asit (ETA) ve diğer omega-3 yağ asitlerinin uygulaması in vivo cilt kanseri modellerinde proenflamatuar medyatörlerin eks-

presyonunu engellemektedir [86]. Omega 3, COX-2 ekspresyonunu azatır ve aktivitesini inhibe eder [87]. Kabukluların iskeletlerinde doğal olarak bulunan bir diğer omega-3 yağ asidi olan glukozamin çoğunlukla osteoartrit tedavisinde kullanılmaktadır. Güncel veriler glukozaminin akciğer kanseri hücrelerindeki COX-2'nin N-glikolizasyonunu azaltarak [88] COX-2 aktivitesini azalttığını göstermektedir. Bu molekülün COX-2'nin aktivitesini ve stabilitesini bloke etme özelliği kanser tedavisindeki ilginç bir antienflamatuar etkiyi ortaya koymaktadır.

6 Sonuçlar

En büyük medikal tedavi kaynağı olan doğa, sofistike geleneksel tedavilerin temeli haline gelmiştir. Mısır Tıbbı, Çin İlaç Bilimi, Hindistan Ayurveda Tıbbı ile birlikte antik Batı dünyasındaki Yunan ve Roma Tıpları genel olarak bitki kaynaklı tedavilere dayanmaktadır. Modern kanser ilaç keşfinde doğal ürünlerin önemi günümüzde de sürmektedir. Organizmalar tarafından üretilen sekonder metabolitler başlıca koruma, predasyon ve komünikasyon işlevine sahip aktif bileşikler içermektedirler. Bu nedenle, biyolojik olarak yüksek oranda aktif olan bu bileşikler modern tıp tarafından doğal olarak adapte edilmektedir. Bu bileşiklerin enflamasyon ve kanserde rol oynayan moleküler mekanizmalara karşı olan aktiviteleri günümüzde aktif bir araştırma alanı haline gelmiştir. Bu nedenle doğal kaynaklardan elde edilen bileşiklerin, hem koruma hem de tedavide kullanılabilen değerli ajanlar olduğunu düşünüyoruz.

Teşekkürler: BO and NL Télévie-Luxembourg doktora bursunu kullanmıştır. Laboratoire de Biologie Moléculaire et Cellulaire du Cancer'de yapılan araştırma "Recherche Cancer et Sang" vakfı, "Recherches Scientifiques Luxembourg" birliği, "Een Haerz fir kriibskrank Kanner" birliği, the Action Lions "Vaincre le Cancer" birliği and Télévie Luxembourg tarafından desteklenmiştir. Diğer destekler Avrupa Birliği'nden alınmıştır (ITN "RedCat" 215009, Interreg IVa project "Corena").

Referanslar

1. Newman DJ, Cragg GM (2012) Natural products as sources of new drugs over the 30 years from 1981 to 2010. J Nat Prod 75(3):311–335
2. Hanahan D, Weinberg RA (2000) The hallmarks of cancer. Cell 100:57–70
3. Hanahan D, Weinberg RA (2011) Hallmarks of cancer: the next generation. Cell 144:646–674
4. Trecul A, Morceau F, Dicato M, Diederich M (2012) Dietary compounds as potent inhibitors of the signal transducers and activators of transcription (STAT) 3 regulatory network. Genes Nutr 7:111–125

5. Schumacher M, Kelkel M, Dicato M, Diederich M (2011) Gold from the sea: marine compounds as inhibitors of the hallmarks of cancer. Biotechnol Adv 29:531–547
6. Schumacher M, Juncker T, Schnekenburger M, Gaascht F, Diederich M (2011) Natural compounds as inflammation inhibitors. Genes Nutr 6:89–92
7. Orlikova B, Diederich M (2012) Power from the garden: plant compounds as inhibitors of the hallmarks of cancer. Curr Med Chem 19:2061–2087
8. Kelkel M, Jacob C, Dicato M, Diederich M (2010) Potential of the dietary antioxidants resveratrol and curcumin in prevention and treatment of hematologic malignancies. Molecules 15:7035–7074
9. Balkwill F, Mantovani A (2001) Inflammation and cancer: back to Virchow? Lancet 357:539–545
10. Prasad S, Ravindran J, Aggarwal BB (2010) NF-kappaB and cancer: how intimate is this relationship. Mol Cell Biochem 336:25–37
11. Folmer F, Dicato M, Diederich M (2012) From the deepest sea shelf to the uppermost kitchen cabinet shelf: the quest for novel TNF-alpha inhibitors. Curr Top Med Chem 12(3):1392–1407
12. Delhalle S, Blasius R, Dicato M, Diederich M (2004) A beginner's guide to NF-kappaB signaling pathways. Ann NY Acad Sci 1030:1–13
13. Meteoglu I, Erdogdu IH, Meydan N, Erkus M, Barutca S (2008) NF-KappaB expression correlates with apoptosis and angiogenesis in clear cell renal cell carcinoma tissues. J Exp Clin Cancer Res 27:53
14. Baud V, Karin M (2009) Is NF-kappaB a good target for cancer therapy? Hopes and pitfalls. Nat Rev Drug Discov 8:33–40
15. Nishikori M (2005) Classical and alternative NF-kB activation pathways and their roles in lymphoid malignancies. J Clin Exp Hematopathol 45:15–24
16. Li Q, Verma IM (2002) NF-kappaB regulation in the immune system. Nat Rev Immunol 2:725–734
17. Gilmore TD (2006) Introduction to NF-kappaB: players, pathways, perspectives. Oncogene 25:6680–6684
18. Heissmeyer V, Krappmann D, Wulczyn FG, Scheidereit C (1999) NF-kappaB p105 is a target of IkappaB kinases and controls signal induction of Bcl-3-p50 complexes. EMBO J 18:4766–4778
19. Wu S, Tong L (2010) Differential signaling circuits in regulation of ultraviolet C light-induced early- and late-phase activation of NF-kappaB. Photochem Photobiol 86:995–999
20. Muthusamy V, Piva TJ (2010) The UV response of the skin: a review of the MAPK, NFkappaB and TNFalpha signal transduction pathways. Arch Dermatol Res 302:5–17
21. Duvoix A, Blasius R, Delhalle S, Schnekenburger M, Morceau F, Henry E, Dicato M, Diederich M (2005) Chemopreventive and therapeutic effects of curcumin. Cancer Lett 223:181–190
22. Duvoix A, Morceau F, Delhalle S, Schmitz M, Schnekenburger M, Galteau MM, Dicato M, Diederich M (2003) Induction of apoptosis by curcumin: mediation by glutathione S-transferase P1–1 inhibition. Biochem Pharmacol 66:1475–1483
23. Reuter S, Schnekenburger M, Cristofanon S, Buck I, Teiten MH, Daubeuf S, Eifes S, Dicato M, Aggarwal BB, Visvikis A, Diederich M (2009) Tumor necrosis factor alpha induces gamma-glutamyltransferase expression via nuclear factor-kappaB in cooperation with Sp1. Biochem Pharmacol 77:397–411
24. Duvoix A, Delhalle S, Blasius R, Schnekenburger M, Morceau F, Fougere M, Henry E, Galteau MM, Dicato M, Diederich M (2004) Effect of chemopreventive agents on glutathione S-transferase P1–1 gene expression mechanisms via activating protein 1 and nuclear factor kappaB inhibition. Biochem Pharmacol 68:1101–1111
25. Folmer F, Blasius R, Morceau F, Tabudravu J, Dicato M, Jaspars M, Diederich M (2006) Inhibition of TNFalpha-induced activation of nuclear factor kappaB by kava (Piper methysticum) derivatives. Biochem Pharmacol 71:1206–1218

26. Folmer F, Harrison WT, Tabudravu JN, Jaspars M, Aalbersberg W, Feussner K, Wright AD, Dicato M, Diederich M (2008) NF-kappaB-inhibiting naphthopyrones from the Fijian echinoderm Comanthus parvicirrus. J Nat Prod 71:106–111
27. Juncker T, Schumacher M, Dicato M, Diederich M (2009) UNBS1450 from Calotropis procera as a regulator of signaling pathways involved in proliferation and cell death. Biochem Pharmacol 78:1–10
28. Juncker T, Cerella C, Teiten MH, Morceau F, Schumacher M, Ghelfi J, Gaascht F, Schnekenburger M, Henry E, Dicato M, Diederich M (2011) UNBS1450, a steroid cardiac glycoside inducing apoptotic cell death in human leukemia cells. Biochem Pharmacol 81:13–23
29. Schumacher M, Cerella C, Eifes S, Chateauvieux S, Morceau F, Jaspars M, Dicato M, Diederich M (2010) Heteronemin, a spongean sesterterpene, inhibits TNF alpha-induced NF-kappa B activation through proteasome inhibition and induces apoptotic cell death. Biochem Pharmacol 79:610–622
30. Aly AH, Debbab A, Clements C, Edrada-Ebel R, Orlikova B, Diederich M, Wray V, Lin W, Proksch P (2011) NF kappa B inhibitors and antitrypanosomal metabolites from endophytic fungus Penicillium sp. isolated from Limonium tubiflorum. Bioorg Med Chem 19:414–421
31. Orlikova B, Tasdemir D, Golais F, Dicato M, Diederich M (2011) The aromatic ketone 4′-hydroxychalcone inhibits TNFalpha-induced NF-kappaB activation via proteasome inhibition. Biochem Pharmacol 82:620–631
32. Orlikova B, Schnekenburger M, Zloh M, Golais F, Diederich M, Tasdemir D (2012) Natural chalcones as dual inhibitors of HDACs and NF-kappaB. Oncol Rep 28(3):797
33. Schumacher M, Cerella C, Reuter S, Dicato M, Diederich M (2011) Anti-inflammatory, pro-apoptotic, and anti-proliferative effects of a methanolic neem (Azadirachta indica) leaf extract are mediated via modulation of the nuclear factor-kappaB pathway. Genes Nutr 6:149–160
34. Folmer F, Jaspars M, Dicato M, Diederich M (2008) Marine natural products as targeted modulators of the transcription factor NF-kappaB. Biochem Pharmacol 75:603–617
35. Folmer F, Jaspars M, Solano G, Cristofanon S, Henry E, Tabudravu J, Black K, Green DH, Kupper FC, Aalbersberg W, Feussner K, Dicato M, Diederich M (2009) The inhibition of TNF-alpha-induced NF-kappaB activation by marine natural products. Biochem Pharmacol 78:592–606
36. Teiten MH, Eifes S, Dicato M, Diederich M (2010) Curcumin-the paradigm of a multi-target natural compound with applications in cancer prevention and treatment. Toxins (Basel) 2:128–162
37. Teiten MH, Gaascht F, Eifes S, Dicato M, Diederich M (2010) Chemopreventive potential of curcumin in prostate cancer. Genes Nutr 5:61–74
38. Schumacher M, Kelkel M, Dicato M, Diederich M (2011) A survey of marine natural compounds and their derivatives with anti-cancer activity reported in 2010. Molecules 16:5629–5646
39. Orlikova B, Tasdemir D, Golais F, Dicato M, Diederich M (2011) Dietary chalcones with chemopreventive and chemotherapeutic potential. Genes Nutr 6:125–147
40. Blasius R, Reuter S, Henry E, Dicato M, Diederich M (2006) Curcumin regulates signal transducer and activator of transcription (STAT) expression in K562 cells. Biochem Pharmacol 72:1547–1554
41. Aggarwal BB, Kunnumakkara AB, Harikumar KB, Gupta SR, Tharakan ST, Koca C, Dey S, Sung B (2009) Signal transducer and activator of transcription-3, inflammation, and cancer: how intimate is the relationship? Ann NY Acad Sci 1171:59–76
42. Sobolewski C, Cerella C, Dicato M, Ghibelli L, Diederich M (2010) The role of cyclooxygenase-2 in cell proliferation and cell death in human malignancies. Int J Cell Biol 2010:215158

43. Cerella C, Sobolewski C, Dicato M, Diederich M (2010) Targeting COX-2 expression by natural compounds: a promising alternative strategy to synthetic COX-2 inhibitors for cancer chemoprevention and therapy. Biochem Pharmacol 80:1801–1815
44. Zhai S, Senderowicz AM, Sausville EA, Figg WD (2002) Flavopiridol, a novel cyclin-dependent kinase inhibitor, in clinical development. Ann Pharmacother 36:905–911
45. Carlson BA, Dubay MM, Sausville EA, Brizuela L, Worland PJ (1996) Flavopiridol induces G1 arrest with inhibition of cyclin-dependent kinase (CDK) 2 and CDK4 in human breast carcinoma cells. Cancer Res 56:2973–2978
46. da Rocha AB, Lopes RM, Schwartsmann G (2001) Natural products in anticancer therapy. Curr Opin Pharmacol 1:364–369
47. Nobili S, Lippi D, Witort E, Donnini M, Bausi L, Mini E, Capaccioli S (2009) Natural compounds for cancer treatment and prevention. Pharmacol Res 59:365–378
48. Abdel-Mageed WM, Milne BF, Wagner M, Schumacher M, Sandor P, Pathom-aree W, Goodfellow M, Bull AT, Horikoshi K, Ebel R, Diederich M, Fiedler HP, Jaspars M (2010) Dermacozines, a new phenazine family from deep-sea dermacocci isolated from a Mariana trench sediment. Org Biomol Chem 8:2352–2362
49. Folmer F, Jaspars M, Schumacher M, Dicato M, Diederich M (2010) Marine natural products targeting phospholipases A2. Biochem Pharmacol 80:1793–1800
50. Rateb ME, Houssen WE, Schumacher M, Harrison WT, Diederich M, Ebel R, Jaspars M (2009) Bioactive diterpene derivatives from the marine sponge Spongionella sp. J Nat Prod 72:1471–1476
51. Teiten MH, Gaascht F, Dicato M, Diederich M (2012) Targeting the wingless signaling pathway with natural compounds as chemopreventive or chemotherapeutic agents. Curr Pharm Biotechnol 13:245–254
52. Ahuja D, Vera MD, SirDeshpande BV, Morimoto H, Williams PG, Joullie MM, Toogood PL (2000) Inhibition of protein synthesis by didemnin B: how EF-1 alpha mediates inhibition of translocation. Biochemistry 39:4339–4346
53. Grubb DR, Wolvetang EJ, Lawen A (1995) Didemnin B induces cell death by apoptosis: the fastest induction of apoptosis ever described. Biochem Biophys Res Commun 215:1130–1136
54. Bai R, Friedman SJ, Pettit GR, Hamel E (1992) Dolastatin 15, a potent antimitotic depsipeptide derived from Dolabella auricularia. Interaction with tubulin and effects of cellular microtubules. Biochem Pharmacol 43:2637–2645
55. Wall NR, Mohammad RM, Reddy KB, Al-Katib AM (2000) Bryostatin 1 induces ubiquitination and proteasome degradation of Bcl-2 in the human acute lymphoblastic leukemia cell line, Reh. Int J Mol Med 5:165–171
56. Geerts AM, Vanheule E, Van Vlierberghe H, Leybaert L, Van Steenkiste C, De Vos M, Colle I (2008) Rapamycin prevents mesenteric neo-angiogenesis and reduces splanchnic blood flow in portal hypertensive mice. Hepatology Res Official J Jpn Soc Hepatology 38:1130–1139
57. Nakanishi S, Kakita S, Takahashi I, Kawahara K, Tsukuda E, Sano T, Yamada K, Yoshida M, Kase H, Matsuda Y et al (1992) Wortmannin, a microbial product inhibitor of myosin light chain kinase. J Biol Chem 267:2157–2163
58. Liu L, Hudgins WR, Shack S, Yin MQ, Samid D (1995) Cinnamic acid: a natural product with potential use in cancer intervention. Int J Cancer 62:345–350
59. Ekmekcioglu C, Feyertag J, Marktl W (1998) Cinnamic acid inhibits proliferation and modulates brush border membrane enzyme activities in Caco-2 cells. Cancer Lett 128:137–144
60. Ullah MF, Khan MW (2008) Food as medicine: potential therapeutic tendencies of plant derived polyphenolic compounds. Asian Pac J Cancer Prev 9:187–195
61. Tapiero H, Tew KD, Ba GN, Mathe G (2002) Polyphenols: do they play a role in the prevention of human pathologies? Biomed Pharmacother 56:200–207
62. Di Carlo G, Mascolo N, Izzo AA, Capasso F (1999) Flavonoids: old and new aspects of a class of natural therapeutic drugs. Life Sci 65:337–353

63. Cabrera M, Simoens M, Falchi G, Lavaggi ML, Piro OE, Castellano EE, Vidal A, Azqueta A, Monge A, de Cerain AL, Sagrera G, Seoane G, Cerecetto H, Gonzalez M (2007) Synthetic chalcones, flavanones, and flavones as antitumoral agents: biological evaluation and structure-activity relationships. Bioorg Med Chem 15:3356–3367
64. De Vincenzo R, Scambia G, Benedetti Panici P, Ranelletti FO, Bonanno G, Ercoli A, Delle Monache F, Ferrari F, Piantelli M, Mancuso S (1995) Effect of synthetic and naturally occurring chalcones on ovarian cancer cell growth: structure-activity relationships. Anticancer Drug Des 10:481–490
65. Jin YL, Jin XY, Jin F, Sohn DH, Kim HS (2008) Structure activity relationship studies of anti-inflammatory TMMC derivatives: 4-dimethylamino group on the B ring responsible for lowering the potency. Arch Pharm Res 31:1145–1152
66. Loa J, Chow P, Zhang K (2009) Studies of structure-activity relationship on plant polyphenol-induced suppression of human liver cancer cells. Cancer Chemother Pharmacol 63:1007–1016
67. Srinivasan B, Johnson TE, Lad R, Xing C (2009) Structure-activity relationship studies of chalcone leading to 3-hydroxy-4,3′,4′,5′-tetramethoxychalcone and its analogues as potent nuclear factor kappaB inhibitors and their anticancer activities. J Med Chem 52:7228–7235
68. Yu Z, Shah DM (2007) Curcumin down-regulates Ets-1 and Bcl-2 expression in human endometrial carcinoma HEC-1-A cells. Gynecol Oncol 106:541–548
69. Kundu JK, Chun KS, Kim SO, Surh YJ (2004) Resveratrol inhibits phorbol ester-induced cyclooxygenase-2 expression in mouse skin: MAPKs and AP-1 as potential molecular targets. BioFactors 21:33–39
70. Peng G, Dixon DA, Muga SJ, Smith TJ, Wargovich MJ (2006) Green tea polyphenol (-)-epigallocatechin-3-gallate inhibits cyclooxygenase-2 expression in colon carcinogenesis. Mol Carcinog 45:309–319
71. Shrotriya S, Kundu JK, Na HK, Surh YJ (2010) Diallyl trisulfide inhibits phorbol ester-induced tumor promotion, activation of AP-1, and expression of COX-2 in mouse skin by blocking JNK and Akt signaling. Cancer Res 70:1932–1940
72. Chiou WF, Don MJ, Liao JF, Wei BL (2011) Psoralidin inhibits LPS-induced iNOS expression via repressing Syk-mediated activation of PI3K-IKK-IκB signaling pathways. Eur J Pharmacol 650(1):102–109
73. Kundu JK, Shin YK, Surh YJ (2006) Resveratrol modulates phorbol ester-induced pro-inflammatory signal transduction pathways in mouse skin in vivo: NF-kappaB and AP-1 as prime targets. Biochem Pharmacol 72:1506–1515
74. Crespo I, Garcia-Mediavilla MV, Gutierrez B, Sanchez-Campos S, Tunon MJ, Gonzalez-Gallego J (2008) A comparison of the effects of kaempferol and quercetin on cytokine-induced pro-inflammatory status of cultured human endothelial cells. Br J Nutr 100:968–976
75. Aggarwal BB, Shishodia S (2006) Molecular targets of dietary agents for prevention and therapy of cancer. Biochem Pharmacol 71:1397–1421
76. Sun M, Estrov Z, Ji Y, Coombes KR, Harris DH, Kurzrock R (2008) Curcumin (diferuloylmethane) alters the expression profiles of microRNAs in human pancreatic cancer cells. Mol Cancer Ther 7:464–473
77. Fernau NS, Fugmann D, Leyendecker M, Reimann K, Grether-Beck S, Galban S, Ale-Agha N, Krutmann J, Klotz LO (2010) Role of HuR and p38MAPK in ultraviolet B-induced post-transcriptional regulation of COX-2 expression in the human keratinocyte cell line HaCaT. J Biol Chem 285:3896–3904
78. Sandler H, Stoecklin G (2008) Control of mRNA decay by phosphorylation of tristetraprolin. Biochem Soc Trans 36:491–496
79. Cho JW, Park K, Kweon GR, Jang BC, Baek WK, Suh MH, et al. (2005) Curcumin inhibits the expression of COX-2 in UVB-irradiated human keratinocyte (HaCaT) by inhibiting activation of AP-1: p38 MAP kinase and JNK a potential upstream targets. Exp Mol Med 37:186–192

80. Tong X, Van Dross RT, Abu-Yousif A, Morrison AR, Pelling JC (2007) Apigenin prevents UVB-induced cyclooxygenase 2 expression: coupled mRNA stabilization and translational inhibition. Mol Cell Biol 27:283–296
81. Sanduja S, Blanco FF, Dixon DA (2011) The roles of TTP and BRF proteins in regulated mRNA decay. Wiley Interdisciplinary Rev RNA 2:42–57
82. Bhatia HS, Candelario-Jalil E, de Oliveira AC, Olajide OA, Martinez-Sanchez G, Fiebich BL (2008) Mangiferin inhibits cyclooxygenase-2 expression and prostaglandin E2 production in activated rat microglial cells. Arch Biochem Biophys 477:253–258
83. Bommareddy A, Zhang X, Schrader D, Kaushik RS, Zeman D, Matthees DP, Dwivedi C (2009) Effects of dietary flaxseed on intestinal tumorigenesis in Apc(Min) mouse. Nutr Cancer 61:276–283
84. Fradet V, Cheng I, Casey G, Witte JS (2009) Dietary omega-3 fatty acids, cyclooxygenase-2 genetic variation, and aggressive prostate cancer risk. Clin Cancer Res Official J Am Assoc Cancer Res 15:2559–2566
85. Lee CY, Sit WH, Fan ST, Man K, Jor IW,Wong LL, et al. (2010) The cell cycle effects of docosahexaenoic acid on human metastatic hepatocellular carcinoma proliferation. Int J Oncol 36:991–998
86. Jin XJ, Kim EJ, Oh IK, Kim YK, Park CH, Chung JH (2010) Prevention of UV-induced skin damages by 11,14,17-eicosatrienoic acid in hairless mice in vivo. J Korean Med Sci 25:930–937
87. Gluszko P, Bielinska A (2009) Non-steroidal anti-inflammatory drugs and the risk of cardiovascular diseases: are we going to see the revival of cyclooxygenase-2 selective inhibitors? Pol Arch Med Wewn 119:231–235
88. Jang BC, Sung SH, Park JG, Park JW, Bae JH, Shin DH, Park GY, Han SB, Suh SI (2007) Glucosamine hydrochloride specifically inhibits COX-2 by preventing COX-2 N-glycosylation and by increasing COX-2 protein turnover in a proteasome-dependent manner. J Biol Chem 282:27622–27632

Selenyum ve Kanser: Unutulmaması Gereken Bir Hikaye-Genom Biliminden Örnekler

Catherine Méplan ve John Hesketh

Özet

Selenyum (Se) selenoproteinlerde bulunan önemli bir mikrobesindir. Epidemiyolojik çalışmalarda düşük Se tüketiminin çeşitli kanser türleri ile ilişkili olduğu gösterilmiş olsa da, Se takviyesi uygulanan çalışmaların sonuçları kafa karıştırıcıdır. Bu çelişkili sonuçlar başlangıçtaki Se düzeyine ve/veya genetik faktörlere bağlı olabilir. Ayrıca Se alımı, selenoproteinler ve karsinogenez arasındaki mekanik bağlantılar da net değildir. Bu bölümde selenoprotein genlerindeki tek nükleotid polimorfizmlerinin (SNP) fonksiyonel önemini ve kolorektal, prostat, akciğer ve meme kanseri riskini etkileyip etkilemediklerini tartışacağız. Hem in vitro hem de in vivo çalışmalarda glutatyon peroksidaz 1 ve 4, selenoprotein S ve 15-kDa selenoprotein kodlayan genlerdeki SNP sayısının az olmasının fonksiyonel sonuçları olduğu bildirilmiştir. Vaka kontrol çalışmalarında elde edilen veriler glutatyon peroksidaz 1'de bulun kodon 198'deki bir varyantın selenyumun kanser riski üzerindeki statüsünü değiştirdiğini göstermiştir. Bu varyant ayrıca meme ve akciğer kanseri riski ile de ilişkilidir. Glutatyon peroksidaz 4, selenoprotein P ve selenoprotein S de kolorektal kanseri riskini etkileyebilir. Ayrıca mikrodizi (transkriptomik) çalışmalarının sonuçlarında Se statüsünü gösteren özgün biyomarkerler ve özgün aşağı yönlü Se hedefli yolaklar tanımlanmıştır. Bu çalışma gelecekteki girişim çalışmalarında başlangıç Se statüsünün ve genetik faktörlerin göz önüne alınması gerektiğini vurgulamaktadır.

C. Méplan · J. Hesketh (✉)
Institute for Cell and Molecular Biosciences and Human Nutrition Research Centre,
Newcastle University, Newcastle-upon-Tyne, NE2 4HH, UK
e-mail: j.e.hesketh@ncl.ac.uk

C. Méplan
e-mail: Catherine.Meplan@newcastle.ac.uk

V. Zappia et al. (eds.), *Advances in Nutrition and Cancer,*
Cancer Treatment and Research 159, DOI: 10.1007/978-3-642-38007-5_9,
© Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2014

Anahtar Kelimeler

SNP • Transkriptomikler • Selenoproteinler • Mikrobesin • Kolorektal Kanser • Prostat Kanseri

Kısaltmalar

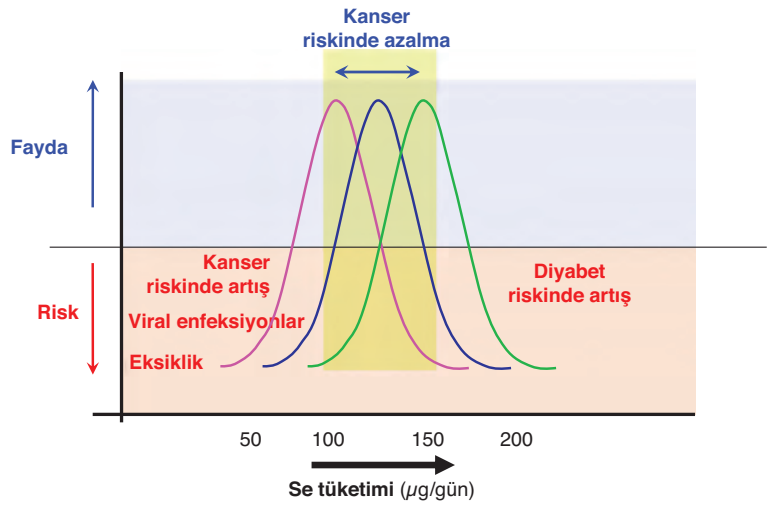
SNP	Tek nükleotid polimorfizmleri
GPX	Glutatyon peroksidaz
TR	Tioredoksin redüktaz
Sec	Selenosistein
SECIS	Selenosistein eklenme sekansı
Sel	Selenoprotein
SePP	Selenoprotein P
CRC	Kolorektal kanser
GWAS	Genomun tamamında ilişkilendirme çalışmaları
mTOR	Memeli rapamisin hedefi

İçindekiler

1 Giriş ... 146
2 Selenoproteinler ... 149
2.1 Selenoprotein Hiyerarşisi ve Etkileri ... 151
3 Selenoprotein Gen Varyantları ... 151
4 Selenoproteinlerin ve Kanserin Genetik Epidemiyolojisi ... 153
4.1 Kolon Kanseri ... 153
4.2 Prostat Kanseri ... 155
4.3 Meme Kanseri ... 155
4.4 Akciğer Kanseri ... 156
4.5 Etkileri ... 156
5 Genom Çalışmaları ... 158
5.1 Diyetle Alınan Selenyumun Transkriptom Üzerindeki Etkisi ... 158
5.2 Kolonda Selenoprotein Fonksiyonu ... 160
6 Sonuç ve Gelecekteki Çalışmalar ... 161
Referanslar ... 162

1 Giriş

Selenyum (Se) insan ve hayvan sağlığı için gerekli önemli bir mikrobesindir [1, 2]. Diyet Se alımı ekinlerin büyüdükleri topraktaki Se konsantrasyonuna ve hayvanların beslenme şekli ile yüksek oranda ilişkilidir. Sonuç olarak diyetle Se tüketimi sonucu oluşan Se



Şekil 1 Selenyum tüketimi ile ilişkili fayda ve riskler. Bu grafik Se alımı ile kanser riskinin artması veya azalması arasında bir ilişkinin varlığını önermektedir. Sarı renk ile vurgulanan pencere daha düşük kanser riski ile ilişkili Se alım düzeylerini göstermektedir. Se alımı ile kanser riski arasındaki potansiyel varyasyonlar üç eğri ile gösterilmektedir. Risk genetik faktörler, yaş ve risk faktörlerinden (örn. alkol alımını da içeren çevresel strese maruziyet) etkilenir.

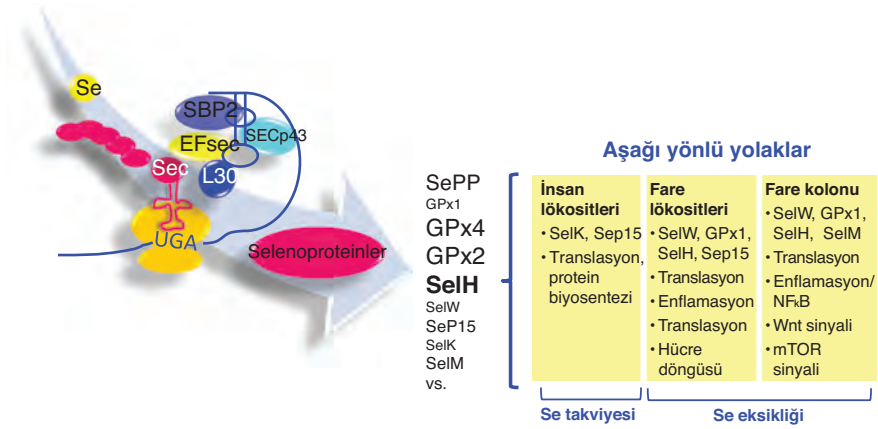
statüsü dünya genelinde büyük farklılıklar göstermektedir. Selenyum eksikliği toprak Se içeriğinin düşük olduğu bölgelerde lokal gıdalarla beslenen toplumlarda görülebilir. Örneğin Çin'in bazı bölgelerinde görülen çok düşük Se alımı (<10 μg/gün) Keshan hastalığı adı verilen viral miyokarditin oluşumuna katkı yapan ana faktörlerdendir. Ancak bu tür ağır eksiklikler nadir görülür. Ancak suboptimal Se alımı daha sık görülür. Örneğin Avrupa'nın bazı bölgelerindeki Se alımının 30-50 μg/gün olduğu tahmin edilmektedir. Kadın ve erkeklerdeki günlük alımın referans değeri ise sırasıyla 75 ve 60 μg/gün'dür. Yeni Zelanda ve Avustralya'nın bazı bölgelerinde de benzer suboptimal alımlar söz konusudur. Bu nedenle Se alımı insanların çoğunda bir hastalığa neden olacak kadar düşük düzeyde olmasa da optimal sağlık için gereken düzeyde olmayabilir [1–3].

Se statüsünün bazı kanser riskleri ile ilişkili olabileceğini ve ABD'deki kanser mortalitesinin ekinlerdeki Se düzeyi yüksek olan yerlerde düşük, düşük olan yerlerde yüksek olduğunu gösteren ilk epidemiyolojik çalışmanın üzerinden yaklaşık 40 yıldan fazla süre geçmiştir [4]. Çin'de ve dünya genelinde de benzer sonuçlar bildirilmiş olmasına ve düşük serum Se düzeylerinin artan kanser riskinin (özellikle gastrointestinal ve prostat kanserleri için) teşhis öncesi göstergesi olduğu bildirilmiş olmasına rağmen (bkz. [3]), daha sonra yapılan çalışmalarda Se statüsü ile kanser riski arasındaki ilişki hakkında çelişkili ve tutarsız bulgulara ulaşılmıştır (incelemeler için bkz. [2, 3]). Bu tutarsızlıklara rağmen düşük ve suboptimal Se alımının kansere karşı olan duyarlılığı artırıp artırmadığı hala büyük ilgi çeken bir konudur. Se ve kanser riski ile ilgili yapılan çeşitli Se takviye çalışmalarının ilk sonuçları bu konudaki araştırmalara ciddi anlamda hız kazandırmıştır. ABD'de yapılan

bir Se takviye çalışmasında 200 µg/gün dozunda selenize maya şeklinde Se kullanımının, çalışma öncesindeki plazma Se düzeyleri en düşük üçte birlik dilimde olanlardaki prostat ve kolorektal kanserleri azalttığı bulunmuştur [5]. Çin'de yapılan bir başka çalışmada 50 µg/gün selenize maya ilavesinin özofagus kanserinin mortalitesini azalttığı bulunmuştur [6]. Se tüketim artışının kanser riski üzerindeki bu belirgin faydalarına rağmen bir dizi vaka kontrol çalışmasında Se statüsü ile kanser riski arasında farklı ilişkiler tespit edilmesi yeniden değerlendirme ihtiyacı doğurmuştur [3]. Güncel SELECT [7, 8] çalışmasında Se ilavesi ile prostat kanserinde azalma görülmemesi ve rölatif olarak yüksek Se tüketimi ile diyabet riskinde artış ihtimali bu sonuçlardan bazılarıdır [9]. Şekil 1'de görüldüğü üzere faydalı olabilen plazma Se düzeyleri ile hastalık riskini artıran daha yüksek veya düşük Se düzeyleri arasında dar bir pencere olduğu aşikardır. Bu nedenle Se tüketimindeki artışın kanser riskini azaltmada etkili olup olmadığı halen tartışılmaktadır.

Artan Se alımının antikanser etkileri ile ilave Se uygulanan çalışmalardan elde edilen çelişkili sonuçların doğurduğu tartışmada üç faktör önemlidir. Birincisi farklı çalışmaların sonuçlarının başlangıçtaki Se düzeylerine göre farklılıklar gösterebilmesidir; bu bağlamda dikkat çekici olan ABD'de gerçekleştirilen iki çalışmanın farklı sonuçlarıdır. SELECT çalışmasındaki başlangıç Se düzeyleri popülasyondaki en düşük üçte birlik dilimdeki Se düzeylerinden daha yüksekti. Daha önce yapılan bir çalışmada ise Se kullanımının kanser riskini azalttığı bulunmuştu [5, 7, 8]. Bu nedenle SELECT çalışmasında (NPC çalışmasının aksine) başlangıç Se düzeylerinin prostat kanserinden korunmak için gereken düzeylere zaten yakın olması da mümkündür. İkinci nokta da insan genetik varyasyonları hakkındaki bilgilerin artışının bireysel arasındaki farklılıkların nasıl oluştuğunun anlaşılmasına yol açmasıdır. Bireylerin besin öğelerini metabolize etmelerinde rol oynayan genetik varyasyonlar diyet-hastalık riski arasındaki ilişkiyi birçok durumda etkileyerek hastalıklara karşı duyarlılıkların farklı olmasına yol açmaktadır; Se metabolizması ile ilişkili genlerde tek nükleotid polimorfizmleri (SNP) mevcuttur [10, 11]. Şekil 1'de bu tür varyasyonların diyetle alınan Se'ye verilen cevabı ve Se alımının faydalı olduğu düzeyleri etkileyebileceği şematik olarak görülmektedir. Üçüncüsü de prostat ve kolon gibi hedef dokularda farklı selenoproteinlerin mekanik etkilerinin bilinmemesidir. Bu nedenle düşük diyet Se alımının fizyolojik etkileri ile ilgili bilgiler kısıtlıdır. Şekil 1 kişisel risk-fayda pencelerinin tanımlanmasının önemini vurgulamaktadır [12]. Se alımı, Se metabolizmasını değiştiren genetik faktörler, selenoprotein fonksiyonu/ekspresyonu, hastalık riskinin derecesi (örn. çevresel karsinojenlere maruziyetin göstergesidir) ve yaşlanan popülasyondaki Se ihtiyacında gözlenen değişimlerin [13] bir popülasyonda Se alımının risk-fayda penceresi tanımlanmadan önce dikkate alınmalıdır.

Genom bilimindeki ilerlemeler yukarıdaki üç maddeden son ikisinin hedeflenmesini sağlayan yöntemler ve yaklaşımlar sunmaktadır: Genotipleme teknikleri genetik faktörlerin Se metabolizması üzerindeki etkilerini ve hastalık riski ile ilişkisini inceleme fırsatı verirken, mikrodizi ve proteomik yaklaşımlar da selenoprotein fonksiyonunun detaylı olarak araştırılmasına olanak tanımaktadır. Bu bölümde bu tür genomik yaklaşımların Se, selenoproteinler ve kanser riski arasındaki ilişkinin tanımlanmasına nasıl katkı yaptığını tartışacağız.



Şekil 2 Selenoproteinlerin sentezi ve hiyerarşisi ile Se tüketimindeki değişimlerin aşağı yönlü yolaklar üzerindeki etkilerini illüstre eden şematik diyagram. Şema Se'nin bazı selenoproteinlere, spesifik proteinlerin selenoproteinlerin 3′ translasyona uğramamış selenoprotein mRNA'sına bağlanmasını sağlayan bir mekanizma ile nasıl entegre olduğunun illüstrasyonudur. Listelenen selenoproteinlerin boyut be fontları selenoprotein sentez hiyerarşisindeki pozisyonlarını illüstre etmektedir (font büyüdükçe veya koyulaştıkça hiyerarşideki yeri yükselir). Selenoprotein aktivitesindeki değişimler aşağı yönlü yolakları etkiler. Deneysel olarak etkilendiği bulunan yolakları gölgeli kutucuklar sembolize etmektedir.

2 Selenoproteinler

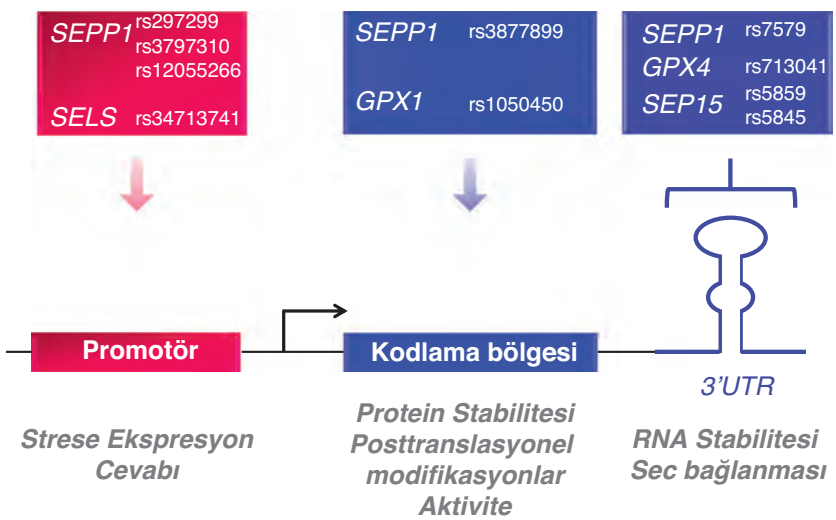
İnsandan bakterilere kadar birçok organizmaların gıdalar ile aldığı Se, selenoproteinler adı verilen bir dizi Se içeren proteinler ile birleşir. Se'nin fizyolojik fonksiyonlarının bu selenoproteinler yoluyla gerçekleştiği düşünülmektedir [1, 14, 15]. SE insanlardaki 25 selenoproteinin tümünün içinde amino asit selenosistein (SEC) halinde bulunur [14]. SEC uygun mRNA'ların translasyonu sırasında bu proteinlerin UGA kodonlarına bağlanır. Bu süreç UGA kodonlarının normal fonksiyonları olan translasyonu sona erdirici STOP kodon sinyali üretmeleri yerine, SEC bağlantısını sağlamak amacıyla yeniden kodlamalarını içerir. Şekil 2 yeniden kodlamaya izin veren özgün biyomekanik mekanizmanın şematik illüstrasyonudur: İçerdiği selenosisteil-tRNA (tRNA-Sec), 3′ translasyona uğramamış bölgedeki (3′ UTR) kök-sap yapısı (SEC eklenme sekansı: SECIS) ve SECIS yapısına bağlanan spesifik proteinler, UGA kodonunun tRNA-Sec'i tanımasına izin verirler. tRNA selenid, ATP ve seril-tRNA'dan sentezlenir.

Sec 5.47'lik bir pKa değerine sahiptir (sisteinden daha düşüktür). Aktif bölgede bulunan Selenoproteinlerin bir çoğunun oksiredüktaz aktivitesine katkı yaptığı düşünülmektedir. Birçok selenoproteinin antioksidan veya redoks fonksiyonları vardır. Glutation peroksidazlar (GPx), GPx1 ve GPx2'nin hücreleri reaktif oksijen türlerin koruduğu gösterilmiştir. GPx3'ün ekstraselüler antioksidan etkiye, GPx4'ün de hücreleri lipid peroksidin etkilerinden korumayı da içeren kompleks bir dizi fonksiyona sahip olduğu öne sürülmüştür. Üç farklı tioredoksin redüktazın (TR1-3) oksidoredüktaz etkileri vardır.

Ancak bu konudaki fonksiyonları sadece redoks durumunun sürdürülmesini değil, aynı zamanda ribonükleotidlerin deoksiribonükleotidlere de dönüştürülmesini kapsamaktadır. İodotironin deiodinazlar tiroid hormon metabolizmasındaki oksiredüktaz reaksiyonlarını gerçekleştirir.

Daha az tanımlanmış selenoproteinlerin aktivitelerinin oksidoredüktaz özelliğe sahip oldukları son zamanlarda anlaşılmıştır. Örneğin selenoproteinler H,L ve W'nun (SelH, SelL, SelT ve SelW) ve 15-kDa selenoproteinin tioredoksin benzeri redoks kıvrımı içerdikleri yapısal çalışmalarda gösterilmiştir [16, 17]. Ek olarak endoplazmik retikulum komponentleri olan SelS, SelN, 15-kDa selenoprotein, SelK ve SelM'nin redoks balansı ve katlanmamış protein cevabında rol oynadıkları düşünülmektedir [13, 16–18]. Selenoproteinlerin fonksiyonları ile ilgili bu ipuçlarına rağmen biyokimyasal rolleri hakkındaki detaylar hala sınırlıdır.

Selenoprotein P (SePP) çok sayıda Sec (insanda 10 adet) içeren özgün bir selenoproteindir. Salgılanan bir proteindir ve total plazma Se içeriğinin %50'ye kadar olan kısmını oluşturur. İki tanesi yaklaşık 50 ve 60 kDa moleküler ağırlığı olan multipl izoformlara sahiptir [19, 20]. SePP faredeki beyin ve testis gibi ekstrahepatik dokulardaki Se içeriğinin korunabilmesi için çok önemlidir [21, 22]. Bu özellik SePP'nin majör fonksiyonunun karaciğerden diğer dokulara Se sağlanması olduğunun öne sürülmesine neden olmuştur. Ancak, SePP'nin aynı zamanda antioksidan olduğu da gösterilmiştir. Bu özellik SePP'nin karaciğerden yüksek oranda salgılanıyor olmasına rağmen aynı zamanda kolonu de içeren farklı hücre tiplerinden de salgılanmasının göstergesi olabilir [19, 23].



Şekil 3 Selenoprotein genlerindeki fonksiyonel SNP'ler Çeşitli selenoprotein genlerinde fonksiyonel tek nükleotid polimorfizmleri bulunmuştur. Şekilde rs numaraları ve gen adları ile tanımlanmışlardır. SNP'lerin farklı bölgelerdeki ilgili mRNA ve selenoprotein ekspresyonu üzerindeki potansiyel etkileri gösterilmiştir.

2.1 Selenoprotein Hiyerarşisi ve Etkileri

Selenoprotein biyosentezi için diyetle Se alımı şarttır ve selenoproteine bağlı olarak sentezlerini farklı bir boyuta regüle eder. Gerçekten de farklı selenoproteinlerin sentezlerinin düşük Se alımından farklı derecede etkilendiğini gösteren çok güçlü kanıtlar mevcuttur [14, 24, 25]. Bu bulgu "selenoprotein hiyerarşisi" konseptini doğurmuştur. Se alımının bazı selenoproteinlerin sentezini diğerlerinden daha fazla etkilediğini öneren bir konsepttir: Örneğin GPx1 proteini ve mRNA seviyeleri birçok dokudaki Se eksikliğine GPx4'den daha fazla duyarlıdır. Ayrıca bu hiyerarşideki selenoproteinlerin rölatif pozisyonları dokular arasında farklılık gösterir. Bu durum Se tedarikine cevap veren selenoproteinlerin çeşitli dokulardaki cevap paternlerlerinde farklılıklara yol açar. Örneğin sıçandaki GPx4 karaciğerdeki Se azalmasına kalpteki azalmadan daha fazla duyarlıdır. Tiroiddeki deiodinaz aktivitesi de Se eksikliğine karaciğerdekine göre daha az duyarlıdır [24]. mRNA düzeylerine göre GPx1, SelW, SelH ve SelM kolon hücrelerindeki Se tedarik miktarına, GPx1 ve SeIK'nın da lenfositlerdeki Se miktarına en fazla duyarlı olduğu görülmektedir [26, 27]. Se proteinlerinin bağlanma mekaniği ile farklı selenoprotein 3′ UTR'si arasındaki iletişimlerin hiyerarşide önemli olduğunu gösteren kanıtlar mevcuttur (örn. [28, 29]). Doku spesifik selenoprotein hiyerarşisine göre düşük Se tedarik miktarının etkileri dokular arasında farklılıklar göstermektedir. Bu durumun farklı selenoproteinlerin tümörijenik proses ve çeşitli dokulardaki koruma mekanizmaları ile ilgisi olabilir.

Her selenoproteinin aktivitelerindeki değişimlerin her protein için spesifik olan aşağı yönlü metabolik etkilere yol açması beklenebilir. Düşük Se alımının çeşitli selenoproteinlerin alımını etkilemesi nedeniyle Se azalmasının bir dizi aşağı yönlü hedefi etkilemesi beklenebilir. Bu mekanizma şekil 2'de şematize edilmiştir. Genomik teknolojilerin ilerlemesi (özellikle mikrodizi) Se alımının aşağı yönlü moleküler yolakların paternleri üzerinde yol açtığı değişimlerin sonuçlarının entegrasyonuna izin vermektedir. Bu selenoprotein sentez paterninin (devamında ilgili proteinin net aktivitesini etkiler) Se tedarik miktarına göre dokuya spesifik hiyerarşik değişim göstermesi nedeniyle Se ile özel olarak ilişkilidir. Bu nedenle aşağı yönlü metabolik etkilerin dokulara göre farklılık göstermesine de yol açar.

3 Selenoprotein Gen Varyantları

SNP gen ekspresyonunda ve devamında proteindeki amino asitleri değiştirerek veya ekspresyonun regülasyonunu etkileyerek protein aktivitesinde fonksiyonel etkilere yol açabilir Ekspresyonun regülasyonunun etkilenmesi SNP gen promotör bölgelerinde meydana gelir. Selenoprotein genlerindeki 3′ UTR bölgelerindeki gen varyantlarının SECIS ve 3′UTR protein etkileşimlerinin Sec bağlanmasındaki anahtar rolleri nedeniyle ekspresyonu etkileme potansiyeli vardır. Gerçekten de selenoprotein genlerindeki, 3'UTR, promotör ve protein kodlayan bölgelerdeki gen alanlarında bulunan SNP'lerin

Se metabolizmasını etkiledikleri bildirilmiştir [10, 13]. Bu mekanizma Şekil 3'de illüstre edilmektedir.

TNF-α, interlökinler, SELS geninin (rs34713741) promotöründeki -105 pozisyonundaki SNP'nin enflamatuar markerler düzeyindeki etkilerinden kaynaklanan fonksiyonel sonuçları olduğu gösterilmiştir [30]. Ayrıca plazma glutatyon peroksidaz (GPX3) aktivitesinin de çeşitli varyantlardan etkilendiği bildirilmiştir [31]. SEPP1 geninin promotöründe, bir varyantında 3 TC tekrarı, diğerinde de 5 TC tekrarı içeren kompleks tekrarlanan sekans (TC)n-T17 bölgesinde bir polimorfizm (SNP değil) belirlenmiştir [23]. Bu motif aktive transkripsiyon faktörünün farzedilen bağlanma bölgesi olan aktive T hücrelerinin nükleer faktörünü (NFAT) değiştirebilir. Ancak bu gözlem henüz konfirme edilmemiş olup bir hastalık riski ile bağlantısı da tespit edilmemiştir.

Selenoprotein genlerinin protein kodlama bölgelerindeki varyantların amino asit değişimlerine ve protein fonksiyonunda potansiyel değişimlere yol açtığı bulunmuştur. Örneğin GPx1 genindeki (rs1050450) kodon 198'in tek nükleotidindeki değişimin prolinden lösine kadar değişime yol açarak Leu varyant proteinindeki enzim aktivitesini azalttığı bulunmuştur [32]. Bu varyantın plazma Se ve eritrosit GPx1 aktivitesi arasındaki ilişkiyi etkilediği [33] ve beyaz kan hücrelerindeki GPx1 aktivitesi ile de ilişkili olduğu bildirilmiştir [34]. Bu SNP farklı etnik gruplarda sıklıkla mevcuttur. Ancak lösin varyanti rölatif olarak daha nadirdir (%7-15). Ayrıca bir G/A SNP'nin (rs3877899) kodon 234'de alaninden treoinine kadar amino asit değişimine yol açarak farklı kan hücrelerinin ve plazma selenoprotein aktivitelerinin Se takviyesine verdikleri cevabı etkilediği bildirilmiştir [35]. Ayrıca plazmadaki SePP izoformlarının oranlarını ve GPx4 düzeyinde lenfositle ilişkilerini etkiler [20].

3′ utr'deki selenoprotein gen bölgelerinde fonksiyonel olarak anlamlı çeşitli SNP'ler tanımlanmıştır. GPx4'teki rs713041 C/T alelik varyantlara sahiptir. Her iki varyantta farklı etnik gruplarda rölatif olarak sık miktarda bulunur [29, 36, 37]. Bu SNP ile yapılan ilk çalışmada iki varyantı taşıyan bireylerin lenfosit lökotrin düzeylerinde farklılıklar gözlenmiştir [36]. Sonrasında, SNP'nin fonksiyonel aktivitesi olduğunu göstermeyi amaçlayan in vitro ve in vivo deneyler ile güçlü kanıtlardan oluşan bir veri tabanı oluşmuştur. Örneğin Caco-2 hücre ekstreleri kullanılan RNA-protein bağlama deneylerinde, C varyantı T varyantından daha güçlü bağlanmıştır [29]. Ayrıca iki varyantlı 3'UTR sekanslarının haberci gene bağlanarak Caco-2 hücrelerine transfekte edilmesi sonrasında T ve C-varyantlarının haberci genin ekspresyonunu yönlendirme oranlarında farklılıklar tespit edilmiştir [37]. Bu transfekte hücrelerin klonları T- ve C-varyant transgenlerindeki ekspresyon düzeylerinin benzer olması amacıyla seçildiğinde, GPx1 ve SeIH gibi diğer selenoproteinlerin ekspresyonunu etkileyebilecek iki 3′ utr varyantının aşırı ekspresyonu tespit edilmiştir [38]. SNP'nin insan gönüllülerdeki kan selenoprotein konsantrasyonlarının Se takviyesine olan cevabını etkilediği gösterilmiştir. Bu etki özellikle lenfosit GPx1 protein düzeylerinde ve çalışmanın arınma dönemindeki GPx1:GPx4 protein konsantrasyon oranlarında farklılıklar gösteren T ve C taşıyıcılarında gözlenmiştir [29]. Bu veriler rs713041'nin selenoprotein sentezini, Se bağlanmasında rolü olan bir veya daha fazla protein için T varyantından daha güçlü

yarışan GPX4'teki C-varyant 3′ utr ile birlikte etkilediğini göstermektedir. Mfold kullanılarak yapılan bilgisayar tahminleri SNP'nin SECIS civarındaki 3'UTR'nin sekonder yapısını etkilediğini göstermiştir. Bu nedenle rs713041'nin Sec'in GPx4 3′ utr'deki 3′ utr'ye bağlanma mekanizmasını değiştirerek selenoprotein sentezinin paternini etkilediği hipotezini geliştirdik [29, 37].

Ayrıca SEPP1 genindeki 3′ utr'deki bir SNP'nin (rs7579) anlamlı fonksiyonu olduğu da gösterilmiştir. Bu G/A varyantının insan lenfosit GPx4 ve GPx1, plazma GPx3, tioredoksin redüktaz 1 (TR1) ve eritrosit TR1'in Se takviyesine verdikleri cevabı etkilediği bulunmuştur [35]. SNP, plazma SePP protein düzeylerinin ve izoform paternlerinin Se takviyesine verdiği yanıtı değiştirir [20, 35]. Ayrıca SEP15'de bulunan ve 3'UTR kodlayan gen bölgesinde, pozisyon 811'de (rs5845) bir C/T yedeği ve pozisyon 1125'de (rs5859) bir G/A olmak üzere iki varyantı mevcuttur. Haberci gen deneylerine dayanılarak bu SNP'lerin fonksiyonel olduğu düşünülmektedir [39].

4 Selenoproteinlerin ve Kanserin Genetik Epidemiyolojisi

Bazı selenoproteinlerin meme, prostat, kolorektal ve akciğer kanserlerindeki azalan aktivite/ekspresyonlarını ve bazı selenoprotein lokuslarındaki heterozigositenin sıklıkla kaybını da içeren (LOH) çeşitli kanıtlar selenoproteinlerin kanserin başlangıcı ve progresyonunda bir rolü olduğunu düşündürmektedir.(örn. [40–43]). Bu çalışmalarda selenoprotein aktivite veya konsantrasyonunu azaltan faktörlerin kanser gelişim ve progresyonuna katkı yapabileceği vurgulanmaktadır. Yukarıda da tanımlandığı gibi fonksiyonel polimorfizmlerin, selenoproteinlerin ekspresyon düzeylerini, stabilite ve aktivitelerini modüle ettikleri gösterilmiştir. Bu polimorfizmler ile kanser arasında ilişkiler gözlenmiştir.

4.1 Kolon Kanseri

Bazı rölatif olarak küçük ölçekli çalışmalarda seçilmiş selenoprotein SNP'ler ile kolorektal kanser arasındaki ilişki araştırılmıştır. İskoç popülasyonunda yapılan bir araştırmada (~300 vaka, 189 kontrol) GPx4 genindeki rs713041'in C varyantının taşıyıcısının kolorektal kanser riski ile ilişkili olduğu ancak adenomatöz poliplerde artışa yol açmadığı bulunmuştur [37]. Ancak daha yakın zamanda, bu ilişkinin Kore popülasyonunda replike olmadığı tespit edilmiştir [44]. Buna karşın Çek popülasyonundaki (832 vaka, 705 kontrol) T varyantının kolorektal kanser riskinde artış ile ilişkili olduğu bulunmuştur [45]. Çek ve Kore popülasyonlarında Se statüsü ölçülemediği için Se düzeylerinin bu SNP'nin hastalık riskindeki etkisini değiştirip değiştirmediği değerlendirilememiştir. Ancak kolorektal kanseri olan hastalarda yapılan bir İngiltere çalışmasının [37] ön verilerinde plazma Se düzeyleri ve eritrosit GPx1 aktivitesi ile değerlendirilen Se statüsünün

CC genotipli bireylerde CT veya TT genotipli bireylerden anlamlı olarak daha düşük olduğu bulunmuştur.

Ek olarak yukarıda bahsedilen çalışmalardaki Çek ve Kore'li hastalarda (827 vaka, 727 kontrol) selenoprotein genlerindeki fonksiyonel SNP'lerin genotiplenmesi sonucunda diğer genetik varyantların da kolorektal kanser riskini etkileyebileceği sonucuna varılmıştır [44, 45]. Her iki popülasyondaki SELS'lerin promotör bölgelerindeki SNP'lerin hastalık riskini modüle edebileceği bulgusu kritiktir. rs34713741'in T aleli Çeklerde kolorektal kanser riskinde artış ile (olasılık oranı 1.68) ilişkili bulunurken Koreli kadınlarda ise çok yakındaki ikinci bir varyantın risk artışına yol açtığı tespit edilmiştir (olasılık oranı 2.25). Bu ilişkinin iki farklı popülasyonda replike olması SELS promotöründeki SNP'nin genetik, hayat tarzı ve diyet faktörlerinden bağımsız olarak kolorektal kanser riskini etkilediğini göstermektedir. rs34713741 ilginç biçimde gastrik kanser riski ile de ilişkilidir [46]. Ayrıca Çek popülasyonunda rs4880 (SOD2), rs713041 (GPX4) ve rs960531 (TXNRD2) arasında ve SEPP1 ile SEP15 veya GPx4 [45] arasında gözlenen anlamlı genetik etkileşimler kolon kanserinde multipl selenoproteinlerin rol oynadığını düşündürmektedir. Bu etkileşimler biyolojik olarak GPx4, TR2 ve MnSOD'nin oksidatif strese ve SePP'nin selenoprotein sentezine Se sağlamasına cevap olarak oluşan kombine metabolik etkileşimlerin yansımasıdır. SEPP1 varyantlarının potansiyel önemi Prostat, Akciğer, Kolorektal ve Ovaryum Kanseri Taraması Çalışmasına [47] alınan bireylerin genotiplemeleri ile elde edilen sonuçlarda vurgulanmaktadır. Çalışmada GPx1, GPx2, GPx4;SEPP1 ve tioredoksin redüktaz 1'de (TXNRD1) bulunan 44 işaretli SNP incelenmiştir. SEPP1'deki 4 varyant ve TXNRD1'deki 1 varyantın ileri distal kolorektal karsinom ile anlamlı olarak ilişkili olduğu bulunmuştur: SEPP1'nin -4166 pozisyonundaki 50 gen bölgesindeki bir C/G varyantı; SEPP1'in 3′ gen bölgesindeki üç varyant; TXNRD'nin -181 pozisyonundaki bir varyant. Çalışmada ayrıca SEPP1 ve TXNRD1'in tüm varyantları ile adenom riski arasında genel olarak anlamlı ilişki tespit edilmiştir.

İşaretli SNP yaklaşımı kullanılarak incelenen GPX1-4 varyantlarının kolorektal kanser riski ile ilişkisi üç tane ABD merkezli kolorektal adenom, rektal veya kolon kanseri çalışmasının kombinasyonu ile değerlendirilmiştir [48]. Veriler yaş ve boya göre düzeltildikten sonra, GPX3 (rs8177447, rs3828599 ve rs736775) ve bir GPX2'deki (rs4902347) SNP'lerin rektal kanser ile anlamlı olarak ilişkili olduğu tespit edilmiştir. Ancak kolon kanseri ve adenom riskleri ile ilgili anlamlı ilişki tespit edilmemiştir. Benzer bir yaklaşım kullanılarak GPX1-4 ve SEPP1'deki varyasyonları içeren SNP'ler ve işaretli SNP'ler Kadın Sağlık İnisiyatif Çalışmasına alınan 804 vaka ve 805 benzer özelliklere sahip kontrolde analiz edilmiştir [49]. Analizde sadece bir SNP'nin (GPX4'deki rs8178974) kolorektal kanser riski ile ilişkili olduğu bulunmuştur. Ancak GPx4'deki genel genetik varyasyon ile bir ilişki tespit edilmemiştir. Ancak çalışmaya katılan bireylerdeki ortalama Se statüsünün yüksek olması (serum Se 135.6 μg/l) genotipin hastalık riskindeki olası etkilerinin tespitini engellemiş olabilir. Gerçekten de selenoprotein sentezinin yüksek Se alımına yüksek oranda bağımlı olması nedeniyle burada tanımlanan SNP'lerin etkilerinin Se alımı ile modifiye olması beklenebilir. Bu nedenle gelecekteki çalışmalarda selenoprotein SNP'lerinin genotiplemelerinin Se statü ölçütleri ile kombine edilerek, Se statüsünün rölatif olarak düşük olduğu popülasyonlarda gerçekleştirilmesi çok önemlidir.

4.2 Prostat Kanseri

Son zamanlarda prostat kanseri riskinde genotip etkisini inceleyen çalışmalarda SEPP1 GPx1 ve SEP15'deki SNP'lerin prostat kanserine karşı olan duyarlılığı modifiye ettiğini bildirilmiştir [50–52]. SEPP1'deki rs7579'un bir Avrupa popülasyonundaki prostat kanseri riskini etkilediği, rs1050450'nin de hastalık riski ile serum Se konsantrasyonu arasındaki ilişkiyi etkilediği gösterilmiştir. Buna karşın Avrupalı popülasyonda yapılan ikinci bir çalışmada ise prostat kanseri riskinin düşük Se statüsü ile birlikte SOD2 genindeki rs4880 ve SEPP1 genindeki rs3877899 genotipleri tarafından modüle edildiği bildirilmiştir [52]. ABD'de yapılan bir çalışmada hem prostat kanseri riskinin hem de sağkalımın SEP15 genindeki genetik bir varyasyonun ve düşük Se statüsünün kombinasyonu ile modifiye edildiğini göstermiştir. Ancak hastalık riski üzerinde bir etki bulunmamıştır [51]. Son zamanlarda tüm selenoprotein genlerindeki SNP'lerin yolakları boyunca analizi prostat kanseri hastalarından oluşan yuvalandırılmış (nested) vaka kontrol kohortunda ve kontrol hastalarında yapılmıştır. Başlangıç taramasından sonra, ikinci faz genotiplemede ileri kanser riskinin Se statüsü ile SELK, TR1 ve TR2'deki SNP'ler tarafından anlamlı olarak modifiye edildiği gösterilmiştir [53].

4.3 Meme Kanseri

Epidemiyolojik çalışmalarda çelişkili sonuçlar alınmış olmasına ve Se alımı/statüsü ile meme kanseri arasındaki ilişki hakkında çok az kanıt bulunmuş olmasına rağmen, seçilmiş selenoprotein SNP'lerinin genotipleri ve hastalık riskini araştıran bazı genotipleme çalışmaları yapılmıştır. Analiz edilen meme tümörlerinin %36'sında GPx1 lokusunda LOH [41] tespit edilirken, GPx1'deki rs1050450 ile meme kanseri riski arasında da ilişki olduğu gözlenmiştir. Devamında bir Danimarka kohortundaki meme kanseri ile bu SNP arasında bir ilişki konfirme edilmiş ve T alelinin kanser riskinde artış ile ilişkili olduğu gösterilmiştir [54]. Buna karşın ABD ve Kanada'da yapılan çalışmalarda [55-57] herhangi bir ilişki tespit edilmemiştir. Bir metaanalizde de Afrikalı kadınlarda görülen risk artışına rağmen, genel bir ilişki bulunamadığı bildirilmiştir [58]. Ancak ilişki bulunamamış olması Se statüsü ile rs1050450 genotipi arasındaki kompleks etkileşimin bir yansıması olabilir. Avrupalı (örn. Danimarka) popülasyonlardaki meme kanseri riski ile rs1050450 genotipi arasında bir ilişki olabileceği görülmektedir. Ancak bu ilişki yüksek Se tüketimi olan kadınlarda mevcut değildir (örn. ABD ve Kanada popülasyonları).

GPX1 genindeki değişken GCG tekrarlarına denk gelen bir başka polimorfizm de değişken sayıda alanin içeren bir protein oluşumuna yol açar. Bir başka çalışmada da ilginç şekilde bu varyantın genotipinin premenopozal kadınlardaki meme kanseri riskinde anlamlı artış ile ilişkili olduğu bildirilmiştir [57].

Hu ve ark [39] Afrikalı kadınlardaki SEP15'deki rs5859 ve meme kanseri arasında bir ilişki bulurken aynı ilişkiyi beyaz ırk için tespit edememiştir. Ayrıca tümör dokusundaki SEP15 lokusunda da LOH gözlemişlerdir. İkinci bir çalışmada da SEP15 alel kaybının

Afrikalı kadınlardaki meme kanseri tümörü ile ilişkili olduğu gösterilmiştir [59]. GPX1 ve SEP15 lokuslarındaki LOH varlığı iki selenoproteinin meme kanseri etyolojisindeki potansiyel tümör baskılayıcı rolü olabileceğini önermektedir.

4.4 Akciğer Kanseri

GPX1'deki rs1050450 de akciğer kanseri riski ile ilişkili bulunmuştur [60-65]. Meme kanseri hakkında yukarıda tanımlananlara ek olarak, akciğer kanserinde de GPX1 lokusunda LOH tespit edilmiştir [66]. Polonyalılardaki akciğer kanseri ile rs5859 genotipi ve selenyum statüsü arasında ilginç ve kompleks bir ilişki gözlenmiştir [33]. Se statüsüne bağlı olarak, sigara içenler arasındaki akciğer kanseri riskinin rs5859 genotipinde farklılıklar gösterdiği bulunmuştur. AA genotipli bireylerdeki plazma Se konsantrasyonunun artması akciğer kanseri riskinde azalmaya yol açmaktadır. Ancak GG ve GA genotiplerinin sadece daha düşük Se statüsü olanlardaki akciğer kanserinde azalma ile ilişkili bulunmuş olması, Se takviyesinin sadece AA genotiplerinde faydalı olduğunu, GG ve GA genotiplerindeki akciğer kanseri riskini ise artırabileceğini önermektedir.

4.5 Etkileri

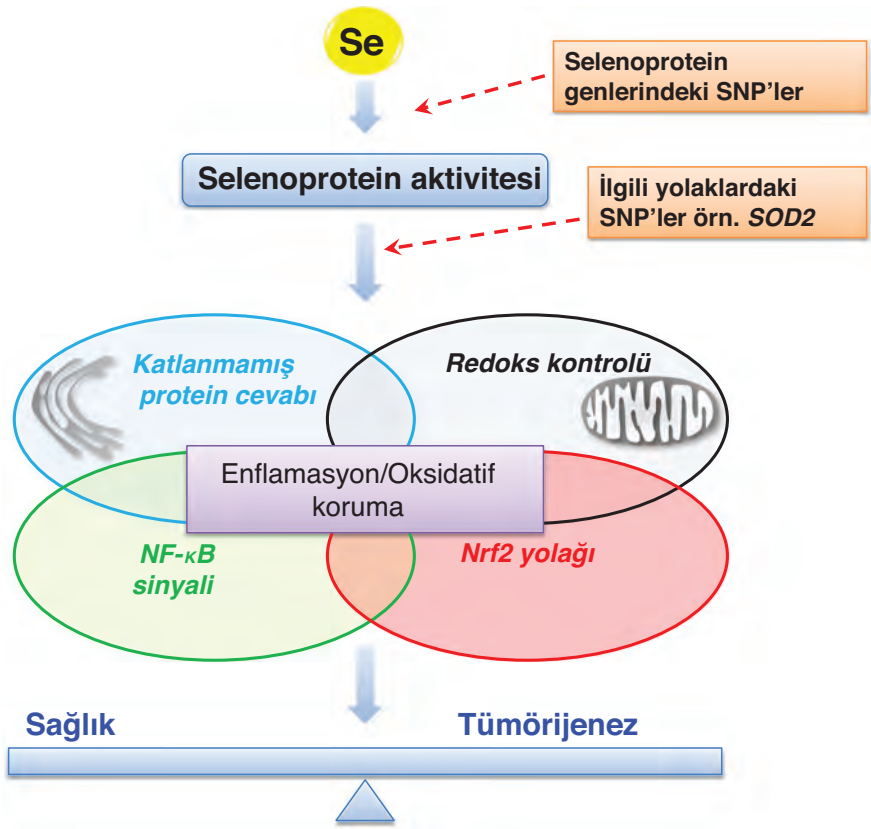
Önceki bölümlerden de anlaşılacağı üzere selenoprotein SNP'leri ve kanser riski ile ilgili çalışmaların görece küçük boyutlara sahip olmaları ve sonuçlarının çoğunlukla replike edilememeleri, üç konuyu karşımıza çıkarmıştır. Birincisi SELS'in promotör bölgesindeki SNP'lerin iki farklı özelliklere sahip kohortta kolorektal veya rektal kanser riskini etkilemesi [67] ve GPX1'deki rs1050450'nin akciğer kanseri riskini etkilemesidir (bkz. Bölüm 4.4).

İkincisi farklı çalışmalarda selenoprotein SNP'lerinin diğer genetik faktörlerle (ikinci bir SNP) veya hayat tarzı faktörleri ile kombinasyon halinde kanser riskini etkilemesidir. Bu nedenle prostat kanseri riski ve serum Se arasındaki ilişki SEP15 [51], GPX1'deki rs1050450 veya SEPP1'deki rs7579 varyantları için modifiye edildiği bildirilmiştir [50]. Farklı bir prostat kanseri çalışmasında SEPP1 (rs3877899) ve SOD2 (rs4880) varyantlarının hastalık riskini etkilediği bildirilmiştir [52]. Benzer şekilde SELS promotörü SNPS'in bir Çek kohortundaki kolorektal kanser riskindeki etkisine ek olarak, rs713041 (GPX4) ve rs4880 (SOD2) veya SEPP1'deki rs7579 arasında kolorektal kanser riskini etkileyen SNP-SNP etkileşimleri tespit edilmiştir [45]. Bir başka örnek te GPX1'deki rs1050450 ve SOD2'deki rs4880 kombinasyonunun meme kanseri riskini modüle ettiğinin gözlenmiş olmasıdır.

Üçüncüsü de farklı selenoprotein genlerindeki SNP'lerin farklı kanser risklerini etkileme trendidir. Örnekler yukarıdaki 4.1-4.4 nolu bölümlerde tartışıldığı üzere,. GPX1'deki rs1050450 meme, mesane, akciğer ve prostat kanserlerinin risklerini etkilerken, kolorektal kanser riskini etkilemediği bildirilmemiştir. GPX4'deki rs713041 kolorektal kanser riski ile ilişkilendirilmiş olsa da farklı çalışmalarda kafa karıştırıcı

sonuçlar bildirilmiştir. Bir çalışmada meme kanseri reküransını etkilediği bildirilirken, prostat kanseri ile ilgili bir ilişki bildirilmemiştir. Ek olarak SELS'lerin promotör bölgelerindeki SNP'ler gastrointestinal kanser riskini etkilemektedir. Ancak bu varyantların diğer kanser risklerini etkilediğini gösteren kanıt yoktur. Bunun aksine SEP15 ve SeIS'in ER stres yolağında fonksiyonları olduğu düşünülürken, SEP15'deki SNP'lerin birçok kanser türünün (prostat, meme, akciğer ve rektum) riski ile ilgili olması şaşırtıcıdır. SEPP'nin Se metabolizmasındaki önemli rolü nedeniyle SEPP1'deki SNP'lerin prostat, kolorektal [45] ve meme kanseri riskleri ile ilgili bulunması şaşırtıcı değildir (Méplan, Hesketh, Vogel yayınlanmamış veriler). Ancak SEPP1 SNP'lerinin etkileri başka varyantlar tarafından modüle edilirler. Bu modülasyonun prostat ve kolorektal kanserler için farklı olduklarının bildirilmiş olması ([44, 49,52] nolu referansları karşılaştırınız), tümörijenezde mekanik farklılıklar olduğunu düşündürmektedir.

SNP'lerin farklı selenoprotein genlerinde gözlenmiş olması farklı dokulardaki kanser riskini etkilediklerini düşündürmektedir. Bu durum selenoproteinlerin farklı dokulardaki spesifik rollerinin ya da farklı tipte karsinojenlere yanıtlarının veya selenoproteinlerin dokuya özgü hiyerarşilerinin bir göstergesi olabilir. Ek olarak selenoprotein SNP'leri arasındaki kanser riskinin genetik etkileşimlerle modülasyonu muhtemelen Se metabolizmasının iki özelliğinin yansımasıdır. Birincisi kısıtlı sayıda selenoproteinlere benzer bir mekanizma ile bağlanmaları, ikincisi ise bir selenoproteinin ekspresyonundaki değişimin bir başkasının ekspresyonunu değiştirebilmesi sonucu ortaya çıkan selenoprotein hiyerarşisidir. Bununla ilgili bir örnek vaka/kontrollü kolorektal kanser çalışmasında illüstre edilen ve ilgili proteinlerin bilinen fonksiyonları ile örtüşen farklı selenoproteinlerdeki SNP'ler arasında gözlediğimiz genetik interaksiyonlardır [44]. Özellikle Se'ye, SePP plazma izoformlarını ve potansiyel olarak Se dağıtımına [19, 34] verilen cevabı modüle eden SEPP1 SNP'leri, SEP15 ve GPX4'teki 3′ utr'de bulunan iki SNP ile etkileşime girmektedir. Bu genetik etkileşimler suboptimal Se düzeyleri ve "zayıf" Se dağıtımı varyantı (SEPP'de) için kombine genotipi ve "zayıf" selenosistein eklenme varyantı olan bir bireydeki GPX4 veya SEP15 sentezi azalarak kolonik hücreleri oksidatif hasara daha duyarlı hale getirerek bireyi kolorektal kansere daha yatkın hale getirebilir. Bu nedenle Se alımı ve Se metabolizmasını etkileyen muhtemel faktörler ve ilgili aşağı yönlü yolaklar göz önüne alındığında ortaya kompleks bir resim çıkmaktadır (Şekil 4'de illüstre edildiği gibi). Bu yüzden gelecekteki epidemiyolojik çalışmalarda fonksiyonel SNP'lerin tüm Se yolaklarının kombinasyon halinde incelenmesi gerekmektedir. Bu inceleme varyantların yolaklar boyunca, Se statü ölçütleri ile kombine halde değerlendirilmelerini kapsar. Gen-diyet etkileşiminin önemi ve sigara gibi potansiyel hayat tarzı ve çevresel etkilerin rolü ve SNP'ler arasındaki kompleks ilişkiler, genom boyunca ilişkilendirme çalışmalarının (GWAS) selenoprotein SNP'lerinin kanser riskindeki rolünü niçin tanımlayamadıklarının muhtemel nedenidir.



Şekil 4 Se alımı ve SNP'ler arasındaki multipl entegre metabolik cevapları etkileyen etkileşimler. Şema hem Se alımını hem de SNP'lerin selenoprotein aktivitelerindeki etkisi ile, devamındaki selenoprotein aktivitesinin metabolik olarak ilişkili aşağı yönlü yolaklar üzerindeki etkilerini illüstre etmektedir. Bu yolakların entegre cevabı Se'nin tümörijenezdeki rolünün altında yatan potansiyel nedendir.

5 Genom Çalışmaları

5.1 Diyetle Alınan Selenyumun Transkriptom Üzerindeki Etkisi

Se kanser ilişkisi hakkındaki tartışmada, selenoproteinlerin biyokimyasal fonksiyonları ve hücresel biyokimyasal fonksiyonun değişen Se alımı ile nasıl değiştiği hakkındaki bilgilerimizin artması hayati rol oynamaktadır. Bölüm 2.1'de anlatıldığı üzere, Se mevcudiyeti tüm selenoproteinlerin seviye ve aktivitelerini aynı düzeyde değiştirmez. Her selenoproteinin aktivitesindeki değişimler devamında aşağı yönlü hedeflerin aktivitesini etkilediği için, selenoprotein ekspresyon paterninde rol oynayan bir başka kompleks mekanizma mevcuttur. Genomik tekniklerin ilerlemesi ile, mikrodizi yöntemi kullanıla-

rak sadece selenoprotein mRNA ekspresyon paternlerindeki değişimler aydınlatılmakla kalmamış, aynı zamanda bu paternin aşağı yönlü hedefler ve yolaklarla olan kompleks ilişkisi de anlaşılmıştır. Bu nedenle değişen Se alımına ve biyokimyasal fonksiyonuna verilen doku ve hücre cevaplarının anlaşılması ile selenoproteinleri entegre bir sistemin bakış açısıyla inceleme fırsatı doğmuştur. Gen mikrodizi kullanarak yaptığımız bu çalışmada Se tedarikindeki değişimlerin fare kolonundaki ve hem insan, hem fare lökositlerindeki global transkriptom paterninin ekspresyonunu nasıl etkilediğini araştırdık. Ana bulgular Şekil 2'de şematik olarak illüstre edilmiştir.

6 hafta boyunca 100 μg/gün sodyum selenit [68] uygulanan bireylerden çalışmanın başında ve sonunda izole edilen insan lenfosit RNA mikrodizi analizleri yapılmıştır. SEP15 ve SELK mRNA ekspresyonlarının Se takviyesinden anlamlı olarak etkilenmeleri nedeniyle insan lenfositlerindeki Se tedarikine en duyarlı selenoproteinler oldukları tespit edilmiştir. Sonrasında yapılan bir çalışmada suboptimal ve marjinal düzeyde Se eksikliği olan diyetle beslenen farelerin transkriptomik kolon analizlerinde, marjinal Se eksikliğinin GPX1, SeIH, SeIW ve SeIM'nin daha düşük ekspresyonuna neden olduğu bulunmuştur. Fare kolonundaki bu selenoproteinlerin en azından mRNA düzeyindeki ekspresyonlarının diyette Se azalmasına duyarlı olduğu gösterilmiştir [27]. GPX1 ve SeIW'nin Se azalmasına duyarlı olduğunun bulunması daha önce kolon epitel hücrelerinde gözlenen selenoprotein hiyerarşisi hakkındaki bulgularla uyumludur [68]. Ancak SeIH ve SeIM'nin kolondaki duyarlılığı daha önce tanımlanmamıştır. İlginç biçimde, aynı farelerde yapılan splenik lökosit RNA çalışmasında da SelW, GPx1, SelH ve SEP15'in Se azalmasına duyarlı olduğunun gösterilmiş olması [69], SeIH ve SeIW ekspresyonunun çeşitli dokudaki Se azalmasına özellikle duyarlı olduğunu düşündürmektedir. İnsan ve hayvan çalışması verilerinin karşılaştırmasında lenfositlerdeki değişimlerin spesifik olabileceği ve insan kolon biyopsilerinden elde edilen RNA'yı kullanarak sürdürmekte olduğumuz deneylerde Se statüsü ile selenoprotein arasındaki ilişkiyi tanımlamada önemli olabileceği ortaya çıkmıştır.

Se alımına duyarlı aşağı yönlü hedeflerin özelliklerini incelemek amacıyla, bu çalışmalardan elde edilen mikrodizi verilerinin yolak analizleri yapılmıştır. Se takviyesi sonrası insan lenfosit ekspresyonunu inceleyen çalışmanın verileri, Se takviyesine en duyarlı bölgenin protein biyosentetik yolakları olduğu tespit edilmiştir [68]. Fare kolonunun benzer bir analizinde de marjinal Se eksikliği ile en fazla değişen yolağın protein translasyonu olduğu gösterilmiştir. Ek olarak protein sentezi ile ilgili yolakların (eiF4e ve p70S6 kinaz, ribozomal proteinler ve mTOR sinyal yolağı), enflamatuar sinyallerin (TNF-α-NF-κB), hücre siklus regülasyonunun (WNT sinyali) ve proteazom degradasyonunun da Se alımı ile modüle edildiği bulunmuştur. Üç NF-κB bağlama bölgesi tarafından yönlendirilen lusiferaz habercisinin Caco-2 bağırsak epitel hücrelerine transfekte edilmesi ile yapılan deneyde, Se tedariğinin NF-κB'nin TNF-α'ya olan cevabını modüle ettiğinin bulunmuş olması [70], Se tedarikinin kolon epitelindeki enflamatuar yolakları modifiye ettiği hipotezine ilave destek sağlamıştır. İlginç biçimde fare splenik lökositlerindeki enflamasyon ile ilişkili yolakların da Se azalmasından etkilendiği bulunmuştur. Gerçek zamanlı PCR analizi ile orta düzeyde Se eksikliğinin 30'dan fazla NF-κB hedefin-

de aşağı regülasyona yol açtığının bulunması, Se azalmasının NF-κB sinyalini etkilediğini konfirme etmiştir [69].

Tüm bu transkriptomik analizler Se tedariğinin kolon ve muhtemelen diğer dokulardaki protein sentezini, katlanmamış protein cevabını, Wnt, Nrf2 ve enflamatuar yolakları modüle ettiğini önermektedir [27, 68, 69]. Bu yolakların çoğu eksternal ve internal sorunlara karşı ortaya çıkan hücresel cevapların regülasyonunda rol oynamaktadır: Örneğin ksenobiyotik ve antioksidanlara verilen cevaplarda Nrf2, viral ve enflamatuar problemlere karşı oluşan cevaplarda katlanmamış cevap yolakları rol oynar. Ek olarak glutatyon peroksidazlar ve tioredoksin redüktazlar gibi çeşitli selenoproteinler de antioksidan koruyucu mekanizmalarda anahtar role sahiptir. Bu nedenle selenoproteinlerin hücrelerin bu proseslerde rol oynayan aşağı yönlü yolakları etkileyen bir dizi probleme cevap verilmesi ve problemin çözülmesinde önemli rol oynadığı hipotezini geliştirdik.

5.2 Kolonda Selenoprotein Fonksiyonu

Kolon ile ilgili mikrodizi ve genotipleme deneylerinde özel öneme sahip çeşitli selenoproteinler vurgulanmıştır; SeIH, SeIM ve SeIW, Se alımına karşı özellikle hassastır. SeIS'in genetik varyasyonlarının da hem kolon sağlığı hem de enflamatuar cevapları etkilediği düşünülmektedir.

Mevcut bilgilerimiz: (1) Bu selenoproteinler endoplazmik retikulumun (ER) katlanmamış protein cevabında, antioksidan korumada ve enflamatuar sinyallerde rol oynar. (2) Endoplazmik retikulum stresi, Nrf2 sinyali, memeli rapamisin hedefi (mTOR) sinyali ve enflamatuar sinyaller arasında biyokimyasal etkileşim (cross talk) mevcuttur. Örneğin mTOR sinyali hücre büyümesi ve protein sentezini kontrol eden yolakları regüle eder; anahtar uzatma ve başlatma faktörleri ve bunların kinazları gibi translasyonda rol oynayan çeşitli faktörleri modüle eder. Ayrıca c-myc'nin (Wnt yolağındaki hedef bir gen) transkripsiyonel regülasyonu ve mTOR besin öğesi algılama özelliği de mTOR'un translasyon, başlatma ve uzatmayı regüle etmesi ile bağlantılıdır. Selenyumun protein sentezi ve translasyon yolaklarında gözlenen etkilerinin Wnt ve/veya mTOR sinyalindeki değişimlerle ilişkili olduğunu düşünüyoruz. Bu da Se alımı ve SNP'ler tarafından değiştirilen bağlantılı biyokimyasal ağın bir yönünü temsil etmektedir.

Selenoprotein sentezinde rol oynayan ikinci bir nodal yolak da ER stres yolağıdır. Bu yolak besin öğesi yoksunluğu ve oksidatif stress gibi problemler ile ER'nin protein katlama kapasitesini bozarak yanlış katlanmış protein birikimine yol açabilir. Bölüm 2.1'de tanımlandığı üzere ER'de bulunan SEP15, SeIM ve SeIS selenoproteinlerin yanlış katlanmış proteinlerin uzaklaştırılmasında ve enflamatuar sinyallerde rol oynadıkları kabul edilmektedir. Ayrıca SeIS ekspresyonu da ER stresi [71] ve enflamatuar yolaklar [72] gibi bir dizi metabolik olaylarla modüle edilmektedir. Bu yolaklar kolorektal karsinogenezde disregüle olduğu için, SeIH, SeIS ve SeIM'nin ekspresyon/aktivitelerinin, Se alımı ve/veya genetik faktörler ile değişime uğraması ER stresini modüle edebilir [13]. Bu da birbiriyle ilişkili bir dizi biyokimyasal yolağı ve devamında tümörijenezi etkileyebilir. Hipotezimiz (bakınız Şekil 4) diyetle Se alımı ve selenoprotein genlerindeki SNP'lerin

oksidatif, endoplazmik retikulum ve enflamatuar streslere verilen hücre cevabında rol alan bir dizi birbiriyle bağlantılı yolağı modüle ettiğini önermektedir [11]. Selenoproteinlerin hücre koruma mekanizmalarındaki rolü ve Se statüsündeki değişimlerden etkilenen aşağı yönlü hedefli metabolik yolaklarla ilgili bilinen ve varsayılan bilgilerin ışığında, kolonik selenoproteinlerin ekspresyonlarındaki değişimlerin kolon epitel hücrelerini hasar verici metabolik problemlerle mücadele edecek şekilde modüle etmesi mümkündür. Bu da bir bireyde kanser gelişme riskini etkileyen bir faktördür. Kolondaki bu selenoproteinlerin rollerinin tanımlanması öncelikli olmalıdır.

siRNA'nın gen ekspresyonunun baskılanması (knock down) için kullanımının selenoproteinlerin fonksiyonlarının incelenmesinde kullanışlı olduğu gösterilmiştir. Kolonik epitel hücre dizisindeki GPX4'in baskılanmasını takip eden transkriptomik analizde, gerçek zamanlı PCR ve Westernblot analizinde mitokondrial respiratuar komplekslerin (I, IV ve V) kodlayıcı komponentlerini kontrol eden genlerde majör etkiler gözlenmiştir [73]. GPX4 baskılanması aynı zamanda mitokondrial reaktif oksijen türlerinin ve okside lipidlerin seviyelerini artırıp, apoptoz indükleyici faktörün (AIF) ekspresyonunu değiştirir. Düşük GPX4 ekspresyonunun lipooksijenaz kaynaklı lipid hidroksiperoksitleri ve AIF tarafından indüklenen apoptozi artırması geçmiş çalışmaların bulguları ile uyumludur. GPX4 ekspresyonu farklılaşmış enterositlerde [75] arttığı için, GPX4'ün AIF ile ilişkili koruyucu rolü farklılaşmış enterositler için özel öneme sahip olabilir. Ayrıca değişen GPX4 aktivitesinin bir sonucu olarak ortaya çıkan mitokondriyal oksidatif fonksiyon ve apoptoz, kolonik hücre proliferasyonunu etkileyebilir [72]. Bu etkiler ile kolorektal kanser riski arasındaki ilişki bilinmemektedir. Ancak mitokondrial fonksiyonun, düşük Se alımı ve selenoprotein genetik varyasyonlarına karşı oluşan hücre cevaplarını belirleyen biyokimyasal ağlarda önemli bir rol oynadığı speküle edilebilir. Bu bağlamda hem baskılama hem de aşırı ekspresyon deneylerinde GPX1'in mitokondri fonksiyonu üzerindeki etkilerinin redoks ile regüle edilen yolakların kontrolünde önemli rol oynadığının [76] ve ER stresinin mitokondrial redoks reaksiyonları ve enflamatuar yolaklarla ilgili olduğunun belirtilmiş olması ilginçtir [77, 78].

6 Sonuçlar ve Gelecekteki Çalışmalar

Se insanda 25 selenoproteinde bulunur. Se düzeylerindeki değişimler selenoprotein sentezini, protein ve dokuya bağlı olarak farklı şekillerde etkiler. Farklı dokulardaki çeşitli selenoproteinlerin rolleri tam olarak anlaşılamamıştır. Bu durum özellikle daha az tanınan proteinler için geçerlidir. Se alımı ve kanser arasındaki ilişkinin daha iyi anlaşılabilmesi için, gelecekteki çalışmalar kanser görülen çeşitli dokulardaki farklı selenoproteinlerin rollerinin tanımlanmasına odaklanmalıdır. Ancak bu entegre bir yaklaşım gerektirir. Se tedariğinin multipl selenoproteinler üzerindeki etkilerinin aşağı yönlü yolaklar ve çevresel stresin göze alınarak incelenmesi ile mümkün olabilir. Böylece Se'nin genel hücre cevapları üzerindeki etkilerini ve kardiyojenik prosesi önleme mekanizmasını anlamamız mümkün olabilir (Şekil 4'de şematik olarak illüstre edilmiştir). Genetik epidemiyolojik çalışmalardan elde edilen veriler farklı varyantların farklı dokulardaki

kanser riskini etkileme ihtimalinin yüksek olduğunu göstermektedir. Bu selenoproteinlerin farklı rollerinin teorik göstergesi olup bu dokularda Se fonksiyonlarını araştıracak mekanik çalışmaların önemini vurgulamayan bir durumdur. Selenyumun hedef dokulardaki rolü ile Se ve selenoproteinlerin hücre büyümesinin kontrolündeki olası etkilerinin anlaşılmasında fonksiyonel genomik yaklaşım esastır.

Günümüzde selenoproteinler içindeki bazı SNP'lerin proteinlerin ekspresyonunda fonksiyonel etkileri olduğunu gösteren güçlü kanıtlar mevcuttur. Ancak bu varyantların veya diğer selenoprotein SNP'lerinin kanser riskini etkileyip etkilemediğinin kesin olarak gösterilmesi gerekmektedir. Bu eksiğe rağmen, hastalıklarla ilişkileri araştıran çalışmalardan elde edilen ön bilgiler selenoprotein genlerindeki SNP'lerin kanser riski ile ilişkili olduğunu düşündürmektedir. Örneğin mevcut bilgilerimiz akciğer kanseri riskinin GPX1'deki rs1050450 genotipi, kolorektal kanser riskinin SELS'deki fonksiyonel bir varyantın genotipi ve muhtemelen GPX4 ile SEPP1 varyantları ile ilişkili olduğunu ancak GPX1'deki rs1050450 ile ilişkisi bulunmadığını göstermektedir. Buna karşın meme kanseri riski ise GPX1'deki rs1050450 ve sigara gibi hayat tarzı faktörlerinin kombinasyonundan etkilenmektedir. Ayrıca GPX1 ve SEPP1'deki SNP'lerin de prostat kanseri riskini etkilediği bildirilmiştir. Çeşitli çalışmalarda kanser riskinin SNP'ler ve/veya SNP'ler ile Se statüsü arasındaki etkileşimlerle modüle edebildiğinin gösterilmiş olması önemlidir. Kanser riskiyle ilişkili selenoprotein genotipleme verileri ümit verici ve motive edicidir. Ancak genotiplemenin selenoprotein yolağında rol oynayan (mümkün olabildiği kadar çok sayıda) SNP'ler ile konfirmasyonu ve replikasyonunun Se statü ölçütleri ile kombinasyon halinde gösterilmesi gerekmektedir. Bu amaç selenoprotein yolağındaki farklı SNP'lerin tek başlarına ve kombine haldeki etkilerinin, etkileşimlerinin ve Se statüsün kanser riskindeki etkisinin sayısal olarak tanımlanmasını gerektirmektedir.

Genotipleme ve mekanik çalışmalarda, Se ve selenoproteinlerin kanser biyolojisi ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. SELECT takviye çalışmasındaki negatif sonuca rağmen "Se ve kanser" çalışmalarının devam etmesi önemlidir. SELECT Çalışmasının sonuçlarında da Se-gen etkileşiminin, potansiyel kanser riski ile ilişkisinin altı çizilmektedir. Rölatif olarak düşük Se statüsü olan bir popülasyonlarda (örn. Avrupa) yapılacak Se takviye çalışmasına ihtiyaç vardır. Yanıltıcı faktörlerin elimine edilmesi adına selenoprotein SNP'lerinin genotiplemelerinin de entegre edilmesi uygun olacaktır.

CM Biotechnology and Biological Sciences Research Council tarafından desteklenmiştir (burs BB/H011471/1). JEH'in laboratuar çalışmaları Biotechnology and Biological Sciences Research Council, Food Standards Agency, Wellcome Trust, European Union, World Cancer Research Fund and Newcastle Healthcare Charity tarafından desteklenmiştir.

Referanslar

1. Fairweather-Tait SJ, BaoY Broadley MR et al (2011) Selenium in human health and disease. Antiox Red Sig 14:1337–1383
2. Rayman MP (2012) Selenium and human health. Lancet 379:1256–1268

3. Whanger PD (2004) Selenium and its relationship to cancer: an update dagger. Br J Nutr 91:11–28
4. Shamberger RJ, Frost DV (1969) Possible protective effect of selenium against human cancer. Can Med Assoc J 104:82–84
5. Duffield-Lillico AJ, Reid ME, Turnbull BW et al (2002) Baseline characteristics and the effect of selenium supplementation on cancer incidence in a randomized clinical trial: a summary report of the nutritional prevention of cancer trial. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 11:630–639
6. Qiao YL, Dawsey SM, Kamangar F et al (2009) Total and cancer mortality after supplementation with vitamins and minerals: follow-up of the Linxian general population nutrition intervention trial. J Natl Cancer Inst 101:507–518
7. Lippman SM, Klein EA, Goodman PJ et al (2009) Effect of selenium and vitamin E on risk of prostate cancer and other cancers: the selenium and vitamin E cancer prevention trial (SELECT). JAMA 301:39–51
8. Dunn BK, Taylor PR (2012) Prostate cancer prevention and the selenium and vitamin E cancer prevention trial (SELECT): a selenium perspective. In: Hatfield D, Berry MJ, Gladyshev VN (eds) Selenium: its molecular biology and role in human health, 3rd edn. Springer, New York
9. Laclaustra M, Navas-Acien A, Stranges S et al (2009) Serum selenium concentrations and diabetes in U.S. adults: national health and nutrition examination survey (NHANES) 2003–2004. Environ Health Perspect 117:1409–1413
10. Hesketh J (2008) Nutrigenomics and selenium: gene expression patterns, physiological targets, and genetics. Annu Rev Nutr 28:157–177
11. Hesketh J, Méplan C (2011) Transcriptomics and functional genetic polymorphisms as biomarkers of micronutrient function: focus on selenium as an exemplar. Proc Nutr Soc epub ahead of print
12. Hesketh J, Wybranska I, Dommels Y, King M, Elliott R, Pico C, Keijer J (2006) Nutrient-gene interactions in benefit-risk analysis. Br J Nutr 95(6):1232–1236
13. Méplan C (2011) Trace elements and ageing, a genomic perspective using selenium as an example. J Trace Elem Med Biol 25:S11–S16
14. Bellinger FP, Raman AV, Reeves MA et al (2009) Regulation and function of selenoproteins in human disease. Biochem J 422:11–22
15. Papp LV, Holmgren A, Khanna KK (2010) Selenium and selenoproteins in health and disease. Antioxid Redox Signal 12:793–795
16. Aachmann FL, Fomenko DE, Soragni A et al (2007) Solution structure of selenoprotein W and NMR analysis of its interaction with 14–3-3 proteins. J Biol Chem 282:37036–37044
17. Dikiy A, Novoselov SV, Fomenko DE et al (2007) SelT, SelW, SelH, and Rdx12: genomics and molecular insights into the functions of selenoproteins of a novel thioredoxin-like family. Biochemistry 46:6871–6882
18. Reeves MA, Bellinger FP, Berry MJ (2010) The neuroprotective functions of selenoprotein M and its role in cytosolic calcium regulation. Antioxid Redox Signal 12:809–818
19. Burk RF, Hill KE (2009) Selenoprotein P-expression, functions, and roles in mammals. Biochim Biophys Acta 1790:1441–1447
20. Méplan C, Nicol F, Burtle BT et al (2009) Relative abundance of selenoprotein P isoforms in human plasma depends on genotype, se intake, and cancer status. Antioxid Redox Signal 11:2631–2640
21. Hill KE, Zhou J, McMahan WJ et al (2003) Deletion of selenoprotein P alters distribution of selenium in the mouse. J Biol Chem 278:13640–13646
22. Schomburg L, Schweizer U, Holtmann B et al (2003) Gene disruption discloses role of selenoprotein P in selenium delivery to target tissues. Biochem J 370:397–402
23. Al-Taie OH, Seufert J, Mork H et al (2002) A complex DNA-repeat structure within the Selenoprotein P promoter contains a functionally relevant polymorphism and is genetically unstable under conditions of mismatch repair deficiency. Eur J Hum Genet 10:499–504

24. Bermano G, Nicol F, Dyer JA et al (1995) Tissue-specific regulation of selenoenzyme gene expression during selenium deficiency in rats. Biochem J 311:425–430
25. Wingler K, Bocher M, Flohe L et al (1999) mRNA stability and selenocysteine insertion sequence efficiency rank gastrointestinal glutathione peroxidase high in the hierarchy of selenoproteins. Eur J Biochem 259:149–157
26. Pagmantidis V, Bermano G, Villette S et al (2005) Effects of Se-depletion on glutathione peroxidase and selenoprotein W gene expression in the colon. FEBS Lett 579:792–796
27. Kipp A, Banning A, van Schothorst EM et al (2009) Four selenoproteins, protein biosynthesis, and Wnt signalling are particularly sensitive to limited selenium intake in mouse colon. Mol Nutr Food Res 53:1561–1572
28. Bermano G, Arthur JR, Hesketh JE (1996) Role of the 3′ untranslated region in the regulation of cytosolic glutathione peroxidase and phospholipid-hydroperoxide glutathione peroxidase gene expression by selenium supply. Biochem J 320:891–895
29. Méplan C, Crosley LK, Nicol F et al (2008) Functional effects of a common single-nucleotide polymorphism (GPX4c718t) in the glutathione peroxidase 4 gene: interaction with sex. Am J Clin Nut 87:1019–1027
30. Curran JE, Jowett JB, Elliott KS et al (2005) Genetic variation in selenoprotein S influences inflammatory response. Nat Genet 37:1234–1241
31. Voetsch B, Jin RC, Bierl C et al (2007) Promoter polymorphisms in the plasma glutathione peroxidase (GPx-3) gene: a novel risk factor for arterial ischemic stroke among young adults and children. Stroke 38:41–49
32. Forsberg L, de Faire U, Marklund SL et al (2000) Phenotype determination of a common Pro-Leu polymorphism in human glutathione peroxidase 1. Blood Cells Mol Dis 26:423–426
33. Jablonska E, Gromadzinska J, Reszka E et al (2009) Association between GPx1 Pro198Leu polymorphism, GPx1 activity and plasma selenium concentration in humans. Eur J Nut 48:383–386
34. Takata Y, King IB, Lampe JW et al (2012) Genetic variation in GPX1 is associated with GPX1 activity in a comprehensive analysis of genetic variations in selenoenzyme genes and their activity and oxidative stress in humans. J Nutr 142:419–426
35. Méplan C, Crosley LK, Nicol F et al (2007) Genetic polymorphisms in the human selenoprotein P gene determine the response of selenoprotein markers to selenium supplementation in a gender-specific manner (the SELGEN study). FASEB J 21:3063–3074
36. Villette S, Kyle JA, Brown KM et al (2002) A novel single nucleotide polymorphism in the 3' untranslated region of human glutathione peroxidase 4 influences lipoxygenase metabolism. Blood Cells Mol Dis 29:174–178
37. Bermano G, Pagmantidis V, Holloway N et al (2007) Evidence that a polymorphism within the 3′ UTR of glutathione peroxidase 4 is functional and is associated with susceptibility to colorectal cancer. Genes Nutr 2:225–232
38. Gautrey H, Nicol F, Sneddon AA et al (2011) A T/C polymorphism in the GPX4 3′ UTR affects the selenoprotein expression pattern and cell viability in transfected Caco-2 cells. Biochim Biophys Acta 1810:584–591
39. Hu YJ, Korotkov KV, Mehta R et al (2001) Distribution and functional consequences of nucleotide polymorphisms in the 3′-untranslated region of the human Sep 15 gene. Cancer Res 61:2307–2310
40. Pawlowicz Z, Zachara BA, Trafikowska U et al (1991) Blood selenium concentrations and glutathione peroxidase activities in patients with breast cancer and with advanced gastrointestinal cancer. J Trace Elem Electrolytes Health Dis 5:275–277
41. Hu YJ, Diamond AM (2003) Role of glutathione peroxidase 1 in breast cancer: loss of heterozygosity and allelic differences in the response to selenium. Cancer Res 63:3347–3351
42. Gresner P, Gromadzinska J, Jablonska E et al (2009) Expression of selenoprotein-coding genes SEPP1, SEP15 and hGPX1 in non-small cell lung cancer. Lung Cancer 65:34–40

43. Reszka E, Gromadzinska J, Jablonska E et al (2009) Level of selenoprotein transcripts in peripheral leukocytes of patients with bladder cancer and healthy individuals. Clin Chem Lab Med 47:1125–1132
44. Sutherland A, Kim DH, Relton C et al (2010) Polymorphisms in the selenoprotein S and 15-kDa selenoprotein genes are associated with altered susceptibility to colorectal cancer. Genes Nutr 5:215–223
45. Méplan C, Hughes DJ, Pardini B et al (2010) Genetic variants in selenoprotein genes increase risk of colorectal cancer. Carcinogenesis 31:1074–1079
46. Shibata T, Arisawa T, Tahara T et al (2009) Selenoprotein S (SEPS1) gene -105G>A promoter polymorphism influences the susceptibility to gastric cancer in the Japanese population. BMC Gastroenterol 9:2
47. Peters U, Chatterjee N, Hayes RB et al (2008) Variation in the selenoenzyme genes and risk of advanced distal colorectal adenoma. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 17:1144–1154
48. Haug U, Poole EM, Xiao L et al (2012) Glutathione peroxidase tagSNPs: associations with rectal cancer but not with colon cancer. Genes Chromosomes Cancer 51:598–605
49. Takata Y, Kristal AR, King IB et al (2011) Serum selenium, genetic variation in selenoenzymes, and risk of colorectal cancer: primary analysis from the women's health initiative observational study and meta-analysis. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 20:1822–1830
50. Steinbrecher A, Méplan C, Hesketh J et al (2010) Effects of selenium status and polymorphisms in selenoprotein genes on prostate cancer risk in a prospective study of European men. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 19:2958–2968
51. Penney KL, Schumacher FR, Li H et al (2010) A large prospective study of SEP15 genetic variation, interaction with plasma selenium levels, and prostate cancer risk and survival. Cancer Prev Res 3:604–610
52. Cooper ML, Adami HO, Grönberg H et al (2008) Interaction between single nucleotide polymorphisms in selenoprotein P and mitochondrial superoxide dismutase determines prostate cancer risk. Cancer Res 68:10171–10177
53. Méplan C, Rohrmann S, Steinbrecker A et al (2012) Polymorphisms in thioredoxin reductase and selenoprotein K genes and selenium status moderate risk of prostate cancer. PLOS One 7:e48709
54. Ravn-Haren G, Olsen A, Tjønneland A et al (2006) Associations between GPX1 Pro198Leu polymorphism, erythrocyte GPX activity, alcohol consumption and breast cancer risk in a prospective cohort study. Carcinogenesis 27:820–825
55. Cox DG, Hankinson SE, Kraft P et al (2004) No association between GPX1 Pro198Leu and breast cancer risk. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 13:1821–1822
56. Ahn J, Gammon MD, Santella RM et al (2005) No association between glutathione peroxidase Pro198Leu polymorphism and breast cancer risk. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 14:2459–2461
57. Knight JA, Onay UV, Wells S et al (2004) Genetic variants of GPX1 and SOD2 and breast cancer risk at the ontario site of the breast cancer family registry. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 13:146–149
58. Hu J, Zhou GW, Wang N et al (2010) GPX1 Pro198Leu polymorphism and breast cancer risk: a meta-analysis. Breast Cancer Res Treat 124:425–431
59. Nasr MA, Jun Y, Hu J et al (2003) Allelic loss at the SEP15 locus in breast cancer. Cancer Ther 1:293–298
60. Ratnasinghe D, Tangrea JA, Andersen MR et al (2000) Glutathione peroxidase codon 198 polymorphism variant increases lung cancer risk. Cancer Res 60:6381–6383
61. Yang P, Bamlet WR, Ebbert JO et al (2004) Glutathione pathway genes and lung cancer risk in young and old populations. Carcinogenesis 25:1935–1944
62. Skuladottir H, Autrup H, Autrup J et al (2005) Polymorphisms in genes involved in xenobiotic metabolism and lung cancer risk under the age of 60 years. A pooled study of lung cancer patients in Denmark and Norway. Lung Cancer 48:187–199

63. Lee CH, Lee KY, Choe KH et al (2006) Effects of oxidative DNA damage and genetic polymorphism of the glutathione peroxidase 1 (GPX1) and 8-oxoguanine glycosylase 1 (hOGG1) on lung cancer. J Prev Med Public Health 39:130–134
64. Raaschou-Nielsen O, Sørensen M, Hansen RD et al (2007) GPX1 Pro198Leu polymorphism, interactions with smoking and alcohol consumption, and risk for lung cancer. Cancer Lett 247:293–300
65. Rosenberger A, Illig T, Korb K et al (2008) Do genetic factors protect for early onset lung cancer? A case control study before the age of 50 years. BMC 8:60
66. Moscow JA, Schmidt L, Ingram DT et al (1994) Loss of heterozygosity of the human cytosolic glutathione peroxidase I gene in lung cancer. Carcinogenesis 15:2769–2773
67. Méplan C, Hesketh J (2012) The influence of selenium and selenoprotein gene variants on colorectal cancer risk. Mutagenesis 27:177–186
68. Pagmantidis V, Méplan C, Van Schothorst EM et al (2008) Supplementation of healthy volunteers with nutritionally-relevant levels of selenium increases expression of lymphocyte protein biosynthesis genes. Amer J Clin Nutr 87:181–189
69. Kipp AP, Banning A, van Schothorst EM et al (2011) Marginal selenium deficiency down-regulates inflammation-related genes in splenic leukocytes of the mouse. J Nutr Biochem [Epub ahead of print]
70. Gong G, Méplan C, Gautrey H et al (2012) Differential effects of selenium and knock-down of glutathione peroxidases on TNFα and flagellin inflammatory responses in gut epithelial cells. Genes Nutr 7:167–178
71. Gao Y, Feng HC, Walder K et al (2004) Regulation of the selenoprotein SelS by glucose deprivation and endoplasmic reticulum stress—SelS is a novel glucose-regulated protein. FEBS Lett 563:185–190
72. Zhang K, Kaufman RJ (2008) From endoplasmic-reticulum stress to the inflammatory response. Nature 454:455–462
73. Cole-Ezea P, Swan D, Shanley D et al (2012) Glutathione Peroxidase 4 has a major role in protecting mitochondria from oxidative damage and maintaining oxidative phosphorylation complexes in gut epithelial cells. Free Rad Biol Med 53:488–497
74. Seiler A, Schneider M, Forster H et al (2008) Glutathione peroxidase 4 senses and translates oxidative stress into 12/15-lipoxygenase dependent- and AIF-mediated cell death. Cell Metab 8:237–248
75. Speckmann B, Bidmon HJ, Pinto A et al (2011) Induction of glutathione peroxidase 4 expression during enterocytic cell differentiation. J Biol Chem 286:10764–10772
76. Handy DE, Lubos E, Yang Y et al (2009) Glutathione peroxidase-1 regulates mitochondrial function to modulate redox-dependent cellular responses. J Biol Chem 284:11913–11921
77. Malhotra JD, Kaufman RJ (2007) Endoplasmic reticulum stress and oxidative stress: a vicious cycle or a double-edged sword? Antioxid Redox Signal 9:2277–2293
78. Kitamura M (2011) Control of NF-κB and inflammation by the unfolded protein response. Int Rev Immunol 30:4–15

Resveratrol: Temel Çalışmalardan Yatak Başına

Adriana Borriello, Debora Bencivenga, Ilaria Caldarelli, Annunziata Tramontano, Alessia Borgia, Vincenzo Zappia ve Fulvio Della Ragione

Özet

Bitkilerden elde edilen çok sayıda düşük molekül ağırlıklı doğal ürünlerin birçok önemli biyolojik aktivitesi vardır. Bu moleküller arasında bulunan ve hücre fenotipinin önemli bir modülatörü olan resveratrol (3,5,4'-trihidroksistilben) kompleks ve pleiotropik bir etki mekanizmasına sahiptir. Aktivitesi ile ilgili olarak genel olarak hücresel modellere yapılan birçok çalışmada, bu polifenolün hücre proliferasyonunu kontrol ettiği, farklılaşmayı indüklediği, apoptoz ve otofajiyi aktive ettiği belirtilmektedir. Bileşik aynı zamanda anjiogenez ve enflamasyonu da kontrol eder. Benzer şekilde, implante kanserler ve kimyasal yolla indüklenen tümörlerde yapılan çalışmalarda da bileşiğin potansiyel kemoterapötik etkisi konfirme edilmiştir. Bileşiğin hayvan modellerindeki tip 2 diyabet, obezite, koroner kalp hastalığı, metabolik sendrom ve nörodejeneratif patolojileri de kapsayan birçok kronik hastalığın gelişim ve evrimini pozitif etkileyebileceği de farklı makalelerde net olarak gösterilmiştir. Ayrıca molekülün toksisitesinin de son derece düşük olduğu farklı incelemelerde bildirilmiştir. Bu ümit vadeden gözlemlere karşın, molekülün insanlardaki kronik hastalıkların önlenme ve tedavisindeki etkinliğini inceleyen az sayıda klinik çalışma mevcuttur. Öncül veriler daha geniş kapsamlı klinik araştırmalara ihtiyaç olduğu göstermektedir.

Anahtar Kelimeler

Resveratrol • AMPK • PGC-1α • Sirtuin • Kanser tedavisi

A. Borriello · D. Bencivenga · I. Caldarelli · A. Tramontano · A. Borgia · V. Zappia · F. Della Ragione (✉)
Department of Biochemistry, Biophysics and General Pathology, Second University of Naples, Via De Crecchio 7, 80138, Naples, Italy
e-mail: fulvio.dellaragione@unina2.it

V. Zappia et al. (eds.), *Advances in Nutrition and Cancer,* Cancer Treatment and Research 159, DOI: 10.1007/978-3-642-38007-5_10,
© Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2014

Kısaltmalar

AKT	Transforme olan v-Akt proteininin hücresel homoloğu
AMP	Adenozin monofosfat
AMPK	AMP-aktive protein kinaz
VYA	Vücut yüzey alanı
CD95	Farklılaşma kümesi 95
cdc2 kinaz	Hücre büyümesini kontrol eden protein 2 kinaz
Egr-1	Erken büyüme cevap proteini 1
FOXO	Forkhead box class O
HIF	Hipoksi ile indüklenebilir faktör
IGF-1	İnsülin benzeri büyüme faktörü 1
MAP kinaz	Mitojen aktive protein kinaz
NAD	Nikotinamid adenin dinükleotid
NF-κB	Aktive B hücrelerinin, nükleer faktör kappa hafif zincir güçlendiricisi
$p21^{Cip1}$	21 kDA protein sikline bağımlı kinaz inhibitörü protein 1
PDE	Fosfodiesteraz
PGC-1α	Peroksizom proliferatör-aktive reseptör gamma koaktivatör 1 alfa
PI3K	Fosfatidilinositol 3-kinazlar
PKC	Protein kinaz C
Sirt-1	Sirtuin 1
TRAIL	TNF-ile ilişkili apoptoz indükleyici ligand

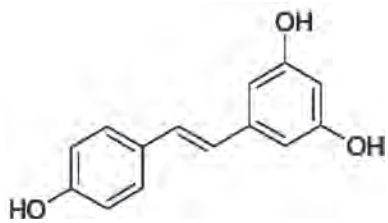
İçindekiler

1 Giriş 168
2 Yerleşik Hücre Dizilerinde Resveratrol Etkisi 170
3 Resveratrol Aktivitesinin Moleküler Temeli 171
4 Resveratrolun Farmakokinetiği 173
5 Resveratrol ile İlgili Klinik Çalışmalar 175
6 Sonuçlar ve Perspektifler 177
Referanslar 178

1 Giriş

Resveratroldan (Şekil 1) ilk kez 1939 yılında molekülü *Veratram album'dan* izole eden Takaoka bahsetmiştir [89]. Bu polifenolün adı muhtemelen Veratrum türlerinin reçinesinde bulunmasından kaynaklanmaktadır. Pezzuto ve çalışma arkadaşları1997 yılında

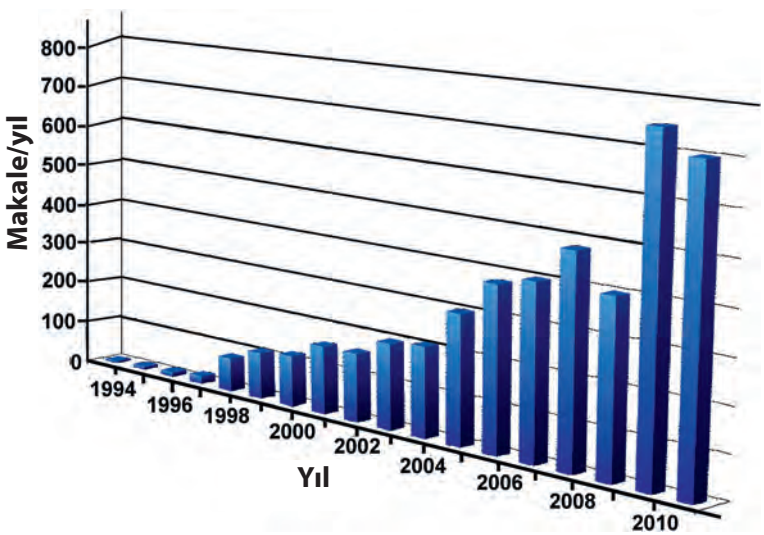
Resveratrol (3, 5, 4´-trihidroksi-
trans-stilben)



Şekil 1 Trans-resveratrolun kimyasal yapıları Resveratrol (3,5,40-trihidroksistilben) bir stilben (stilbenoid) türevidir. İki diastereomer şeklinde bulunur: cis- (Z) ve trans- (E). Trans formu tercih edilen doğal sterik formudur ve rölatif olarak stabildir. Ultraviyole radyasyonuna maruz kaldığında cis- formuna izomerize olabilir.

Peru baklasının (*"Cassia quinquangulata Rich"*; Baklagiller ailesinden yenilmeyen bir tür) potent siklooksijenaz 2 inhibitör aktivitesi olduğunu bildiren bir çalışma yayınlanmıştır [45]. Ekstrenin aktif maddesinin resveratrol olduğunu da tespit etmişlerdir [45].

Pezzuto'nun yayınladığı makalede adeta gelecekte olacakların bir müjdecisi olarak, resveratrolun karsinogenezin her aşamasını kapsayan (başlangıç, gelişim ve progresyon) çok sayıda antikanser aktivitesine sahip olduğu bildirilmiştir. Sonrasında resveratrol hakkında çok sayıda çalışma yapılmıştır. Şu ana kadar yayınlanan çalışmaların sayısı 5000'den fazladır (Şekil 2). Resveratrolun bir insan promiyelositik hücre dizisi olan HL-



Şekil 2 Yıllara göre resveratrolu konu alan yayınların sayıları Grafik 1994-2011 yılları arasında yayınlanan çalışmaların sayılarını göstermektedir. Veriler www.Pub.Med.gov adresinden elde edilmiştir.

60 hücre dizisinin büyüme ve farklılaşması üzerindeki etkileri 1998 yılında yayınlanmıştır. Bu çalışmada molekülün G2'den M'ye spesifik hücre döngüsü geçişini engelleyerek myeloid etki yaptığı ilk kez gösterilmiştir29] Biyokimyasal analizlerde siklin A'nın akümülasyonu ve cdc2 kinazın hiperfosforilasyonundan oluşan hücre bölünme mekanizmasındaki kesin değişimlerin gösterilmiş olması önemlidir [29].

Resveratrol doğada çok yaygın olmasına rağmen, yenilebilen kısıtlı sayıda gıdada mevcuttur. Bunlardan en önemlisi üzümdür. Resveratrol sıradışı işleme tekniği nedeniyle en sık olarak kırmızı şarapta bulunur. Resveratrol bu nedenle yoğun ilgiye maruz kalmıştır. Çok çekici bir kavram olan kırmızı şarabın kanseri önleyebilme ihtimali ile, Fransız Paradoksu adı verilen kavram arasında net bir korelasyon vardır. Bu korelasyon günümüzde fazlasıyla sorgulanmaktadır. En ilginç tarafı da Fransız Paradoksunun gerçekten var olup olmadığı tartışmasıdır.

Özetle, resveratrol 1997 yılından beri kanser, kalp hastalığı, nörodejeneratif patolojiler, yaşlanma, enflamasyon, obezite ve diyabeti de kapsayan birçok hastalıkla ilgili olarak sağlığa faydalı etkileri nedeniyle tavsiye edilen bir moleküldür. Bu hastalıkların birbirleri ile kesin olarak ilişkili oldukları nettir. Bu nedenle obezite, enflamasyon ve yaşlanma üzerindeki pozitif etkileri malign transformasyonu önlemekte de etkili olabilir. Bu bölümde resveratrol ve kanser arasındaki ilişkiyi, tedavide kullanılabilme ihtimalini de göz önünde tutarak değerlendireceğiz.

2 Yerleşik Hücre Dizilerinde Resveratrol Etkisi

Resveratrolun hücrelerdeki aktiviteleri yoğun olarak araştırılmış ve konuyla ilgili yüzlerce çalışma yayınlanmıştır. Çalışmalarda kullanılan hücresel modellerin çoğu malign dokulardan elde edilmiştir. Bu nedenle yapılan bu araştırmaların başlıca eksikleri hem yapay in vitro büyüme ortamlarında gerçekleştirilmeleri hem de kanserin türüne bağlı olarak görülen genetik ve moleküler değişimler nedeniyle spesifik güçlü fenotipik farklılıklar görülmesidir. Buna karşın normal dokulardan elde edilen hücrelerle yapılmış az sayıda analiz mevcuttur.

Majör fenotipik etkileri arasında büyümenin durdurulması (hücre siklusunun farklı fazlarında) [12, 13, 23, 29, 33, 52, 69]; farklılaşmanın indüksiyonu [5, 14, 27, 29, 46, 47, 53, 104]; apoptoz, nekroz ve otofajinin indüksiyonu [1, 35, 55–57, 61, 63, 72, 73, 76, 92, 102]; antienflamatuar aktivite [54, 107]; tümör anjiogeneziyle etkileşim [2, 16, 19, 85] mevcuttur. Bu aktiviteler insandaki malign transformasyonun majör özelliklerini etkiledikleri için kanser tedavisi alanında özel olarak ilgi çekmektedirler [40]. Bazı çalışmalarda resveratrolun etkisini artıran veya engelleyen bazı diğer bileşiklerle (sıklıkla kemoterapötikler) ilişkili olduğu bulunmuştur. Mükemmel bazı incelemelerde resveratrol hakkındaki çok sayıda ex vivo literatür eksikleri nedeniyle eleştirilmiştir. Bu bölümdeki incelemenin amacı bu değildir (96 nolu referans ve aynı makalenin içindeki referanslar). İlginç biçimde molekülün farklı konsantrasyonlardaki etkinliğinin farklı olduğu bazı ça-

lışmalarda bildirilmiştir. Düşük konsantrasyonlarda proliferasyonu indüklerken, daha yüksek konsantrasyonlarda ise antikanser etki göstermiştir [18].

Hücre dizileri ile yapılan çalışmalardan bazı genel sonuçlar çıkarılabilmektedir. Birincisi resveratrolun sahip olduğu çok çeşitli biyolojik aktivitelerin, antioksidan etkileri ile genel olarak bir ilişkisi olmadığıdır. İkincisi etkili konsantrasyonları genel olarak 10-50 μM arasında değişir. Üçüncüsü ise molekülün bu etkileri mevcut konsantrasyonuna göre sıklıkla değişimler gösterir. Resveratrol bundan dolayı, aktivitesinde kullanılan miktarının kritik önem arzettiği hormetik bir bileşik olarak değerlendirilebilir [18]. Bu değişkenlikler in vitro deneyler, klinik ortama uyarlanırken dikkate alınmalıdır.

3 Resveratrol Aktivitesinin Moleküler Temeli

Antikanser bir ajanın etkili dozlarının değerlendirilebilmesi için etki mekanizması hakkındaki bilgimiz tam olmalıdır. Resveratrolun moleküler aktivitesi, son iki dekadda çok fazla sayıda araştırmanın konusu olmuştur.

Resveratrolun pleiotropik doğasına bağlı olarak birçok karmaşık yolakta rol oynadığını belirten çok sayıda veri mevcuttur.

Molekül şunları da içeren çok sayıda transdüksiyon yolağını modüle eder: MAP kinaz [8, 12, 31, 105]; JNK [73, 79, 100], NF-κB [13, 14, 33, 42, 48, 55], AKT/PI3K [38, 39, 69, 98], PKC [7, 60, 75, 80, 86], CD95/TRAIL [26, 35, 56, 77, 78], ve FOXO [23, 85].

Resveratrol, p53 [36, 90, 108]; kaspazlar [3, 21, 64]; sürvivin [6, 41]; Bax, Bcl-2, ve Bcl-xL [68, 70, 92] düzeylerini değiştirerek apoptozu kontrol eder. Bileşik siklooksijenaz [87, 88, 110] ve sitokrom p450'yi [22] inhibe eder; faz II ilaç metabolize edici enzimleri indükler [24, 25, 51]; glutatyon peroksidaz [84], katalaz [34] ve kuinon redüktazı [74] yukarı regüle eder; ornitin dekarboksilazı inhibe eder [95]. Resveratrolun ilginç biçimde katepsin D'yi regüle ettiği [94] ve HIF-α'nın (hipoksi ile indüklenebilir faktör) fonksiyonunu inhibe ettiği de gösterilmiştir [20, 101]. Hif-α faktörleri üzerindeki etkisi (Hif-1α ve Hif-2α) üzerindeki etkisi, bu proteinlerin glukozun internalizasyonunu ve glikolitik metabolizmayı artırarak glukoz metabolizmasını kontrol ediyor olmaları nedeniyle özel olarak önemlidir [81].

Resveratrol ile yaptığımız çalışmalarda, molekülün K562 hücrelerindeki (eritrolökemik hücre dizisi) Egr-1 (erken büyüme cevabı) transkripsiyon faktörünün hücresel miktarını MAP kinaz yolağını aktive edere yukarı regüle ettiğini göstermiştik [30]. Bu da Egr-1'in, sikline bağımlı kinazların bir inhibitörü olan $p21^{Cip1}$'in gen transkripsiyonunu artırmasına neden olmuştur. $p21^{Cip1}$ akümülasyonu resveratrolun antiproliferatif etkisinden ve en azından kısmen de eritroid farklılaşmasının indüksiyonundan sorumludur [30]. Resveratrolun indüklediği $p21^{Cip1}$ akümülasyonu hem bizim tarafımızdan hem de farklı hücre dizisi modellerinde çalışan araştırma grupları tarafından gözlenmiştir. Bu bulgu resveratrolun gen ekspresyonunu ve hücre bölünme döngüsü mekanizmasını spesifik olarak etkilediğini göstermektedir.

Resveratrolun bir diğer mekanizması olan sirtuin üzerindeki etkisi de özel ilgi ve tartışma gerektiren bir konudur. Sirtuinler, proteinleri deasetile eden (NAD'i feda etme pahasına) bir enzim ailesidir. Bu nedenle ya protein deasetilaz ya da mono-riboziltransferaz aktivitesine sahiptirler [37, 109] Sirtuinler bazı türlerdeki yaşam uzamasının desteklenmesinde ve gen transkripsiyonunun, apoptozun, stres rezistansının ve düşük kalori şartlarında enerji harcama kontrolünün modülasyonunda etki gösterirler [58, 103, 109].

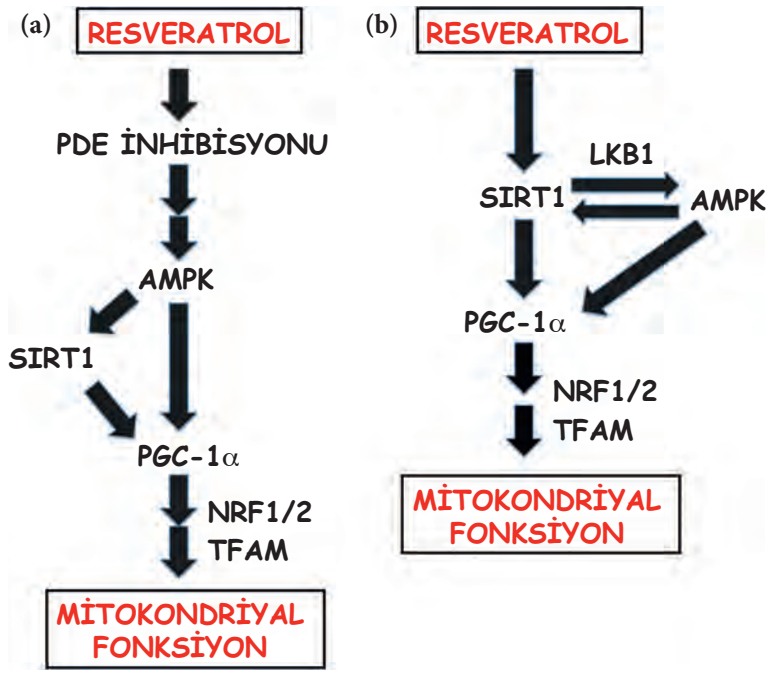
Howitz ve ark. 2003 yılında Sir2 mayasının (memelilerdeki Sirt-1'in homoloğu) doğal ve güçlü bir aktivatörü olan resveratrolun *Saccaromyces cerevisiae*'nin ömrünü uzatabildiğini gösterilmiştir [44]. Resveratrolun yaşam süresini uzatabilme özelliği bir kurtçuk (*Caenorhabditis elegans*) ve meyve sineği (*Drosophila melanogaster*) üzerinde de gösterilmiştir [9].

Sonrasında bu sonuçlardan bazıları sorgulanmış ve resveratrolun yaşlanmayı geciktirici etkisinin muhtemelen var olmadığı sonucuna varılmıştır [59, 67]. Benzer şekilde resveratrolun Sirt-1 üzerindeki in vitro etkisinin, in vivo ortamda mevcut olup olmadığı da bir tartışma konusu olmuştur. [11, 28]. Bu konuda kesin bir sonuca varılamamıştır.

Nütrisyondaki değişimin insan fizyoloji ve patolojisindeki etkilerini ilgilendiren bakış açısıyla bakıldığında, resveratrolun yüksek yağlı diyetle beslenen farelerin performansını kuvvetle düzelttiği bildirilmiştir. Resveratrolun pozitif etkileri Sirt1'e bağımlı deasetilasyon ve PGC-1α'nın aktivasyonu (respiratuar zincir komponentlerini ve mitokondrilerin sayı ve aktivitelerini artırarak oksidatif mekanizmayı aktive eden bir master gen) ile korelasyon göstermektedir [50, 67]. Bu konuyla ilgili çok yakın zamanda yapılan çalışmalar da mevcuttur. Birincisi, resveratrolun primer moleküler aktivitesinin siklik AMP artışına yol açan fosfodiesteraz inhibisyonundan kaynaklandığının gösterilmesidir [65]. Siklik mononükleotidin yukarı regülasyonu, kalori sınırlamasının kontrolünde önemli yeri olan AMP kinazın (AMPK) aktive olmasına yol açan bir dizi reaksiyonu tetiklemektedir. AMPK sonrasında Sirt1 ve PGC-1α'yı regüle eder (Şekil 3a). Bir başka çalışmada da resveratrolun birincil hedeflerinin, (mevcut resveratrol miktarına göre) Sirt1 veya AMPK olduğu bildirilmiştir [71]. Her iki durumda da sonuç olarak PGC-1α aktive olmaktadır (Şekil 3b).

İki çalışmada farklı primer resveratrol hedefleri önerilmiş olmasına rağmen nihai efektörler AMPK ve PGC-1α'dır [65, 71]. Knockout farelerle yapılan çalışmalar mekanizmalarda gözlenen farklılıkların ortamdaki resveratrol miktarına bağlı olup olmadığını netleştirmekte faydalı olabilir. Her iki durumda da, resveratrolun "in vivo" enerji metabolizmasını etkilediğini net olarak gösteren iki çalışma mevcuttur.

2011 yılı sonuna kadar yapılan 50'den fazla çalışmada resveratrolun hayvan modellerinde antikanser bir bileşik olarak farklı kanser türlerindeki etkinliği araştırılmıştır: Cilt kanseri (nonmelanom ve melanom); meme, gastrik, kolorektal, özofagus, prostat ve pankreatik kanserler; hepatom, nöroblastom, fibrosarkom ve lösemi (96 nolu referansta incelenmektedir). Bu preklinik çalışmalarda molekülün kanserin progresyonunu azaltmada, boyutunu küçültmede ve metastazların sayısını azaltmada genel bir pozitif etkiye sahip olduğu bildirilmiştir.



Şekil 3 Resveratrolun enerji metabolizmasındaki etkisi ile ilgili olarak önerilen moleküler mekanizmalar: *Panel a.* Resveratrolun primer hedefi siklik AMP artışına yol açan fosfodiesteraz aktivitesidir. cAMP'nin yukarı regülasyonu AMPK aktivitesini stimüle eder. Bu kinaz SIRT-1 ve PGC-1α'yı bağımsız olarak aktive eder. Ayrıca SIRT-1, PGC-1α'yı da aktive eder. Sonuçta, PGC-1α ilave transkripsiyon faktörleriyle beraber (NRF1/2 ve TFAM) mitokondrial aktiviteyi pozitif yönde modüle eder. *Panel b.* Resveratrolun bu mekanizmadaki primer hedefi SIRT-1'dir. Bu enzimin yukarı regülasyonu hem AMPK hem de PGC-1α'nın aktive olmasına yol açar. AMPK ayrıca PGA-1a'yı da aktive eder. Sonuç olarak PGC-1α ve NRF1/2 ve TFAM mitokondrial aktiviteyi artırırlar.

Preklinik çalışmalarda elde edilen bulgular, resveratrolun kanser tedavisinde kullanımı ile ilgili klinik çalışma ihtiyacı doğurmuştur. Ancak hayvan modellerinde çok sayıda doğal bileşiğin antikanser aktivitesi olmasına rağmen, klinik çalışmalarda elde edilen veriler etkinlik ve toksisite yönünde sıklıkla tatmin edici olmamaktadır.

4 Resveratrolun Farmakokinetiği

Resveratrolun hem in vivo hem de in vitro ortamdaki çok sayıda intraselüler moleküler mekanizmayı ve kompleks biyolojik olayı modüle ettiği tartışmasızdır. Bu doğal polifenolun çok sayıda deneysel kanser modelinde pozitif etkileri görülmüştür. Ancak resveratrolun in vitro ortamdaki konsantrasyonlarına eşdeğer serum seviyelerine ulaşmak

için gereken dozları molekülün potansiyel kullanım alanlarından özellikle diyetle koruma amacıyla alımı hakkında şüpheler doğurmuştur.

Resveratrol insanlarda yapılan deneylerde, en azında kısa süreli ve akut maruziyetlerde iyi tolere edilmiştir. Sekiz gün boyunca günde iki kez 2 gram resveratrol uygulanan sekiz deneğin altısında hafif epizodik diyare/dışkı yumuşaması görülmüştür. Bu semptomlar tipik olarak tedavi periyodunun başlangıcında görülmektedir. Deneklerden birinde döküntü ve baş ağrısı oluşmuştur [49].

Çift kör, randomize, plasebo kontrollü bir çalışmada sağlıklı gönüllülere 975 mg/gün'e kadar resveratrol uygulanmıştır. Her iki gruptan ikişer erişkin deneğe (erkek ve kadın) günde 6 kez 25, 50, 100 ve 150mg resveratrol iki gün süreyle uygulanmıştır. Her iki gruptaki advers olaylar hafif ve benzer düzeyde bulunmuştur [4]. Başka bir çalışmada 19 gönüllüye bir hafta süreyle 270mg resveratrol uygulanması ile herhangi bir rahatsızlık tespit edilmemiştir [99]. Bir başka yayında da sağlık gönüllüler bir hafta süreyle uygulanan resveratrolu iyi tolere etmişlerdir. Ancak deneyin detayları verilmediği için sonuçların analizini yapmak güçtür [32]. Aynı makalede 28 gün süreyle 2.5-5mg arası resveratrol uygulanan bir çalışma daha tanımlanmıştır. Yazarlar advers olayların genel olarak hafif ve reversibl olduğunu belirtmişlerdir. Ancak deneyin detayları yetersizdir [32].

Diğer yandan malignitelerin (ve diğer kronik hastalıkların) önlenmeleri ve/veya tedavileri aylar veya yıllar boyu sürebildiği için resveratrolun uzun süreli tedavisindeki toksisitesi ile ilgili veriler hayati önem taşımaktadır. Maalesef bu tür bir veri şu an için mevcut değildir. Bu nedenle resveratrol gıda takviyesi olarak kullanıldığında rölatif olarak güvenli olan doğal bir ürün olmasına rağmen, uzun süreli etkilerinin belirlenmesi için kesinlikle yeni araştırmalara ihtiyaç vardır.

Açıklığa kavuşturulması gereken önemli konulardan bir tanesi biyoyararlanımı ile terapötik etkinliği arasındaki orandır. Bu kompleks konuya farklı yaklaşımlar getirilebilir. Bir önceki bölümde de anlatıldığı üzere, resveratrolun in vitro etkileri (örn. kök hücreleri üzerindeki) genel olarak 10-50 μM konsantrasyonlarında gözlenmektedir. Ancak bu değerler resveratrolun kültür ortamındaki komponentlerle (örn. proteinler, lipoproteinler ve diğerleri) olan etkileşimini dikkate almadığı için gerçek serbest resveratrolun etkili konsantrasyonları anlamlı olarak az olabilir. Resveratrol insanlara tek doz olarak yaklaşık 25 mg dozunda uygulandığında [4, 82, 83, 97], elde edilen serbest molekül konsantrasyonları 1-5 ng/ml (4-20 nM) bulunmuştur. Daha yüksek doz (5 gr) ile serum resveratrol konsantrasyonları 2.3 μM bulunmuştur [4, 82, 83, 97]. Maksimum plasma tepe konsantrasyonlarına uygulamadan sonraki 30-90 dakika içinde ulaşılmıştır. Bu şartlar altındaki üç ana resveratrol metabolitinin (resveratrol-3-O-sülfat, resveratrol-3-O-glukuronid ve resveratrol-4-O-glukuronid) konsantrasyonları serbest bileşiğin yaklaşık 20 katı seviyesine ulaşmıştır [4, 82, 83, 97]. Resveratrol ve majör metabolitlerinin plazma yarı ömürleri benzer bulunmuştur (2.9-11.5 saat). Doz sonrası 24 saat içinde, idrardaki en yüksek ekskresyon oranları ilk 4 saatlik numunelerde tespit edilmiştir. Resveratrol enterohepatik sirkülasyon ile uyumlu olarak feçeste de eser miktarda tespit edilmiştir [4, 82, 83, 97]. Biyoyararlanım çalışmalarında yüksek doz resveratrol uygulamasından

sonra bile plazmada küçük miktarda serbest moleküle rastlanmıştır. Bu nedenle in vitro biyolojik aktivitelere denk gelen serum değerlerine ulaşabilmek için yüksek resveratrol miktarları gerekmektedir.

Ancak bu metodolojik yaklaşım tedavi stratejisi ve serum seviyelerinin biyolojik etkileri ile direkt olarak korele olmadığı için doğal olarak yetersizdir.

Alternatif bir metodoloji net in vivo etkilerin elde edildiği çalışmalardaki resveratrol dozunun dikkate alınmasıdır. Bu bağlamda Baur ve arkadaşlarının yaptıkları çalışma faydalı olabilir [10]. Araştırmacılar farelere uyguladıkları 22.4 ± 0.4 mg kg^{-1} $gün^{-1}$ dozundaki resveratrol tedavisi ile yaklaşık 110 hafta sonunda anlamlı fenotipik etkiler elde etmişlerdir. Bu değer 70kg'lık bir erkek için yaklaşık 1568 mg'a karşılık gelmektedir. Baur ve Sinclair [9] bazı kırmızı şarapların litresindeki resveratrol konsantrasyonunun 5 mg olduğunu bildirmişlerdir. Bu da yukarıdaki değeri yakalamak için hergün 300 litre şarap tüketimini gerektiren bir konsantrasyondur.

Ancak bu yaklaşım dozun farelerden insanlara uyarlanması sırasında gerekli olan bir parametre olan vücut yüzey alanını (VYA) göz önüne almamıştır. Bu parametrenin eklenmesi ile farelerdeki 22.4 mg kg^{-1} dozu insanlarda 1.82 mg kg^{-1} dozuna denk gelmektedir. Bu da 1568mg'ın 128mg'a düşmesi anlamına gelmektedir. Ancak farelerdeki 5.9 mg kg^{-1} $gün^{-1}$dozunun [50], 70 kg'lık bir erkekteki eşdeğeri olan 33 mg'lık daha düşük dozlar (VYA kullanılarak hesaplanmıştır) ile de koruyucu etkiler gözlenmiştir. 33 mg resveratrolun 6 litre şarapta bulunuyor olması diyette bulunan fitoaleksinin öneminin hala sorgulanmasına neden olmaktadır.

Ancak resveratrolun etkilerinin (en azından bir kısmının) normal diyet şartlarında bile (yaklaşık 0.4 litre şarap $gün^{-1}$, yaklaşık 1.5mg $gün^{-1}$) görülebildiğini düşündüren iki özelliğin daha göz önünde bulundurulması gerekmektedir.

Birincisi diyetteki resveratrolun etkinliğinin saflaştırılmış preparat içeren tablet formuna göre tablet formuna göre daha yüksek olma ihtimali vardır. Gerçekten de gıdalarda bulunan ve resveratrolun ayrıştırılması sürecinde etkileşime giren diğer bileşiklerin (örn. diğer polifenoller) fitoaleksinin katabolizmasını azaltarak serum düzeylerini yükseltebileceği önerilmiştir (gösterilmemiştir) [50]. İkincisi, uzun süreli resveratrol tedavisi (biyoyararlanım özelliklerinden dolayı) serum resveratrol içeriğinde artışa yol açtığı gibi, aynı zamanda molekülün lipofilik olması nedeniyle spesifik bazı hücre kompartmanlarında (örn. hücresel membranlar) veya dokularda birikmesini sağlayabilir.

5 Resveratrol İle Yapılan Klinik Çalışmalar

İnsanlarda yapılan az sayıda çalışmada resveratrolun klinik etkileri değerlendirilmiş olmasına rağmen, mevcut veriler daha ileri çalışmaların planlanabilmesi adına ümit vericidir.

Bin kişilik bir kohort ile yapılan çok güncel bir çalışmada diyetle resveratrol tüketimi ile çeşitli kardiyak risk parametrelerde düzelme arasında direkt bir korelasyon

gösterilmiştir. Resveratrol alımı resveratrolun kendisinin ve metabolitlerinin idrardaki düzeylerinin tespit edilmesi ile değerlendirilmiştir [106]. 75 kişi ile yapılan bir başka çalışmada da denekler plasebo, üzüm ekstresi ve düşük miktarda resveratrol ile zenginleştirilmiş üzüm ekstresi uygulanan 3 gruba ayrılmıştır. Yazarlar 1 yıllık tedavi sonucunda, sadece resveratrol kullanan gruptaki birçok kardiyak risk faktörlerinin (C-reaktif protein, tümör nekroz faktörü-α, gök plazminojen aktivatör inhibitörü tip 1, interlökin-6 / interlökin-10 oranı) anlamlı olarak azaldığını öne sürmüşlerdir [93]. Cell Metabolism'de (Hücre Metabolizması) yayınlanan pivot çalışmada 30 gün süre ile 150 mg/gün resveratrol ile tedavi edilen 11 obez hastadaki çeşitli parametrelerin (örn. intramiyoselüler lipid düzeylerinde artma, intrahepatik lipid, dolaşımdaki glukoz, trigliserid, alaninaminotransferaz ve enflamasyon markerlerinde azalma) pozitif anlamda güçlü bir şekilde etkilendiği ve kaslardaki AMPK, SIRT-1 ve PGC-1alfa'nın biyokimyasal yukarı regülasyonlarını indüklendiği belirtilmiştir. Bulgular hayvan modellerinde bildirilen gözlemler ile benzer bulunmuştur [91]. Yazarlar insanlardaki tedavide kullanılan resveratrol konsantrasyonunun farelerde kullanılandan 400 kat daha az olduğunu vurgulamışlardır.

Bu üç çalışmada [91, 93, 106] resveratrolun karsinogenez için de önemli olan metabolik parametreleri etkilediği önerilmiştir (kesinlikle ispat edilememiştir).

Diğer iki ilginç çalışmada Cancer Research'de (Kanser Araştırmaları) 2010 yılında yayınlanmıştır. Bu araştırmalarda resveratrolun toksisite ve metabolizması ile hem normal hem de malign kolon dokusundaki akümülasyonu değerlendirilmiştir [17, 66]. Çalışmalarda yüksek resveratrol dozları kısa süreler ile uygulanmıştır. Çalışmalardan birinin sonuçlarında resveratrolun çok düşük toksisiteye sahip olduğu ve IGF-1 düzeylerini negatif etkileyebilen konsantrasyonlara ulaşabileceği gösterilmiştir [17]. IGF-1 düzeylerinin azaltılmasının antikanser aktivitenin önemli bir parametresi olduğu düşünülmektedir. İkinci araştırmada ise kolon kanseri olan hastalara, tümörün çıkarılmasından 7 gün önce resveratrol uygulanmıştır. Sonuçlarda malign hücrelerin proliferasyonlarında kısıtlı da olsa net bir azalma görülmüştür. Ayrıca resveratrol kolon dokusunda 20-200 μM arasındaki konsantrasyonlarda akümüle olmuştur [66].

Yukarıda belirtilen çalışmalara ek olarak, diyet veya takviye olarak uygulanan resveratrolun değerlendirildiği çeşitli klinik araştırmalar henüz (farklı aşamalarda) sürmektedir. www.clinicaltrials.gov adresinde anahtar kelime olarak "resveratrol" kullanılarak yapılan bir aramada farklı aşamalarda 53 çalışma bulunmuştur (4 Ekim 2012). Daha spesifik olmak gerekirse, aktif olan ancak henüz hasta kaydetmeyen 7 çalışma, aktif olan ve hasta kaydeden 18 çalışma, tamamlanan 21 çalışma, erken sonlandırılan 2 çalışma, statüsü bilinmeyen 2 çalışma (örn. bilgilerin son zamanlarda güncellenmediği çalışmalar) ve geri çekilen 1 çalışma mevcuttur. Bu araştırmaların çoğunda, molekülün tip 2 diyabet, obezite ve kardiyovasküler hastalıklar üzerindeki etkileri incelenmektedir.

Resveratrolun kanser gelişimi üzerindeki etkisini direkt olarak araştıran 8 çalışma mevcuttur. Tamamlanan altı çalışmadan, dört tanesinin sonuçları yayınlanmıştır [15, 43, 62, 66]. Bir çalışmaya hala hasta kaydı yapılmaktadır. Sonuncusunun statüsü ise bilinmemektedir.

Çalışmaların çoğu (dört) resveratrolun kolon kanserindeki etkisini araştırmaya odaklanmıştır. Bir tanesi de molekülün kanserlerin gelişimindeki aktivitesini analiz etmektedir. Kalan 3 çalışma resveratrolun gastrointestinal kanser, foliküler lenfoma ve multipl myelom (resveratrol ile bortezomib arasında bir ilişkiyi kullanarak) üzerindeki etkilerini araştırmaya odaklanmıştır. Ancak bu çalışmaların sonuçları henüz açıklanmamıştır. Yayınlanmış çalışmalara [15, 43, 62, 66] bakılarak yapılabilecek genel çıkarım resveratrolun kanserin önlenmesindeki pozitif özelliklerinin netleşebilmesi için daha ileri çalışmalara ihtiyaç olduğudur. Bu çalışmaların dizaynlarında büyük farklılıklar mevcuttur (örn. resveratrolun dozaj ve formülasyonu, çalışmanın uzunluğu gibi). Çalışmalarda sağlıklı erişkinlerde 5 grama varan dozlar kullanılmıştır.

Resveratrol ile yapılan araştırmalar ile ilgili başlıca kısıtlama ve eleştiri konusu olan nokta resveratrolun sağlık üzerindeki uzun süreli etkilerini araştıran çalışmaların mevcut olmamasıdır. Danimarka Stratejik Araştırma Konseyinin metabolik sendrom, osteoporoz ve kronik enflamasyon tedavisinde resveratrolun etkilerini araştıracak dört yıllık bir çalışma için 3.4 milyon $ sağlayacak olması son zamanlarda açıklanan önemli bir gelişmedir. Dönüm noktası olacak bu çalışmanın ana amacı aşırı vücut ağırlığının (özellikle obezitenin) sağlığa zararlı etkilerinin, resveratrolun diyet takviyesi olarak kullanımı ile nötralize edilebileceğinin gösterilmesidir. Test edilecek etkiler arasında sıklıkla tip 2 diyabet, nonalkolik yağlı karaciğer hastalığı, osteoporoz ve kanser ile sıklıkla ilişkili olan düşük dereceli enflamasyon vardır.

Özet olarak resveratrolun diyetin bir parçası veya diyet takviyesi olarak kullanımı ile ortaya çıkan önleyici ve terapötik etkilerinin ispat edilebilmesi için yeni kontrollü klinik çalışmalara ihtiyaç vardır.

6 Sonuçlar ve Perspektifler

Resveratrol ile insanlarda yapılan klinik çalışmalardan elde edilmeye başlanan veriler, in vitro ve hayvan modellerinde tespit edilen pozitif etkilerin, potansiyel koruyucu veya tedavi edici etkiler yönünden ciddiyetle ele alınmasını gerektirmektedir. Aslında molekülün hücre büyüme ortamında fenotipik etkiler gösterebilmesi için gereken miktarlarının, gerçekte ulaşılabilen serum düzeyleri ile karşılaştırılması oldukça basit görünmektedir.

Gerçekten de son zamanlarda elde edilen veriler, bir yıl süre ile kullanılan çok düşük resveratrol dozlarının (günde iki kez 8 mg) bile birçok kardiyak risk faktörünü azalttığını göstermektedir [93]. 8 mg resveratrol sadece şarap tüketimi (kullanılan şaraba göre 1-3 litreye denk gelmektedir) ile ulaşmak için hala çok yüksek bir doz olabilir. Ancak resveratrolun çeşitli gıdalarda da mevcut olduğu göz önüne alındığında aşırı yüksek bir değer olmadığı görülecektir. Diğer taraftan molekülün çok düşük toksisitesi, kronik hastalıkların önlenmesinde veya tedavisinde kullanılması konusunun ciddi olarak değerlendirilmesi gereksinimini doğurmaktadır.

Ancak resveratrol takviyesi ile elde edilen faydaların uzun süreli kullanımda da devam ederek kronik hastalıkların ortaya çıkmasını engelleyip engelleyemeyeceği bilinmemektedir. Ayrıca az sayıda klinik araştırma var olan binlerce basit bilimsel deneyle karşılaştırıldığında çok yetersiz kalmaktadır.

Sonuç olarak resveratrolun insanlardaki geniş kullanım potansiyelini değerlendirebilmek için insanlarda her tür olası yanıtı araştıran çalışmaların devam etmesi gerektiği aşikardır. Gelecekte yapılacak çalışmalar şunları hedeflemelidir:

1. Hem biyoyararlanım hem de etkinlik yönünden farklı resveratrol dozlarının ve/veya formülasyonlarının araştırılması.
2. Resveratrolun olası bir tedavi alternatifi olarak etkinliğinin belirli tedaviler ve sonuçları ile karşılaştırılması. Resveratrol bazı kronik hastalıkların (tip 2 diyabet, obezite, metabolik sendrom, kardiyovasküler hastalıklar ve nörodejeneratif patolojiler) önlenmesi ve tedavisinde ciddi bir alternatif olarak değerlendirilebilir. Bu amaçla sadece çok sayıdaki bağımsız çalışmaların sonuçlar dikkate alınmalıdır.
3. Uzun süreli resveratrol takviyesinin etkilerinin araştırılması.
4. Resveratrolun metabolitlerinin aktivitelerinin tespit edilmesi.
5. Resveratrolun diğer terapilerle aditif veya sinerjistik etkisi olup olmadığının belirlenmesi.
6. Genetik faktörlerin, biyoyararlanım ve bireylerin resveratrola verdikleri farklı yanıtlar ile ilişkisinin tespit edilmesi.
7. Resveratrol takviyesi için yeni stratejilerin geliştirilmesi.

Referanslar

1. Ahmad KA, Clement MV, Hanif IM et al (2004) Resveratrol inhibits drug-induced apoptosis in human leukemia cells by creating an intracellular milieu nonpermissive for death execution. Cancer Res 64:1452–1459
2. Alex D, Leong EC, Zhang ZJ et al (2010) Resveratrol derivative, trans-3,5,49-trimethoxystilbene, exerts antiangiogenic and vascular disrupting effects in zebrafish through the downregulation of VEGFR2 and cell cycle modulation. J Cell Biochem 109:339–346
3. Alkhalaf M, El-Mowafy A, Renno W et al (2008) Resveratrol-induced apoptosis in human breast cancer cells is mediated primarily through the caspase-3-dependent pathway. Arch Med Res 39:162–168
4. Almeida L, Vaz-da-Silva M, Falcao A et al (2009) Pharmacokinetic and safety profile of trans-resveratrol in a rising multiple-dose study in healthy volunteers. Mol Nutr Food Res 53:7–15
5. Asou H, Koshizuka K, Kyo T et al (2002) Resveratrol a natural product derived from grapes, is a new inducer of differentiation in human myeloid leukemias. Int J Hematol 75:528–533
6. Aziz MH, Afaq F, Ahmad N (2005) Prevention of ultraviolet-B radiation damage by resveratrol in mouse skin is mediated via modulation in survivin. Photochem Photobiol 81:25–31
7. Aziz MH, Nihal M, Fu VX et al (2006) Resveratrol-caused apoptosis of human prostate carcinoma LNCaP cells is mediated via modulation of phosphatidylinositol 3'-kinase/Akt pathway and Bcl-2 family proteins. Mol Cancer Ther 5:1335–1341
8. Banerjee Mustafi S, Chakraborty PK, Raha S (2010) Modulation of Akt and ERK1/2 pathways by resveratrol in chronic myelogenous leukemia (CML) cells results in the downregulation of Hsp70. PLoS ONE 5:e8719
9. Baur JA, Sinclair DA (2006) Therapeutic potential of resveratrol: the in vivo evidence. Nat Rev Drug Discov 5:493–506

10. Baur JA, Pearson KJ, Price NL et al (2006) Resveratrol improves health and survival of mice on a high-calorie diet. Nature 444:337–342
11. Beher D, Wu J, Cumine S et al (2009) Resveratrol is not a direct activator of SIRT1 enzyme activity. Chem Biol Drug Des 74:619–624
12. Bhardwaj A, Sethi G, Vadhan-Raj S et al (2004) Isorhapontigenin and resveratrol suppress oxLDL-induced proliferation and activation of ERK1/2 mitogen-activated protein kinases of bovine aortic smooth muscle cells. Biochem Pharmacol 67:777–785
13. Bhardwaj A, Sethi G, Vadhan-Raj S et al (2007) Resveratrol inhibits proliferation, induces apoptosis, and overcomes chemoresistance through down-regulation of STAT3 and nuclear factor-kappaB regulated antiapoptotic and cell survival gene products in human multiple myeloma cells. Blood 109:2293–2302
14. Boissy P, Andersen TL, Abdallah BM et al (2005) Resveratrol inhibits myeloma cell growth, prevents osteoclast formation, and promotes osteoblast differentiation. Cancer Res 65:9943–9952
15. Boocock DJ, Faust GE, Patel KR (2007) Phase I dose escalation pharmacokinetic study in healthy volunteers of resveratrol, a potential cancer chemopreventive agent. Canc Epidemiol Biomarkers Prev 16:1246–1252
16. Bråkenhielm E, Cao R, Cao Y (2001) Suppression of angiogenesis, tumor growth, and wound healing by resveratrol, a natural compound in red wine and grapes. FASEB J 15:1798–1800
17. Brown VA, Patel KR, Viskaduraki M et al (2010) Repeat dose study of the cancer chemopreventive agent resveratrol in healthy volunteers: safety, pharmacokinetics, and effect on the insulin-like growth factor axis. Cancer Res 70:9003–9011
18. Calabrese EJ, Mattson MP, Calabrese V (2010) Resveratrol commonly displays hormesis: occurrence and biomedical significance. Hum Exp Toxicol 29:980–1015
19. Cao Y, Fu ZD, Wang F et al (2005) Anti-angiogenic activity of resveratrol, a natural compound from medicinal plants. J Asian Nat Prod Res 7:205–213
20. Cao Z, Fang J, Xia C et al (2004) trans-3,4,5'-Trihydroxystilbene inhibits hypoxia-inducible factor 1alpha and vascular endothelial growth factor expression in human ovarian cancer cells. Clin Cancer Res 10:5253–5263
21. Chan JY, Phoo MS, Clement MV et al (2008) Resveratrol displays converse dose-related effects on 5-fluorouracil-evoked colon cancer cell apoptosis: the roles of caspase-6 and p53. Cancer Biol Ther 7:1305–1312
22. Chan WK, Delucchi AB (2000) Resveratrol, a red wine constituent, is a mechanism-based inactivator of cytochrome P450 3A4. Life Sci 67:3103–3012
23. Chen Q, Ganapathy S, Singh KP et al (2010) Resveratrol induces growth arrest and apoptosis through activation of FOXO transcription factors in prostate cancer cells. PLoS ONE 5:e15288
24. Chen ZH, Hurh YJ, Na HK et al (2004) Resveratrol inhibits TCDD-induced expression of CYP1A1 and CYP1B1 and catechol estrogen-mediated oxidative DNA damage in cultured human mammary epithelial cells. Carcinogenesis 25:2005–2013
25. Ciolino HP, Daschner PJ, Yeh GC (1998) Resveratrol inhibits transcription of CYP1A1 in vitro by preventing activation of the aryl hydrocarbon receptor. Cancer Res 58:5707–5712
26. Clément MV, Hirpara JL, Chawdhury SH et al (1998) Chemopreventive agent resveratrol, a natural product derived from grapes, triggers CD95 signaling-dependent apoptosis in human tumor cells. Blood 92:996–1002
27. Cucciolla V, Borriello A, Oliva A et al (2007) Resveratrol: from basic science to the clinic. Cell Cycle 6:2495–2510
28. Dai H, Kustigian L, Carney D et al (2010) SIRT1 activation by small molecules: kinetic and biophysical evidence for direct interaction of enzyme and activator. J Biol Chem 285:32695–32703

29. Della Ragione F, Cucciolla V, Borriello A et al (1998) Resveratrol arrests the cell division cycle at S/G2 phase transition. Biochem Biophys Res Commun 250:53–58
30. Della Ragione F, Cucciolla V, Criniti V et al (2003) p21Cip1 gene expression is modulated by Egr1: a novel regulatory mechanism involved in the resveratrol antiproliferative effect. J Biol Chem 278:23360–23368
31. El-Mowafy AM, White RE (1999) Resveratrol inhibits MAPK activity and nuclear translocation in coronary artery smooth muscle: reversal of endothelin-1 stimulatory effects. FEBS Lett 451:63–67
32. Elliott PJ, Walpole S, Morelli L et al (2009) Resveratrol/SRT501. Sirtuin SIRT1 activator, Treatment of type 2 diabetes. Drugs Fut 34:291–295
33. Estrov Z, Shishodia S, Faderl S et al (2003) Resveratrol blocks interleukin-1beta-induced activation of the nuclear transcription factor NF-kappaB, inhibits proliferation, causes S-phase arrest, and induces apoptosis of acute myeloid leukemia cells. Blood 102:987–995
34. Floreani M, Napoli E, Quintieri L et al (2003) Oral administration of trans-resveratrol to guinea pigs increases cardiac DT-diaphorase and catalase activities, and protects isolated atria from menadione toxicity. Life Sci 72:2741–2750
35. Fulda S, Debatin KM (2005) Resveratrol-mediated sensitisation to TRAIL-induced apoptosis depends on death receptor and mitochondrial signalling. Eur J Cancer 41:786–798
36. George J, Singh M, Srivastava AK et al (2011) Resveratrol and black tea polyphenol combination synergistically suppress mouse skin tumors growth by inhibition of activated MAPKs and p53. PLoS ONE 6:e23395
37. Guarente L (1999) Diverse and dynamic functions of the Sir silencing complex. Nat Genet 23:281–285
38. Haider UG, Roos TU, Kontaridis MI et al (2005) Resveratrol inhibits angiotensin II- and epidermal growth factor-mediated Akt activation: role of Gab1 and Shp2. Mol Pharmacol 68:41–48
39. Haider UG, Sorescu D, Griendling KK et al (2002) Resveratrol suppresses angiotensin II-induced Akt/protein kinase B and p70 S6 kinase phosphorylation and subsequent hypertrophy in rat aortic smooth muscle cells. Mol Pharmacol 62:772–777
40. Hanahan D, Weinberg RA (2011) Hallmarks of cancer: the next generation. Cell 144:646–674
41. Hayashibara T, Yamada Y, Nakayama S et al (2002) Resveratrol induces downregulation in survivin expression and apoptosis in HTLV-1-infected cell lines: a prospective agent for adult T cell leukemia chemotherapy. Nutr Cancer 44:193–201
42. Holmes-McNary M, Baldwin AS Jr (2000) Chemopreventive properties of trans-resveratrol are associated with inhibition of activation of the IkappaB kinase. Cancer Res 60:3477–3483
43. Howells LM, Berry DP, Elliott PJ et al (2011) Phase I randomised double-blind pilot study of micronized resveratrol (SRT501) in patients with hepatic metastases—safety, pharmacokinetics and pharmacodynamics. Cancer Prev Res (Phila) 4:1419–1425
44. Howitz KT, Bitterman KJ, Cohen HY et al (2003) Small molecule activators of sirtuins extend Saccharomyces cerevisiae lifespan. Nature 425:191–196
45. Jang M, Cai L, Udeani GO et al (1997) Cancer chemopreventive activity of resveratrol, a natural product derived from grapes. Science 275:218–222
46. Kaminski J, Lançon A, Aires V et al (2012) Resveratrol initiates differentiation of mouse skeletal muscle-derived C2C12 myoblasts. Biochem Pharmacol pii S0006–2952(12):00579–5. doi:10.1016/j.bcp.2012.08.023
47. Ko YC, Chang CL, Chien HF et al (2011) Resveratrol enhances the expression of death receptor Fas/CD95 and induces differentiation and apoptosis in anaplastic large-cell lymphoma cells. Cancer Lett 309:46–53
48. Kundu JK, Shin YK, Kim SH et al (2006) Resveratrol inhibits phorbol ester-induced expression of COX-2 and activation of NF-kappaB in mouse skin by blocking IkappaB kinase activity. Carcinogenesis 27:1465–1474

49. la Porte C, Voduc N, Zhang G et al (2010) Steady-State pharmacokinetics and tolerability of trans-resveratrol 2000 mg twice daily with food, quercetin and alcohol (ethanol) in healthy human subjects. Clin Pharmacokinet 49:449–454
50. Lagouge M, Argmann C, Gerhart-Hines Z et al (2006) Resveratrol improves mitochondrial function and protects against metabolic disease by activating SIRT1 and PGC-1alpha. Cell 127:1109–1122
51. Lee JE, Safe S (2001) Involvement of a post-transcriptional mechanism in the inhibition of CYP1A1 expression by resveratrol in breast cancer cells. Biochem Pharmacol 62:1113–1124
52. Lee MH, Choi BY, Kundu JK et al (2009) Resveratrol suppresses growth of human ovarian cancer cells in culture and in a murine xenograft model: eukaryotic elongation factor 1A2 as a potential target. Cancer Res 69:7449–7458
53. Leong CW, Wong CH, Lao SC et al (2007) Effect of resveratrol on proliferation and differentiation of embryonic cardiomyoblasts. Biochem Biophys Res Commun 360:173–180
54. Li F, Gong Q, Dong H et al (2012) Resveratrol, a neuroprotective supplement for Alzheimer's disease. Curr Pharm Des 18:27–33
55. Lin HY, Tang HY, Keating T et al (2008) Resveratrol is pro-apoptotic and thyroid hormone is anti-apoptotic in glioma cells: both actions are integrin and ERK mediated. Carcinogenesis 29:62–69
56. Mader I, Wabitsch M, Debatin KM et al (2010) Identification of a novel proapoptotic function of resveratrol in fat cells: SIRT1—independent sensitization to TRAIL-induced apoptosis. FASEB J 24:1997–2009
57. Manna SK, Mukhopadhyay A, Aggarwal BB (2000) Resveratrol suppresses TNF-induced activation of nuclear transcription factors NF-kappa B, activator protein-1, and apoptosis: potential role of reactive oxygen intermediates and lipid peroxidation. J Immunol 164:6509–6519
58. Michan S, Sinclair D (2007) Sirtuins in mammals: insights into their biological function. Biochem J 404:1–13
59. Miller RA, Harrison DE, Astle CM et al (2011) Rapamycin, but not resveratrol or simvastatin, extends life span of genetically heterogeneous mice. J Gerontol A Biol Sci Med Sci 66:191–201
60. Mohan J, Gandhi AA, Bhavya BC et al (2006) Caspase-2 triggers Bax-Bak-dependent and -independent cell death in colon cancer cells treated with resveratrol. J Biol Chem 281:17599–17611
61. Morselli E, Mariño G, Bennetzen MV et al (2011) Spermidine and resveratrol induce autophagy by distinct pathways converging on the acetylproteome. J Cell Biol 192:615–629
62. Nguyen AV, Martinez M, Stamos MJ et al (2009) Results of a phase I pilot clinical trial examining the effect of plant-derived resveratrol and grape powder on Wnt pathway target gene expression in colonic mucosa and colon cancer. Canc Manag Res 1:25–37
63. Opipari AW Jr, Tan L, Boitano AE et al (2004) Resveratrol-induced autophagocytosis in ovarian cancer cells. Cancer Res 64:696–703
64. Park JW, Choi YJ, Suh SI et al (2001) Bcl-2 overexpression attenuates resveratrol-induced apoptosis in U937 cells by inhibition of caspase-3 activity. Carcinogenesis 22:1633–1639
65. Park SJ, Ahmad F, Philp A et al (2012) Resveratrol ameliorates aging-related metabolic phenotypes by inhibiting cAMP Phosphodiesterases. Cell 148:421–433
66. Patel KR, Brown VA, Jones DJ et al (2010) Clinical pharmacology of resveratrol and its metabolites in colorectal cancer patients. Cancer Res 70:7392–7399
67. Pearson KJ, Baur JA, Lewis KN et al (2008) Resveratrol delays age-related deterioration and mimics transcriptional aspects of dietary restriction without extending life span. Cell Metab 8:157–168
68. Pöhland T, Wagner S, Mahyar-Roemer M et al (2006) Bax and Bak are the critical complementary effectors of colorectal cancer cell apoptosis by chemopreventive resveratrol. Anticancer Drugs 17:471–478

69. Pozo-Guisado E, Lorenzo-Benayas MJ, Fernández-Salguero PM (2004) Resveratrol modulates the phosphoinositide 3-kinase pathway through an estrogen receptor alpha-dependent mechanism: relevance in cell proliferation. Int J Cancer 109:167–173
70. Pozo-Guisado E, Merino JM, Mulero-Navarro S et al (2005) Resveratrol-induced apoptosis in MCF-7 human breast cancer cells involves a caspase-independent mechanism with downregulation of Bcl-2 and NF-kappaB. Int J Cancer 115:74–84
71. Price NL, Gomes AP, Ling AJ et al (2012) SIRT1 is required for AMPK activation and the beneficial effects of resveratrol on mitochondrial function. Cell Metab 15:675–690
72. Puissant A, Auberger P (2010) AMPK- and p62/SQSTM1-dependent autophagy mediate Resveratrol-induced cell death in chronic myelogenous leukemia. Autophagy 6:655–657
73. Puissant A, Robert G, Fenouille N et al (2010) Resveratrol promotes autophagic cell death in chronic myelogenous leukemia cells via JNK-mediated p62/SQSTM1 expression and AMPK activation. Cancer Res 70:1042–1052
74. Reybier K, Perio P, Ferry G et al (2011) Insights into the redox cycle of human quinone reductase 2. Free Radic Res 45:1184–1195
75. Roy P, Kalra N, Prasad S et al (2009) Chemopreventive potential of resveratrol in mouse skin tumors through regulation of mitochondrial and PI3 K/AKT signaling pathways. Pharm Res 26:211–217
76. Scarlatti F, Maffei R, Beau I et al (2008) Role of non-canonical Beclin 1-independent autophagy in cell death induced by resveratrol in human breast cancer cells. Cell Death Differ 8:1318–1329
77. Shankar S, Chen Q, Siddiqui I et al (2007) Sensitization of TRAIL-resistant LNCaP cells by resveratrol (3, 49, 5 tri-hydroxystilbene): molecular mechanisms and therapeutic potential. J Mol Signal 2:7
78. Shankar S, Siddiqui I, Srivastava RK (2007) Molecular mechanisms of resveratrol (3,4,5-trihydroxy-trans-stilbene) and its interaction with TNF-related apoptosis inducing ligand (TRAIL) in androgen-insensitive prostate cancer cells. Mol Cell Biochem 304:273–285
79. She QB, Huang C, Zhang Y et al (2002) Involvement of c-jun NH(2)-terminal kinases in resveratrol-induced activation of p53 and apoptosis. Mol Carcinog 33:244–250
80. Shih A, Zhang S, Cao HJ et al (2004) Inhibitory effect of epidermal growth factor on resveratrol-induced apoptosis in prostate cancer cells is mediated by protein kinase C-alpha. Mol Cancer Ther 3:1355–1364
81. Smith TG, Robbins PA, Ratcliffe PJ (2008) The human side of hypoxia-inducible factor. Br J Haematol 141:325–334
82. Soleas GJ, Yan J, Goldberg DM (2001) Measurement of trans-resveratrol, (1)-catechin, and quercetin in rat and human blood and urine by gas chromatography with mass selective detection. Methods Enzymol 335:130–145
83. Soleas GJ, Yan J, Goldberg DM (2001) Ultrasensitive assay for three polyphenols (catechin, quercetin and resveratrol) and their conjugates in biological fluids utilizing gas chromatography with mass selective detection. J Chromatogr B Biomed Sci Appl 757:161–172
84. Spanier G, Xu H, Xia N et al (2009) Resveratrol reduces endothelial oxidative stress by modulating the gene expression of superoxide dismutase 1 (SOD1), glutathione peroxidase 1 (GPx1) and NADPH oxidase subunit (Nox4). J Physiol Pharmacol 60:111–116
85. Srivastava RK, Unterman TG, Shankar S (2010) FOXO transcription factors and VEGF neutralizing antibody enhance antiangiogenic effects of resveratrol. Mol Cell Biochem 337:201–212
86. Stewart JR, Christman KL, O'Brian CA (2000) Effects of resveratrol on the autophosphorylation of phorbol ester-responsive protein kinases: inhibition of protein kinase D but not protein kinase C isozyme autophosphorylation. Biochem Pharmacol 60:1355–1359

87. Subbaramaiah K, Chung WJ, Michaluart P et al (1998) Resveratrol inhibits cyclooxygenase-2 transcription and activity in phorbol ester-treated human mammary epithelial cells. J Biol Chem 273:21875–21882
88. Szewczuk LM, Forti L, Stivala LA et al (2004) Resveratrol is a peroxidase-mediated inactivator of COX-1 but not COX-2: a mechanistic approach to the design of COX-1 selective agents. J Biol Chem 279:22727–22737
89. Takaoka M (1939) Resveratrol, a new phenolic compound, from Veratrum grandiflorum. Nippon Kagaku Kaishi 60:1090–1100
90. Tang HY, Shih A, Cao HJ et al (2006) Resveratrol-induced cyclooxygenase-2 facilitates p53-dependent apoptosis in human breast cancer cells. Mol Cancer Ther 5:2034–2042
91. Timmers S, Konings E, Bilet L et al (2011) Calorie restriction-like effects of 30 days of resveratrol supplementation on energy metabolism and metabolic profile in obese humans. Cell Metab 14:612–622
92. Tinhofer I, Bernhard D, Senfter M et al (2001) Resveratrol, a tumor-suppressive compound from grapes, induces apoptosis via a novel mitochondrial pathway controlled by Bcl-2. FASEB J 15:1613–1615
93. Tomé-Carneiro J, Gonzálvez M, Larrosa M et al (2012) One-year consumption of a grape nutraceutical containing resveratrol improves the inflammatory and fibrinolytic status of patients in primary prevention of cardiovascular disease. Am J Cardiol 110:356–363
94. Trincheri NF, Nicotra G, Follo C et al (2007) Resveratrol induces cell death in colorectal cancer cells by a novel pathway involving lysosomal cathepsin D. Carcinogenesis 28:922–931
95. Ulrich S, Huwiler A, Loitsch S et al (2007) De novo ceramide biosynthesis is associated with resveratrol-induced inhibition of ornithine decarboxylase activity. Biochem Pharmacol 74:281–289
96. Vang O, Ahmad N, Baile CA et al (2011) What is new for an old molecule? Systematic review and recommendations on the use of resveratrol. PLoS ONE 6:e19881
97. Walle T, Hsieh F, DeLegge MH et al (2004) High absorption but very low bioavailability of oral resveratrol in humans. Drug Metab Dispos 32:1377–1382
98. Wang Y, Romigh T, He X et al (2010) Resveratrol regulates the PTEN/AKT pathway through androgen receptor dependent and -independent mechanisms in prostate cancer cell lines. Hum Mol Genet 19:4319–4329
99. Wong RH, Howe PR, Buckley JD et al (2011) Acute resveratrol supplementation improves flow-mediated dilatation in overweight/obese individuals with mildly elevated blood pressure. Nutr Metab Cardiovasc Dis 21:851–856
100. Woo JH, Lim JH, Kim YH et al (2004) Resveratrol inhibits phorbol myristate acetate-induced matrix metalloproteinase-9 expression by inhibiting JNK and PKC delta signal transduction. Oncogene 23:1845–1853
101. Wu H, Liang X, Fang Y et al (2008) Resveratrol inhibits hypoxia-induced metastasis potential enhancement by restricting hypoxia-induced factor-1 alpha expression in colon carcinoma cells. Biomed Pharmacother 62:613–621
102. Wu Y, Li X, Zhu JX et al (2011) Resveratrol-activated AMPK/SIRT1/autophagy in cellular models of Parkinson's disease. Neurosignals 19:163–174
103. Yamamoto H, Schoonjans K, Auwerx J (2007) Sirtuin functions in health and disease. Mol Endocrinol 21:1745–1755
104. Yu LJ, Wu ML, Li H et al (2008) Inhibition of STAT3 expression and signaling in resveratrol-differentiated medulloblastoma cells. Neoplasia 10:736–744
105. Yu R, Hebbar V, Kim DW et al (2001) Resveratrol inhibits phorbol ester and UV-induced activator protein 1 activation by interfering with mitogen-activated protein kinase pathways. Mol Pharmacol 60:217–224
106. Zamora-Ros R, Urpi-Sarda M, Lamuela-Raventós RM et al (2012) High urinary levels of resveratrol metabolites are associated with a reduction in the prevalence of cardiovascular risk factors in high-risk patients. Pharmacol Res 65:615–620

107. Zhang F, Liu J, Shi JS (2010) Anti-inflammatory activities of resveratrol in the brain: role of resveratrol in microglial activation. Eur J Pharmacol 636:1–7
108. Zhang S, Cao HJ, Davis FB et al (2004) Oestrogen inhibits resveratrol-induced post-translational modification of p53 and apoptosis in breast cancer cells. Br J Cancer 91:178–185
109. Zhao K, Harshaw R, Chai X et al (2004) Structural basis for nicotinamide cleavage and ADP-ribose transfer by NAD + -dependent Sir2 histone/protein deacetylases. Proc Natl Acad Sci USA 101:8563–8568
110. Zykova TA, Zhu F, Zhai X et al (2008) Resveratrol directly targets COX-2 to inhibit carcinogenesis. Mol Carcinog 47:797–805

Kuersetin: Kansere Karşı Pleiotropik Kinaz İnhibitörü

Gian Luigi Russo, Maria Russo, Carmela Spagnuolo, Idolo Tedesco, Stefania Bilotto, Roberta Iannitti ve Rosanna Palumbo

Özet

Kanser riskinin anlamlı olarak azaltılması için meyve ve sebze tüketiminin artırılması kolay bir strateji olabilir. Çoğunlukla epidemiyolojik verilerden kaynaklanan bu gözlemden yola çıkan yeni kemoprevensiyon alanı kansere karşı primer ve sekonder korumayı amaçlamaktadır. Kemoprevensiyon tümörijenezi erken evrelerinde durdurabilen, geriye çevirebilen veya geciktirebilen doğal veya sentetik bileşiklerin kullanılması olarak tanımlanmaktadır. Çok sayıda fitokimyasalın kanser hücrelerinin proliferasyonunu regüle eden birçok önemli faktörü eş zamanlı olarak inhibe veya modüle etme potansiyelleri vardır. Kuersetin potansiyel kemopreventif özelliği olan bir flavonoiddir. Multipl intraselüler hedefleri olan fonksiyonel pleiotropik bir moleküldür. Kanser hücrelerinde genel olarak değişmiş olan farklı hücre sinyal proseslerini (normal hücreler üzerinde minimum toksik etki ile) etkiler. Multipl yolakların aynı anda hedeflenmesi malign hücrelerin öldürülmesine ve ilaç rezistansının başlamasının geciktirilmesine yardımcı olabilir. Kuersetinin tetikleyebildiği farklı substratlar mevcuttur. Biz molekülün kanser hücrelerinde denetimsiz hücre büyümesinde rol oynayan protein kinazları inhibe edebilme yeteneğini inceleyeceğiz.

G. L. Russo (✉) · M. Russo · C. Spagnuolo · I. Tedesco · S. Bilotto · R. Iannitti
Istituto Scienzedell'Alimentazione, Consiglio Nazionale delle Ricerche,
83100, Avellino, Italy
e-mail: glrusso@isa.cnr.it

R. Iannitti · R. Palumbo
Istituto Biostrutture e Bioimmagini, Consiglio Nazionale delle Ricerche, 83100, Naples,
Italy

V. Zappia et al. (eds.), *Advances in Nutrition and Cancer,*
Cancer Treatment and Research 159, DOI: 10.1007/978-3-642-38007-5_11,
© Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2014

Anahtar Kelimeler

Kuersetin · Kinaz inhibitörü · Antioksidanlar · Kemoprevensiyon · Flavonoidler · Polifenoller

Kısaltmalar

Akt/PKB	v-akt mürin timoma viral onkogen homoloğu 1/protein kinaz B
PI_3K	Fosfatidilinositol-4,5-bisfosfonat 3-kinaz
Hck	Hematopoetik hücre kinaz
GSK-3β	Glikojen sentaz kinaz-3β
Nrf2	Nükleer faktör (eritroid-kaynaklı 2)-benzeri 2
NF-κB	B hücrelerinde nükleer faktör kappa hafif polipeptid gen güçlendirici
HO-1	Heme oksijenaz-1
ROS	Reaktif oksijen türleri
CK2	Kazein kinaz 2
Raf-1	V-raf-1 mürin lösemi viral onkogen homolog 1
ERK1/2	Ekstraselüler sinyal-regüle kinaz 1/2
MEK-1 veya MAP2K1	Mitojen-aktive protein kinaz kinaz 1
PTEN	Kromozomda tespit edilen fosfataz ve tensin homoloğu 10
IKKα/β	B hücrelerinde kappa hafif polipeptid gen güçlendirici inhibitörü, kinaz α/β
IκBα	B hücre inhibitöründe nükleer faktör kappa hafif polipeptid gen güçlendirici, α/β
S6K1	Ribozomal protein S6 kinaz
$p90^{RSK}$	90kDA polipeptid
AMPK	AMP-aktive protein kinaz

İçindekiler

1 Giriş 187
2 Kuersetinin Antioksidan Özellikleri 187
3 Kuersetinin Biyoyararlanımı ve Metabolizması 189
4 Kuersetinin Güvenliği 192
5 Kuersetin ve Kanser 193
5.1 Kuersetinin Protein Kinaz İnhibitör Etkisi 194
6 Sonuçlar: Pleiotropi ile Sinerji Karşılaştırması 196
Referanslar 200

1 Giriş

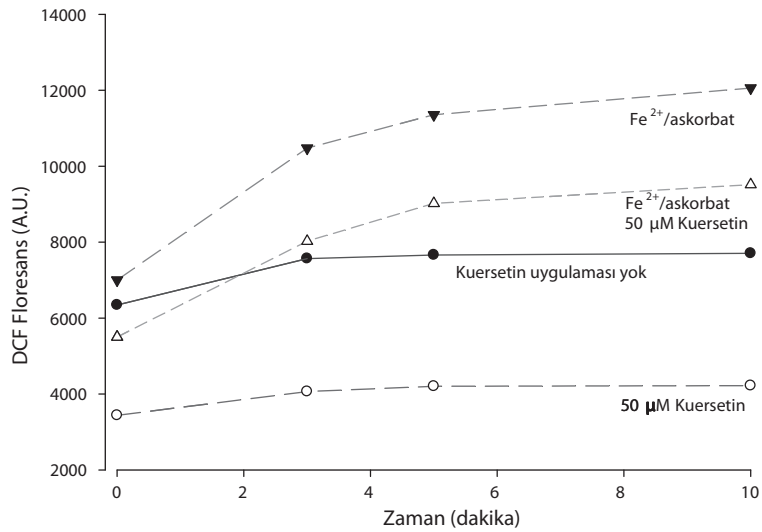
Yüzlerce bilimsel çalışmada insan diyetinde mevcut olan non-nütrisyonel bileşiklerin kanser gibi dejeneratif hastalıkları önleyebildikleri gösterilmiştir [82, 98, 100]. Genel olarak fitokimyasallar olarak bilinen bu heterojen molekül sınıfı, flavonlar, kalkonlar, flavonollar, flavononlar, flavan-3-ollar, izoflavonlar, antosinidinler, flavanonollar alt gruplarına ayrılan 6000'den fazla flavonoid sınıfına ait polifenolu içermektedir [38]. Bunlar, bitkisel kaynaklı gıdalar olan meyve ve sebzeler ile çay, bira, meyve suları gibi içeceklerde ve birçok gıda takviyesinde veya bitkisel kaynaklı tedavilerin içinde bulunurlar. Bitkisel dokulardaki hücre metabolizmasında rol oynayan enzimlerin regüle edilmesinde ve yabancı ajanlara (radyasyon, virüsler, parazitler) karşı kullanılan defans mekanizmalarında çok çeşitli görevleri olan fitokimyasallar hayvan hücrelerinde de pleiotropik etkilerle ilişkilidir.

Bilim adamlarının fitokimyasallara ilgilerinin artması, memeli hücrelerindeki biyolojik hedeflerinin, hücre döngüsü kontrolü, apoptozdan sakınma, anjiogenez ve metastazlar gibi enflamatuar prosesler ve onkojenik transformasyonlar olduğunun gösterilmesi ile başlamıştır. Bu sonuçlar çok sayıda epidemiyolojik kanıtla desteklenen ve fitokimyasalların günlük tüketimlerinin çeşitli kanser tiplerini azaltabileceğini gösteren preklinik çalışmalardan elde edilmiştir [18, 86, 98, 100]. Bu konu tespit edilen pozitif ilişkiye rağmen hala tartışma ve eleştirilere hedef olmaktadır. Bu durum meyve ve sebzelerden zengin bir diyetin dejeneratif hastalıklardan koruma mekanizmaları ile ilgili açıklamaların yetersiz kalmaları ve fitokimyasaların etki mekanizmalarının tanımlanabilmesini sağlayacak hücre ve hayvan modellerinde yapılması gereken daha ileri biyokimyasal ve genetik çalışmalara ihtiyaç olmasından kaynaklanmaktadır [5, 16].

Biz son dekad içindeki konsantrasyonumuzu çok çeşitli meyve, sebze ve içeceklerde bulunabilen (örn. çay ve şarapta bulunan kuersetin diyet alışkanlıklarına bağlı olarak günde 10-100 mg tüketilir) majör bir diyet flavonoid kaynağı olan kuersetinin (3, 30, 40,5, 7-pentahidroksiflavon) aktivitesine yönlendirmiş bulunuyoruz [4, 43]. Molekülün antioksidan, antienflamatuar, antianjiogenik, antiproliferatif ve proapoptotik özelliklerini göstermeyi amaçlayan farklı çalışmalar yapılmıştır [55, 85]. Bu bölümde molekülün denetimsiz olarak büyüyen kanser hücrelerindeki protein kinazları inhibe edebilme yeteneği üzerine odaklanacağız.

2 Kuersetinin Antioksidan Özellikleri

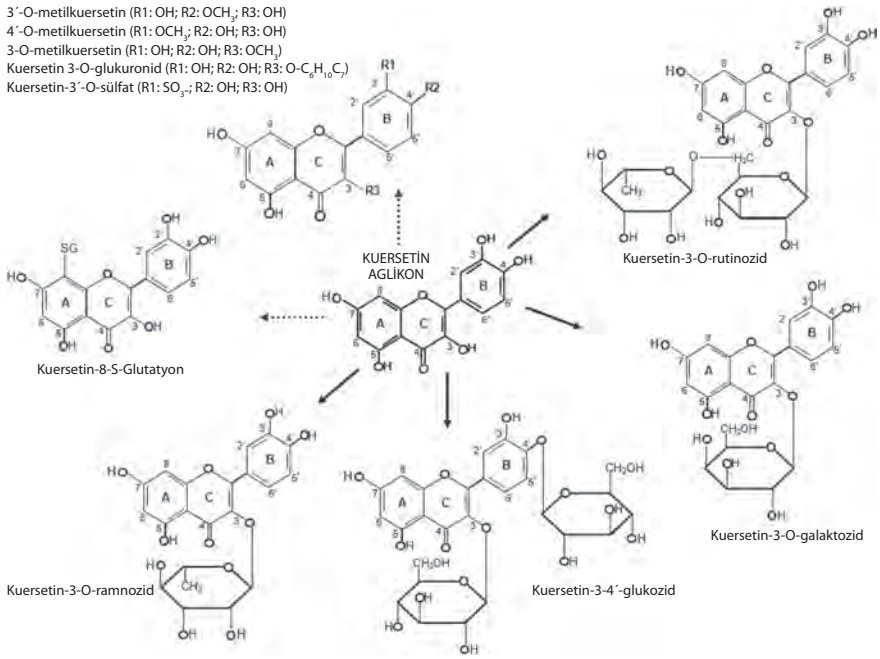
Çeşitli in vitro [10] ve in vivo [79] çalışmalarda da gösterildiği üzere polifenoller arasındaki en güçlü antioksidanlardan bir tanesi kuersetindir. Flavonoidler genel olarak reaktif oksijen türlerinin temizlenmesi ile oluşan radikalleri stabilize edebildikleri için güçlü antioksidanlardır. Bu özelliklerini flavonoidlerin aroksil radikal türlerinde bulunan multipl mezomerik yapıların geniş kapsamlı elektron delokalizasyonuna borçludurlar [10]. Kuersetin ve kaemferol yüksek oranda etkili radikal temizleyicilerdir. Ancak sadece ku-



Şekil 1 Kuersetinin U2OS hücre dizisindeki antioksidan etkinliği DMSO (%0.1, vehikül) veya %10 FBS'li DMEM ortamında 50 μg kuersetin uygulanan U2OS hücrelerinde bazal ve Fe^{2+} askorbat ile indüklenen reaktif oksijen türlerinin (ROS) üretiminin zaman içindeki değişimi. 0'dan 10. dakikaya kadar olan ROS üretimi oksidasyona duyarlı 5,6-karboksi-2′7′-diklorofluoresein diasetat DCHF-DA (10 μM) probu kullanılarak DCF floresan olarak ölçülmüştür [88].

ersetin aroksil radikal bu flavonolu potent bir antioksidan yapmaya yetecek kadar yavaş bozulmaktadır [10]. Kuersetin farklı hücre dizilerindeki intraselüler radikal oksijen türlerini etkili bir biçimde temizleyebilme özelliğine sahiptir. Kuersetin şekil 1'de bahsi geçen örnekte oksidatif etkinin olup olmamasından bağımsız olarak ve hücre sağkalımına etki yapmaksızın (burada gösterilmemiştir) radikal oksijen türlerini temizleyebilme özelliğini korumuştur. Ancak diğer bölümlerde de tartışıldığı üzere molekülün biyolojik özellikleri ile antioksidan kapasitesi her zaman örtüşmemektedir [82]. Bu nedenle kuersetinin sadece antioksidan etkisine dayanan antikanser ve proapoptotik fonksiyonlarının dikkatle yorumlanması gerekmektedir. Antioksidan kapasitesi ile biyolojik etkileri arasındaki fonksiyonel linkin varlığının önemli bir göstergesi kuersetine yapısal ve fonksiyonel özellikleri benzer bileşiklerin paralel kullanımında (örn. mirisetin ve/veya (+) kateşin) kuersetin gibi radikal oksijen türlerini azalttıkları ancak aynı antikanser etkilere sahip olmadıklarının bulunmuş olması olabilir [82, 83].

Kuersetinin antioksidan potansiyelinin diğer polifenoller ile karşılaştırılması bir paradoksa neden olmaktadır: Molekülün radikal oksijen türlerini temizleme aktivitesi, hızlıca tiyollere karşı yüksek reaktivitesi olan ve protein fonksiyonlarının bozulmasına yol açabilen oksidatif ürünlere dönüşmesine neden olmaktadır. Bu nedenle kuersetinin sahip olduğu koruma gücünün net sonucu, toksik ürünlerinin neden olduğu hasar lehine paradoksik olarak bozulabilir. Kuersetin akciğer hücrelerin-



Şekil 2 İnsanda kuersetinin ve en önemli glikozidlerinin ve metabolitlerinin yapısı.

deki H_20_2 ile indüklenen DNA hasarına karşı etkili koruma sağlamaktadır. Ancak bu pozitif etki GSH düzeyinde azalma, LDH sızıntısında artma ve sistosolik içermeyen kalsiyum konsantrasyonları nedeniyle dengelenmektedir [9]. İlginç olan bir başka nokta da kuersetinin in vivo ortamda pratik olarak ulaşılması imkansız olan 100 μM konsantrasyonunda kullanımının birçok hücre dizisinde toksik etki göstermesidir. Aynı grup molekülün antioksidan olarak kullanımında kuersetin-kuinon (QQ) türlerinin oluştuğu da gösterilmiştir. QQ diğer semikuinon radikallere ve kuinonlara benzer şekilde akril protein tiyollerin oluşumuna yol açtığı için toksiktir. QQ'ya karşı korunma uygun konsantrasyonlarda bulunduğunda QQ'yu hızlıca tecrit eden GSH ile sağlanabilir [8]. Ancak QQ türlerinin potansiyel toksik etkileri henüz in vivo ortamda ispatlanmamıştır.

3 Kuersetinin Biyoyararlanımı ve Metabolizması

Kuersetinin in vivo antioksidan özellikleri absorpsiyon, metabolizma ve biyoyararlanımından etkilenir. Kuersetin gıdalarda farklı şekilde glikolize olmuş formlarda bulunur. Aglikon olarak bulunmaz (örn. şeker grupları yoktur; Şekil 2). Bu nedenle biyoyararlanımı çeşitli gıdalardaki glikozidlerin tipine bağlı olarak değişmektedir. Kuersetin absorpsiyondan sonra ince bağırsak, kolon, karaciğer ve böbrek gibi farklı organlarda metabolize olur. Molekül bu ortamda metil ve sulfat grupları ve glukuronik asit ile konjuge olarak

insanlardaki majör konjugatları oluşturur: 3O-metilkuersetin (izohamnetin), kuersetin-3-O-glukuronid, 3-O-metilkuersetin-3-O-glukronid, kuersetin-30-O-sulfat ve kuersetin glutatyon konjugat [42, 57, 104] (Şekil 2). Burada dikkate değer olan nokta farklı kuersetin glikozidlerinde bulunan şeker moleküllerinin antioksidan aktivitesini ciddi anlamda azaltabilmesidir. Bu nedenle gıdalarda hemen hiç bulunmayan aglikon genel olarak şeker molekülünün bağlandığı noktaya bağlı olarak glikozid formundan daha yüksek antioksidan etkiye sahiptir [68]. Ancak en azından sıçanlarda kuersetin uygulanmasından sonra alınan plazmanın bakır sulfat tarafından indüklenen lipid peroksidasyonuna daha dayanıklı olması, kuersetinin bazı konjuge metabolitlerinin plazma, metal iyon ile indüklenen lipid peroksidasyonuna maruz kaldığında efektif antioksidan etki gösterdiğinin güçlü bir göstergesidir [19]. Konjuge metabolitlerin antioksidan aktiviteleri in vitro ortamda da gözlenmiştir [79, 92]. Bunlardan bazıları tüm aglikona benzer şekilde ancak daha düşük seviyede proapoptotik fonksiyona sahiptir ([85] nolu referansta incelenmiştir). Kuersetinin absorpsiyonu insanlardaki kuersetin-3-rutinozidin muhtemelen yarısını fenil-C2-asitlerine metabolize eden bağırsak mikroflorasından da etkilenmektedir [75]. Örnek vermek gerekirse kuersetin-3-O-ramnoglukozid ve kuersetin-3-O-ramnozid insan enzimleri tarafından tanınmazlar. Bunlar farklı bakteri suşları tarafından kuersetine hidrolize edilirler [6, 90]. Ku-3-O-glukozidi metabolize edebilme gücüne sahip bakterilerin sayısının 10-109/g kuru kütle olduğu tahmin edilmektedir [91].

Diyetle alınan kuersetinin absorpsiyonunun ve metabolizmasının net sonucu olarak ulaşılan plazma konsantrasyonları nanomolar aralıktadır (<100 nM). Bu düzey takviye ile mikromolar konsantrasyonlara yükseltilebilir. Örnek olarak 1 g/gün kuersetin takviyesinin 28 gün boyunca kullanımı ile plazma konsantrasyonlarının 1.5 μM düzeyine yükselmesi verilebilir [15, 65]. Ancak serum total LDL düzeyleri, platelet agregasyonu, platelet tromboksan B2 üretimi, kan basıncı ve istirahat kalp atım sayısını da içeren trombojenik risk faktörleri üzerinde bir etki görülmemiştir [15]. Sağlıklı gönüllülerde yapılan daha güncel uluslararası bir çalışmada da benzer sonuçlar elde edilmiştir [26]. Bu bulgular, kuersetinin güçlü antioksidan etkisini tespit edildiği in vitro deneylerde ve hayvan çalışmalarında bulunan sonuçlar ile kontrast teşkil etmektedir [24, 29, 30, 64]. Bu da gıdalarda bulunan kuersetinin koruyucu etkilerinin molekülün sahip olduğu özelliklerin dışındaki faktörler ile kontrol edildiğini ya da yukarıda da bahsedildiği üzere kuersetinin antioksidan etkileri dışında farklı etkilere de sahip olabileceğini düşündürmektedir.

İki mükemmel analizde insanlarda kuersetin, kuersetin glikozidleri veya kuersetin ile zenginleştirilmiş gıda takviyeleri yapılan çalışmaların sonuçları incelenmiştir [65, 90]. 0.008-4 gr arası kuersetin alımı ile 0.14-7 μM maksimum plazma konsantrasyonları elde edilmiştir (Tablo 1). Basit bir şekilde izah etmek gerekirse, kızarmış soğanla birlikte verilen kuersetin takviyesi (64 mg aglikona eşit kuersetin glikozidleri) ile 0.8 μM tepe plazma konsantrasyonları elde edilir [46, 47]. Ayrıca 1500 mg günlük doz ile de 10 μM civarında konsantrasyonların elde edilebilir (molekülün in vitro ortamda görülen biyolojik etkilerinin ortaya çıkması için gereken konsantrasyon) [55]. Ancak Tablo 1'deki veriler maalesef bunun doğru olmadığını düşündürmektedir. Bireyler arasındaki farklılıklar sağlıklı gönüllülere uygulanan kuersetin takviyesi hakkındaki yayınlardaki tespit edilen sonuçların

Tablo 1 Kuersetin, kuersetin glikozidleri ve kuersetin içeren gıdaların insandaki biyoyararlanımları

Flavonol	Kaynak	Doz	Plazma konsantrasyonu (μM)	Referans
Kuersetin	Saf bileşik	4g	<0.33	[36]
Kuersetin	Saf bileşik	0.14 mg/kg (vücut ağırlığına göre)	0.15–0.42	[32]
Kuersetin	Saf bileşik	8–20–50mg	0.14–0.22–0.29	[27]
Kuersetin	Saf bileşik	50-100-150 mg günde iki kez	0.189–0.295–0.431	[26]
Kuersetin	Tam öğün	87 mg kuersetin eşdeğeri	0.37	[64]
Kuersetin	Soğan	186 mg kuersetin eşdeğeri	2.18	[3]
Kuersetin	Soğan	50 mg kuersetin eşdeğeri	0.83	[66]
Kuersetin	Soğan	64 mg kuersetin eşdeğeri	0.65	[48]
Kuersetin	Soğan	68 mg kuersetin eşdeğeri	0.74	[46,47]
Kuersetin	Soğan	100 mg kuersetin eşdeğeri	7.6	[33]
Kuersetin	Elma	107 mg kuersetin eşdeğeri	0.3	[46,47]
Kuersetin	Elma suyu	1.6 mg kuersetin eşdeğeri	0.14	[25]
Kuersetin	Karışık üzüm ve elma suyu	6.4mg	1.1	[108]
Kuersetin	Kara buğday çayı	200 mg kuersetin eşdeğeri	2.1	[33]
Kuersetin	Soğan, elma, karışık	100 mg kuersetin eşdeğeri	0.8–0.18–0.4	[57]
Kuersetin 3′ glukozid	Saf bileşik	156mg	5	[76]
Kuersetin 4′ glukozid	Saf bileşik	150mg	3.5	[45]
Kuersetin 4′ glukozid	Saf bileşik	160mg	4.5	[76]
Kuersetin 4′ glukozid	Saf bileşik	100 mg kuersetin eşdeğeri	7.0	[33]
Rutin	Saf bileşik	100 mg kuersetin eşdeğeri	0.3	[46,47]
Rutin	Saf bileşik	190mg	0.18	[45]
Rutin	Saf bileşik	500mg	0.13–0.73	[11]
Rutin	Saf bileşik	8-20-50 mg kuersetin eşdeğeri	6.5–7.4–7.5	[27]
Rutin	Saf bileşik	200 mg kuersetin eşdeğeri	1.1	[33]

[65,90] nolu referanslardan modifiye edilmiştir.

geniş bir aralığa yayılmış olmasının nedeni olabilir. Bu varyasyonlar kuersetin glikozidlerinin çeşitli gıdalardaki farklı biyoyararlanımlarından ve insan ve hayvan modellerindeki intestinal enzimlerdeki polimorfizmlerden kaynaklanıyor olabilir [65,90].

Kuersetin biyoyararlanımının artırılabilmesi amacıyla, nanopartikül alanındaki gelişmelerden yararlanarak hücre ve hayvan modellerindeki alımı artıran özgün stratejiler tanımlanmıştır. Nanotaşıyıcılar modern ilaçları, etkinlik, stabilite ve çözünürlüklerini artıracak şekilde modifiye ederken salınım düzeylerini de korumaktadır. Lipozomlara ve biyolojik olarak ayrışabilen polimerler kullanılarak geliştirilen nanoteknolojik ilaç salınım sistemleri, son yıllarda bilim adamlarının dikkatlerini giderek daha fazla çekmektedir. Kuersetinin sıçanlara solid lipid nanopartiküller halinde uygulanması ile kontrollere göre 5.71 kez artmış gastrointestinal absorpsiyon tespit edilmiştir [61]. Kuersetinin nanopartikül formunun etkinliğini "nanokemoprevensiyon" ve "nanokemoterapi" düzeyinde değerlendiren farklı yaklaşımlar son zamanlarda incelemelere konu olmuştur [59, 70, 85].

Sonuç olarak 150 mg/gün düzeyindeki düşük dozların plazma kuersetin konsantrasyonlarını anlamlı düzeyde artırdığı tespit edilmiştir. Çalışmalarda en sık kullanılan doz genel olarak ikiye bölünmüş 1000 mg/gün'dür [53, 104].

4 Kuersetinin Güvenliği

Son yıllarda kuersetinin güvenliği ile ilgili birkaç tane mükemmel inceleme yayınlanmıştır [42, 74]. Çalışmalar molekülün muhtemel in vivo toksisitesinin mevcut olmadığı veya belirsiz olduğu yönünde fikir birliği içindedir. Kuersetinin güvenli kullanımı ile ilgili uyarılar, molekülün Ames testinde çeşitli bakteri suşlarının in vitro mutajenezine pozitif reaksiyon verdiğinin gözlenmesi ile ortaya çıkmıştır. Ancak farklı hidroksil gruplarındaki metilasyon mutajenik aktiviteyi anlamlı olarak azaltmış veya sonlandırmıştır ([42] nolu referansta incelenmiştir). İn vivo genotoksisite çalışmalarında in vitro çalışmalarda gösterilen mutajenisite konfirme edilmemiştir. Fare veya sıçanlara oral uygulama ile mikroçekirdek formasyonu, kromozomal anormallikler, kardeş kromatid değişimleri veya DNA hasarında anlamlı değişimler oluşmamıştır ([42] nolu referansta incelenmiştir). Akut toksisite testlerinde intravenoz olarak 100-150 mg/kg uygulama yapılan tavşanlarda toksisite semptomlarına rastlanmamıştır [2]. Kuersetin ile yapılan subkronik ve kronik toksisite çalışmaları daha tartışmalıdır. Uluslararası Kanser Araştırma Ajansı (IARC) kuersetinin insanlarda karsinojenik olarak sınıflanamayacağı kararına 1999 yılında varmıştır [74]. Ulusal Toksikoloji Programı (NTP) tarafından gerçekleştirilen 2 yıl süreli çalışmada 2 g/kg ile beslenen erkek F344/N sıçanlarında (70 kg'lik bir insanın 728 gün boyunca 140 gr kuersetin kullanmasına eşdeğer) ciddi kronik nefropati, hiperplazi ve renal tübüler epitelde neoplazi tespit edilmiştir [73]. Bu çalışma metodolojik eleştirilere maruz kalmış ve bulgularının anlamlılık düzeyi netliğini kaybetmiştir [44, 51]. Aynı sıçan modelinde yapılan paralel çalışmalarda ise kuersetinin renal histopatolojik etkisi bulunamamıştır ([42] nolu referanstaki tablo 2). Ancak daha sonra yapılan bir çalışmada NTP çalışmasının orijinal bulguları konfirme edilmiştir [41]. 50 ila 500 mg/kg/gün dozlarında anlamlı advers olaylar bildirilmemiştir.

Çeşitli 2 evre (başlama-gelişme) karsinojenite çalışmalarında kuersetinin kimyasal yoldan indüklenen karsinojenez üzerindeki potansiyel etkisinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Geniş bir inceleme sonucunda elde edilen kanıtlar Harwood ve ark. tarafından yayınlanmıştır [42]. Kuersetinin kimyasal yoldan indüklenen organ spesifik karsinogenezi destekleyici etkisi ile ilgili verilerin kısmen istikrarlı olmadığı bildirilmiştir. Kuersetin birkaç vakada tümör büyütücü etki göstermiştir. Ancak çalışmaların büyük çoğunluğunda ise molekülün antikarsinogenik ve kemoprotektif etkileri desteklenmiştir.

Kuersetinin memeli üreme hücreleri ile ilişkili herhangi bir toksisitesinin bulunmamış olması molekülün üreme ve gelişme üzerinde herhangi bir negatif etkisi olma ihtimalini dışlamıştır. Bu bulgu çeşitli çalışmalar tarafından konfirme edilmiştir [42]. Molekülün erkek üreme ve doğurganlığında potansiyel antioksidan olarak kullanılıp kullanılamayacağı güncel bir tartışmanın konusudur. Yukarıda da tartışıldığı üzere, kuersetin testis bölgesinde kromozom aberasyonlarına yol açan serbest radikallerin temizlenmesinde gerçekten etkilidir. Diğer taraftan, kuersetin bu proses esnasında okside olmasını takip eden glutatyon tüketimi, sistosolik kalsiyum konsantrasyonlarında artış ve laktat dehidrogenaz (LDH) sızıntısı ile sperm mortalitesinde azalmaya yol açmaktadır. Güncel bir incelemede reproprodüktif disfonksiyonun oksidatif stres artışı ile birlikte mevcut olduğu vakalarda kuersetinin dikkatle kullanılması (kuersetinin hücresel toksisitesi uygun hücre ve hayvan modellerinde daha iyi araştırılana kadar) önerilmektedir [80].

İnsanlarda yapılan özgün faz I çalışması, 70 kg'lık bir bireyde yaklaşık 2.5 gr'a eşdeğer olan 1400 mg/m^2 dozunu (3 haftada veya haftada bir uygulanan intravenöz infüzyonlar) önermektedir [28]. 50 mg/kg'a kadar olan daha yüksek dozlarda (70 kg için yaklaşık 3.5 gr) nefrit veya obstrüktif üropati semptomları bulunmayan nefropati tespit edilmiştir. İnsanlarda advers olay görülen vakaların yokluğu, güvenlik sınırları içinde kalmak ve meyve, sebzeden zengin diyetlerdeki tüketim miktarı (200-500 mg/gün) ile benzer olmak kaydıyla kuersetinin gıdalara takviye olarak eklenmesini teşvik etmektedir.

5 Kuersetin ve Kanser

PubMed (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed) taraması ile kuersetinin kanser tedavisinde etkili olabileceğini destekleyen oldukça çok sayıda güncel incelemeye ulaşmak mümkündür. İncelemelerde kuersetinin belirli onkogenlerin aşağı regülasyonu veya tümör baskılayıcı genlerin yukarı regülasyonu ile kanser hücrelerinin eliminasyonunu sağlayan belirli yolakların güçlenmesini sağlayarak kanser hücrelerinin ölümünü veya tecridini indüklediği (normal hücrelerde böyle bir etki görülmez) tanımlanmaktadır. Güncel bir çalışmada kuersetinin farklı biyolojik aktivitelerinin (antioksidan, antienflamatuar, antiproliferatif, proapoptotik ve antianjiogenik) karsinogenezin başlangıcından, invazyon ve metastaza kadar olan tüm evrelerinde nasıl etki gösterdiğini inceledik. Molekülün Hanahan ve Weinberg tarafından yayınlanan "kanserin ana özellikleri" [39, 40] adlı önemli

çalışmada tanımlanan farklı hedefler ile etkileşime girebilme yeteneği, kanser hücrelerine karşı sinerjistik etki sağlayan hücre büyümesindeki pleiotropik etkisini desteklemektedir. Kuersetinin antiproliferatif ve büyüme baskılayıcı etkileri, senesans ve telomeraz inhibisyonunu indüklemesi, hücre ölümü ve otofajiyi indüklemesi, antianjiogenik aktivitesi, immun imhayı aktive etmesi ve kanserin diğer önemli özellikleri üzerindeki etkileri ile ilgili literatürler farklı çalışmalarda incelenmiştir [85]. Biz bu bölümde molekülün, kanser hücrelerinde regülasyonu ve ekspresyonu sıklıkla değişime uğrayan hücre büyüme kontrolünde rol oynayan çeşitli kinazları bağlama ve inhibe etme yeteneğin odaklanacağız.

5.1 Kuersetinin Protein Kinaz İnhibitör Etkisi

1980'lerin ilk yıllarında kuersetinin hem tirozin [17, 31] hem de serin-tireonin [14] kinazı inhibe ettiğinin gösterilmesinden sonra, molekül nonspesifik protein kinaz inhibitörü olarak kabul edilmektedir. Zaman içinde biriken veriler molekülün inhibe ettiği hedeflerin çoğunun hücre büyümesinde rol oynayan kinazlar olduğunu göstermiştir. Bu bulgu kuersetinin multipl hedefler üzerinde pleiotropik etki göstererek kanser hücrelerinin proliferasyonunu inhibe ettiği konseptini doğurmuştur. Ancak kuersetinin inhibe ettiği kinazlara direkt olarak bağlandığı, sadece büyüme supresyonundan sorumlu mekanizma üzerindeki neden-sonuç ilişkisi ile bağlantılı birkaç çalışma tarafından gösterilebilmiştir. Kuersetinin Akt/PKB'yi direkt olarak hedeflemeden, çeşitli kanser dizilerindeki proliferasyonu inhibe ederek ve apoptozu indükleyerek Akt/PKB'ye bağımlı yolakları etkilemesi örnek olarak verilebilir [34, 37, 54, 96, 97, 99]. PI_3K-Akt/ PKB yolaklarının memelilerdeki hücre sağkalım sinyallerinde kritik rol oynadığı ve çeşitli kanserlerde aktive oldukları gösterilmiştir [1, 21]. Bu bağlamda kuersetinin moleküler hedefi Akt/PKB'nin yukarı yönünde lokalize olmuştur. PI_3Kγ'nın X-ışını kristalografik yapısının kuersetine bağlı olması, molekülün 0.28 μM'lik bir Kd değeri ile ATP-bağlanma bölgesine bağlandığını göstermektedir. Bu değer mirisetinden hafifçe yüksektir (0.17 μM) [49, 105]. Bu yapısal bulgunun biyolojik verilerle konfirme edilmiş olması, kuersetinin PI3K'ye direkt bağlanmasının tüm PI3K-Akt yolak sinyallerini, AP-1 ve NF-κB aktivasyonunu da içerecek şekilde inhibe ettiğinin göstergesidir [37, 49, 50]. Kuersetin ilginç biçimde protein kinaz CK2'nin de direkt inhibitörüdür. Yüksek oranda korunan bir serin/treonin kinaz olan bu enzim araştırılan tüm ökaryotlara yaygın olarak dağılmış olup, hücre siklusu, proliferasyon, apoptoz ve transformasyonu kontrol eden çeşitli intraselüler yolaklarda rol oynamaktadır [67, 87]. Güncel bulgular CK2'nin antiapoptotik etkisinin kısmen, Akt/PKB yolağına direkt bağlanan CK2 alt üniteleri ile Akt/PKB'nin yukarı regüle olması ve/veya Akt/PKB'deki Ser129'u hiperfosforile etmesinden kaynaklandığını göstermektedir [22, 78]. Ayrıca CK2, Akt/PKB'yi fosforilasyon ve tümör baskılayıcı PTEN'in, PTEN C terminalinde bulunan Ser/Thr kalıntıları tarafından inaktivasyonu ile indirekt olarak aktive eder [103]. Kuersetin tarafından inhibe edilen doğal ve rekombine CK2'nin IC_{50} aralığı 0.50 ila 1 μM arasındadır [60, 61, 63, 89]. İki bağımsız kinaz olan ve Akt/PKB aracılığı ile yönlendirilen proliferatif sinyal ile birleşen CK2 ve PI3K'nın, kuersetin tarafından molekülün büyüme kontrolündeki pleiotropik aktivitesini destekler biçimde inhibe edilmesi de dikkat çekicidir.

Yapısal çalışmalarda kuersetinin Raf-1 ve MEK-1'e direkt olarak bağlanabildiği gösterilmiştir. MEK-1 kinaz aktivitesini Raf-1'e göre daha güçlü inhibe eder [56, 58]. Kuersetinin MEK-1'in ATP-bağlanma bölgesine bitişik farklı bir cebe bağlandığı düşünülmektedir [49]. Bu etkileşim TPA ile indüklenen ERK ve $p90^{RSK}$ fosforilasyonunun inhibisyonuna ve AP-1 ve NF-κB aktivasyonuna yol açar. Kuersetinin iyi bilinen farmakolojik MEK-1 inhibitörü olan PD098059 göre daha güçlü inhibitör etki göstermesi ilginçtir. Resveratrol ne MEK-1 ne de Raf-1 kinaz aktivitesini etkilemez [49, 56, 58].

Kuersetin Hck tirozin kinazın yüksek kaliteli kırılma spektrumlarının elde edilmesinde kullanılmaktadır. Bu enzim büyük Src tirozin kinaz ailesine aittir. Bu nonreseptör tirozin kinazlar tümör hücre proliferasyonu, sağkalım ve metastazında rol oynamaktadırlar [109]. Src ailesinin hücresel ekspresyon, lokalizasyon ve fonksiyonlarında farklılıklar olan dokuz üyesi vardır. Hck stimüle olmamış B hücre reseptörüne bağlanır. Miyeloid lösemi hücre dizilerindeki preklinik çalışmalarda BCR-ABL ile etkileşimi transformasyon sinyali için önemli bulunmuştur [62]. Hem BCR-ABL hem de Src ailesinin kinazları, imatinibe dirençli veya imatinibi tolere edemeyen kronik myeloid löseminin tedavisinde onaylı tek ilaç olan dasatinib tarafından hedeflenirler [56, 58]. Kuersetin Hck aktive bölgesine bağlanır [93]. Ancak bu bağlantının biyolojik sonuçları bilinmemektedir.

IKKβ ve IKKβb NF-κB aktivasyonunda rol oynayan iki kinazdır. Proliferatif stimülasyonu takiben N-terminal bölgesindeki serin kalıntılarında bulunan IκB proteinlerini (IκBα ve IκBβ) fosforillerler. Fosforile IκBα ve IκBβ devamında NF-κB'nin salınımı ile ubikutin eklenerek degrade olurlar. NF-κB daha sonra çekirdeğe transloke olarak hedef genlerin transkripsiyonlarını regüle eder [23]. NF-κB kanser gelişiminde rol oynadığı için IKKα ve IKKβ gibi pozitif regülatörlerinin inhibisyonu antikanser aktiviteye yol açabilir. Kuersetinin TNF ile indüklenen NF-κB aktivasyonunu baskıladığı bildirilmiştir; ancak sinyal kaskadındaki moleküler hedefi tanımlanamamıştır [71]. Kuersetinin IKKα ve IKKβ'yi sırasıyla 11 ve 4 μM'lik belirgin IC_{50} değerleri ile inhibe ettiği daha sonra bildirilmiştir [77]. Kuersetinin ATP'nin yarışmali inhibitörü gibi davrandığı kesindir. Ancak molekülün, hem IKKα hem de IKKβ'nin Vmax değerlerini anlamlı olarak azaltıp, belirgin K_m'yi de azaltması karma bir mekanizmanın varlığına işarettir. Aslında IKKα ve IKKβ'nin kuersetin tarafından inhibe edilmesi IκBα substratının miktarının artması ile korunur. Bu durum kuersetinin bağlanma yerlerinin hem ATP hem de IκBα bağlanma bölgeleri ile çakışabileceğini düşündürmektedir [77].

Daha yakın zamanda, kuersetinin ve luteolin ve apigenin gibi flavonoidlerin GSK-3β'yi inhibe ettiği bildirilmiştir. Metabolizma, hücre siklusu, gen ekspresyonu, gelişim, onkojenez, nöroproteksiyon gibi farklı fizyolojik yolaklarda önemli rol oynayan bu enzim multifonksiyonel bir serin treonin kinazdır [81]. GSK-3β pankreas kanseri hücrelerinin çekirdeklerinde aşırı eksprese olarak NF-κB aktivitesini stimüle eder ve enflamatuar cevap kaskadını aktive eder. Rekombinan enzim kullanılarak yapılan in vitro deneylerde kuersetin için yaklaşık 2 μM'lik IC_{50} değeri tespit edilmiş ve molekülün GSK-3β'nin ATP bağlanma bölgesine bağlandığı (moleküler bağdaştırma bilgisayar programı ile) tahmin edilmiştir [52].

Güncel ve ilginç bir taramada kuersetinin çeşitli kinaz gruplarında spesifik inhibitör etkileri olduğu tespit edilmiştir [7]. Geniş bir insan kinomu içeren 256 farklı rekombinan kinaz panelinin kullanıldığı bu çalışmada kuersetinin bu enzimlerin aktivitesini in vitro deneylerde direkt olarak inhibe edebilme yeteneği test edilmiştir. Kuersetin yaklaşık 100 kinazın aktivitesini 30 μM konsantrasyonunda %95 azaltmıştır. Bu birçok hücre dizisi için hesaplanan ortalama IC_{50} değerine çok yakındır [7, 55]. Kuersetinin 2 μM'de ~15 kinazın aktivitesini %95'den fazla, setteki diğer ~ 50 kinazın aktivitesini de %80-95 arasında azaltığının bulunmuş olması, bu kinazların kuersetinin spesifik hedefleri olabileceğini göstermiştir. 2 μM kuersetine maruz bırakıldıktan sonra hemen hiç aktivitesi kalmayan kinazlar Cdc2-benzeri kinaz 1 (CLK1), insülin reseptörleri (INSR-R) ve kas spesifik kinazdır (MUSK) [7]. İnsanda dendrogram ile ilişkili kinomda kuersetin tarafından hedeflenen kinazlar arasında şunların bulunması dikkate değer bir konudur: Tirozin kinaz (TK), tirozin kinaz benzeri kinazlar (TKL), serin/treonin tirozin kinazlar (STE), kazein kinazlar (CK1), cAMP'a bağımlı protein kinazlar (AGC), kalsiyum/kalmodulin protein kinaz II kinazlar (CAMK), ile sikline bağımlı kinaz (CDK), mitojen aktive protein kinaz (MAPK), glikojen sentaz kinaz (GSK), ve CDK benzeri kinaz gruplarını da içeren CMGC alt sınıfı [7]. Bu ilginç sonuçlara rağmen, güncel araştırmalar bazı soruları hala cevaplayamamıştır: (1) Test edilen kinaz paneli içinde yer aldıkları halde, kuersetinin düşük konsantrasyonları ile (2 μM) inhibe edilen 15 protein kinaz arasında PI_3K, Hck, CK2 ve MEK-1 olmaması düşük bir ihtimaldir; (2) Ölçülen inhibitör etkiler doğal kinazlarla yapılan hücresel modeller ile konfirme edilmeli ve hücre büyümesinin denetiminin bozulması veya diğer biyolojik etkilerle olan ilişkileri tespit edilmelidir.

Cohen grubu da 2000 yılında benzer bir yaklaşımı kullanmıştır [20]. Çalışmalarında doku saflaştırılması ile elde edilen veya prokaryotik ya da ökaryotik sistemlerde eksprese edilen 34 kinazdan oluşan bir paneli kullanarak yaptıkları çalışmada, in vitro 20 μM konsantrasyondaki kuersetinin şu kinazların enzimatik aktivitesini %30'dan daha az inhibe ettiklerini tespit etmişlerdir: MAPKAP-K1b ($p90^{RSK}$ olarak da bilinir < %20); S6K1 (< %25); GSK-3β (< %30); AMPK (< %16); CK2 (< %19); PI_3K (< %18).

Cohen grubu tarafından gösterilen kuersetinin GSK-3β, CK2 ve PI_3K'yı inhibe edici aktivitesi daha sonra yukarıda bahsedilen bağımsız çalışmaların sonuçları ile de konfirme edilmiştir.

6 Sonuçlar: Pleiotropi ile Sinerji Karşılaştırması

"Pleiotropik" ve "sinerjistik" sözcükleri biyolojik olarak aktif moleküllerle ilgili kullanıldığında çelişkili yorumlara yol açabilir. Bu bölümde optimal intraselüler konsantrasyonlardaki kuersetinin, kanser hücrelerinin büyümelerini transkripsiyonel ve/veya posttranslasyonel olaylar sonucunda hiperaktive olarak desteklediği bilinen multipl kinazları tetikleyebilmesi ile ilgili kanıtları inceledik. Pleiotropinin anlamı kuersetinin hedef hücrelere ulaştıktan sonra bir veya daha fazla yolakta rol oynayan faktörlere bağlanabilme ve etkileşime girebilme yeteneği ile aynı hücresel proseslerde (örn. apoptoz,

Tablo 2 Kuersetin tarafından direkt olarak hedeflenen hücresel kinazlar

Hedefler	Bağlanma Bölgesi	Konsantrasyon	Hücresel etkiler	Referans
MEK-1	Aktivasyon döngüsü	1–2 μM	Apoptoz	[49,56,58]
			Hücre döngüsü	
			Büyüme durması	
PI_3Ky	ATP-bağlanma bölgesi	3.8 μM	Apoptoz	[105]
			Hücre döngüsü	
			Büyüme durması	
IKK α/β	ATP- ve İκBα-bağlanma bölgeleri	IC_{50} 11 μM (α) IC_{50} 11 μM (β)	Apoptoz	[77]
Hck (Src tyr kinaz ailesi)	ATP-bağlanma bölgesi	2 μM	Apoptoz	[93]
			Hücre döngösü	
			Büyüme durması	
CK2	ATP-bağlanma bölgesi	IC_{50} = 0.92 μM	Apoptoz	[89]
	Yarışmalı inhibitör	Ki = 1.18 μM		
GSK-3β	ATP-bağlanma bölgesi	IC_{50} = 0.92 μM		

[85] nolu referanstan uyarlanmıştır.

hücre döngüsü durması, otofaji) rol oynamasıdır. Kuersetinin etkileri için güzel bir örnek olarak PI_3K-Akt/PKB-NF-κB sinyal dönüştürücü yolağı ile olan etkileşimi verilebilir. Her ikisi de Akt/PKB ile birleşen CK2 ve PI_3K'nın paralel ve eş zamanlı inhibisyonu, Akt/PKB'nin CK2/PI_3K fosforilasyonu ile hiperaktivasyonu inhibe olduğu için yolağın devre dışı kalmasına neden olabilir. IKKα/IKKβ kinazlarının eş zamanlı olarak kuersetin tarafından inhibe edilmesi, NF-κB'nin nükleer translokasyonu ve aktivasyonu bloke olduğu için yolağın inhibisyonunu güçlendirir. Bu durum pleiotropik ve sinerjistik etkilerin eşleşerek kuersetinin antiproliferatif etkilerini güçlendirmelerine bir örnektir. Ancak pozitif etkinin oluşabilmesi için belirli şartlar gerekmektedir; (1) Kuersetinin intraselüler konsantrasyonu hedef yolaklarda rol oynayan tüm kinazları inhibe etmeye yetecek kadar yüksek olmalıdır. Çünkü Tablo 2'de gösterildiği üzere farklı enzimlerin Ki ve IC_{50} değerleri birbirinden anlamlı düzeyde farklıdır; (2) Kanser hücrelerindeki hedef yolaklar aşırı aktive olmalı, ancak normal hücrelerdeki yolaklar da normal kalmalıdır; (3) Hedef kinaz hücre proliferasyonu veya hücre ölümü gibi antagonist süreçleri regüle etmemelidir. Birinci şartı yerine getirebilmek için aglikon kuersetinin belirli intraselüler mikromolar konsantrasyonlarda olması gerekmektedir. Bu hedefe flavonoidin diyetle alımı ile ulaşmak iki nedenden dolayı neredeyse imkansızdır: Aglikonun serumdaki biyoyararlanımının sınırlı olması ya da hiç olmaması. Gerçekten de oral uygulamadan sonra kanda ölçülen "total" kuersetinin hemen hemen tamamı metabolitlerinden oluşmaktadır [57, 65, 90]. Ancak fibroblastları inceleyen bir çalışmada kuersetinin O-metile

konjugatlarının hücrelerde serbest aglikona dönüşebileceğinin bulunmuş olması ilginçtir [96, 97, 102]. Bundan dolayı düşük biyoyararlanım engelinin doz artırımı ile aşılabileceği aşikardır. Gerçekten de hayvan modellerinde 2 hafta süre ile 45-47 mg/gün kuersetin uygulanması ile 60 μM düzeyinde plazma konsantrasyonları elde edilmiştir [94]. Ancak hayvan modellerindeki kuersetin takviyesi insanlardaki takviye ile kıyaslanırken dikkatli olunmalıdır. Farklı doku ekspresyonları ve genetik polimorfizmler nedeniyle metabolize edici enzimlerin aktiviteleri memeli türleri arasında büyük farklılıklar gösterebilir [90]. Alternatif olarak, dolaşımdaki serbest kuersetin konsantrasyonları (kanser hastalarının 200-400 μM gibi akut serum düzeylerini iyi tolere ettikleri göz önüne alındığında) intravenöz uygulama ile de yükseltilebilir [28]. Bu ihtimal, diğer kemopreventif uygulamalardan farklı olarak molekülün terapötik kullanımını sağlayabilir.

Kuersetinin kanser hücrelerinin büyümelerinin inhibisyonunda rol oynayan pleiotropik inhibitör olarak kullanılabilmesi için gereken diğer şart molekülün malign fenotipe spesifik (normal hücrelerin aksine) olması gerekliliğidir (yukarıda listelenen B maddesi). Bu konuyla ilgili olarak farklı yazarların ilginç yorumları olmuştur. Kuersetini hormetik doğasından dolayı molekülü iki ucu keskin kılıç olarak tanımlamışlardır. Bu durum normal hücre ve dokularda düşük konsantrasyonlarda bulunduğunda hücreleri reaktif oksijen türlerinden koruyan bir antioksidan etkisi yaparken, 30-50 μM'den daha yüksek konsantrasyonlarda ise bir prooksidan haline dönüşüp apoptoz ve diğer savunma süreçlerini aktive ederek kanser hücrelerini öldüren reaktif oksijen türlerinin üretimine yol açmasından kaynaklanmaktadır [9, 104]. Kulağa hoş gelen bu hipotezin geniş çaplı deneysel değerlendirmelere ihtiyacı vardır ve çeşitli eleştirilere açık bir konudur. Kuersetinin intraselüler konsantrasyonlarını artırmanın belirgin bir dezavantajı sadece kanser hücrelerindeki değil, normal dokulardaki prooksidan reaksiyonunda da artışa yol açma ve yan etkiler oluşturma ihtimalidir. Bu yan etkiler dikkatle takip edilmeli ve kemoprevensiyon uygulamalarından farklı olarak molekülün faydaları ile toksik yan etkilerinin dengelendiği terapötik protokoller oluşturulmalıdır Molekülün hormetik özelliği ile ilgili olarak da toksikolojiden alınan ve kullanıldığı bilimsel platforma göre farklı anlamlar taşıyabilen bu terimin dikkatle kullanılmasını öneriyoruz [12, 13, 101]. Kısa süre önce kuersetinin HeLa hücrelerindeki hormetik klasik U şekilli eğrisini yayınladık. Eğride molekül düşük konsantrasyonlarda (0.5 μM) uygulandığında hücre büyümesinde görülen anlamlı artış, in vivo ortamda kuersetin ile zenginleştirilmiş gıdaların verilmesi ile görülen artış ile benzer düzeydedir [95]. Bu nedenlerden dolayı kuersetinin takviye veya fonksiyonel gıda olarak kullanımının, potansiyel faydalarının zarara dönüşebilme ihtimali (prekanseröz hücrelerin molekülün hormetik etkilerine duyarlı olması durumunda) nedeniyle dikkatle değerlendirilmesi gerekir. Ayrıca bizim ve diğer bazı yazarların da bildirildiği üzere (Şekil 1 ve [83, 84]) mikromolar kuersetin konsantrasyonları (hücre sağkalımı etkilenmeden) reaktif oksijen türlerinin düzeylerini azaltarak antioksidan etkiyi devam ettirmektedir. Bu bulgu molekülün kanser hücrelerinde spesifik prooksidan etki gösterebileceği hipotezi ile çelişiyor görünmektedir.

Son olarak da kuersetin tarafından hedeflenen kinazların, sinerjistik etkilerini destekleyen antagonist prosesleri regüle etmemeleri gerekmektedir (yukarıda listelenen

madde 3). MAP kinaz bu konu ile ilişkili iyi bir örnektir. RAS-RAFMEK-MAPK yolağı insanlarda görülen kanserlerde sıklıkla deregüle olur. Bunun nedeni yolağın komponentlerindeki genetik değişimler ya da hücre yüzey reseptörlerinin yukarı yönlü aktivasyonudur. Bu da bu sinyal kaskadlarının komponentlerini terapötik girişimler için ilginç hedefler haline getirmektedir [1, 21]. Yukarıda da bahsedildiği üzere, kuersetin MEK-1 ile etkileşime girerek bağlanır. Bu bağlantı her ikisi de MEK/ERK sinyalinin aktivasyonunda rol oynayan epidermal büyüme faktörü veya H-Ras ile indüklenen JB66 P+ hücre transformasyonunun doza bağlı supresyonuna yol açar [56, 58]. Lösemik hücre dizilerinde ve kronik lenfositik lösemi hastalarından izole edilen B hücrelerindeki antiapoptotik faktör Mcl-1'in kuersetin tarafından Mcl-1 instabilitesine yol açan MEK/MAPK sinyal yolaklarının inhibisyonu ile aşağı regüle edildiğini de göstermiştik. Bu veriler kuersetinin apoptopik etkisinin beklendiği üzere MEK/MAPK yolağının inaktivasyonuna bağlı olduğunu göstermektedir. Diğer bazı araştırmacılar karşıt etkiler bildirmişlerdir: (1) A549 akciğer kanseri hücrelerinde kuersetin ile indüklenen apoptoz için MEK/MAPK aktivasyonu gereklidir ;(2) Kuersetin sıcak şoku uygulanan hepatom H4 hücrelerinde MAPK'yı anlamlı olarak stimüle ederek hücre sağkalımını azaltmış ve DNA fragmantasyonunu indüklemiştir; (3) Kuersetinin oksidatif strese karşı hepatoprotektif etkisi için gereken metalotionein ekspresyonunu indüklemesi, MAPK'nin aktivite edilmesi ve Nrf2 DNA bağlayıcı aktivitenin güçlendirilmesi ile ortaya çıkmaktadır; (4) İnsan hepatositlerinin etanole bağlı oksidatif strese karşı korunması MAPK/Nrf2 yolaklarına bağlı olarak HO-1 indüksiyonu ile gerçekleşmektedir [107]. Özet olarak kuersetinin MEK/MAPK yolağını aktive edip etmediği konusu bir paradoks haline dönüşmüştür. Bu olayların yanlış hücre dizisinde veya hücre fizyolojisinin uygun olmayan zaman-mekan penceresinde gerçekleşmesi ile elde edilen sonuçlar beklenen sonuçlardan farklı olabilir. Örnek olarak kuersetinin prekanseröz bir hücredeki MAPK aktivitesini stress hasarına karşı korumak amacıyla artırması proliferatif stimülasyonun güçlenmesine neden olması verilebilir. Kuersetinin etkileri ile ilişkili bir başka kompleks problem de kuersetinin tek başına veya diğer ilaçlarla veya ölüm ligandları (DL; anti-CD95; rekombinan TRAIL) ile birlikte uygulanması ile kanser kinazlarının spesifik izoformları üzerinde ortaya çıkabilecek etkileri ile ilgilidir. Aslında kuersetinin PKCα aktivitesini hafifçe azalttığını demonstre etmiştik. Ancak anti-CD95 ile birlikte uygulamada tespit edilen PKCα aktivitesi kuersetinin tek başına uygulanmasına göre 12 kat artmıştır [83]. Bu örnek kuersetinin aynı hücre dizisindeki aynı kinazı hem aktive hem de inhibe edebileceğini (direkt ve/veya indirekt olarak) göstermektedir. Etkinin türü uygulanan stimülasyona ve/veya malign hücrenin fizyolojik durumuna bağlıdır.

Bu bölümde kanser gibi dejeneratif hastalıklarla ilgili patolojileri düzeltebilme ile ilgili multipl özelliklere sahip olan kuersetinin avantaj ve dezavantajlarını inceledik. Bu bölümde tartışılan kuersetin ile ilgili birçok paradoksun kolaylıkla potansiyel antikanser aktivitesi olan birçok doğal bileşik için de geçerli olabileceği söylenebilir. Molekülün antioksidan veya kinaz inhibitörü olarak in vivo ortamdaki etkisi ile ilgili hala çok fazla bilinmeyen mevcuttur. Bu durum kuersetinin (ve diğer fitokimyasalların) fonksiyonel olarak pleiotropik olabileceği ihtimalini kabul etmenin önünde bir engeldir. Çünkü bu

ihtimal klinik veriler ile korelasyon içinde olmalıdır. Maalesef kanser tedavisinde kuersetinin monoterapide veya diğer kemoterapötik ajanlar ile kombinasyon halinde kullanıldığı klinik çalışmalar henüz mevcut değildir ([85] nolu referanstaki Tablo 3). Bu tür bilgilerin olmaması birçok biyoaktif fitokimyasalın klinikteki potansiyel kullanımlarının önünde bir engel olarak durmaktadır. Bu nedenle kuersetinin adjuvan kanser tedavisindeki olası kullanımı ile ilgili çalışmalara acil olarak ihtiyaç vardır.

Referanslar

1. Aksamitiene E, Kiyatkin A, Kholodenko BN (2012) Cross-talk between mitogenic Ras/MAPK and survival PI3K/Akt pathways: a fine balance. Biochem Soc Trans 40:139–146
2. Ambrose AM, Robbins DJ, Deeds F (1952) Comparative toxicities of quercetin and quercitrin. J Am Pharm Assoc 41:119–122
3. Aziz AA, Edwards CA, Lean ME, Crozier A (1998) Absorption and excretion of conjugated flavonols, including quercetin-4′-O-beta-glucoside and isorhamnetin-4′-O-beta-glucoside by human volunteers after the consumption of onions. Free Radic Res 29:257–269
4. Bischoff SC (2008) Quercetin: potentials in the prevention and therapy of disease. Curr Opin Clin Nutr Metab Care 11:733–740
5. Boffetta P, Couto E, Wichmann J, Ferrari P, Trichopoulos D, Bueno-de-Mesquita HB, van Duijnhoven FJ, Buchner FL, Key T, Boeing H, Nothlings U, Linseisen J, Gonzalez CA, Overvad K, Nielsen MR, Tjonneland A, Olsen A, Clavel-Chapelon F, Boutron-Ruault MC, Morois S, Lagiou P, Naska A, Benetou V, Kaaks R, Rohrmann S, Panico S, Sieri S, Vineis P, Palli D, van Gils CH, Peeters PH, Lund E, Brustad M, Engeset D, Huerta JM, Rodriguez L, Sanchez MJ, Dorronsoro M, Barricarte A, Hallmans G, Johansson I, Manjer J, Sonestedt E, Allen NE, Bingham S, Khaw KT, Slimani N, Jenab M, Mouw T, Norat T, Riboli E, Trichopoulou A (2010) Fruit and vegetable intake and overall cancer risk in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC). J Natl Cancer Inst 102:529–537
6. Bokkenheuser VD, Shackleton CH, Winter J (1987) Hydrolysis of dietary flavonoid glycosides by strains of intestinal Bacteroides from humans. Biochem J 248:953–956
7. Boly R, Gras T, Lamkami T, Guissou P, Serteyn D, Kiss R, Dubois J (2011) Quercetin inhibits a large panel of kinases implicated in cancer cell biology. Int J Oncol 38:833–842
8. Boots AW, Haenen GR, Bast A (2008) Health effects of quercetin: from antioxidant to nutraceutical. Eur J Pharmacol 585:325–337
9. Boots AW, Li H, Schins RP, Duffin R, Heemskerk JW, Bast A, Haenen GR (2007) The quercetin paradox. Toxicol Appl Pharmacol 222:89–96
10. Bors W, Heller W, Michel C, Saran M (1990) Flavonoids as antioxidants: determination of radical-scavenging efficiencies. Methods Enzymol 186:343–355
11. Boyle SP, Dobson VL, Duthie SJ, Hinselwood DC, Kyle JA, Collins AR (2000) Bioavailability and efficiency of rutin as an antioxidant: a human supplementation study. Eur J Clin Nutr 54:774–782
12. Calabrese EJ (2010) Hormesis is central to toxicology, pharmacology and risk assessment. Hum Exp Toxicol 29:249–261
13. Calabrese EJ, Blain RB (2011) The hormesis database: the occurrence of hormetic dose responses in the toxicological literature. Regul Toxicol Pharmacol 61:73–81
14. Cochet C, Feige JJ, Pirollet F, Keramidas M, Chambaz EM (1982) Selective inhibition of a cyclic nucleotide independent protein kinase (G type casein kinase) by quercetin and related polyphenols. Biochem Pharmacol 31:1357–1361
15. Conquer JA, Maiani G, Azzini E, Raguzzini A, Holub BJ (1998) Supplementation with quercetin markedly increases plasma quercetin concentration without effect on selected risk factors for heart disease in healthy subjects. J Nutr 128:593–597

16. Crowe FL, Roddam AW, Key TJ, Appleby PN, Overvad K, Jakobsen MU, Tjonneland A, Hansen L, Boeing H, Weikert C, Linseisen J, Kaaks R, Trichopoulou A, Misirli G, Lagiou P, Sacerdote C, Pala V, Palli D, Tumino R, Panico S, Bueno-de-Mesquita HB, Boer J, van Gils CH, Beulens JW, Barricarte A, Rodriguez L, Larranaga N, Sanchez MJ, Tormo MJ, Buckland G, Lund E, Hedblad B, Melander O, Jansson JH, Wennberg P, Wareham NJ, Slimani N, Romieu I, Jenab M, Danesh J, Gallo V, Norat T, Riboli E (2011) Fruit and vegetable intake and mortality from ischaemic heart disease: results from the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC)-Heart study. Eur Heart J 32:1235–1243
17. Cunningham BD, Threadgill MD, Groundwater PW, Dale IL, Hickman JA (1992) Synthesis and biological evaluation of a series of flavones designed as inhibitors of protein tyrosine kinases. Anticancer Drug Des 7:365–384
18. D'Incalci M, Steward WP, Gescher AJ (2005) Use of cancer chemopreventive phytochemicals as antineoplastic agents. Lancet Oncol 6:899–904
19. da Silva EL, Piskula MK, Yamamoto N, Moon JH, Terao J (1998) Quercetin metabolites inhibit copper ion-induced lipid peroxidation in rat plasma. FEBS Lett 430:405–408
20. Davies SP, Reddy H, Caivano M, Cohen P (2000) Specificity and mechanism of action of some commonly used protein kinase inhibitors. Biochem J 351:95–105
21. De Luca A, Maiello MR, D'Alessio A, Pergameno M, Normanno N (2012) The RAS/RAF/MEK/ERK and the PI3K/AKT signalling pathways: role in cancer pathogenesis and implications for therapeutic approaches. Expert Opin Ther Targets 16(Suppl 2):S17–S27
22. Di Maira G, Salvi M, Arrigoni G, Marin O, Sarno S, Brustolon F, Pinna LA, Ruzzene M (2005) Protein kinase CK2 phosphorylates and upregulates Akt/PKB. Cell Death Differ 12:668–677
23. DiDonato JA, Mercurio F, Karin M (2012) NF-kappaB and the link between inflammation and cancer. Immunol Rev 246:379–400
24. Duarte J, Perez-Palencia R, Vargas F, Ocete MA, Perez-Vizcaino F, Zarzuelo A, Tamargo J (2001) Antihypertensive effects of the flavonoid quercetin in spontaneously hypertensive rats. Br J Pharmacol 133:117–124
25. DuPont MS, Bennett RN, Mellon FA, Williamson G (2002) Polyphenols from alcoholic apple cider are absorbed, metabolized and excreted by humans. J Nutr 132:172–175
26. Egert S, Wolffram S, Bosy-Westphal A, Boesch-Saadatmandi C, Wagner AE, Frank J, Rimbach G, Mueller MJ (2008) Daily quercetin supplementation dose-dependently increases plasma quercetin concentrations in healthy humans. J Nutr 138:1615–1621
27. Erlund I, Kosonen T, Alfthan G, Maenpaa J, Perttunen K, Kenraali J, Parantainen J, Aro A (2000) Pharmacokinetics of quercetin from quercetin aglycone and rutin in healthy volunteers. Eur J Clin Pharmacol 56:545–553
28. Ferry DR, Smith A, Malkhandi J, Fyfe DW, deTakats PG, Anderson D, Baker J, Kerr DJ (1996) Phase I clinical trial of the flavonoid quercetin: pharmacokinetics and evidence for in vivo tyrosine kinase inhibition. Clin Cancer Res 2:659–668
29. Filipe P, Haigle J, Silva JN, Freitas J, Fernandes A, Maziere JC, Maziere C, Santus R, Morliere P (2004) Anti- and pro-oxidant effects of quercetin in copper-induced low density lipoprotein oxidation. Quercetin as an effective antioxidant against pro-oxidant effects of urate. Eur J Biochem 271:1991–1999
30. Garcia-Saura MF, Galisteo M, Villar IC, Bermejo A, Zarzuelo A, Vargas F, Duarte J (2005) Effects of chronic quercetin treatment in experimental renovascular hypertension. Mol Cell Biochem 270:147–155
31. Glossmann H, Presek P, Eigenbrodt E (1981) Quercetin inhibits tyrosine phosphorylation by the cyclic nucleotide-independent, transforming protein kinase, pp60src. Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol 317:100–102
32. Goldberg DM, Yan J, Soleas GJ (2003) Absorption of three wine-related polyphenols in three different matrices by healthy subjects. Clin Biochem 36:79–87

33. Graefe EU, Wittig J, Mueller S, Riethling AK, Uehleke B, Drewelow B, Pforte H, Jacobasch G, Derendorf H, Veit M (2001) Pharmacokinetics and bioavailability of quercetin glycosides in humans. J Clin Pharmacol 41:492–499
34. Granado-Serrano AB, Martin MA, Bravo L, Goya L, Ramos S (2006) Quercetin induces apoptosis via caspase activation, regulation of Bcl-2, and inhibition of PI-3-kinase/Akt and ERK pathways in a human hepatoma cell line (HepG2). J Nutr 136:2715–2721
35. Guerra B (2006) Protein kinase CK2 subunits are positive regulators of AKT kinase. Int J Oncol 28:685–693
36. Gugler R, Leschik M, Dengler HJ (1975) Disposition of quercetin in man after single oral and intravenous doses. Eur J Clin Pharmacol 9:229–234
37. Gulati N, Laudet B, Zohrabian VM, Murali R, Jhanwar-Uniyal M (2006) The antiproliferative effect of quercetin in cancer cells is mediated via inhibition of the PI3 K-Akt/PKB pathway. Anticancer Res 26:1177–1181
38. Hairborne JB (1993) The flavonoids advances in research since 1986. Chapman & Hall, London
39. Hanahan D, Weinberg RA (2000) The hallmarks of cancer. Cell 100:57–70
40. Hanahan D, Weinberg RA (2011) Hallmarks of cancer: the next generation. Cell 144:646–674
41. Hard GC, Seely JC, Betz LJ, Hayashi SM (2007) Re-evaluation of the kidney tumors and renal histopathology occurring in a 2-year rat carcinogenicity bioassay of quercetin. Food Chem Toxicol 45:600–608
42. Harwood M, Danielewska-Nikiel B, Borzelleca JF, Flamm GW, Williams GM, Lines TC (2007) A critical review of the data related to the safety of quercetin and lack of evidence of in vivo toxicity, including lack of genotoxic/carcinogenic properties. Food Chem Toxicol 45:2179–2205
43. Hertog MG, Feskens EJ, Hollman PC, Katan MB, Kromhout D (1993) Dietary antioxidant flavonoids and risk of coronary heart disease: the Zutphen Elderly Study. Lancet 342:1007–1011
44. Hirono I (1992) Is quercetin carcinogenic? Jpn J Cancer Res 83:313–314
45. Hollman PC, Katan MB (1999) Dietary flavonoids: intake, health effects and bioavailability. Food Chem Toxicol 37:937–942
46. Hollman PC, van Trijp JM, Buysman MN, van der Gaag MS, Mengelers MJ, de Vries JH, Katan MB (1997) Relative bioavailability of the antioxidant flavonoid quercetin from various foods in man. FEBS Lett 418:152–156
47. Hollman PC, van Trijp JM, Mengelers MJ, de Vries JH, Katan MB (1997) Bioavailability of the dietary antioxidant flavonol quercetin in man. Cancer Lett 114:139–140
48. Hollman PC, vd Gaag M, Mengelers MJ, van Trijp JM, de Vries JH, Katan MB (1996) Absorption and disposition kinetics of the dietary antioxidant quercetin in man. Free Radic Biol Med 21:703–707
49. Hou DX, Kumamoto T (2010) Flavonoids as protein kinase inhibitors for cancer chemoprevention: direct binding and molecular modeling. Antioxid Redox Signal 13:691–719
50. Hwang MK, Song NR, Kang NJ, Lee KW, Lee HJ (2009) Activation of phosphatidylinositol 3-kinase is required for tumor necrosis factor-alpha-induced upregulation of matrix metalloproteinase-9: its direct inhibition by quercetin. Int J Biochem Cell Biol 41:1592–1600
51. Ito N (1992) Is quercetin carcinogenic? Jpn J Cancer Res 83:312–313
52. Johnson JL, Rupasinghe SG, Stefani F, Schuler MA, Gonzalez de Mejia E (2011) Citrus flavonoids luteolin, apigenin, and quercetin inhibit glycogen synthase kinase-3beta enzymatic activity by lowering the interaction energy within the binding cavity. J Med Food 14:325–333
53. Kelly GS (2011) Quercetin. Monograph. Altern Med Rev 16:172–194

54. Kim YH, Lee YJ (2007) TRAIL apoptosis is enhanced by quercetin through Akt dephosphorylation. J Cell Biochem 100:998–1009
55. Lamson DW, Brignall MS (2000) Antioxidants and cancer, part 3: quercetin. Altern Med Rev 5:196–208
56. Lee F, Fandi A, Voi M (2008) Overcoming kinase resistance in chronic myeloid leukemia. Int J Biochem Cell Biol 40:334–343
57. Lee J, Ebeler SE, Zweigenbaum JA, Mitchell AE (2012) UHPLC-(ESI)QTOF MS/MS profiling of quercetin metabolites in human plasma postconsumption of applesauce enriched with apple peel and onion. J Agric Food Chem 60:8510–8520
58. Lee KW, Kang NJ, Heo YS, Rogozin EA, Pugliese A, Hwang MK, Bowden GT, Bode AM, Lee HJ, Dong Z (2008) Raf and MEK protein kinases are direct molecular targets for the chemopreventive effect of quercetin, a major flavonol in red wine. Cancer Res 68:946–955
59. Leonarduzzi G, Testa G, Sottero B, Gamba P, Poli G (2010) Design and development of nanovehicle-based delivery systems for preventive or therapeutic supplementation with flavonoids. Curr Med Chem 17:74–95
60. Li C, Liu X, Lin X, Chen X (2009) Structure-activity relationship of 7 flavonoids on recombinant human protein kinase CK2 holoenzyme. Zhong Nan Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban 34:20–26
61. Li H, Zhao X, Ma Y, Zhai G, Li L, Lou H (2009) Enhancement of gastrointestinal absorption of quercetin by solid lipid nanoparticles. J Control Release 133:238–244
62. Lionberger JM, Wilson MB, Smithgall TE (2000) Transformation of myeloid leukemia cells to cytokine independence by Bcr-Abl is suppressed by kinase-defective Hck. J Biol Chem 275:18581–18585
63. Lolli G, Cozza G, Mazzorana M, Tibaldi E, Cesaro L, Donella-Deana A, Meggio F, Venerando A, Franchin C, Sarno S, Battistutta R, Pinna LA (2012) Inhibition of protein kinase CK2 by flavonoids and tyrphostins. A structural insight. Biochemistry 51:6097–6107
64. Manach C, Morand C, Crespy V, Demigne C, Texier O, Regerat F, Remesy C (1998) Quercetin is recovered in human plasma as conjugated derivatives which retain antioxidant properties. FEBS Lett 426:331–336
65. Manach C, Williamson G, Morand C, Scalbert A, Remesy C (2005) Bioavailability and bioefficacy of polyphenols in humans. I. Review of 97 bioavailability studies. Am J Clin Nutr 81:230S–242S
66. McAnlis GT, McEneny J, Pearce J, Young IS (1999) Absorption and antioxidant effects of quercetin from onions, in man. Eur J Clin Nutr 53:92–96
67. Meggio F, Pinna LA (2003) One-thousand-and-one substrates of protein kinase CK2? FASEB J 17:349–368
68. Murota K, Terao J (2003) Antioxidative flavonoid quercetin: implication of its intestinal absorption and metabolism. Arch Biochem Biophys 417:12–17
69. Nagasaka Y, Nakamura K (1998) Modulation of the heat-induced activation of mitogen-activated protein (MAP) kinase by quercetin. Biochem Pharmacol 56:1151–1155
70. Nair HB, Sung B, Yadav VR, Kannappan R, Chaturvedi MM, Aggarwal BB (2010) Delivery of antiinflammatory nutraceuticals by nanoparticles for the prevention and treatment of cancer. Biochem Pharmacol 80:1833–1843
71. Natarajan K, Manna SK, Chaturvedi MM, Aggarwal BB (1998) Protein tyrosine kinase inhibitors block tumor necrosis factor-induced activation of nuclear factor-kappaB, degradation of IkappaBalpha, nuclear translocation of p65, and subsequent gene expression. Arch Biochem Biophys 352:59–70
72. Nguyen TT, Tran E, Nguyen TH, Do PT, Huynh TH, Huynh H (2004) The role of activated MEK-ERK pathway in quercetin-induced growth inhibition and apoptosis in A549 lung cancer cells. Carcinogenesis 25:647–659
73. NTP (1992) Toxicology and carcinogenesis studies of quercetin (CAS No., 117-39-5) in F344/N rats (feed study). NTP technical report. National Toxicology Program (NTP), Research Triangle Park, North Carolina

74. Okamoto T (2005) Safety of quercetin for clinical application (review). Int J Mol Med 16:275–278
75. Olthof MR, Hollman PC, Buijsman MN, van Amelsvoort JM, Katan MB (2003) Chlorogenic acid, quercetin-3-rutinoside and black tea phenols are extensively metabolized in humans. J Nutr 133:1806–1814
76. Olthof MR, Hollman PC, Vree TB, Katan MB (2000) Bioavailabilities of quercetin-3-glucoside and quercetin-4′-glucoside do not differ in humans. J Nutr 130:1200–1203
77. Peet GW, Li J (1999) IkappaB kinases alpha and beta show a random sequential kinetic mechanism and are inhibited by staurosporine and quercetin. J Biol Chem 274:32655–32661
78. Ponce DP, Maturana JL, Cabello P, Yefi R, Niechi I, Silva E, Armisen R, Galindo M, Antonelli M, Tapia JC (2011) Phosphorylation of AKT/PKB by CK2 is necessary for the AKT-dependent up-regulation of beta-catenin transcriptional activity. J Cell Physiol 226:1953–1959
79. Prior RL (2003) Fruits and vegetables in the prevention of cellular oxidative damage. Am J Clin Nutr 78:570S–578S
80. Ranawat P, Pathak CM, Khanduja KL (2012) A new perspective on the quercetin paradox in male reproductive dysfunction. Phytother Res
81. Rayasam GV, Tulasi VK, Sodhi R, Davis JA, Ray A (2009) Glycogen synthase kinase 3: more than a namesake. Br J Pharmacol 156:885–898
82. Russo GL (2007) Ins and outs of dietary phytochemicals in cancer chemoprevention. Biochem Pharmacol 74:533–544
83. Russo M, Palumbo R, Mupo A, Tosto M, Iacomino G, Scognamiglio A, Tedesco I, Galano G, Russo GL (2003) Flavonoid quercetin sensitizes a CD95-resistant cell line to apoptosis by activating protein kinase Calpha. Oncogene 22:3330–3342
84. Russo M, Palumbo R, Tedesco I, Mazzarella G, Russo P, Iacomino G, Russo GL (1999) Quercetin and anti-CD95(Fas/Apo1) enhance apoptosis in HPB-ALL cell line. FEBS Lett 462:322–328
85. Russo M, Spagnuolo C, Tedesco I, Bilotto S, Russo GL (2012) The flavonoid quercetin in disease prevention and therapy: facts and fancies. Biochem Pharmacol 83:6–15
86. Russo M, Spagnuolo C, Tedesco I, Russo GL (2010) Phytochemicals in cancer prevention and therapy: truth or dare? Toxins (Basel) 2:517–551
87. Ruzzene M, Pinna LA (2010) Addiction to protein kinase CK2: a common denominator of diverse cancer cells? Biochim Biophys Acta 1804:499–504
88. Santillo M, Mondola P, Seru R, Annella T, Cassano S, Ciullo I, Tecce MF, Iacomino G, Damiano S, Cuda G, Paterno R, Martignetti V, Mele E, Feliciello A, Avvedimento EV (2001) Opposing functions of Ki- and Ha-Ras genes in the regulation of redox signals. Curr Biol 11:614–619
89. Sarno S, de Moliner E, Ruzzene M, Pagano MA, Battistutta R, Bain J, Fabbro D, Schoepfer J, Elliott M, Furet P, Meggio F, Zanotti G, Pinna LA (2003) Biochemical and three-dimensional-structural study of the specific inhibition of protein kinase CK2 by [5-oxo-5,6-dihydroindolo-(1,2-a)quinazolin-7-yl]acetic acid (IQA). Biochem J 374:639–646
90. Scalbert A, Williamson G (2000) Dietary intake and bioavailability of polyphenols. J Nutr 130:2073S–2085S
91. Schneider H, Schwiertz A, Collins MD, Blaut M (1999) Anaerobic transformation of quercetin-3-glucoside by bacteria from the human intestinal tract. Arch Microbiol 171:81–91
92. Shirai M, Moon JH, Tsushida T, Terao J (2001) Inhibitory effect of a quercetin metabolite, quercetin 3-O-beta-D-glucuronide, on lipid peroxidation in liposomal membranes. J Agric Food Chem 49:5602–5608
93. Sicheri F, Moarefi I, Kuriyan J (1997) Crystal structure of the Src family tyrosine kinase Hck. Nature 385:602–609

94. Silberberg M, Morand C, Manach C, Scalbert A, Remesy C (2005) Co-administration of quercetin and catechin in rats alters their absorption but not their metabolism. Life Sci 77:3156–3167
95. Spagnuolo C, Russo M, Bilotto S, Tedesco I, Laratta B, Russo GL (2012) Dietary polyphenols in cancer prevention: the example of the flavonoid quercetin in leukemia. Ann N Y Acad Sci 1259:95–103
96. Spencer JP, Kuhnle GG, Williams RJ, Rice-Evans C (2003) Intracellular metabolism and bioactivity of quercetin and its in vivo metabolites. Biochem J 372:173–181
97. Spencer JP, Rice-Evans C, Williams RJ (2003) Modulation of pro-survival Akt/protein kinase B and ERK1/2 signaling cascades by quercetin and its in vivo metabolites underlie their action on neuronal viability. J Biol Chem 278:34783–34793
98. Sporn MB, Suh N (2002) Chemoprevention: an essential approach to controlling cancer. Nat Rev Cancer 2:537–543
99. Sun ZJ, Chen G, Hu X, Zhang W, Liu Y, Zhu LX, Zhou Q, Zhao YF (2010) Activation of PI3K/Akt/IKK-alpha/NF-kappaB signaling pathway is required for the apoptosis-evasion in human salivary adenoid cystic carcinoma: its inhibition by quercetin. Apoptosis 15:850–863
100. Surh YJ (2003) Cancer chemoprevention with dietary phytochemicals. Nat Rev Cancer 3:768–780
101. Tedesco I, Russo M, Russo GL (2010) Commentary on 'resveratrol commonly displays hormesis: occurrence and biomedical significance'. Hum Exp Toxicol 29:1029–1031
102. Terao J, Murota K, Kawai Y (2011) Conjugated quercetin glucuronides as bioactive metabolites and precursors of aglycone in vivo. Food Funct 2:11–17
103. Torres J, Pulido R (2001) The tumor suppressor PTEN is phosphorylated by the protein kinase CK2 at its C terminus. Implications for PTEN stability to proteasome-mediated degradation. J Biol Chem 276:993–998
104. Vargas AJ, Burd R (2010) Hormesis and synergy: pathways and mechanisms of quercetin in cancer prevention and management. Nutr Rev 68:418–428
105. Walker EH, Pacold ME, Perisic O, Stephens L, Hawkins PT, Wymann MP, Williams RL (2000) Structural determinants of phosphoinositide 3-kinase inhibition by wortmannin, LY294002, quercetin, myricetin, and staurosporine. Mol Cell 6:909–919
106. Weng CJ, Chen MJ, Yeh CT, Yen GC (2011) Hepatoprotection of quercetin against oxidative stress by induction of metallothionein expression through activating MAPK and PI3K pathways and enhancing Nrf2 DNA-binding activity. N Biotechnol 28:767–777
107. Yao P, Nussler A, Liu L, Hao L, Song F, Schirmeier A, Nussler N (2007) Quercetin protects human hepatocytes from ethanol-derived oxidative stress by inducing heme oxygenase-1 via the MAPK/Nrf2 pathways. J Hepatol 47:253–261
108. Young JF, Nielsen SE, Haraldsdottir J, Daneshvar B, Lauridsen ST, Knuthsen P, Crozier A, Sandstrom B, Dragsted LO (1999) Effect of fruit juice intake on urinary quercetin excretion and biomarkers of antioxidative status. Am J Clin Nutr 69:87–94
109. Zhang S, Yu D (2012) Targeting Src family kinases in anti-cancer therapies: turning promise into triumph. Trends Pharmacol Sci 33:122–128

Sulforafan: Kanserle Savaşta Ümit Vadeden Bir Molekül

Monia Lenzi, Carmela Fimognari ve Patrizia Hrelia

Özet

Kanser apoptoz, proliferasyon, invazyon, anjiogenez ve metastazın transforme ve deregüle olduğu genetik ve moleküler değişimlerle seyreden kompleks bir hastalıktır. Tümör büyümek ve metastaz yapabilmek için konağa ihtiyaç duyar. Hücre disfonksiyonuna ilave olarak, tümör mikroçevresinin primer disfonksiyonu da karsinogenez için hayati önem taşıyabilir. Çok sayıda fitokimyasalın birçok önemli hedefi (nonspesifik olarak) eş zamanlı olarak inhibe ve modüle etme potansiyelleri vardır. Kanserde çok büyük biyolojik farklılıklar görülmesi nedeniyle pleiotropizm avantajlı hale getirebilir. Bu nedenle özellikle diyet kaynaklı bileşiklerde bulunan fitokimyasallar klinik çalışmalarda kemopreventif ve ya kemoterapötik ajanlar olarak önerilmekte ve araştırılmaktadır. Sulforafan (SFN) turpgiller ailesine ait sebzelerde bulunan bir izotiyosiyanattır. Hücre kültüründe, karsinojenle indüklenen genetik hayvan kanser modellerinde ve ksenogreft kanser modellerinde kullanılan SFN'nin etkili bir kemoprotektif ajan olduğu ispatlanmıştır. SFN farklı moleküler hedeflerin modülasyonu ile yönetilen potent sitostatik ve sitotoksik etkileri güçlendirmektedir. Hücrelerin SFN medyatörlüğündeki apoptoza duyarlılığı hücre döngüsüne bağımlı mekanizmaların regülasyonuna bağlıdır. Ancak p53 statüsünün mutasyonundan bağımsızdır. Ayrıca SFN'nin in vitro ortamda sitotoksik tedavi ile kombinasyonunun

C. Fimognari
Dipartimento di Scienze per la Qualità della Vita, University of Bologna, Via Corso dAugusto 237, 47921, Rimini, Italy

M. Lenzi · P. Hrelia (✉)
Dipartimento di Farmacia e Biotecnologie, University of Bologna, Via Belmeloro 6, 40126, Bologna, Italy
e-mail: patrizia.hrelia@unibo.it

V. Zappia et al. (eds.), *Advances in Nutrition and Cancer,*
Cancer Treatment and Research 159, DOI: 10.1007/978-3-642-38007-5_12,
© Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2014

kemoterapi medyatörlüğündeki sitotoksik etkiyi de güçlendirmesi, klinikteki potansiyel terapötik faydalarının göstergesidir. Güvenli ve etkili bir molekül olan SFN kanserle savaşta ümit vadeden bir kemopreventif araç olabilir.

Anahtar Kelimeler

Sulforafan • İzotiyosiyanatlar • Faz I ve II enzimleri • Anjiogenez • Metastatik süreç

Kısaltmalar

SFN	Sulforafan
ITC'ler	İzotiyosiyanatlar
CYP	Sitokrom P450
GST	Glutatyon-S-transferaz
UGT	UDP-glukuronoziltransferaz
NQO1	NAD(P)H: kuinon oksiredüktaz 1
Keap 1	Kelch benzeri ECH ile ilişkili protein 1
GSH	Glutatyon
HCA	Heterosiklik aminler
PhIP	2-amino-1-metil-6-fenilimidazol [4, 5-b] piridin
CDK	Sikline bağımlı kinaz
HDAC	Histon deasetilaz
VEGF	Vasküler endotelyal büyüme faktörü
MMP	Metaloproteaz
Nrf2	Nükleer faktör (eritroid-kaynaklı 2)-benzeri 2
Hif-1 α	Hipoksi ile indüklenebilir faktör-1 α
HO-1	Heme oksijenaz-1
ARE	Antioksidan cevap elementi

İçindekiler

1 Giriş 209
2 Karsinogenetik Prosesin Modülasyonu 210
2.1 Başlangıç Fazının Modülasyonu 210
2.2 Gelişim Fazının Modülasyonu 213
2.3 Progresyon Fazının Modülasyonu 216
3 Sonuçlar 217
Referanslar 218

1 Giriş

Geleneksel olarak çoğunlukla Batı ülkelerini etkilediği düşünülen bir hastalık olan kanser, günümüzde gelişmekte olan ülkelerde yaşayan toplumlarda da yayılmaktadır. Daha yüksek refah seviyesine sahip Batı ülkelerinin çoğunlukla daha fazla kanserojen maruziyetine yol açan diyet ve hayat tarzları ile tarihsel geçmişe dayanan yaygın sigara kullanımı bu ülkelerdeki kanserin yüksek insidansının altında yatan nedendir. Ancak artan endüstrileşme ve zenginleşmenin gelişmekte olan ülkelerdeki sosyal alışkanlıkların hızla değişmeye başlamasını sağlayarak kanser insidans oranlarının endüstrileşmiş ülkelerdeki oranlara ulaşmasına neden olması kanseri dünya çapında bir problem haline getirmiştir [72].

Genetik veya epigenetik birçok nedenden kaynaklanan hücresel bir hastalık olan kanser, hücre homeostazında değişimlere yol açarak hücre büyüme ve proliferasyonunun kontrolünün kaybına yol açar.

Son derece kompleks bir proses olan tümör gelişiminin ilk aşaması normal hücrelerdeki kritik genlerdeki mutasyonların akümülasyonudur. Deneysel olarak çok basamaklı proses olarak tanımlanan birçok olaydan oluşur. Bunlardan en az üç fazın tanımlanması mümkündür: Başlangıç, gelişim ve progresyon.

Başlangıç fazı hücresel genomun hasarı ile karakterize akut bir olaya işaret eder. Hasar uygun bir biçimde tamir edilmez ise hücre replikasyonu sonrası stabil ve irreversibl bir mutasyon haline dönüşür. Kanseri başlatan hücre organizmanın kontrol sistemlerinden bağımsızlaşarak kendi başına büyüme potansiyeline sahip olur.

Gelişim fazındaki hücreler epigenetik mekanizmalardan kaynaklanan yoğun bir proliferatif stimulus ile karakterizedir. Kimyasalların tümör gelişimini destekleyen aktivitelerinin oksidatif stresin indüksiyonu, hücre proliferasyonunun stimulasyonu, preneoplastik lezyonların gelişimi ve spontan hücre ölümünün inhibisyonu yoluyla gerçekleştiği varsayılmaktadır. Bu evrede prolifere olan hücre klonları benign bir tümör görünümündedirler. Hücre kütlesi grup halinde bulunur ve düzenlidir.

Progresyon, malign fenotipin ortaya çıkması ile karakterize olan üçüncü evredir. Bu evrede bazı hücreler tümör kütlesinden ayrılabilir, yakındaki dokuları istila edebilir, kan dolaşımına veya lenf damarlarına infiltre olabilir ve kanserin başlangıç yerinin uzağında sekonder kanserlerin gelişimine neden olabilirler [87].

Kansere karşı savaşı kazanmanın tek yolu tüm evreleri ile mücadele etmektir. Bu nedenle iyi bir kemopreventif ajanın başlangıç, gelişim ve progresyonu kapsayacak şekilde, karsinogenezin tüm evrelerini modüle edebilme yeteneğine sahip olması gerekmektedir. Bu bağlamda, izotiyosiyanatlar (ITC) gibi turpgillerden elde edilen (Brüksel lahanası, brokoli, karnıbahar ve lahana) gibi doğal ürünler karsinogenetik süreçte rol oynayan birçok hedefi modüle edebilme yetenekleri nedeniyle büyük ilgi çekmektedirler. ITC'ler gıdalardaki glukozinolatların prosesleri ve çiğnenmeleri ile oluşur. Bu bitki ailesinin sekonder metabolitlerinin herhangi bir biyolojik aktivitesi yoktur. Glukorafaninin hidrolizi ile elde edilen bir ITC olan SFN brokolide bol miktarda bulunur. SFN karsinogenetik prosesin farklı düzeylerinde etkili olabilme yeteneğinden dolayı özel ilgi çekmektedir [62].

2 Karsinogenetik Prosesin Modülasyonu

SFN'nin günümüzde ispat edilmiş olan kemopreventif aktivitesi karsinogenezin tüm farklı evrelerini inhibe edebilme, geriye çevirebilme veya geciktirebilme yeteneğinden kaynaklanmaktadır: Başlangıç, gelişim ve progresyon (Şekil 1). SFN başlangıç fazını, hem prokarsinojenlerin karsinojenlere metabolik aktivasyonunu faz I metabolizmasını engelleyerek hem de faz II metabolizmasını indükleyerek karsinojenlerin detoksifikasyonunu destekleyerek modüle etmektedir. Böylece DNA'yı mutajenik bileşiklerin saldırılarından korur. SFN ayrıca hücre döngüsünü geciktirerek ve/veya durdurarak veya apoptozu indükleyerek ortaya çıkan sitostatik ve sitotoksik etkileri ile transforme olan hücrelerin klonal yayılımını engelleyerek gelişim fazını modüle edebilir.

SFN son olarak, anjiogenezi, benign tümörün malign hale dönüşümünü ve metastatik prosesi de inhibe ederek progresyon fazını modüle edebilir.

2.1 Başlangıç Fazının Modülasyonu

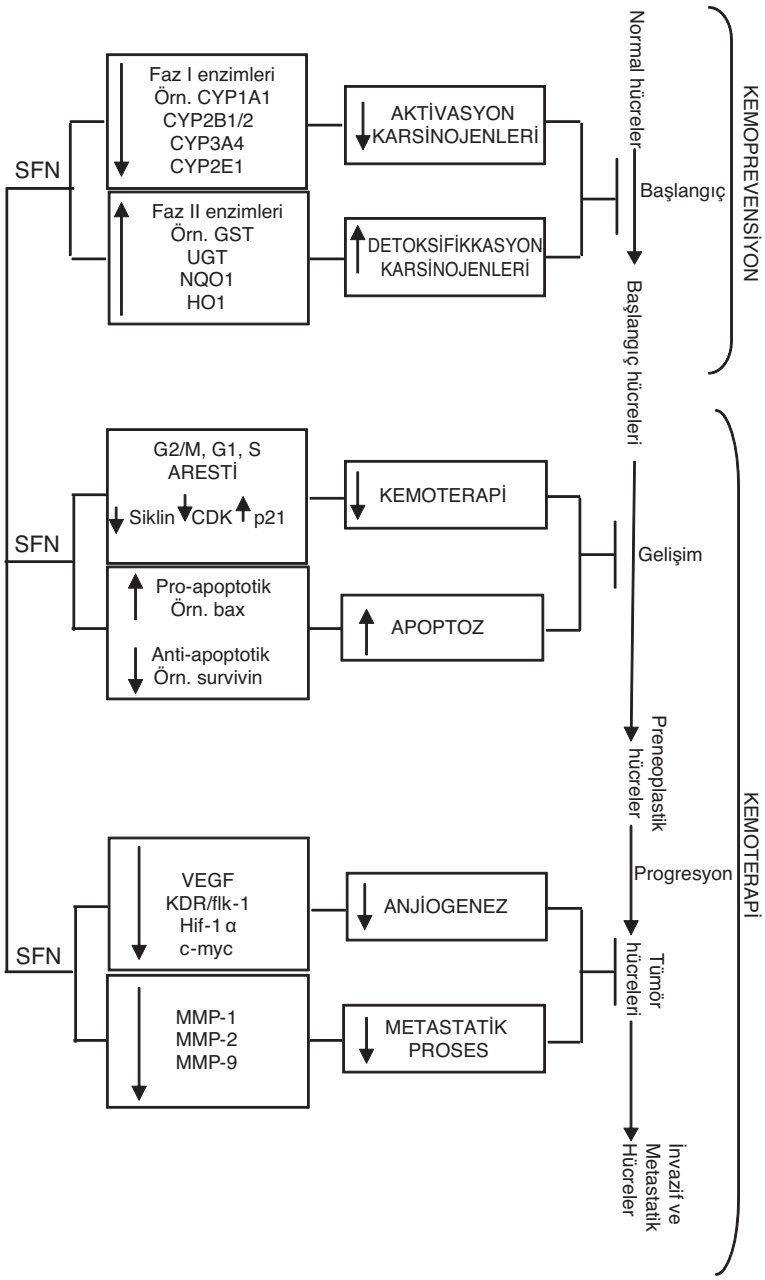
2.1.1 Faz I Enzimlerinin İnhibisyonu

Kimyasal yoldan indüklenen karsinogenezi bloke etmenin temel basamaklarından birisi faz I enzimlerinin inhibe edilmesidir. Bu enzimlerin rol oynadığı kimyasal reaksiyonlar (oksidasyon, redüksiyon ve hidroliz) genel olarak detoksifikasyona yol açsalar da, karsinojenlerin biyoaktivasyonunda da rol oynarlar. Diyette bulunan ve çevresel karsinojenlerin hemen hepsi gerçekte prokarsinojenlerdir. Bunlar ilaçları metabolize eden enzimler tarafından yüksek oranda aktif olan ve makromolekülleri (DNA, RNA ve protein) bağlayabilen aracılara biyoaktive olabilirler. Bu olaylar primer olarak sitokrom P450 (CYP) enzimleri tarafından katalize edilir. Bu nedenle ekspresyonlarını ve fonksiyonlarını modüle edebilen bileşikler, karsinogenetik prosesin engellenmesinde önemli olabilir. Faz I metabolizması SFN tarafından modüle edilebilir. Birçok çalışmada CYP aktivitesini direkt etkileşim ya da mRNA düzeylerinin regülasyonu ile regüle edebildiği gösterilmiştir. Örneğin, SFN sıçan hepatositlerindeki CYP'ler olan 1A1 ve 2b1/2'yi doza bağlı olarak inhibe eder. İnsan hepatositlerindeki CYP3A4 aktivitesini de CYP3A4 mRNA düzeylerini regüle ederek belirgin biçimde azaltır [59]. SFN aseton uygulanan sıçan karaciğerinin mikrozomlarındaki CYP2E1'in de yarışmalı inhibitörüdür. SFN heterosiklik aminlerin metabolik aktivasyonunda rol oynayan CYP1A2'yi etkilemez [4, 19].

Genel olarak, SFN'nin çeşitli CYP'leri inhibe edebilen ve buna bağlı olarak prokarsinojenlerin aktivasyonunu azaltabilen bir ajan olduğu söylenebilir.

2.1.2 Faz II Enzimlerinin İndüksiyonu

SFN, çok sayıda literatürde de bildirildiği üzere, epoksit hidrolaz, ferritin, glutatyon peroksidaz, glutatyon redüktaz, glutamat-sistein sentetaz [94], glutatyon-S-transferaz (GST) [93], heme oksijenaz-1 (HO-1) [18], tieordoksin redüktaz [3], ve UDP-glukuronoziltransferaz (UGT) 1A [6] gibi faz II enzimlerinin hem in vivo hem de in



Şekil 1 SFN karsinogenetik sürecin üç farklı fazını farklı moleküler hedefleri modüle ederek hem kemopreventif hem de kemoterapötik ajan olarak etki göstererek etkiler.

vitro ortamdaki en güçlü indükleyicilerinden biridir. Örneğin, SFN insan hepatom hücrelerindeki HepG2'deki NAD(P)H:kuinon oksidoredüktaz 1'in (NQO1) [46] aktivitesini ve bilirübin glukuronidasyonunu artırır [6]. SFN ayrıca mürin Hepa1c1c7'deki GST ve NQO1 aktivitesini artırıp [46, 60], sıçan hepatositlerindeki GSTA1/2 ve GSTP1 mRNA düzeylerini yukarı regüle ederken, insan primer hepatositlerindeki GSTA1/2 ve GSTM1'in mRNA düzeylerini indükler [59]. SFN ayrıca kolon ve prostat kanser hücre dizilerindeki faz II metabolizmasını da artırma yeteneğine sahiptir. Özellikle, hem farklılaşmış HT29'da [6] hem de farklılaşmamış CaCo-2 hücrelerindeki [88] GSTA1 ve UGT1A1 aktivitesini doz ve zamana bağlı olarak artırır. SFN insan prostat hücrelerindeki GSTA1 ve NQO1 mRNA düzeylerini ve GST ve NQO1 aktivitesini artırmaktadır [9]. SFN insan hepatom hücrelerindeki ve hepatositlerindeki HepG2'deki 2-amino-1-metil-6-fenilimidazol[4,5-b]piridin (PhIP)-DNA eklentilerini doza bağlı olarak ve muhtemelen UGT1A1 ve GSTA1 mRNA ekspresyonunun indüksiyonu ile anlamlı olarak azaltır [2].

İn vivo çalışmalarda SFN'nin faz II enzimlerinin potent bir indükleyicisi olduğu konfirme edilmiştir. Oral SFN uygulanan sıçan dokularındaki GST ve NQO1 aktiviteleri artmaktadır. SFN uygulanan sıçanların mide, duodenum, mesane [64], karaciğer, kolon ve pankreasındaki [60] NQO1 ve GST aktiviteleri de artar.

SFN NQO1'in enzimatik aktivitesinde ve prostat, karaciğer ve en fazla da mesanedeki total GST düzeylerinde anlamlı artışa yol açar [47]. Faz II enzimlerinin indüksiyonu, SFN uygulanan ve deneysel olarak akciğer karsinogenezi indüklenen dişi İsviçre albino farelerinde pre- ve post- başlangıç fazı çalışmalarında yakın zamanda gösterilmiştir [48].

SFN'nin faz II enzimlerinin indüksiyonunu, antioksidan cevap elementleri (ARE) adı verilen spesifik DNA sekansları içeren genlerinin transkripsiyonunun stimüle ederek sağladığı düşünülmektedir [20, 63]. Bu güçlendirici sekansı içeren genler, sitoskeletal protein Kelch-benzeri ECH-ilişkili protein 1'e (Keap 1) bağlı sitoplazmada bulunan nükleer faktör (eritroid-kaynaklı 2)-benzeri 2'nin (Nrf2)transkripsiyonu ile regüle olurlar. Sitosolik redoks durumundaki değişime cevap olarak Keap 1 ve Nrf2 arasındaki bağı kırar. Buna bağlı olarak Nrf2 aktive olur ve protein ile bağlanır. Nrf2 çekirdeğe translokе olarak, ARE içeren genlerin transkripsiyonunu indükleyebilir. Nrf2 inaktif iken SFN tarafından indüklenen herhangi bir gen ekspresyonu gözlenmemiştir [21, 37, 38, 51, 68, 92].

Birçok çalışmada bu yolağın oksidatif strese karşı korunmada rol oynadığı ve kanser ve nörodejeneratif hastalıklar gibi kronik durumlar için etkili bir terapötik hedef olabileceği bildirilmiştir [55]. SFN indirekt bir antioksidan olarak kabul edilir. Çünkü hücreleri aşırı serbest radikal üretiminden donör veya elektron akseptörü olarak değil, faz II enzimlerinin ekspresyonunu ve glutatyonun (GSH) intraselüler düzeylerini modüle ederek korur. SFN'nin glutamilsistein sentetazın hafif zincirinin sentezini artırabilme yeteneği olduğu da ispatlanmıştır. Bu etki enzimin ağır zinciri için geçerli değildir. Bu enzim GSH sentezinin sınırlandırıcı bir basamağını katalizlemektedir [94].

Tüm kanıtlar bir arada değerlendirildiğinde SFN'nin karsinojen detoksifikasyonunu ve mutajenik olaylara karşı hücre savunmasını artırdığı görülmektedir.

2.1.3 DNA'nın Mutajenik Bileşiklerin Saldırısından Korunması

SFN farklı etki mekanizmaları kullanarak birçok karsinojenik bileşikle savaşabilme gücüne sahiptir. Örneğin, heterosiklik aminlere (HCA) maruziyet meme, kolon ve prostat kanseri gibi kanser türlerinin gelişimi ile ilişkilidir. İn vivo çalışmalarda SFN'nin HCA tarafından indüklenen mutajenezin potent bir inhibitörü olduğu gösterilmiştir [80].

İnsan hepatom hücrelerindeki HepG2'deki PhIP-DNA eklentileri, tedavide SFN ve PhIP'nin eş zamanlı kullanımı ile anlamlı olarak azalmıştır. Ancak önce PhIP uygulanan hücrelere sonrasında SFN uygulanması ile PhIP-DNA eklentilerinde bir azalma tespit edilmemiştir. Bu bulgu SFN'nin DNA tamirindeki enzimleri indüklemek yerine koruyucu etki yaptığını göstermektedir [46].

İnsan meme epitel hücrelerindeki MCD-10F'de, benzo(a)piren ve 1.6-dinitropiren maruziyeti sonrası oluşan DNA eklentilerinin oluşumu SNF tarafından inhibe edilmektedir [84]. SFN insan kolorektal hücrelerini benzo(a)piren tarafından indüklenen tek zincir DNA kırıklarına karşı korumaktadır [8]. SFN CYP2E1 ve CYP1A2 salgılayan insan karaciğer hücrelerini ise N-nitrozodimetilamin ve 2-amino-3-metilimidazo [4,5-f] kinolon tarafından indüklenen çift zincir kırıklarına karşı korur [5].

İnsan lenfositleri ile yapılan bir çalışmada SFN'nin dört farklı bileşiğin genotoksisitesini engellediği gösterilmiştir: Alkilleyici etil metanesulfonat, aneugen vinkristin, oksitleyici H_2O_2, alkilleyici ve oksitleyici mitomisin C. Etil metanesulfonat ve mitomisin C üzerindeki antigenotoksik aktivitesi apoptoz indükleyici etkisinden kaynaklanmaktadır. Kontrast olarak, vinkristin ve H_2O_2 uygulanan kültürlere SFN eklenmesi apoptotik hücre fraksiyonlarında bir artışa yol açmamıştır. Bu sonuç SFN'nin koruyucu etkisinin hücre proliferasyonunun inhibisyonu veya spesifik enzimlerin indüksiyonu gibi farklı bir mekanizmadan kaynaklanabileceğini düşündürmektedir [26].

İn vivo çalışmaların sonuçları net değildir. Gills ve ark. [34] klasik bir iki basamaklı karsinogenez protokolünde (başlangıç ve gelişim aşamalarındaki etkilerin birbirinden ayrıldığı) 7,12-dimetilbenz(a)antrasen'in öncesinde ve sonrasında topikal olarak SFN uygulanması ile tümör taşıyan farelerin yüzdesinin azalmadığını bildirmiştir. Ancak, Kuroiwa ve ark. [54] ise SFN'nin pankreatik kanallardaki atipik hiperplazinin insidansını ve hamster pankreatik karsinogenez modelindeki adenokarsinomların insidansını azalttığını bildirmişlerdir.

Bu sonuçlar SFN'nin ilginç bir antigenotoksik etkiye sahip olduğunu önermektedir. Ancak bu aktivite henüz tam olarak aydınlatılamamıştır.

2.2 Gelişim Fazının Modülasyonu

2.2.1 Sitostatik Etkiler

SFN çeşitli hücresel modellerindeki (prostat, kolon, meme, mesane ve T hücreleri) hücre döngüsü progresyonunu modüle edebilme ve çalışılan hücre dizisine, kullanılan teda-

vinin dozuna, maruziyetin süresine bağlı olarak hücreleri G1 [14, 77, 91], S [89] veya G2/M [40, 73, 74] fazında durdurabilme yeteneğine sahiptir. Bu etkiler siklinler, sikline bağımlı kinaz (CDK) ve CDK inhibitörlerinin modülasyonu ile ilişkilidir.

Özellikle, G2/M fazındaki hücre döngüsünün durdurulması (arrest), PC-3 ve DU-145 insan prostat kanseri hücrelerinde, HCT-116, HT29 ve Caco-2 insan kolon kanseri hücrelerinde [82], F311 mürin meme kanseri hücrelerinde [39], MCF-7 insan meme kanseri hücrelerinde [40], Jurkat insan T lösemi hücrelerinde [23, 25], U2-OS insan osteosarkom hücrelerinde [53], insan miyelom hücre dizilerinden oluşan panelde ve primer miyelom tümör hücrelerinde gözlenmiştir [43].

SFN'nin G2/M faz arrestini indükleyebilmesinde çeşitli mekanizmalar rol oynamaktadır. PC-3 prostat kanseri hücrelerinde siklin B1, Cdc25B ve Cdc25c seviyelerinde anlamlı azalma ile ilişkili iken, Tyr15-fosforile CDK1'de ise artış ile ilişkilidir. Bu olaylar SER-16'daki Cdc25c'nin hızlı ve sürekli fosforilasyonunu indükleyen ChK2 aktivasyonuna yol açarlar. Aynı Chk2'ye bağımlı G2/M arresti HCT-116 insan kolon kanseri hücrelerinde de görülmüştür [82]. SFN bunlara ek olarak, MCF-7 meme kanseri hücrelerinin mitotik fazda tubulin polimerizasyonunun inhibisyonuna bağlı olarak arrestine neden olurken [40], F311 meme kanseri hücrelerinin arresti ise anormal ve eksik mitotik mikrotubul formasyonuna bağlıdır [39].

G2/M faz arresti SFN tarafından indüklenen ana hücre döngü arresti olmasına rağmen, prostat ve kolon kanseri hücrelerinde diğer fazlarda da arrest görülmektedir. LnCap ve DU-145 insan prostat kanser hücrelerinde SFN uygulanması ile CDK4 aktivitesinin inhibisyonu sonucu G1 fazında total arrest, p21 ekspresyonunda artış ve siklin D1 ekspresyonunda azalma olmuştur [91]. Benzer şekilde HT29 kolon kanseri hücrelerinde de p21 düzeylerinde artma ve D1, siklin A ve c-myc düzeylerinde azalma sonrası G1 faz arresti meydana gelir [79].

Ayrıca UMUC insan mesane hücrelerinde SFN uygulaması ile S fazında arrest bildirilmiştir [89].

İn vivo bir çalışmada SFN'nin gelişim fazını hücre proliferasyonunu inhibe ederek durdurduğu net olarak gösterilmiştir. SFN topikal uygulamada 7, 12 dimetilbenz(a) antrasen/12-O-tetradekanolforbol 13-asetatın indüklediği fare deri tümörijenezini anlamlı düzeyde inhibe etmiştir [34].

Bu kanıtların ışığında SNP'nin hücre döngüsünü farklı moleküler mekanizmalarla modüle edebilen efektif bir sitostatik ajan olduğu gösterilmiştir.

2.2.2 Sitotoksik Etkiler

SFN'nin proapoptotik etkileri hücre spesifik değildir ve farklı hücre dizilerinde tanımlanmıştır.

İlk kanıt kolon kanseri hücrelerinde bildirilmiştir [32, 33, 42]. Daha sonra prostat kanseri hücrelerinde [14, 15, 81], medullablastom [35], meme [39, 75], over [12], pankreas [74], kan [23, 24], mesane [77, 89], cilt [61] hücreleri ile insan miyelom hücre dizilerinden oluşan bir panel ve primer miyelom tümör hücrelerinde [43] ve yüksek oranda metastatik B16F-10 melanom hücrelerinde bu etkinin varlığı bildirilmiştir [36].

Bu in vitro modellerde SFN'nin apoptozun özellikleri olan kromatin kondensasyonu, fosfatidilserinin plazma membranı boyunca translokasyonu ve DNA fragmantasyonunu indükleyebildiği gösterilmiştir. SFN hem intrinsik (mitokondri aracılığı ile) ve ekstrinsik (ölüm reseptörü aracılığı ile) yolaklardaki multipl hedefleri de aktive edebilmektedir. En sık görülen ve tedavisi en zor beyin tümörlerinden biri olan glioblastom hücrelerinin, SFN'ye kaspaza bağımlı ve kaspazdan bağımsız mekanizmalar ile indüklenen apoptotik hücre fraksiyonunda artış ile cevap vermeleri ilginçtir [52].

SFN'nin proapoptotik etkisi ile ilgili birçok çok moleküler mekanizma önerilmiştir: Cdc2 kinazın aktif formda korunması [39, 73], kaspaz gibi proapoptotik genlerin aktivasyonu [74], tubulin polimerizasyonunun blokajı [39], oksidatif stresin artışı [83], intraselüler antioksidanların azalması [74] ve nükleer faktör sinyal yolakları [45]. Lösemi hücreleri ile yapılan diğer çalışmalarda SFN tarafından indüklenen apoptozun bax seviyelerinde bir artış ile ilişkili olduğu bulunmuştur [23, 25]. SFN, PC-3 prostat kanser hücrelerindeki apoptozu PARP ayrışması ile destekler. Bu sonuç çıplak faredeki PC-3 ksenogreft çalışmasında apoptozisin bax ve bid gibi proapoptotik proteinlerde artış ile ilişkili bulunması ile konfirme edilmiştir [81].

HT29 kolon kanseri hücrelerindeki bax ekspresyonu, sitokrom c salınımı ve PARP ayrılması SFN ile artmıştır [33]. Miyelom hücrelerinde SFN uygulaması ile mitokondrial membran potansiyelinin azalması, kaspaz 3 ve 9 artışı ve Mcl-1, X-IAP, c-IAP ve survivin gibi antiapoptotik proteinlerin aşağı regülasyonu apoptozu indüklemiştir [43].

SFN, HeLa insan servikal karsinom ve HepG2 hepatokarsinom hücrelerindeki apoptozu kaspaz 3 aktivasyonu ile indüklemiştir [71]. SFN, T98G ve U87MG glioblastom hücrelerindeki apoptozu ise Ca^{2+} artışı, kalpain indüksiyonu ve Smac/Diablo'nun sitosolik yukarı regülasyonu ile indüklemiştir [52]. Primer kanser hücre dizileri kullanılarak SFN'nin kolorektal kanserdeki antikanser etkilerini inceleyen güncel bir çalışmada kaspaz 3 artışı, mitokondri membran potansiyelinin kaybı, pro-kaspaz 3 ayrışması ve kaspaz 2, 3, 8, 9 aktivitesinde artış gösterilmiştir [13].

Ayrıca PC-3 hücrelerindeki SFN'ye bağlı apoptozu indükleyen aktivatör protein 1'in regülasyonunda ERK ve JNK sinyal yolakları da rol oynamaktadır [92]. Jurkat T lösemi hücrelerinde yapılan çalışmalarda bu hücrelerin SFN tarafından indüklenen apoptoza en fazla G1 fazında duyarlı olduğu gösterilmiştir. G2/M fazındaki duyarlılık daha azken, en düşük duyarlılık S fazında gözlenmiştir [29]. SFN ayrıca sitodiferensiyasyona ve HL-60 insan promiyelositik hücrelerindeki hem granülositik, hem de makrofajik türler yönünde apoptotik hücre fraksiyonunda artışa yol açabilir. Bu etki fosfatidilinositol 3-kinaz/protein kinaz C aracılığında gerçekleşir [31]. Ayrıca HEK293 embriyonik böbrek hücreleri, HCT-116 insan kolon kanseri hücreleri [65], BPH-1, LnCaP ve PC-3 prostat epitel hücreleri ile yapılan çalışmalarda da SFN'nin histon deasetilazın (HDAC) aktivitesini inhibe edebilme özelliği tanımlanmıştır. BU SNF'nin proapoptotik etkisinin altında yatan yeni bir mekanizmadır [16, 67]. Bu bulgular oral SFN ile beslenen farelerde de, HDAC aktivitesinin anlamlı inhibisyonu ile birlikte eş zamanlı olarak asetile histonlar H3 ve H4'ün de arttığının tespit edilmesi ile konfirme edilmiştir [66].

SFN tarafından indüklenen apoptoz ilginç biçimde kanser hücrelerinden sıklıkla mutasyona uğrayan ve en önemli tümör baskılayıcı genlerden birisi olan p53'den bağımsız görünmektedir. HT29 kolon kanseri hücrelerinde SFN uygulanması ile p53 düzeyleri değişmemektedir [33]. Farklı p53 statülerine sahip (doğal, knock-out ve mutasyonlu) üç tip fibroblast ile yapılan çalışmalarda mutasyonlu p53'ün SFN'nin indüklediği apoptozu engellemediği gösterilmiştir. Bu da p53'ün farklı bir yolağı olduğunu düşündürmektedir [27, 28]. HCT-116 kolon kanser hücrelerinde SFN'ye bağlı apoptoz kaspaz 7 ve 9 ile hem doğal hem de knock-out hücrelerde artış ile ilişkilidir [70, 76].

Sonuç olarak SFN'nin kanser hücrelerindeki apoptozu farklı yolakların modülasyonu ile indükleyen efektif bir sitotoksik ajan olduğu gösterilmiştir.

2.3 Progresyon Fazının Modülasyonu

2.3.1 Anjiogenezin İnhibisyonu

Güncel çalışmalarda SFN'nin anjiogenezi etkilediği gösterilmiştir. Anjiogenez yeni kan damarı formasyonunun fizyolojik sürecidir. Normal doku büyümesi için hayati olan bu süreç tümör dokusunun da beslenme, yayılma ve metastaz yapmakta kullandığı mekanizmadır [10]. Bir kapiler ağı oluşturarak oksijen ve besin maddelerinin intratümöral kullanımını sağlayan bu damar formasyonu olmadan tümörün büyümesi sınırlı kalır ve kritik boyut olan 1-2 mm^2'ye ulaşamaz.

Anjiogenezin progresyonu tümör hücrelerinden vasküler endotelyal büyüme faktörü (VEGF) gibi belirli proanjiogenik moleküllerin salgılanmasını gerektirir.

SFN, in vitro HMC-1 insan mikrovasküler endotel hücrelerinde mikrokapilerlerin, kapiler benzeri tüplerin oluşumunu ve hücre migrasyonunu, VEGF ve reseptörü olan KDR/flk-1'i (transkripsiyon düzeyinde), hipoksi ile indüklenebilir faktör-1 α'yı (Hif-1 α), ve c-Myc'yı inhibe ederek azaltır [7]. Anjiogenez modeli olarak HUVEC insan umblikal ven endotelyal hücrelerinin kullanıldığı çalışmada SFN'nin kan damar gelişimini engellediği ve endotel hücrelerinin proliferasyonunda doza bağlı azalmayı indüklediği gösterilmiştir [1]. Anjiogenezin proliferasyon supresyonu ile engellenmesi de sığır aort endotel hücrelerinde gözlenmiştir [41].

Bu bulguların bir arada değerlendirilmesi ile SFN'nin anjiogenezin tüm önemli basamaklarını modüle edebilme yeteneği olduğu görülmektedir.

2.3.2 Benign Tümörlerin Malign Tümörlere Dönüşümünün Engellenmesi

Çeşitli hayvan modellerinde SFN'in in vivo antitümör özellikleri değerlendirilmiştir. SFN akciğer [17], pankreas [54], cilt [34, 82] ve mide [21] gibi organlarda farklı karsinojenik bileşiklerle indüklenen tümörlerin gelişimini özellikle erken evrelerdeki tümör gelişimini modüle ederek inhibe edebilme yeteneğine sahiptir.

Ayrıca bazı farklı çalışmalarda da SFN'nin tütün karsinojenleri tarafından indüklenen akciğer adenomunun malign progresyonunu önlediği gösterilmiştir. Ayrıca 4-(metilnitrozoamino)-1-(3-piridil)-1-butanon ve benzo(a)piren uygulanan A/J farelerinde yapılan histopatolojik incelemede akciğer kanserinin malign progresyonunda anlamlı bir azalma tespit edilmiştir. SFN'nin inhibitör aktivitesi hücre proliferasyonunda azalma, apoptozda artma ve muhtemelen de kaspaz 3 modülasyonu ile ilgilidir [17].

2.3.3 Metastatik Prosesin İnhibisyonu

Metastaz yapabilme malign tümörlerin sahip olduğu özelliklerden birisidir. Metastatik proses kanser hücrelerinin kan veya lenf sistemi ile geliştikleri organdan diğer organlara ardışık olaylar serisi ile sıçramalarını sağlar.

Hastanın kişisel özelliklerine (genel durum ve immun cevap yeteneği) ve tümör hücrelerinin spesifik özelliklerine (lokasyon, boyut ve histopatolojik karakteristikler) bağlı olarak gerçekleşen biyolojik bir olaydır [22, 57, 69].

Tümörün lokal olarak yayılması, adipoz doku ve kıkırdak gibi çevre dokulardaki hücreleri parçalayan enzimlerin salınımı ile başlar. Tümör hücreleri kan ve lenf damarları ile karşılaşınca, bunların duvarlarını delerek kan veya lenf dolaşımına geçip vücut boyunca yayılabilme yeteneğine sahiptir [56, 58].

SFN, C57BL/6 faresinde B16F-10 ile indüklenen yüksek oranda metastatik melanom hücrelerinin akciğere metastaz yapmasını inhibe edici etki göstermektedir. Ayrıca pulmoner fibroz markerlerinde ve hücresel proliferasyon markerlerinde anlamlı azalmaya ve metastaz görülen hayvanlardaki sağkalımın da uzamasına neden olmuştur [90]. Bu etkileri sağlayan mekanizma, ekstraselüler matriksin komponentlerinin çoğunu imha ederek hücre invazyonuna ve metastaz formasyonuna yol açan endoproteinaz ailesinden metaloproteaz (MMP) 2 ve 9'un aktivasyonunun inhibisyonudur [11, 85]. Metaloproteazlar ayrıca neoplastik progresyonu destekleyen sitokinler ve büyüme faktörleri gibi belirli unsurları da modüle edebilirler [95]. SFN, oral karsinom hücrelerinin migrasyonunu ve invazyonunu MMP-1 ve MMP-2'yi [44] aşağı regüle ederek engeller. Ayrıca dişi atimik farelerdeki KPL-1 insan meme kanseri hücrelerinin aksiller lenf nodu metastazını da azalttığı gösterilmiştir [50].

3 Sonuçlar

Kanser birçok genetik ve moleküler değişimlerle karakterize aşırı derecede kompleks bir hastalıktır. Bu moleküler değişimler yeni farmakolojik stratejilerin geliştirilebilmesindeki potansiyel hedefleri oluşturmaktadır. Bir tümörü karakterize eden aşırı kompleks biyolojik özellikler göz önüne alındığında kullanılabilecek ümit vadeden stratejilerden bir tanesi kritik hedefleri eş zamanlı olarak inhibe veya modüle edebilen nonspesifik ajanların kullanımına dayanmaktadır. Bitkisel ürünler bu bağlamda kullanılabilecek çok hedefli bileşikler sunan ilginç bir kaynaktır. Ümit vadeden bir kemopreventif ajan olan

SFN, 1992 yılında faz II enzimlerinin önemli bir indükleyicisi olarak lanse edilmiştir. Bu ITC ile yapılan geniş kapsamlı çalışmalarda, SFN'in önemli kemoterapötik yaklaşımlara temel oluşturabilecek farklı özelliklere de sahip olduğu tespit edilmiştir. SFN gerçekten de farklı in vitro ve in vivo modellerde proliferasyonu inhibe edip apoptozu ve sitodiferensiyasyonu indükleyebilme özelliği göstermiştir. Birçok tümör hücresinin prolifere olamayan erişkin hücre geliştirebilme yeteneklerinde değişimler mevcuttur. SFN'nin terminal farklılaşmayı indükleyebilme özelliği replikasyon kapasitesi olmayan veya çok az olan hücrelerin oluşumuna neden olur. Bu hücreler sonrasında apoptoz sürecine girmek zorunda kalırlar [86]. Farklılaşma bu nedenle geleneksel antikanser ajanlara karşı bir alternatif teşkil etmektedir. SFN ayrıca ümit vadeden bir antianjiogenik ajan olup kanser hücrelerinin metastaz yapmasını inhibe edebilme yeteneğine sahiptir. Günümüzde mevcut ajanlar arasında kanser hücrelerinin metastazını engelleyebilen bir ilaç mevcut değildir [90]. Bu durum çok sayıda veya tek bir metastazdaki kanser hücrelerinin kemoterapiye farklı cevaplar vermesinden kaynaklanmaktadır.

Yeni veriler SFN'in p53'ün mutasyona uğradığı veya knockout olduğu hücrelerdeki apoptozisi indükleme yeteneği olduğunu göstermektedir. Klasik kemoterapötik ajanların çoğunun etki gösterebilmek için normal p53 varlığına ihtiyaç duydukları göz önüne alındığında, karşımıza ilginç ve önemli bir klinik uygulama alanı çıkmaktadır. Buna paralel olarak SFN'nin diğer kemoterapötik ajanların etkinliğini artırma ve gelişen rezistansı önleme yeteneğinin vurgulanması da önemlidir [28, 30, 49].

Ayrıca yeni moleküllerin geliştirilmesinde aranan tek özellik etkinlik değildir. Daha büyük ölçekli çalışmalara ihtiyaç olmasına rağmen, SFN'nin insanlarda genotoksisiteye yol açmadığı göz önüne alındığında [26], olumlu bir toksikolojik profile, tolerabilitiye ve güvenliğe sahip olduğu aşikardir [78].

Yukarıda da bahsedildiği üzere SFN'nin etkili ve güvenli bir kemopreventif molekül ve kanserle mücadelede ümit vadeden bir alternatif olduğu güncel literatürde net olarak ortaya koyulmaktadır.

Referanslar

1. Asakage M, Tsuno NH, Kitayama J et al (2006) Sulforaphane induces inhibition of human umbilical vein endothelial cells proliferation by apoptosis. Angiogenesis 9:83–91
2. Bacon JR, Williamson G, Garner RC et al (2003) Sulforaphane and quercetin modulate PhIP-DNA adduct formation in human HepG2 cells and hepatocytes. Carcinogenesis 24:1903–1911
3. Bacon JR, Plumb GW, Howie AF et al (2007) Dual action of sulforaphane in the regulation of thioredoxin reductase and thioredoxin in human HepG2 and Caco-2 cells. J Agric Food Chem 55:1170–1176
4. Barcelo S, Gardiner JM, Gescher A et al (1996) CYP2E1-mediated mechanism of antigenotoxicity of the broccoli constituent sulforaphane. Carcinogenesis 17:277–282
5. Barcelo S, Mace K, Pfeifer AM et al (1998) Production of DNA strand breaks by N-nitrosodimethylamine and 2-amino-3-methylimidazo[4,5-f]quinoline in THLE cells expressing human CYP isoenzymes and inhibition by sulforaphane. Mutat Res 402:111–120
6. Basten GP, Bao Y, Williamson G (2002) Sulforaphane and its glutathione conjugate but not sulforaphane nitrile induce UDP-glucuronosyl transferase (UGT1A1) and glutathione transferase (GSTA1) in cultured cells. Carcinogenesis 23:1399–1404

7. Bertl E, Bartsch H, Gerhauser C (2006) Inhibition of angiogenesis and endothelial cell functions are novel sulforaphane-mediated mechanisms in chemoprevention. Mol Cancer Ther 5:575–585
8. Bonnesen C, Eggleston IM, Hayes JD (2001) Dietary indoles and isothiocyanates that are generated from cruciferous vegetables can both stimulate apoptosis and confer protection against DNA damage in human colon cell lines. Cancer Res 61:6120–6130
9. Brooks JD, Paton VG, Vidanes G (2001) Potent induction of phase 2 enzymes in human prostate cells by sulforaphane. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 10:949–954
10. Carmeliet P, Jain RK (2000) Angiogenesis in cancer and other diseases. Nature 407:249–257
11. Chambers AF, Matrisian LM (1997) Changing views of the role of matrix metalloproteinases in metastasis. J Natl Cancer Inst 89:1260–1270
12. Chaudhuri D, Orsulic S, Ashok BT (2007) Antiproliferative activity of sulforaphane in Akt-overexpressing ovarian cancer cells. Mol Cancer Ther 6:334–345
13. Chen MJ, Tang WY, Hsu CW et al (2012) Apoptosis induction in primary human colorectal cancer cell lines and retarded tumor growth in SCID mice by sulforaphane. Evid Based Complement Alternat Med 2012:415231
14. Chiao JW, Chung FL, Kancherla R et al (2002) Sulforaphane and its metabolite mediate growth arrest and apoptosis in human prostate cancer cells. Int J Oncol 20:631–636
15. Choi S, Lew KL, Xiao H et al (2007) D, L-Sulforaphane-induced cell death in human prostate cancer cells is regulated by inhibitor of apoptosis family proteins and Apaf-1. Carcinogenesis 28:151–162
16. Clarke JD, Hsu A, Yu Z et al (2011) Differential effects of sulforaphane on histone deacetylases, cell cycle arrest and apoptosis in normal prostate cells versus hyperplastic and cancerous prostate cells. Mol Nutr Food Res 55:999–1009
17. Conaway CC, Wang CX, Pittman B et al (2005) Phenethyl isothiocyanate and sulforaphane and their N-acetylcysteine conjugates inhibit malignant progression of lung adenomas induced by tobacco carcinogens in A/J mice. Cancer Res 65:8548–8557
18. Cornblatt BS, Ye L, Dinkova-Kostova AT et al (2007) Preclinical and clinical evaluation of sulforaphane for chemoprevention in the breast. Carcinogenesis 28:1485–1490
19. Dashwood RH (2002) Modulation of heterocyclic amine-induced mutagenicity and carcinogenicity: an 'A-to-Z' guide to chemopreventive agents, promoters, and transgenic models. Mutat Res 511:89–112
20. Dinkova-Kostova AT, Holtzclaw WD, Cole RN et al (2002) Direct evidence that sulfhydryl groups of Keap1 are the sensors regulating induction of phase 2 enzymes that protect against carcinogens and oxidants. Proc Natl Acad Sci USA 99:11908–11913
21. Fahey JW, Haristoy X, Dolan PM et al (2002) Sulforaphane inhibits extracellular, intracellular, and antibiotic-resistant strains of Helicobacter pylori and prevents benzo[a]pyrene-induced stomach tumors. Proc Natl Acad Sci USA 99:7610–7615
22. Fidler IJ (1978) Tumor heterogeneity and the biology of cancer invasion and metastasis. Cancer Res 38:2651–2660
23. Fimognari C, Nusse M, Cesari R et al (2002) Growth inhibition, cell-cycle arrest and apoptosis in human T-cell leukemia by the isothiocyanate sulforaphane. Carcinogenesis 23:581–586
24. Fimognari C, Nusse M, Berti F et al (2003) Sulforaphane modulates cell cycle and apoptosis in transformed and non-transformed human T lymphocytes. Ann NY Acad Sci 1010:393–398
25. Fimognari C, Nusse M, Berti F et al (2004) Isothiocyanates as novel cytotoxic and cytostatic agents: molecular pathway on human transformed and non-transformed cells. Biochem Pharmacol 68:1133–1138
26. Fimognari C, Berti F, Cantelli-Forti G et al (2005) Effect of sulforaphane on micronucleus induction in cultured human lymphocytes by four different mutagens. Environ Mol Mutagen 46:260–267

27. Fimognari C, Sangiorgi L, Capponcelli S et al (2005) A mutated p53 status did not prevent the induction of apoptosis by sulforaphane, a promising anti-cancer drug. Invest New Drugs 23:195–203
28. Fimognari C, Nusse M, Lenzi M et al (2006) Sulforaphane increases the efficacy of doxorubicin in mouse fibroblasts characterized by p53 mutations. Mutat Res 601:92–101
29. Fimognari C, Lenzi M, Sciuscio D et al (2007) Cell-cycle specificity of sulforaphane-mediated apoptosis in Jurkat T-leukemia cells. In Vivo 21:377–380
30. Fimognari C, Lenzi M, Sciuscio D et al (2007) Combination of doxorubicin and sulforaphane for reversing doxorubicin-resistant phenotype in mouse fibroblasts with p53Ser220 mutation. Ann NY Acad Sci 1095:62–69
31. Fimognari C, Lenzi M, Cantelli-Forti G et al (2008) Induction of differentiation in human promyelocytic cells by the isothiocyanate sulforaphane. In Vivo 22:317–320
32. Gamet-Payrastre L, Lumeau S, Gasc N et al (1998) Selective cytostatic and cytotoxic effects of glucosinolates hydrolysis products on human colon cancer cells in vitro. Anticancer Drugs 9:141–148
33. Gamet-Payrastre L, Li P, Lumeau S et al (2000) Sulforaphane, a naturally occurring isothiocyanate, induces cell cycle arrest and apoptosis in HT29 human colon cancer cells. Cancer Res 60:1426–1433
34. Gills JJ, Jeffery EH, Matusheski NV et al (2006) Sulforaphane prevents mouse skin tumorigenesis during the stage of promotion. Cancer Lett 236:72–79
35. Gingras D, Gendron M, Boivin D et al (2004) Induction of medulloblastoma cell apoptosis by sulforaphane, a dietary anticarcinogen from Brassica vegetables. Cancer Lett 203:35–43
36. Hamsa TP, Thejass P, Kuttan G (2011) Induction of apoptosis by sulforaphane in highly metastatic B16F–10 melanoma cells. Drug Chem Toxicol 34:332–340
37. Hu C, Nikolic D, Eggler AL et al (2012) Screening for natural chemoprevention agents that modify human Keap1. Anal Biochem 421:108–114
38. Itoh K, Wakabayashi N, Katoh Y et al (2003) Keap1 regulates both cytoplasmic-nuclear shuttling and degradation of Nrf2 in response to electrophiles. Genes Cells 8:379–391
39. Jackson SJ, Singletary KW (2004) Sulforaphane: a naturally occurring mammary carcinoma mitotic inhibitor, which disrupts tubulin polymerization. Carcinogenesis 25:219–227
40. Jackson SJ, Singletary KW (2004) Sulforaphane inhibits human MCF-7 mammary cancer cell mitotic progression and tubulin polymerization. J Nutr 134:2229–2236
41. Jackson SJ, Singletary KW, Venema RC (2007) Sulforaphane suppresses angiogenesis and disrupts endothelial mitotic progression and microtubule polymerization. Vascul Pharmacol 46:77–84
42. Jakubikova J, Sedlak J, Mithen R et al (2005) Role of PI3 K/Akt and MEK/ERK signaling pathways in sulforaphane- and erucin-induced phase II enzymes and MRP2 transcription, G2/M arrest and cell death in Caco-2 cells. Biochem Pharmacol 69:1543–1552
43. Jakubikova J, Cervi D, Ooi M et al (2011) Anti-tumor activity and signaling events triggered by the isothiocyanates, sulforaphane and phenethyl isothiocyanate, in multiple myeloma. Haematologica 96:1170–1179
44. Jee HG, Lee KE, Kim JB et al (2011) Sulforaphane inhibits oral carcinoma cell migration and invasion in vitro. Phytother Res 25:1623–1628
45. Jeong WS, Kim IW, Hu R et al (2004) Modulatory properties of various natural chemopreventive agents on the activation of NF-kappaB signaling pathway. Pharm Res 21:661–670
46. Jiang ZQ, Chen C, Yang B et al (2003) Differential responses from seven mammalian cell lines to the treatments of detoxifying enzyme inducers. Life Sci 72:2243–2253
47. Jones SB, Brooks JD (2006) Modest induction of phase 2 enzyme activity in the F-344 rat prostate. BMC Cancer 6:62
48. Kalpana Deepa Priya D, Gayathri R, Sakthisekaran D (2011) Role of sulforaphane in the anti-initiating mechanism of lung carcinogenesis in vivo by modulating the metabolic activation and detoxification of benzo(a)pyrene. Biomed Pharmacother 65:9–16

49. Kaminski BM, Steinhilber D, Stein JM et al (2012) Phytochemicals resveratrol and sulforaphane as potential agents for enhancing the anti-tumor activities of conventional cancer therapies. Curr Pharm Biotechnol 13:137–146
50. Kanematsu S, Yoshizawa K, Uehara N et al (2011) Sulforaphane inhibits the growth of KPL-1 human breast cancer cells in vitro and suppresses the growth and metastasis of orthotopically transplanted KPL-1 cells in female athymic mice. Oncol Rep 26:603–608
51. Kang HJ, Hong YB, Kim HJ et al (2012) Bioactive food components prevent carcinogenic stress via Nrf2 activation in BRCA1 deficient breast epithelial cells. Toxicol Lett 209:154–160
52. Karmakar S, Weinberg MS, Banik NL et al (2006) Activation of multiple molecular mechanisms for apoptosis in human malignant glioblastoma T98G and U87MG cells treated with sulforaphane. Neuroscience 141:1265–1280
53. Kim MR, Zhou L, Park BH et al (2011) Induction of G/M arrest and apoptosis by sulforaphane in human osteosarcoma U2-OS cells. Mol Med Report 4:929–934
54. Kuroiwa Y, Nishikawa A, Kitamura Y et al (2006) Protective effects of benzyl isothiocyanate and sulforaphane but not resveratrol against initiation of pancreatic carcinogenesis in hamsters. Cancer Lett 241:275–280
55. Lee JM, Johnson JA (2004) An important role of Nrf2-ARE pathway in the cellular defense mechanism. J Biochem Mol Biol 37:139–143
56. Liotta LA, Tryggvason K, Garbisa S et al (1980) Metastatic potential correlates with enzymatic degradation of basement membrane collagen. Nature 284:67–68
57. Liotta LA (1984) Tumor invasion and metastases: role of the basement membrane. Warner-Lambert Parke-Davis award lecture. Am J Pathol 117:339–348
58. Liotta LA (1986) Tumor invasion and metastases–role of the extracellular matrix: Rhoads memorial award lecture. Cancer Res 46:1–7
59. Maheo K, Morel F, Langouet S et al (1997) Inhibition of cytochromes P-450 and induction of glutathione S-transferases by sulforaphane in primary human and rat hepatocytes. Cancer Res 57:3649–3652
60. Matusheski NV, Jeffery EH (2001) Comparison of the bioactivity of two glucoraphanin hydrolysis products found in broccoli, sulforaphane and sulforaphane nitrile. J Agric Food Chem 49:5743–5749
61. Misiewicz I, Skupinska K, Kasprzycka-Guttman T (2003) Sulforaphane and 2-oxohexyl isothiocyanate induce cell growth arrest and apoptosis in L-1210 leukemia and ME-18 melanoma cells. Oncol Rep 10:2045–2050
62. Mithen R, Faulkner K, Magrath R et al (2003) Development of isothiocyanate-enriched broccoli, and its enhanced ability to induce phase 2 detoxification enzymes in mammalian cells. Theor Appl Genet 106:727–734
63. Morimitsu Y, Nakagawa Y, Hayashi K et al (2002) A sulforaphane analogue that potently activates the Nrf2-dependent detoxification pathway. J Biol Chem 277:3456–3463
64. Munday R, Munday CM (2004) Induction of phase II detoxification enzymes in rats by plant-derived isothiocyanates: comparison of allyl isothiocyanate with sulforaphane and related compounds. J Agric Food Chem 52:1867–1871
65. Myzak MC, Karplus PA, Chung FL et al (2004) A novel mechanism of chemoprotection by sulforaphane: inhibition of histone deacetylase. Cancer Res 64:5767–5774
66. Myzak MC, Dashwood WM, Orner GA et al (2006) Sulforaphane inhibits histone deacetylase in vivo and suppresses tumorigenesis in Apc-minus mice. FASEB J 20:506–508
67. Myzak MC, Hardin K, Wang R et al (2006) Sulforaphane inhibits histone deacetylase activity in BPH-1, LnCaP and PC-3 prostate epithelial cells. Carcinogenesis 27:811–819
68. Nguyen T, Nioi P, Pickett CB (2009) The Nrf2-antioxidant response element signaling pathway and its activation by oxidative stress. J Biol Chem 284:13291–13295
69. Nicolson GL (1982) Cancer metastasis. Organ colonization and the cell-surface properties of malignant cells. Biochim Biophys Acta 695:113–176

70. Pappa G, Lichtenberg M, Iori R et al (2006) Comparison of growth inhibition profiles and mechanisms of apoptosis induction in human colon cancer cell lines by isothiocyanates and indoles from Brassicaceae. Mutat Res 599:76–87
71. Park SY, Kim GY, Bae SJ et al (2007) Induction of apoptosis by isothiocyanate sulforaphane in human cervical carcinoma HeLa and hepatocarcinoma HepG2 cells through activation of caspase-3. Oncol Rep 18:181–187
72. Parkin DM, Bray F, Ferlay J et al (2001) Estimating the world cancer burden: Globocan 2000. Int J Cancer 94:153–156
73. Parnaud G, Li P, Cassar G et al (2004) Mechanism of sulforaphane-induced cell cycle arrest and apoptosis in human colon cancer cells. Nutr Cancer 48:198–206
74. Pham NA, Jacobberger JW, Schimmer AD et al (2004) The dietary isothiocyanate sulforaphane targets pathways of apoptosis, cell cycle arrest, and oxidative stress in human pancreatic cancer cells and inhibits tumor growth in severe combined immunodeficient mice. Mol Cancer Ther 3:1239–1248
75. Pledgie-Tracy A, Sobolewski MD, Davidson NE (2007) Sulforaphane induces cell type-specific apoptosis in human breast cancer cell lines. Mol Cancer Ther 6:1013–1021
76. Rudolf E, Cervinka M (2011) Sulforaphane induces cytotoxicity and lysosome- and mitochondria-dependent cell death in colon cancer cells with deleted p53. Toxicol In Vitro 25:1302–1309
77. Shan Y, Sun C, Zhao X et al (2006) Effect of sulforaphane on cell growth, G(0)/G(1) phase cell progression and apoptosis in human bladder cancer T24 cells. Int J Oncol 29:883–888
78. Shapiro TA, Fahey JW, Dinkova-Kostova AT et al (2006) Safety, tolerance, and metabolism of broccoli sprout glucosinolates and isothiocyanates: a clinical phase I study. Nutr Cancer 55:53–62
79. Shen G, Xu C, Chen C et al (2006) p53-independent G1 cell cycle arrest of human colon carcinoma cells HT-29 by sulforaphane is associated with induction of p21CIP1 and inhibition of expression of cyclin D1. Cancer Chemother Pharmacol 57:317–327
80. Shishu, Kaur IP (2003) Inhibition of mutagenicity of food-derived heterocyclic amines by sulforaphane–a constituent of broccoli. Indian J Exp Biol 41:216–219
81. Singh AV, Xiao D, Lew KL et al (2004) Sulforaphane induces caspase-mediated apoptosis in cultured PC-3 human prostate cancer cells and retards growth of PC-3 xenografts in vivo. Carcinogenesis 25:83–90
82. Singh SV, Herman-Antosiewicz A, Singh AV et al (2004) Sulforaphane-induced G2/M phase cell cycle arrest involves checkpoint kinase 2-mediated phosphorylation of cell division cycle 25C. J Biol Chem 279:25813–25822
83. Singh SV, Srivastava SK, Choi S et al (2005) Sulforaphane-induced cell death in human prostate cancer cells is initiated by reactive oxygen species. J Biol Chem 280:19911–19924
84. Singletary K, MacDonald C (2000) Inhibition of benzo[a]pyrene- and 1,6-dinitropyrene-DNA adduct formation in human mammary epithelial cells by dibenzoylmethane and sulforaphane. Cancer Lett 155:47–54
85. Stetler-Stevenson WG, Hewitt R, Corcoran M (1996) Matrix metalloproteinases and tumor invasion: from correlation and causality to the clinic. Semin Cancer Biol 7:147–154
86. Suh N, Luyengi L, Fong HH et al (1995) Discovery of natural product chemopreventive agents utilizing HL-60 cell differentiation as a model. Anticancer Res 15:233–239
87. Surh YJ (2003) Cancer chemoprevention with dietary phytochemicals. Nat Rev Cancer 3:768–780
88. Svehlikova V, Wang S, Jakubikova J et al (2004) Interactions between sulforaphane and apigenin in the induction of UGT1A1 and GSTA1 in CaCo-2 cells. Carcinogenesis 25:1629–1637
89. Tang L, Zhang Y (2004) Dietary isothiocyanates inhibit the growth of human bladder carcinoma cells. J Nutr 134:2004–2010
90. Thejass P, Kuttan G (2006) Antimetastatic activity of sulforaphane. Life Sci 78:3043–3050

91. Wang L, Liu D, Ahmed T et al (2004) Targeting cell cycle machinery as a molecular mechanism of sulforaphane in prostate cancer prevention. Int J Oncol 24:187–192
92. Xu C, Shen G, Yuan X et al (2006) ERK and JNK signaling pathways are involved in the regulation of activator protein 1 and cell death elicited by three isothiocyanates in human prostate cancer PC-3 cells. Carcinogenesis 27:437–445
93. Zhang Y, Talalay P, Cho CG et al (1992) A major inducer of anticarcinogenic protective enzymes from broccoli: isolation and elucidation of structure. Proc Natl Acad Sci USA 89:2399–2403
94. Zhang Y, Callaway EC (2002) High cellular accumulation of sulphoraphane, a dietary anticarcinogen, is followed by rapid transporter-mediated export as a glutathione conjugate. Biochem J 364:301–307
95. Zhong H, Bowen JP (2006) Antiangiogenesis drug design: multiple pathways targeting tumor vasculature. Curr Med Chem 13:849–862

Kanserde Kromatin Modülasyonunun Fonksiyonları, Anormallikleri ve Gelişmeler

Mariarosaria Conte ve Lucia Altucci

Özet

Kanserin başlangıcı ve progresyonu genel olarak genom ve epigenom deregülasyonları ile ilişkilidir. Tümörijenezde görülen epigenetik deregülasyonlar (örn. DNA metilasyonu, histon modifikasyonları ve miRNA'ya bağlı modülasyon) giderek daha fazla bildirilmektedir. Farklı kromatin modüle edici enzimler ve kanser ile ilişkili anormallikler de keşfedilmekte ve sınıflandırılmaktadır. Kromatin enzimlerindeki değişimlerin ve kanserdeki rollerinin daha iyi anlaşılması kanserin önlenmesi ve tedavisinde epigenetik hedeflemenin kullanılabilmesinde önemli bir basamaktır.

Anahtar Kelimeler

Kanser • Epi-modifikasyonlar • Yazarlar • Okuyucular • Siliciler • Tedavi

Kısaltmalar

AML	Akut myeloid lösemi
AR	Androjen reseptörü
CARM1	Koaktivatör ile ilişkili arginin metiltransferaz1
CBP	CREB-bağlayıcı protein
CLL	Kronik lenfositik lösemi

M. Conte · L. Altucci (✉)
Dipartimento di Biochimica, Biofisica e Patologia generale, Seconda Università di Napoli,
Vico L. De Crecchio 7, 80138, Naples, Italy
e-mail: lucia.altucci@unina2.it

L. Altucci
Istitutodi Genetica e Biofisica, Adriano Buzzati Traverso, CNR-IGB,
Via P. Castellino 111, 80131, Naples, Italy

V. Zappia et al. (eds.), *Advances in Nutrition and Cancer,*
Cancer Treatment and Research 159, DOI: 10.1007/978-3-642-38007-5_13,
© Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2014

DNMT	DNA metiltransferaz
DZNep	Deazaneplanosin A
EHMT2	Histon-lisin N-metiltransferaz
ER	Östrojen reseptörü
Eu-HMtaz1	Ökromatik Histon-lisin N-metiltransferaz 1
FBXL11	F-box ve lösinden zengin tekrar proteini 1
HAT	Histon asetiltransferaz
HDAC	Histon deasetilaz
HMT	Histon metiltransferaz
JHDM1B	JmjC-domain-içeren histon demetilaz 1B
JMJD5	Jumonji domain içeren 5
KDM	Lisin (K) demetilaz
KDM2B	Histon demetilaz 2B
KDM5	Histon demetilaz 5
KDM8	Histon demetilaz 8
KMT	Lisin metiltransferaz
LSD1	Lisin-spesifik demetilaz 1
MLL	Karışık soy lösemi
MOZ	Monositik lösemi çinko parmak protein
PCAF	P300/CBP-ile ilgili faktör
PRC2	Polikomb baskılayıcı kompleks 2
PRMT	Protein arginin metiltransferazlar
RBP2	Retinol-bağlayıcı protein 2
SIRT	Sirtuin

İçindekiler

1 Arkaplan 229
2 Kanserde Epi-enzimler 229
2.1 HAT'lar 229
2.2 Kanserde (de)asetilasyon ve HDAC'lar 230
2.3 HMT'ler ve KDM'ler 232
2.4 DNMT'ler 232
3 Epi-kanser Tedavi 233
3.1 HDAC ve HATM Modülatörleri 233
3.2 PRMT, KMT ve KDM İnhibitörleri 234
3.3 DNA Metiltransferaz İnhibitörleri 234
4 Sonuçlar 235
Referanslar 236

1 Arkaplan

Epi-modifikasyonlar ve etkileri ile ilgili çalışmalar bu konudaki bilgilerimiz arttıkça gelişmektedir. Histon kodunun ve biyolojideki kritik rolünün anlaşılması bu modifikasyonları "yazan" enzimler olan *yazıcılar*, modifiye kromatini "okuyan" enzimler *okuyucular* ve spesifik bir modifikasyonu ortadan kaldıran *siliciler* ile ilgili çalışmaları doğurdu [1]. Bu nedenle kanserdeki epigenetik işaretler ve bu işaretlerin yansımaları yeni terapötik stratejiler için önemli bir basamak teşkil etmektedir [2]. Belirli bir hücredeki epigenetik ve genetik değişimler proliferasyon, migrasyon, büyüme, farklılaşma, transkripsiyon ve ölüm sinyal yolaklarının deregülasyonuna yol açar Kanserin başlamasını sağlayan tüm bu değişiklikler, çevreleyen stromada değişikliklere ve immun sistem bozukluklarına yol açarlar.

2 Kanserde Epi-enzimler

Kromatin yapısı histonlar ve DNA'nın kovalent modifikasyonlarını içeren spesifik mekanizmalar ile tekrar modellenebilmektedir. DNA, CpG adacıklarında sitozinin metilasyonunu tetiklerken, histonların hem N-terminal hem de C-terminal uçlarını hatta globüler bölgelerini de kapsayan çok sayıda modifikasyona oluşur. Histon modifikasyonları kromatin yapısını dinamik olarak değiştirerek (epigenetik plastisite) hücredeki bu değişimlerle ilgili biyolojik sonuçların oluşmasına yol açar. Ancak, modülasyonun non-histon substratları da içermesinin bazı komplikasyonları mevcuttur [3]. Bundan dolayı, dikkatler kromatin modifiye edici enzimlerin kanserdeki deregülasyonlarının tanımlanmasına ve terapötik hedef olabilme potansiyellerine odaklanmıştır.

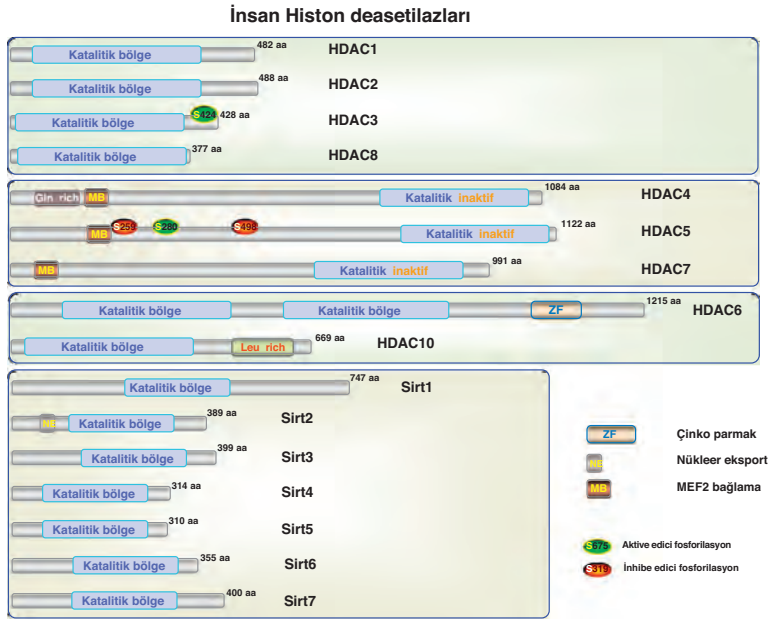
2.1 HAT'lar

İki ana HAT kategorisi vardır. A tipi HAT'lar histonların çekirdeklerindeki kromatini asetillerken, B tipi HAT'lar ise hücrede daha geniş bir rol oynarlar. A tipi HAT'lar, HAT bölgesindeki sekans homolojisine göre dört aileye ayrılır: Gcn5/PCAF [4], MYST [5], p300/CBP [6] ve Rtt109. Rtt109'un mikotik-spesifik olduğu bildirilmiştir [7]. p300 ve CBP prostat kanserinde aşırı eksprese olarak androjen reseptörüne (AR) cevap veren gen modülasyonunu değişime uğratır. CBP de t(8; 16)'da transloke olmuştur. Bunun içinde 8p11'de bulunan MOZ, CBP ile kaynaşmıştır [8] p300'ün mutasyonları da (sıklıkla C-terminal kısalması) birçok tümörde mevcuttur [9–11]. PCAF'nin aşağı regülasyonu gastrik kanser progresyonu ve kötü prognozla ilişkilidir. Tip60 mutasyonları prostat kanserinde DNA tamir deregülasyonu ve apoptoza rezistans ile ilişkilidir. PCAF ve Gcn5 pediatrik hastalardaki merkezi sinir sistemi hastalıklarında ve Wilms tümörlerinde aşırı eksprese olurlar [12].

2.2 Kanserde (de)asetilasyon ve HDAC'lar

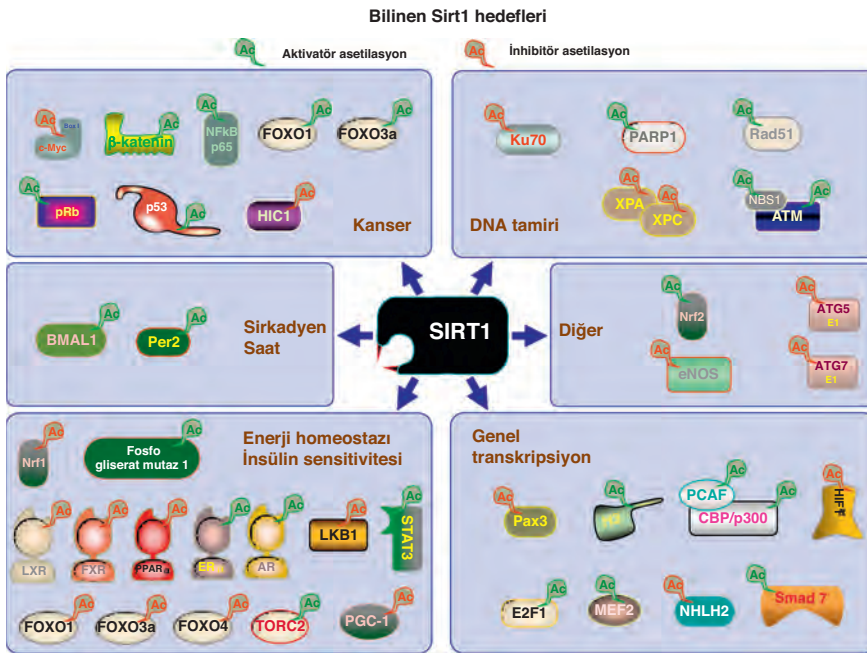
HDAC ve HAT aktiviteleri arasındaki denge gen ekspresyonunun regülasyonunda önemli rol oynamaktadır. Gelecekte yapılacak çalışmalar asetilasyonun modülasyonunun kanserle nedensel ilişkisi olup olmadığını veya kompleks epi-deregülasyonlarla oluşup oluşmadığını aydınlığa kavuşturacaktır. Sonuç olarak, asetilasyon düzeyindeki genel değişimlerden kaynaklanan kanserlerin epi-terapötik yaklaşımdan fayda görüp görmeyeceği (görürse de ne boyutta göreceği) hala araştırılması gereken bir konudur.

HDAC lösemi gibi insan kanserlerindeki gen regülasyonunda önemli bir rol oynar [13]. HDAC'lar dört sınıfa ayrılmıştır: Sınıf I HDAC'lar (HDAC1, HDAC2, HDAC3, ve HDAC8), Saccharomyces cerevisae Rpd3 homoloğu; Sınıf II (sınıf IIa ve sınıf IIb'ye ayrılır) HDAC'lar (HDAC4, HDAC5, HDAC6, HDAC7, HDAC9, HDAC10), maya HDA1 homoloğu; sınıf III HDAC'lar (sirtuinler), maya Sir2 homoloğu enzimler içerir; sınıf IV'de sadece HDAC11 vardır (Şema için bkz. Şekil 1). HDAC1 gastrik, kolorektal, hepatik, meme ve pankreas kanserini de içeren bazı kanserlerde özellikle yüksek düzeyde eksprese olur [14–16]. HDAC2 mutasyonu kolon kanserinde tespit edilmiştir. Ayrıca özofagus, prostat ve gastrointestinal karsinomlarda aşırı eksprese olur [17–19]. HDAC3 aşırı ekspresyonu tespit edilen prostat, mide, kolorektum ve kronik lenfositik lösemi [16, 18, 20, 21] gibi birçok kanser tipi kötü prognoz ile ilişkilidir. HDAC4 do-



Şekil 1 İnsan histon deasetilazlarının şematik gösterimi.

kuya spesifik olarak eksprese olarak kolon kanseri hücrelerini hücre siklüs regülatörü p21'in represyonu yoluyla destekler [22]. HDAC5'nin aşağı regülasyonu akciğer kanserinde [23], aşırı ekspresyonu ise kolon kanserinde tespit edilmiştir [24]. HDAC6'nın aşağı yönlü ekspresyon düzeyleri lenfomalarda gözlenmiştir [25]. Ancak oral skuamoz hücreli kanserde daha yüksek ekspresyon düzeyleri bulunmuştur [26]. HDAC8'in rolü kronik lenfositik lösemili çocuklarda araştırılmıştır [27]. III HDAC sınıfından SIRT1 sıklıkla yaşa bağlı neoplazmlarla ilgili karsinogenezde rol oynar (kanser ve diğer hastalıklarda SIRT1 hedefleri için bkz. Şekil 2). Sirtuinler özellikle yaşlanma, kanser ve stres cevabı ile ilgilidirler. SIRT1 aşırı ekspresyonu prostat, kolon, cilt kanserleri ve akut myeloid lösemide (AML)görülür [28]. SIRT1 dışındaki diğer sirtuinler de (örn. SIRT4 ve 7) kanser gelişimi ile ilişkilidir [29]. Buna karşın gastrik karsinom ve gliomalarda ise düşük SIRT2 seviyeleri gözlenmiştir. SIRT3 gibi bazı sirtuinlerin meme kanserinin bazı farklı formlarında hem yukarı hem de aşağı regüle oldukları bildirildiği için, komplike bir senaryo mevcuttur. SIRT4 kaybı kanser için majör bir risk faktörü olan diyabete yol açabilir. ADP riboziltransferaz aktivitesi de gösteren SIRT6 beyin ve iskelet kasında yaygın olarak aşırı eksprese olur. Ayrıca rRNA genlerinin aktif transkripsiyonunu destekleyen SIRT7 kalp, beyin ve iskelet kası gibi prolifere olmayan dokularda düşük miktarlarda bulunmaktadır.



Şekil 2 SIRT1 hedeflerinin şematik görünümü.

2.3 HMT'ler ve KDM'ler

Histonlar arginin metiltransferazlar (PRMT'ler) ve lisin metiltransferazlar (KMT'ler) gibi enzimler (HMT) ile metile olurlar. PRMT1 karışık soy löseminin (MLL) onkojenik füzyon proteinlerindeki önemli bir komponentidir [30]. PRMT6, H3R2'yi metile eder; bu metilasyon H3K4me3 aktivasyonunu etkisizleştirebilir. PRMT1 düzeylerinin meme ve kolon kanserlerinde yükseldiği bulunmuştur [31]. PRMT2 östrojen reseptörü (ER) ile etkileşime girebilir ve AR'nin güçlü koaktivatörü olarak etki gösterir. PRMT3 protein sentezinin regülasyonunda rol oynarken, CARM1 (koaktivatörle ilişkili arginin metiltransferaz1) olarak da bilinen PRMT4'ün arginin ile regüle edilen transkripsiyon mekanizmasını kontrol ettiği bilinmektedir. CARM1, histon H3'ü metile eder ve mutasyonu metiltransferaz ve p160 koaktivatör regülasyonunu azaltır [32]. CARM1 meme kanserinde aşırı eksprese olur [33]. PRMT5 lenfoma ve lösemi hücreleri ile gastrik karsinomda güçlü bir şekilde eksprese olur. Bir H3K27 KMT olan EZH2 polikomb baskılayıcı kompleks 2 (PRC2) ile etkileşir ve prostat kanseri gibi solid tümörlerde [35] ve pro-B hücrelerinde yüksek oranda eksprese olur [36]. SUV39H1/2 (KMT1A/B) aşırı ekspresyonu diyetle indüklenen tümörlerde bildirilmiştir [37]. Kolon kanseri hücrelerinde ise mRNA düzeylerinde artış görülür. Lisin metiltransferaz G9a, supresor gen sessizleştirmesinde regüle olan H3K9 dimetilasyonuna katkı yapar. G9a lösemi, prostat, akciğer kanseri ve hepatoselüler karsinom gibi çeşitli kanserlerde aşırı eksprese olur [38]. KMT1D (veya Eu-HMTaz1) salgı bezi tümörlerinde aşırı eksprese olurken [39], SETDB1/ESET tümörlerdeki promotör bölgelerinin sessizleştirilmesinde K9'daki histon H3'ün trimetilasyonu yoluyla DNA metiltransferaz (DNMT) ile koopere olur. Lökemojenezde MLL1'in (KMT2A'da denir) çok sayıda mutasyonları ve yeniden düzenlenmeleri gözlenmiştir. MLL4 (KMT2D'de denir) karaciğer karsinogenezinde rol oynar. Ayrıca histon demetilazların (KDM) değişimi de kansere yol açabilir veya kanser oluşumuna katkıda bulunabilir. Meme kanserinde KDM1 (LSD1) aşağı regülasyonu metastaz ile koreledir. Jumonji alanındaki demetilazların anormal regülasyonu çeşitli kanser hücre dizilerinde gözlenmiştir. KDM2B (JHDM1B/ FBXL11), H3K35me2 ve H3K4me3'ün dimetilasyonunu hücre döngüsünde rol oynayan T-hücreli lenfomalardaki p14, p15 ve p16 gibi proteinleri aşağı regüle ederek engeller. RBP2 (KDM5A), PLU1 (KDM5B), ve SMCX'yi de (KDM5C) içeren KDM5 ailesi gastrik, servikal, akciğer, meme, prostat, böbrek ve lösemiler gibi birçok kanser cinsinde sıklıkla aşırı eksprese olur. Lisin demetilazların bir başka ailesi olan KDM8 ve JMJD5, H3K36me2'yi hedefler. Bu enzim meme, tiroid, adrenal, mesane ve karaciğer kanserlerinde [40] aşırı eksprese olarak hücre proliferasyonunda önemli rol oynar.

2.4 DNMT'ler

DNA metilasyonu sıklıkla epigenetik sessizleştirme olayı olarak tanımlanır Metilasyon DNMT ailesine ait enzimler tarafından katalizlenir. Bir çok kanser türü DNA metilasyon düzeyleri ile ilişkilidir. DNA hipermetilasyondan daha sık olarak hipometilasyona

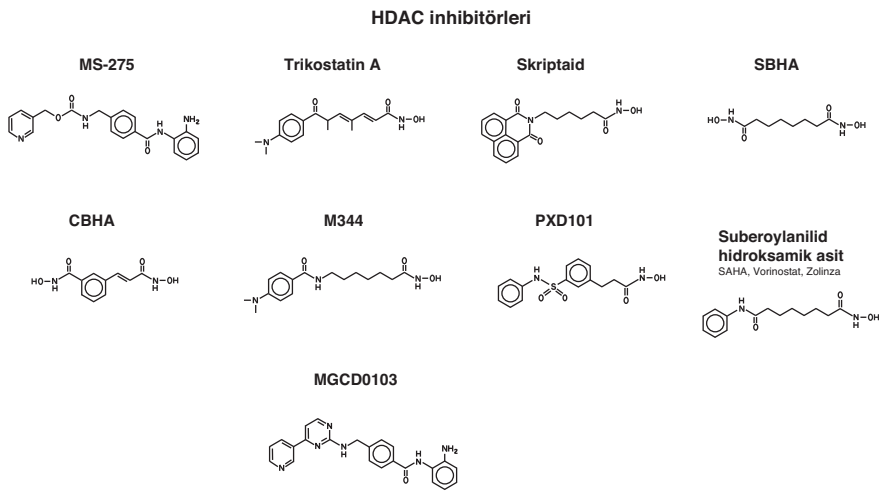
uğramaktadır. Genomik DNA normal hücrelerin prokanseröz hücrelere dönüşümünde rol oynayan faktörlerin daha iyi anlaşılması için yapılmakta olan birçok çalışmanın konusudur [41, 42].

3 Epi-Kanser Tedavisi

3.1 HDAC ve HAT Modülatörleri

HDACi kanser ile ilgili anormalliklerin geriye çevrilmesinde potansiyel bir strateji teşkil etmekte olup birçoğu klinik çalışmalarla test edilmektedir [43]. HDACi'nin kanserdeki rolünün ayrıntılı tanımı için (bilinen bazı HDACi için bkz. Şekil 3) [44–46] nolu referanslara başvurulmasını öneririz. Selektif HDACi'lerin geniş etkili HDACi'lere göre (pan HDACi) avantajlı olup olmadığı (veya yan etkileri azaltıp azaltmadığı) konusu hala cevap bekleyen bir sorudur.

HDACi'lerin tersine, HAT'ları zayıf derecede modüle eden az sayıda valide molekül bilinmektedir (bkz. Şekil 4). Son dekadda peptid-CoA konjugatlarının iki analog substratı olan Lys-CoA ve H3-CoA-20'nin güçlü p300 ve PCAF inhibitörleri olduğu bildirilmiştir. Ancak metabolik instabiliteleri ilaç olarak kullanımlarını engellemektedir. İzotiazolonlar ve analoglarından oluşan diğer PCAF inhibitörleri doz ve zamana bağlı olarak asetilasyon inhibitörü etkisi gösterirler. B tipi bir PBD olan garsinol virüs, bakteri, gastrik ülserler ve kolon adenokarsinomu gibi kanserlere karşı aktiftir [47]. Garsinolun türevleri de (LTK-13, LTK-14 ve disulfonil yedekli derive LTK-19) sentezlenmiştir. Bir diğer ümit vadeden HATi de kaşu cevizinin kabuk sıvısının ana komponenti olan



Şekil 3 Bilinen bazı HDAC inhibitörlerinin yapısı.

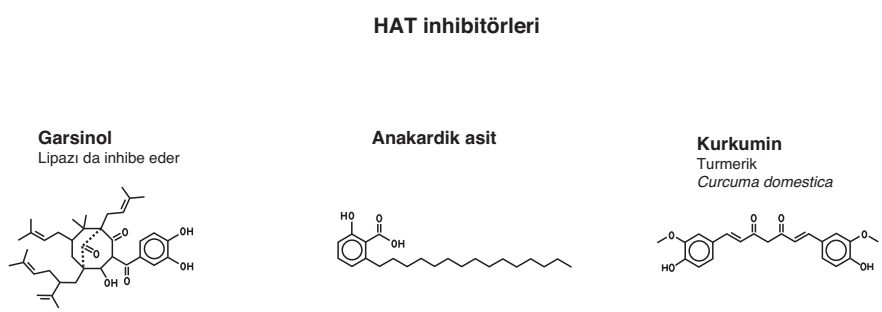
anakardik asittir (AA). Bu bileşik meme kanseri hücrelerinin yayılımını ER-alfa DNA bağlanmasını inhibe ederek azaltır [48]. Gcn5 inhibitörleri, T-butirolaktonlar da sentezlenmiş ve yararlı etkileri olduğu önerilmiştir [49]. p300 inhibitörü olan kurkuminin birçok kanser türünün önlenmesinde ve tedavisinde aktif olduğu bildirilmiştir. HATi, HDACi gelişiminden daha az gelişmiştir. Bu durum muhtemelen HAT'ların HDAC'lara kıyasla aşırı ekspresyondan ziyade daha fazla mutasyona uğramasından kaynaklanabilir. Bu durum inhibitörlerin gelişimini muhtemelen geciktirmesine rağmen, mutasyona uğramış HAT'lar için selektif HATi'ler kanserde tahmin edilebilir spesifitesi olan geçerli bir alternatif strateji olabilir.

3.2 PRMT, KMT ve KDM İnhibitörleri

PRMT değişimleri birçok kanser ile korele olabilir. Bundan dolayı metiltransferazları modüle edebilen moleküller tedavide tercih edilmektedir. Bir mikotoksin olan kaetosin, miyelom hücrelerinde ve in vivo antimiyelom aktivitesi gösteren bir SUV39H1 inhibitörüdür [50]. BIX01294 ilk G9a ve GLP inhibitörüdür. Spesifik transkripsiyon faktörleri için korepresör işlevi olan ve mesane karsinomlarında güçlü bir şekilde eksprese olan histon metiltransferaz EHMT2'yi inhibe eder [51]. Ayrıca p-aminosulfonamidlerin ve dapsonun asil türevleri de tanımlanmıştır. Özellikle dapson glioblastom tedavisi için önerilmiştir [52]. Tranilsipromin (trans-2-fenilsiklopropilamin) ve analogları en iyi bilinen LSD1 inhibitörleridir. Tranilsipromin sarkoma, periferik sinir kılıfı tümörleri ve promiyelositik lösemilerin tedavisi için önerilmiştir [53, 54]. Deazaneplanosin A (DZNep) PRC2 ile etkileşime girer ve kanser hücrelerindeki apoptozu indükler. EZH2'nin DZNep ile inhibisyonu meme kanseri hücrelerindeki proliferasyonu azaltır [55]. AML tedavisinde DNZep ve bir HDACi olan Panobinostatın birlikte kullanımı primer lösemi hücrelerinde apoptotik etki gösterir [56].

3.3 DNA Metiltransferaz İnhibitörleri

Gıda ve İlaç İdaresi (FDA) DNMT inhibitörleri 5-azasitidin (azasitidin) ve 5-aza-2-deoksisitidin (desitabin) miyelodisplastik sendromlar (MDS) için onaylamıştır [57]. De-



Şekil 4 Bilinen bazı HAT inhibitörlerinin yapıları.

sitabin triple negatif meme kanserindeki sessizleştirilmiş ER'nin reekspresyonu için de kullanılmıştır. Bir diğer önemli DNA Metiltransferaz İnhibitörü (DNMTi) olan zebularin, normal hücrelerin aksine malign hücrelere selektif olarak bağlanır. Ovaryum ve serviks karsinomları gibi kanserler DNMTi hidralazin ile tedavi edilebilir [58]. DNMT'lerin direkt inhibisyonu için nonnükleozid hedefli moleküller de önerilmiştir. Fosforotioat antisens oligonükleotid MG98 faz I bir çalışmada miyelodisplazi ve AML olan hastalarda test edilmiştir [59]. RG108 lenfoid, miyeloid ve kolorektal kanserlerde zebularine benzer düzeyde demetile edici etki göstermiştir. SGI-1027 DNMT1, DNMT3a, ve DNMT3b'yi inhibe eder ve hepatoselüler, servikal, prostat ve meme kanserinde test edilmiştir [60].

4 Sonuçlar

DNA metilasyon bozuklukları ve histon modifikasyonları kanserin gelişimini ve progresyonunu indükleyebilir. Kromatin değişimleri *yazıcılar* ve *siliciler* tarafından regüle edilirken, *okuyucular* tarafından "mayınlanabilir". Bu kompleks epi-regüle senaryoda tekil modifikasyonlar (ve tekil enzimler) ile diğer histon işaretleri ve enzimatik komplekslerle olan bağlantılar malignitelerdeki epigenetik deregülasyonu anlayabilmek için göz önünde bulundurulmalıdır. Kromatin modifikasyonlarının muhtemelen birbirine karşıt veya aditif özelliklere sahip olması birbirlerinin salınımlarını etkileyerek gen ekspresyonundaki kromatin modülasyonunu kompleks bir hale getirir. Kanserle ilgili çok sayıda büyük kapsamlı tarama çalışmasında bazı histon işaretlerinin ve epi-enzimlerin kanserdeki önemi vurgulanmıştır. Laboratuar bilgilerimizin kliniğe uygulanması için epigenetik statüsünün modifikasyonunun indüklenmesi ile deregüle olan kanserdeki geniş kromatin alanlarını "hedefleyen" yeni tedavilerin tanımlanması gerekir. Bu nedenle mevcut epi-kanser tedavi şemalarının dikkatli hasta sınıflandırması ile yeniden değerlendirilmesi gerekebilir. Epi-modülatörlerin antikanser aktivitelerinin sadece "temiz" epi-etkilerden mi kaynaklandığı yoksa non-epigenetik etkilerin de değerlendirilmesinin gerekip gerekmediği (gerekirse hangi düzeyde) net değildir. Non-histon hedeflerin epimoleküller ile net bir şekilde modüle edilmeleri ve az sayıda epi-tedavinin klinikte kullanılıyor olması (başlıca HDACi ve DNA demetile edici ajanlar) konunun komplekslik derecesini artırmaktadır. HDACi'lerin kanser tedavisinde kullanılması, (örneğin) histonların asetilasyonunun orijinal olarak önerildiği gibi tedaviye verilen cevap olarak değil tedavinin etkileri ile ilgili bilgi olarak değerlendirilmesinin önerilmesine yol açmıştır. Bu nedenle yapılabilecek bir seçim *yazıcı, okuyucu* ve *silicilerin* (aşırı ekspresyon veya sessizleştirme) dengeli olmayan bir kombinasyonu veya bu enzimlerin mutasyonu olabilir. Kanserde mutasyona uğrayan epi-enzimler sadece mutasyonlu enzimi modüle edebilecek selektif moleküllerin sentezlenebilmeleri adına açık bir fırsat sunmaktadır. Böylece tümör selektif etki elde edilecektir. İlginç biçimde HDAC'lar kanserde sayısal olarak daha sık değişime uğrarken (HDAC2 mutasyonu hariç) HAT'lar daha sık mutasyona uğramaktadır. Bu açık farklılığın etkileri hala araştırılması gereken bir konudur. Ayrıca bu alanda yeni tanımlanan kromatin işaretlerini kapsayan buluşlar progresif olarak devam etmekte olup bulunmaları için sarfedilen eforlar şu andaki bakış açımızı hızla

değiştirebilir. Kanserin epi-tedavisinde selektif ya da daha geniş etkili kromatin modülatörlerinin seçimi konusundaki tartışmalar hala sürmekte olup, ortaya muhtemelen birden fazla opsiyon çıkacaktır. Farklı modifiye edicilerin ve işaretlerin multipl değişimlere yol açmaları durumunda daha geniş etkili bir modülatör tabii ki daha avantajlıdır. Bu nedenle multipl epi-modülatörler (birden fazla enzim sınıfını hedeflerler) kanser tedavisinde ümit verici bir yaklaşım olabilir. Hala kapsamlı olarak valide edilmeye ihtiyaç gösteren bu son yaklaşım kromatin "re-modülasyonunun" daha hedefe yönelik olarak kullanılmasını sağlayabilir.

Teşekkürler: Bu çalışma Avrupa Birliği tarafından desteklenmiştir: Blueprint (contract no 282510); Italian IHEC (Flag Project: EPIGEN); İtalyan Kanser Araştırma Birliği (AIRC no 11812); İtalyan Üniversite ve Araştırma Bakanlığı (PRIN_2009PX2T2E_004); PON002782; PON0101227. C. Fisher'e metnin redaksiyonu için teşekkür ederiz.

Referanslar

1. Janzen WP, Wigle TJ, Jin J, Frye SV (2010) Epigenetics: tools and technologies. Drug Discov Today Technol 7:e59–e65
2. Wilting RH, Dannenberg JH (2012) Epigenetic mechanisms in tumorigenesis, tumor cell heterogeneity and drug resistance. Drug resistance updates: reviews and commentaries in antimicrobial and anticancer chemotherapy
3. Kouzarides T (2007) Chromatin modifications and their function. Cell 128:693–705
4. Liu X, Wang L, Zhao K, Thompson PR, Hwang Y, Marmorstein R et al (2008) The structural basis of protein acetylation by the p300/CBP transcriptional coactivator. Nature 451:846–850
5. Sapountzi V, Cote J (2011) MYST-family histone acetyltransferases: beyond chromatin. Cell Mol Life Sci CMLS 68:1147–1156
6. Bowers EM, Yan G, Mukherjee C, Orry A, Wang L, Holbert MA et al (2010) Virtual ligand screening of the p300/CBP histone acetyltransferase: identification of a selective small molecule inhibitor. Chem Biol 17:471–482
7. Stavropoulos P, Nagy V, Blobel G, Hoelz A (2008) Molecular basis for the autoregulation of the protein acetyl transferase Rtt109. In: Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, vol 105, pp 12236–12241
8. Sobulo OM, Borrow J, Tomek R, Reshmi S, Harden A, Schlegelberger B et al (1997) MLL is fused to CBP, a histone acetyltransferase, in therapy-related acute myeloid leukemia with a t(11;16)(q23;p13.3). In: Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, vol 94, pp 8732–8737
9. Iyer NG, Ozdag H, Caldas C (2004) p300/CBP and cancer. Oncogene 23:4225–4231
10. Muraoka M, Konishi M, Kikuchi-Yanoshita R, Tanaka K, Shitara N, Chong JM et al (1996) p300 gene alterations in colorectal and gastric carcinomas. Oncogene 12:1565–1569
11. Bryan EJ, Jokubaitis VJ, Chamberlain NL, Baxter SW, Dawson E, Choong DY et al (2002) Mutation analysis of EP300 in colon, breast and ovarian carcinomas. Int J Cancer J Int du Cancer. 102:137–141
12. Armas-Pineda C, Arenas-Huertero F, Perezpenia-Diazconti M, de Leon FC, Sosa-Sainz G, Lezama P et al (2007) Expression of PCAF, p300 and Gcn5 and more highly acetylated histone H4 in pediatric tumors. J Exp Clin Cancer Res: CR 26:269–276
13. Timmermann S, Lehrmann H, Polesskaya A, Harel-Bellan A (2001) Histone acetylation and disease. Cell Mol Life Sci: CMLS 58:728–736
14. Choi JH, Kwon HJ, Yoon BI, Kim JH, Han SU, Joo HJ et al (2001) Expression profile of histone deacetylase 1 in gastric cancer tissues. Japan J Cancer Res: Gann 92:1300–1304

15. Rikimaru T, Taketomi A, Yamashita Y, Shirabe K, Hamatsu T, Shimada M et al (2007) Clinical significance of histone deacetylase 1 expression in patients with hepatocellular carcinoma. Oncology 72:69–74
16. Weichert W, Roske A, Gekeler V, Beckers T, Stephan C, Jung K et al (2008) Histone deacetylases 1, 2 and 3 are highly expressed in prostate cancer and HDAC2 expression is associated with shorter PSA relapse time after radical prostatectomy. Br J Cancer 98:604–610
17. Ropero S, Fraga MF, Ballestar E, Hamelin R, Yamamoto H, Boix-Chornet M et al (2006) A truncating mutation of HDAC2 in human cancers confers resistance to histone deacetylase inhibition. Nat Genet 38:566–569
18. Fritzsche FR, Weichert W, Roske A, Gekeler V, Beckers T, Stephan C et al (2008) Class I histone deacetylases 1, 2 and 3 are highly expressed in renal cell cancer. BMC Cancer 8:381
19. Chang HH, Chiang CP, Hung HC, Lin CY, Deng YT, Kuo MY (2009) Histone deacetylase 2 expression predicts poorer prognosis in oral cancer patients. Oral Oncol 45:610–614
20. Krusche CA, Wulfing P, Kersting C, Vloet A, Bocker W, Kiesel L et al (2005) Histone deacetylase-1 and -3 protein expression in human breast cancer: a tissue microarray analysis. Breast Cancer Res Treat 90:15–23
21. Moreno DA, Scrideli CA, Cortez MA, de Paula Queiroz R, Valera ET, da Silva Silveira V et al (2010) Differential expression of HDAC3, HDAC7 and HDAC9 is associated with prognosis and survival in childhood acute lymphoblastic leukaemia. Br J Haematol 150:665–673
22. Wilson AJ, Byun DS, Nasser S, Murray LB, Ayyanar K, Arango D et al (2008) HDAC4 promotes growth of colon cancer cells via repression of p21. Mol Biol Cell 19:4062–4075
23. Osada H, Tatematsu Y, Saito H, Yatabe Y, Mitsudomi T, Takahashi T (2004) Reduced expression of class II histone deacetylase genes is associated with poor prognosis in lung cancer patients. Int J Cancer J Int du Cancer 112:26–32
24. Ozdag H, Teschendorff AE, Ahmed AA, Hyland SJ, Blenkiron C, Bobrow L et al (2006) Differential expression of selected histone modifier genes in human solid cancers. BMC Genomics 7:90
25. Gloghini A, Buglio D, Khaskhely NM, Georgakis G, Orlowski RZ, Neelapu SS et al (2009) Expression of histone deacetylases in lymphoma: implication for the development of selective inhibitors. Br J Haematol 147:515–525
26. Sakuma T, Uzawa K, Onda T, Shiiba M, Yokoe H, Shibahara T et al (2006) Aberrant expression of histone deacetylase 6 in oral squamous cell carcinoma. Int J Oncol 29:117–124
27. Amann JM, Nip J, Strom DK, Lutterbach B, Harada H, Lenny N et al (2001) ETO, a target of t(8, 21) in acute leukemia, makes distinct contacts with multiple histone deacetylases and binds mSin3A through its oligomerization domain. Mol Cell Biol 21:6470–6483
28. Carafa V, Nebbioso A, Altucci L (2012) Sirtuins and disease: the road ahead. Front Pharmacol 3:4
29. Ashraf N, Zino S, Macintyre A, Kingsmore D, Payne AP, George WD et al (2006) Altered sirtuin expression is associated with node-positive breast cancer. Br J Cancer 95:1056–1061
30. Cheung N, Chan LC, Thompson A, Cleary ML, So CW (2007) Protein arginine-methyltransferase-dependent oncogenesis. Nat Cell Biol 9:1208–1215
31. Papadokostopoulou A, Mathioudaki K, Scorilas A, Xynopoulos D, Ardavanis A, Kouroumalis E et al (2009) Colon cancer and protein arginine methyltransferase 1 gene expression. Anticancer Res 29:1361–1366
32. Chen D, Ma H, Hong H, Koh SS, Huang SM, Schurter BT et al (1999) Regulation of transcription by a protein methyltransferase. Science 284:2174–2177
33. Frietze S, Lupien M, Silver PA, Brown M (2008) CARM1 regulates estrogen-stimulated breast cancer growth through up-regulation of E2F1. Cancer Res 68:301–306
34. Pal S, Vishwanath SN, Erdjument-Bromage H, Tempst P, Sif S (2004) Human SWI/SNF-associated PRMT5 methylates histone H3 arginine 8 and negatively regulates expression of ST7 and NM23 tumor suppressor genes. Mol Cell Biol 24:9630–9645

35. Yu J, Yu J, Rhodes DR, Tomlins SA, Cao X, Chen G et al (2007) A polycomb repression signature in metastatic prostate cancer predicts cancer outcome. Cancer Res 67:10657–10663
36. Su IH, Basavaraj A, Krutchinsky AN, Hobert O, Ullrich A, Chait BT et al (2003) Ezh2 controls B cell development through histone H3 methylation and Igh rearrangement. Nat Immunol 4:124–131
37. Pogribny IP, Tryndyak VP, Muskhelishvili L, Rusyn I, Ross SA (2007) Methyl deficiency, alterations in global histone modifications, and carcinogenesis. J Nutr 137:216S–222S
38. Watanabe H, Soejima K, Yasuda H, Kawada I, Nakachi I, Yoda S et al (2008) Deregulation of histone lysine methyltransferases contributes to oncogenic transformation of human bronchoepithelial cells. Cancer Cell Int 8:15
39. Aniello F, Colella G, Muscariello G, Lanza A, Ferrara D, Branno M et al (2006) Expression of four histone lysine-methyltransferases in parotid gland tumors. Anticancer Res 26:2063–2067
40. Hsia DA, Tepper CG, Pochampalli MR, Hsia EY, Izumiya C, Huerta SB et al (2010) KDM8, a H3K36me2 histone demethylase that acts in the cyclin A1 coding region to regulate cancer cell proliferation. In: Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, vol 107, pp 9671–9676
41. Schausberger E, Hufnagl K, Parzefall W, Gerner C, Kandioler-Eckersberger D, Wrba F et al (2004) Inherent growth advantage of (pre)malignant hepatocytes associated with nuclear translocation of pro-transforming growth factor alpha. Br J Cancer 91:1955–1963
42. Toyota M, Yamamoto E (2011) DNA methylation changes in cancer. Prog Mol Biol Transl Sci 101:447–457
43. Bolden JE, Peart MJ, Johnstone RW (2006) Anticancer activities of histone deacetylase inhibitors. Nat Rev Drug Discov 5:769–784
44. Dell'aversana C, Lepore I, Altucci L (2012) HDAC modulation and cell death in the clinic. Exp Cell Res 318:1229–1244
45. Venugopal B, Evans TR (2011) Developing histone deacetylase inhibitors as anti-cancer therapeutics. Curr Med Chem 18:1658–1671
46. Dickinson M, Johnstone RW, Prince HM (2010) Histone deacetylase inhibitors: potential targets responsible for their anti-cancer effect. Invest New Drugs 28(Suppl 1):S3–S20
47. Hong J, Kwon SJ, Sang S, Ju J, Zhou JN, Ho CT et al (2007) Effects of garcinol and its derivatives on intestinal cell growth: Inhibitory effects and autoxidation-dependent growth-stimulatory effects. Free Radical Biol Med 42:1211–1221
48. Schultz DJ, Wickramasinghe NS, Ivanova MM, Isaacs SM, Dougherty SM, Imbert-Fernandez Y et al (2010) Anacardic acid inhibits estrogen receptor alpha-DNA binding and reduces target gene transcription and breast cancer cell proliferation. Mol Cancer Ther 9:594–605
49. Selvi BR, Mohankrishna DV, Ostwal YB, Kundu TK (2010) Small molecule modulators of histone acetylation and methylation: a disease perspective. Biochim Biophys Acta 1799:810–828
50. Isham CR, Tibodeau JD, Jin W, Xu R, Timm MM, Bible KC (2007) Chaetocin: a promising new antimyeloma agent with in vitro and in vivo activity mediated via imposition of oxidative stress. Blood 109:2579–2588
51. Cho HS, Kelly JD, Hayami S, Toyokawa G, Takawa M, Yoshimatsu M et al (2011) Enhanced expression of EHMT2 is involved in the proliferation of cancer cells through negative regulation of SIAH1. Neoplasia 13:676–684
52. Kast RE, Scheuerle A, Wirtz CR, Karpel-Massler G, Halatsch ME (2011) The rationale of targeting neutrophils with dapsone during glioblastoma treatment. Anti-Cancer Agents Med Chem 11:756–761
53. Schildhaus HU, Riegel R, Hartmann W, Steiner S, Wardelmann E, Merkelbach-Bruse S et al (2011) Lysine-specific demethylase 1 is highly expressed in solitary fibrous tumors, synovial sarcomas, rhabdomyosarcomas, desmoplastic small round cell tumors, and malignant peripheral nerve sheath tumors. Hum Pathol 42:1667–1675

54. Binda C, Valente S, Romanenghi M, Pilotto S, Cirilli R, Karytinos A et al (2010) Biochemical, structural, and biological evaluation of tranylcypromine derivatives as inhibitors of histone demethylases LSD1 and LSD2. J Am Chem Soc 132:6827–6833
55. Tan J, Yang X, Zhuang L, Jiang X, Chen W, Lee PL et al (2007) Pharmacologic disruption of Polycomb-repressive complex 2-mediated gene repression selectively induces apoptosis in cancer cells. Genes Dev 21:1050–1063
56. Fiskus W, Wang Y, Sreekumar A, Buckley KM, Shi H, Jillella A et al (2009) Combined epigenetic therapy with the histone methyltransferase EZH2 inhibitor 3-deazaneplanocin A and the histone deacetylase inhibitor panobinostat against human AML cells. Blood 114:2733–2743
57. Kuendgen A, Lubbert M (2008) Current status of epigenetic treatment in myelodysplastic syndromes. Ann Hematol 87:601–611
58. Yildirim E, Zhang Z, Uz T, Chen CQ, Manev R, Manev H (2003) Valproate administration to mice increases histone acetylation and 5-lipoxygenase content in the hippocampus. Neurosci Lett 345:141–143
59. Klisovic RB, Stock W, Cataland S, Klisovic MI, Liu S, Blum W et al (2008) A phase I biological study of MG98, an oligodeoxynucleotide antisense to DNA methyltransferase 1, in patients with high-risk myelodysplasia and acute myeloid leukemia. Clin Cancer Res: Official J Am Assoc Cancer Res 14:2444–2449
60. Datta J, Ghoshal K, Denny WA, Gamage SA, Brooke DG, Phiasivongsa P et al (2009) A new class of quinoline-based DNA hypomethylating agents reactivates tumor suppressor genes by blocking DNA methyltransferase 1 activity and inducing its degradation. Cancer Res 69:4277–4285

Epigenetik ve Epidemiyoloji: Çalışma Modelleri ve Örnekler

Karin van Veldhoven, Shati Rahman ve Paolo Vineis

Özet

Epidemiyolojik çalışmalarda hastalıklara yol açan çeşitli çevresel nedenler başarıyla tanımlanmıştır. Ancak metodolojik problemler bu çalışmaların sıklıkla kısıtlanmalarına neden olur (örn. maruziyetin değerlendirilmesinde sensitivite ve spesifite eksikliği; karışıklığa yol açan faktörler). Çevresel ilişkiler ile ilgili gözlemsel çalışmaların geliştirilmesinde Mendel randomizasyonu ve "orta noktada buluşma" (ONB) yaklaşımı önerilmiştir. Orta noktada buluşma yaklaşımı maruziyet ile hastalıkları ilişkilendiren patojenik proseste farzedilen aracı biyomarkerler olarak, gelişmekte olan omik alanındaki sinyallerden faydalanmaktadır. Bu yaklaşımın ilk basamağı maruziyet ile hastalık arasındaki ilişkiden oluşmaktadır. İkinci basamak maruziyet biyomarkerleri ile erken etki gösteren aracı -omik biyomarkerler arasındaki ilişkinin araştırılmasıdır; üçüncüsü de hastalık sonuçları ile aracı -omik biyomarkerler arasındaki ilişkinin değerlendirilmesidir. Her üç basamakta bulunabilecek ilişkiler arasında nedensel bir bağlantının varlığının mümkün olduğunu düşünüyoruz. Son yıllarda en kapsamlı araştırılan konulardan biri olsa da henüz tam olarak anlaşılamamış olan ilişkilerden bir tanesi, endokrin sistemini bozan çevresel etkenler ile meme kanseri arasındaki ilişkidir. Bu bölümde "orta noktada buluşma" yaklaşımı ile ilgili literatürleri inceleyerek, bu yaklaşımın endokrin bozucuları analiz etmekte nasıl kullanılabileceğini anlatacağız.

K. van Veldhoven · P. Vineis (✉)
HuGeF Foundation, Turin, Italy
e-mail: p.vineis@imperial.ac.uk

K. van Veldhoven · S. Rahman · P. Vineis
School of Public Health, Imperial College London, London, UK

V. Zappia et al. (eds.), *Advances in Nutrition and Cancer,*
Cancer Treatment and Research 159, DOI: 10.1007/978-3-642-38007-5_14,
© Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2014

Anahtar Kelimeler

Epigenetik · Epidemiyoloji · Meme kanseri · Endokrin bozucular · Omik biyomarkerlar · Orta noktada buluşma yaklaşımı

İçindekiler

1 Giriş 242
2 Meme Kanseri, Endokrin Bozucular, -Omik Biyomarkerler: *Orta Noktada Buluşma* Yaklaşımının Uygulandığı Bir Örnek 243
2.1 Biyomarkerler ve -Omik Teknolojisi 244
2.2 "Orta noktada buluşmak" yaklaşımı 245
2.3 1. Basamak: Endokrin Bozucu Kimyasallar ve Meme Kanseri 245
2.4 2. Basamak: Endokrin Sistemi Negatif Etkileyen Kimyasallar ve Epigenomik 246
2.5 3. Basamak: Epigenomik ve Meme Kanseri 251
3 Tartışma 252
Referanslar 253

1 Giriş

Yaşayan organizmaların evrimi farklı ve bazen de karşıt güçlerin etkisi ile gerçekleşir. Ana gerilim stabilite gereksinimi ile değişim gereksinimi arasında yaşanır. DNA'nın hemen tüm türlerde değişmeden korunan mükemmel yapısal stabilitesi birinci gereksinime örnek olarak verilebilir. Diğer yandan değişim olmaksızın organizmaların değişen ortamlara ve bu ortamlardaki sürekli tehditlere adapte olması mümkün olamaz. Transpozonlar (değiştirilebilir elemanlar) mayoz esnasında önemli role sahiptir. Epigenetik değişimler genetik konfigürasyonların çeşitliliğini sağlayan bazı mekanizmalar olup varyasyon, adaptasyon ve evrimde rol oynarlar.

Çok genel bir kural olarak çevresel streslerin (epi)genomik instabiliteyi artırma eğiliminde olduğu söylenebilir. Bu mekanizma hem çeşitliliği destekler hem de tehditlere ve hastalıklara yol açabilen potansiyel olarak zararlı mekanizmalara cevap verilebilmesini sağlar.

Son iki dekadda yapılan araştırmalar çoğunlukla kanser gelişiminde epigenetik değişimlerin rolü üzerine odaklanmaktadır [10, 38]. En sık araştırılan ve çalışma konusu olan epigenetik mekanizma DNA metilasyonudur [6]. İlk kez 1980'li yıllarda yapılan karsinogenez çalışmalarında gözlendiği üzere [10], DNA metilasyonu başlıca, tüm insan genlerinin yaklaşık %50'sinde bulunan promotör bölgelerde gruplanmış olarak bulunan CpG dinükleotidlerinde oluşmaktadır. Bu bölgelere CpG adacıkları adı da verilir. DNA metilasyonlu bir CpG dinükleotide metil grup eklenmesini içerir [6]. CpG adacıklarının metilasyonu genetik sessizleştirmeye yol açabilir. Bu durumun tümör baskılayıcı genleri etkilemesi kansere yol açabilir. Kanser hücrelerinin tümör baskılayıcı genlerin hipermetilasyonu ve proto-onkogenlerin veya dönüştürülebilir elemanların hipermetilasyonu gibi olağandışı metilasyon paternleri içerdiği gözlenmiştir [42].

Bir başka epigenetik mekanizma da histon kuyruklarının fosforilasyon, metilasyon veya asetilasyon ile modifiye olarak disregülasyona yol açmasıdır [10]. Bu histon kuyrukları başlıca nükleozom yapılarının korunmasından sorumludur [28, 36]. Normal histon modifikasyon mekanizmalarının bozulması gen ekspresyonunda bozukluklara yol açabilir. Bu etkinin bazı kanserlerin gelişiminde rol oynadığı gözlenmiştir [20, 28, 36]. Örneğin Jensen ve ark. [18] tarafından yapılan in vitro çalışmalarda histon H3 asetilasyon değişimlerinin ve histonlar ile ilişkili genlerin ekspresyon değişimlerinin arsenikli ajanlar olan AsIII ve MMA'ya maruziyetten kaynaklandığı tespit edilmiştir. Benzer şekilde 2009 yılında yapılan bir çalışmada da [55] insan akciğer kanseri hücrelerinin arseniğe maruz kalmalarının H3K4'ün metilasyonunda artışa yol açarak hücresel transkripsiyonun represyonuna yol açtığı tespit edilmiştir (arsenik epigenetik bakış açısıyla en iyi araştırılan çevresel maruziyet faktörlerinden biridir) [36].

Epigenetik değişimlerin meydana geldiği üçüncü ana mekanizma (mi)RNA ekspresyonu yoluyla gerçekleşir. (mi)RNA yaklaşık 22 nükleotidden oluşan protein kodlamayan küçük RNA molekülleri olarak tanımlanır. (mi)RNA'lar genomik ve hücresel regülasyonda rol oynarlar. Genel olarak gen aktivasyonunu suprese ettikleri düşünülmektedir. İnsanlarda 800'den fazla (mi)RNA mevcuttur. Memeli genlerinin %30'a kadar olan kısmının (mi)RNA'lardan etkilendiği düşünülmektedir [36]. (mi)RNA ekspresyonunun disregüle olmasının arsenikle ilişkili böbrek ve mesane kanserleri gibi çeşitli hastalıklarda [1] rol oynadığı düşünülmektedir [13].

Çevresel karsinojenlere maruziyetin ve buna bağlı olarak ortaya çıkan epigenetik değişimlerin yukarıda da bahsedilenler gibi in utero ortamda da oluşabileceğine inanılmaktadır; epigenetik programlama uzun dönemde, bir bireyin embriyonik gelişiminde ve sağlığı üzerinde önemli bir rol oynayabilir [6]. Martinez ve ark. tarafından 2011 yılında yapılan bir çalışmada hamilelikte arseniğe maruz kalmanın sıçanlardaki beyin hücrelerinin DNA metilasyon paternlerinin değişimine yol açarak hafızayı etkilediği bulunmuştur. Bu da in utero maruziyetin büyüme ve gelişme üzerinde uzun süreli etkileri olduğunu düşündüren bir bulgudur [31].

2 Meme Kanseri, Endokrin Bozucular, -Omik Biyomarkerler: *Orta Noktada Buluşma* Yaklaşımına Bir Örnek

Hastalıklara neden olan çevresel faktörlerin tanımlanması özellikle maruziyetin değerlendirilebilmesindeki güçlükleri de kapsayan metodolojik sorunlardan dolayı oldukça kısıtlıdır. Gözlemsel çalışmalarda çevresel faktörlere ilişkilerin daha iyi tespit edilebilmesi için sıklıkla kullanılan yaklaşım Mendel randomizasyonudur [7]. Potansiyel karışıkların önüne geçebilmek için bir jenerasyondan diğerine geçen çeşitli genlerin randomize olarak seçilip incelenmesine dayanır. Gen varyantı hem maruziyet hem de hastalık ile ilişkili ise, maruziyet ile hastalık arasında nedensel ilişki olduğu düşünülür. Çünkü gen varyantları karıştırıcı faktörleri de kapsayan çevresel faktörlerden etkilenmeden nesilden nesile geçer. Bu arada son yıllarda vücut sıvılarındaki veya dokuların biyolojik

Tablo 1 -Omik teknolojileri

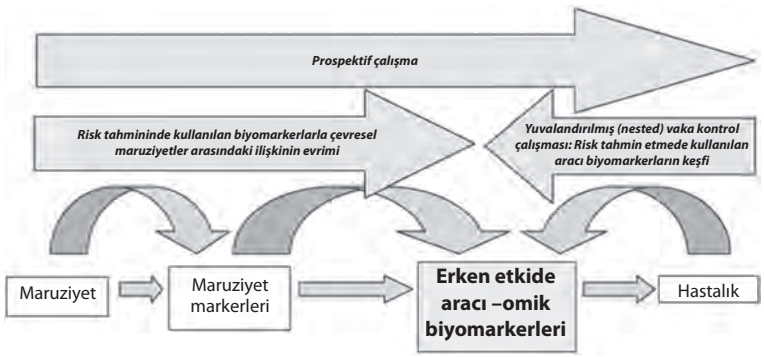
-Omik	Örnek platform	Özellikler
Transkriptomik	İnsan 4x44k DNA mikroarrayları	Bir hücre popülasyonunda mRNA moleküllerinin ekspresyon düzeylerinin analizi (gen ekspresyon profilinin çıkarılması). Hücre tipleri arasında zaman içinde büyük değişimler gösteren transkriptom çevresel değişimlere cevap olarak değişime uğrar
Proteomik [11]	Lumineks multianalit profil çıkarma sistemi	Genom tarafından kodlanan total proteini üretiminin analizi. Sıklıkla kompleks proteomik profildeki normal, benign veya hastalık statüsüne sahip proteinlerin tespitini sağlar [8,46]
Epigenomik [31]	Yüksek yoğunluklu DNA mikroarrayları	Geniş kapsamlı epigenetik proseslerin analizi (çoğunlukla DNA metilasyonu, histon modifikasyonları ile ilgili de olsa, mikro-RNA ve siRNA gibi protein kodlamayan RNA'ların gen ekspresyonundaki etkilerini de kapsar)
Metabolomik [13]	NMR spektroskopi veya LC- kütle spektrometresi	Herhangi bir zamanda bir hücre veya organizmada mevcut olan ve bireysel metabolik profilleri (ve cevapları) belirleyen düşük molekül ağırlıklı komple set analizi. Sık görülen hastalıkların başlangıçlarını tahmin etmekte kullanılabilir.

moleküllerin incelenmesinde kullanılan yüksek miktarda veri işleyebilen güçlü teknolojiler de gelişmeye başlamıştır. Bu teknolojiler genel olarak sonlarına gelen -omik eki ile tanınırlar. "Orta noktada buluşma" yaklaşımı çevresel etkilerin nedensel özelliklerini incelemeye olanak tanıyan bir yöntemdir. Patogenetik süreçlerde varsayılan aracı markerler olan -omik sinyallerinin özelliklerinin araştırılarak maruziyet ile hastalık arasındaki ilişkilerin ortaya çıkarılmasına dayanır.

2.1 Biyomarkerler ve -Omik Teknolojisi

Transkriptomik veya gene ekspresyonunun profilinin çıkarılması, proteomik, epigenetik ve metabolomik gibi yeni aracı biyomarkerler -omik teknolojileri ile tanımlanabilirler (Tablo 1). Bu aracı biyomarkerler maruziyet ile hastalık arasındaki süreçte etkili olan olaylarda direkt veya indirekt olarak rol oynayabilirler.

Aracı biyomarkerler çevresel hastalıkların patojenezi ile ilgili önemli mekanik bulgular sağlayabilirler. "-omik" teknolojileri klasik moleküler biyolojinin aksine, farklı kimyasallara ve toksisite tiplerine verilen hücresel cevabın tespit edilmesinde yararlanılan teknolojilerin kullanımına izin verirler. Böylece son derece büyük ölçekli mekanik bilgi sağlayabilirler. Daha önce yapılan çalışmaların sonuçları, -omik tabanlı biyomarkerlerin önerilen "orta noktada buluşma" yaklaşımı ile kullanılmasının, çevresel faktörlere maruziyet ile hastalıkların başlangıcı ve progresyonu arasındaki bağlantıların anlaşılmasını kolaylaştırabileceği hipotezini desteklemektedir.



Şekil 1 *"Orta Noktada Buluşma" yaklaşımı.*

2.2 "Orta Noktada Buluşma" Yaklaşımı

Yakın zamanda nedensel ilişkilerin tespit edilmesindeki zorluklarla baş edebilecek "orta noktada buluşma" (ONB) yaklaşımı olarak bilinen yaratıcı bir yaklaşım geliştirdik [13, 15]. Prospektif bir çalışmanın kapsamındaki bir kombinasyona dayanan bu yaklaşım şunları içerir: (a) Aracı biyomarker düzeyleri yüksek olan ve devamında hastalık gelişecek olan deneklerin prospektif taraması. (b) Bu biyomarkerlerin geçmişteki çevresel maruziyetler ile bağlantısını araştıran retrospektif araştırma (Şekil 1).

Bu yaklaşımın birinci basamağı maruziyet ve hastalık arasındaki ilişkiyi araştırır. İkinci basamak maruziyet biyomarkerleri ile erken etki gösteren aracı -omik biyomarkerleri arasındaki ilişkinin araştırılmasıdır; üçüncüsü de hastalık sonuçları ile aracı -omik biyomarkerleri arasındaki ilişkinin değerlendirilmesidir. Her üç basamakta da bulunabilecek ilişkiler arasında nedensel bir bağlantının varlığının mümkün olduğunu düşünüyoruz. (nedensel ilişkiyi araştırmakta kullanılan meşhur Hill kılavuzların kullanımı ile birlikte). Mendel randomizasyonu ile ONB yaklaşımı arasındaki benzerliklere rağmen, ONB yaklaşımında genetik enstrümanların kullanılmıyor olması nedeniyle, karışıklık ihtimali hala mümkündür.

Son yıllarda en kapsamlı araştırılan konulardan biri olsa da henüz tam olarak anlaşılamamış olan ilişkilerden bir tanesi, endokrin sistemi bozan çevresel faktörler ile meme kanseri arasındaki ilişkidir. Bu bölümde ONB yaklaşımı ile ilgili literatürleri inceleyerek, bu yaklaşımın endokrin bozucuları analiz etmekte nasıl kullanılabileceğini anlatacağız.

2.3 1. Basamak: Endokrin Bozucu Kimyasallar ve Meme Kanseri

Bir çok çalışma endokrin bozucu kimyasallara (EBK) maruziyet ile meme kanseri arasındaki riske odaklanmıştır. EBK'ler, endojen hormonlar ile etkileşerek (örn. taklit ve/

veya antagonize ederek) sentezlerini, sekresyonlarını, transportlarını, bağlanmalarını, etkilerini veya eliminasyonlarını değiştirerek endokrin sistemin fonksiyonlarını bozarak etki eden doğal veya sentetik bileşiklerdir. EBK maruziyeti çok çeşitli yollarla gerçekleşebilir. Tıbbi kullanım gibi bazı durumlarda kullanımları bilinçlidir. Ancak çoğunlukla istenmediği halde maruz kalınırlar. EBK'lerin çoğu BPA (bisfenol-A) örneğinde olduğu gibi ana maruziyet kaynağı olan gıdalarda bulunur.

2.4 2. Basamak: Endokrin Bozucu Kimyasallar ve Epigenomik

Bu örnekte odaklanacağımız -omik teknolojisi epigenomiktir. Ağustos 2012'ye kadar yayınlanan çalışmaları taradığımız PubMed aramasında ekteki arama terimlerini kullandık: "Endokrin bozucular" veya "Bisfenol-A" veya "Dietilstilbesterol (DES)" veya "Kadmiyum" veya "epigenomik" veya "epigenetik" veya "DNA metilasyonu" veya "histon modifikasyonu" veya "mikro-RNA".

Sonuçları eledikten sonra kullandığımız 26 makalede 11 tanesi birden fazla makalede geçen 1798 gen bildirilmiştir. Aşağıda bu makalelerdeki bulguların bir tanımı mevcuttur (genel bakış için bkz. Tablo 2). Görece olarak az sayıda miRNA bildirilmiş ve birden fazla çalışmada bahsedilen miRNA'ya rastlanmamıştır.

2.4.1 BPA

Bisfenol-A'ya maruziyeti araştıran hayvan modellerinde sağlığa tehdit oluşturabilecek epigenetik değişimler bulunmuştur. Farelerin perinatal ortamda yüksek ve düşük BPA dozlarına maruz kalmaları yavrularda hipometilasyona yol açmıştır [8, 52]; bir başka çalışmada da BPA maruziyeti ile oluşan epigenetik değişimlerin prostat kanseri riskini artırdığı bulunmuştur [12, 34]. İnsan hücre dizilerinde daha yakın zamanlarda yapılan çalışmalarda bisfenol-A maruziyeti ile DNA metilasyonu arasındaki ilişki araştırılmıştır. Weng ve ark. 3 mikroarray veri setini karşılaştırmıştır. BPA maruziyeti ile her üç setteki 170 genin farklı düzeylerde eksprese olduğunu tespit etmişlerdir (57 yukarı regülasyon, 113 aşağı regülasyon). Ayrıca hiyerarşik kümeleme çalışmalarında da yukarı regüle olan genlerin en çok ERa-negatif meme kanseri hücre dizilerinde, aşağı regüle olan genlerin ise en çok ERα-pozitif meme kanseri hücrelerinde bulunduğu tespit edilmiştir. Yine lizozom ile ilişkili membran protein 3'ün (LAMP3) aday geninde yapılan DNA metilasyon analizinde, özellikle ERa-pozitif meme kanseri hücre dizilerinde kontrollere göre artmış DNA metilasyon düzeyleri de tespit edilmiştir [50]. Başka bir çalışmada da BPA'ya maruz bırakılan insan meme epitel hücrelerdeki DNA metilasyonunun 6 gende arttığı tespit edilmiştir [35].

Avissar-Whiting ve ark. 6 gün boyunca BPA'ya maruz bırakılan üç farklı plasenta hücre dizisinde mikro-RNA'ların ekspresyonunu araştırmışlardır. Denetimsiz hiyerarşik kümeleme ile farklı hücre dizilerinde farklı ekspresyon paternleri tespit etmiştir. Ayrıca kullanılan hücre dizilerinin iki tanesinde vakalar ile kontroller arasında anlamlı fark bulunmuştur. Her iki hücre dizisinde farklı düzeyde eksprese olan 21 mi-RNA çakışması mevcuttu. Açıklama

Tablo 2 EDC maruziyeti sonrası farklı düzeyde metile olan meme kanseri ile ilişkili genler

Maruziyet	Çalışma, Yıl	Bulunan anlamlı ilişkilerin sayısı (n)	DYNC1LI2	ERLIN2	FGFR1	HN1L	IFNGR1	MOCS1	P16	PIM1	RUNX1T1	TAP2	VPS29
Maruziyet ile Epigenetik Karşılaştırması													
BPA	Dolinoy, 2007	1											
	Prins, 2008	8											
	Ho, 2008	8											
	Yaoi, 2008	13											
	Weng, 2010	170	X	X	X	X	X	X		X	X	X	
	Qin, 2012	6							X				
DES	Li, 1997, 2001, 2003	2											
	Sato, 2006	3											X
	Tang, 2008	14											X
	Sato, 2009	1											
	Bromer, 2009	1											
Cadmium	Benbrahim-Tallaa, 2007	2							X				
	Wang, 2011	1,574	X	X	X	X	X	X		X	X	X	
	Hossain, 2012	2											
Epigenetik ile Meme Kanseri Karşılaştırması													

(Devam ediyor)

Tablo 2 (devamı)

Maruziyet	Çalışma, Yıl	Bulunan anlamlı ilişkilerin sayısı (n)	DYNC1LI2	ERLIN2	FGFR1	HN1L	IFNGR1	MOCS1	P16	PIM1	RUNX1T1	TAP2	VPS29
	Lo, 2008	40							X				
	Jovanovic, 2010	43							X				
	Huang, 2010	186							X				
	Wang, 2010	14							X				
	Süijkerbuijk 2010	19											

Tablonun üst kısmında EBK (BPA, DES, kadmiyum) maruziyeti sonrası farklı düzeylerde metile olan genler mevcuttur. Alt bölümde epigenetik çalışmalarda meme kanseri ile ilişkili olduğu bildirilen genler görülmektedir. Bu tablonun amacı ONB yaklaşımının 2. ve 3. basamaklarında bahsedilen genleri karşılaştırmaktır.

eklenen 4 mi-RNA'nın sadece bir tanesi olan miR-146a (her iki hücre dizisinde de yukarı regüle olmuştur) RT-PCR kullanılarak valide edilmiştir [2]. Marsit ve ark.'nın aynı miRNA'nın folat eksikliği sonrası yukarı regüle olduğunu bildirmeleri de ilginçtir [30].

2.4.2 Dietilstilbestrol

İyi bilinen ve kapsamlı şekilde çalışılan bir diğer EBK de dietilstilbestroldur (DES). Epidemiyolojik çalışmalarda DES maruziyeti ile gözlenen etkinin kuşaklar arasında geçiş yapmasının gösterilmiş olması epigenetik faktörlerin rol oynadığının güçlü bir göstergesidir. Li ve ark. 1997 yılında yeni doğmuş farelerin DES'e maruz kalmaları ile laktoferin genindeki CpG bölgesindeki metilasyonda azalma olduğunu göstermiştir. Bu hipometilasyon uterin tümörlerde de gözlenmiştir [26]. Aynı yazarlar birkaç yıl sonra yeni doğan farelerin DES'e maruz kalmalarının c-fos genindeki exon-4 bölgesinde hipometilasyona neden olduğunu bildirmiştir. Ancak aynı azalmayı HOXA-10 ve HOXA-11 genlerinde tespit edememişlerdir [24, 25]. Çalıştıkları tüm fare genlerinin DES maruziyetinden sonra farklı düzeylerde eksprese oldukları ve üreme organlarını gelişiminde rol oynadıkları daha önce yapılan çalışmalarda bildirilmiştir [4, 29, 33, 51]. Bromer ve ark. da [5] DES'e maruz kalmış farelerin dişi yavrularındaki HOXA-10 genini araştırmış ve in utero maruziyet ile DNA metilasyonunda artış tespit etmişlerdir. Ancak aynı artış in vitro ve in vivo ortamda tespit edilememiştir. Tang ve ark. [44] DES'e maruziyet sonrası metilasyonları farklılaşan 14 gen (bu genlerin biri hariç hiçbiri daha önceki çalışmalarda yer almamıştır) bildirmişlerdir. DES maruziyeti sonrası fare uterus ve epididiminde genom boyunca farklı düzeylerde DNA metilasyonları (Restriction landmark genomic scanning [RLGS] tekniği ile araştırılmıştır) Sato ve ark. tarafından bildirilmiştir [39, 40].

DNA metilasyon çalışmalarına ek olarak mi-RNA'ları da araştıran birkaç çalışma mevcuttur. Hsu ve ark. MDEC hücrelerini (mamosfer kaynaklı epitel hücreleri) DES'e maruz bırakmış ve kontrollere kıyasla 82 mikro-RNA'nın ekspresyonunun değişime uğradığını (37 tanesi yukarı, 45 tanesi aşağı regüle olmuştur) tespit etmişlerdir. Bunlardan birini (miR-9-3) detaylı olarak incelediklerinde buldukları promotör hipermetilasyonunun meme kanseri riskinde artış ile ilişkili olabileceğini tespit etmişlerdir [15].

Lee ve ark. DES'e maruz bıraktıkları MCF-7 hücrelerinde miR-34b ekspresyonunda azalma bulmuştur [23]. Bu mikro-RNA'nın ekspresyonunun azalması daha önceki çalışmalarda DNA metilasyonunda artış ile ilişkili bulunmuştur [45].

Son olarak Warita ve ark. DES maruziyeti ile histon modifikasyonu arasındaki ilişkiyi araştırmıştır. TTE1 Leydig hücrelerinde bu ilişkiyi araştırmak için immunopresipitasyon (ChiP) ve PCR kullanmışlar ve P450scc geninin promotöründeki histon H3'de asetilasyonun azaldığını tespit etmişlerdir [49].

2.4.3 Kadmiyum

Kadmiyum EBK'lerin epigenetik değişimler ile ilişkisini araştıran birçok farklı araştırmanın odağındadır. Kadmiyum maruziyeti ile ilişkili farklı hayvan çalışmaları ile birlikte çeşitli hayvan hücre dizilerinin kullanıldığı çalışmalar da yapılmıştır. Takiguchi ve ark. bir hafta

süreye 2.5 μM kadmiyum uygulamasının TRL1215 (sıçan karaciğeri) hücrelerinde hipometilasyona yol açtığını bulmuştur. Ancak 10 haftalık maruziyet hipermetilasyona yol açmıştır (sonrasında hücreler muhtemelen değişime uğramıştır) [43]. Başka bir çalışmada da hem düşük (140 mg/kg CdC12) hem de yüksek (210 mg/kg CdC12) kadmiyum dozlarının 60 gün boyunca uygulanması ile tavuk karaciğer ve böbreğindeki metilasyonunun genel olarak arttığı tespit edilmiştir Zhu ve ark. sıçanların karaciğer ve testislerindeki LINE-1 metilasyonunu incelemek için COBRA kullanmıştır. Ancak hem postnatal 8. günde hem de 70. günde maruz kalan ve kalmayan fareler arasında bir fark bulamamışlardır. Ayrıca kadmiyum maruziyeti sonrası testisteki p53 promotör bölgesindeki metilasyon düzeylerinde de bir fark bulunmamıştır. Ancak kadmiyum maruziyetinin testisteki c-fos geninin bir bölümünde doğal olarak oluşan hipometilasyonu yavaşlattığı da tespit edilmemiştir [56].

Wang ve ark. tarafından sıçan karaciğerindeki epigenom boyunca MeDIP-chip testi kullanılarak yapılan çalışmada düşük doz, kronik kadmiyum maruziyetinin (maruz kalmayanlara göre) 385.000 probun metilasyon düzeylerindeki etkisi incelenmiştir [56]. Sonuçlarda 675 genin promotör bölgesinde hipermetilasyon, 899 genin promotör bölgesinde de hipometilasyon bildirmişlerdir. Apoptotik süreci regüle eden genlerin spesifik metilasyonlarının değerlendirilesinde de CASP8'in (ekspresyon azalmasına yol açar) hipermetile olduğunu TNF'in de (aynı şekilde ekspresyon azalmasına yol açar) hipometile olduğunu tespit etmişlerdir [47].

Benbrahim Tallaa ve ark. tarafından yayınlanan çalışmayı da kapsayan insan hücrelerinde veya hücre dizilerinde yapılan çalışmalarda insan prostat epitel hücrelerinin kadmiyuma maruz bırakılmaları sonrası genel bir DNA hipermetilasyonu meydan geldiği bildirilmiştir. Özellikle 2 tümör baskılayıcı genin (RASSF1A ve p16) promotör bölgesindeki CpG adacıklarındaki metilasyon düzeylerini araştırdıklarında, (maruz kalmayan hücrelere göre) ekspresyon azalmasına yol açan hipermetilasyon tespit etmişlerdir [3]. İnsan embriyo akciğer fibroblastlarının (HLF) kadmiyuma uzun süreli maruziyetinde genel hipermetilasyon olduğu bulunmuştur. Maruziyet artışı ile (sadece 1.2 ve 1.5 Imol/L konsantrasyonlarında) maruz kalmayan hücrelere göre doza bağlı anlamlı düzeyde metilasyon artışı olduğunu gözlemlemişlerdir [19]. Huang ve ark. [16] 2.0 IM kadmiyum maruziyetinin 24. ve 48. saatlerde K562 (kronik miyelojenöz lösemi hücre dizisi) hücrelerindeki DNA metilasyonunu genel olarak azalttığını tespit etmiştir.

İnsanlarda diyette mevcut olan kadmiyumun epigenetik etkilerini araştıran tek çalışma Hossain ve ark. tarafından yapılmıştır. Kan (kısa süreli maruziyetin göstergesi) ve idrar (uzun süreli maruziyetin göstergesi) örneklerinde kadmiyum seviyeleri ölçülmüştür. LINE-1 metilasyon düzeylerini ve p16 ve MLH1 promotörlerinin metilasyon seviyelerini ölçmek amacıyla periferik kan örnekleri alınmıştır. İdrarda yüksek kadmiyum seviyelerinin LINE-1'in hipometilasyonu ile ilgili olduğu bulunmuş ancak kandaki kadmiyum düzeyleri ile LINE-1 metilasyonu arasında bir ilişki tespit edilmemiştir. Ayrıca kan ve idrardaki kadmiyum düzeylerinin p16 ve MLH1 metilasyonları ile de bir ilişkisi bulunmamıştır [14].

Fabbri ve ark. tarafından yapılan çalışmada insan hepatoblastom hücrelerinde (HepG2) 10 μM kadmiyum ekspresyonu sonrasındaki mikro-RNA değişimleri ölçülmüştür. Çalışmalarında listeledikleri 12 miRNA'nın bazılarının tümör supresyonunda rol oynadıklarına inanılmaktadır [9].

2.4.4 Replike Olan Bağlantılar

Yukarıda bahsedilen çalışmalarda bulunan genlerin karşılaştırmasında, iki bağımsız çalışmada 11 genin bildirildiğini gözledik. Bu genler, epigenomik ile meme kanseri arasındaki ilişkileri inceleyen çalışmalarda bulunan genlerle aşağıdaki bölümde ONB yaklaşımına uygun olarak karşılaştırılmıştır.

2.5 3. Basamak: Epigenomik ve Meme Kanseri

ONB yaklaşımının son basamağı -omik teknolojisi ile meme kanseri arasındaki ilişkiyi tanımlamaktadır. Yeni biyomarkerlerin bulunması sadece meme kanserinin tespitinde değil, aynı zamanda tiplerine ayrılabilmesi ve tedavisinde de hayati rol oynamaktadır. Meme kanseri epigenetik ve diğer -omik teknolojilerinin en erken ve yoğun olarak kullanıldığı hastalıklar arasındadır. Bu tekniklerin meme kanseri ile ilişkisi hakkında çok sayıda makale yayınlandığı için, burada kullandıklarımızı epigenetik ile ilgili güncel bakış açıları sunanlarla kısıtlamak durumunda kaldık.

Lo ve ark. 2008 yılında meme kanserindeki DNA metilasyonunu da içeren epigenetik değişimleri içeren literatür taraması yapmıştır [27]. Bu hastalığı taşıyan bireylerde hipermetile olan 40 gen tanımlamışlardır. Bu genlerden bir tanesinin EBK'lara maruziyet sonrası farklı düzeyde metile olduğu bulunmuştur. Hem Jovanovic [21] ve ark. hem de Huang ve ark. [17] yakın zamanda meme kanserinin epigenetiği hakkında geniş kapsamlı incelemeler yayınlamışlardır. İki yazar da insan meme kanseri hücrelerinde hipermetile ve hipometile olan genlerin listesini yapmıştır. Jovanovic ve ark. [21] meme kanserinde en sık olarak farklı düzeylerde metile olan genlerin listesini yapmıştır. Bu genlerden 6 tanesi hipometile, 37 tanesi ise hipermetile olmaktadır. Bunlardan bir tanesinden yukarıda anlatılan maruziyet ve -omik çalışmalarında bahsedilmiştir. Huang ve ark. meme kanserinde çok sayıda genin (toplam 186) genel olarak hipermetile veya hipometile olduğunu bildirmiştir. Bu uzun listede bulunan bir genin EBK maruziyeti ile farklı düzeyde eksprese olduğu en az iki çalışma tarafından da bildirilmiştir Son olarak Wang ve ark. ile Suijkerbuijk ve ark. belirli genlerin metilasyon düzeylerinin meme kanserinde biyomarker olarak kullanılma ihtimalini incelemişlerdir. Bu yazarların bildirdikleri 14 ve 19 genden, EBK maruziyeti sonrası epigenetik değişime uğrayan 1 ve 0 genleri de iki çalışmada tanımlanmıştır [41, 48]. Tablo 2'de bu konu ile ilgili genel bir değerlendirme mevcuttur. Epigenetik ile meme kanseri karşılaştırma çalışmalarında bulunan genlerin, iki bağımsız maruziyet ile -omik karşılaştırma çalışmasında bildirilen 11 "valide" edilmiş gen ile karşılaştırmasında öne çıkan bir adet genin fonksiyonu aşağıda tanımlanmıştır.

2.5.1 P16

P16 sikline bağımlı kinaz inhibitörü 2A (melanom, P16, CDK4'ü inhibe eder) adı verilen genin prototipidir. Farklı isimleri arasına p16INK4a ve CDKN2A en sık kullanılanlarıdır. İnsan genomunda 9p21 bölgesinde bulunur. Diğer fonksiyonlarına ek olarak hücre döngüsünün durdurulması ve apoptozda önemli rol oynar. Farklı kanser tiplerinde

mutasyona uğradığı ve silindiği için tümör baskılayıcı bir gen olarak tanınır. Kanserde, promotör bölgesinin sıklıkla hipermetile olarak bu genin ekspresyonunda azalmaya ve sessizleştirilmesine yol açtığı gösterilmiştir [37].

3 Tartışma

Meme kanseri ve çevresel maruziyetleri araştıran güncel çalışmaların çoğunun hedefi -omik teknolojilerine dayanan aracı biyomarkerlerin tanımlanmasıdır. Bu biyomarkerlerin tanımlanabilmesi amacıyla üç olası ilişki araştırılmıştır: (1) Maruziyet ve hastalık arasındaki ilişkiler. (2) Maruziyet ile erken etki gösteren aracı -omik biyomarkerler arasındaki ilişkiler. (3) Hastalık sonuçları ile aracı -omik biyomarkerler arasındaki ilişkiler. Her üç basamakta bulunabilecek ilişkiler arasında nedensel bir bağlantının ve devamında yeni bir biyomarkerin bulunması mümkündür. Ancak arada bir ilişki olmama ihtimali de hala mümkündür.

Biyomarker validasyonunun ana amacı biyomarker değişkenliğinin tanımlanmasıdır. Epidemiyolojik çalışmaların dizaynlarını ve yorumlanmalarını etkileyen başlıca biyomarker değişkenlik komponentleri şunlardır: (1) Denekle ilgili biyomarker değişimleri (denekler arası ve deneğin kendi içindeki değişimleri de kapsar). (2) Ölçüm hatalarına bağlı değişkenlikler (laboratuarlar arası ve laboratuarın kendi içindeki değişkenlikleri de kapsar). (3) Randomize hatalar. Bu nedenle, biyomarkerler kullanılarak yapılan çalışmalarda mümkün olan yerlerde şu bilgilerin toplanması gerekmektedir: (1) Örnek alımının tekrarı (markera bağlı olarak günlük, aylık veya yıllık değişkenlikler önem taşıyabilir). (2) Potansiyel karıştırıcılar ile ilgili bilgiler (denekler arası değişkenlikleri etkileyen faktörler). (3) Örneklerin alınmasının ve laboratuar analizlerinin hangi koşullar altında gerçekleştiği hakkında bilgi (toplu örnek alımı, testler ve spesifik prosedürler) [46].

Güncel literatürde, p16 geninin EBK'ya maruziyet sonrası farklı düzeylerde metile olduğu bildirilmektedir. Ayrıca meme kanseri hücre ve dokularında da farklı düzeylerde metile olmaktadır. EBK maruziyeti büyük oranda diyet yoluyla gerçekleşir. Bu geni inceleyen birçok çalışma olmasına rağmen, hiçbir çalışmanın ONB yaklaşımının her üç basamağını da incelememiş olması problem teşkil etmektedir. Bu nedenle biyomarker değişkenliğinin tanımlanması güçtür. Yine de bu genin her üç basamakta da tespit edilmiş olması, EDC maruziyeti ile meme kanseri riski arasındaki nedensel bağlantının varlığının inandırıcılığını artırmaktadır.

Potansiyel aracı biyomarkerler ile ilgili önemli zorluklardan bir tanesi maruziyet ile hastalık arasındaki nedensel bağlantıya ait olup olmadıklarının ya da sadece bir maruziyetin veya hastalığın yan etkisi olup olmadıklarının ve diğer maruziyetler nedeniyle ölçüm doğruluklarının bozulup bozulmadığının anlaşılmasıdır. EBK'lerin kandaki düzeylerinin ölçülmesini sağlayabilecek bir yöntem meme kanseri riskinin tespitinin diğer karıştırıcı risk faktörlerinden bağımsız olarak belirlenmesine katkı yapabilir. Bu tür bir yöntem EBK düzeylerinin farklı genotipler veya polimorfizmler ile ilişkisini gösterebilir.

Ayrıca farklı genotip ve polimorfizmlere göre hastalık riski tahmin edilebilir (Mendel randomizasyonu konsepti). Örnek olarak CYP1A1 geninde polimorfizm olan postmenopozal beyaz kadınlarda yüksek PCB (poliklorlu feniller) maruziyetinin daha yüksek meme kanseri ile ilişkili olduğunu gösteren üç çalışma verilebilir [22, 32, 54]. CYP1A1 geninin farklı alelleri karıştırıcı faktörlerden bağımsız oldukları ve randomize bir şekilde nesilden nesile aktarıldıkları için bu gendeki polimorfizmin meme kanseri ile ilişkili olduğu bulgusu, EBK'lerin hastalığın etyolojisinde oynadığı rolün indirekt ispatı olabilir. Ancak diğer birçok kimyasal da CYP1A1 tarafından metabolize edilmektedir.

Hem Mendel randomizasyon konseptinin hem de ONB yaklaşımının aracı biyomarkerlerin tanımlanmasında büyük potansiyele sahip olduğu netleşmiştir. Ancak bu modellerin pratikte uygulanmaları ile ilgili zorluklar hala karşımızda durmaktadır.

Teşekkürler Bu çalışma Compagnia di San Paolo tarafından PV ve KVV'ye sağlanan destek ile gerçekleşmiştir.

Referanslar

1. Abdellatif M (2012) Differential expression of microRNAs in different disease states. Circ Res 110:638–650
2. Avissar-Whiting M, Veiga KR, Uhl KM et al (2010) Bisphenol A exposure leads to specific microRNA alterations in placental cells. Reprod Toxicol 29:401–406
3. Benbrahim-Tallaa L, Waterland RA, Dill AL et al (2007) Tumor suppressor gene inactivation during cadmium-induced malignant transformation of human prostate cells correlates with overexpression of de novo DNA methyltransferase. Environ Health Perspect 115:1454–1459
4. Block K, Kardana A, Igarashi P et al (2000) In utero diethylstilbestrol (DES) exposure alters Hox gene expression in the developing mullerian system. FASEB J 14:1101–1108
5. Bromer JG, Wu J, Zhou Y et al (2009) Hypermethylation of homeobox A10 by in utero diethylstilbestrol exposure: an epigenetic mechanism for altered developmental programming. Endocrinology 150:3376–3382
6. Christensen BC, Marsit CJ (2011) Epigenomics in environmental health. Front Genet 2:84
7. Davey SG, Ebrahim S (2003) 'Mendelian randomization': can genetic epidemiology contribute to understanding environmental determinants of disease? Int J Epidemiol 32:1–22
8. Dolinoy DC, Huang D, Jirtle RL (2007) Maternal nutrient supplementation counteracts bisphenol A-induced DNA hypomethylation in early development. Proc Natl Acad Sci USA 104:13056–13061
9. Fabbri M, Urani C, Sacco MG et al (2012) Whole genome analysis and microRNAs regulation in HepG2 cells exposed to cadmium. ALTEX 29:173–182
10. Feinberg AP, Tycko B (2004) The history of cancer epigenetics. Nat Rev Cancer 4:143–153
11. Fliser D, Novak J, Thongboonkerd V et al (2007) Advances in urinary proteome analysis and biomarker discovery. J Am Soc Nephrol 18:1057–1071
12. Ho SM, Tang WY, de Belmonte FJ et al (2006) Developmental exposure to estradiol and bisphenol A increases susceptibility to prostate carcinogenesis and epigenetically regulates phosphodiesterase type 4 variant 4. Cancer Res 66:5624–5632
13. Davey SG, Ebrahim S (2003) Mendelian randomization: can genetic epidemiology contribute to understanding environmental determinants of disease? Int J Epidemiol 32:1–22
14. Hossain MB, Vahter M, Concha G et al (2012) Low-level environmental cadmium exposure is associated with DNA hypomethylation in Argentinean women. Environ Health Perspect 120:879–884

15. Vineis P, Perera F (2007) Molecular epidemiology and biomarkers in etiologic cancer research: the new in light of the old. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 16:1954–1965
16. Huang D, Zhang Y, Qi Y et al (2008) Global DNA hypomethylation, rather than reactive oxygen species (ROS), a potential facilitator of cadmium-stimulated K562 cell proliferation. Toxicol Lett 179:43–47
17. Huang TH, Esteller M (2010) Chromatin remodeling in mammary gland differentiation and breast tumorigenesis. Cold Spring Harb Perspect Biol 2:a004515
18. Jensen TJ, Novak P, Eblin KE et al (2008) Epigenetic remodeling during arsenical-induced malignant transformation. Carcinogenesis 29:1500–1508
19. Jiang G, Xu L, Song S et al (2008) Effects of long-term low-dose cadmium exposure on genomic DNA methylation in human embryo lung fibroblast cells. Toxicology 244:49–55
20. Jo WJ, Ren X, Chu F et al (2009) Acetylated H4K16 by MYST1 protects UROtsa cells from arsenic toxicity and is decreased following chronic arsenic exposure. Toxicol Appl Pharmacol 241:294–302
21. Jovanovic J, Ronneberg JA, Tost J et al (2010) The epigenetics of breast cancer. Mol Oncol 4:242–254
22. Laden F, Ishibe N, Hankinson SE et al (2002) Polychlorinated biphenyls, cytochrome P450 1A1, and breast cancer risk in the Nurses' Health Study. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 11:1560–1565
23. Lee YM, Lee JY, Ho CC et al (2011) miRNA-34b as a tumor suppressor in estrogen-dependent growth of breast cancer cells. Breast Cancer Res 13:R116
24. Li S, Hansman R, Newbold R et al (2003) Neonatal diethylstilbestrol exposure induces persistent elevation of c-fos expression and hypomethylation in its exon-4 in mouse uterus. Mol Carcinog 38:78–84
25. Li S, Ma L, Chiang T et al (2001) Promoter CpG methylation of Hox-a10 and Hox-a11 in mouse uterus not altered upon neonatal diethylstilbestrol exposure. Mol Carcinog 32:213–219
26. Li S, Washburn KA, Moore R et al (1997) Developmental exposure to diethylstilbestrol elicits demethylation of estrogen-responsive lactoferrin gene in mouse uterus. Cancer Res 57:4356–4359
27. Lo PK, Sukumar S (2008) Epigenomics and breast cancer. Pharmacogenomics 9:1879–1902
28. Luger K, Mader AW, Richmond RK et al (1997) Crystal structure of the nucleosome core particle at 2.8 Å resolution. Nature 389:251–260
29. Ma L, Benson GV, Lim H et al (1998) Abdominal B (AbdB) Hoxa genes: regulation in adult uterus by estrogen and progesterone and repression in mullerian duct by the synthetic estrogen diethylstilbestrol (DES). Dev Biol 197:141–154
30. Marsit CJ, Eddy K, Kelsey KT (2006) MicroRNA responses to cellular stress. Cancer Res 66:10843–10848
31. Martínez L, Jiménez V, García-Sepúlveda C et al (2011) Impact of early developmental arsenic exposure on promotor CpG-island methylation of genes involved in neuronal plasticity. Neurochem Int 58:574–581
32. Moysich KB, Shields PG, Freudenheim JL et al (1999) Polychlorinated biphenyls, cytochrome P4501A1 polymorphism, and postmenopausal breast cancer risk. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 8:41–44
33. Newbold RR, Hanson RB, Jefferson WN (1997) Ontogeny of lactoferrin in the developing mouse uterus: a marker of early hormone response. Biol Reprod 56:1147–1157
34. Prins GS, Tang WY, Belmonte J et al (2008) Perinatal exposure to oestradiol and bisphenol A alters the prostate epigenome and increases susceptibility to carcinogenesis. Basic Clin Pharmacol Toxicol 102:134–138
35. Qin XY, Fukuda T, Yang L et al (2012) Effects of bisphenol A exposure on the proliferation and senescence of normal human mammary epithelial cells. Cancer Biol Ther 13:296–306
36. Ren X, McHale CM, Skibola CF et al (2011) An emerging role for epigenetic dysregulation in arsenic toxicity and carcinogenesis. Environ Health Perspect 119:11–19

37. Rocco JW, Sidransky D (2001) p16(MTS-1/CDKN2/INK4a) in cancer progression. Exp Cell Res 264:42–55
38. Salnikow K, Zhitkovich A (2008) Genetic and epigenetic mechanisms in metal carcinogenesis and cocarcinogenesis: nickel, arsenic, and chromium. Chem Res Toxicol 21:28–44
39. Sato K, Fukata H, Kogo Y et al (2006) Neonatal exposure to diethylstilbestrol alters the expression of DNA methyltransferases and methylation of genomic DNA in the epididymis of mice. Endocr J 53:331–337
40. Sato K, Fukata H, Kogo Y et al (2009) Neonatal exposure to diethylstilbestrol alters expression of DNA methyltransferases and methylation of genomic DNA in the mouse uterus. Endocr J 56:131–139
41. Suijkerbuijk KP, van Diest PJ, van der Wall E (2011) Improving early breast cancer detection: focus on methylation. Ann Oncol 22:24–29
42. Tabish AM, Poels K, Hoet P et al (2012) Epigenetic factors in cancer risk: effect of chemical carcinogens on global DNA methylation pattern in human TK6 cells. PLoS ONE 7:e34674
43. Takiguchi M, Achanzar WE, Qu W et al (2003) Effects of cadmium on DNA-(Cytosine-5) methyltransferase activity and DNA methylation status during cadmium-induced cellular transformation. Exp Cell Res 286:355–365
44. Tang WY, Newbold R, Mardilovich K et al (2008) Persistent hypomethylation in the promoter of nucleosomal binding protein 1 (Nsbp1) correlates with overexpression of Nsbp1 in mouse uteri neonatally exposed to diethylstilbestrol or genistein. Endocrinology 149:5922–5931
45. Toyota M, Suzuki H, Sasaki Y et al (2008) Epigenetic silencing of microRNA-34b/c and B-cell translocation gene 4 is associated with CpG island methylation in colorectal cancer. Cancer Res 68:4123–4132
46. Vineis P, Perera F (2007) Molecular epidemiology and biomarkers in etiologic cancer research: the new in light of the old. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 16:1954–1965
47. Wang B, Li Y, Tan Y et al (2012) Low-dose Cd induces hepatic gene hypermethylation, along with the persistent reduction of cell death and increase of cell proliferation in rats and mice. PLoS ONE 7:e33853
48. Wang W, Srivastava S (2010) Strategic approach to validating methylated genes as biomarkers for breast cancer. Cancer Prev Res (Phila) 3:16–24
49. Warita K, Mitsuhashi T, Sugawara T et al (2010) Direct effects of diethylstilbestrol on the gene expression of the cholesterol side-chain cleavage enzyme (P450scc) in testicular Leydig cells. Life Sci 87:281–285
50. Weng YI, Hsu PY, Liyanarachchi S et al (2010) Epigenetic influences of low-dose bisphenol A in primary human breast epithelial cells. Toxicol Appl Pharmacol 248:111–121
51. Yamashita S, Takayanagi A, Shimizu N (2001) Effects of neonatal diethylstilbestrol exposure on c-fos and c-jun protooncogene expression in the mouse uterus. Histol Histopathol 16:131–140
52. Yaoi T, Itoh K, Nakamura K et al (2008) Genome-wide analysis of epigenomic alterations in fetal mouse forebrain after exposure to low doses of bisphenol A. Biochem Biophys Res Commun 376:563–567
53. Zhang J, Fu Y, Li J et al (2009) Effects of subchronic cadmium poisoning on DNA methylation in hens. Environ Toxicol Pharmacol 27:345–349
54. Zhang Y, Wise JP, Holford TR et al (2004) Serum polychlorinated biphenyls, cytochrome P-450 1A1 polymorphisms, and risk of breast cancer in Connecticut women. Am J Epidemiol 160:1177–1183
55. Zhou X, Li Q, Arita A et al (2009) Effects of nickel, chromate, and arsenite on histone 3 lysine methylation. Toxicol Appl Pharmacol 236:78–84
56. Zhu H, Li K, Liang J et al (2011) Changes in the levels of DNA methylation in testis and liver of SD rats neonatally exposed to 5-aza-2′-deoxycytidine and cadmium. J Appl Toxicol 31:484–495

Kanser ve Yaşlanmada Diyet Epigenetiği

Trygve O. Tollefsbol

Özet

Kanserde ve yaşlılıkta sıklıkla görülen epigenetik anormallikler, bu süreçlerin önemli bir komponentini oluştururlar. Ancak epigenetik proseslerin belki de en önemli özelliği reversibl olmalarıdır. Kanser ve yaşlanmada rol oynayan genetik etkenlerin aksine, epigenetik anormallikler görece olarak daha kolay düzeltilebilirler. Kanser ve yaşlanmadaki epigenetik değişimleri hedef alan en yaygın yaklaşımlardan birisi diyetin kontrolüdür. Amaçlanan hedefe ulaşabilmek sadece diyetin kalitesini değil tüketilen kalori miktarını da hedeflemekle mümkün olabilir. Turpgiller ve yeşil çayda bulunan sulforafan gibi birçok fitokimyasalın antikanser epigenetik etkileri vardır. Ayrıca kansere ilave olarak yaşla ilişkili diğer hastalıklara bağlı olarak ortaya çıkan epigenetik anormalliklerin önlenmesinde veya tedavisinde etkilidirler. Benzer şekilde tüketilen kalori miktarının da kanserin önlenmesinde ve yaşamın uzatılmasında epigenetik aracıların kontrolü yoluyla fayda sağladığı ispatlanmıştır. Bu bölümün amacı kanser ve yaşlanma epigenetiğindeki en güncel gelişmeleri değerlendirmek ve bu biyolojik prosesleri hedefleyen ve sağlık üzerinde önemli etkileri ve dönüştürebilme potansiyeli olan diyet girişimleriyle ilişkili gelişmelere ışık tutmaktır.

T. O. Tollefsbol
Department of Biology, Centerfor Aging, Comprehensive Cancer Center, Nutrition Obesity Research Center, Comprehensive Diabetes Center, University of Alabama, Birmingham, AL, USA

T. O. Tollefsbol (✉)
University Boulevard, CH175, 1300, Birmingham, AL 35294-1170, USA
e-mail: trygve@uab.edu

V. Zappia et al. (eds.), *Advances in Nutrition and Cancer,*
Cancer Treatment and Research 159, DOI: 10.1007/978-3-642-38007-5_15,
© Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2014

Anahtar Kelimeler

Nütrisyon • Kanser • Epigenetik • Diyet • Yaşlanma

Kısaltmalar

CR	Kalori kısıtlaması
DNMT	DNA metiltransferaz
EGCG	(-)-epigallokateçin-3-gallat
HAT	Histon metiltransferaz
HDAC	Histon deasetilaz
hTERT	İnsan telomeraz revers transkriptaz
miRNA	mikro RNA
SAM	S-adenozilmetionin
SFN	Sulforafan
siRNA	Kısa düzenleyici RNA
SIRT1	Sirtuin 1

İçindekiler

1 Giriş 258
2 Kanser Epigenetiği ve Diyet Girişimleri 259
2.1 Kanserin Önlenmesi ve Tedavisinde Epigenetik Diyet 260
3 Yaşlanma Epigenetiği: Diyet Faktörlerinin Etkisi 261
3.1 Besin Öğeleri Miktarları, Epigenetik ve Yaşlanma 262
3.2 Diyet ve Yaşlanma Epigenetiği 262
3.3 Glukoz Kısıtlaması ve Hayflick Limitinin Artırılması 263
4 Sonuçlar 263
Referanslar 264

1 Giriş

Epigenetiğin birçok farklı tanımı mevcut olsa da muhtemelen en yaygın kabul göreni epigenetik proseslerin kalıtsal olan ancak DNA sekansı ile kodlanmayan değişimlerle ilişkili olduğudur. Çok sayıda epigenetik mekanizma mevcuttur. Memelilerdeki en önemli üç mekanizma DNA metilasyonu, histon modifikasyonu ve protein kodlamayan RNA'lardır.

DNA metilasyonu en fazla araştırılmış olan epigenetik prosestir. Primer olarak CpG dinükleotidlerinde, S-adenozilmetioninden (SAM) enzimatik yolla alınan metil ekinin (CH3) sitozinin 5. pozisyonuna eklenmesine dayanır. Bu proses memeli sistemlerinde bulunan üç majör metiltransferaz (DNMT1, DNMT3A ve DNMT3B) tarafından yü-

rütülür. DNMT1 büyük oranda her mitotik bölümde korunan metilasyon paterninin sürdürülmesinden sorumludur. DNMT3A ve DNMT3B ise ağırlıkla yeni metilasyondan sorumludur. Daha önce metile olmayan sitozindeki yeni metile sitozinlerin (5-metilsitozinler) oluşumunda rol oynarlar. Genel olarak bir genin regüle edici bölgesindeki genlerin metilasyon oranı arttıkça promotörden o oranda az transkripsiyon oluşur. Ancak telomerazın ana regüle edici geni olan insan telomeraz revers transkriptazı (hTERT) kodlayan gen bu dogmaya önemli bir istisna oluşturur [11, 44].

Epigenetik değişimlere histon modifikasyonları da aracılık eder. Histon asetilasyon ve metilasyonları bu modifikasyonlar arasında en fazla araştırılmış olanlarıdır. Ancak fosforilasyon, ubikutin eklenmesi, biyotinlenme, sumolasyon ve ADP ribozilasyonu da mevcuttur. Histon modifikasyonlarını gerçekleştiren enzimlerin sayısı, DNA metilasyonunu yürütenlere göre daha fazladır. Bunlardan kanser ve yaşlanma ile ilgili olan histon asetiltransferazlar (HAT) ve histon deaktilazlar (HDAC) en fazla ilgi çekenleridir [26]. Genel olarak histon amino kuyrukları ne kadar fazla asetillenirse histonları içeren gen promotör bölgelerinin transkripsiyonel aktiviteleri de o oranda artar [7].

Memeli sistemlerindeki üçüncü majör epigenetik kontrol tipi olan protein kodlamayan RNA'lar da gen ekspresyonunda önemli rol oynarlar. Örneğin tek zincirli protein kodlamayan RNA'lardan oluşan mikroRNA (miRNA) genel olarak 21-23 nükleotid uzunluğundadır. Bu sekanslar gen ekspresyonunu gen transkriptlerinin stabilitesini değiştirerek ve degradasyon transkriptlerini hedefleyerek baskılarlar. Ancak miRNA gen transkripsiyonunda artışa da neden olabilir [36]. Günümüzde memelilerdeki genlerin büyük yüzdesini regüle edebilen birçok miRNA tanımlanmıştır [14].

2 Kanser Epigenetiği ve Diyet Girişimleri

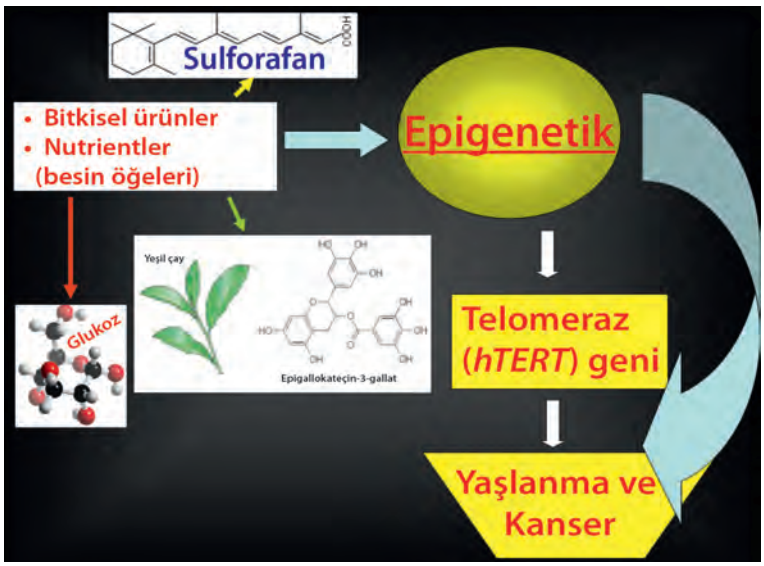
Diyet gibi çevresel faktörlerin gen ekspresyonunu etkilediği ve kanser gelişimine epigenetik mekanizmalar ile katkı yaptıkları iyi bilinmektedir [20]. Kanserde oluşan gen defektlerinin yarısından fazlasının epigenetik değişimlerle oluşması konunun önemini (genetik mutasyonlara göre) göstermektedir [23]. DNA hipometilasyonu kanser hücrelerinde nadir görülen bir durum olmayıp, sıklıkla tümör baskılayıcıları gibi önemli genlerin inaktivasyonuna yol açar [3]. DNA metilasyonundaki bu değişimler, kanserin oluşumunun erken dönemlerinde rol oynayarak, hücresel proliferasyon anormalliklerine yol açarlar. Ayrıca daha önce normal olan hücrelerin ölümsüzleşmesine neden olurlar. Histon modifikasyonlarında değişimler de kanser hücrelerinde sıklıkla görülür. Örneğin, kanser hücrelerinde çok sık görülen HDAC aktivite artışı epigenetik gen ekspresyonu üzerindeki etkileri ile tümörijeneze yol açabilir [13]. miRNA değişimleri kanserde sık görülür. Bu değişimler sıklıkla kanserin başlangıcı ve progresyonunda rol oynayan genlerin ekspresyonlarındaki defektler ile oluştur [14]. Belki de en önemlisi olan kanserdeki gen regülasyon anormalliklerinin kontrolündeki epigenetik proseslerin kollektif

etkileşimlerinin giderek daha fazla ilgi çekmesidir. Örnek vermek gerekirse epigenetik mekanizmaların kanser hücrelerindeki gen ekspresyonlarında değişime yol açmaları nadir görülen bir durum değildir [15].

2.1 Kanserin Önlenmesi ve Tedavisinde Epigenetik Diyet

Biyoaktif bileşiklerden oluşan birçok doğal diyet ajanının kanserin önlenmesi ve tedavisinde etkili oldukları gösterilmiştir. Bu nutrasötikler sıklıkla faydalı epigenetik değişimlere aracılık yaparlar [38, 50]. Bu nedenle epigenomu etkileyen ve kanserin önlenmesinde ve kemoterapötik stratejiler ile birlikte kullanılabilen "epigenetik diyet" kavramını geliştirdik [18].

Antikanser özelliklere sahip olduğu çok sayıda çalışmada gösterilen en önemli bileşiklerden biri yeşil çaydan elde edilen (-)-epigallokateçin-3-gallatdır (EGCG). Birçok çalışmada yeşil çay (EGCG) tüketimi ile çeşitli kanser türlerinin inhibisyonu arasında pozitif bir bağlantı olduğu gösterilmiştir [6, 25, 48]. EGCG'nin kanser hücreleri üzerinde (antioksidan etkisi gibi) farklı etkilere sahip olmasının yanında, DNMT'leri direkt



Şekil 1 Epigenetik diyetin komponentlerinin epigenetik, telomeraz (hTERT) ile yaşlanma ve kanserdeki etkileri. Turpgillerden elde edilen sulforafan ve (-)-epigallokateçin-3-gallat (EGCG) gibi (yapıları şekilde mevcuttur) bitkisel ürünler epigenetik prosesleri modifiye ederek yaşlanma ve kanser üzerinde direkt olarak etki gösterebilirler. Hem yaşlanma hem de kanserde önemli rol oynayan hTERT'in aşağı regülasyonuna da yol açabilirler. Fitokimyasalların epigenetik modifikasyonlara yol açma mekanizmaları bileşiğe göre farklılıklar gösterebilir. Glukoz kısıtlaması da epigenetik prosesleri etkileyerek yaşlanma ve kanser süreçlerini direkt olarak DNMT'ler ile etkileşime girerek etkileyebilir [16].

etkileşim yoluyla inhibe edebildiği de gösterilmiştir [16]. Bu şekilde kanser hücrelerindeki tümör baskılayıcı epigenetik sessizleştirmeyi etkili bir şekilde geriye çevirebilir ve bu hücrelerdeki apoptoz indüklenebilir. Ayrıca DNMT'nin EGCG tarafından inhibe edilmesinin hTERT'i aşağı regüle ederek kanser hücrelerindeki telomerazların supresyonuna yol açtıklarını da tespit ettik [4, 41]. Kanser hücrelerindeki hTERT aktivitesi promotörüne bağlanan represörler nedeniyle gen düzenleyici bölgesindeki DNA metilasyonundaki artış ile ilişkilidir [4]. Telomerazlar tümör progresyonunda çok önemli oldukları için, telomeraz aktivitesinin EGCG medyatörlüğündeki aşağı regülasyonunun kanserin önlenmesi ve tedavisinde önemli etkileri vardır (Şekil 1).

Epigenetik etkileri olan bir diğer önemli diyet komponenti de brokoli, karnabahar, Brüksel lahanası ve lahana gibi turpgillerde bulunan sulforafandır (SFN). Ancak SFN'nin DNMT1 ve DNMT3A'yı inhibe ettiğini göstermiş olsak ta [39], en güçlü etkilerini HDAC aktivitesinin inhibisyonu yoluyla göstermektedir [12, 42, 43, 47]. HDAC'lar yukarıda da bahsedildiği üzere kanser hücrelerinde sıklıkla artarlar. HDAC aktivitesinin SFN tarafından inhibisyonu kanser hücrelerindeki HDAC artışının önlenmesinde önemli bir potansiyele sahiptir. hTERT histon asetilasyon/deasetilasyonu ile de kontrol edildiği için [11], SFN'nin hTERT'in meme kanseri hücrelerinin gen regülasyonunu etkileme düzeylerini değiştirip değiştirmediğini test ettik. MCF-7 ve MDA-MB-231 hücrelerine SFN uygulanmasının hTERT'i doz ve zamana bağlı olarak aşağı regüle ettiğini tespit ettik (Şekil 1). SFN ile indüklenen hiperasetilasyon hTERT'in gen regüle edici bölgesine MAD1 ve CTCF gibi birçok hTERT represör proteinin bağlanmasını kolaylaştırır [39]. Ayrıca siRNA kullanan CTCF azalmasının meme kanseri hücrelerindeki SFN ile indüklenen hTERT aşağı regülasyonunu da zayıflattığını tespit ettik [39].

Yeşil çaydaki EGCG ve turpgillere ailesine ait sebzelerdeki SFN gibi diyet bileşiklerinin birçok farklı etkileri de mevcuttur. Bu bileşiklerin kanserin başlangıç ve progresyonunda rol oynayan ana genlerin epigenetik kontrolünü büyük oranda etkiledikleri kesindir [38]. Ayrıca EGCG ve SFN'ye ek olarak kanserin önlenmesinde oldukça etkili olan birçok diyet bileşiği de mevcuttur. Örneğin kurkumin (zerdeçal), resveratrol (üzüm ve şarap) ve genistein (soya fasulyesi) ve daha birçok fitokimyasal epigenetik potansiyelleri nedeniyle ciddi anlamda ilgi çekmektedir [38]. Epigenetiği modifiye eden gıdalar ve içeceklerin dünyada kanser insidansının azaltılmasında önemli rol oynayacağına inanıyoruz. Bu nedenle epigenetik diyet kullanımını sadece kanserlerin önlenmesinde değil, belki de erken evrelerdeki kanserlerin tedavisindeki muhtemel etkileri nedeniyle de önerilmektedir [18]. Bu fitokimyasalların diyette kombine halde kullanımları da kanser insidansını azaltmada oldukça makul bir yaklaşımdır [40].

3 Yaşlanma Epigenetiği: Diyet Faktörlerinin Etkisi

Kanser gelişimi ile ilgili en önemli risk faktörü yaştır. Kanser ile yaşlanma arasında bağlantılar olabileceğini öngören birçok çalışmada bu iki önemli biyolojik proseste epigenetiğin rolü araştırılmıştır. Gerçekten de, yaşlanma süreci aynen kanser gibi genel genomik

hipometilasyon ve bölgesel veya belirli genlere spesifik hipermetilasyon ile ilişkilidir [22, 37]. Bu durum DNMT'lerin ekspresyonlarındaki değişimlerden kaynaklanabilir [5, 34]. Yaşlanma esnasında DNA metilasyonunda görülen bu değişimlerin, yaşlanma sürecine katkı yapan epigenetik olarak kontrol edilen hTERT gibi genlerin regülasyonunda bir dizi değişime neden olması mümkündür [33]. Ayrıca histon modifikasyonlarının da yaşlanmada rol oynadıkları düşünülmektedir. Gerçekten de, sınıf III NAD^+ bağımlı bir HDAC olan sirtuin 1'in (SIRT1) farklı hayvan modellerindeki yaşam sürelerini dikkat çekici düzeyde uzatıcı etki yaptığı gösterilmiştir [8, 24]. SIRT1 enziminin metabolik oran ile ilişkili önemli bir nütrient sensörü olabileceği düşünülmektedir. NAD/NADH oranı şeklinde basitçe ifade edilen redoks potansiyeli oksijen tüketimi ve respiratuar zincirde önemli bir gösterge olan SIRT1 aktivitesini regüle etmede önemli rol oynuyor olabilir. Yaşlanma sırasında diğer birçok epigenetik değişim meydana geliyor olsa da, DNA metilasyonunun ve histon modifikasyonlarının regülasyonu, hTERT'in epigenetik kontrolü ve SIRT1'in yaşlanma ile ilgili biyolojik prosesleri modüle etmekteki rolü ciddi anlamda ilgi çeken konulardır.

3.1 Besin Öğeleri Miktarları, Epigenetik ve Yaşlanma

Yukarıda da bahsettiğimiz gibi kanser ve yaşlanmada sadece diyetin kalitesi değil, tüketilen besin öğelerinin miktarı da önemli bir rol oynamaktadır. Kalori kısıtlaması yaşlanma süreci ve maksimum hayat süresine ulaşabilme ile ilgili en önemli girişim olup kısmen epigenetik mekanizmaların aracılığında gerçekleşir [49, 53]. Total kalori miktarının hayati besin öğeleri sağlanmak kaydıyla %25-60 arasında kısıtlanması (normal beslenen kontrollere göre) yaşam süresinin %50 uzamasını sağlayabilmektedir [9, 10, 21, 31, 45, 52]. Kalori kısıtlamasının spesifik gen lokuslarındaki etkileri ile DNA metilasyonu değişime uğratılarak yaşam süresi uzatılabilir [19]. Ayrıca yaşlanma sürecinde önemli bir HDAC olan SIRT1'in kalori kısıtlaması ile güçlü bağlantısı vardır. Örneğin, kalori kısıtlaması ile SIRT1 aktivitesinin değişime uğradığı birçok in vitro ve in vivo çalışmada gösterilmiştir [8, 17, 27, 32]. Sirtuinin yaşam süresini uzatıcı etkisi orijinal olarak maya da keşfedilmiştir [17]. Kalori kısıtlamasına maruz kalan çeşitli hayvan dokularında sıklıkla SIRT1 aktivasyonu görülürken, SIRT1 inaktivasyonunun kalori kısıtlamasının yaşam süresini uzatıcı etkilerini ortadan kaldırdığı gözlenmiştir. Bu nedenle epigenetik proseslerin sadece yaşlanma sürecinde değil, DNA metilasyonu ve SIRT1 gibi yaşlanma ile ilgili ana medyatörler ile de önemli ilişkileri olduğu açıktır.

3.2 Diyet ve Yaşlanma Epigenetiği

Fitokimyasal bir diyet polifenolü olan resveratrol kalori kısıtlamasının önemli bir aracısıdır. SIRT1'i taklit ederek hem in vitro hem de in vivo ortamda yaşam süresinin uzamasını sağlar [1, 2, 51, 54]. Resveratrole ek olarak EGCG gibi diğer birçok polifenolün de yaşlanma süreci üzerinde faydalı etkileri olduğu gösterilmiştir [46]. Turpgiller ailesinde-

ki sebzelerin ve soya fasulyesi gibi diğer epigenetik diyet komponentlerinin kanseri önleyici etkileri yoluyla yaşam süresinin uzamasına katkıları vardır [28, 31, 38]. Örneğin, epigenetik diyet komponentlerinin belirli bir periyod süresince kullanılmaları ile kanser ve kardiyovasküler hastalık gibi yaşla ilgili hastalıklarda azalma görülebilmektedir [35].

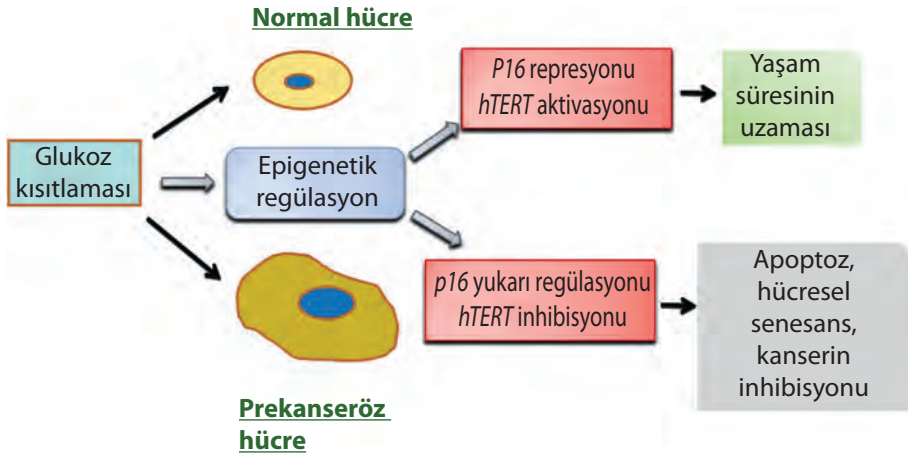
3.3 Glukoz Kısıtlaması ve Hayflick Limitinin Artırılması

Hayflick limiti biyolojik yaşlanma için hayati olan hücresel senesans ile ilişkilidir. Kalori kısıtlaması ile ilişkili çalışmalar organizma (tek hücreli mayalar gibi) yaşam sürelerinin analizi ile kısıtlı olduğu için, bu kısıtlamanın memelilerdeki Hayflick limitini etkileyip etkilemediğini test etmeyi amaçladık. Ayrıca kalori kısıtlamasının insan yaşlanması üzerindeki etkileri, bu çalışmaların görece olarak uzun yaşam süresi olan insan popülasyonlarında yapılması pratik olmadığı için henüz büyük oranda anlaşılamamıştır. Hücresel senesans yaşlanmanın önemli temellerinden kabul edildiği için, insan fibroblast hücre kültürlerindeki glukoz miktarının kısıtlanmasının Hayflick limiti üzerindeki etkilerini gözlemledik [29]. 15 mg/L glukoz uygulanan kültürdeki insan hücrelerinin yaşam sürelerinin 4.5 g/L glukoz uygulanan kontrol insan hücrelerine göre anlamlı olarak azaldığını tespit ettik. Ayrıca glukoz kısıtlaması uygulanan hücrelerde hTERT düzeylerinde görece olarak hafif düzeyde artışa (kanser hücrelerine göre) ve p16 düzeylerinde azalmaya yol açan epigenetik değişimler gözlemledik. Kalori kısıtlamasına cevap olarak oluşan epigenetik değişimlerin bu hücrelerdeki DNA metilasyon ve histon modifikasyonlarına bağlı olduğunu (en azından kısmen) tespit ettik (Şekil 2). Ayrıca prekanseröz hücrelerdeki hTERT ve p16'nın kalori kısıtlamasına ters yönde cevap vererek epigenetik olarak indüklenen hücre apoptozunun oluşumuna yol açtığı bulunmuştur [29] (Şekil 2).

Farklı çalışmalarımızdaki ilave analizlerde glukoz kısıtlaması uygulanan insan hücrelerindeki SIRT1 düzeylerinin arttığı tespit edilmiştir. Bu artış SIRT'in p16 üzerindeki epigenetik etkileri ile SIRT1'in p16 üzerindeki Akt/p70S6K1 yolağı vasıtasıyla gerçekleşen genetik etkileri ile insan hücrelerinin yaşam sürelerinin uzamasına neden olmuştur [30]. Kalori kısıtlaması bu nedenle sadece hayvanların değil, hücrelerinin de yaşam sürelerini artırmıştır. Hayflick limiti yaşlanmanın önemli bir özelliği olduğu ve bahsettiğimiz çalışmalarda metabolik sistemik faktörler rol oynamadığı için, kalori kısıtlamasının primer olarak senesans düzeyinde etki gösterdiği ve hücresel senesansın önemli bir aracısı olduğu ve yaşlanmanın kalori kısıtlamasına cevap olarak epigenetik mekanizmalarda oluşan değişimler ile meydana geldiği bulunmuştur.

4 Sonuçlar

Epigenetik mekanizmalar yaşlanma ve kanser ile ilgili birçok özellik önem taşımaktadır. Diyet faktörleri bu biyolojik süreçlerin advers etkilerini azaltabilen önemli yardımcılardır. Diyetin hem kalitesi hem de miktarı sağlıklı yaşlanma ve özellikle kanserde hayati



Şekil 2 Glukoz kısıtlamasının epigenetik regülasyon yoluyla yaşam süresi ve kanser üzerindeki etkisi. Glukoz kısıtlaması hem normal hem de kanser hücrelerindeki epigenetik regülasyonunu etkileyebilir. Glukoz kısıtlaması ile normal hücrelerde *p16* represyonu ve *hTERT* aktivasyonu gerçekleşerek Hayflick limitinin artmasına neden olur. Prekanseröz hücrelerde ise glukoz kısıtlaması ile *p16* ve *hTERT* üzerinde bu etkinin tersinin görülmesi apoptoz, hücresel senesans ve kanser inhibisyonuna yol açar.

önem taşımaktadır. Diyetin kalitesini, fitokimyasalların tüketiminden oluşan ve DNA metilasyon, histon modifikasyonu ve protein kodlamayan RNA gibi prosesleri modüle eden epigenetik diyet belirler. Epigenetik diyetin sadece kanseri önlemekte değil, yaşa bağlı hastalıkların ortaya çıkmasındaki önemli potansiyeli ile ilgili dünya çapında çok önemli bir veri tabanı oluşmaktadır. Diyet miktarının da epigenetik etkileri vardır. Kalori azaltımından, birçok hücresel prosesin aracısı olan SIRT1 aktivitesi gibi birçok epigenetik mekanizma etkilenmektedir. Kalori kısıtlamasının hücresel düzeyde insan hücrelerinin yaşam süresini uzattığını gösterdik. Bu bulgu kalori kısıtlamasının epigenetik etkileri ile yaşam süresinin uzatılması prosesinin muhtemel temelini oluşturmaktadır. Epigenetiğin kanser ve yaşlanmadaki rolü ile ilgili hala cevaplanmamış birçok soru mevcuttur. Ancak epigenetik mekanizmaların hem kanser hem de yaşlanmada görülen ana anormallikler olduğu netleşmiştir. Epigenetik diyet çok sayıda insanın hayatına mal olan biyolojik prosesler olan kanser ve yaşlanmada görülen morbidite ve mortaliteyi azaltmanın güvenli ve etkili bir yolu olarak giderek daha fazla öne çıkan bir araştırma konusu haline gelmektedir.

Teşekkürler Bu çalışmaya kısmi maddi destek sağlayanlar: Ulusal Kanser Enstitüsü (RO1 CA129415), Amerikan Kanser Enstitüsü, Norma Livingston Vakfı.

Referanslar

1. Barger JL, Kayo T, Vann JM et al (2008) A low dose of dietary resveratrol partially mimics caloric restriction and retards aging parameters in mice. PLoS ONE 3(6):e2264

2. Bass TM, Weinkove D, Houthoofd K et al (2007) Effects of resveratrol on lifespan in Drosophila melanogaster and Caenorhabditis elegans. Mech Ageing Dev 128:546–552
3. Baylin SB, Herman JG, Graff JR et al (1998) Alterations in DNA methylation: a fundamental aspect of neoplasia. Adv Cancer Res 72:141–196
4. Berletch JB, Liu C, Love WK et al (2008) Epigenetic and genetic mechanisms contribute to telomerase inhibition by EGCG. J Cell Biochem 103:509–519
5. Casillas MA Jr, Lopatina N, Andrews LG et al (2003) Transcriptional control of the DNA methyltransferases is altered in aging and neoplastically-transformed human fibroblasts. Mol Cell Biochem 252:33–43
6. Chen PN, Chu SC, Kuo WH et al (2011) Epigallocatechin-3 gallate inhibits invasion, epithelial-mesenchymal transition, and tumor growth in oral cancer cells. J Agric Food Chem 59:3836–3844
7. Clayton AL, Hazzalin CA, Mahadevan LC (2006) Enhanced histone acetylation and transcription: a dynamic perspective. Mol Cell 23:289–296
8. Cohen HY, Miller C, Bitterman KJ et al (2004) Calorie restriction promotes mammalian cell survival by inducing the SIRT1 deacetylase. Science 305:390–392
9. Colman RJ, Anderson RM, Johnson SC et al (2009) Caloric restriction delays disease onset and mortality in rhesus monkeys. Science 325:201–204
10. Cruzen C, Colman RJ (2009) Effects of caloric restriction on cardiovascular aging in non-human primates and humans. Clin Geriatr Med 25:733–743
11. Daniel M, Peek GW, Tollefsbol TO (2012) Regulation of the human catalytic subunit of telomerase (hTERT). Gene 498:135–146
12. Dashwood RH, Ho E (2008) Dietary agents as histone deacetylase inhibitors: sulforaphane and structurally related isothiocyanates. Nutr Rev 66(Suppl 1):S36–S38
13. Dokmanovic M, Marks PA (2005) Prospects: histone deacetylase inhibitors. J Cell Biochem 96:293–304
14. Esquela-Kerscher A, Slack FJ (2006) Oncomirs—microRNAs with a role in cancer. Nat Rev Cancer 6:259–269
15. Esteller M (2008) Epigenetics in cancer. N Engl J Med 358:1148–1159
16. Fang MZ, Wang Y, Ai N et al (2003) Tea polyphenol (-)-epigallocatechin-3-gallate inhibits DNA methyltransferase and reactivates methylation-silenced genes in cancer cell lines. Cancer Res 63:7563–7570
17. Guarente L, Picard F (2005) Calorie restriction–the SIR2 connection. Cell 120:473–482
18. Hardy TM, Tollefsbol TO (2011) Epigenetic diet: impact on the epigenome and cancer. Epigenomics 3:503–518
19. Hass BS, Hart RW, Lu MH et al (1993) Effects of caloric restriction in animals on cellular function, oncogene expression, and DNA methylation in vitro. Mutat Res 295:281–289
20. Herceg Z (2007) Epigenetics and cancer: towards an evaluation of the impact of environmental and dietary factors. Mutagenesis 22:91–103
21. Holloszy JO, Fontana L (2007) Caloric restriction in humans. Exp Gerontol 42:709–712
22. Issa JP (1999) Aging, DNA methylation and cancer. Crit Rev Oncol Hematol 32:31–43
23. Issa JP (2008) Cancer prevention: epigenetics steps up to the plate. Cancer Prev Res (Phila) 1:219–222
24. Kanfi Y, Peshti V, Gozlan YM et al (2008) Regulation of SIRT1 protein levels by nutrient availability. FEBS Lett 582:2417–2423
25. Kim JW, Amin AR, Shin DM (2010) Chemoprevention of head and neck cancer with green tea polyphenols. Cancer Prev Res (Phila) 3:900–909
26. Kouzarides T (2007) Chromatin modifications and their function. Cell 128:693–705
27. Leibiger IB, Berggren PO (2006) Sirt1: a metabolic master switch that modulates lifespan. Nat Med 12:34–36
29. Li Y, Liu L, Andrews LG et al (2009) Genistein depletes telomerase activity through cross-talk between genetic and epigenetic mechanisms. Int J Cancer 125:286–296

30. Li Y, Liu L, Tollefsbol TO (2010) Glucose restriction can extend normal cell lifespan and impair precancerous cell growth through epigenetic control of hTERT and p16 expression. FASEB J 24:1442–1453
28. Li Y, Tollefsbol TO (2011) p16(INK4a) suppression by glucose restriction contributes to human cellular lifespan extension through SIRT1-mediated epigenetic and genetic mechanisms. PLoS ONE 6:e17421
31. Li Y, Daniel M, Tollefsbol TO (2011) Epigenetic regulation of caloric restriction in aging. BMC Med 9:98
32. Lin SJ, Defossez PA, Guarente L (2000) Requirement of NAD and SIR2 for life-span extension by calorie restriction in Saccharomyces cerevisiae. Science 289:2126–2128
33. Liu L, Wylie RC, Andrews LG et al (2003) Aging, cancer and nutrition: the DNA methylation connection. Mech Ageing Dev 124:989–998
34. Lopatina N, Haskell JF, Andrews LG et al (2002) Differential maintenance and de novo methylating activity by three DNA methyltransferases in aging and immortalized fibroblasts. J Cell Biochem 84:324–334
35. Mathers JC (2006) Nutritional modulation of ageing: genomic and epigenetic approaches. Mech Ageing Dev 127:584–589
36. Mathers JC, Strathdee G, Relton CL (2010) Induction of epigenetic alterations by dietary and other environmental factors. Adv Genet 71:3–39
37. Mays-Hoopes LL (1989) DNA methylation in aging and cancer. J Gerontol 44:35–36
38. Meeran SM, Ahmed A, Tollefsbol TO (2010a) Epigenetic targets of bioactive dietary components for cancer prevention and therapy. Clin Epigenetics 1:101–116
39. Meeran SM, Patel SN, Tollefsbol TO (2010b) Sulforaphane causes epigenetic repression of hTERT expression in human breast cancer cell lines. PLoS ONE 5(7):e11457
40. Meeran SM, Patel SN, Li Y et al (2012) Bioactive dietary supplements reactivate ER expression in ER-negative breast cancer cells by active chromatin modifications. PLoS ONE 7(5):e37748
41. Mittal A, Pate MS, Wylie RC et al (2004) EGCG down-regulates telomerase in human breast carcinoma MCF-7 cells, leading to suppression of cell viability and induction of apoptosis. Int J Oncol 24:703–710
42. Myzak MC, Tong P, Dashwood WM et al (2007) Sulforaphane retards the growth of human PC-3 xenografts and inhibits HDAC activity in human subjects. Exp Biol Med (Maywood) 232:227–234
43. Nian H, Delage B, Ho E et al (2009) Modulation of histone deacetylase activity by dietary isothiocyanates and allyl sulfides: studies with sulforaphane and garlic organosulfur compounds. Environ Mol Mutagen 50:213–221
44. Poole JC, Andrews LG, Tollefsbol TO (2001) Activity, function, and gene regulation of the catalytic subunit of telomerase (hTERT). Gene 269:1–12
45. Pugh TD, Oberley TD, Weindruch R (1999) Dietary intervention at middle age: caloric restriction but not dehydroepiandrosterone sulfate increases lifespan and lifetime cancer incidence in mice. Cancer Res 59:1642–1648
46. Queen BL, Tollefsbol TO (2010) Polyphenols and aging. Curr Aging Sci 3:34–42
47. Schwab M, Reynders V, Loitsch S et al (2008) The dietary histone deacetylase inhibitor sulforaphane induces human beta-defensin-2 in intestinal epithelial cells. Immunology 125(2):241–251
48. Shanmugam MK, Kannaiyan R, Sethi G (2011) Targeting cell signaling and apoptotic pathways by dietary agents: role in the prevention and treatment of cancer. Nutr Cancer 63:161–173
49. Sinclair DA (2005) Toward a unified theory of caloric restriction and longevity regulation. Mech Ageing Dev 126:987–1002
50. Su LJ, Mahabir S, Ellison GL et al (2011) Epigenetic contributions to the relationship between cancer and dietary intake of nutrients, bioactive food components, and environmental toxicants. Front Genet 2:91

51. Subramanian L, Youssef S, Bhattacharya S et al (2010) Resveratrol: challenges in translation to the clinic–a critical discussion. Clin Cancer Res 16:5942–5948
52. Sun D, Krishnan A, Su J, Lawrence R et al (2004) Regulation of immune function by calorie restriction and cyclophosphamide treatment in lupus-prone NZB/NZW F1 mice. Cell Immunol 228:54–65
53. Weindruch R, Walford RL, Fligiel S et al (1986) The retardation of aging in mice by dietary restriction: longevity, cancer, immunity and lifetime energy intake. J Nutr 116:641–654
54. Wood JG, Rogina B, Lavu S et al (2004) Sirtuin activators mimic caloric restriction and delay ageing in metazoans. Nature 430:686–689

Meme Kanseri ve Erken Yaşlardaki Beslenmenin Önemi

Karen A. Lillycrop ve Graham C. Burdge

Özet

Epigenetik prosesler dokuya özgü gen ekspresyonunun regülasyonunda önemli rol oynamaktadır. Bu süreçlerin değişime uğraması fenotipte önemli değişikliklere yol açarak kanseri de içeren birçok insan hastalığının patojenezinde önemli rol oynar. Çevresel etkiler (özellikle diyetteki varyasyonlar) spesifik gelişim aşamalarında epigenom değişimlerine yol açabilmektedir. Bu değişimler hayat boyu korunarak, yaşamın ilerleyen döneminde kansere karşı duyarlılık derecesini etkileyebilir. Bu bölümde yaşamın erken yıllarındaki beslenme değişimlerinin meme kanseri riskini genlerin epigenetik regülasyonu ile etkileyebileceğini inceleyeceğiz. Yaşamın erken yıllarında oluşan bu tür epigenetik işaretlerin tespit edilmesinin, yüksek hastalık riski altındaki bireylerin tespitinde biyomarker olarak kullanımlarını tartışacağız.

Anahtar Kelimeler

Epigenetik • Nütrisyon • Transkripsiyon • Erken yaşam

Kısaltmalar

A^{vy}	Agouti viable yellow
AOX	Asetil-CoA karboksilaz

K. A. Lillycrop (✉)
Centre for Biological Sciences, Institute of Developmental Sciences, Faculty of Natural and Environmental Sciences, University of Southampton, Southampton, SO16 6YD, UK
e-mail: kal@soton.ac.uk

G. C. Burdge
Institute of Developmental Sciences, Faculty of Medicine, University of Southampton, Southampton, SO16 6YD, UK

V. Zappia et al. (eds.), *Advances in Nutrition and Cancer,*
Cancer Treatment and Research 159, DOI: 10.1007/978-3-642-38007-5_16,
© Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2014

Kısaltmalar

ATM	Ataksi telanjiektazi mutasyonu
VKİ	Vücut kütle indeksi
BRCA1	Meme kanseri 1, erken başlayan
DA	Doğum ağırlığı
KVH	Kardiyovasküler hastalık
CpG	Fosfatla bağlı sitozin ve guanin nükleotidleri
DES	Dietilstilbesterol
DHA	Dokosaheksaenoik asit
DNMT	DNA metiltransferaz
ER	Östrojen reseptörü
EWAS	Epigenom boyunca ilişkilendirme çalışmaları
GR	Glukokortikoid reseptörü
HDAC	Histon deasetilaz
HMT	Histon metiltransferaz
IAP	İntrasisternal A-partikülü
IGF1	İnsülin büyüme faktörü 1
MeCP	Metil CpG bağlayıcı protein
MeDIP	Metile DNA immunopresipitasyon
miRNA	Mikro RNA
MUFA	Monoansatüre yağ asidi
ncRNA	Protein kodlamayan RNA
NCD	Bulaşıcı olmayan hastalıklar
NMU	N-nitrozo-N-metilüre
POMC	Pro-opiomelanokortin
PR	Protein kısıtlaması
PPAR	Peroksizomal proliferatör-aktive reseptör
PUFA	Poliansatüre yağ asidi
RXRα	Retinoid X reseptör-α
TEB	Terminal uç tomurcukları

İçindekiler

1 Giriş 271
1.1 Erken Yaşamda Maruz Kalınan Çevre ve Gelecekteki Hastalık Riski 271
2 Epigenetik 272
2.1 DNA Metilasyonu 273
2.2 Histon Modifikasyonu 273
2.3 Protein Kodlamayan RNA'lar 274
2.4 Epigenetik, Yaşlanma ve Kanser 274
2.5 Erken Yaşamda Beslenme ve Epigenom 275
3 Prenatal Çevre ve Kanser Riski 276
3.1 Kanser Riskinin Nütrisyonel Programlamasında Hayvan Modelleri 277

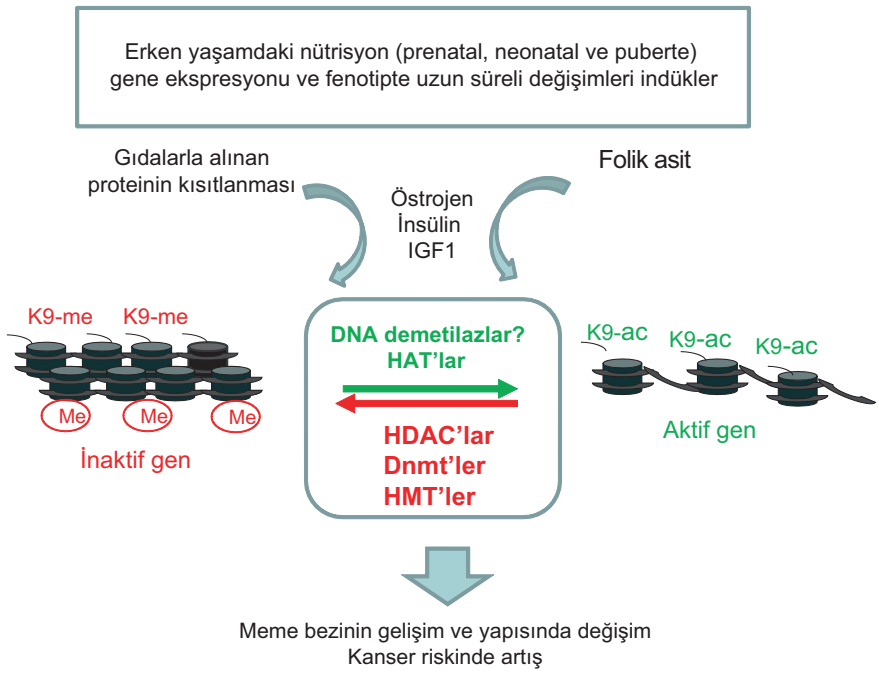
3.2 Mikrobesin Tüketimi 278
3.3 Epigenetik Biyomarkerlerin Tanımlanması 281
4 Sonuçlar 281
Referanslar 281

1 Giriş

Kanserin DNA mutasyonları veya silinmeleri gibi genetik değişimlerden kaynaklandığı geleneksel olarak kabul edilmektedir. Ancak meme kanserini de içeren bazı kanserlerin embriyonik hayattan kaynaklanabileceğini gösteren kanıtlar artmaktadır. Meme kanseri gelişiminde yaşamın erken yıllarında maruz kalınan çevrenin önemli rol oynadığı insan epidemiyoloji çalışmalarında gösterilmektedir. Hem fazla hem de az beslenen hayvan modellerinde de tespit edilen bu bulgular, yavruların kansere karşı duyarlılıklarının etkilendiğini göstermiştir. Yaşamın ilk evrelerinde maruz kalınan çevrenin farklı ve stabil bir fenotipi indükleme mekanizması anlaşılmaya başlamıştır. Bu mekanizmada epigenetik süreçlerin de rolü olabilir. Güncel çalışmalarda yaşamın ilk yıllarındaki çevresel faktörlerin indüklediği epigenom değişimleri yaşam boyu korunmaktadır. Bu durum erken yaşlardaki beslenmenin meme bezlerinin gelişimini veya yapısını hastalığın başlamasından onyıllar önce değiştirip kalıcı epigenetik değişimlere yol açarak meme kanseri riskini modüle ettiğini düşündürmektedir. Bu makalede yaşamın erken yıllarındaki beslenme değişimlerinin meme kanseri riskini genlerin epigenetik regülasyonu ile etkileyebileceğini inceleceğiz. Yaşamın erken yıllarındaki bu tür epigenetik işaretlerin tespit edilmesinin, yüksek hastalık riski altındaki bireylerin tespitinde biyomarker olarak kullanımlarını tartışacağız.

1.1 Erken Yaşamda Maruz Kalınan Çevre ve Gelecekteki Hastalık Riski

Erken yaşamdaki çevre kalitesi ile erişkin yaşamda görülen kronik hastalıklar arasındaki ilişki ilk kez David Barker ve çalışma arkadaşları tarafından tanımlanmıştır. İngiltere'deki infant mortalitesi ile 50-60 yıl sonra görülen KVH riski arasında güçlü bir coğrafi ilişki tespit etmişlerdir [1]. Çok sayıda retrospektif çalışmada da düşük doğum ağırlığının, erişkinlerde görülen KVH, tip 2 diyabet, obezite ve hipertansiyonu da içeren birçok bulaşıcı olmayan hastalığın riskinde artışla ilişkili olduğu gösterilmiştir [2]. Bu bulgular gebe ve/veya emzirme dönemindeki sıçan veya farelere genel olarak kısıtlanmış düşük proteinli diyet veya yüksek yağlı diyet uygulanan birçok hayvan çalışmasında tekrarlanmıştır. İlginç şekilde bu hayvanların yavruları da çok benzer özelliklerle doğmakta ve yaşamlarının ilerleyen dönemlerinde dislipidemi, obezite, hipertansiyon, hiperinsülinemi ve hiperleptinemi gelişmektedir [3]. Erken yaşamdaki nütrisyon anormalliklerine bağlı olarak farklı fenotiplerin indüklenmesinin, normal bir adaptasyon mekanizmasına bağlı olduğu düşünülmektedir. Organizma bu mekanizma sayesinde sahip olduğu gelişimsel esnekliği kullanarak (çevresel etkilere



Şekil 1 Erken yaşamdaki beslenmenin epigenom üzerindeki etkileri Yaşamın erken dönemlerindeki beslenme gen metilasyonu ile demetilasyon arasındaki dengeyi belirler. Histon deasetilazlar (HDAC), histon metiltransferazlar (HMT) ve DNA metiltransferazlar (DNMT) histon deasetilasyonunu, histon H3'teki K9 metilasyonunu ve kromatin konfigürasyonunun kapanmasına ve gen sessizleştirmesine yol açan DNA metilasyonunu indüklerler. Buna karşın histon asetil transferazlar (HAT) ise (H3K9'un asetilasyonunu da içerecek şekilde) lisin kalıntılarının asetilasyonunu indükleyerek açık kromatin konfigürasyonuna ve gen transkripsiyonuna yol açarlar.

cevap olarak) hayatın ilerleyen dönemlerindeki formunu ve sağkalımı koruyabilmek amacıyla gelişim programını değiştirebilir [4]. Organizmanın çevresel etkilere cevap olarak genlerin epigenetik regülasyonu yoluyla tek bir genomdan farklı fenotipler üretebildiğini gösteren kanıtlar günümüzde mevcuttur.

2 Epigenetik

Epigenetik prosesler spesifik genlerin ne zaman ve nerede eksprese olacaklarının belirlenmesinde rol oynarlar. Bu nedenle genlerin epigenetik regülasyonlarının değişime uğraması fenotipte önemli değişimlere yol açabilir [5, 6]. Majör epigenetik prosesler DNA metilasyonu, histon modifikasyonu ve protein kodlamayan RNA'lardır (Şekil 1).

2.1 DNA Metilasyonu

CpG dinükleotidindeki (p ilgili fosfat grubunu gösterir) DNA'daki sitozinin 5. pozisyonunda gerçekleşen metilasyon, memeli genomlarında sık görülür. Bu metilasyon DNA replikasyonu ve hücre bölünmesi ile iletilen stabil bir epigenetik izi oluşturur [7]. CpG dinükleotidleri genom boyunca randomize olarak dağılmamıştır. Genlerin/promotörlerin CpG adacıkları olarak bilinen 5′ uçlarında kümelenmişlerdir. Bu CpG adacıklarının hipermetilasyonu transkripsiyonal represyon ile ilişkili iken, aynı adacıkların hipometilasyonu ise transkripsiyonal aktivasyon ile ilişkilidir [8, 9].

DNA metilasyonu damgalanmış (imprinted) genlerin asimetrik sessizleştirilmesinde [10], X kromozomunun inaktivasyonunda [11, 12] ve hücre spesifikasyonu ile dokuya özgü gen ekspresyonunda önemlidir [7]. CpG'lerin metilasyonu büyük oran embriyogenez veya erken postnatal hayatta gerçekleşir. Maternal ve paternal genomlar fertilizasyon sonrası kapsamlı demetilasyona uğrarlar. Bunu blastosit implantasyonunun hemen öncesinde gerçekleşen yeni global metilasyon takip eder [13, 14]. Bu metilasyon sırasında CpG'lerin büyük bölümü represe heterokromatin bölgelerinde veya geriye çevrilebilir faktörler gibi repetitif sekanslar düzeyinde metile olurlar [15]. Dokuya spesifik genlerin kökene spesifik metilasyonları da prenatal gelişim ve erken postanal hayat sırasında oluşarak farklılaşan hücrelerin gelişimsel geleceklerini belirlerler. CpG dinükleotidlerinin yeni metilasyonu DNA metiltransferazlar (DNMT) 3a ve 3b tarafından katalizlenir ve hemi-metile DNA'nın DNTM1 ile gen spesifik metilasyonu ile gerçekleşen mitoz ile korunur [16].

2.2 Histon Modifikasyonu

Hücrelerimizdeki DNA kromatin olarak paketlenmiştir. Bir kromatinin temel ünitesi 147 DNA asit-baz çiftinden oluşan ve histon proteinlerinden (histon H2A, H2B, H3 ve H4'ün ikişer kopyası) oluşan bir çekirdeğin etrafına sarılmış nükleozomdur. Histon proteinlerinin iki bölgesi vardır: Globüler bölge ve N-terminal kuyruk bölgesi. Histonların N-terminal kuyrukları asetilasyon, metilasyon, ubikutin eklenmesi, sumolasyon ve fosforilazyon gibi modifikasyonlara açıktır [17]. Histon modifikasyonu spesifik hücresel proseslere yol açabilen efektör proteinlerin yerleşimine yol açar. Histon kuyruklarındaki bu işaretlere sıklıkla histon kodu adı verilir. Histon asetilasyonu aktif kromatin durumu ile özel olarak ilişkili iken lisinin metilasyonu ise rol oynayan spesifik lisine bağlı olarak aktif veya represif bir işaret olabilir [17]. Histon modifiye edici enzimlerinden oluşan ve kod yazarları olarak bilinen birçok aile tanımlanmıştır. Bunlar arasında asetil transferazlar ve metiltransferazlar mevcuttur. Deasetilazlar ve demetilazlar ise siliciler arasında sayılabilir [18, 19].

DNA metilasyonu ile histon modifikasyonu arasında net bir etkileşim (cross talk) oluşmaktadır. Metile DNA, metil CpG bağlayıcı protein-2 (MeCP2) tarafından bağlanır. Bu proteinler histonlardaki transkripsiyonel olarak aktif kromatin sinyalleri olan

asetil gruplarını uzaklaştıran histon deasetilazları (HDAC) ve kromatin yapısının kapanmasına ve transkripsiyonel sessizleştirmeye yol açan ve H3'teki lisin 9'u metile eden SUV39H1 [20] gibi metiltransferazlar (HMT) da içerirler. Ancak güncel çalışmalarında DNMT1'in, HDAC1 ve HDAC2 gibi bazı histon modifiye edici enzimler ve SUV39H1 ve EZH2 [21, 22] gibi metiltransferazlar tarafından kullanılıyor olması kromatin yapısının DNA metilasyon statüsünü de belirleyebileceğini ve bu iki proses arasında iki taraflı bir ilişki olduğunu düşündürmektedir.

2.3 Protein kodlamayan RNA'lar

Protein kodlamayan RNA'lar (ncRNA'lar) gen ekspresyonunun epigenetik regülasyonunda da rol oynamaktadır. ncRNA'lar etkilerini cis veya transda gösterirler. Cis-etkili (cis-acting) ncRNA'lar uzun/makro-ncRNA'lardır (100.000 nt'ye kadar). Trans-etkili (trans-acting) mcRNA'lar ise çoğunlukla degradasyon mRNA'larının 3′ translasyona uğramamış bölgesini hedef alan mikro RNA'lar (miRNA'lar) içerirler [23]. Ancak güncel çalışmalarda insan miRNA'sının aynı zamanda kromatinlerin yeniden biçimlenmesini de indükleyebileceğinin gösterilmiş olması [24, 25], DNA metilasyonu, histon modifikasyonu ve miRNA'ların gen ekspresyonunun regülasyonunda uyum içinde çalıştıklarını düşündürmektedir.

2.4 Epigenetik, Yaşlanma ve Kanser

Gelişim sırasında oluşan epigenetik izler erişkinlik çağında da büyük oranda korunurlar. Ancak yaşlanma dokuya özgü epigenetik kayma, DNMT1 aktivitesinde azalma ve c-Myc ve cN-ras gibi proto-onkogenlerin aktivasyonuna yol açan global genom hipometilasyonu ile ilişkilidir [26]. Ancak yaşlanma ile tümör baskılayıcı gen promotörlerinde hipermetilasyon da görülür [27]. Değişime uğramış epigenetik regülasyon meme, akciğer, prostat ve hematopoetik dokuları da içeren birçok çok kanser türünün gelişimi ile ilişkilidir [28–32]. Örneğin normalde sadece kök hücrelerinde eksprese olan ve pluripotent özelliğin korunmasında önemli rol oynayan Oct-4 ve Sox2, spontan meme kanserinde hipometile olur ve yüksek oranda eksprese edilir [33]. Buna karşın DNA tamirinde hayati rol oynayan ve meme kanserinin kalıtsal formlarında mutasyona uğrayan tümör supresor gen BRCA1 sıklıkla hipermetile olur. Bu durum kötü prognoz ve östrojen reseptörü negatif tümörler ile ilişkilidir [34, 35]. Bu bulgular yaşlanmanın sadece DNA metilasyon kapasitesinin korunmasında progresif bir azalma ile değil aynı zamanda epigenetik proseslerin selektif disregülasyonu ile de ilişkili olduğunu göstermektedir. Bu hedefli hipermetilasyonun altında yatan mekanizma net olarak bilinmemektedir. Metilasyonun heterokromatinden genomun transkripsiyonel olarak aktif bölgelerine atlaması olası mekanizma olarak önerilmiştir. Ancak bu mekanizma, niçin DNA'nın sadece bazı belirli sekanslarının etkilendiğini açıklamamaktadır. Yaşla birlikte oluşan değişimler, erken yaşlarda indüklenen metilasyon düzeylerinin oluşturduğu epi-

genetik altyapı üzerinde etki gösterirler. Böylece gelişim esnasında indüklenen epigenom varyasyonları hayatın ilerleyen dönemlerinde hastalıklara duyarlılık derecelerini etkileyebilir [36].

2.5 Erken Yaşamda Beslenme ve Epigenom

DNA metilasyonu en stabil epigenetik işarettir. Ancak epigenomun hayat sürecinin prenatal, neonatal ve pubertal dönemler gibi spesifik periyotlarındaki birçok çevresel faktörlere duyarlı olduğunu gösteren kanıtlar giderek artmaktadır. Erken yaşamdaki beslenmenin fenotipi nasıl değiştirebileceğini gösteren en iyi örneklerden bir tanesi bal arıları ile yapılan çalışmalardır. Genetik yapıları aynı olmasına rağmen farklı şekillerde beslenen dişi larvalardan ya steril işçi arılar ya da fertil kraliçe arılar gelişir [37]. Ancak DNA metiltransferaz 3 (DNMT3) ekspresyonu sessizleştirilen larvalardan gelişen kraliçe arıların sayısı işçi arı sayısına göre anlamlı olarak artar. Bu bulgu beslenmenin DNA metilasyonunu değiştirmek suretiyle fenotipi anlamlı olarak değiştirebileceğini göstermektedir [37].

Fare yavrularında diyetin DNA metilasyonunu değiştirebileceği gösterilmiştir. Agouti faresindeki tek-karbon metabolizması için metil donör ve kofaktörlerin alımındaki farklılıklar, yavrunun renginde değişimlere yol açmaktadır. Mürin A^{vy} mutasyonu agouti genine yukarı yönlü intrasisternal A-partikülü (IAP) retrotranspozonu eklenmesi ile oluşarak sarı renkli tüy pigmenti üretimini indükler. Gebe farelere betain, kolin, folik asit ve vitamin B12 takviyesi yapılması, agouti geninin metilasyonunda artışa ve yavrunun tüy renginin sarıdan (agouti) kahverengiye (psödo-agouti) dönmesine neden olur [38].

Bazı hayvan modellerinde erken yaşamdaki nütrisyonel programlama anormalliklerinin lipid ve glukoz metabolizmasının birçok önemli regülatörünün epigenetik kontrolünü değişime uğrattığını gösteren kanıtlar da mevcuttur. Örneğin gebe sıçanların proteini kısıtlı diyetle beslenmesinin juvenil ve erişkin yavruların karaciğerindeki GR ve PPARα promotörlerinin hipometilasyonunu indükleyerek, bu genlerin mRNA ekspresyonunda artışa yol açtığı tespit edilmiştir [39, 40]. Ekspresyon artışı aynı zamanda histon H3 ve H4'ün metilasyonları ile lisin K4'deki histon H3'ün asetilasyonlarında da artma ile ilişkilidir [41]. PPARα promotörünün sıralama analizleri dört spesifik CpGs'nin hipometile olduğunu göstermiştir. Ayrıca transkripsiyon faktör cevap elementlerinde bulunan iki CpGs'nin de transkripsiyon düzeyini belirlediği tespit edilmiştir [42]. Bu nedenle kısıtlı protein içeren maternal diyetin etkileri yavrudaki spesifik CpGs'leri hedeflemektedir. Sıçan yavrularının neonatal dönemde aşırı beslenmesinin pro-opiomelanokortin (POMC) promotöründeki iki Cpg dinükleotidinin hipermetilasyonunu indüklediği gösterilmiştir. Bu dinükleotidler leptin ve insüline bağlı POMC indüksiyonu için hayati öneme sahiptir [43]. Bu bulgu hipotalamustaki iştah merkezinin hala gelişmekte olduğu erken postnatal hayatta uygulanan aşırı beslemenin vücut ağırlığı regülasyonunda kritik rol oynayan genlerin metilasyonunu değişime uğratabi-

leceğini göstermektedir. Tüm bulgular bir arada değerlendirildiğinde erken yaşamdaki beslenmenin metabolizma ve iştah kontrolü ile ilişkili genlerin metilasyonundaki uzun süreli değişimleri indükleyerek metabolik hastalıkların gelişim süreçlerinde rol oynayabileceğini göstermektedir.

3 Prenatal Çevre ve Kanser Riski

Erken yaşamdaki etkilerin metabolik hastalıklar ile ilişkilerini araştıran çalışmaların aksine, prenatal ortamın ilerleyen yaşlardaki kanser riski ile ilişkisini araştıran çok daha az sayıda çalışma mevcuttur. Endokrin bozucu ajan dietilstilbesterole (DES) gebelik döneminde maruz kalan annelerin kızlarındaki vajina, serviks ve meme kanseri riski artmaktadır [44]. Prenatal dönemde veya erken çocuklukta iyonize radyasyona maruziyet ile de hayatın ilerleyen dönemlerinde sindirim sistemi ve reprodüktif sistem kanserlerinde artış olmaktadır [45]. Ancak günümüze kadar yapılan çalışmaların çoğu doğum ağırlığı ile sonrasındaki kanser riskine odaklanmıştır. Bu çalışmaların önemli bir bölümünde doğum ağırlığı ile kanser riski arasında doğru orantılı ilişki bulunmuştur; ancak hepatoblastom ve endometrium kanseri ile doğum ağırlığı arasında ise ters orantı tespit edilmiştir [46].

Doğum ağırlığı ile sonrasındaki meme kanseri riskini inceleyen birçok çalışmanın dizaynları birbirinden oldukça farklıdır. Özellikle premenopozal ve postmenopazal çalışmaların birlikte veya ayrı ayrı incelenmesi gibi farklılıklar yanında çalışmalarda yer alan diğer değişkenler, karşılaştırma ve çıkarım yapmayı zorlaştırmaktadır. Ancak 26 yayınlanmış çalışmayı inceleyen güncel bir metaanalizde premenopozal meme kanseri riskinin yüksek doğum ağırlığı ile doğan bireylerde tutarlı şekilde arttığı gösterilmiştir. Aynı ilişki postmenopozal meme kanseri riski için geçerli değildir [47]. Premenopozal meme kanseri riski yönünden yüksek doğum ağırlığı kadınlarla düşük doğum ağırlığı kadınların karşılaştırılması ile ortaya çıkan rölatif risk kohort çalışmaları için 1.20 (CI 0.91-1.19), vaka kontrol çalışmaları için ise 1.36 (CI 0.66-1.64) bulunmuştur. İlginç biçimde doğum ağırlığı ile premenopozal meme kanseri riski arasında J- veya U- şeklinde ilişkili gösteren birkaç çalışma mevcuttur [48– 50]. Bu çalışmalarda 2500 gr'ın altında ve 4000 gr'ın üstünde doğan bebeklerdeki kanser riskinin normal aralıkta doğanlara göre artmış olduğu tespit edilmiştir. Ancak bu çalışmalardaki doğum ağırlığı, çok çeşitli maternal, çevresel ve plasental faktörlerden etkilenebilen intrauterin ortamın çok kaba bir göstergesi olarak kabul edilmelidir [51].

İlerideki kanser riskini önemli bir göstergesi de maternal diyettir. Norveç'te İkinci Dünya Savaşı sırasında gıdaların karne ile dağıtılmasına bağlı kalori alımındaki düşmenin o dönemde doğan veya peripubertal dönemde olan kadınlardaki meme kanseri riskinde azalma ile ilişkili olduğu tespit edilmiştir [52, 53]. Buna karşın, 1944 yılında Hollanda'da görülen kıtlığa (Dutch Hunger Winter) hamilelikleri döneminde maruz kalan annelerin çocuklarında meme kanseri riskinde artış görülmüştür [54, 55]. Çocukluk

çağında kıtlık yaşayan kadınlarda da meme kanseri riskinin arttığı görülmüştür. Norveç ve Hollanda çalışmamalarının sonuçları arasındaki farklar Hollanda'daki kıtlığın ciddiyetinin ya da birden sona ermiş olmasının göstergesi olabilir [54]. Kıtlığın aniden sona ermiş olması ile hızlıca artan gıda tüketimi kanser riskini artıran büyüme faktörlerinin ve hormonların artışına yol açmış olabilir.

Meme kanseri riskini değişime uğratan tek faktör prenatal beslenme değildir. Çalışmalarda emzirilen bebeklerde menopoz öncesi görülen meme kanseri riskinin azalabileceği gösterilmiştir [56]. Anne sütünde bulunan uzun zincirli PUFA olan DHA nöron gelişimi için önemlidir. Ancak hayatın erken dönemlerinde alınan DHA meme bezlerinin gelişimini etkileyerek gelecekteki kanser riskini modifiye edebilir. Hayvanlarda yapılan bazı çalışmalarda n-3 PUFA'nın koruyucu etkiye sahip olduğu ve kanser riskini azalttığının gösterilmiş olması ilginçtir [57]. Erken yaşamdaki büyüme hızı da devamındaki meme kanseri riskinin önemli bir belirleyicisidir. 8-14 yaşları arasındaki hızlı büyüme meme kanseri riskinde artış ile ilişkilidir. Ancak 8,10, 12, 14. yaşlar arasındaki VKİ ise meme kanseri riski ile ters orantılı bulunmuştur [58].

3.1 Kanser Riskinin Nütrisyonel Programlamasında Hayvan Modelleri

Hayvan çalışmaları da erken yaşamdaki beslenmenin ilerleyen yıllardaki meme kanseri riskini etkilediği hipotezini desteklemektedir. Laktasyon sırasında proteini kısıtlı diyet uygulaması ile düşük VKİ olan yavrular doğar. Bu yavrularda erken başlayan N-nitrozo-Nmetilüre (NMU) tarafından indüklenen meme tümörlerinin insidansı kontrol grubundaki anne sıçanlardan elde edilen yavrulara göre iki kat daha yüksektir [59]. Bu yavrularda 3. haftadaki postnatal duktal dallanmanın ve epitelyal invazyonun da azaldığı bulunmuştur. Bunu hızlı kompensatuar meme büyümesi ve insülin reseptörü, ER ve IGF1 ekspresyonların artışının kontrollere kıyasla daha fazla olması takip eder.

Erken yaşamda aşırı beslenmenin de kanser riskinde artış ile ilişkili olduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur. De Assis ve ark. gestasyon esnasında yüksek yağlı (satüre PUFA ve MUFA karışımı) diyetle beslenen dişi sıçanların yavrularının VKİ düzeyleri artmış ve 7,12-dimetilbenz[a]antrasen (DMBA) maruziyetine cevap olarak kontrollere göre anlamlı olarak daha erken meme tümörü gelişimi olmuştur [60]. Yüksek yağlı diyetle beslenen anne sıçanların yavrularının meme bezleri meme tümörlerine yol açabilen daha fazla sayıda terminal uç tomurcuğu (TEB) içermekte olup [61] epitel dansitesi de artmıştır. Bu yavruların meme bezlerinde daha yüksek sayıda prolifere olan hücre, daha yüksek olan pro-sağkalım faktörü AKT ve daha düşük düzeyde ER-α mevcuttur. Yağın tipi ve maruziyetin zamanı da önemlidir. n-6 PUFA yönünden zengin diyetle beslenen gebe sıçanların dişi yavrularında anlamlı olarak daha yüksek meme tümörü insidansı görülmektedir [62, 63]. Tümör insidansındaki artış burada da meme bez yapısındaki değişimler ile ilişkilidir. Daha yüksek miktarda TEB tespit edilmiştir; bu TEB'ler daha uzun süre korunmuş ve alveolar tomurcukların farklılaşma düzeylerini azaltmıştır. Sı-

çanların peripubertal dönemde yüksek n-6 PUFA içeren diyetlerle beslenmesi ile de, sadece postpubertal dönemde yüksek n-6-PUFA içeren diyetlerle beslenenlere göre daha yüksek meme tümörü insidansı görülmüştür [64, 57]. Buna karşın peripubertal dönemde düşük n-6 PUFA içeren diyetlerle beslenen sıçanlarda meme karsinogenezine karşı koruyucu etki tespit edilmiştir. [57]. Düşük n-6 PUFA içeren diyet meme hücrelerini proliferasyonunu azaltıp, apoptozisi artmıştır (özellikle TEB'lerde). DNA hasarının bir markeri olan 8-hidroksi-20 deoksiguanozin düşük n-6 PUFA içeren diyetle beslenen sıçanlarda anlamlı olarak azalmıştır. Ayrıca yüksek yağlı n-6 PUFA içeren diyetlerin balık yağından elde edilen n-3 PUFA ile takviye edildiği gebe sıçanların yavrularındaki meme kanseri riskinin azaldığı gösterilmiştir [65].

Yüksek doğum ağırlığının intrauterin hayattaki östrojen maruziyetinde ve insülinin maternal ve/veya kordon kanı konsantrasyonlarındaki artış ile insülin benzeri büyüme faktörü 1 (IGF1), leptin ve adionektin düzeylerinde yükselme ile ilişkili olduğu tespit edilmiştir. [66–69]. Düşük doğum ağırlığı bireylerde ve yetersiz besleme modellerinde de bu hormonların düzeyinde artış gözlenmiştir [70]. Bu tür hormonların ve büyüme faktörlerinin epigenomun çevresel faktörlere en duyarlı olduğu erken yaşamda artmalarının meme bezlerinin gelişiminde uzun süreli etkileri olması muhtemeldir. Meme bezlerindeki hücre proliferasyon ve apoptoz oranları ile kök hücrelerin sayıları ve farklılaşmalarındaki değişimiler hayatın ilerleyen dönemlerindeki meme kanseri riskini etkiler. Şu ana kadar gebelikte kısıtlı protein veya yüksek yağlı diyetin yol açtığı birçok epigenetik değişim bildirilmiştir. Zheng ve ark. hücre siklüs inhibitörleri olan p16 ve p21'in proteini kısıtlanmış diyet uygulanan sıçanların yavrularının meme bezlerinde sürekli bir biçimde azaldığını tespit etmiştir [71, 72]. p16 ve p21 ekspresyonunda azalma histon 3'teki K4'ün asetilasyon ve demetilasyonunda azalma ile birlikte seyrediyordu. p21 için maternal diyetin DNA metilasyonu üzerindeki etkisi bisülfit sıralaması kullanılarak incelenmiş ancak metilasyonda herhangi bir değişim gözlenmemiştir [72]. Gebelikte yüksek yağlı beslemenin p16'daki epigenetik değişimleri indüklediği gösterilmiştir. Zheng ve ark. histon H4 asetilasyonunda ve HDAC3 bağlanmasında azalma bildirmiştir. Ancak CpGS'lerdeki metilasyonun tek tek ölçümü yerine bir bölge boyunca ölçüm yapan MeDIP yaklaşımı kullanılmış olmasına rağmen DNA metilasyon düzeylerinde bir değişim tespit edilmiştir. [73].

3.2 Mikrobesin Tüketimi

Tek-karbon metabolizmasında rol alan folat, B6 vitamini, B2 vitamini, B12 vitamini ve kolin gibi besin öğelerinin birçok kanser türüne karşı koruma sağladığı çok sayıda insan epidemiyolojik ve hayvan çalışmasında gösterilmiştir. Ancak erişkinlikteki folat tüketimi ile meme kanseri riski arasındaki ilişki karmaşıktır. Hepsinde olmasa bile, çalışmaların bir çoğunda diyetle folat alımı ile meme kanseri riski arasında ters orantılı bir ilişki gösterilmiştir [74]. Ancak ≥400 μg/d dozunda uygulanan folik asit takviyesinin meme kanseri riskinde artışa yol açtığını gösteren çalışmalar da mevcuttur [75]. Son 10 yılda

bazı ülkelerdeki folik asit tüketimi gıdaların folik asit ile zengileştirilmesi, folik asit takviyelerinin tüketimi, nörol tüp defektlerinin önlenmesi amacıyla perikonsepsiyonel folik asit takviyesi kullanımı nedeniyle dramatik olarak artmıştır [76–78]. Bazı çalışmalarda erken yaşamdaki folik asit ve diğer mikrobesinlerin takviyesinin sonrasındaki kanser riski ile ilişkisi araştırılmıştır. Cinsel birleşme öncesi 3. haftadan itibaren ve gebelik ve emzirme boyunca kullanılan folik asit takviyesi uygulanan sıçanların yavrularında, kontrol diyeti uygulananların yavrularına göre anlamlı olarak daha az sayıda TEB oluşmuştur (p=0.014) [79]. TEB'ler meme tümörlerini destekleyen oluşumlar oldukları için, daha az TEB'in tümör eğiliminde azalmaya yol açabileceği düşünülebilir. Ancak çalışmada bu teori test edilmemiştir. Buna karşın Ly ve ark. hem maternal hem de sütten kesme sonrası uygulanan folik asit takviyesinin yavrulardaki meme adenokarsinomlarını, DMBA uygulanması sonrası anlamlı olarak artırdığını bildirmiştir (sırasıyla OR 1/4 2.1, %95 CI 1.2–3.8, P 1/4 0.008 ve OR 1/4 1.9, %95 CI 1.1–3.3, P 1/4 0.03) [80]. Aynı çalışmada uygulanan maternal folik asit takviyesi de yavrulardaki meme adenokarsinomlarının görülmesini anlamlı düzeyde hızlandırmış (p 1/4 0.002) hücrelerin katlanarak büyüme hızlarını artırmıştır (p 1/4 0.008). Bu iki çalışmada folik asit takviyesine verilen cevapların farklı olması, çalışmalardan birinde karsinojenik ajanlara maruz kalınmayan uzun latent periyodlar mevcutken, diğer çalışmada DMBA gibi ajanlara maruziyetin meme tümörlerini indüklemesinden kaynaklanıyor olabilir. Mikrobesinler, nükleotid ve/veya S-adenozil metionin (SAM - DNA'yı da içeren hemen tüm metilasyon reaksiyonlarının üniversal donörü) sentezi için gereken tek-karbonlu segmentleri sağlayarak karsinogenez üzerinde etki gösteriyor olabilirler. Ly ve ark. maternal (sütten kesme sonrasını içermeyen) folik asit takviyesinin yavruların non-neoplastik meme bezlerindeki global DNA metilasyonunu anlamlı olarak azalttığını bildirmiştir (p=0.03). Ancak sütten kesme sonrası folik asit uygulanmasının DNA metiltransferaz aktivitesini anlamlı olarak azalttığını tespit etmişlerdir (p=0.05) [81, 80]. Bu bulgular epigenetik prosesin kanseri riskini belirlemede önemli bir rol oynayabileceğini önermektedir.

3.3 Epigenetik Biyomarkerlerin Tanımlanması

Kanser riski hayat boyunca maruz kalınan olayların bir göstergesi ise, hücre transformasyonu ile ilişkili epigenetik değişimler klinik hastalığın başlamasından yıllar önce mevcut olabilirler [82]. Bu nedenle hastalığın belirgin semptomları ortaya çıkmadan önce epigenetik değişimlerin tespit edilmesi ile yüksek risk altındaki bireylerin belirlenmesi mümkün olabilir. İnsanlarda kolayca test etmeye müsait olan dokular kan, bukkal, göbek bağı ya da plasentadır. Gen metilasyonlarındaki dokuya özel farklılıklar gayet net olarak dokümante edilmiştir. Ancak Talens ve ark. kanda ölçülen metilasyon düzeylerinin, bukkal hücrelerinde ölçülen aday lokusların yarısındaki metilasyon düzeylerine eşit olduğunu, bu hücrelerin farklı germ tabakalarından (sırasıyla mezoderm ve ektoderm) kaynaklandığı gerçeğine rağmen yakın zamanda bildirmiştir [83]. Godrey ve ark. da güncel bir yayınlarında iki farklı kohortta göbek bağındaki transkripsiyon faktörü olan

RXRα'nın promotör alanındaki tek bir CpG bölgesindeki metilasyon düzeylerinin, hem erkek hem de kızlarda çocukluk çağındaki adipozite derecesiyle güçlü bir ilişkisi olduğunu bildirmişlerdir [84]; RXRα promotör metilasyonunun çocukluk çağındaki yağ kütlesi varyasyonunun beşte birinden fazlasını açıklayabiliyor olması, epigenetik değişimlerin bir bireyin bulaşıcı olmayan hastalıklara yakalanma riskinde daha önce tahmin edilenden çok daha büyük rol oynadığını düşündürmektedir. Bu gözlem göbek bağındaki veya diğer hemen test edilebilen dokulardaki metilasyon düzeylerinin metabolik olarak daha ilişkili dokulardaki metilasyonu temsil eden markerler olarak kullanılabilme ihtimalini ortaya koymaktadır. Bunun mümkün olması çevresel problemin ne zaman ortaya çıktığına bağlı olsa da, erken gelişim basamaklarındaki bu tür bir problemin muhtemelen tüm germ tabakalarını etkileyerek değiştirdiği epigenetik işaretlerin izinin dokularda tespit edilmesi mümkün olabilir. Gestasyonun ileri evrelerinde oluşan maruziyetlerin ise sadece dokuya özgü etkilerinin olması muhtemeldir.

Brennan ve ark. prediagnostik kan örneklerindeki periferik kan DNA'sındaki ATM geni içindeki intragenik bir bölgenin metilasyonunun meme kanseri riskinde artış ile ilişkili olduğunu güncel bir makalelerinde bildirmişlerdir [85]. Kan alımından teşhise kadar geçen 1 ila 11 aylık süre ile ATM metilasyon düzeyi arasında bir ilişki tespit edilememiş olması, bu ilişkinin preklinik hastalık varlığı ile açıklanamayacağını göstermektedir. ATM metilasyon bölgesinin zaman içinde stabilitesini korumuş olması, periferik kandaki ATM hipermetilasyonunun predispozisyonun stabil bir markeri olduğunu düşündürmektedir. Wong ve ark. periferik kandaki BRAC1 metilasyonunun, BRCA1 mutasyonu ile ilişkili patolojiye sahip erken başlangıçlı meme kanseri riskini 3.5 kat (%95 CI, 1.4-10.5) artırdığını bildirmiştir [86]. Periferik kanda tespit edilebilen BRCA1 metilasyonunun da tümör içindeki BRCA1 promotörünün yüksek metilasyonu ile ilişkili olduğunun bulunmuş olması, yapısal BRCA1 metilasyonunun BRCA1 hipermetile tümörlerin gelişime karşı olan duyarlılığı artırdığını bildirmiştir [86]. Ancak ATM veya BRCA1'de görülen metilasyon değişimlerinin epigenomun değişime en duyarlı olduğu erken yaşamda meydana gelip gelmediği konusu açıklığa kavuşturulmayı beklemektedir. Buna rağmen, elimizdeki bulgular periferik kandaki epigenetik işaretlerin yaşamın ilerleyen dönemlerindeki hastalık riskini tahmin etmede kullanışlı biyomarkerler olabileceğini düşündürmektedir. Ayrıca, yeni geliştirilen yüksek kapasiteli tüm genomu kapsayan metilasyon analizleri ile kanda yüksek meme kanseri duyarlılığı ile ilgili epigenetik işaretlerin tanımlanmasını sağlayacak tüm epigenomu kapsayan ilişkilendirme çalışmaları (EWAS) yapabilmek artık mümkün olacaktır. Bu tür değişimlerin altında yatan mekanizmalar ile ilgili hala cevaplanmayı bekleyen birçok soru mevcuttur. Örneğin bu tür değişimleri indükleyebilen nütrisyonel faktörlerin veya bu tür değişimlere duyarlılık veya stabilite periodlarının zamanları gibi sorular mevcuttur. Bu proseslerin anlaşılması hem hastalık riski ile ilişkili efektif markerlerin geliştirilmesini hem de meme kanseri riskinin azaltılabilmesinde kullanılacak girişimsel hedeflerin belirlenebilmesini sağlayacaktır.

4 Sonuçlar

Geleneksel olarak genetik değişimlerin kansere neden olduğu kabul edilmektedir. Ancak, günümüzde erken yaşamda maruz kalınan çevrenin kalitesindeki varyasyonların genlerin epigenetik regülasyonunu değiştirerek gelecekteki kanser riskini etkilemesi hakkında hatırı sayılır kanıtlar mevcuttur. Erken yaşamdaki meme kanseri gelişiminin indüklenmesinde genlerin epigenetik regülasyonlarındaki değişimlerin rolünün ve potansiyel biyomarkerlerin tanımlanması, uzun süreli meme kanseri riskini modifiye edebilecek nütrisyonel veya farmakolojik girişimlerin geliştirilebilme ihtimalini ortaya koymaktadır.

Referanslar

1. Barker DJ, Osmond C (1986) Infant mortality, childhood nutrition, and ischaemic heart disease in England and Wales. Lancet 1:1077–1081
2. Godfrey KM, Barker DJ (2001) Fetal programming and adult health. Public Health Nutr 4:611–624
3. Bertram CE, Hanson MA (2001) Animal models and programming of the metabolic syndrome. Br Med Bull 60:103–121
4. Gluckman PD, Hanson MA, Spencer HG (2005) Predictive adaptive responses and human evolution. Trends Ecol Evol 20:527–533
5. Cox GF, Burger J, Lip V, Mau UA, Sperling K, Wu BL, Horsthemke B (2002) Intracytoplasmic sperm injection may increase the risk of imprinting defects. Am J Hum Genet 71:162–164
6. DeBaun MR, Niemitz EL, Feinberg AP (2003) Association of in vitro fertilization with Beckwith-Wiedemann syndrome and epigenetic alterations of LIT1 and H19. Am J Hum Genet 72:156–160
7. Bird A (2002) DNA methylation patterns and epigenetic memory. Genes Dev 16:6–21
8. Bird AP (1986) CpG-rich islands and the function of DNA methylation. Nature 321:209–213
9. Reik W, Dean W (2001) DNA methylation and mammalian epigenetics. Electrophoresis 22:2838–2843
10. Li E, Beard C, Jaenisch R (1993) Role for DNA methylation in genomic imprinting. Nature 366:362–365
11. Walsh CP, Chaillet JR, Bestor TH (1998) Transcription of IAP endogenous retroviruses is constrained by cytosine methylation. Nat Genet 20:116–117
12. Waterland RA, Jirtle RL (2003) Transposable elements: targets for early nutritional effects on epigenetic gene regulation. Mol Cell Biol 23:5293–5300
13. Bird A (2001) Molecular biology. Methylation talk between histones and DNA. Science 294:2113–2115
14. Reik W, Walter J (2001) Genomic imprinting: parental influence on the genome. Nat Rev Genet 2:21–32
15. Yoder JA, Soman NS, Verdine GL, Bestor TH (1997) DNA (cytosine-5)-methyltransferases in mouse cells and tissues. Studies with a mechanism-based probe. J Mol Biol 270:385–395
16. Reik W, Dean W, Walter J (2001) Epigenetic reprogramming in mammalian development. Science 293:1089–1093
17. Turner BM (2000) Histone acetylation and an epigenetic code. BioEssays 22:836–845
18. Brenner C, Fuks F (2007) A methylation rendezvous: reader meets writers. Dev Cell 12:843–844

19. Yun M, Wu J, Workman JL, Li B (2011) Readers of histone modifications. Cell Res 21:564–578
20. Nakayama J, Rice JC, Strahl BD, Allis CD, Grewal SI (2001) Role of histone H3 lysine 9 methylation in epigenetic control of heterochromatin assembly. Science 292:110–113
21. Rountree MR, Bachman KE, Baylin SB (2000) DNMT1 binds HDAC2 and a new co-repressor, DMAP1, to form a complex at replication foci. Nat Genet 25:269–277
22. Vire E, Brenner C, Deplus R, Blanchon L, Fraga M, Didelot C, Morey L, Van EA, Bernard D, Vanderwinden JM, Bollen M, Esteller M, Di CL, de LY, Fuks F (2006) The polycomb group protein EZH2 directly controls DNA methylation. Nature 439:871–874
23. Siomi H, Siomi MC (2009) On the road to reading the RNA-interference code. Nature 457:396–404
24. Kim DH, Saetrom P, Snove O Jr, Rossi JJ (2008) MicroRNA-directed transcriptional gene silencing in mammalian cells. Proc Natl Acad Sci USA 105:16230–16235
25. Bayne EH, Allshire RC (2005) RNA-directed transcriptional gene silencing in mammals. Trends Genet 21:370–373
26. Lopatina N, Haskell JF, Andrews LG, Poole JC, Saldanha S, Tollefsbol T (2002) Differential maintenance and de novo methylating activity by three DNA methyltransferases in aging and immortalized fibroblasts. J Cell Biochem 84:324–334
27. Richardson B (2003) Impact of aging on DNA methylation. Ageing Res Rev 2:245–261
28. Liu L, Wylie RC, Andrews LG, Tollefsbol TO (2003) Aging, cancer and nutrition: the DNA methylation connection. Mech Ageing Dev 124:989–998
29. Zhu J (2006) DNA methylation and hepatocellular carcinoma. J Hepatobiliary Pancreat Surg 13:265–273
30. Galm O, Herman JG, Baylin SB (2006) The fundamental role of epigenetics in hematopoietic malignancies. Blood Rev 20:1–13
31. Szyf M (2006) Targeting DNA methylation in cancer. Bull Cancer 93:961–972
32. Szyf M, Pakneshan P, Rabbani SA (2004) DNA methylation and breast cancer. Biochem Pharmacol 68:1187–1197
33. Bloushtain-Qimron N, Yao J, Shipitsin M, Maruyama R, Polyak K (2009) Epigenetic patterns of embryonic and adult stem cells. Cell Cycle 8:809–817
34. Xu X, Gammon MD, Zhang Y, Bestor TH, Zeisel SH, Wetmur JG, Wallenstein S, Bradshaw PT, Garbowski G, Teitelbaum SL, Neugut AI, Santella RM, Chen J (2009) BRCA1 promoter methylation is associated with increased mortality among women with breast cancer. Breast Cancer Res Treat 115:397–404
35. Xu X, Gammon MD, Zhang Y, Cho YH, Wetmur JG, Bradshaw PT, Garbowski G, Hibshoosh H, Teitelbaum SL, Neugut AI, Santella RM, Chen J (2010) Gene promoter methylation is associated with increased mortality among women with breast cancer. Breast Cancer Res Treat 121:685–692
36. Waterland RA, Jirtle RL (2004) Early nutrition, epigenetic changes at transposons and imprinted genes, and enhanced susceptibility to adult chronic diseases. Nutrition 20:63–68
37. Kucharski R, Maleszka J, Foret S, Maleszka R (2008) Nutritional control of reproductive status in honeybees via DNA methylation. Science 319:1827–1830
38. Wolff GL, Kodell RL, Moore SR, Cooney CA (1998) Maternal epigenetics and methyl supplements affect agouti gene expression in Avy/a mice. FASEB J 12:949–957
39. Burdge GC, Slater-Jefferies J, Torrens C, Phillips ES, Hanson MA, Lillycrop KA (2007) Dietary protein restriction of pregnant rats in the F0 generation induces altered methylation of hepatic gene promoters in the adult male offspring in the F1 and F2 generations. Br J Nutr 97:435–439
40. Lillycrop KA, Phillips ES, Jackson AA, Hanson MA, Burdge GC (2006) Dietary protein restriction in the pregnant rat induces altered epigenetic regulation of the glucocorticoid receptor and peroxisomal proliferator-activated receptor alpha in the heart of the offspring which is prevented by folic acid. Proc Nutr Soc 65:65A

41. Lillycrop KA, Slater-Jefferies JL, Hanson MA, Godfrey KM, Jackson AA, Burdge GC (2007) Induction of altered epigenetic regulation of the hepatic glucocorticoid receptor in the offspring of rats fed a protein-restricted diet during pregnancy suggests that reduced DNA methyltransferase-1 expression is involved in impaired DNA methylation and changes in histone modifications. Br J Nutr 97:1064–1073
42. Lillycrop KA, Phillips ES, Torrens C, Hanson MA, Jackson AA, Burdge GC (2008) Feeding pregnant rats a protein-restricted diet persistently alters the methylation of specific cytosines in the hepatic PPARalpha promoter of the offspring. Br J Nutr 100:278–282
43. Plagemann A, Harder T, Brunn M, Harder A, Roepke K, Wittrock-Staar M, Ziska T, Schellong K, Rodekamp E, Melchior K, Dudenhausen JW (2009) Hypothalamic proopiomelanocortin promoter methylation becomes altered by early overfeeding: an epigenetic model of obesity and the metabolic syndrome. J Physiol 587:4963–4976
44. Herbst AL, Ulfelder H, Poskanzer DC (1971) Adenocarcinoma of the vagina. Association of maternal stilbestrol therapy with tumor appearance in young women. N Engl J Med 284:878–881
45. Preston DL, Cullings H, Suyama A, Funamoto S, Nishi N, Soda M, Mabuchi K, Kodama K, Kasagi F, Shore RE (2008) Solid cancer incidence in atomic bomb survivors exposed in utero or as young children. J Natl Cancer Inst 100:428–436
46. McCormack VA, dos Santos Silva I, Koupil I, Leon DA, Lithell HO (2005) Birth characteristics and adult cancer incidence: Swedish cohort of over 11,000 men and women. Int J Cancer 115:611–617
47. Michels KB, Xue F (2006) Role of birthweight in the etiology of breast cancer. Int J Cancer 119:2007–2025
48. Innes K, Byers T, Schymura M (2000) Birth characteristics and subsequent risk for breast cancer in very young women. Am J Epidemiol 152:1121–1128
49. Mellemkjaer L, Olsen ML, Sorensen HT, Thulstrup AM, Olsen J, Olsen JH (2003) Birth weight and risk of early-onset breast cancer (Denmark). Cancer Causes Control 14:61–64
50. Sanderson M, Shu XO, Jin F, Dai Q, Ruan Z, Gao YT, Zheng W (2002) Weight at birth and adolescence and premenopausal breast cancer risk in a low-risk population. Br J Cancer 86:84–88
51. Gluckman PD, Hanson MA, Cooper C, Thornburg KL (2008) Effect of in utero and early-life conditions on adult health and disease. N Engl J Med 359:61–73
52. Tretli S, Gaard M (1996) Lifestyle changes during adolescence and risk of breast cancer: an ecologic study of the effect of World War II in Norway. Cancer Causes Control 7:507–512
53. Robsahm TE, Tretli S (2002) Breast cancer incidence in food- vs non-food-producing areas in Norway: possible beneficial effects of World War II. Br J Cancer 86:362–366
54. Elias SG, Peeters PH, Grobbee DE, van Noord PA (2004) Breast cancer risk after caloric restriction during the 1944–1945 Dutch famine. J Natl Cancer Inst 96:539–546
55. Painter RC, De Rooij SR, Bossuyt PM, Osmond C, Barker DJ, Bleker OP, Roseboom TJ (2006) A possible link between prenatal exposure to famine and breast cancer: a preliminary study. Am J Hum Biol 18:853–856
56. Potischman N, Troisi R (1999) In-utero and early life exposures in relation to risk of breast cancer. Cancer Causes Control 10:561–573
57. Olivo SE, Hilakivi-Clarke L (2005) Opposing effects of prepubertal low- and high-fat n-3 polyunsaturated fatty acid diets on rat mammary tumorigenesis. Carcinogenesis 26:1563–1572
58. Huang Z, Hankinson SE, Colditz GA, Stampfer MJ, Hunter DJ, Manson JE, Hennekens CH, Rosner B, Speizer FE, Willett WC (1997) Dual effects of weight and weight gain on breast cancer risk. JAMA 278:1407–1411
59. Fernandez-Twinn DS, Ozanne SE (2010) Early life nutrition and metabolic programming. Ann NY Acad Sci 1212:78–96
60. De AS, Khan G, Hilakivi-Clarke L (2006) High birth weight increases mammary tumorigenesis in rats. Int J Cancer 119:1537–1546

61. Hilakivi-Clarke L, Shajahan A, Yu B, De AS (2006) Differentiation of mammary gland as a mechanism to reduce breast cancer risk. J Nutr 136:2697S–2699S
62. Hilakivi-Clarke L, Clarke R, Onojafe I, Raygada M, Cho E, Lippman M (1997) A maternal diet high in n–6 polyunsaturated fats alters mammary gland development, puberty onset, and breast cancer risk among female rat offspring. Proc Natl Acad Sci USA 94:9372–9377
63. Hilakivi-Clarke L, Clarke R, Lippman M (1999) The influence of maternal diet on breast cancer risk among female offspring. Nutrition 15:392–401
64. Lo CY, Hsieh PH, Chen HF, Su HM (2009) A maternal high-fat diet during pregnancy in rats results in a greater risk of carcinogen-induced mammary tumors in the female offspring than exposure to a high-fat diet in postnatal life. Int J Cancer 125:767–773
65. Su HM, Hsieh PH, Chen HF (2010) A maternal high n-6 fat diet with fish oil supplementation during pregnancy and lactation in rats decreases breast cancer risk in the female offspring. J Nutr Biochem 21:1033–1037
66. Delvaux T, Buekens P, Thoumsin H, Dramaix M, Collette J (2003) Cord C-peptide and insulin-like growth factor-I, birth weight, and placenta weight among North African and Belgian neonates. Am J Obstet Gynecol 189:1779–1784
67. Sivan E, Mazaki-Tovi S, Pariente C, Efraty Y, Schiff E, Hemi R, Kanety H (2003) Adiponectin in human cord blood: relation to fetal birth weight and gender. J Clin Endocrinol Metab 88:5656–5660
68. Troisi R, Potischman N, Roberts J, Siiteri P, Daftary A, Sims C, Hoover RN (2003) Associations of maternal and umbilical cord hormone concentrations with maternal, gestational and neonatal factors (United States). Cancer Causes Control 14:347–355
69. Vatten LJ, Nilsen TI, Tretli S, Trichopoulos D, Romundstad PR (2005) Size at birth and risk of breast cancer: prospective population-based study. Int J Cancer 114:461–464
70. Park CS (2005) Role of compensatory mammary growth in epigenetic control of gene expression. FASEB J 19:1586–1591
71. Zheng S, Pan YX (2011) Histone modifications, not DNA methylation, cause transcriptional repression of p16 (CDKN2A) in the mammary glands of offspring of protein-restricted rats. J Nutr Biochem 22:567–573
72. Zheng S, Rollet M, Yang K, Pan YX (2011) A gestational low-protein diet represses p21WAF1/Cip1 expression in the mammary gland of offspring rats through promoter histone modifications. Br J Nutr 1–10
73. Zheng S, Li Q, Zhang Y, Balluff Z, Pan YX (2012) Histone deacetylase 3 (HDAC3) participates in the transcriptional repression of the p16 (INK4a) gene in mammary gland of the female rat offspring exposed to an early-life high-fat diet. Epigenetics 7:183–190
74. Larsson SC, Giovannucci E, Wolk A (2007) Folate and risk of breast cancer: a meta-analysis. J Natl Cancer Inst 99:64–76
75. Stolzenberg-Solomon RZ, Chang SC, Leitzmann MF, Johnson KA, Johnson C, Buys SS, Hoover RN, Ziegler RG (2006) Folate intake, alcohol use, and postmenopausal breast cancer risk in the prostate, lung, colorectal, and ovarian cancer screening trial. Am J Clin Nutr 83:895–904
76. Pfeiffer CM, Johnson CL, Jain RB, Yetley EA, Picciano MF, Rader JI, Fisher KD, Mulinare J, Osterloh JD (2007) Trends in blood folate and vitamin B-12 concentrations in the United States, 1988 2004. Am J Clin Nutr 86:718–727
77. Radimer K, Bindewald B, Hughes J, Ervin B, Swanson C, Picciano MF (2004) Dietary supplement use by US adults: data from the National health and nutrition examination survey, 1999–2000. Am J Epidemiol 160:339–349
78. Wilson RD, Johnson JA, Wyatt P, Allen V, Gagnon A, Langlois S, Blight C, Audibert F, Desilets V, Brock JA, Koren G, Goh YI, Nguyen P, Kapur B (2007) Pre-conceptional vitamin/folic acid supplementation 2007: the use of folic acid in combination with a multivitamin supplement for the prevention of neural tube defects and other congenital anomalies. J Obstet Gynaecol Can 29:1003–1026

79. Sie KK, Chen J, Sohn KJ, Croxford R, Thompson LU, Kim YI (2009) Folic acid supplementation provided in utero and during lactation reduces the number of terminal end buds of the developing mammary glands in the offspring. Cancer Lett 280:72–77
80. Ly A, Lee H, Chen J, Sie KK, Renlund R, Medline A, Sohn KJ, Croxford R, Thompson LU, Kim YI (2011) Effect of maternal and postweaning folic acid supplementation on mammary tumor risk in the offspring. Cancer Res 71:988–997
81. Korotkova M, Gabrielsson BG, Holmang A, Larsson BM, Hanson LA, Strandvik B (2005) Gender-related long-term effects in adult rats by perinatal dietary ratio of n-6/n-3 fatty acids. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol 288:R575–R579
82. Burdge GC, Lillycrop KA, Jackson AA (2009) Nutrition in early life, and risk of cancer and metabolic disease: alternative endings in an epigenetic tale? Br J Nutr 101:619–630
83. Talens RP, Boomsma DI, Tobi EW, Kremer D, Jukema JW, Willemsen G, Putter H, Slagboom PE, Heijmans BT (2010) Variation, patterns, and temporal stability of DNA methylation: considerations for epigenetic epidemiology. FASEB J 24:3135–3144
84. Godfrey KM, Sheppard A, Gluckman PD, Lillycrop KA, Burdge GC, McLean C, Rodford J, Slater-Jefferies JL, Garratt E, Crozier SR, Emerald BS, Gale CR, Inskip HM, Cooper C, Hanson MA (2011) Epigenetic gene promoter methylation at birth is associated with child's later adiposity. Diabetes 60:1528–1534
85. Brennan K, Garcia-Closas M, Orr N, Fletcher O, Jones M, Ashworth A, Swerdlow A, Thorne H, Riboli E, Vineis P, Dorronsoro M, Clavel-Chapelon F, Panico S, Onland-Moret NC, Trichopoulos D, Kaaks R, Khaw KT, Brown R, Flanagan JM (2012) Intragenic ATM methylation in peripheral blood DNA as a biomarker of breast cancer risk. Cancer Res 72:2304–2313
86. Wong EM, Southey MC, Fox SB, Brown MA, Dowty JG, Jenkins MA, Giles GG, Hopper JL, Dobrovic A (2011) Constitutional methylation of the BRCA1 promoter is specifically associated with BRCA1 mutation-associated pathology in early-onset breast cancer. Cancer Prev Res (Phila) 4:23–33

Meme Kanserinde Zeytinyağı ve Diğer Diyet Lipidleri

Eduard Escrich, Montserrat Solanas ve Raquel Moral

Özet

Meme kanseri dünyada kadınlar arasında en sık görülen malign neoplazidir. Genetik ve endokrin faktörlere ek olarak, çevre ve özellikle de nütrisyonel faktörler etyolojisinde önemli rol oynamaktadır. Epidemiyolojik ve özellikle de deneysel çalışmalarda diyet yağı ve meme kanseri arasındaki bağlantı gösterilmiştir. Akdeniz diyetindeki ana yağ kaynağı olan ve meme kanseri gibi kronik hastalıklardaki düşü mortalite insidansı ile ilişkili olan natürel sızma zeytinyağının (NSZY) potansiyel kemopreventif etkisi ile ilgili bol miktarda veri mevcuttur. Başlıca deneysel modellerde gerçekleştirdiğimiz çalışmalarda, diyet lipidlerinin meme karsinogenezi üzerindeki farklı modüle edici etkilerini gösterdik. n-6 poliansatüre yağ asitleri (PUFA) yönünden zengin diyetler meme kanseri gelişimini net bir şekilde stimüle ederken, NSZY yönünden zengin diyetler ise negatif modüle edici etki gösterirler. Burada rol oynayan spesifik mekanizmalar tam olarak anlaşılmamıştır. Ancak günümüzde çok sayıda ve kompleks mekanizmanın rol oynadığı kabul edilmektedir. Çalışma grubumuz bu alandaki bilgi düzeyinin artmasına diyet lipidlerinin hücre membranlarının yapı ve fonksiyonlarındaki etkilerini, hücre sinyal dönüştürme yolaklarının modülasyonunu, gen ekspresyonu, büyüme ve cinsel olgunluğun regülasyonunu göstererek katkı yapmıştır.

Anahtar Kelimeler

Meme kanseri • Diyet lipidleri • NSZY • Deneysel meme kanseri • n-6 PUFA Zeytinyağı • Mısır yağı

E. Escrich (✉) · M. Solanas · R. Moral
Department of Cell Biology, Physiology and Immunology, Physiology Unit, Medicine School, Universitat Autnoma de Barcelona, Bellaterra, 08193, Barcelona, Spain
e-mail: Eduard.Escrich@uab.es

V. Zappia et al. (eds.), *Advances in Nutrition and Cancer,*
Cancer Treatment and Research 159, DOI: 10.1007/978-3-642-38007-5_17,
© Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2014

Kısaltmalar

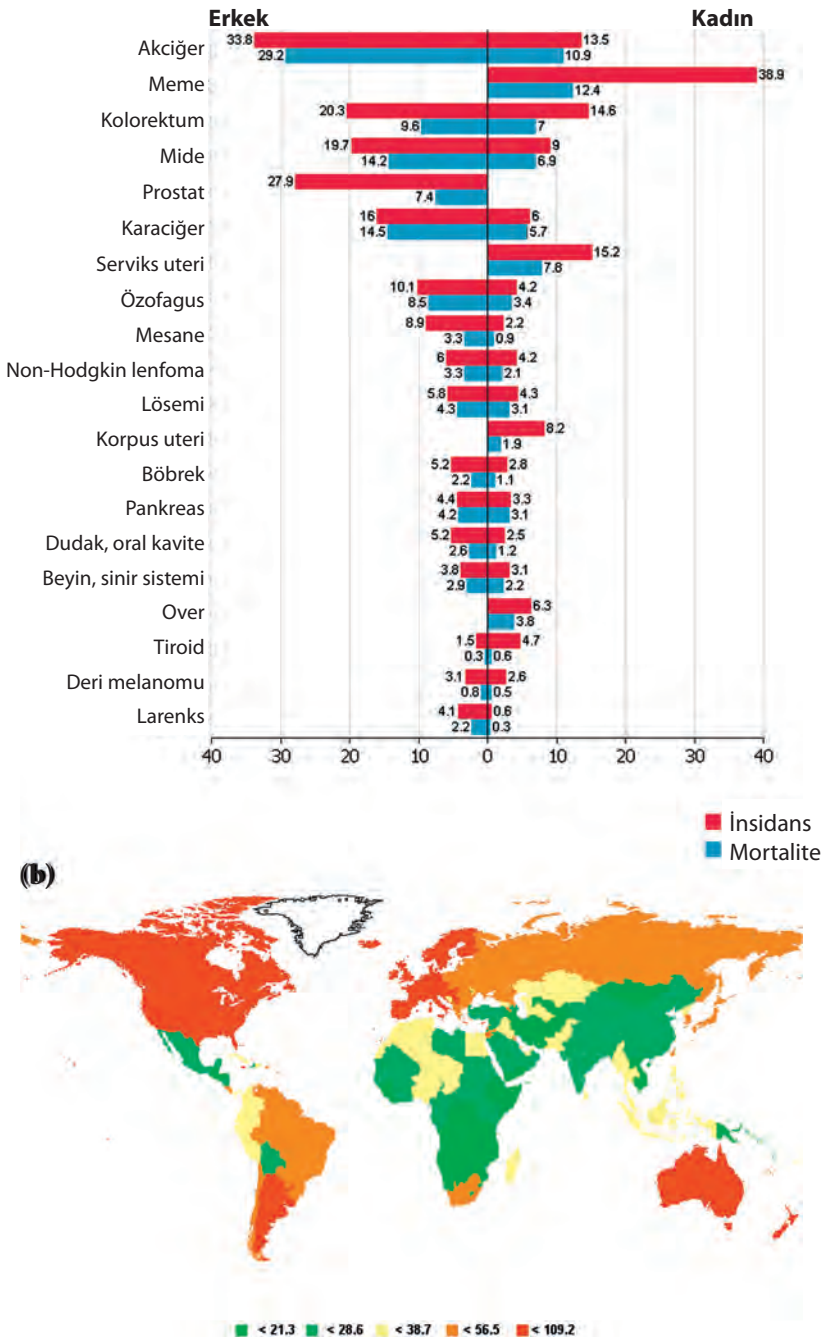
PUFA	Poliansatüre yağ asitleri
MUFA	Monoansatüre yağ asitleri
OA	Oleik asit
NSZY	Natürel sızma zeytinyağı
DMBA	Dimetil-benz(α)antrasen
HCO	Yüksek mısır yağı
LA	Linoleik asit
FFA	Serbest yağ asitleri
PCNA	Prolifere hücre nükleer antijeni
CPT I	Karnitin palmitoltransferaz I
PPAR	Peroksizom proliferatör reseptörü
VDUP1	Vitamin D3-yukarı regüle protein 1
IGF	İnsülin benzeri büyüme faktörü

İçindekiler

1 Giriş 290
2 Meme Karsinogenezinde Diyet Lipidlerinin Etkisi ile İlgili Deneysel Kanıtlar 293
3 Diyet Lipidlerinin Meme Adenokarsinomlarının Morfolojik Malignitesi Üzerindeki Etkileri 295
4 Meme Kanserinde Diyet Lipidlerinin Etki Mekanizması 297
4.1 Hormonal Statünün Değişimi 297
4.2 Hücre Membranının Yapı ve Fonksiyonunun Modifikasyonu 299
4.3 Sinyal Dönüştürücü Yolaklar Üzerindeki Etki 299
4.4 Gen Ekspresyonu Üzerindeki Etki 301
4.5 Büyüme ve Cinsel Olgunluk Üzerindeki Etki 302
5 Sonuçlar 304
Referanslar 305

1 Giriş

Meme kanseri dünyada kadınlar arasında büyük farkla en sık görülen kanser türüdür (tüm kanserlerin %22.9'u). Daha sonra kolorektal kanser (%9.4) ile serviks ve uterus kanserleri (%8.8) gelmektedir. Hem gelişmiş hem de gelişmemekte olan ülkelerde kansere bağlı en sık ölüm nedenini oluşturur (Şekil 1a) [1]. Meme kanserinin etyolojisi multifaktöryeldir. Başlıca genetik, epigenetik ve endokrin faktörler rol oynar [2, 3]. Ancak neoplazilerin insidans oranları coğrafi bölgelere göre farklılıklar gösterir. En sık olarak

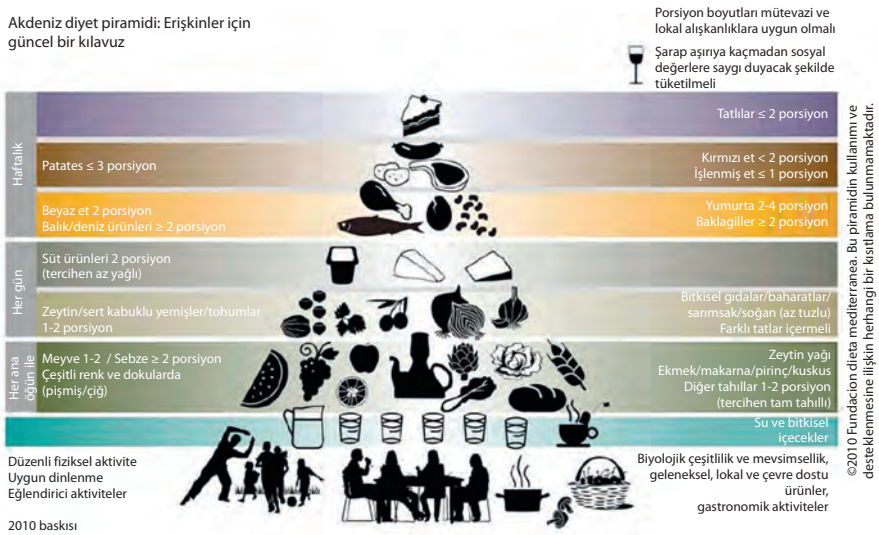


Şekil 1 **a** Dünyada cinsiyete ve kanser tipine göre (yaşa göre standardize edilmiş) insidans ve mortalite oranları (1/100.000). **b** Meme kanserinin yaşa göre standardize edilmiş insidans oranları (1/100.000) [4].

dünyanın gelişmiş bölgelerinde (Japonya hariç) görülür. En düşük insidanslara da çoğunlukla gelişmekte olan bölgelerde rastlanmaktadır (Şekil 1b) [1, 4]. Bu bulgu meme kanseri gelişiminde çevresel faktörlerin de rol oynadığını göstermektedir. Aralarında en önemlisinin nütrisyonel faktörler olmasının ilk nedeni bir toplumun diyet alışkanlıkları nedeniyle sürekli olarak maruz kaldığı veya eksikliğini çektiği gıdaların varlığıdır. İkinci neden ise bu faktörleri baz alarak koruyucu önlemlerin alınabilme ihtimalidir [5].

Meme kanseri ile ilişkili çok sayıda diyet faktörü arasında bulunan lipidler, en önemlilerinden biri olarak kabul edilmektedir. Diyet lipidleri ile meme, kolorektum ve prostat kanseri gibi belirli kanser tipleri arasındaki ilişki epidemiyoloji ve özellikle de deneysel çalışmalarda tespit edilmiştir Diyetle alınan yağ ile meme kanseri riski arasındaki ilişkiyi destekleyen ile epidemiyolojik destek ekolojik çalışmalardan (korelasyonel ve göçmenlerle ilgili) gelmiştir. Buna karşın analitik epidemiyoloji çalışmalarında (vaka kontrol ve prospektif çalışmalar) elde edilen bazı veriler tutarsızdır. Bu çalışmaların tamamı anlamlı bir ilişki varlığını desteklememektedir. Total ve satüre yağ tüketimi ile meme kanseri arasında pozitif bir ilişki olduğu tespit edilmiş görünmektedir. Ancak spesifik yağ alt tipleri ile ilgili ilişkiler daha az tutarlıdır [9–13]. Bizim çalışma grubumuzun yaptıklarını da kapsayan deneysel çalışmalar diyet lipidleri ile meme kanseri arasındaki ilişki hakkında önemli bilimsel kanıtlara imza atmıştır. Bu nedenle yağdan zengin diyetlerin stimülan etkilerine ek olarak, özel lipid tiplerinin meme kanseri üzerinde farklı modüle edici etkileri mevcuttur: Stimüle edici satüre yağlar başlıca hayvansal kaynaklıdır. Ancak n-6 pan yağ asitleri (PUFA) ise bitkisel kaynaklı olup sıklıkla yağlı tohumlardan elde edilen yağlarda mevcuttur. n-3 PUFA inhibitörleri ise sebzelerde ve özellikle deniz kaynaklı gıdalarda mevcuttur. Monoansatüre yağ asitlerinden (MUFA) olan oleik asit (OA) zeytinyağında yüksek miktarda mevcuttur. Kemopreventif etkisi ile ilişkili kanıtlar artmakta olsa da çelişkili sonuçlar da mevcuttur. Tümör büyümesi üzerindeki etkileri ile ilgili çelişkili sonuçlar stimüle etmeyici, hafif stimüle edici veya stimüle edici olabileceğini bildirmektedir [7, 14–17].

Akdeniz ülkelerindeki kardiyovasküler hastalıklar ve meme kanserini de içeren bazı kanser türleri gibi kronik hastalıkların insidans ve mortalitelerinin diğer Batı ülkeleri ile kıyaslandığında daha düşük olduğunu gösteren çok miktarda veri nedeniyle, Akdeniz diyetinin majör yağ kaynağı olan zeytinyağı ciddi bir ilgi kaynağı olmuştur. Akdeniz diyeti, Akdeniz'in farklı bölgelerinde çeşitli beslenme paternlerine sahiptir ve bitkisel (meyve, sebze, tahıllar, tohumlar ve sert kabuklu yemişler), süt ürünleri, balık ve zeytinyağı gibi besinlerin çok miktarda tüketimi ile karakterizedir [18] (Şekil 2). NSZY (natürel sızma sızan zeytinyağı) OA (%72-74) yönünden zengin olmasına ek olarak, skualen, fenolik antioksidanlar (hidroksitirozol, tirozol ve oleuropein), sekoiridoidler (oleuropein ve aglikonu), flavonoidler ve lignanlar gibi minör biyoaktif bileşikleri de içerir [19– 21]. Günümüzde NSZY'nin potansiyel sağlıklı etkilerinin hem yağ asidi kompozisyonuna (özellikle yükse OA içeriği, uygun miktarda esansiyel PUFA ve görece düşük n-6 PUFA / n-3 PUFA oranı) hem de içerdiği minör biyoaktif bileşiklere dayandığı net olarak anlaşılmıştır [22–25].

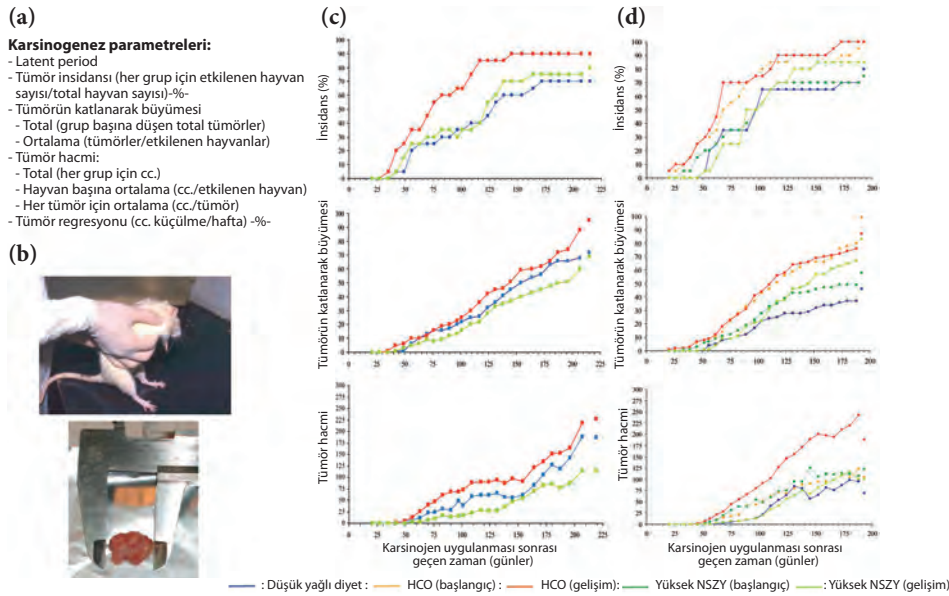


Şekil 2 Güncellenmiş Akdeniz Diyet Piramidi (Akdeniz Diyet Vakfı) [89].

Grubumuz diyet lipidlerinin meme kanseri üzerindeki etkisini 25 yıldan uzun süredir başlıca iki ana konu üzerinde araştırmaktadır: Birincisi iki tip yağ kullanılarak (n-6 PUFA yönünden zengin bir yağlı tohum yağı olan mısır yağı ve NSZY) kimyasal olarak indüklenen meme kanseri üzerinde yaptığımız çalışmalardır. İkincisi insan meme tümörleridir. Bu bölümün amacı deneysel modellerden elde edilen başlıca sonuçların paylaşılmasıdır. Bu modellerdeki araştırmalarımızda klinik karsinogenez, tümör morfolojisi ve özellikle bu iki yağ türünün meme karsinogenezindeki farklı modüle edici etkilerinin moleküler mekanizmalarını araştırmaya odaklandık. Deneysel verilerin insanlara uyarlanmasında dikkatli olunması gerekmektedir. Ancak kontrollü değişkenler kullanılarak insan verisi toplamak oldukça güç olduğu için, deneysel çalışmalar nütrisyonel faktörlerin sağlık üzerindeki etkilerinin anlaşılmasında önemli rol oynamaktadır.

2 Meme Karsinogenezinde Diyet Lipidlerinin Etkisi ile İlgili Deneysel Kanıtlar

Meme kanseri modelleri kullanılarak geliştirilen deneysel çalışmalarda dişi Sprague-Dawley sıçanlarında polisiklik aromatik bir hidrokarbon olan dimetil-benz(α)antrasen (DMBA) tek doz uygulanarak kanser indüklenmiştir [26]. Bu modelin sonuçları insan meme kanserine uyarlanabilmesi için daha önce valide edilmiştir ve meme kanseri çalışmalarında yoğun olarak kullanılmaktadır [27, 28]. Zeytinyağı ve n-6 PUFA'nın meme adenokarsinomlarının başlangıcı ve gelişimindeki olası farklı etkilerinin araştırılması için şu diyetler dizayn



Şekil 3 Yüksek tohum yağı ve yüksek NSZY diyetlerinin DMBA ile indüklenen sıçan karsinogenezi üzerindeki etkisi. Deneyin dizaynına bağlı olarak, hayvanlar yüksek-mısır yağı (HCO) diyeti veya yüksek-NSZY diyeti ile sütten kesilmelerinden itibaren (başlangıç grupları) veya karsinojen uygulanmasında itibaren (gelişim grubu) beslenmiştir. Düşük yağlı diyet grubu da tüm çalışma boyunca kontrol grubu olarak kullanılmıştır. Hayvanlar karsinojen uygulanmasından sonra 21. günden itibaren (53 günlükken) her hafta muayene edilmiş ve kiloları ölçülmüştür. **a.** Uygun istatistiksel analize ek olarak sekiz farklı klinik parametre belirlenmiştir. **b.** Hayvanların incelenmesi ve eksprerimental meme adenokarsinomunu gösteren resimler **c.** Deneysel serilerde karsinogenez gelişimini araştırmayı amaçlayan 3 örnek parametre. HCO diyetinin yaptığı belirgin stimulan etki ile tümörler daha erken gelişmiştir. Kontrol grubuna göre daha fazla hayvan etkilenmiş, daha çok ve daha büyük tümörler gelişmiştir. Buna karşın yüksek-NSZY diyeti ile genel olarak koruyucu etki görülmüştür. Latent period, insidans, tümör hacmi ve içerikleri kontrol grubu ile benzer veya daha düşük bulunmuştur. **d.** Aynı örnek parametrelerin kullanıldığı diğer deneysel serilerde diyet lipidlerinin başlama ve gelişme üzerindeki etkileri görülmektedir. HCO diyeti tutarlı olarak tümör geliştirici etki gösterirken, yüksek-NSZY diyeti de zayıf stimülan etki göstermiştir. NSZY yüksek yağ içeren bir diyet olmasına rağmen stimüle edici etkisi HCO diyetine göre çok daha zayıftır.

edilmiştir: Kontroller için düşük yağlı diyet (%3 mısır yağı), yüksek yağlı n-6 PUFA diyeti (%20 mısır yağı) ve yüksek yağlı n-9 MUFA diyeti (%17 NSZY ve %3 mısır yağı) [29–31].

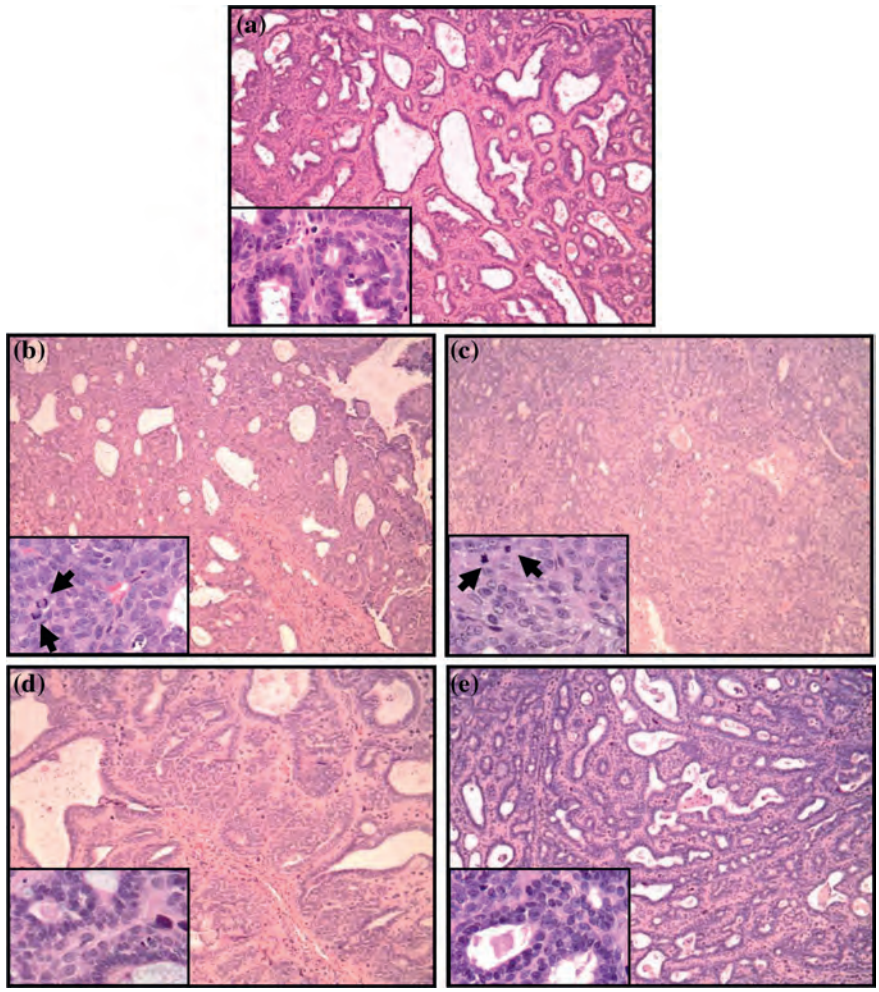
Uygun istatistiksel analizlere ek olarak, deneysel meme kanserindeki bu etkilerin araştırılmasında çeşitli klinik parametreler de tanımlanmıştır (latent period, tümör insidansı, katlanarak büyüme, hacim ve tümör regresyonu) (Şekil 3a, b) [32–35]. Laboratuarımızda geliştirilen 16 deneysel seride, yağ yönünden zengin diyetlerin meme karsinogenezindeki stimulan etkilerini tutarlı olarak gösterdik. Bu etkiler tümörlerin

kontrol grubuna göre daha erken oluşması, daha fazla hayvanın etkilenmesi ve daha büyük olmalarını kapsamaktadır. Buna karşın zengin NSZY diyetleri HCO diyeti ile aynı miktarda yağ içermesine rağmen genel olarak koruyucu etki göstermiştir. Latent period, insidans, tümör hacmi ve içerikleri kontrol grubu ile benzer veya daha düşük bulunmuştur. Tümör regresyonu ile ilgili çalışmada, bu diyetle tümör progresyonunun yavaşladığının bulunmuş olması önemlidir. Ancak parsiyel veya total tümör regresyonu gerçekleşmemektedir. Bu sonuçlar NSZY diyetlerinin terapötik ajan olarak kullanılacak kadar güçlü etkiye sahip olmadığını göstermektedir (Şekil 3c, d) [6–8, 31, 36–38]. Ayrıca deneysel serilerde hafif bir stimülan etki de gözlenmiştir. Ancak bu diyet yağdan zengin olmasına rağmen stimülan etkisi her zaman tohum yağına göre çok daha düşük seviyede bulunmuştur (Şekil 3d) [39]. Bu farklılıklar diyet girişiminin uygulanma zamanlaması veya kullanılan farklı zeytinyağı çeşitleri ile ilişkili olabilir. Zeytinyağının karsinogenez üzerindeki etkisinin satüre/ansatüre yağ asitlerinin oranına ve OA/lineolik asit oranına ve yağdaki minör bileşiklerin rölatif kompozisyonuna bağlı olduğu bildirilmiştir [40]. Bu tür bulgular tüm yüksek yağlı diyetlerin karsinogenez üzerinde spesifik olmayan stimülan etkileri olabildiği ve deneysel diyette yüksek oranda zeytinyağı kullanıldığı göz önüne alındığında ilgi çekici hale gelmektedir [41]. Bu bağlamda alınan enerji miktarı ile kanser mortalite oranları arasında doğru orantı olduğu gösterilmiş olup, enerji kısıtlaması ile karsinogenez üzerinde genel bir inhibitör etki meydana gelmektedir [42].

Bu sonuçlar yüksek n-6 PUFA diyetlerinin, meme tümörlerinin klinik davranışlarını biyolojik olarak daha agresif hale getirdiğini göstermektedir. NSZY diyetleri ise tümörlerin malignite derecelerini daha az etkilemektedir. Diyet lipidlerinin meme kanserindeki modüle edici etkisinin çoğunlukla karsinogenezin gelişim aşamasında ortaya çıktığı vurgulanmalıdır. Ancak başlangıç aşamasındaki etki de dışlanmamalıdır [6, 8].

3 Diyet Lipidlerinin Meme Adenokarsinomlarının Morfolojik Malignitesi Üzerindeki Etkileri

Çalışma grubumuz, diyet lipidlerini meme kanseri üzerindeki farklı morfolojik etkilerini, meme adenokarsinomlarının kapsamlı histopatolojik incelemelerini kullanarak ilk kez gösteren gruptur. Analizlerde onbir farklı parametre kullanılmıştır. Bu parametrelerden bazıları insan meme kanseri patolojisinde ve deneysel tümörlerin diğer karakteristiklerinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Grubumuz ayrıca sıçan meme karsinomlarına adapte edilen yeni bir histolojik sınıflama sistemi geliştirmiştir. İlk olarak, bu çalışmalarda her tümörün histolojik paterni ile klinik karakteristikleri arasında bir ilişki gösterilmiştir. Biyolojik olarak daha agresif olan tümörlerin daha yüksek histopatolojik evre, desmoplastik reaksiyon, limfoplazmositik infiltrasyon ve tümör nekrozu ile karakterize olduğu ve sıklıkla kribriform yapıya sahip olduğu bulunmuştur [43, 44]. İkinci olarak da farklı diyetlerinin etkileri analiz edildiğinde tohum yağlarının adenokarsinomları, kontrol grubu ve NSZY diyetlerine göre daha yüksek malignite derecesi ile indüklediği



Şekil 4 DMBA ile indüklenen meme adenokarsinomlarının farklı diyet gruplarındaki histopatolojik özellikleri. Hematoksilin ve eozin ile boyanmış farklı deney gruplarındaki tümör kesitlerinin histopatolojik analizinde tohum yağı yönünden zengin diyetlerin adenokarsinomların gelişimini kontrollere (**a**) ve NSZY gruplarına (**d** ve **e**) göre daha yüksek malignite derecesi ile destekledikleri bulunmuştur (**b** ve **c**). Buna karşın yüksek NSZY diyeti ile beslenen hayvanların tümörleri ise, HCO diyeti uygulanan hayvanların tümörlerine göre daha düşük malignite derecesine sahip ve kontrol tümörlerine daha benzer histopatolojik özellikler göstermiştir. Büyük resimlere orijinale göre x100 büyütme, küçük resimlere orijinale göre x400 büyütme uygulanmıştır. Mitotik figürler oklarla gösterilmiştir (**b** ve **c**) [45].

görülmüştür. Tohum yağları daha yüksek histolojik evreye, stroma invazyonuna, daha yoğun tümör nekrozuna ve daha sık kribriform paterne yol açmıştır. Buna karşın NSZY diyeti ile beslenen hayvanların tümörleri ise, HCO diyeti uygulanan hayvanların tümörlerine göre daha düşük malignite derecesine sahip olup kontrol tümörlerine daha benzer

histopatolojik özellikler göstermiştir. Bu nedenle daha düşük bir histopatolojik dereceye sahip olan bu tümörler, daha az invazif, nekrotik ve papiller bölgeye sahiptir (Şekil 4). Dolayısı ile diyet lipidlerinin farklı modüle edici etkileri, sadece tümörün klinik davranışında değişikliğe neden olmayıp aynı zamanda farklı histopatolojik özelliklere de yol açmaktadır.

4 Meme Kanserinde Diyet Lipidlerinin Etki Mekanizması

Genel olarak diyet yağlarının ve spesifik olarak da NSZY diyetlerinin meme kanserinde etkilerini göstermelerini sağlayan spesifik mekanizmalar henüz aydınlatılamamıştır. Ancak günümüzde diyet lipidlerinin muhtemelen entegre, simultane ve/veya sıralı şekilde etki göstermesini sağlayan çeşitli, kompleks mekanizmalar hakkındaki anlayış giderek daha fazla artmaktadır. Grubumuz bu mekanizmalar ile ilgili bilgilerin artmasına, hormonal statüdeki muhtemel değişimleri, hücre membranlarının yapı ve fonksiyonlarını, hücre sinyallerini dönüştürücü yolakları, gen ekspresyonunu, büyüme ve cinsel olgunlaşmayı araştırarak katkı yapmıştır (Tablo 1) [46–48].

4.1 Hormonal Statünün Değişimi

Meme kanseri hormona bağımlı bir neoplazi olduğu için ilk olarak normal meme bezlerini ve tümörleri regüle eden ana hormonların statülerinin diyet lipidleri tarafından modifiye edilip edilmediğini araştırdık. Luteinizan hormon, folikül stimüle edici hormon, östradiol, progesteron, insülin ve kortikosteronun serum konsantrasyonlarının yüksek n-6 PUFA veya yüksek NSZY diyetleri ile değişmediğini tespit ettik [49], (E. Escrich, yayınlanmamış sonuçlar). Diyet lipidlerinin dolaşımdaki hormon düzeylerine etkileri ile ilgili literatür verileri net bir sonuca sahip değildir [50]. Yüksek n-6 PUFA diyeti ile beslenen gebe sıçanlardaki serum östradiol seviyelerinin arttığını [51] ya da değişmediğini [52] gösteren çalışmalar mevcuttur. Diğer yazarlar emziren sıçanlardaki östradiol konsantrasyonlarının %7 zeytinyağı içeren diyet ile beslenenlerde %7 mısır yağı ile beslenenlere göre daha düşük olduğunu tespit edilmiştir [53]. Sonuçlar arasındaki çelişkiler hormonların siklik özelliklerine bağlı olabilir. Çünkü bu hormonların serum konsantrasyonları sirkadian ritm ve östrus siklusunun fazı ile yüksek oranda ilişkilidir [54]. Ayrıca meme bezlerindeki ve deneysel tümörlerdeki seks hormon reseptörlerinin analizinde de diyet lipidlerinin etkisi ile sadece küçük farklılıklar tespit edebildik. Sonuç olarak östrojen reseptörlerinin ekspresyonlarında anlamlı farklılıklar bulunmamıştır (ERα, ERβ1 ve ERβ2). Puberte esnasında NSZY diyeti ile beslenen sıçanların meme bezlerinde HCO diyeti ile beslenenlere göre daha yüksek östrojen reseptör seviyeleri tespit ettik. Bu bulgu lobulo-alveolar yapıların gelişimi ile ilişkili olabilir [39]. Bu sonuçlar diyet lipidlerinin meme kanserini modüle edici etkilerinin normal ve kanserli meme için çok

Tablo 1 Yüksek NSZY ve yüksek tohum yağı diyetlerinin deneysel meme kanserindeki ana moleküler etki mekanizmalar üzerindeki etkisi

		NSZY diyetleri	Tohum yağı diyetleri
Klinik davranış		Yavaş seyirli tümör büyümesi	Hızlanmış tümör büyümesi
		Koruyucu veya zayıf gelişim destekleyici etki	Stimüle edici etki
Histopatolojik özellikler		Düşük dereceli histolojik malignite	Yüksek dereceli histolojik malignite
Etki mekanizması	Proliferasyon	Azalma ve aynı kalma	Artma
		↔ *mitotik aktivite*	←↑ *mitotik aktivite*
		↔ *PCNA düzeyleri*	↔ *PCNA düzeyleri*
		↔ *Siklin D1 ekspresyonu*	↔ *Siklin D1 ekspresyonu*
		↓ *p21Ras aktivitesi*	↔ *p21Ras aktivitesi*
		↑ *non-aktive p21Ras düzeyleri*	↔ *non-aktive p21Ras düzeyleri*
		↑ *MAPK aktivitesi (↓Akt aktivitesi ile birlikte)*	↑ *MAPK aktivitesi (↓ Akt aktivitesi yok)*
	Sağkalım	Azalma	Artma
		↓ *Akt aktivitesi (↓ fosfo-Akt düzeyleri)*	↑ *fosfo-Akt/total Akt oranı*
	Apoptoz	Artma	Değişim yok
		↓*Akt aktivitesi ve* ↑*MAPK aktivitesi*	↑*Akt aktivitesi ve* ↑*MAPK aktivitesi*
		↑*aktif Kaspaz-3 düzeyleri*	↔ *aktif Kaspaz-3 düzeyleri*
		↑ *apoptotik hücreler*	↔ *apoptotik hücreler*
	Tümör regresyonu	Yok	Yok
	DNA hasarı	Muhtemel azalma	Muhtemel artma
		↓ *Ubi-PCNA düzeyleri*	↑ *Ubi-PCNA düzeyleri*
		↔ *8-okso-dG düzeyleri*	↔ *8-okso-dG düzeyleri*
	Farklılaşma	Benzer	Azalma
		↔ *PCPH ekspresyonu*	↓ *PCPH ekspresyonu*
		↔ *H19 ve VDUP1 ekspresyonu*	↓ *H19 ve VDUP1 ekspresyonu*

[a]Etkiler düşük yağlı diyet uygulanan kontrollerle karşılaştırılmıştır. ↑: artma, ↓: azalma, ↔: değişim yok.

önemli bir parametre olan, hormonal durumu değiştirmek yoluyla ortaya çıkmadığını düşündürmektedir. Benzer şekilde incelediğimiz çeşitli biyokimyasal plazma parametrelerinden, yüksek n-6 PUFA ve yüksek NSZY diyetlerinin etkisi ile sadece total kolesterol düzeylerinde bir azalma olduğunu tespit ettik (E. Escrich, yayınlanmamış sonuçlar).

4.2 Hücre Membranının Yapı ve Fonksiyonunun Modifikasyonu

Membran lipid kompozisyonu membran fonksiyonunu etkiler ve hücreler tarafından yüksek oranda regüle edilir. Ayrıca alınan lipidlerin türüne (başlıca n-3 PUFA ve n-3 PUFA / n-6 PUFA oranı) bağlı olarak değişimler gösterir. Membran lipid kompozisyonunda diyet tarafından indüklenen modifikasyonlar membran akışkanlığı, lipidlerle modifiye edilen yolaklar ve hücre membranlarının lipid peroksidasyon düzeyleri ile ilişkilidir [55]. Bu nedenle laboratuarımızda altı lipid fraksiyonu içindeki 14 yağ asidinin analizini yaparak diyet lipidlerinin tümör yağ asidi kompozisyonundaki etkisini inceledik. Yüksek tohum yağlı diyetle beslenen sıçanların meme adenokarsinomları klinik ve histopatolojik olarak kontrol diyet tümörlerine göre daha agresif olup rölatif LA içeriğinde anlamlı artma, OA içeriğinde azalma ile fosfatidilkolin, fostatidiletanolamin ve serbest yağ asitlerinde de anlamlı azalma görülür. Bu fosfolipidlerin hidroliz ürünlerinin ve serbest yağ asitlerinin tümör hücre proliferasyonu ile ilişkili olduğu göz önüne alındığında, bu sonuçların meme karsinogenezi ile ilgili deneysel ve epidemiyolojik çalışmalarda bulunan LA yönünden zengin diyetlerin zararlı etkilerini ve NSZY diyetlerinin faydalı etkilerini onaylar nitelikte olduğu söylenebilir [36]. Akdeniz diyetinin hipertansiyon üzerindeki faydalı etkileri ile uyumlu olarak, hipertansif hastalardaki eritrosit hücre membranının yapısal özelliklerini etkilediklerini gösteren kanıtlar da mevcuttur [56].

4.3 Sinyal Dönüştürücü Yolaklar Üzerindeki Etki

Araştırmalarımızın bir sonraki konusu gen fonksiyonunda ve hücre sinyal yolaklarında rol oynayan proteinlerdeki değişimlere odaklanmıştır. Özellikle meme gelişiminde ve insan meme kanserinde rol oynadığı gösterilen Ras-aracılığındaki sinyal yolağını araştırdık [57]. Sonuçlarda zengin NSZY diyetinin p21Ras aktivitesini anlamlı düzeyde azaltırken protein düzeylerini artırmış olması bu diyetin non-aktive proteinlerde artışa yol açtığını düşündürmektedir. p21Ras aktivitesinde azalma daha düşük Ras mutasyon oranına ya da HMG-CoA redüktaz ve skualen sentaz gibi Ras'ın postranslasyonel modifikasyonunda rol oynayan gen kodlayan proteinlerin azalmış ekspresyonuna bağlı değildir [58]. Diğer deneysel çalışmalarda zeytinyağı diyetinin, bileşimindeki minör bileşik skualenin etkisiyle HMG-CoA redüktazı inhibe etmek yoluyla kolon kanserine karşı

koruyucu etki sağlayabileceği gösterilmiştir. Ancak bu tür etkiler çok yüksek skualen konsantrasyonlarında ortaya çıkmıştır (diyetin %1'i) [59].

Azalmış p21Ras aktivitesi beklenmedik şekilde, insan meme kanserinde önemli rolü olan tirozin kinaz membran reseptörleri ErbB1, ErbB2 ve ErbB3'ün ekspresyon veya aktiviteleri ile ilişkili bulunmamıştır [60]. Buna karşın yüksek NSZY diyetine bağlı olarak 80-kDa ErbB4-bağlı proteinin düzeylerinde anlamlı azalma gözlemledik. ErbB4-kesik formunun meme kanserindeki biyolojik önemi net olarak bilinmemekle birlikte ErbB4 aktivasyonu ile ilişkilidir [61]. NSZY diyeti (kontrollere kıyasla) pro-sağkalım Ras/PI3 K/Akt yolağını aşağı, Raf/Erk yolağını da yukarı regüle etmektedir. Buna karşın yüksek n-6 PUFA diyeti ise Ras aktivitesini ve ErbB reseptörlerini modifiye etmezken, RAf/Erk yolağını güçlendiriyor olması her iki yüksek yağlı diyetin de ERK1/2 yolağını yukarı regüle eden non-spesifik etkileri olduğunu düşündürmektedir. Ayrıca yüksek n-6 PUFA diyeti tümör büyümesini stimüle edici etkisi ile uyumlu olarak, en yüksek fosfo-Akt:total Akt oranının ortaya çıkmasına yol açmıştır. Her iki diyet tipi de RaIA/B-aracılığındaki yolakta bir değişime yol açmamıştır.

Ras ve ana efektörlerinin analizinden elde edilen sonuçlar NSZY diyeti ile ilgili pro-apoptotik hipotez geliştirmemize neden oldu. Bu nedenle farklı deney gruplarındaki meme tümörlerinin apoptotik durumlarını inceledik. Kaspaz kaskadının hem ekstrinsik hem de intrinsik apoptozda rol oynayan ana unsuru olan kaspaz-3'ün [62] rölatif seviyeleri zeytinyağı diyeti ile beslenen hayvanlardaki tümörlerde anlamlı olarak yükselmiştir. Bu sonuç bu diyete bağlı olarak apoptozun arttığı düşüncesi ile uyumludur. Bu sonuç TUNEL deneyleri ile konfirme edilmiştir [58]. Bu sonuçlar zeytinyağının, oleik asidin ve zeytinyağındaki bazı minör bileşiklerin apoptozu modüle ettiğini bildiren bazı çalışmaların sonuçları ile uyumludur [53, 63–65].

Sonuçlarımız mitotik aktivite ve prolifere olan hücre nükleer antijen (PCNA) düzeylerinin analizinde görüldüğü üzere, yüksek NSZY diyetinin tümör hücre proliferasyonunda önemli bir etki yapmadığını da göstermiştir. Bu nedenle NSZY diyeti meme kanserini modüle edici etkisini, proliferasyon/apoptoz balansını apoptoz lehine değiştirip (diyetin tümör büyümesini negatif regüle edici etkisine katkı yaparak) gösteriyor olabilir. Ancak yüksek tohum yağlı diyet ise sağkalım/proliferasyon sinyallerini dönüştürücü etkisi ile uyumlu olarak mitotik aktiviteyi artırıp, tümör gelişimine destek olmaktadır [58]. Zeytinyağının tümör proliferasyonu üzerindeki olası etkisi henüz net olarak anlaşılamamıştır. İn vitro deneylerde zeytinyağındaki hidroksitirozol ve oleuroprotein gibi bazı minör bileşiklerin meme kanseri proliferasyonunu inhibe ettiği yönünde kanıt bulunmuştur [63]. Oleatın ise hücre proliferasyonunda stimülan etkisi olduğu bildirilmiştir [64].

Mono-ubikutin ekli PCNA düzeyleri NSZY diyeti ile ilginç biçimde anlamlı olarak azalırken yüksek mısır yağlı diyetle anlamlı olmayan düzeyde yükselmiştir. PCNA'YA ubikutin eklenmesinin özellikle DNA hasarında veya replikasyon çatalları bozulduğunda meydana gelmesi, NSZY diyetinin daha az DNA hasarına yol açtığını ve yüksek tohum yağlı diyetin de daha yüksek genotoksik strese yol açtığını düşündürmektedir. Ancak pre-mutajenik 8-okso-dG bazında değişime rastlanmamış olması muhtemelen

diyet lipidlerinin diğer DNA lezyonları üzerindeki etkilerinden kaynaklanmaktadır. Meme tümörlerinin gelişiminin modülasyonunda lipid peroksidasyonunun rolü tam olarak anlaşılmamış olan çelişkili bir konudur. Kanserin başlangıcında rol oynayan santral mekanizmalardan birisi olduğu kabul edilmiş olsa da [14], uzun zincirli n-3 PUFA'nın kanser önleyici etkisinin (en azından kısmen) peroksidasyon ürünlerinin oluşumundan kaynaklandığı düşünülmektedir [66–68]. Ayrıca oksidatif stres ile indüklenen apoptozun, bazı polifenolleri de içeren çeşitli kemopreventif ajanların antikarsinojenik etkilerinde önemli rol oynadığını gösteren kanıtlar artmaktadır [69, 70]. Yüksek NSZY diyetlerinin oksidatif stres üzerindeki etkisi şu anda grubumuz tarafından araştırılmaktadır.

4.4 Gen Ekspresyonu Üzerindeki Etki

Farklı diyet komponentlerinin spesifik genlerin ekspresyonunu modüle edebildiği gayet iyi bilinmektedir. Yağ asitlerinin gen ekspresyonu üzerindeki en iyi bilinen etkisi lipid, karbonhidrat ve protein metabolizması üzerinde rol oynayan genleri modüle etmektir [71]. Ayrıca diyet lipidlerinin etkileri hastalık tarafından da etkilenebilir. Bunu doğrular şekilde tümör taşıyıcı sıçanların karaciğerlerinde yüksek n-6 PUFA diyetinin etkisi ile karnitin palmitoltransferaz I (CPT I), mitokondrial HMG-CoA sentaz ve peroksizom proliferatör reseptör α (PPARα) ekspresyonlarının normal regülasyonlarında değişimler gözlemledik [72]. Diyet lipidlerinin kanserle ilişkili genler üzerindeki etkilerine yönelik veriler az olmasına rağmen, hücre büyümesi, sağkalım ve farklılaşmada görev yapan genlerin regülasyonunda rol oynadıklarını gösteren veriler giderek artmaktadır [71]. Deneysel meme tümörlerinde yüksek NSZY ve HCO diyetlerinin, ErbB membran reseptör ailesinin (özellikle c-erbB1) ekspresyonunun modülasyonunda farklı etkiler gösterdiğini tespit ettik. HCO diyeti meme adenokarsinomundaki c-erbB1/EGFR'deki 9.5-kb mRNA (tam boy fonksiyonel reseptörü kodlar) ile 2.7-kb mRNA (inaktif kesik reseptörü kodlar) arasındaki oranı yükseltirken, yüksek NSZY diyeti ise bu oranı azaltmıştır. Bu diyet ayrıca c-erbB2/neu mRNA ve p185ErbB2/Neu protein düzeylerini azaltma eğilimi gösterirken, HCO diyeti bu reseptörün ekspresyonunu modüle etmemiştir [37]. Diğer taraftan ErbB proliferatif sinyalinin önemli dönüştürücülerinde birisi olan c-Haras1'in ekspresyon düzeyleri bu diyetler tarafından modifiye edilmemiştir [73, 74]. Yüksek yağlı diyetler p21RAS'ın post-translasyonel modifikasyonu ve devamındaki aktivasyonu için gereken prenil gruplarının kaynağı olan mevalonat yolağını kodlayan HMGCoA redüktaz veya skualen sentazın [58] ekspresyon düzeylerini de modifiye etmezler [75].

Dediferensiyasyon kanserle ilgili bir proses olduğu için, grubumuz diyet lipidlerinin DMBA ile indüklenen meme tümörlerindeki hücre farklılaşması ile ilişkili genleri de araştırmıştır. Bilinen meme diferensiyasyon markerları olan a- ve b-kazein ve transferine ek olarak tümörün invazyon kapasitesi ile ilişkili olan β-aktinin de ekspresyonlarını analiz ettik. Bu sonuçların düşük kazein ekspresyon düzeylerinin tümörün morfolojik farklılaşmasının derecesi veya klinik davranışı ile ilişkili olmadığını göstermiş olması,

bu genlerin diyet lipidlerinin meme adenokarsinomundaki modifikasyonları için iyi bir biyomarker olmadığının göstergesidir. Buna karşın yüksek zeytinyağı diyeti uygulanan gruplardaki transferin ekspresyonunun artma eğilimi göstermiş olması, bu diyetin sonucu olarak tümörün daha az agresif fenotipe sahip olmasının göstergesidir. Ayrıca NSZY diyetinin aksine yüksek tohum yağlı diyet β-aktin mRNA ekspresyonunu artırırken protein düzeylerinde bir değişime yol açmamıştır. Bu son sonuç, çekirdekten hücre periferine β-aktin transporterinin taşıyıcısı olan ZBP1'de gözlenen artışa ek olarak, bu mRNA'nın transportunun ve translasyonunun deregüle olmasının yüksek tohum yağlı diyetle beslenenlerde daha yüksek malignite dereceli tümörlerle ilişkili olduğunu düşündürmektedir [76]. Ayrıca, ürünleri Ras ile sinerjistik etki yapan PCPH geninin ekspresyonunda diyet lipidlerinin etkisini de araştırdık. Sonuçlar meme bezindeki farklılaşma derecesinin PCPH düzeylerindeki anlamlı artış ile ilişkili olduğunu göstermektedir. Adenokarsinomlardaki PCPH ekspresyonu, normal dokuya kıyasla sadece azalmakla kalmaz aynı zamanda deregüle de olur. Ayrıca yüksek tohum yağlı diyet gruplarındaki en malign tümörler en düşük PCPH ekspresyon düzeylerine sahiptir [77].

Gen ekspresyonlarının incelenmesinde kullanılan yeni yüksek veri işleme kapasiteli teknikler diyet lipidlerinin kanserdeki etkisinin farklı bir deneysel yaklaşımla incelenebilmesine olanak tanımaktadır. cDNA mikroarray analizleri kullanarak yüksek tohum yağlı diyetle anlamlı olarak aşağı regüle olan 4 gen tanımladık. Bu genler NSZY diyeti ile aşağı regüle olmazlar. Bunlar a2u-globülin, Vitamin D3 yukarı regüle protein 1 (VDUP1), damgalanmış (imprinted) H19 geni ve bilinmeyen bir gendir. Tüm bu genler (özellikle H19 ve VDUP1) hücre farklılaşması ve proliferasyonu ile potansiyel olarak ilişkilidir. Yüksek tohum yağlı diyette aşağı regüle olmaları bu diyetin meme kanserindeki tümör stimüle edici etkisinde rol oynayabileceğini düşündürmektedir [78]. Ayrıca gen proliferasyonu ile ilişkili olan ve H19'un karşıtında damgalanan insülin benzeri büyüme faktörü (IGF) II geni HCO diyeti ile yukarı, NSZY diyeti ile de aşağı regüle olmaktadır. Her iki yüksek yağ diyeti, hücre büyümesini destekleyen ve antiapoptotik eksi olan ve VDUP1 tarafından inhibe edilen bir oksiredüktaz olan tioredoksinin etkisinin karşıtı etkiye sahiptir [79]. Bu sonuç HCO ve NSZY diyetlerinin meme kanserindeki karşıt etkileri ile uyum içindedir.

4.5 Büyüme ve Cinsel Olgunluk Üzerindeki Etki

Diyet lipidlerinin kanserin başlangıcında meme bezlerinin neoplastik transformasyona olan duyarlılığını veya direncini modüle ederek nasıl rol oynadıklarına da odaklandık. Gıda ve nütrisyonu da içeren erken yaşam olaylarının hayatın ilerleyen dönemlerindeki meme kanseri riskini modifiye ettiğini gösteren çok çarpıcı kanıtlar mevcuttur [80]. Şu anda araştırmakta olduğumuz mekanizmalardan bazıları meme bezinin farklılaşmasını da içeren büyüme ve cinsel olgunlaşma, ksenobiyotik detoksifikasyonu ve oksidatif strestir.

Meme bezinin diğer organlara benzemeyen bir özelliği doğumdan puberteye kadar büyük oranda değişmeden kalmasıdır. Örneğin erken menarş gibi menstrüel siklusları-

nın sayısını ve hayat boyunca maruz kalınan östrojen miktarını artıran reprodüktif olaylar, meme kanseri riskini artıran faktörler olarak kabul edilmektedir [5]. Bu nedenle pubertenin zamanını etkileyen modifiye edilebilir nütrisyonel faktörler, meme dokusunun transformasyona karşı olan duyarlılığını değiştirerek, bu duyarlılığı hızlandırabilir, geriletebilir veya genişletebilir. Bizim elde ettiğimiz sonuçlar yüksek yağlı diyetlerin etkisi ile büyüme ve cinsel olgunlaşmanın hızlandığını göstermektedir. Bu etki yüksek tohum yağlı diyetlerde, yüksek NSZD diyetlere göre daha güçlüdür [39]. Bu bulgu DMBA ile indüklenen meme kanseri olan sıçanlarda klinik, morfolojik ve moleküler olarak gösterilmiştir. Klinikte cinsel olgunlaşmaya eşlik eden vajinal değişimleri tespit edip, evre 0 ile evre 3 arasında puanlar vererek skorladık. Puberte başlangıcının yüksek yağlı diyet grubunda (özellikle HCO diyet grubu) anlamlı oranda olarak erken gerçekleştiğini tespit ettik. Bu nedenle, örneğin yüksek tohum yağlı diyet ile beslenen sıçanların, tamamen olgun durumu gösteren 3. evreye kontrol grubundaki sıçanlardan anlamlı olarak daha erken ulaştığını tespit ettik. Ancak evreler arasındaki günler karşılaştırıldığında (1-2, 2-3 ve 1-3) gruplar arasında bir fark bulunmamıştır. Bu nedenle puberte başlangıç gününden bağımsız olarak, olgunlaşma prosesinin gelişimi diyet lipidleri ile değişmemiştir. Ayrıca sıçanlarda puberte başlangıcı ve birinci östroz arasında geçen zamanda ve sikluslarda diyete bağlı olarak bir değişiklik olmamıştır. Ek olarak belirli bir evrede bulunan sıçanlardaki vücut ağırlıkları grupla arasında farklılık göstermemiştir. Ancak yukarıda da bahsedildiği üzere, yüksek tohum yağlı diyet grubu spesifik bir evreye düşük yağ diyeti uygulanan gruptaki sıçanlardan daha erken ulaşmıştır. Diğer taraftan, yüksek tohum yağlı diyet grubunda belirli bir gün için tahmin edilen vücut ağırlıkları, düşük yağlı grupta tespit edilenden daha yüksek bulunmuştur. Her evreye ulaşılması sırasında vücut ağırlıklarında bir fark bulunamamış olması, cinsel olgunlaşmanın belirli bir vücut kütlesine ulaşmayı gerektirmesinden kaynaklanaktadır. Bu durum insanlar için de geçerlidir [81]. Puberte başlangıcının HCO diyetine bağlı olarak erken gerçekleşmesi morfolojik olarak konfirme edilmiştir. Post-pubertal dönemde (postnatal 51. gün) overlerin histolojik analizinde, yüksek tohum yağlı diyet grubundaki sıçanlarda kontrol grubuna göre daha fazla sayıda corpus luteuma rastlanmış olması (ovulasyon göstergesi) bu hayvanların daha yüksek fertilite düzeyine sahip olduğunu gösterir. Cinsel olgunluk üzerindeki etki, puberte kisspeptin-1 (KiSS1) markerinin hipotalamik ekspresyonunun analizi ile de moleküler düzeyde tanımlanmıştır [82]. Postnatal 36. gündeki KiSS1 düzeylerinin yüksek tohum yağlı diyet grubunda düşük yağlı diyet grubuna göre daha yüksek bulunmuş olması bu gruptaki erken puberte başlangıcı ile uyumludur. KiSS1 düzeyleri östral faza yüksek oranda bağımlı olduğu için diğer yaşlarda yapılan ölçümlerde bir fark bulunmamıştır.

Meme bezinin bir başka cinsel olgunluk göstergesi olması nedeniyle, gelişimin farklı günlerinde meme bezlerindeki normal epitelyal yapıları analiz ettik (terminal uç tomurcukları (TEB), terminal kanallar (TD), alveolar kanallar (AB); Tip1 lobüller (Lob1), Tip 2 lobüller (Lob2), Tip 3 lobüller (Lob 3)). Ancak yüksek yağlı diyetlerin etkisine bağlı çok az sayıda farklılık tespit edilebilmiştir. 51. günde Lob2'de daha yüksek sayıda farklılaşmış hücre mevcudiyeti gibi hafif postpubertal modifikasyonlar görülmüştür. Bu modifikasyonlar malign transformasyonun hedefi olan farklılaşmamış yapılarda bir azalma

olmaksızın gerçekleşmiştir (TEB ve TD) [39]. Meme bezlerinin morfolojisinde transformasyona en yüksek duyarlılığın olduğu dönemde gözlenen modifikasyonlar, diyet lipidlerinin meme kanseri riskini moleküler düzeyde farklı değişimlere yol açarak modifiye edebileceğini düşündürmektedir. Çalışmanın sonunda, en yüksek meme bezi dansitesi yüksek tohum yağlı diyet grubunda bulunurken, bu grubu düşük yağlı ve yüksek zeytin yağlı diyet grupları takip etmiştir. Ancak bulunan farklar anlamlı değildir [39].

Bu sonuçlar diyet lipidlerinin meme karsinogenezini başlangıç evresinde farklı düzeyde modüle etme mekanizmalarından birinin, reprodüktif durum üzerindeki etkileri olduğunu kesin olarak göstermektedir. Bir başka ilginç olasılık da, diyet lipidlerinin vücut yağ depolarının düzeylerini farklı düzeylerde etkileme ihtimalidir. Şimdi bu olasılığı araştırmaya başlamış bulunuyoruz. İlk olarak vücut ağırlığı gelişimini ve farklı vücut kütle indekslerini analiz etmeye başladık. Sonuçlarda çalışma boyunca yüksek tohum yağlı diyetle beslenen sıçanların vücut ağırlıklarının, kontrol diyetiyle beslenen sıçanlara göre daha fazla arttığı tespit edilmiştir. HCO diyetiyle benzer oranda yağ içeren NSZY diyeti uygulanan sıçanlardaki vücut ağırlığı ve kütlesi kontroller ile benzer bulunmuştur. Çalışmanın sonunda tohum yağlı diyet grubundaki vücut ağırlığı ve vücut kütle indekslerinin düşük yağlı diyet grubuna daha yüksek olduğu tespit edilmiştir [39]. Birçok farklı çalışmada yüksek n-6 PUFA diyetlerinin vücut ağırlığı üzerindeki etkileri bildirilmiştir. Ancak zeytin yağlı diyetlerle ilgili çok az miktarda deneysel veri mevcuttur. Bir çalışmada %30'luk NSZY diyetinin sıçanlardaki vücut ağırlığını %30'luk mısır yağı diyetine göre daha az artırdığı tespit edilmiştir [83]. Diğer yandan Akdeniz diyetinin obeziteye karşı koruyucu etkisi olabileceğini gösteren insan epidemiyoloji çalışmaları da mevcuttur [84–86]. n-6 PUFA ve NSZY diyetlerinin vücut enerji dengesini hangi mekanizma ile farklı düzeylerde değiştirerek cinsel olgunluğu ve meme kanseri riskini etkilediklerini hala laboratuarımızda araştırıyoruz. Sonuçlar bağımsız bir yayının parçası olarak yayınlanacaktır.

5 Sonuçlar

Akdeniz diyetinin majör yağ kaynağı olan zeytinyağının (özellikle NSZY'nin) meme kanseri ve diğer hastalıklarla ilgili yararlı etkilerini destekleyen epidemiyolojik ve deneysel kanıtlar giderek artmaktadır [87, 88]. NSZY'nin düzenli kullanımı MUFA oleik asit ve fenolik antioksidanlar gibi biyolojik olarak aktif bileşiklerin yüksek miktarda alınmasını sağlar. Zeytinyağının meme kanserine karşı koruyucu etkilerinden farklı spesifik mekanizmalarla etki gösteren bu iki komponent sınıfının sorumlu olduğu gözlenmiştir.

Deneysel bir meme kanseri modelinde, diyet lipidlerinin deneysel meme adenokarsinomlarının klinik davranış ve histopatolojik özelliklerini farklı düzeyde modüle ettikleri gösterilmiştir. n-6 poliansatüre yağ asitleri (PUFA) yönünden zengin diyetler meme kanseri gelişimini net bir şekilde stimüle eder ve tümör fenotipinin malignite derecesini artırırlar. NSZY yönünden zengin diyetler ise negatif ile zayıf pozitif arasında modüle

edici etki gösterirler ve her durumda daha düşük tümör malignitesine yol açarlar. Bu nedenle enerji içeriğinden bağımsız olarak, diyetle tüketilen lipidlerin türü meme kanserinin gelişimi ve progresyonu üzerindeki etkisini belirlediği için hayatidir. NSZY ve diğer diyet lipidlerinin etki gösterme mekanizmaları birbirinden farklı olup, hücre membran kompozisyonundaki değişimler, hücre proliferasyonunda ve farklılaşmasında rol oynayan hücre sinyal yolaklarının modülasyonu, hücre sağkalımı ve apoptoz ile büyüme ve cinsel olgunluk üzerindeki etkilerin farklı olmasına yol açar. Düşük zeytinyağı oranları ile yapılan deneysel çalışmaların sonuçlarına paralel olarak, bizim de araştırdığımız parametrelerden bazılarında NSZY'nin orta derecede tüketiminin meme kanseri riski üzerinde faydalı etkiye sahip olabileceği görülmektedir. NSZY'nin potansiyel kemopreventif etkisi, çocukluktan başlayıp hayat boyu süren sağlıklı ve dengeli bir seçim olan Akdeniz gıda paterni ve hayat tarzı ile birlikte değerlendirilmelidir.

Teşekkürler. Bu çalışmaya maddi katkıda bulunanlar: "Plan Nacional de I+D+I (AGL2006-0769 and AGL2011-24778)"; "Fundación Patrimonio Comunal Olivarero 2008-2012" (FPCO2008-165.396); "Agencia para el Aceite de Oliva del Ministerio de Medio Ambiente y de Medio Rural y Marino 2008-2012" (AAO2008-165.471); "Organización Interprofesional del Aceite de Oliva Español 2009-2013" (OIP2009-165.646); and the "Departaments d'Agricultura, Alimentació i Acció Rural, i de Salut de la Generalitat de Catalunya" (GC2010-165.000). Sponsorların çalışmanın dizaynı, veri toplanması ve analizi, sonuçların yorumlanması, makalenin hazırlanması, makalenin yayını için başvurulması ve makalenin yazılmasında herhangi bir rolü olmamıştır. Yazarlar Irmgard Costa, M. Carmen Ruiz de Villa Raquel Escrich'e bu çalışmalardaki işbirlikleri için teşekkürü borç bilirler.

Referanslar

1. Ferlay J, Shin HR, Bray F et al (2010) Estimates of worldwide burden of cancer in 2008: GLOBOCAN 2008. Int J Cancer 127:2893–2917
2. Kenemans P, Verstraeten RA, Verheijen RH (2004) Oncogenic pathways in hereditary and sporadic breast cancer. Maturitas 49:34–43
3. Musgrove EA, Sutherland RL (2009) Biological determinants of endocrine resistance in breast cancer. Nat Rev Cancer 9:631–643
4. Ferlay J, Shin HR, Bray F et al (2010). GLOBOCAN 2008 v1.2, Cancer Incidence and Mortality Worldwide: IARC CancerBase No. 10 [Internet]. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer; 2010. Available from: http://globocan.iarc.fr, accessed on day/month/year
5. World Cancer Research Fund/American Institute for Cancer Research (2007) Food, nutrition, physical activity, and the prevention of cancer: a global perspective. American Institute for Cancer Research, Washington, DC
6. Escrich E, Ramírez-Tortosa MC, Sanchez-Rovira P et al (2006) Olive oil in the prevention and the progression of cancer. Nutr Rev 64:40–52
7. Escrich E, Solanas M, Moral R (2006) Olive oil, and other dietary lipids, in cancer: experimental approaches. In: Quiles JL, Ramírez-Tortosa MC, Yaqoob P (eds) Olive oil and health. CABI Publishing, Oxford
8. Escrich E, Solanas M, Moral R et al (2006) Are the olive oil and other dietary lipids related to cancer? Experimental evidence. Clin Transl Oncol 8:868–883
9. Gonzalez CA, Riboli E (2010) Diet and cancer prevention: contributions from the european prospective investigation into cancer and nutrition (EPIC) study. Eur J Cancer 46:2555–2562

10. Howe GR, Hirohata T, Hislop TG et al (1990) Dietary factors and risk of breast cancer: combined analysis of 12 case-control studies. J Natl Cancer Inst 82:561–569
11. Schulz M, Hoffmann K, Weikert C et al (2008) Identification of a dietary pattern characterized by high-fat food choices associated with increased risk of breast cancer: the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC)-Potsdam Study. Br J Nutr 100:942–946
12. Smith-Warner SA, Spiegelman D, Adami HO et al (2001) Types of dietary fat and breast cancer: a pooled analysis of cohort studies. Int J Cancer 92:767–774
13. Willett WC (1998) Dietary fat intake and cancer risk: a controversial and instructive story. Semin Cancer Biol 8:245–253
14. Bartsch H, Nair J, Owen RW (1999) Dietary polyunsaturated fatty acids and cancers of the breast and colorectum: emerging evidence for their role as risk modifiers. Carcinogenesis 20:2209–2218
15. Fay MP, Freedman LS, Clifford CK et al (1997) Effect of different types and amounts of fat on the development of mammary tumors in rodents: a review. Cancer Res 57:3979–3988
16. Ip C (1997) Review of the effects of trans fatty acids, oleic acid, n-3 polyunsaturated fatty acid, and conjugated linoleic acid on mammary carcinogenesis in animals. Am J Clin Nutr 66:1523S–1529S
17. Lee MM, Lin SS (2000) Dietary fat and breast cancer. Annu Rev Nutr 20:221–248
18. Willett WC, Sacks F, Trichopoulou A et al (1995) Mediterranean diet pyramid: a cultural model for healthy eating. Am J Clin Nutr 61(6 Suppl):1402S–1406S
19. Hashim YZ, Eng M, Gill CI et al (2005) Components of olive oil and chemoprevention of colorectal cancer. Nutr Rev 63:374–386
20. Manna C et al (2009) Olive oil phenolic compounds inhibit homocysteine-induced endothelial cell adhesion regardless of their different antioxidant activity. J Agric Food Chem 57:3478–3482
21. Owen RW, Giacosa A, Hull WE et al (2000) Olive-oil consumption and health: the possible role of antioxidants. Lancet Oncol 1:107–112
22. Bougnoux P, Giraudeau B, Couet C (2006) Diet, cancer, and the lipidome. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 15:416–421
23. Owen RW, Haubner R, Wurtele G et al (2004) Olives and olive oil in cancer prevention. Eur J Cancer Prev 13:319–326
24. Pérez-Jiménez F, Ruano J, Perez-Martinez P et al (2007) The influence of olive oil on human health: not a question of fat alone. Mol Nutr Food Res 51:1199–1208
25. Visioli F, Galli C (2002) Biological properties of olive oil phytochemicals. Crit Rev Food Sci Nutr 42:209–221
26. Escrich E (1987) Mammary cancer model induced by dimethylbenz(a)anthracene: a good experimental tool for the study of tumour markers. Int J Biol Markers 2:109–119
27. Escrich E (1987) Validity of the DMBA-induced mammary cancer model for the study of human breast cancer. Int J Biol Markers 2:197–206
28. Russo J, Gusterson BA, Rogers AE et al (1990) Comparative study of human and rat mammary tumourigenesis. Lab Invest 62:244–278
29. Escrich E, Solanas M, Segura R (1994) Experimental diets for the study of lipid influence on induced mammary carcinoma in rats: I—diet definition. In Vivo 8:1099–1106
30. Escrich E, Solanas M, Ruiz de Villa MC et al (1994) Experimental diets for the study of lipid influence on induced mammary carcinoma in rats: II—suitability of the diets. In Vivo 8:1107–1112
31. Solanas M, Hurtado A, Costa I et al (2002) Effects of a high olive oil diet on the clinical behavior and histopathological features of rat DMBA-induced mammary tumors compared with a high corn oil diet. Int J Oncol 21:745–753
32. El Halimi R, Ocaña J, Ruiz de Villa MC et al (2003) Modelling experimental mammary adenocarcinoma growth, using nonlinear mixed-effects models and S-Plus. InterStat. http://jscs.stat.vt.edu/interstat/articles/2003/abstracts/0309002.html-ssi

33. Escrich E, Ribalta T, Muntané J et al (1991) Effects of an androgenic derivative on pre-established mammary tumours chemically induced in the rat. J Cancer Res Clin Oncol 117:575–582
34. Gonçalves MH, Cabral MS, Ruiz de Villa MC et al (2007) Likelihood approach for count data in longitudinal experiments. Comput Stat Data Anal 51:6511–6520
35. Ruiz de Villa MC, Cabral MSE, Escrich E et al (1999) A non parametric regression approach to repeated measures analysis in cancer experimental. J Appl Stat 26:601–611
36. Escrich E, Solanas M, Soler M et al (2001) Dietary polyunsaturated n-6 lipids effects on the growth and fatty acid composition of rat mammary tumors. J Nutr Biochem 12:536–549
37. Moral R, Solanas M, García G et al (2003) Modulation of EGFR and neu expression by n-6 and n-9 high-fat diets in experimental mammary adenocarcinomas. Oncol Rep 10:1417–1424
38. Solanas M, Moral R, Escrich E (2000) Effects of dietary (n-6) polyunsaturated lipids on experimental mammary carcinogenesis. J Women's Cancer 2:67–72
39. Moral R, Escrich R, Solanas M et al (2011) Diets high in corn oil or extra-virgin olive oil provided from weaning advance sexual maturation and differentially modify susceptibility to mammary carcinogenesis in female rats. Nutr Cancer 63:410–420
40. Cohen LA, Epstein M, Pittman B et al (2000) The influence of different varieties of olive oil on N-methylnitrosourea (NMU)-induced mammary tumorigenesis. Anticancer Res 20:2307–2312
41. Guthrie N, Carroll KK (1999) Specific versus non-specific effects of dietary fat on carcinogenesis. Prog Lipid Res 38:261–271
42. Kritchevsky D (1999) Caloric restriction and experimental carcinogenesis. Toxicol Sci 52:13–16
43. Costa I, Esquius J, Solanas M et al (2001) Histopathologic characteristics of chemically induced mammary adenocarcinomas in rats fed diets high in (n-6) polyunsaturated lipids. Virchows Arch 439:310–311
44. Costa I, Solanas M, Escrich E (2002) Histopathologic characterization of mammary neoplastic lesions induced with 7,12 dimethylbenz(alpha)anthracene in the rat: a comparative analysis with human breast tumors. Arch Pathol Lab Med 126:915–927
45. Costa I, Moral R, Solanas M et al (2004) High-fat corn oil diet promotes the development of high histologic grade rat DMBA-induced mammary adenocarcinomas, while high olive oil diet does not. Breast Cancer Res Treat 86:225–235
46. Escrich E, Moral R, Grau L et al (2007) Molecular Mechanisms of the Effects of Olive Oil and Other Dietary Lipids on Cancer. Mol Nutr Food Res 51:1279–1292
47. Escrich E, Moral R, Solanas M (2011) Olive Oil, an Essential Component of the Mediterranean Diet, and Breast Cancer. Public Health Nutr 14(1A):2323–2332
48. Escrich E, Solanas M, Moral R et al (2011) Modulatory Effects and Molecular Mechanisms of Olive Oil and Other Dietary Lipids in Breast Cancer. Curr Pharm Des 17:813–830
49. Escrich E (1998) Endocrine aspects of breast cancer. In: Cardoso J (ed) Senology. Monduzzi Editore, Bologna
50. Wynder EL, Cohen LA, Muscat JE et al (1997) Breast cancer: weighing the evidence for a promoting role of dietary fat. J Natl Cancer Inst 89:766–775
51. Hilakivi-Clarke L, Clarke R, Onojafe I et al (1997) A maternal diet high in n-6 polyunsaturated fats alters mammary gland development, puberty onset, and breast cancer risk among female rat offspring. Proc Natl Acad Sci USA 94:9372–9377
52. de Assis S, Khan G, Hilakivi-Clarke L (2006) High birth weight increases mammary tumorigenesis in rats. Int J Cancer 119:1537–1546
53. Stark AH, Kossoy G, Zusman I et al (2003) Olive oil consumption during pregnancy and lactation in rats influences mammary cancer development in female offspring. Nutr Cancer 46:59–65
54. Sylvester PW, Russell M, Ip MM et al (1986) Comparative effects of different animal and vegetable fats fed before and during carcinogen administration on mammary tumorigenesis, sexual maturation, and endocrine function in rats. Cancer Res 46:757–762

55. Hulbert AJ, Turner N, Storlien LH et al (2005) Dietary fats and membrane function: implications for metabolism and disease. Biol Rev Camb Philos Soc 80:155–169
56. Barceló F, Perona JS, Prades J et al (2009) Mediterranean style diet effect on the structural properties of the erythrocyte cell membrane of hypertensive patients: the Prevencion con Dieta Mediterranea Study. Hypertension 54:1143–1150
57. Malaney S, Daly RJ (2001) The ras signaling pathway in mammary tumorigenesis and metastasis. J Mammary Gland Biol Neoplasia 6:101–113
58. Solanas M, Grau L, Moral R et al (2010) Dietary olive oil and corn oil differentially affect experimental breast cancer through distinct modulation of the p21ras signaling and the proliferation-apoptosis balance. Carcinogenesis 31:871–879
59. Rao CV, Newmark HL, Reddy BS (1998) Chemopreventive effect of squalene on colon cancer. Carcinogenesis 19:287–290
60. Hynes NE, MacDonald G (2009) ErbB receptors and signaling pathways in cancer. Curr Opin Cell Biol 21:177–184
61. Muraoka-Cook RS, Feng SM, Strunk KE et al (2008) ErbB4/HER4: role in mammary gland development, differentiation and growth inhibition. J Mammary Gland Biol Neoplasia 13:235–246
62. Jin Z, El-Deiry WS (2005) Overview of cell death signaling pathways. Cancer Biol Ther 4:139–163
63. Han J, Talorete TP, Yamada P et al (2009) Anti-proliferative and apoptotic effects of oleuropein and hydroxytyrosol on human breast cancer MCF-7 cells. Cytotechnology 59:45–53
64. Hardy S, Langelier Y, Prentki M (2000) Oleate activates phosphatidylinositol 3-kinase and promotes proliferation and reduces apoptosis of MDA-MB-231 breast cancer cells, whereas palmitate has opposite effects. Cancer Res 60:6353–6358
65. Llor X, Pons E, Roca A et al (2003) The effects of fish oil, olive oil, oleic acid and linoleic acid on colorectal neoplastic processes. Clin Nutr 22:71–79
66. Larsson S, Kumlin M, Ingelman-Sundberg M et al (2004) Dietary long-chain n-3 fatty acids for the prevention of cancer: a review of potential mechanisms. Am J Clin Nutr 79:935–945
67. Rose DP (1997) Effects of dietary fatty acids on breast and prostate cancers: evidence from in vitro experiments and animal studies. Am J Clin Nutr 66:1513S–1522S
68. Stoll BA (2002) N-3 fatty acids and lipid peroxidation in breast cancer inhibition. Br J Nutr 87:193–198
69. Della Ragione F, Cucciolla V, Borriello A et al (2000) Pyrrolidine dithiocarbamate induces apoptosis by a cytochrome c-dependent mechanism. Biochem Biophys Res Commun 268:942–946
70. Sun SY, Hail N Jr, Lotan R (2004) Apoptosis as a novel target for cancer chemoprevention. J Natl Cancer Inst 96:662–672
71. Jump DB (2004) Fatty acid regulation of gene transcription. Crit Rev Clin Lab Sci 41:41–78
72. Moral R, Solanas M, Manzanares EM et al (2004) Influence of DMBA-induced mammary cancer on the liver CPT I, mit HMG-CoA synthase and PPARa mRNA expression in rats fed low or high corn oil diet. Int J Mol Med 14:283–287
73. Costa I, Moral R, Solanas M et al (2011) High corn oil and extra virgin olive oil diets and experimental mammary carcinogenesis: clinicopathological and immunohistochemical p21Ha-Ras expression study. Virchows Arch 458:141–151
74. Solanas M, Moral R, Escrich E (2001) The stimulating effect of a high-fat n-6polyunsaturated diet on rat DMBA-induced mammary tumors is not related to changes in c-Ha-ras1 mRNA tumor expression. Nutr Res 21:1261–1273
75. Singh RP, Kumar R, Kapur N (2003) Molecular regulation of cholesterol biosynthesis: implications in carcinogenesis. J Environ Pathol Toxicol Oncol 22:75–92
76. Moral R, Solanas M, Garcia G et al (2008) High corn oil and high extra virgin olive oil diets have different effects on the expression of differentiation-related genes in experimental mammary tumors. Oncol Rep 20:429–435

77. Solanas M, Escrich E, Rouzaut A et al (2002) Deregulated expression of the PCPH proto-oncogene in rat mammary tumors induced with 7,12-dimethylbenz[a]anthracene. Mol Carcinog 33:219–227
78. Escrich E, Moral R, García G et al (2004) Identification of novel differentially expressed genes by the effect of a high fat n-6 diet in experimental breast cancer. Mol Carcinog 40:73–78
79. Solanas M, Moral R, Garcia G et al (2009) Differential expression of H19 and vitamin D3 upregulated protein 1 as a mechanism of the modulatory effects of high virgin olive oil and high corn oil diets on experimental mammary tumours. Eur J Cancer Prev 18:153–161
80. Russo IH, Russo J (1996) Mammary gland neoplasia in long-term rodent studies. Environ Health Perspect 104:938–967
81. Vizmanos B, Martí-Henneberg C (2000) Puberty begins with a characteristic subcutaneous body fat mass in each sex. Eur J Clin Nutr 54:203–208
82. Castellano JM, Roa J, Luque RM et al (2009) KiSS-1/kisspeptins and the metabolic control of reproduction: physiologic roles and putative physiopathological implications. Peptides 30:139–145
83. Oi-Kano Y, Kawada T, Watanabe T et al (2007) Extra virgin olive oil increases uncoupling protein 1 content in brown adipose tissue and enhances noradrenaline and adrenaline secretions in rats. J Nutr Biochem 18:685–692
84. Buckland G, Bach A, Serra-Majem L (2008) Obesity and the Mediterranean diet: a systematic review of observational and intervention studies. Obes Rev 9:582–593
85. Romaguera D, Norat T, Vergnaud AC et al (2010) Mediterranean dietary patterns and prospective weight change in participants of the EPIC-PANACEA project. Am J Clin Nutr 92:912–921
86. Soriguer F, Almaraz MC, Ruiz-de-Adana MS et al (2009) Incidence of obesity is lower in persons who consume olive oil. Eur J Clin Nutr 63:1371–1374
87. López-Miranda J, Pérez-Jiménez F, Ros E et al (2010) Olive oil and health: summary of the II international conference on olive oil and health consensus report, Jaén and Córdoba (Spain) 2008. Nutr Metab Cardiovasc Dis 20:284–294
88. Perez-Jimenez F, Alvarez de Cienfuegos G, Badimon L et al (2005) International conference on the healthy effect of virgin olive oil. Eur J Clin Invest 35:421–424
89. Bach-Faig A et al (2011) Mediterranean diet pyramid today. Science and cultural updates. Public Health Nutr 14(12A):2274–2284

Doğal Antioksidanların Enflamasyon ve Karaciğer Kanseri Üzerindeki Etkilerinin Araştırılmasına Holistik Bir Yaklaşım

Susan Costantini, Giovanni Colonna ve Giuseppe Castello

Özet

Kemoterapinin kısıtlı etkinliği ve kanserlerin yüksek rekürans oranları acil olarak yeni moleküler hedeflerin belirlenmesi ve yeni tedavilerin geliştirilmesi ihtiyacını ortaya koymaktadır. Çok sayıda güncel epidemiyolojik çalışmada meyve ve sebze tüketimi, doğal antioksidanlar ile kanser arasında ters orantılı bir ilişkinin varlığı vurgulanmaktadır. Kanserin önlenmesi ve tedavisinde diyet veya bitkisel kaynaklı takviyeler yoluyla alınan antioksidanların kullanımı kuvvetle önerilmektedir. Sebze, mineral veya hayvansal kaynaklı maddeler olan antioksidanlar serbest radikalleri nötralize ederek, plazma membranı, proteinler ve DNA üzerindeki olumsuz etkilerinden vücudu korumaktadır. Bu nedenle immun sistemin stimülasyonu ile kanser hücrelerinin yok edilmesi veya proliferasyonlarının bloke edilmesi ile kanserin önlenebilmesi mümkündür. Yaşayan organizmaların bütün ve kompleks bir sistem olarak "omik bilimleri" tarafından incelenebiliyor olması, genler, mRNA, proteinler ve metabolitler ile ilgili anlayışın gelişmesine ve global mekanizmalarının anlaşılabilmesine yol açmıştır. Bizim amacımız biyoinformatik ve sistemler biyolojisini kullanarak enflamatuar proseslerin gelişiminde önemli rol oynayan ve kanserde de önemli bir komponent olan sitokinomu incelemektir. Kanser kronik enflamasyondan kaynaklanabilen, tip 2 diyabet ve obezite ile de eş zamanlı görülebildiği kabul edilen bir hastalıktır. Bu bölümde sitokinomları oluşturan proteinlerin tamamını ve biyolojik hücrelerin içindeki ve çevrelerindeki etkileşimlerini tanımlayacağız.

S.Costantini (✉) · G. Castello
Istituto Nazionale per lo Studio e la Cura dei Tumori, Fondazione Giovanni Pascale–IRCCS-Italia, Via Ammiraglio Bianco, 83013, Mercogliano, AV, Italy
e-mail: susan.costantini@unina2.it

G. Colonna (✉)
Department of Biochemistry, Biophysics and General Pathology (Second University of Naples), via Costantinopoli 16, 80138, Naples, Italy
e-mail: giovanni.colonna@unina2.it

V. Zappia et al. (eds.), *Advances in Nutrition and Cancer,*
Cancer Treatment and Research 159, DOI: 10.1007/978-3-642-38007-5_18,
© Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2014

Kanserden etkilenen hastalardaki kompleks sitokinom ağının anlaşılması hem kanserin gelişiminin ilk evrelerinden itibaren takip edilmesi, hem de biyolojik sistem yaklaşımları kullanarak yenilikçi terapötik stratejilerin tanımlanmasında çok faydalı olacaktır. Bu bölümde grubumuzun "omik" mantığını kullanarak yaptığı çalışmalardan elde edilen bazı sonuçları gözden geçireceğiz ve (1) Özellikle hepatoselüler karsinomu da içeren multifaktöryel kanser gibi kompleks sistemlere global yaklaşım gereksinimini, (2) Doğal antioksidanlar, enflamasyon ve karaciğer kanseri arasındaki korelasyonu, (3) Sitokinom profilinin zorluklarını ve önemini, (4) Tip 2 diyabet ve/veya kronik hepatit C enfeksiyonu olan hastalardaki sitokinom profilinin değerlendirmesini, (5) Adipokin interaktomunu inceleyeceğiz.

Anahtar Kelimeler

Sistemler biyolojisi • Kompleks sistemler • Sitokinom • Enflamasyon

Kısaltmalar

ACE	Anjiotensin dönüştürücü enzim
ADIPOQ	Adiponektin
AGT	Anjiotensin II
KHC	Kronik hepatit C
KKH	KHC ve tip 2 diyabet
CXCL1	Kemokin (CXC motif) ligand 1
CXCL9	Kemokin (CXC motif) ligand 9
GIP	Glukoza bağımlı insülinotropik peptid
HCC	Hepatoselüler karsinom
HGF	Hepatosit büyüme faktörü
IL-1	İnterlökin-1
JAK	Janus kinaz
LC	KKH- ile ilişkili siroz
LCD	KHC- ile ilişkili siroz ve tip 2 diyabet
MIF	Makrofaj migrasyon inhibitör faktörü
NF-κB	Aktive B hücrelerinde nükleer faktör kappa hafif zincir güçlendirici
NGF	Sinir büyüme faktörü
NR3C1	Nükleer reseptör alt ailesi 3 grup C, üye 1
PAI-1	Plazminojen aktivatör inhibitörü-1
D (POLR2D)	Polimeraz (RNA) II (DNA tarafından yönetilen) polipeptid
RBP4	Retinol bağlayıcı protein 4
RELA	V-rel retiküloendotelioz viral onkogen homoloğu A
ROS	Reaktif oksijen türleri
SFR5	Salgılanan kıvrımla ilişkili protein 5
STAT3	Sinyal dönüştürücü ve transkripsiyon aktivatörü

T2D	Tip 2 diyabet
TNT	Tümör nekroz faktörü
USF1	Yukarı yönlü stimulatör faktör 1

İçindekiler

1 "Omik" Çağında Biyolojinin Yeni Mantığı 313
2 Doğal Antioksidanların Enflamasyon ve Karaciğer Kanseri Üzerindeki Etkilerinin Araştırılmasına Holistik Bir Yaklaşım 314
3. Tip 2 Diyabet ve/veya Kronik Hepatit C Enfeksiyonu Olan Hastalardaki Sitokinom Profili 317
4 Adipokin İnteraktomu 320
5 Sonuçlar 321
Referanslar 322

1 "Omik" Çağında Biyolojinin Yeni Mantığı

Biyolojik bilimler geçtiğimiz yüzyılın sonuna kadar, biyolojik objenin parçalarının analiz edilerek yaşam süreçlerinin açıklanmasına dayanıyordu. Tipik olarak analitik ve indirgeyici olan bu yaklaşım, yaşayan organizmaların genler, proteinler ve metabolitler gibi hemen tüm moleküler özelliklerinin anlaşılmasına yardım etmişti. Sistemin tek tek tüm komponentlerinin incelenmesine odaklanmıştı. Ancak sistemin bir bütün olarak nasıl davranacağını öngöremiyordu. Sistem aynı ortamda bulunarak birbirleri ile etkileşime giren çok sayıda yapıtaşının oluşturduğu bütün olarak tanımlanabilir. Özellikleri komponentlerini oluşturan elemanların yapısına bağlıdır. Sistem ayrıca dışarıdan gelen uyarılar ile etkileşime girebilir ve cevap verebilir. Birbiriyle etkileşime giren komponentlerin sayısı çok fazla ise kompleks bir sistemden bahsedilir. Kompleks sistemlerin çarpıcı bir özelliği, komponentleri arasındaki etkileşimler ile ortaya tahmini güç olan özelliklerinin (gelişen özellikler) çıkmasıdır. Sistemlerin içinde dinamik olarak rol oynayan unsurların indüklediği adaptasyon, kendini organize etme ve problemlere cevap verebilme gibi özelliklerin etkisi ile kompleks bir davranışa sahip olduklarını söyleyebiliriz. Bu nonlineer etkileşimler, tekil komponentlerin işlevlerine bakarak tahmin edilemeyen farklı durumların ve devamında da davranışların ortaya çıkmasına neden olur. Borsa, ekosistemler ve kuş sürülerinin özelliklerini tahmin etmekte kullanılan bu prensiplerin biyolojiye uygulanması ise yakın zamanda gerçekleşmiştir.

Biyolojide yaşayan canlıları bir bütün olarak değerlendirilmesi ile ilgili bilgilerimiz sınırlı düzeydedir. Ancak biyolojik sistemleri yöneten organizasyonal güçlerle ilgili

kanunlar kollektif fenomenin ve sistemlerin fonksiyonları için gereken yapının anlaşılmasında hayati rol oynamaktadır. "Omik bilimleri" bir çevredeki "biyolojik aktörlerin" bütün olarak anlaşılmasındaki ilk basamak olup, genler (genomik), mRNA (transkriptomik), proteinler (proteomik) ve metabolitler (metabolomik ile) ile ilgili verilerin bütün olarak anlaşılmasını ve tanımlanmasını amaçlar. Ancak farklı "omik" düzeyleri arasındaki ilişkileri tanımlayacak bir yöntem henüz geliştirilememiştir. Biyolojik bilimler giderek daha fazla veri üretmektedir. Yeni hücresel teknikler ve moleküler analizler ile yorumlanan bu bilgilerin yorumlanmasında, sadece tekil komponentlerin değil, bu komponentlerin aralarındaki ilişkilerin de analiz edilmesi gerekir. Sadece bu şekilde protein katlanması veya bazı majör hastalıkları açıklamakta yetersiz olduğu bilinen tipik, analitik ve indirgemeci prosedürlerden kaçınılabilir.

Kompleks sistemlerin küçük komponentlere ve basit birimlere ayrılmasının organizasyonu ve yeni bir özelliği anlamakta yetersiz olduğu günümüzde yaygın olarak kabul edilmektedir. Komponentlerin aralarındaki etkileşimlere ve ağlara odaklanmak kompleks karakteristiklerini çözümleyebilmek adına çok önemlidir.

Bu bağlamda, sistemlerin tüm olası durumlarını içeren birimler arasında bulunan çok yüksek sayıdaki bağlantılar göz önüne alınmalıdır. Grafikler ve nöral düğümler gibi matematiksel araçlar fonksiyonel ağların anlaşılabilmesi amacıyla sıklıkla kullanılmaktadır. Çünkü sadece bu yolla kanser gibi patolojik proseslerden etkilenen metabolik davranışın kapsamlı bir bakış açısıyla anlaşılması sağlanabilir. Dikkate alınması gereken bir başka konu da çevreden kaynaklanan anormalliklerin tüm sistemi ilgilendiren değişimleri indükleyebilme ihtimalidir.

2 Doğal Antioksidanların Enflamasyon ve Karaciğer Kanseri Üzerindeki Etkilerinin Araştırılmasına Holistik Bir Yaklaşım

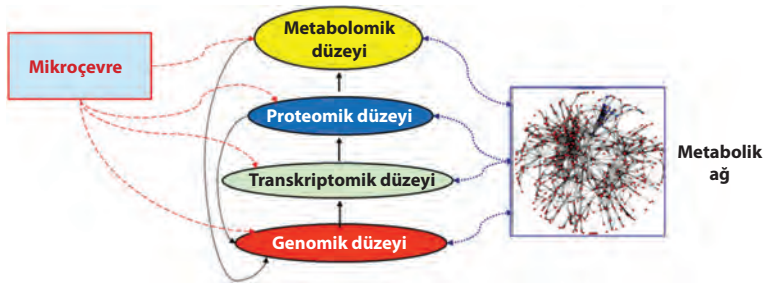
İnsan diyetindeki antioksidan bileşiklerin, oksidatif metabolizma ile oluşan reaktif oksijen türleriyle (ROS) etkileşimi hakkında bir çok yayın mevcuttur [1]. Bir antioksidanın etkisini gösterebilmesi, metabolize ve elimine olabilmesi için hücresel metabolik proseslerle etkileşime girmesi gerekir [2]. Antioksidanların spesifik moleküler özellikleri hakkında yeterli veri olmasına rağmen, gerçek fizyolojik faydaları ve metabolik aktiviteleri hakkındaki bilgiler yetersizdir [2]. Antioksidanların özellikle spesifik hücresel bölgelerdeki etkileri ile ilgili, sıklıkla çelişkili sonuçlar içeren birçok çalışma vardır. Ancak daha geniş metabolik ağdaki aktiviteleri ve global etkileri ile ilgili olarak az miktarda veri mevcuttur. Genel olarak, antioksidanların etkilerini popülasyonlardaki bireylerde kısıtlı zaman periyodlarında yapılan ve makroskopik etkilerini açıklayan epidemiyolojik çalışmalar ile anlamaya çalışıyoruz. Bu etkiler sıklıkla U şekilli eğriler ile karakterize olmaktadır. Eğrideki geniş minimum değer fizyolojik olarak aktif olması gereken konsantrasyonu gösterir. Eğrinin yükselen kolları ise fizyolojik ve hatta

toksik etkiler ile ilişkili değildir [3, 4]. Bu antioksidanları içeren diyetlerin, kanser hastalarındaki progresyonun sınırlanması amacıyla kombine edilmesi konuyu daha da karışık hale getirmektedir. Biyolojik olarak multi-etyolojik bir hastalık olan kanserin farklı hücresel ve metabolik özellikleri farklı bir hastalık olduğunu ortaya koymaktadır [5]. Bu durum antioksidan bileşiklerin kanserli hastalardaki genel etkilerini anlamamızı zorlaştırmaktadır.

Milenyumun ilk yıllarına kadar yapılan çalışmaların çoğunda kullanılan bilimsel rasyonel hala indirgemeci mantığı yansıtmaktaydı. Bu çalışmalar tekil biyolojik moleküllerin ve/veya spesifik bir hücre bölgesinin özellikleri hakkında önemli bilgiler sağlamıştır. Ancak entegrasyonları ve genel bakış açıları yetersizdir. Bu milenyumun ilk yıllarında geliştirilen İnsan Genom Projesi kapsamında biyologlar tarafından geliştirilen holistik bakış açısı, "omik" teknolojileri tarafından yeterince desteklenmiş ve sistemler biyolojisi adı altında çok büyük miktarda verinin kompleks istatistiksel analizinin yapılmasını sağlamıştır [7]. Çalışma grubumuz düşük sağkalım şansı olan letal bir kanser türü olan hepatoselüler karsinom ile ilgili son yıllardaki çalışmalarında bu kapsamlı yaklaşımı kullanmaktadır [8]. Bu hastalık dünya çapında olduğu gibi güney İtalya'nın Campania bölgesinde de yaygın olup en tehlikeli kanser türlerinden bir tanesidir.

Ana objektifimiz deneysel ve sayısal veriler yardımıyla, tip 2 diyabet ve obezite varlığında (ya da yokluğunda) karaciğer kanserine yol açan kronik enflamatuar prosesleri araştırmaktı [9]. Kapsamlı bir yaklaşımla yapılan bu çalışmalar sadece "omik" bilimlerinden (genomik, transkriptomik, proteomik ve metabolomik) elde edilen verileri değil, aynı zamanda aralarındaki olası ilişkilerin karaciğer kanserinin gelişimini ve progresyonunu regüle eden metabolik ağın tamamının tanımlanmasını da göz önüne almaktadır [7]. Bu şekilde indirgeyici bir yaklaşım yerinde geniş kapsamlı global bir bakış açısına ulaşmak mümkün olacaktır. Farklı "omik" düzeylerinin fizyolojik ve/veya kanser şartlarındaki hepatositlere entegre edilmesi ile metabolik ağlar hakkında elde edilecek farklı bakış açısı, evrelerin ve hastalığın progresyonuna bağlı olarak oluşan değişimlerin ve önemli fizyolojik fonksiyonları kontrol eden temel öneme sahip metabolik nodların tanımlanmasına yardımcı olacaktır. Bu bilgileri, sadece bu şartlar altında hastalığın erken evrelerindeki patolojik değişimleri tanımlayarak hedefli metabolik veya farmakolojik yaklaşımlara yönelik olarak kullanabiliriz. Bu sonuca ulaşabilmek için farklı düzeylere özgü verileri kullanmamız gerekmektedir. Şekil 1'de çok daha basit bir biyolojik modele uyguladığımız mantıksal yaklaşımın şeması görülmektedir. Farklı düzeylerle ilgili verilerin çözülmesi gereken problemle ilgili bir şekilde entegre edilmesi gerekmektedir. Çevrenin (çoğunlukla diyette bulunan besin öğelerinden kaynaklanan) hücresel sistemler üzerinde farklı düzeylerde anormalliklere yol açtığı görülmektedir. Metabolik ağın sinyal sisteminin net olarak tanımlanması önemlidir. Bir hastalığın progresyonunu ve oksidatif strese karşı kullanılan gıda takviyelerinin başarılı olup olmadıklarını anlayabilmek için normal ve patolojik hücrelerdeki farklı düzeylerdeki bilgi alışverişlerinin anlaşılması önemlidir. Bu nedenle yaklaşık 50 farklı sitokin, kemokin ve büyüme faktörü ile hastalardaki sitokinom sinyallerini değerlendiren multipleks

immunoassay adı verilen modern bir teknik kullanıyoruz. Bu yaklaşım "omik" mantığı ile ilişkilendirildiğinde önemlidir. Hücreler sitokin sinyallerini membranlarında bulunan uygun reseptörler ile algılarlar. Ancak bu reseptörler ile çalışma yapmanın bazı kısıtlamaları vardır: (1) Çok duyarlı antikorlar ile yapılan testler ve floresan (ELİZA) kullanıldığında bile sadece daha fazla sayıda olan reseptörler araştırılabilmiştir; (2) Reseptörlerin pleiotropik özelliklere sahip olmaları nedeniyle farklı sitokinlere karşı afinitelerinin olması, benzer mesajların farklı reseptörler tarafından üretilmesine yol açmaktadır; (3) Biyolojik mesaj tanımı sadece bazı reseptörler için bilinmektedir. Yetersiz derecede temsil edilen (plazmada daha düşük konsantrasyonlara sahip olan) sitokinler tarafından taşınan tüm bu mesajların anlamını bilmiyoruz Ayrıca bu mesajların reseptörler tarafından gereksiz bilgi olarak mı yoksa farklı bilgi içeren mesajlar olarak mı algılandığını bilmiyoruz [10, 11]. Ciddi ve geliştirilmiş sensitiviteye sahip protein çipleri günümüzde mevcuttur. Farklı sitokinlerin eş zamanlı tespitine floresan/lazer/antikor bazlı yeni bir test teknolojisi ile olanak tanırlar (multipleks teknolojisi). En doğru, sensitif ve tekrar edilebilir sonuçları verebilen bu test çok küçük serum, plazma veya hücresel süpernatan örnekleri değerlendirebilmektedir. Bu teknolojinin çok ilginç başka bir yönü de, yetersiz temsil edilen sitokinleri sayısal olarak gösterebilmesidir [12, 13]. Bu yeni holistik paternin parçası olan sitokin paternlerine "sitokinom" adı verilir [14]. Sitokinler bir bilgi ağı oluşturan hücre sinyallerinde internete benzer mantıkla, kapilerlerin bir organizmanın tüm hücresel sistemlerine bağlanan bölümlerinde etki gösterirler. Bu ağın kapsamlı bir tanımının yapılması birçok kronik enflamatuar hastalığın patojenik evrimlerinin anlaşılabilmesinde önemlidir. Ancak hala cevaplanmamış birçok soru mevcuttur. Örneğin kronik enflamatuar hastalıklarda tüm sitokin paterni içinden hangilerinin rol oynadığı bilinmemektedir. Tüm sitokinlerin tüm hastalıklarda aynı yolla ve genel olarak rol oynayıp oynamadıkları veya belirli bir patolojinin farklı sitokin tip ve sınıfları ile ilişkili olup olmadıkları bilinmemektedir. Belirli hastalıkta hangi sitokinlerin geliştiği de henüz aydınlatılmamıştır. Bu cevapların bilinmesi kronik enflamatuar hastalıkların progresyonunda rol oynayan sitokinomların dinamiklerinin değerlendirilmesine yardımcı olacaktır. Ancak en önemlisi prognozun önceden tahmin edilmesini de sağlayabileceklerdir. Sitokin ağının bir başka karmaşık yönü de sitokin kodlayan bazı genlerin alternatif birleşme yoluyla sitokin varyantlarının (izoformlar) oluşumuna yardımcı olmasıdır. Bu durum yapısal olarak hafifçe farklı olsalar da biyolojik aktiviteleri anlamlı olarak farklı moleküllerin ortaya çıkmasına neden olur. Bu bulgu sitokinlerle korelasyon gösteren gen ekspresyonlarının incelenmesinin niçin her durumda faydalı olacağını açıklamaktadır. Daha önce yapılan çalışmalarda bazı kanser türlerinde önemli mutasyonlar tanımlanmıştır. Ancak bu çalışmaların kısıtlı bir gen setine odaklanmış olmaları mutasyonal spektrumun sınırlı bir görüntüsünü sunabilmelerini sağlamıştır. Sitokinin fonksiyonlarının doğru ve kapsamlı olarak anlaşılabilmesi serum konsantrasyonlarının eş zamanlı ve uyumlu ölçümlerinin yapılması ile mümkün olsa da, sitokinom yaklaşımının kullanılmasının bir diğer avantajı da multipleks teknolojisinden kaynaklanmaktadır. Aynı biyolojik sıvıdaki farklı moleküllerdeki bağımsız sitokin konsantrasyonlarının ölçülerek doğru internal oranların elde edilmesi güçtür.



Şekil 1 Farklı omik düzeyleri arasındaki ilişkinin şematik gösterimi.

Çünkü konsantrasyonlar arasındaki farklılıklar çok farklı büyüklük basamaklarına sahiptir. Ancak günümüzde sitokinlerin serum düzeylerini efektif olarak tanımlamak ve güvenilir internal konsantrasyon oranlarını hesaplamak geniş spektrumlu, boncuk tabanlı (bead-based) multipleks immunoassay kullanımı ile mümkün olmaktadır. Bu nedenle sitokinlerle ilişkili tüm veriler grafikler veya farklı veri gruplarına bağlanabilen ağlar (mikroarray ve multipleks biyometrik ELISA tabanlı immunoassay kullanılarak elde edilen gen ve protein ekspresyonu ile ilgili) kullanılarak analiz edilebilir ve modellenebilir. Böylece metabolik ve/veya fizyolojik aktivitelerin ve/veya patojenik yolakların olasılık haritaları elde edilebilir. İnsan sitokinomunun tanımlanması, gelecekte hem sağlıklı bireylerdeki hem de kanser hastalarındaki sitokin ağlarının analizinde kullanılan önemli bir araç olabilir. Bu sayısal modellerin kullanılması ile kronik enflamatuar proseslerin regresyonunun sitokinlerin hücresel popülasyonlarını etkileyerek kanseri nasıl bloke edebileceğini anlamak kolaylaşacaktır. Bu bilgi klinisyenler için kullanışlı bir prognostik ve diyagnostik araç olacaktır.

3 Tip 2 Diyabet ve/veya Kronik Hepatit C Enfeksiyonu Olan Hastalardaki Sitokinom Profili

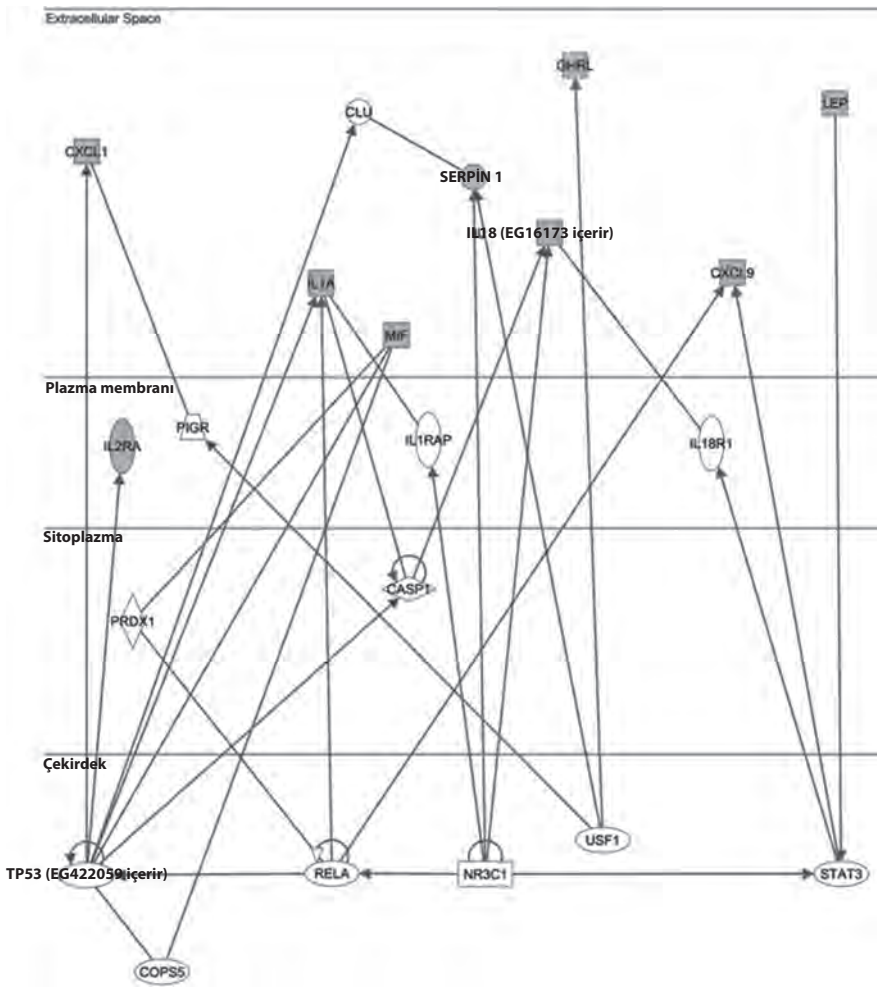
Karaciğerde hepatoselüler karsinom gelişimine neden olan metabolik olayların karmaşıklığı, bazı hastalıkların (hepatit virüsleri, diyabet, obezite) gelişiminde rol oynayan moleküler mekanizmaların anlaşılmasının önünde hala ciddi bir engeldir. Bağımsız ya da bağımlı olarak etki gösteren bu moleküler mekanizmalar sonuçta sıklıkla kanser gelişimine neden olmaktadır. Patolojinin progresyonunu yöneten farklı bilgi sinyallerinin birbirinden ayrıştırılarak tanımlanması, köken ve metabolik etkilerin hastalığın tanımlanmasındaki gerçek önemlerinin doğru olarak anlaşılabilmesi için önemlidir.

Ancak bu prensibe göre hareket edilmediğinde, herhangi bir nütrisyonel takviyenin metabolik önemini anlamak pratikte imkansızdır. Bu takviyelerin makroskopik ve fenotipik etkilerinin her zaman gösterilebilmesi mümkündür. Ancak metabolik ağ düzeyinde ne tür etkilere yol açtıklarını hiçbir zaman öğrenemeyebiliriz. Bu nedenle şu andaki çalışmalarımız multipleks teknoloji ile geliştirilen paneller kullanılarak birçok patojenik sitokinin kökenlerini tanımlamaya odaklanmıştır.

Genel olarak hem tip 2 diyabetin (T2D) hem de kronik hepatit C (KHC) enfeksiyonunun hepatoselüler karsinom (HCC) gelişim riskini artırdığını söyleyebiliriz [15, 16]. Sitokinlerin sadece insülin rezistansında ve glukoz kullanımında değil, karaciğerdeki viral enfeksiyonlardaki patolojik proseslerde de önemli rol oynadıkları bilinmektedir [12]. Bu nedenle, KHC, KHC'ye bağlı siroz, T2D, KHC ve T2D, KHC'ye bağlı siroz ve T2D ve sağlıklı kontrollerde bu hastalıkların farklı evrelerinin ayrımını yapabilmek amacıyla, birçok sitokin, kemokin, adipokin ve büyüme faktöründen oluşan panellerin serum seviyeleri BioPlex testi ile ölçülmüştür [9].

Elde edilen sonuçlar b-NGF, CXCL1, CXCL9, Cpeptid, GIP ve adiponektin ekspresyonunun T2D dışındaki tüm hasta gruplarında yukarı regüle olduğunu göstermiştir. Bu bulgu fibroz, siroz ve kanser progresyonuna yol açabilecen KHC enfeksiyonu (ya da KHC ile birlikte T2D'nin) ile ilişkili olabileceklerini göstermektedir. Ayrıca Tip 2 diyabetin KHC enfeksiyonunun gidişatını modifiye edebilen bir kofaktör olduğunun bilinmesi ve bağımsız bir HCC göstergesi olarak kullanılabilmesi nedeniyle [16], T2D ve KHC hastalarındaki anlamlı moleküller karşılaştırılmıştır. Sonuçlarda (1) KHC hastalarındaki girelin ve leptin düzeylerinin T2D hastalarına göre daha düşük olduğu, (2) KHC hastalarındaki IL-1a, insülin ve PAI-1 düzeylerinin T2D hastalarına göre daha yüksek olduğu, (3) CXCL1, CXCL9, b-NGF, C-peptid, GIP ve adiponektin düzeylerinin sadece KHC hastalarında yüksek olduğu, (4) HGF ve glukagonun sadece T2D hastalarında yüksek olduğu bulunmuştur.

Tüm bu moleküller ilgili fonksiyonları ve literatürde bildirilen deneysel çalışma sonuçlarını kullanarak bir veri ağı oluşturan Ingenuity Yolak Analizi 7.1 (Ingenuity Systems Inc., Redwood, Kaliforniya, ABD) kullanılarak analiz edilmiştir (Şekil 2). Bu grafik transkripsiyon 3 (STAT3), NR3C1 (nükleer reseptör alt ailesi 3, grup C, üye 1), NF-κB (RELA adı da verilir), TP53 (tümor p53), ve yukarı yönlü stimülan faktör 1'in (USF1) adlı sinyal dönüştürücüsü ve aktivatörü olan beş ana geni göstermektedir. Leptin tarafından indüklenen STAT3 [17], CXCL9 gibi STAT1'e bağımlı enflamatuar genlerdeki IFN indüksiyonunda rol oynamaktadır [18]. Bu nedenle T2D hastalarındaki yüksek leptin düzeylerinin STAT3 ekspresyonunu artırdığı ve ilgili CXCL9'u da suprese ettiği hipotezinin geliştirilmesi mümkün olmuştur. Diğer taraftan kortizol ve diğer glukokortikoidlerin bağlandığı NR3C1 reseptörü de STAT3 ve RELA ile etkileşime girmektedir [19]. Şekil 2'de gösterilen ağ, RELA'nın TP53, MIF, CXCL9 ve IL-1a ekspresyonunu regüle ederken, TP53'ün ise CXCL1, IL-2R, IL-1a, MIF, PAI-1 (SERPINE1 adı da verilir), ve IL-18 ekspresyonunu regüle ettiğini göstermektedir. Bu durum KHC hastalarındaki CXCL1, IL-1a, IL-18, PAI-1 ve CXCL9 düzeylerinin niçin daha yüksek olduğunu açıklayabilir. USF1 ise glukoz, lipid ve hepatik metabolizmadaki çok



Şekil 2 Bu grafik Ingeniuty Yolak Analizi bilgisayar programı ile elde edilen T2D ve KHC hastalarındaki (*gri semboller*) önemli sitokinlerle ve diğer moleküllerle (*beyaz semboller*) yakından ilişkili olan ağı göstermektedir ([9] nolu referanstan uyarlanmıştır).

sayıda genin regülasyonunda rol oynamaktadır. USF1 ekspresyonu KHC hastalarındaki karaciğer fibrozunun progresyonu sırasında aşağı regüle olmaktadır [20]. Bu bulgu KHC hastalarındaki girelin ekspresyonunun T2D hastalarına göre niçin daha düşük olduğunu açıklamaktadır. Ayrıca HGF'nin sadece KHC hastalarında normal değerlerde bulunması da dikkate değerdir. Bu büyüme faktörü epitel ve endotel hücrelerindeki mitojenik, motojenik (metastogenez dahil) ve morfojenik etkileri reseptörü olan proto-onkogen Met ile stimüle etmektedir. Met'in HGF bağlanması ile aktive olması

hücre büyümesi ve sağkalımı ile PI3-kinase/PDK/Akt ve Ras/Raf/MEK/ERK yolaklarının aktivasyonu yoluyla, hücre mobilitesi ve sitoskeletal organizasyon ile de RhoGT-Pazlar, Rho, Rac, ve CDC42 aktivasyonu yoluyla ilişkilidir. HGF ve Met birçok kanser türünün progresyon, invazyon ve metastaz özelliği ile ilişkilidir. Bu nedenle sinyalleri kanser tedavilerinin geliştirilmesinde ana hedef durumundadırlar [21]. HGF düzeyleri KHC hastaları dışındaki tüm hasta gruplarında yükseldiği için bu proteinin T2D hastalarındaki kronik enflamasyonun kansere dönüşümünü tahmin etmekte kullanılması mümkündür [13]. Bu çalışma genel olarak, büyük bir sitokin panelinin eş zamanlı sayısal tespitinin, yüksek ve düşük oranda temsil edilen moleküller arasındaki doğru oran ve dinamikleri gösterebilmesinin mümkün olduğunun göstergesidir. Ayrıca doğru, basit, spesifik, noninvazif, tekrar edilebilen ve pahalı olmayan bir yöntem olduğu için, gelecekte rutin klinik pratikte tip 2 diyabet ve/veya KHC ile karaciğer sirozu ve muhtemelen de kanser arasındaki ilişkinin takibinde kullanılarak, bu hastalıklarının prognozlarının iyileştirilmesine katkıda bulunabilir.

4 Adiponektin İnteraktomu

Adipöz doku hem lokal (otokrin/parakrin) hem de sistemik (endokrin) etkileri olan farklı adipokinleri eksprese edebilir ve salgılayabilir. Adipöz doku bu efferent sinyallere ek olarak, klasik hormon sistemlerinin afferent sinyallerine cevap verebilmesini sağlayan birçok reseptörü de eksprese eder. Adipöz doku, depolama ve enerji salımı için gereken biyolojik repertuvara ek olarak uzak organlarla iletişime izin veren metabolik mekanizmaları da içerir. Adipöz doku bu interaktif ağı kullanarak enerji metabolizması, nöroendokrin fonksiyon ve immun fonksiyon gibi bir dizi biyolojik prosesin koordinasyonuna entegre olarak rol oynar [22]. Grubumuzun son zamanlarda başlattığı bir çalışmada tip 2 diyabet, obezite ve kanser arasındaki muhtemel bir bağlantıya işaret eden adipokin ağının kompleks etkileşimleri incelenmektedir [23]. İnsan proteomunun tamamından elde edilen bu birbiri ile ilişkili ağ için, Biogrid, HPRD, MINt ve Yolak Etkileşim Veri Tabanı, ve Verona Üniversitesi tarafından manuel olarak oluşturulan ve güncellenen veri tabanı (önceki versiyonu 11.210 nodül içermektedir) kullanılmıştır [24]. 21.289 köşesi (interaksiyon) olan 729 nodülden (protein) oluşan adipokin ağı ADIPOQ ve SFRP-5 gibi direkt etkileşime giren iki izole komponent içerir. Bu ağın bağlantılı komponenti 21.286 interaksiyon içeren 724 nodülden oluşur ve ortalama kümelenme kat sayısı 0.586'dır. Ortalama kümelenme kat sayısı dağılımının gelişimi ile tanımlanan metabolik ağların modüler organizasyonu ve ağ heterojenitesi (bağlanabilirlik varyansı) ile ilişkili değer, bir ağın ana nodüller içerme eğiliminin göstergesidir.

Bir ağdaki sıkışmış proteinler ana birleştiricileri temsil ettikleri için ağın önemli ve vazgeçilmez nodülleridir [25]. Ayrıca merkezi konumun arada kalma düzeyi bir ağdaki tepe ya da köşenin muhatap olduğu trafik miktarı ile ifade edilir [26]. Stres merkeziyeti en kısa yolakların çok sayıda olduğunu göstermektedir [27]. Bu nedenle sıkışıklığın, arada olmanın ve stresin dereceleri ağdaki önemli ve temel nödüllerin karakterize edilebilmeleri amacıyla hesaplanmıştır. Bu değerler tüm adipokinler arasında sadece anjiotensin II (AGT) için yüksek derecede tespit edilmiştir. Birinci sıradaki AGT interaktomunu araştırdığımızda, adipokinin 19 protein ve 27 interaksiyon ile etkileştiğini ve kan basıncının regülasyonu ile ilişkili çok sayıda metabolik prosesi regüle ettiğini tespit ettik. Ayrıca anjiotensin dönüştürücü enzim 2 de (ACE2), AGT ve girelin arasındaki zayıf bir ilişki meydana getirerek leptin ve IL-6 ile etkileşime girmektedir. IL-6 ağındaki JAK1, JAK2, STAT1 ve STAT3 gibi komponentler de TNF ve omentin gibi diğer adipokinlerin fosforilasyonunun regülasyonunda rol oynamaktadır. Adipokin ağının detaylı analizi 0.840 ortalama kat sayısı olan POLR2D'nin (RBP4 adı da verilir) bir diğer yüksek oranda kümelenen ağ komponenti olduğunu göstermiştir. Bazıları RNA bağlanması, metabolik yolaklar, gen ekspresyonu ve DNA tamiri gibi farklı hücresel aktivitelerle ilişkili olan 257 protein ve 10.920 interaksiyon ile etkileşime girer. IL-6, IL-8, adipsin, TNF ve rezistin gibi birçok adipokin RBP4 ile ikinci sıra derecesinde etkileşime girer. Tüm bu veriler adipokinlerin birbirleri ile etkileşime girerek kompleks bir ağ oluşturduklarını ve obezite ve kanser gelişimini desteklemek için uyum için çalıştıklarını göstermektedir.

5 Sonuçlar

Çok sayıda güncel epidemiyolojik çalışmada meyve ve sebze tüketimi, doğal antioksidanlar ve kanser tüketimi arasında ters orantılı bir ilişkinin varlığı vurgulanmaktadır. Kanserin önlenmesi ve tedavisinde diyet veya bitkisel kaynaklı takviyeler yoluyla alınan antioksidanların kullanımı kuvvetle önerilmektedir (Storner ve Mukhtar 1995). Sebze, mineral veya hayvansal kaynaklı maddeler olan antioksidanlar serbest radikalleri nötralize ederek, plazma membranı, proteinler ve DNA üzerindeki olumsuz etkilerini önleyerek vücudu korumaktadır [28, 29].

Ancak antioksidan takviyelerle ilişkili çalışmaların, sıklıkla çok dar bir metabolik bakış açısıyla detaylı metabolik etkilere odaklandığını ve tüm organizma ile fizyolojik yapıda mevcut olan geniş metabolik ağ ile yeterince ilişkili olmadığını gözlüyoruz. Daha çok zaman isteyen, birçok farklı yetenek gerektirdiği için çok daha kompleks olan ve çok ciddi sayısal analizler gerektiren bir yöntem olmasına rağmen bu kısıtlamayı aşmanın en iyi yolunun sistemler biyolojisi yaklaşımı olduğuna inanıyoruz.

Çalışmalarımız hepatokarsinom progresyonunu destekleyen metabolik ağın anlaşılmasına odaklamıştır. Enflamasyon, tip 2 diyabet, obezite ve kanser arasındaki ilişkiye olan ilgi son yıllarda yeniden artmaya başlamıştır. Sitokinlerin bu hastalıkların evrimlerinde önemli rol oynayan moleküllerden olduğuna inanıyoruz. Enflamasyonun öncesinde ve sırasında eksprese olan bu proteinler hastalıkların çeşitli evrelerinde önemli bir rol oynarlar. Bu nedenle kanserin ve spesifik evrimsel basamaklarının spesifik markerları olarak değerlendirilebilirler [12, 13]. Son zamanlarda, KHC, KHC'ye bağlı siroz, KHC ve T2D, KHC'ye bağlı siroz ve T2D hastalarındaki birçok sitokin, kemokin, adipokin ve büyüme faktörünün serum düzeyleri geniş spektrumlu, boncuk tabanlı multipleks immunoassay kullanımı ile değerlendirilmiştir Elde edilen veriler bazı proteinlerin serum düzeylerinin yukarıda sayılan tüm hastalıklarda arttığını, diğer bazılarının ise sadece bir hastalıkta arttığını göstermiştir. Her iki hastalığın mevcudiyetinde ise farklı düzeylerde artış tespit edilmiştir. Bazı moleküllerin klinik ve biyokimyasal veriler ile anlamlı korelasyon göstermesi, hastalığın farklı evrelerinde spesifik biyomarkerlar olarak kullanılabilecek mini panellerin geliştirilebilme olasılığına işaret etmektedir. Ancak tüm bu gözlemler, izole ölçümler yerine entegre bir yaklaşım kullanılmasının bu iki kompleks patolojinin (tip 2 diyabet ve KHC) tek başlarına veya birlikte bulunduğu hastalardaki farklı evrelerinin, değerlendirilmesinde çok daha güçlü bir yaklaşım olduğunu göstermektedir [9].

Bu nedenle sitokinlerin evrimi ile ilişkili verilerin grafikler veya çeşitli veri gruplarına bağlanan ağlar kullanılarak kompüterize bir şekilde modellenmesi gerektiğini vurgulamak istiyoruz. Böylece metabolik ve/veya fizyolojik aktivitelerin ve/veya patojenik yolakların olasılık haritaları elde edilebilir. Gerçekten de insan sitokinomunun tanımlanması sadece bu yolla mümkündür. Bu şekilde hem sağlıklı hem de farklı hastalıkları olan bireylerdeki sitokin ağlarındaki etkileşimlerin analizinde kullanılan önemli bir araca sahip olabiliriz.

Referanslar

1. Carlsen MH, Halvorsen BL, Holte K et al (2010) The total antioxidant content of more than 3,100 foods, beverages, spices, herbs and supplements used worldwide. Nutr J 9:3
2. Das Sarma A, Rahaman Mallick A, Ghosh AK (2010) Free radicals and their role in different clinical conditions: an overview. Int J Pharma Sci Res 1:185–192
3. Agewall S, Wright S, Doughty RN et al (2000) Does a glass of red wine improve endothelial function? Eur Heart J 21:74–78
4. Zhang Y, Shen G, Yu Y et al (2009) The hormetic effect of cadmium on the activity of antioxidant enzymes in the earthworm Eisenia fetida. Environ Pollut 157:3064–3068
5. Seyfried T, Shelton LM (2010) Cancer as a metabolic disease. Nutr Metab 7:7
6. Gonzaga-Jauregui C, Lupski JR, Gibbs RA (2012) Human genome sequencing in health and disease. Annu Rev Med 63:35–61
7. Costantini S, Autiero I, Colonna G (2008) On new challenge for the bioinformatics. Bioinformation 3:238–239
8. Castello G, Costantini S, Scala S (2010) Targeting the inflammation in HCV-associated hepatocellular carcinoma: a role in the prevention and treatment. J Trasl Med 8:109

9. Costantini S, Capone F, Guerriero E et al (2012) Cytokinome profile of patients with type 2 diabetes and/or chronic hepatitis C infection. PLoS ONE 7(6):e39486
10. Palladino P, Portella L, Colonna G et al (2012) The N-terminal peptide of CXCL11 as structural template for CXCR3 antagonist: synthesis, conformational analysis and binding studies. Chem Biol Drug Des 80(2):254–265
11. Trotta T, Costantini S, Colonna G (2009) Modelling of the membrane receptor CXCR3 and its complexes with CXCL9, CXCL10 and CXCL11 chemokines: putative target for new drug design. Mol Immunol 47:332–339
12. Capone F, Costantini S, Guerriero E et al (2010) Serum cytokine levels in patients with hepatocellular carcinoma. Eur Cytokine Netw 21:99–104
13. Costantini S, Capone F, Guerriero E et al (2010) Serum cytokine levels as putative prognostic markers in the progression of chronic HCV hepatitis to cirrhosis. Eur Cytokine Netw 21:251–256
14. Costantini S, Castello G, Colonna G (2010) Human Cytokinome: a new challenge for systems biology. Bioinformation 5(4):166–167
15. Huang JF, Dai CY, Hwang SJ et al (2007) Hepatitis C viremia increases the association with type 2 diabetes mellitus in a hepatitis B and C endemic area: an epidemiological link with virological implication. Am J Gastroenterol 102:1237–1243
16. Hung CH, Lee CM, Wang JH et al (2011) Impact of diabetes mellitus on incidence of hepatocellular carcinoma in chronic hepatitis C patients treated with interferon-based antiviral therapy. Int J Cancer 128(10):2344–2352
17. Carvalheira JBC, Siloto RMP, Ignacchitti I et al (2001) Insulin modulates leptin-induced STAT3 activation in rat hypothalamus. FEBS Lett 500:119–124
18. Ho HH, Ivashkiv LB (2006) Role of STAT3 in type I interferon responses. JBC 281:14111–14118
19. Hollenberg SM, Weinberger C, Ong ES et al (1985) Primary structure and expression of a functional human glucocorticoid receptor cDNA. Nature 318:635–641
20. Takahara Y, Takahashi M, Zhang Q-W et al (2008) Serial changes in expression of functionally clustered genes in progression of liver fibrosis in hepatitis C patients. World J Gastroenterol 14:2010–2022
21. Gentile A, Trusolino L, Comoglio PM (2008) The met tyrosine kinase receptor in development and cancer. Cancer Metastasis Rev 27:85–94
22. Kershaw EE, Flier JS (2004) Adipose tissue as an endocrine organ. J Clin Endocrinol Metab 89:2548–2556
23. Raucci R, Rusolo F, Sharma A et al (2012) Functional and structural features of adipokine family. Cytokine
24. Scardoni G, Petterlini M, Laudanna C (2009) Analyzing biological network parameters with CentiScaPe. Bioinformatics 25:2857–2859
25. Yu H, Kim PM, Sprecher E et al (2007) The importance of bottlenecks in protein networks: correlation with gene essentiality and expression dynamics. PLoS Comput Biol 3:e59
26. Brandes U (2001) A faster algorithm for betweenness centrality. J Math Sociol 25:163–177
27. Sharma A, Gautam V, Costantini S et al (2012) Interactomic and pharmacological insights on human Sirt-1. Front Exp Pharmacol Drug Discov 3:40
28. Jayaprakasam BJ, Vanisree M, Zhang Y et al (2006) Impact of alkyl esters of caffeic and ferulic acids on tumor cell proliferation cyclooxygenase enzyme and lipid peroxidation. J Agric Food Chem 54:5375–5381
29. Lin HP, Kuo LK, Chuu CP et al (2012) Combined treatment of curcumin and small molecule inhibitors suppresses proliferation of A549 and H1299 human non-small-cell lung cancer cells. Phytother Res 26:122–126

Natürel Sızma Zeytinyağı: Kompozisyondan Moleküler Gastronomiye

Raffaele Sacchi, Antonello Paduano, Maria Savarese, Paola Vitaglione ve Vincenzo Fogliano

Özet

Bu bölümde natürel sızma zeytinyağı (NSZY) ile ilgili güncel çalışmaların sonuçlarını ve pişirme esnasında diğer gıda içerikleri ile etkileşimlerini kısaca gözden geçirerek "sihirli" NSZY'nin basit moleküler özelliklerini ve Akdeniz gastronomisindeki rolünü vurgulayacağız. Gıdalara pişirme sonrası çiğ olarak (veya salata yağı olarak) NSZY eklenmesi, orijinal tadın korunmasının ve doğal antioksidanlar ile insan sağlığına faydalı bileşiklerin (hipotensif, antienflamatuar, antikanserojenik ve diğerleri) alımının maksimize edilmesinin en iyi yoludur. NSZY'nin koruyucu etkileri pişirme sırasında ve sonrasında da devam etmektedir. Bifenolik bileşiklerle diğer gıda içerikleri arasında (su, süt proteinleri, domatesteki karotenoidler, yağla konserve yapılmış balık, et ve balık proteinlerindeki omega-3 poliansatüre doymamış yağ asitleri) farklı kimyasal reaksiyonlar oluşmaktadır. NSZY pişirme esnasında bile güçlü antioksidan özellikler göstermekte ve pişirilen gıdaların genel tadını etkilemektedir. NSZY'nin pişirilmesi esnasında oluşan fiziksel (partisyon oluşumu, emülsiyon) ve kimyasal (hidroliz, kovalen bağlanma, antioksidan özellikler) fenomen, bazı geleneksel Akdeniz yemeklerinin duyusal (acılık ve meyvemsi tat) ve nütrisyonel kalitesi üzerinde oluşturduğu değişimlere odaklanarak incelenecektir. Özellikle pişirme esnasındaki domates-yağ etkileşimleri, NSZY'de balık konservesi, pişirme öncesi NSZY ile marine etme, fırında veya tavada NSZY ile kızartma yöntemleri incelenecektir. Zeytinyağı antioksidanlarının ve tatlarının süt proteinleri ile olan etkileşimlerinden de kısaca bahsedilmiştir.

R. Sacchi · A. Paduano · M. Savarese · P. Vitaglione · V. Fogliano
Department of Agriculture, University of Naples Federico II, I-80055, Portici, NA, Italy

R. Sacchi (✉)
Dipartimento di Agraria, via Universita' 100, 80055, Portici, NA, Italy
e-mail: raffaele.sacchi@unina.it

V. Zappia et al. (eds.), *Advances in Nutrition and Cancer,*
Cancer Treatment and Research 159, DOI: 10.1007/978-3-642-38007-5_19,
© Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2014

Anahtar Kelimeler

Natürel sızma zeytinyağı • Moleküler gastronomi • Akdeniz diyeti

Kısaltmalar

EFSA	Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi
NSZY	Natürel sızma zeytin yağı
HA	Heterosiklik Amin
HPLC	Yüksek performanslı likid kromatografi
HPTA	Hidroksi pentasiklik triterpen asitleri
LC–MS	Likid kromatografi-Kütle spektrometresi
NMR	Nükleer manyetik rezonans

İçindekiler

1. Zeytinyağının Kompozisyonu ve Sağlıklı Etkileri 326
2. Akdeniz Moleküler Gastronomisinde NSZY 328
   2.1 Balık Konservelerinde NSZY 330
   2.2 Domates ve NSZY Etkileşimi 331
   2.3 Etlerin Fırında Kızartma Öncesinde NSZY ile Marine Edilmesi 332
   2.4 NSZY ile Kızartma 333
   2.5 NSZY ve Süt Proteinleri 335
3 Sonuçlar 336
Referanslar 336

1 Zeytinyağının Kompozisyonu ve Sağlıklı Etkileri

Son birkaç yıl içinde natürel sızma zeytinyağının (NSZY) kimyasal kompozisyonunun insan sağlığı üzerindeki in vitro ve in vivo olumlu etkileri ile ilişkili bazı çalışmalar yayınlanmıştır [16, 31]. Zeytinyağının sağlıklı özellikleri yüksek oleik asit ve triasilgliserol içeriğine ve zeytinyağının sabunlaşmayan fraksiyonu içinde bulunan birçok minör bileşiğin (skualen, tokoferoller, fenil alkol gibi fenolik asit bileşikleri, sekoridoidler ve lignanlar) varlığına bağlanmaktadır. Bu özelliklerin insan sağlığını koruyu etkileri vardır [16]. Zeytinyağı başlıca antimikrobik, antioksidan, ve antienflamatuar özelliklere sahiptir (inceleme için [9] nolu referansa bakınız). Zeytinyağının antienflamatuar faydaları ile ilişkili olan fenolik bileşik oleokantala özel olarak odaklanılmıştır (inceleme için [18] nolu referansa bakınız). Bu bileşiğin ibuprofene benzer aktivitesi olduğu gösterilmiştir.

Her iki bileşik de (oleokantal ve ibuprofen) prostoglandin biyosentez yolağındaki siklooksijenaz enzimlerini inhibe eder [5]. Ancak NSZY'nin içinde mevcut oleokantal miktarının, zeytinyağının antienflamatuar etkisinden sorumlu tek bileşik olduğu henüz bilimsel olarak gösterilememiştir [14]. Aslında, gıda bilimi ve sağlık araştırmalarında giderek artan şekilde elde edilen kanıtlar, tekil bileşiklerden ziyade, gıdalarda bulunan kompleks polifenol karışımlarının sinerjistik etki ile sağlığa faydalı olduklarını düşündürmektedir. Bu konsept zeytinyağında bulunan pinoresinol ve kolon kanseri arasındaki ilişki için gösterilmiştir [12]. Araştırmacılar pinoresinol yönünden zengin zeytinyağı ekstrelerinin kolon kanserinde güçlü kemopreventif etkileri olduğunu bildirmiştir. Ancak aynı sonuca saflaştırılmış pinoresinole göre çok daha düşük pinoresinol konsantrasyonları içeren zeytinyağı ile de ulaşılabilmiştir [12].

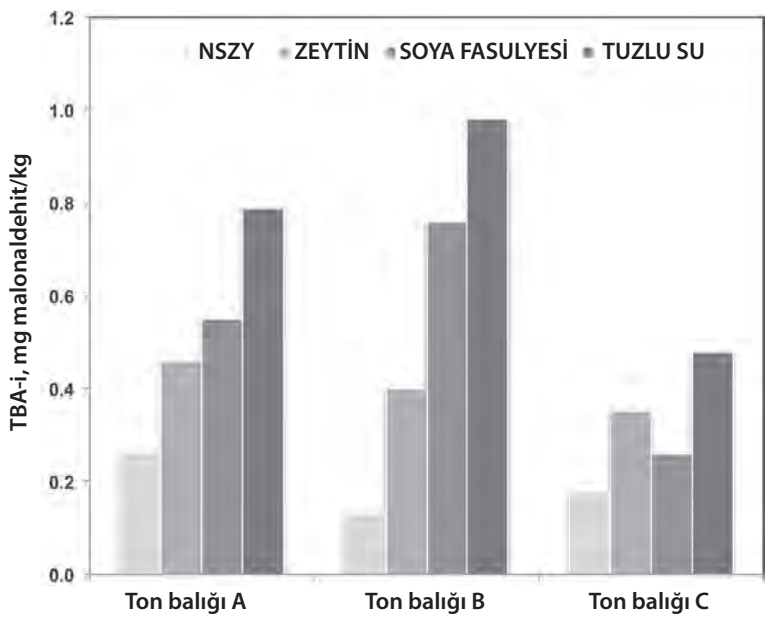
Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi (EFSA) tarafından yakın zamanda gerçekleştirilen Diyetetik Ürünler, Nütrisyon ve Alerji Panelinde ortaya konulan bilimsel görüş şu şekildedir: *Zeytinde bulunan polifenollerin LDL partiküllerini oksidatif hasardan koruduğu, kandaki normal HDL konsantrasyonlarını ve normal kan basıncını koruduğu, antienflamatuar etki yaptığı, üst respiratuar sistem sağlığına katkı yaptığı, normal gastrointestinal kanal sağlığını koruduğu ve dış ajanlara karşı vücut savunmasına katkı yaptığı ile ilgili sağlık iddiaları incelenmiştir. Bu sağlık iddialarının konusu olan gıda bileşeni zeytindeki polifenollerdir (zeytin meyvesi, zeytinyağı değirmeni ürünü veya zeytinyağı, Olea europaea L. ekstresi ve yaprağı). Panel sunulan verilere dayanarak zeytinyağındaki polifenoller ile (hidroksitirozol ve türevlerinin içeriğine göre standardize edilmiştir) LDL partiküllerinin oksidatif stresten korunması arasında bir neden sonuç ilişkisi olduğuna karar vermiştir. Panel bu iddiadaki etkinin ortaya çıkabilmesi için zeytinyağında bulunan hidroksitirozol ve türevlerinin (örn. oleuropein kompleksi ve tirozol) hergün 5 mg tüketilmesi gerektiğini bildirmiştir [11].*

NSZY'deki fenolik bileşikler antioksidan kapasiteleri ile oksidatif proseslere karşı kimyasal stabilite (yüksek oksidatif stabilite) sağladıkları gibi acı ve buruk tadın oluşmasına da katkı yaparlar. Meyvemsi bir aroması olan doğal uçucu fenol bileşikleri NSZY'nin hem "fonksiyonel gıda" özelliğine hem de lezzetine katkı yaparlar. Ancak NSZY çeşitleri kullanılan zeytinin türüne, yetiştiği çevreye, büyüme ve olgunluk düzeyine, ekstraksiyon ve depolama teknolojisine bağlı olarak büyük farklılıklar gösterirler [31]. Piyasada mevcut NSZY'ler arasında kimyasal ve duyusal kaliteleri, nütrisyonel özellikleri ve fiyatları yönünden büyük farklar mevcuttur. Gıda kimyacıları ve uzman panelleri daha acı tada sahip olan NSZY'lerin daha yüksek kaliteye sahip olduğu ve sağlıklı özelliklere sahip NSZY seçiminde tadın önemli bir yol gösterici olabileceği yönünde hemfikirdir [36].

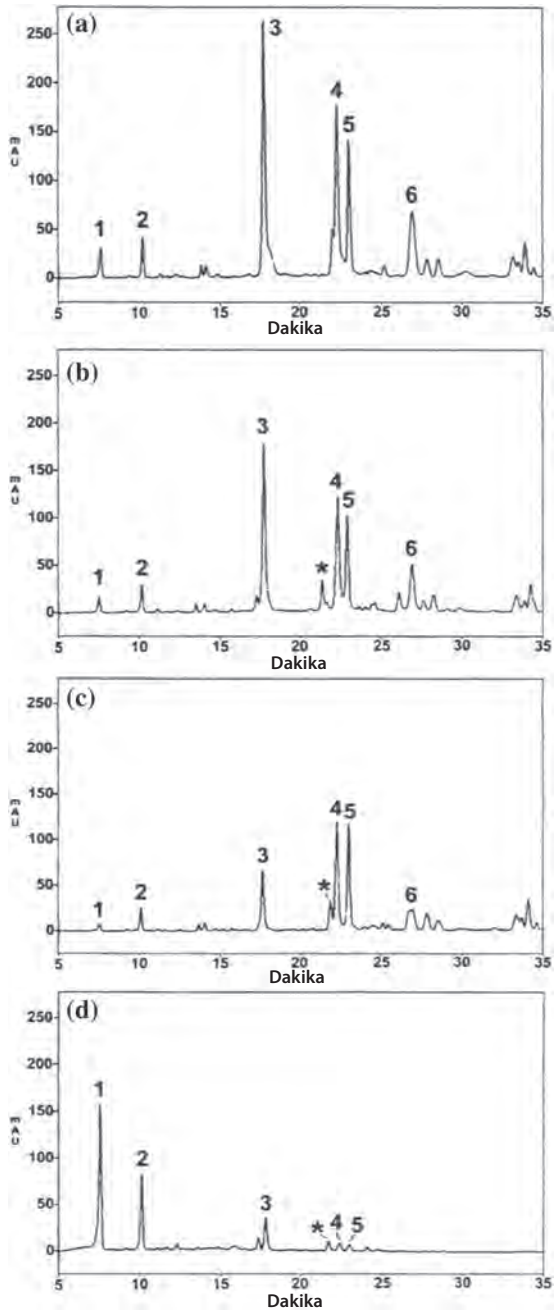
NSZY'nin pişmesi esnasında fenolik ve uçucu bileşiklerde meydana gelen değişimlerle birlikte Akdeniz yemeklerinde kullanılan diğer birçok bileşen ile de etkileşimler meydana gelir. Zeytinyağının kalitesi hakkındaki agronomik ve teknolojik parametrelerle ilgili birçok çalışma olmasına rağmen çok az sayıda çalışmada gastronomik özellikleri araştırılmıştır. Bu bölümde konuyla ile ilgili güncel çalışmaların sonuçlarını kısaca gözden geçirecek ve "sihirli" NSZY'nin Akdeniz gastronomisindeki rolünü açıklamak amacıyla ana moleküler özelliklerini vurgulayacağız.

2 Akdeniz Moleküler Gastronomisinde NSZY

Gıdalara pişirme sonrası çiğ olarak (veya salata yağı olarak) NSZY eklenmesi, orijinal tadın korunmasının ve doğal antioksidanlar ile insan sağlığına faydalı bileşiklerin (hipotensif, antienflamatuar, antikanserojenik ve diğerleri) alımının maksimize edilmesinin en iyi yoludur. Ancak NSZY'nin koruyucu etkileri pişirildiğinde de devam etmektedir. Bifenolik bileşiklerle diğer gıda içerikleri arasında (su, süt proteinleri, domatesteki karotenoidler, yağla konserve yapılmış balık, et ve balık proteinlerindeki omega-3 poliansatüre doymamış yağ asitleri) oluşan farklı kimyasal reaksiyonlar birçok çalışmada incelenmiştir. NSZY pişirme esnasında bile güçlü antioksidan özellikler göstermekte ve pişirilen gıdaların genel tadını etkilemektedir. NSZY'nin pişirilmesi esnasında oluşan fiziksel (partisyon oluşumu, emülsiyon) ve kimyasal (hidroliz, kovalen bağlanma, antioksidan özellikler) fenomen, bazı geleneksel Akdeniz yemeklerinin duyusal (acılık ve meyvemsi tat) ve nütrisyonel kalitesi üzerinde değişimlere yol açar. NSZY'deki fenolik bileşiklerle farklı biçimde pişirilen gıda sistemlerindeki diğer bileşikler arasında moleküler etkileşimler oluşarak, bazı pişmiş gıdaların sağlıklı ve koruyucu etkilerinin artmasına yol açar. Bu etki ilerleyen paragraflarda detaylı olarak tartışılacaktır.



Şekil 1 Farklı maddeler ile sterilize edilen üç farklı ton balığı konservesinin oksidasyon düzeyleri (TBA-i, mg malonaldehit/kg).



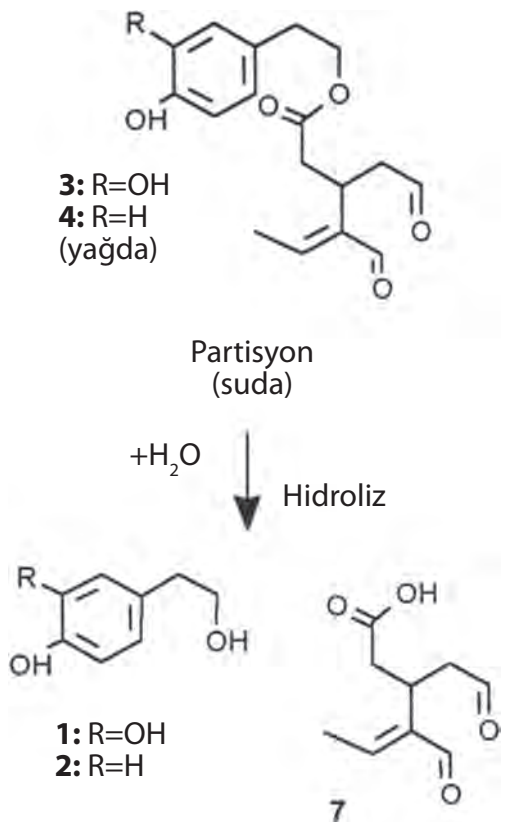
Şekil 2 Fenolik antioksidan sterilizasyon bileşiklerinin davranışları: (**a**) Başlangıçtaki NSZY; (**b**) sterilize NSZY; (**c**) sterilizasyon sonrası yağlı faz; (**d**) sterilizasyon sonrası su fazı. Tepe değerleri: hidroksitirozol (*1*), tirozol (*2*), dekarboksimetil oleuropeinin (*3*) ve ligstrosidin dialdehidik formu (*4*), aglikonlar, pinoresinol (*5*), oleuproeinin aldehidik formu (*6*), *bilinmeyen bileşik.

2.1 Balık Konservelerinde NSZY

Doldurma yağı olarak kullanılan NSZY ile konserve ton balığı eti arasındaki etkileşimler yaptığımız çeşitli deneylerde incelenmiştir. Deneylerin amacı balık etinde konserveleme öncesi bulunan doğal n-3 PUFA'ların korunmasıdır.

NSZY ile konservelenen tuna etinin NMR spektroskopisi ile ölçülen n-3 PUFA düzeyleri, soya fasulyesi, rafine zeytinyağı ve tuzlu su ile konservelenen ve sterilize edilen tuna etindeki düzeylere göre anlamlı olarak daha yüksektir [21, 22]. Konserve tuna etinden ekstrakte edilen lipidlerdeki oksidasyon oranları da NSZY ile daha düşük bulunmuştur (Şekil 1).

NSZY'nin konservelere uygulanan işlem sırasındaki ve sonrasındaki koruyucu etkisi içindeki doğal antioksidanlara bağlanmaktadır. Bu etki diğer doldurma yağları ve tuzlu suda mevcut değildir [13, 23]. Konservelerin sterilizasyon işlemlerinin öncesinde ve sonrasındaki fenol düzeylerine bakıldığında, sekoiridoid aglikonların hidrolizi ile kombine olan yağ fazından su fazına (et) doğru net bir partisyon oluşumu gözlenmiştir (Şekil 2 ve Şema 1) [7, 32].



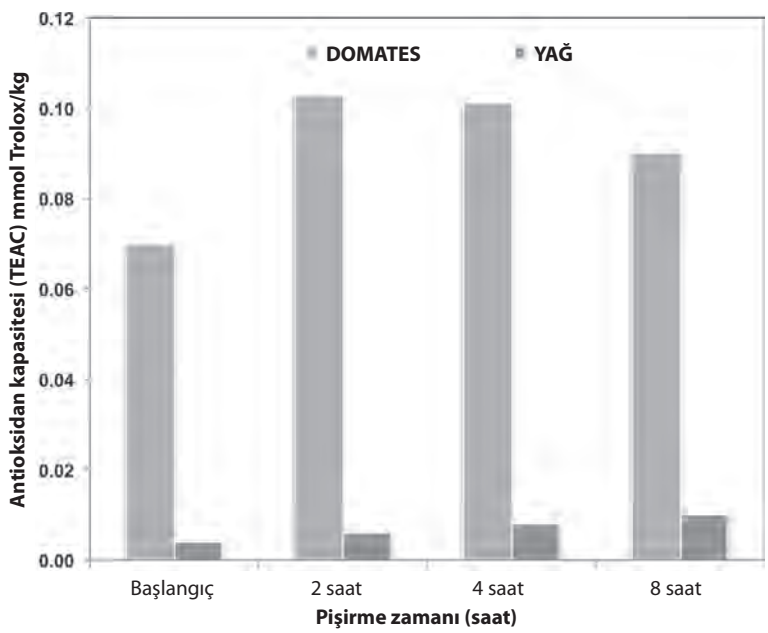
Şema 1 NSZY ile tuzlu su karışımı ile sterilizasyon sırasında, hidroksitirozol (*1*) tirozol (*2*) ve dekarboksimetil elenolik asidin dialdehidik formunun (*7*) tuzlu sudaki dekarboksimetil oleuropeinin dialdehidik formundan (*3*) ve ligstrosid (*4*) aglikonlarından formasyonu.

Bu iki fenomenin (partisyon oluşumu ve hidroliz) kombinasyonu etin yüzeyinde hidrofilik fenolik antioksidanların (hidroksitirozol ve tirozol) birikmesine yol açarak n-3 PUFA'yı termal oksidasyondan korumaktadır.

2.2 Domates ve NSZY Etkileşimi

Taze domates ve domates ürünleri sağlıklı olmaları ve özellikle prostat kanserine karşı antitümör özellikleri ile bilinirler [28]. Karotenoid (likopen) alımı hem in vitro hem de in vivo ortamda antikarsinojenik aktivite ve antiaterojenik etkiler ile ilişkilidir [27]. Çeşitli epidemiyolojik çalışmalarda likopen içeren domates ve domates ürünlerinin yüksek oranda tüketiminin kardiyovasküler hastalıklara karşı koruyucu olabileceği ve başta prostat, meme ve sindirim kanalı olmak üzere çeşitli kanserlerin riskini azaltabileceği gösterilmiştir. Likopenin serum düzeyleri kronik hastalık riski ile ters orantılı ilişkiye sahiptir [27]. Tüm dünyadaki insan diyetlerinde hem taze hem de işlenmiş domates tüketimi mevcuttur. Ancak Akdeniz gastronomisinde makarna ve pizza kombinasyon halinde büyük oranlarda domates ve zeytinyağı içerir.

Son yıllarda, domates soslarının küçük miktarda NSZY ile kombinasyon halinde pişirilmesini simüle eden farklı model sistemlerinin davranışlarını inceledik. Özellikle geleneksel bir domates sosunun (örn. Napolitan Ragù) pişirilmesi uzun süreler gerek-



Şekil 3 Domatesin antioksidan kapasitesi (TEAC, mmol Trolox ekivalan/kg) ile domates ve NSZY sosuna ısı testi uygulanması sırasındaki yağ fazları.

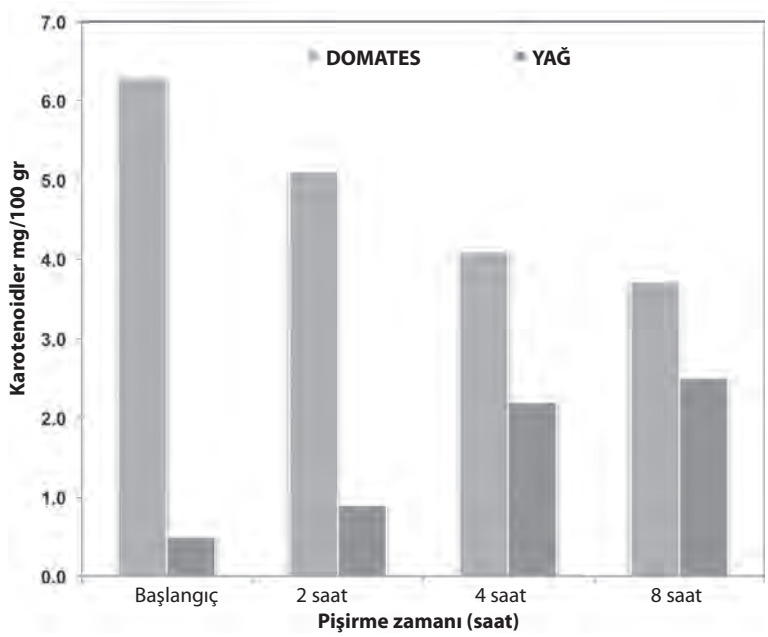
tirmekte (6-10 saat) ve orta ısıda (70-80 °C) geleneksel toprak kaplarda pişirilmektedir. Bu şartlarda ısıtılan domates-yağ sistemine neler olur? Pişirmenin sonunda antioksidan içeriğinde bir azalma beklenebilir. Bu azalma ısı testi yapılan domates sosunda gösterilmiştir [29]. Buna karşın, kendi çalışmamızda NSZY ilavesi ile pişirilen domatesteki antioksidanların (domates karoteonidlerinin sızma zeytinyağında bulunan sekoiridoidler tarafından korunması ile) anlamlı düzeyde arttığını tespit ettik (Şekil 3).

Karotenoidlerin ve naringenin gibi flavonoidlerin, yağ fazı yönünde partisyonlara ayrılması (Şekil 4) pişirme sırasında gözlenmiştir. Bu bulgu hazırlanan yemeklerdeki biyolojik olarak kullanılabilir karotenoid miktarı ile de ilişkilidir.

Bu gözlemler ve veriler Ragù gibi geleneksel fonksiyonel gıdaların kanserden koruyucu özelliklerinin ilgi çekmesine neden olmaktadır. Bu geleneksel yemekler hem antioksidan hem de koruyucu olan moleküllerin alımını sağladıkları için çok sağlıklı gıdalardır.

2.3 Etlerin Fırında Kızartma Öncesinde NSZY ile Marine Edilmesi

Akdeniz tarzı pişirme yöntemlerindeki bir başka geleneksel yöntem de et ve balığın yağ, şarap ve bitkiler (kekik, biberiye) kullanılarak fırında kızartma öncesi marine edilmesi ve pişirme esnasında et veya balığın yüzeyini nemlendirmek amacıyla limon-yağ veya



Şekil 4 Isı testi uygulanan domates-yağ karışımının karotenoid içeriği (mg/100 gr).

yağ-kırmızı şarap emülsiyonu kullanılmasıdır. Ev ve restoranlarda kısmen kaybolan bu geleneksel yöntemin, ısıl işlem sırasındaki protein degradasyonuna karşı koruyucu etkisi olduğu gösterilmiştir [25, 30, 35].

Pişirme simülasyon sistemlerine fenol bileşikleri veya NSZY eklenmesinin heterosiklik amin (HA) formasyonunu anlamlı olarak inhibe ettiği gösterilmiştir. Et veya balık pişirilirken düşük miktarlarda oluşan mutajenik HA'lardan bazılarının muhtemel insan karsinojeni olduğu düşünülmektedir. HA formasyonu sentetik veya doğal olarak oluşan antioksidanların varlığından etkilenebilir. Monti ve ark. [25] NSZY'deki fenolik bileşiklerin bir sistem modelindeki HA formasyonu üzerindeki etkisini LC-MS ile belirlemiş ve ölçmüştür. Kreatinin, glukoz ve glisinden oluşan aköz bir solüsyon, sadece fenolik bileşiklerin kompozisyonunda farklılık olan iki NSZY örneği ile birlikte ısıtılmıştır. Sistem modeline NSZY eklenmesi ile 2-amino-3-metilimidazo[4,5-f]kuinoksalin, 2-amino-3,8-dimetilimidazo [4,5f] kuinoksalin ve 2-amino-3,7,8-trimetilimidazo [4,5-f] kuinoksalin formasyonunu kontrollere kıyasla %30-50 arasında inhibe etmiştir. Çok miktarda dihidroksifeniletanol içeren taze zeytinyağı, HA formasyonunu bir yıllık zeytinyağından daha fazla azaltmıştır. Natürel zeytinyağından elde edilen fenolik bileşiklerle HA formasyonunun inhibisyonu, NSZY'nin balık ve etlerin pişirilmesi veya fırında kızartılması sırasında oluşan potansiyel karsinojenik molekülerin formasyonunun engellenmesinde ilginç bir rolü olabileceğini göstermektedir.

NSZY'deki fenolik bileşiklerin bisküvi gibi düşük nemli sistemlerdeki akrilamid formasyonunu bile azaltabilmesi de ilginçtir [4].

2.4 NSZY ile Kızartma

NSZY kullanarak yapılan kızartma potansiyel olarak toksik bileşiklerin üretimini (akrilamid ve hidroksi-alkenaller gibi) ve kızartmanın gevrek dış kısmında bulunan sağlıklı bifenolik antioksidanların alımlarını da minimize edebilir. NSZY'de bulunan fenolik bileşikler çok stabildirler ve kızartmadan birkaç saat sonra bile tespit edilebilirler [1, 10]. Bu bileşikler gıda matriksi ile etkileşime girerek tehlikeli bileşiklerin formasyonunu inhibe ederler.

NSZY fenol bileşikleri ile patates kızartmasındaki akrilamid formasyonu arasındaki ilişki ilk olarak Napolitano ve ark. tarafından incelenmiştir [26]. 20 NSZY örneğindeki fenolik kompozisyon LC-MS yöntemi ile tespit edilmiştir. Kızartma deneyleri için farklı fenol bileşik paternleri ile karakterize olan dört yağ seçilmiştir. Patates dilimleri 180 °C'de 5, 10, 15 dakika boyunca NSZY içinde kızartılarak akrilamid içerikleri LC-MS ile belirlendi. NSZY'nin fenolik bileşikleri kızartma sırasında degrade olmamıştır. Dört farklı NSZY ile kızartılan patateslerin renklerinde de anlamlı bir fark oluşmamıştır. Kızartma esnasında patateslerdeki akrilamid konsantrasyonları arttı. Ancak en yüksek artış en düşük fenolik bileşik içeren yağda gerçekleşmiştir. En yüksek orto-difenolik bileşik konsantrasyonu içeren NSZY hafif-orta ateşte yapılan kızartma sırasındaki akrilamid formasyonunu etkili bir biçimde inhibe edebilmiştir. Orto-difenolik yönünden zengin NSZY'lerin kullanımının evlerde yapılan derin

kızartmalarda akrilamid formasyonunu azaltabilen güvenilir bir strateji olduğu öne sürülmüştür.

Kızartma sırasında PUFA'ların dekompozisyonu ile oluşan hidroksi alkenaller diğer potansiyel toksik ve karsinojenik bileşiklerdir [15]. Termal olarak okside yağlardaki hidroksiperoksidaz dekompozisyonunun kantitatif analizinde yüksek çözünürlüklü proton nükleer manyetik rezonans (1H-NMR) spektroskopisi (400-600 MHz) kullandık [33]. Farklı yağlar (NSZY, ayçiçek ve soya yağı) termostatik fritözde ısıtıldı (180 °C'de 360 dakika). Proton NMR 15 yağ örneğindeki (0, 60, 120, 240 ve 360 dakika ısıtma süresi) kantitatif aldehit analizi (n-alkanaller, trans-2-alkenaller, 4-hidroksitrans-2-alkenaller, alka-2,4-dienaller) silika kolon kromatografisi ile ölçülen total polar bileşiklerle ve gaz kromatografisi ile ölçülen kısa zincirli yağ asitleri ile karşılaştırılmıştır. Üç yağda 6 saatlik ısıtma boyunca farklı aldehitlerin formasyonu takip edilmiştir. Alka-2,4-dienallller ve trans-2-alkenaller tüm ısıtılan yağlarda NMR ile saptanan majör ürünlerdir. Trans-2-alkenal üretimi NSZY ve tohum yağlarında hemen hemen aynı seviyede bulunurken, pişirmenin sonunda oluşan n-alkaneller en büyük oranda NSZY'de tespit edilmiştir.

NSZY kullanılarak yapılan 6 saatlik ısıtmanın sonunda özellikle 4-hidroksi-2-alkenal (eşik değer 0.1 mM/L) tespit edilmedi. Bu bileşiklerin formasyonu poliansatüre yağ asitlerinin oksidasyonundan kaynaklanan konjuge hidroperoksidienlerin dekompozisyonu ile ilişkilidir [15]. Zeytinyağında bulunan düşük linoleik (%5-10) ve linolenik (%1'den az) asit miktarları bu bulguları açıklamaktadır. Aynı nedenle poliansatüre tohum yağları ile oluşan alka-2,4-dianeller de düşük miktarlarda (6 saatlik ısıtmadan sonra 1.1 mM/L) ölçülmüştür.

NSZY ile kızartılan gıdalarla ilgili diğer çalışmalar fenol bileşiklerinin alımına odaklanmıştır. Sürekli kızartma yağı olarak NSZY kullanılan patates kızartmalarının, (LC-MS ile ekstrakte edilerek ölçülebilen) anlamlı miktarda fenol bileşiği abzorbe ettikleri bulunmuştur [34]. Kalogeropoulos ve ark. [19] Yunanistan'da bulunan en popüler balık türlerini natürel sızma zeytinyağı içinde kızartarak incelemiştir. Taze balık, kızartma yağı ve kızarmış balıktaki polifenol, hidroksi pentasiklik triterpen asitler (HPTA) ve α-tokoferol analizleri yapılmıştır. Kızartma yağı örneklerinde 6 tanesi kızarmış balıkta da bulunan 9 polifenol tespit etmişlerdir. Terpenik asitler olan oleanolik, maslinik ve ursolik asitler kızartma yağı ve kızarmış balıkta da tespit edilmiştir. Tavada kızartma ile oluşan su kaybı ve yağ absorpsiyonunun yanında, kızartma yağında araştırılan tüm antioksidanlarda kısmı azalma meydana gelirken, kızarmış balıktaki antioksidan miktarları artmıştır. Araştırılan antioksidanların polariteleri kızartma yağı ile su içeren balık arasındaki partisyonda bir miktar etkilenmiştir.

Aynı yazarlar [20] Akdeniz'in geleneksel gastronomik kültürüne göre sığ NSZY'de kızartılan patates, yeşil biber, kabak ve patlıcanı araştırmıştır. Kabak ve patlıcanlar kızartılmadan önce buğday unu veya sulu hamur ile kaplanmıştır. Tespit edilen 12 polifenol arasında bulunan tirozol kızartma yağlarında ve kabak örneklerinde en sık rastlanan polifenoldür. Klorojenik asit ise diğer sebze örneklerinde en çok bulunan fenolik türüdür. Su kaybı ve yağ absorpsiyonuna ek olarak, sığ yağda kızartma ile kızartma yağındaki

tüm antioksidanların miktarlarında kısmi azalma ile kızartılan sebzelerdeki zeytinyağı kaynaklı antioksidan miktarlarında da artış tespit edilmiştir. Bu sonuçlar kısmen kızartılan sebzenin türünden ve uygulanan kızartma şeklinden etkilenmiştir. Yağdaki antioksidanların genel korunma oranları α-tokoferol için %32-64, polifenoller için %25-70 ve HPTA için %35-83 bulunmuştur. NSZY'de kızartılan sebzelerin α-tokoferol, terpenik asitler ile tirozol ve klorojenik asit gibi polifenollerin alımını artırdıkları düşünülmektedir.

Natürel zeytinyağının ve ticari sebze yağının performansı da (180 °C'de toplam 60 dakika süreli ardışık 10 tava patates kızartması ile 170 C'de toplam120 dakika süreli ardışık 10 derin patates kızartması) Andrikopoulos ve ark. tarafından araştırılmıştır [2]. Test edilen her iki yağ türünde de tavada kızartma derin kızartmaya göre daha kötü etki yapmıştır. Aynı etki natürel sızma zeytinyağında görülebilir spektrumlar ve total fenoller için de geçerliydi. Tavada kızartma performansı her iki yağ için de benzerken, natürel zeytinyağı derin kızartmada daha iyi performans göstermiştir. Tüm veri setinde oktatonik asit formasyonu ile total polar artefaktlar arasında çok güçlü bir ilişki gözlenmiştir.

Andrikopoulos ve ark. [3] yerel pratiklere uygun olarak natürel zeytinyağı, ayçiçek yağı ve sebze yağı kullanarak derin yağda veya tavada kızarttıkları patatesleri de ardışık sekiz seans boyunca test ettiler. Patateslerin yağ absorpsiyon oranları yağ tipine ve kızartma şekline bağlı olarak %6.1 ila %12.8 arasında bulunmuştur. Total fenoliklerin korunma oranları %70-80 (birinci kızartma) ile %20-30 (sekizinci kızartma) arasında değişmekteydi. Tannik asit, oleuropein ve hidroksitirosolelenolik asidin dialdehidik formu her iki kızartma şekline karşı anlamlı rezistans gösterirken, hidroksitirozol ve hidroksitirozol-elenolik asit daha hızlı elimine olmuştur. Diğer fenolik türlerin azalmaları, (evlerde gayet yaygın uygulandığı üzere üç ila dört saatlik kızartma seansları sonrasında) derin kızartma ile %40-50, tavada kızartma ile %20-30 düzeyinde bulunmuştur.

Kızartma yağındaki sağlığa yararlı mikro-bileşenlerin patates kızartmasına geçme oranları, bu termal prosesteki E vitamini davranışını inceleyen Chiou ve ark. tarafından da araştırılmıştır [8].

2.5 NSZY ve Süt Proteinleri

Zeytinyağı bileşikleri ile süt proteinleri arasındaki etkileşimler de gıda matriksinin algılanmasını ve nütrisyonel kalitesini değiştirebilir. Meynier ve ark. [24] NSZY'de yüksek miktarlarda bulunan heksanal ve t-2-heksanal uçucu bileşiklerinin peynir altı suyu proteinleri ve sodyum kazeinat ile kovalen bağlanarak okside lipidlerin varlığında amino asit kompozisyonunda değişimlere yol açabileceğini göstermişlerdir. Benzer bir davranış NSZY fenolik bileşikleri ile süt proteini arasında da, algılanan acılık ve buruklukta azalma ile birlikte gözlenebilir. Bir başka önemli konu da uçucu olan ve uçucu olmayan (biofenoller) bileşiklerin sudaki yağ emülsiyonları ile ilişkili olarak algılanma düzeyleridir. Emülsiyonlardaki hidrofobik tat komponentleri suda yağa göre daha düşük kon-

santrasyonlarda algılanabilir ve lipid oksidasyon ürünlerinin çoğu yağ fazında yüksek çözünürlüğe sahiptir [6].

NSZY ve süt proteinlerinin mevcut olduğu gıda sistemlerindeki etkileşimler NSZY'nin duyusal özelliklerinin ciddi biçimde modifiye olmasına yol açarak acılık ve burukluk tadının kaybına yol açar.

3 Sonuçlar

Burada kısaca tartışılan bilimsel kanıtlar NSZY'nin aktif fonksiyonel bir rolü olduğunu göstermiştir. Akdeniz diyetindeki bu rol sadece çiğ tüketildiğinde bir antioksidan kaynağı olmasından değil pişirme esnasında diğer gıda komponentlerini korumasından da kaynaklanmaktadır.

Diğer komponentlerle de (karotenoidler, omega-3 PUFA ve proteinler) çeşitli modifikasyonlar ve pozitif etkileşimler oluşabilir. NSZY ile pişirilen gıdaların nütrisyonel kalitesi ve antikarsinojenik etkileri artabilir. Bu etkinin varlığı pişmiş domates ve NSZY karışımı için net olarak gösterilmiştir [17].

Referanslar

1. Ambrosino ML, Della Medaglia D, Paduano A et al (2002) Behaviour of phenolic antioxidants of virgin oil during oil heating and frying. In: Amadò R et al (eds) Bioactive compounds in plant foods: healt effects and perspectives for the food industry. European scientific conference of COST action 916. EC Office for Official Publications, Luxembourg, pp 119–120, ISBN 92-828-1816-0
2. Andrikopoulos NK, Kalogeropoulos N, Falirea A et al (2002) Performance of virgin olive oil and vegetable shortening during domestic deep-frying and pan-frying of potatoes. Int J Food Sci Technol 37:177–190
3. Andrikopoulos NK, Dedoussis GVZ, Falirea A et al (2002) Deterioration of natural antioxidant species of vegetable edible oils during the domestic deep-frying and pan-frying of potatoes. Int J Food Sci Nutr 53:351–363
4. Arribas-Lorenzo G, Fogliano V, Morales FJ (2009) Acrylamide Formation in a cookie system as influenced by the oil phenol profile and degree of oxidation. Eur Food Res Technol 228:311–319
5. Beauchamp GK, Keast RS, Morel D et al (2005) Ibuprofen-like activity in extra-virgin olive oil. Nature 437:45–46
6. Beltran G, Paz Aguilera M, Gordon MH (2005) Solid phase microextraction of volatile oxidation compounds in oil-in-water emulsions. Food Chem 92:401–406
7. Brenes M, Garcia A, Dobarganes MC et al (2002) Influence of thermal treatments simulating cooking processes on the polyphenol content in virgin olive oil. J Agric Food Chem 50:5962–5967
8. Chiou A, Kalogeropoulos N, Boskou G et al (2012) Migration of health promoting microconstituents from frying vegetable oils to French fries. Food Chem 133:1255–1263
9. Cicerale S, Lucas LJ, Keast RS (2012) Antimicrobial, antioxidant and anti-inflammatory phenolic activities in extra virgin olive oil. Curr Opin Biotechnol 23:129–135
10. Della Medaglia D, Ambrosino ML, Spagna Musso S et al (1996) Modification of phenols during the storage and heating of extra-virgin olive oil. Oil Process and Biochemistry of lipids. In: 1st European meeting of the American oil chemists society, University of Burgundy, Dijon (France) 19–20 Sept, p B24

11. EFSA (2011) Scientific Opinion on the substantiation of health claims related to polyphenols in olive and protection of LDL particles from oxidative damage (ID 1333, 1638, 1639, 1696, 2865), "maintenance of normal blood HDL-cholesterol concentrations" (ID 1639), "maintenance of normal blood pressure" (ID 3781), "anti-inflammatory properties" (ID 1882), "contributes to the upper respiratory tract health" (ID 3468), "can help to maintain a normal function of gastrointestinal tract" (3779), and "contributes to body defences against external agents" (ID 3467) pursuant to Article 13(1) of Regulation (EC) No 1924/2006. EFSA J 9(4):2033
12. Fini L, Hotchkiss E, Fogliano V et al (2008) Chemopreventive properties of pinoresinol-rich olive oil involve a selective activation of the ATM-p53 cascade in colon cancer cell lines. Carcinogenesis 29:139–146
13. Fogliano V, Ritieni A, Monti S et al (1999) Antioxidant activity of virgin olive oil phenolic compounds in a micellar system. J Sci Food Agric 79:1803–1808
14. Fogliano V, Sacchi R (2006) Oleocanthal in olive oil: between myth and reality. Mol Nutr Food Res 50:5–6
15. Frankel EN (1998) Lipid Oxidation. The Oily Press Ed, Dundee
16. Frankel EN (2011) Nutritional and biological properties of extra virgin olive oil. J Agric Food Chem 59(3):785–792
17. Lee A, Thurnham I, Chopra M (2000) Consumption of tomato products with olive oil but not sunflower oil increases the antioxidant activity of plasma. Free Radical Biol Med 29:1051–1055
18. Lucas L, Russell A, Keast R (2011) Molecular mechanisms of inflammation. Anti-inflammatory benefits of virgin olive oil and the phenolic compound oleocanthal. J Agric Food Chem 59:785–792
19. Kalogeropoulos N, Chiou A, Mylona A et al (2007) Recovery and distribution of natural antioxidants (α-tocopherol, polyphenols and terpenic acids) after pan-frying of Mediterranean finfish in virgin olive oil. Food Chem 100:509–517
20. Kalogeropoulos N, Mylona A, Chiou A et al (2007) Retention and distribution of natural antioxidants (α-tocopherol, polyphenols and terpenic acids) after shallow frying of vegetables in virgin olive oil. LWT 40:1008–1017
21. Medina I, Sacchi R, Aubourg S (1995) A ^{13}C-NMR study of lipid alteration during fish canning: effect of filling medium. J Sci Food Agric 69:445–450
22. Medina I, Sacchi R, Giudicianni I et al (1998) Oxidation of fish lipids during thermal stress as studied by ^{13}C nuclear magnetic resonance spectroscopy. J Am Oil Chem Soc 75:147–154
23. Medina I, Sacchi R, Biondi L et al (1998) Effect of packing media on the oxidation of canned tuna lipids. Antioxidant effectiveness of extra virgin olive oil. J Agric Food Chem 46:1150–1157
24. Meynier A, Rampon V, Delgadarrondo M et al (2004) Hexanal and t-2-hexenal form covalent bonds with whey proteins and sodium caseinate in aqueous solution. Int Dairy J 14:681–690
25. Monti S, Ritieni A, Sacchi R et al (2001) Characterisation of phenolic compounds in virgin olive oil and their effect on the formation of carcinogenic/mutagenic heterocyclic amines in a model system. J Agric Food Chem 49:3969–3975
26. Napolitano A, Morales F, Sacchi R et al (2008) Relationship between virgin olive oil phenolic compounds and acrylamide formation in fried crisps. J Agric Food Chem 56:2034–2040
27. Omoni AO, Aluko RE (2005) The anti-carcinogenic and anti-atherogenic effects of lycopene: a review. Trends Food Sci Technol 16:344–350
28. Pannellini T, Iezzi M, Liberatore M et al (2010) A dietary tomato supplement prevents prostate cancer in TRAMP mice. Cancer Prev Res (Phila) 3:1284–1291
29. Pernice R, Vitaglione P, Sacchi R et al (2007) Phytochemicals in mediterranean diet: the interaction between tomato and olive oil bioactive compounds. In: Hui YH et al (eds) Handbook of food products manufacturing, Vol 2. Wiley-Interscience, London, pp 53–68. ISBN 978-0-470-04964-0

30. Persson E, Graziani G, Ferracane R et al (2003) Influence of antioxidants in virgin olive oil on the formation of heterocyclic amines in fried beef burgers. Food Chem Tox 41:1587–1597
31. Preedy V R, Watson RR (2010) Olives and olive oil in health and disease prevention. Academic Press, Elsevier Inc, USA
32. Sacchi R, Paduano A, Fiore F et al (2002) Partition behavior of virgin olive oil phenolic compounds in Oil-Brine mixtures during thermal processing for fish canning. J Agric Food Chem 50:2830–2835
33. Sacchi R, Falcigno L, Paduano A et al (2006) Quantitative evaluation of the aldehydes formed in heated vegetable oils using high resolution proton-NMR spectroscopy. Riv Ital Sostanze Grasse 82:257–263
34. Savarese M, Parisini C, De Marco E et al (2006) Detection of biophenols from virgin olive oil in fried French-fries potatoes by high-performance liquid chromatography tandem electrospray ionization mass spectrometry (HPLC-ESI/MS). In: 4th EuroFed lipid congress (Oils, fats and lipids for a Healthier future), University Complutense of Madrid, Spain
35. Vitaglione P, Fogliano V (2004) Use of antioxidants to minimize the human health risk associated to mutagenic/carcinogenic heterocyclic amines in food. J Chromatography B 802:189–199
36. Vitaglione P, Savarese M, Paduano A et al (2012) Healthy virgin olive oil: a matter of bitterness. Critical Rev Food Sci Nutr, in press

Kanser Reküransının Hayat Tarzı Değişimleri ile Önlenmesi: Yin ve Yang

Franco Berrino

Özet

Hayat tarzının kanser teşhisi sonrası prognozu etkileyebileceği ile ilgili kanıtlar giderek artmaktadır. Çeşitli çalışmalarda Batı diyet paterni, obezite, kilo alımı, sedanter yaşam tarzı, metabolik sendrom, yüksek serum insülin düzeyleri, büyüme faktörleri ve enflamatuar sitokinlerin kanser teşhisi sonrasındaki rekürans insidansını artırdığı gösterilmiştir. Bu çalışmaların çoğu meme ve kolon kanserinde yapılmıştır. Ancak kanserin klinik yönetiminde hayat tarzını iyileştirmeye ve vücut ağırlığını kontrol etmeye yeterince dikkat gösterilmemektedir. Kanser reküransı ile ilişkili gözlemlerin doğrulanabilmesi ya da çürütülmesi için hayat tarzı girişim çalışmalarına ihtiyaç vardır. Ancak şu anda bile orta derecede fiziksel egzersiz, orta derecede kalori kısıtlaması ve Akdeniz diyet paterninin uygulanmasının önünde bir kontrendikasyon mevcut değildir. AICR/WCRF 2007 tarafından gerçekleştirilen sistematik literatür analizleri sonucunda, kanser hastalarının kanserin önlenmesine uygun hayat tarzı sürdürmeleri tavsiye edilmektedir. AICR/WCRF tavsiyeleri ilginç biçimde uzak Doğu filozofisine dayanan geleneksel kurallarla benzerlik göstermektedir. Bu kurallarda şekerli içecekler ve kalori yoğun yiyecekler gibi aşırı "yin" gıdalardan ve işlenmiş et gibi gibi aşırı “yang” gıdalardan kaçınılması ve tam taneli işlenmemiş tahıllar gibi hafifçe yang gıdalar ile baklagiller ve sebzeler gibi hafifçe yin gıdaların dengeli olarak tüketilmesi gerekmektedir.

Anahtar Kelimeler

Makrobiyotik diyet • Hayat tarzı • Akdeniz diyet paterni • Meme kanseri

F. Berrino (✉)
Fondazione IRCCS Istituto Nazionale dei Tumori, Via Venezian, 1, 20133, Milan, Italy
e-mail: franco.berrino@istitutotumori.mi.it

V. Zappia et al. (eds.), *Advances in Nutrition and Cancer,*
Cancer Treatment and Research 159, DOI: 10.1007/978-3-642-38007-5_20,
© Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2014

Kısaltmalar

CMF	Siklofosfamid/metotreksat/5-florourasil
CR	Kalori kısıtlaması
MS	Metabolik sendrom

İçindekiler

1 Giriş 342
2 "Yin" Gıdalar ve "Yang" Gıdalar 343
3 Beslenmede Sinerji 345
4 Kanser ve Hayat Tarzı 347
Referanslar 349

1 Giriş

Dünyada bulaşıcı olmayan yaşa bağlı kronik hastalıkların prevalansının eşi görülmemiş bir şekilde arttığı bir döneme giriyoruz. Bu bulgu ekonomik ve sosyal problemlerde çok ciddi artışa yol açmaktadır. İnsanlarda görülen kronik hastalıklar kompleks ve nonlineer proseslerdir. Birbirine bağlı çok sayıda genetik ve metabolik yolaklardan kaynaklanan bu sorunla başa çıkabilmek için çok boyutlu önleyici stratejilerin kullanılması gerekmektedir. Hayvanlarda kanser ve yaşla ilişkili diğer kronik hastalıkların önlenmesi ile hayatın uzatılmasındaki en güçlü diyet girişimi kalori kısıtlamasıdır. İnsanlarda ise kalori yoğun diyetler ve sedanter yaşam tarzı artan metabolik sendrom (MS) prevalansından sorumludur ve sigara kullanımı ile birlikte en sık görülen kronik hastalıkların en önemli önlenebilir nedenidir. Metabolik sendroma insülin, büyüme faktörleri ve enflamatuar sitokinlerin düzeylerindeki artış aracılık yapar. MS'nin kanser reküransının majör belirleyicisi olduğu yönündeki kanıtlar da giderek artmaktadır [6, 44, 46, 49, 55, 59, 60]. Biz ve diğer araştırmacılar tarafından gösterildiği üzere, sürdürülebilir kalori kısıtlaması MS prevalansındaki azalma ile ilişkilidir. Bu amaca diyet alışkanlıklarının kapsamlı olarak değiştirilmesi ile ulaşılabilir. Değişimler hayvansal gıdaların ve rafine karbonhidratların azaltılması ile tam taneli tahılların, baklagillerin ve sebzelerin artırılmasını kapsar [2, 13]. Kronik hastalıklar sıklıkla Batı hayat tarzı faktörlerinin sonucunda oluşur. Ancak bugüne kadar, potansiyel koruyucu ve sürdürülebilir hayat tarzına yapılan yatırımlar muhtemel getirisine kıyasla oldukça düşüktür.

Kanser ve diğer kronik hastalıkların biyolojileri, son birkaç dekad içinde son derece hızlı gelişmekte ve kardiyovasküler hastalıkların önlenmesinde (spesifik risk faktörlerinin tedavi edilmesine dayanır) çok faydalı olan ancak kanser için çoğunlukla geçer-

siz olan geçmişte sık kullanılan indirgemeci yaklaşım yerine kompleksitenin önemini vurgulamaktadır. İnsanlarda şu anda kadar yapılan kanser kemoprevensiyon deneyleri giderek gelişmekte olan kanserin kompleks bir hastalık olduğu görüşünü dikkate alıyor görünmemektedir. Çoğu tek veya birkaç besin öğesinin takviyesine veya kullanımının durdurulmasına dayanan bu çalışmaların çoğu başarısız olmuş veya net olmayan sonuçlar vermiştir. Kanserin gelişiminde rol oynayan kompleks biyolojik sistemleri hedeflenen şekilde etkileyebilmek için muhtemelen çok boyutlu girişimlere ihtiyaç vardır. Çok sayıda dolaylı yolağın varlığı nedeniyle, bir veya birkaç yolağa odaklanan tek bir ajan veya faktör muhtemelen başarısız olacaktır. Hatta potansiyel olarak koruyucu olan yolaklarla etkileşerek tehlikeli olma ihtimali de vardır.

2 "Yin" Gıdalar ve "Yang" Gıdalar

Tüm gıdalar yaşayan organizmalar olan hayvan veya bitkilerden elde edilir. Bu gıdalar insanların ataları gibi milyonlarca yıllık süreç içinde evrimleşmiş son derece kompleks organizmalardır. Gıdaların mevcudiyeti insan evrimini etkilemiştir (tersi de geçerlidir). Toksik gıdalar giderek hızlanan şekilde tespit edilmekte ve diyetlerden çıkarılmaktadır. Doğal seleksiyon sağlıklı üremeyi mümkün kılacak gıda paternlerinin adaptasyonunu sağlamıştır. Tahıllar son 10-30.000 yıl içinde hemen tüm insan popülasyonlarının değişmez gıdası olmuştur. İnsanlar tahıllar ile baklagilleri aynı yemekte kombine etmenin avantajını, içeriklerindeki tamamlayıcı aminoasit kompozisyonunu öğrenmeden binlerce yıl önce kullanmaya başlamıştır. Diyetle lif tüketimi ve mortalite ilişkisini araştıran iki güncel kohort çalışması mevcuttur. Avrupa'da yapılan EPIC [8] ve ABD'de yapılan NCI-ARP çalışmasında [45], yüksek tahıl liflerinin kullanımının düşük kanser, kardiyovasküler, pulmoner, gastrointestinal ve enfeksiyon hastalıkları mortalitesi ile ilişkili olduğu istikrarlı olarak gösterilmiştir. Ayrıca sebze ile alınan liflerin de kısmen koruyucu olduğu ancak meyve liflerinin bu özelliği taşımadığı da tespit edilmiştir. İlginç biçimde tam taneli tahılların komponentlerin (lifler, vitaminler veya mineraller) izole olarak uygulanmasında koruyucu etki görülmemesi [26], tahıllardaki birden fazla bileşenin bir araya gelerek "gıda sinerjisi" ile toplam etki yaptığını düşündürmektedir [23–25].

Tam taneli tahıllar (başlıca esmer pirinç, darı, arpa, yulaf) ve kısmen de kara buğday ve buğday makarnası makrobiyotik bir diyetin temel komponentleridir. Ayrıca %20-30 lokal sebzeler, %5-10 fasulye (geleneksel soya ürünleri de içerir), deniz sebzeleri ile bazen de meyve, sert kabuklu yemişler ve balık içerir [33]. 2007 WCRF/AICR kanserin önlenmesi tavsiyeleri ilginç bir şekilde şeker ve şekerli ve alkollü içecekler gibi aşırı derecede "yin" gıdalar ile işlenmiş et, tuzlu gıdalar, kırmızı et gibi aşırı "yang" gıdalardan sakınılmasını öneren makrobiyotik tavsiyelerle genel bir benzerlik göstermektedir.[1] Ana tavsiye olan "Çoğunlukla bitkisel kaynaklı gıdalar tüketiniz. Hergün çeşitli nişastasız sebzeler ve

[1] www.dietandcancerreport.org

Tablo 1 WCRF tavsiyeleri

• Normal sınırlar içindeki vücut ağırlığına mümkün olduğu kadar yakın olunuz
• Fiziksel aktiviteyi günlük yaşamın bir parçası haline getirerek aktif kalınız
• Enerji yoğun besinlerin tüketimini azaltınız ve şekerli içeceklerden kaçınınız
• Çoğunlukla bitkisel kaynaklı gıdalar tüketiniz. "Hergün çeşitli nişastasız sebzeler ve çeşitli meyveler" ile "her öğünde görece az işlenmiş tahıllar (taneli) ve/veya bakliyat" tüketiniz
• Kırmızı et tüketimini azaltınız ve işlenmiş etten sakınınız
• Alkollü içkileri azaltınız
• Tuz tüketimini azaltınız. Küflü tahıl veya baklagil tüketiminden sakınınız
• Nütrisyonel ihtiyaçları sadece diyetle karşılamaya çalışınız
• Anneler emzirmeli; bebekler emzirilmelidir
• Kanser hastaları kanserin önlenmesi ile ilişkili tavsiyelere uymalıdır

Şekil 1 Yin ve yang kavramını temsil eden Tao piktogramı.



çeşitli meyveler ile her öğünde görece az işlenmiş tahıllar ve/veya bakliyat tüketiniz" ifadesi aynı zamanda Akdeniz diyetinin de temel özelliğidir. Aynı zamanda endüstri devriminden önceki toplumlarının çoğunun temel gıdalarıdır: İtalya'da fasulye ile makarna, Kuzey Afrika'da nohut ile kuskus, Asya'da soya ürünleri ile pirinç, Orta Amerika'da darı ile börülce, Siyahi Afrika'da darı ve yer fıstığı bu yiyeceklere örnek olarak verilebilir.

Tablo 2 Yin-yang kriterlerine göre sıralanmış WCRF nütrisyonel tavsiyeleri

Şekerli içeceklerden kaçınız	▼▼▼
Alkollü içkileri azaltınız	▼▼
Yüksek enerjili gıdaları azaltınız	▼
Çoğunlukla görece az işlenmiş tahıllar, bakliyat, sebzeler içeren, bitkisel kaynaklı gıdalar tüketiniz.	
Kırmızı et tüketimini azaltınız	▼
Tuz tüketimini azaltınız	▼▼
İşlenmiş etlerden sakınınız	▼▼▼

Yin-yang konsepti Çin filozofisinde polar karşıtların veya belirgin olarak zıt güçlerin doğal dünyada birbirleriyle nasıl bağlantılı olduklarını ve herşeyin meydana gelmesine nasıl neden olduklarını tanımlamakta kullanılır. Yin ve yang karşıt değil tamamlayıcı güçlerdir. Herşeyin hem yin hem de yang yönü vardır. Yin ve yang konsepti Tao piktogramı ile gösterilmektedir (Şekil 1). Sembolik olarak omuzlarındaki bambu kamışına asılı iki sepetten birinde yin enerjisini diğerinde ise yang enerjisini taşıyan yürüyen bir adam ile ifade edilir. Bu insan sadece iki enerji arasında mükemmel bir denge olması halinde Tao'ya doğru ilerleyebilir. Klasik olarak "yang" ifadesi "güneşli tarafı", "yin" ifadesi ise "gölgeli tarafı" sembolize eder. Karanlık, pasif, kadınsı, soğuk, ıslak, yaygın ve zayıf olan "yin" dünya ile ilişkilidir. Parlak, aktif, erkeksi, sıcak, kuru, odaklı ve güçlü olan "yang" ise gökyüzü ve güneş ile ilişkilidir. Hayvansal besinler, özellikle de tuz ve tuzlu et yangdır. Bitkisel besinler ise yindir. Yağlar, alkollü içkiler ve şeker gibi rafine besinlerin çoğu da yindir.

Tablo 2 WCRF/AICR tavsiyelerinin yin ve yangdaki makrobiyotik sınıflamaya göre sıralanmış halini göstermektedir. Bir üçgen ile sembolize edilen yang bu üçgenin tabanında huzur içinde dinlenmektedir. Yini sembolize eden üçgen ise tepe noktasındaki dengeyi zorlukla sağlayabilmektedir. WCRF/AICR tavsiyelerinin aslında aşırı derecede yin ve yang gıdalardan sakınılmasını, yin ve yang gıdalarının dengesini bozan gıdaların azaltılmasını, taneli işlenmemiş tahıllar gibi hafifçe yang gıdaların, baklagiller ve sebzeler gibi hafifçe yin gıdalar ile dengelenmesini önerdiği görülmektedir.

Gerçekten de ılıman iklimlerde yaşayan tüm toplumların gastronomik geleneklerine bakıldığında, genel olarak yang ve yin gıdalarının dengelenmeye çalışıldığı görülmektedir: Balık sıklıkla kaynatılmış patatesle, hindi kestane ile doldurulmuş olarak, kırmızı et biraz salata ve kırmızı şarapla servis edilir; İtalya'da tuzlu jambon karpuzla, Sicilya'da narenciye türü meyveler tuz ile tüketilir; kırmızı etten yapıldığı ve yüksek ısıda pişirildiği için aşırı derecede yang bir gıda olan hamburger sıklıkla buzlu ve şekerli yin içeceklerle tüketilmektedir. Sadece çok soğuk (yin) iklimlerde domuz pastırması ve yumurta gibi çok yang olan kahvaltılar tüketilir. Sıcak iklimlerde ise yin meyveler ve tatlılar tercih edilir. Taoist filozofinin ana prensiplerinden biri wu-wei'nin (tam anlamı eylemsizliktir) eylemsizlik ile uygulanması vurgular. Temel olarak doğaya saygı duyma, doğa ile uyum sağlama ve natürelliği ifade eder. Nütrisyonel olarak da aşırı derecede işlenmiş gıdaların yerine natürel, basit ve uyumlu gıdaların seçilmesine dayanır.

3 Beslenmede Sinerji

Gıda komponentleri arasında sinerji oluşturan basit gıdaların tercih edilmesi giderek daha fazla kabul görmektedir [25]. Balıktan alınan omega-3 yağ asitlerinin biyoyararlanımı takviyelerle alınandan birkaç kat daha yüksektir. Yağda çözünen bir vitaminin takviye olarak alınması aynı taşıyıcı mekanizmayı kullanan vitaminlerin absorpsiyonunda azalmaya yol açabilir. Gıda takviyeleri (başlıca antioksidan vitaminler, mineral-

ler ve B vitaminleri) ile ilgili randomize kontrollü çalışmaların çoğunda ya hiçbir etki bulunmamış ya da advers olaylar görülmüştür. Buna karşın ihtiyatlı veya Akdeniz diyet paterni skoru yüksek olan bireylerde gerçekleştirilen gözlemsel çalışmalarda kronik hastalık insidansı daha düşük bulunmuştur. Diyabet [51], kardiyovasküler hastalık [18, 30], Alzheimer [53], meme [9, 57, 61], mide [3], kolon [5] ve pankreas [27] kanserini de içeren çeşitli kanserlerin insidansları bu bireylerde anlamlı olarak daha düşük bulunmuştur.

Doğal gıdaların içerikleri koordinasyon içindedir ve ortama göre konsantrasyonları farklılıklar gösterir. Örneğin dağlarda büyüyen sebzeler, soğuktan koruyan poliansatüre yağ asitleri yönünden daha zengindir. Yüksek oranda poliansatüre yağ asidi içeren gıdalar da antioksidan fitokimyasallar yönünden genellikle daha zengindir. Fitokimyasalların gen ekspresyonunu etkiledikleri, DNA metilasyonunu, histon asetilasyonunu ve mikro-RNA'yı artırdığı ya da azalttıkları yönündeki kanıtlar giderek artmaktadır. Çeşitli kanser türlerinde gösterilen spesifik DNA metilasyonları ve histon modifikasyonları çoğunlukla proenflamatuar mikroortamlarla ilişkilidir. Epigenetik değişimler prensipte ardışık mitotik bölünmeler ile iletilebildiği için, gebelik öncesi veya embriyonik gelişim sırasında oluşmaları organizmanın genel epigenetik statüsü üzerinde çok daha büyük etki yapacaktır. Ancak diyet ve fiziksel aktivite gibi çevresel faktörler her yaşta DNA modifikasyonuna ve histon asetilasyonuna yol açabilirler [14, 36]. Global hipometilasyon ve bulunduğu bölgeye spesifik hipermetilasyon insan tümörlerinin genel özelliğidir. Diyet epigenetik paternleri derinden değiştirebilir. Ancak insan hastalıklarının gelişiminde diyet ve epigenetik arasındaki nedensel ilişki hala çok az düzeyde anlaşılmıştır. Hangi advers epigenetik işaretlerin ilaçlar, besinler veya hayat tarzı değişimleri ile geriye çevrilebileceğini araştıran zorlu bir araştırma alanı gelişmektedir. Elliden fazla biyoaktif fitokimyasalın DNA metiltransferaz veya histon asetilaz/deasetilazı etkilediği gösterilmiştir. Hayvanlarda veya insan hücre kültürlerinde yapılan deneysel çalışmalar fitokimyasalların kanserdeki rolünü desteklemektedir. Ancak bu deneyler insanlardaki konsantrasyonların çok üzerindeki değerler ile gerçekleştirilmiştir. Bu sonuçlardan bu maddelerin insanlardaki hastalıkların önlenmesi ile ilişkili etkilerini tahmin etmek çok güçtür. Ancak fizyolojik konsantrasyonlara sürekli maruz kalmanın epigenomu kümülatif bir şekilde yeniden yapılandırabileceği yönündeki kanıtlar artmaktadır [52]. Ayrıca bu deneylerde kullanılan tam gıda ekstrelerinin izole spesifik bileşenlere göre anlamlı olarak daha yüksek fizyolojik etkileri olduğu bulunmuştur: "Tabiat ana bitkileri yaratırken ne yaptığını biliyordu: Sebzeler, meyveler, tam tahıllar, sert kabuklu yemişler ve baklagiller vitamin, mineral, lif, protein, antioksidan ve daha birçok önemli bileşenin zengin kombinasyonlarını içeren mükemmel örneklerdir" ([24] nolu referanstan alınmıştır). Biyolojik olarak aktif gıda komponentleri hakkında henüz bilmediğimiz ve anlamadığımız çok şey olduğu için gıdaların doğal formlarına en uygun şekilde tüketilmesi daha uygun olacaktır: Şimdi doğa ile uyum içinde olma zamanıdır.

4 Kanser ve Hayat Tarzı

Çeşitli çalışmalarda Batı diyet paterni, obezite, kilo alımı, sedanter yaşam tarzı, metabolik sendrom, yüksek serum insülin düzeyleri, büyüme faktörleri ve enflamatuar sitokinlerin kanser teşhisi sonrasındaki rekürans insidansını artırdığı ve kansere spesifik sağkalımı azalttığı gösterilmiştir.< Çalışmaların çoğu meme ve kolon kanserinde yapılmıştır. Ancak kanserin klinik yönetiminde hayat tarzını iyileştirmeye ve vücut ağırlığını kontrol etmeye yeterince dikkat gösterilmemektedir.

KANSER reküransı ile ilişkili gözlemlerin doğrulanabilmesi ya da çürütülmesi için hayat tarzı girişim çalışmalarına ihtiyaç vardır. Ancak şu anda bile orta derecede fiziksel egzersiz, orta derecede kalori kısıtlaması ve Akdeniz diyet pateninin uygulanmasının önünde bir kontrendikasyon mevcut değildir. Çeşitli çalışmalarda meme [10, 37, 50, 54], kolorektal [11, 20] ve prostat kanseri [17, 38] teşhisi koyulan obez bireylerin kanserin evresinden ve hastalığın diğer biyolojik özelliklerinde bağımsız olarak daha düşük genel ve hastalıksız sağkalıma sahip oldukları gösterilmiştir. Son zamanlarda yapılan klinik bir çalışmada obezitenin non-Hodgkin lenfoma için de olumsuz bir prognostik faktör olduğu gösterilmiştir [16]. Meme kanseri hastalarını takip eden 43 çalışmanın metaanalizinde obez hastaların normal kilolu hastalara göre hem genel [HR 1.33; %95 güven aralığı (CI) 1.21, 1.47] hem de meme kanserine spesifik sağkalımlarının (HR 1.33; %95 CI 1.19, 1.50) daha kötü olduğu gösterilmiştir. Benzer sonuçlar obezite ölçütü olarak bel kalça oranı kullanıldığında da elde edilmiştir (HR 1.31; 1.08, 1.58). Bu etki hem premenopozal hem postmenopozal hastalar ile tedavi ve gözlem kohortları için de geçerliydi [50].

Meme kanseri teşhisi sonrası kilo alımının total ve meme kanseri mortalitesini artırdığı yönünde kanıtlar da vardır. Bir başka çalışmada her 5 kg'lık kilo artışının meme kanserine spesifik mortalitede %13 azalma ile ilişkili olduğu bulunmuştur [43]; tanı sonrası kilo kaybı ise tüm nedenlere bağlı ölümde artışa yol açarken, meme kanserine bağlı ölümleri ise (kilosu değişmeyenlere göre) anlamlı olmayan düzeyde azaltmıştır. Çeşitli çalışmalarda CMF bazlı adjuvan kemoterapi esnasındaki kilo alımının genel olarak daha kötü prognoz ile ilişkili olduğu gösterilmiştir [5, 31]. Kendi çalışmamızda adjuvan kemoterapi esnasındaki kilo alımının önlenebileceğini gösterdik [59]. Ancak günümüzde meme kanserinin klinik yönetiminde kilo kontrolüne yeterince dikkat gösterilmemektedir.

Diyetle alınan yağın azaltılmasının etkisinin test edildiği 2500 meme kanseri hastası ile yapılan randomize kontrollü çalışmada yeni meme kanseri olaylarında %24 (sınırda anlamlı) oranında azalma gösterilmiştir (lokal ve distal rekürranslar ile kontralateral meme kanseri) [7]. Bu çalışmanın girişim kolundaki kadınlar 5 yıllık takip süresince ortalama 2.1 kg zayıflamıştır. Yağ alımını azaltmanın ve meyve ve sebze tüketimini artırmanın (başlıca meyve ve sebze suları ile) etkisinin 3000'den fazla hastada test edildiği bir başka çalışmada ise herhangi bir koruyucu etki tespit edilmemiştir; ancak çalışmanın dizaynının izokalorik olması nedeniyle girişim grubuna randomize edilen kadınlar biraz kilo almıştır [48]. Bu tür bir çelişkinin olası nedeni orta derecede kalori kısıtlamasının meme kanseri reküransından koruyabilme ihtimalidir.

Opere edilen binlerce meme [21, 22, 47] ve kolorektum kanseri [20, 40] hastasında yapılan gözlemsel çalışmalarda ise tanı sonrası orta düzeyde fiziksel egzersiz yapanlardaki rekürans ve ölüm riskinin azaldığı tespit edilmiştir. I ve IV. evredeki kolon kanseri olan hastalarda herhangi bir etki mevcut değilken, II ve III: evrelerdeki hastalarda ise belirgin etki tespit edilmiştir. Fiziksel aktivitenin meme kanseri hastalarındaki etkisi östrojen reseptörü pozitif tümörlerle sınırlıdır. Hergün tempolu yürüyüş düzeyinde 30 dakika egzersiz yapan kadınlardaki kansere spesifik mortalite %30-50 oranında azalmıştır. Fiziksel aktivitenin koruyucu olmasının altında yatan mekanizma muhtemelen insülin sensitivitesi üzerindeki etkisinden kaynaklanmaktadır.

Adjuvant kemoterapi gören kolon kanseri hastalarının katıldığı diyet paterni ile ilişkili gözlemsel bir çalışmada yüksek Batı diyeti skorunun rekürans riskinde anlamlı artış ile ilişkili olduğu bulunmuştur. Daha yüksek faktör yükü olan besinler arasında peynir, yağlı soslar, margarinler, tatlılar, kırmızı et ve işlenmiş et mevcuttur [39] Ancak meme kanseri hastalarında yapılan benzer çalışmalarda Batı diyet paterni ile tüm nedenlere bağlı ölüm daha düşük tespit edilmiştir. Bu etki meme kanserine spesifik mortalite için geçerli değildir [32, 35]. Ovaryum kanseri hastalarında yapılan iki çalışmada süt ürünlerinden zengin ve sebze yönünden fakir diyetlerin daha kötü sağkalım ile ilişkili olduğu bulunmuştur [12, 41]. Ancak bu çalışmalar çalışmada yer alan hastaların tanı öncesindeki diyetlerini hatırlamalarına dayanmaktadır. Gözlemsel çalışmalarda soya [4, 19, 29, 56] ve turpgiller gibi spesifik sebze yemeklerinin hem hormon tedavisi alan hem de almayan meme kanseri hastalarındaki reküransı azaltmaya yardımcı olabileceği öne sürülmüştür. Ayrıca gıdalarla alınan deniz ürünleri kaynaklı yağ asitlerinin de meme kanseri reküransında ve tüm nedenlere bağlı ölümde muhtemel azalma ile ilişkili olduğu gösterilmiştir: 6 yıl süreli olan ve hastaların son 24 saat içinde yediklerini hatırlamalarına dayanarak diyet değerlendirmesi yapan bir çalışmada uzun zincirli omega 3 yağ asidi tüketimi en yüksek 2 üçtebirlik dilimde olan meme kanseri hastalarında ilave meme kanseri olaylarının görülme riski %25 azalmıştır [27, 58]. Omega-3 takviyelerinin tüketimi ile herhangi bir koruyucu etki tespit edilmemiştir. Meme kanserinde multivitamin desteğinin araştıran çalışmalarda elde edilen sonuçlar ise çelişkilidir [34, 42].

DIANA (Diyet ve Androjen) çalışmalarında meme kanserinin önlenmesinde diyet girişimlerinin etkisi araştırılmıştır. Birkaç ay süreyle uygulanan Akdeniz ve makrobiyotik diyetin yüksek meme kanseri riski altındaki kadınların metabolik ve endokrin özelliklerini olumlu yönde (insülin düzeyleri ile büyüme faktörlerinin ve seks hormonlarının biyoyararlanımlarının azalması) modifiye etmek için yeterli olduğu gösterilmiştir [2, 28]. Hala sürmekte olan DIANA-5 projesi [60] metabolik sendrom ve/veya yüksek serum insülin veya testosteron düzeyleri nedeniyle yüksek rekürans riski altında bulunan 2000 meme kanseri hastasında diyet ve fiziksel aktivitenin etkisini araştıran randomize kontrollü bir çalışmadır. Çalışmanın amacı 2007 Dünya Kanser Araştırma Fonu tavsiyelerinde yer alan orta derecede fiziksel egzersiz, orta düzeyde kalori kısıtlaması ile büyük bölümü bitkisel kaynaklı olan ve çok çeşitli işlenmemiş taneli tahıllar, baklagiller, mevsim sebzeleri ve meyve içeren diyetlerin meme kanseri reküransını anlamlı olarak azaltabileceği hipotezini test etmektir.[2]

[2] www.dietandcancerreport.org

Bu ve diğer çalışmalardan kanserle ilişkili morbiditenin azaldığını ve hayat kalitesinin yükseldiğini gösteren sonuçlar elde edilmesi durumunda, diyet tavsiyesi ve kilo kontrolü meme kanseri hastaları için yeni bir bakım standardı haline gelebilir.

Referanslar

1. Agnoli C, Krogh V, Grioni S, Sieri S et al (2011) A priori-defined dietary patterns are associated with reduced risk of stroke in a large Italian cohort. J Nutr 141:1552–1558
2. Berrino F, Bellati C, Secreto G et al (2001) Reducing bioavailable sex hormones through a comprehensive change in diet: the diet and androgens (DIANA) randomized trial. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 10:25–33
3. Buckland G, Agudo A, Lujan L et al (2010) Adherence to a Mediterranean diet and risk of gastric adenocarcinoma within the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC) cohort study. Am J Clin Nutr 91:381–390
4. Caan BJ, Natarajan L, Parker B et al (2011) Soy food consumption and breast cancer prognosis. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 20:854–858
5. Camoriano JK, Loprinzi CL, Ingle JN et al (1990) Weight change in women treated with adjuvant therapy or observed following mastectomy for node-positive breast cancer. J Clin Oncol 8:1327–1334
6. Castillejos-Molina R, Rodriguez-Covarrubias F et al (2011) Impact of metabolic syndrome on biochemical recurrence of prostate cancer after radical prostatectomy. Urol Int 87:270–275
7. Chlebowski RT, Blackburn GL, Thomson CA et al (2006) Dietary fat reduction and breast cancer outcome: interim efficacy results from the Women's Intervention Nutrition Study. J Natl Cancer Inst 98:1767–1776
8. Chuang SC, Norat T, Murphy N et al (2012) Fiber intake and total and cause-specific mortality in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition cohort. Am J Clin Nutr 96:164–174
9. Cottet V, Touvier M, Fournier A et al (2009) Postmenopausal breast cancer risk and dietary patterns in the E3N-EPIC prospective cohort study. Am J Epidemiol 170:1257–1267
10. Dawood S, Broglio K, Gonzalez-Angulo AM et al (2008) Prognostic value of body mass index in locally advanced breast cancer. Clin Cancer Res 14:1718–1725
11. Dignam JJ, Polite BN, Yothers G et al (2006) Body mass index and outcomes in patients who receive adjuvant chemotherapy for colon cancer. J Natl Cancer Inst 98:1647–1654
12. Dolecek TA, McCarthy BJ, Joslin CE et al (2010) Prediagnosis food patterns are associated with length of survival from epithelial ovarian cancer. J Am Diet Assoc 110:369–382
13. Esposito K, Marfella R, Ciotola M et al (2004) Effect of a mediterranean-style diet on endothelial dysfunction and markers of vascular inflammation in the metabolic syndrome: a randomized trial. JAMA 292:1440–1446
14. Fraga MF, Ballestar E, Paz MF et al (2005) Epigenetic differences arise during the lifetime of monozygotic twins. Proc Natl Acad Sci USA 102:10604–10609
15. Fung TT, Hu FB, Wu K et al (2010) The Mediterranean and dietary approaches to stop hypertension (DASH) diets and colorectal cancer. Am J Clin Nutr 92:1429–1435
16. Geyer SM, Morton LM, Habermann TM et al (2010) Smoking, alcohol use, obesity, and overall survival from non-Hodgkin lymphoma: a population-based study. Cancer 116:2993–3000
17. Gong Z, Agalliu I, Lin DW et al (2007) Obesity is associated with increased risks of prostate cancer metastasis and death after initial cancer diagnosis in middle-aged men. Cancer 109:1192–1202

18. Guallar-Castillon P, Rodriguez-Artalejo F, Tormo MJ et al (2012) Major dietary patterns and risk of coronary heart disease in middle-aged persons from a Mediterranean country: the EPIC-Spain cohort study. Nutr Metab Cardiovasc Dis 22:192–199
19. Guha N, Kwan ML, Quesenberry CP et al (2009) Soy isoflavones and risk of cancer recurrence in a cohort of breast cancer survivors: the Life After Cancer Epidemiology study. Breast Cancer Res Treat 118:395–405
20. Haydon AM, Macinnis RJ, English DR et al (2006) Effect of physical activity and body size on survival after diagnosis with colorectal cancer. Gut 55:62–67
21. Holick CN, Newcomb PA, Trentham-Dietz A et al (2008) Physical activity and survival after diagnosis of invasive breast cancer. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 17:379–386
22. Holmes MD, Chen WY, Feskanich D et al (2005) Physical activity and survival after breast cancer diagnosis. JAMA 293:2479–2486
23. Jacobs DR Jr, Steffen LM (2003) Nutrients, foods, and dietary patterns as exposures in research: a framework for food synergy. Am J Clin Nutr 78:508S–513S
24. Jacobs DR Jr, Tapsell LC (2007) Food, not nutrients, is the fundamental unit in nutrition. Nutr Rev 65:439–450
25. Jacobs DR Jr, Gross MD, Tapsell LC (2009) Food synergy: an operational concept for understanding nutrition. Am J Clin Nutr 89:1543S–1548S
26. Jacobs DR, Pereira MA, Meyer KA et al (2000) Fiber from whole grains, but not refined grains, is inversely associated with all-cause mortality in older women: the Iowa women's health study. J Am Coll Nutr 19:326S–330S
27. Jiao L, Mitrou PN, Reedy J et al (2009) A combined healthy lifestyle score and risk of pancreatic cancer in a large cohort study. Arch Intern Med 169:764–770
28. Kaaks R, Bellati C, Venturelli E et al (2003) Effects of dietary intervention on IGF-I and IGF-binding proteins, and related alterations in sex steroid metabolism: the diet and androgens (DIANA) randomised trial. Eur J Clin Nutr 57:1079–1088
29. Kang X, Zhang Q, Wang S et al (2010) Effect of soy isoflavones on breast cancer recurrence and death for patients receiving adjuvant endocrine therapy. CMAJ 182:1857–1862
30. Keys AB, Keys M (1975) Eat well and stay well the Mediterranean way. Doubleday, Garden City
31. Kroenke CH, Chen WY, Rosner B et al (2005a) Weight, weight gain, and survival after breast cancer diagnosis. J Clin Oncol 23:1370–1378
32. Kroenke CH, Fung TT, Hu FB et al (2005b) Dietary patterns and survival after breast cancer diagnosis. J Clin Oncol 23:9295–9303
33. Kushi LH, Cunningham JE, Hebert JR et al (2001) The macrobiotic diet in cancer. J Nutr 131:3056S–3064S
34. Kwan ML, Greenlee H, Lee VS et al (2011) Multivitamin use and breast cancer outcomes in women with early-stage breast cancer: the Life After Cancer Epidemiology study. Breast Cancer Res Treat 130:195–205
35. Kwan ML, Weltzien E, Kushi LH et al (2009) Dietary patterns and breast cancer recurrence and survival among women with early-stage breast cancer. J Clin Oncol 27:919–926
36. Ling C, Groop L (2009) Epigenetics: a molecular link between environmental factors and type 2 diabetes. Diabetes 58:2718–2725
37. Loi S, Milne RL, Friedlander ML et al (2005) Obesity and outcomes in premenopausal and postmenopausal breast cancer. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 14:1686–1691
38. Ma J, Li H, Giovannucci E et al (2008) Prediagnostic body-mass index, plasma C-peptide concentration, and prostate cancer-specific mortality in men with prostate cancer: a long-term survival analysis. Lancet Oncol 9:1039–1047
39. Meyerhardt JA, Niedzwiecki D, Hollis D et al (2007) Association of dietary patterns with cancer recurrence and survival in patients with stage III colon cancer. JAMA 298:754–764
40. Meyerhardt JA, Ogino S, Kirkner GJ et al (2009) Interaction of molecular markers and physical activity on mortality in patients with colon cancer. Clin Cancer Res 15:5931–5936

41. Nagle CM, Purdie DM, Webb PM et al (2003) Dietary influences on survival after ovarian cancer. Int J Cancer 106:264–269
42. Nechuta S, Lu W, Chen Z et al (2011) Vitamin supplement use during breast cancer treatment and survival: a prospective cohort study. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 20:262–271
43. Nichols HB, Trentham-Dietz A, Egan KM et al (2009) Body mass index before and after breast cancer diagnosis: associations with all-cause, breast cancer, and cardiovascular disease mortality. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 18:1403–1409
44. Oh SW, Park CY, Lee ES et al (2011) Adipokines, insulin resistance, metabolic syndrome, and breast cancer recurrence: a cohort study. Breast Cancer Res 13:R34
45. Park Y, Subar AF, Hollenbeck A et al (2011) Dietary fiber intake and mortality in the NIH-AARP diet and health study. Arch Intern Med 171:1061–1068
46. Pasanisi P, Berrino F, De Petris M et al (2006) Metabolic syndrome as a prognostic factor for breast cancer recurrences. Int J Cancer 119:236–238
47. Patterson RE, Cadmus LA, Emond JA et al (2010) Physical activity, diet, adiposity and female breast cancer prognosis: a review of the epidemiologic literature. Maturitas 66:5–15
48. Pierce JP, Natarajan L, Caan BJ et al (2007) Influence of a diet very high in vegetables, fruit, and fiber and low in fat on prognosis following treatment for breast cancer: the women's healthy eating and living (WHEL) randomized trial. JAMA 298:289–298
49. Post JM, Beebe-Dimmer JL et al (2011) The metabolic syndrome and biochemical recurrence following radical prostatectomy. Prostate Cancer 2011:245642
50. Protani M, Coory M, Martin JH (2010) Effect of obesity on survival of women with breast cancer: systematic review and meta-analysis. Breast Cancer Res Treat 123:627–635
51. Romaguera D, Guevara M, Norat T et al (2011) Mediterranean diet and type 2 diabetes risk in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC) study: the InterAct project. Diabetes Care 34:1913–1918
52. Scalbert A, Manach C, Morand C et al (2005) Dietary polyphenols and the prevention of diseases. Crit Rev Food Sci Nutr 45:287–306
53. Scarmeas N, Stern Y, Mayeux R et al (2009) Mediterranean diet and mild cognitive impairment. Arch Neurol 66:216–225
54. Sestak I, Distler W, Forbes JF et al (2010) Effect of body mass index on recurrences in tamoxifen and anastrozole treated women: an exploratory analysis from the ATAC trial. J Clin Oncol 28:3411–3415
55. Shen Z, Ye Y, Bin L et al (2010) Metabolic syndrome is an important factor for the evolution of prognosis of colorectal cancer: survival, recurrence, and liver metastasis. Am J Surg 200:59–63
56. Shu XO, Zheng Y, Cai H et al (2009) Soy food intake and breast cancer survival. JAMA 302:2437–2443
57. Sieri S, Krogh V, Pala V et al (2004) Dietary patterns and risk of breast cancer in the ORDET cohort. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 13:567–572
58. Thomson CA, Rock CL, Thompson PA et al (2011) Vegetable intake is associated with reduced breast cancer recurrence in tamoxifen users: a secondary analysis from the women's healthy eating and living study. Breast Cancer Res Treat 125:519–527
59. Villarini A, Pasanisi P, Raimondi M et al (2012) Preventing weight gain during adjuvant chemotherapy for breast cancer: a dietary intervention study. Breast Cancer Res Treat 135:581–589
60. Villarini A, Pasanisi P, Traina A et al (2012) Lifestyle and breast cancer recurrences: The DIANA-5 trial. Tumori 98:1–18
61. Wu AH, Yu MC, Tseng CC et al (2009) Dietary patterns and breast cancer risk in Asian American women. Am J Clin Nutr 89:1145–1154

Eski Bir Antidiyabetik İlaca Yeni Yaklaşım: Antikanser Ajan Olarak Metformin

Alessandra Leone, Elena Di Gennaro, Francesca Bruzzese, Antonio Avallone ve Alfredo Budillon

Özet

Pahalı olmayan, iyi tolere edilen ve tip 2 diyabetin birinci basamak tedavisinde sıklıkla kullanılan, oral ajan metforminin potansiyel antikanser ajan özelliği önemli bir araştırma konusu haline gelmiştir. Epidemiyolojik, klinik ve preklinik kanıtların birleşimini yansıtan bu araştırmalar metforminin diyabetiklerdeki kanser riskini azaltabileceğini ve birçok sık görülen kanser türünün sonuçlarını iyileştirebileceğini göstermektedir. Metforminin diyabetiklerde hayat boyunca görülen kanser riskini yaklaşık %30 azaltabilmesi dikkate değer bir bulgudur. Metforminin ekteki etkilerinin varlığı giderek daha fazla kabul edilmektedir: (1) Mitokondriyal respirasyonu etkileyerek hücrelerdeki enerji homeostazını kontrol eden AMP-aktive protein kinaz (AMPK) aktivasyonuna yol açarak kanser hücrelerini direkt olarak etkileyebilir. (2) Büyük oranda AMPK aracılığında gerçekleşen hepatik glukoneojenezi azaltarak dolaşımdaki insülin düzeylerinin azalmasına ve PI3K yolağının insülin/IGF-1 reseptörü aracılığındaki aktivasyonunun azalmasına yol açarak konak metabolizması üzerinde indirekt etki gösterebilir. Bu etkiler, metforminin kanser hücrelerinin in vitro büyümesini inhibe ettiği, farelerde tütün karsinojeni ile indüklenen akciğer kanserinin başlangıcını geciktirdiği ve metformin analoğu fenforminin kansere duyarlı transgenik farelerde spontan tümör gelişimini geciktirdiği yönündeki gözlemler tarafından desteklenmektedir. Hem direkt antitümör etki hem de konak üze-

A. Leone · E. Di Gennaro · F. Bruzzese
Experimental Pharmacology Unit, Istituto Nazionale per lo Studio e la Cura dei Tumori Fondazioni Giovanni Pascale - IRCCS, 80131, Naples, Italy

A. Avallone
Gastrointestinal Medical Oncology Unit, Istituto Nazionale per lo Studio e la Cura dei Tumori Fondazioni Giovanni Pascale - IRCCS, 80131, Naples, Italy

A. Budillon (✉)
Direttore U.O.C. Farmacologia Sperimentale, Istituto Nazionale per lo Studio e la Cura dei Tumori Fondazioni Giovanni Pascale - IRCCS, Via Mariano Semmola, 80131, Napoli, Italy
e-mail: a.budillon@istitutotumori.na.it

V. Zappia et al. (eds.), *Advances in Nutrition and Cancer,*
Cancer Treatment and Research 159, DOI: 10.1007/978-3-642-38007-5_21,
© Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2014

rinde indirekt etki yapabilme potansiyeli çok büyük ilgi çekmiştir. Ancak preklinik bulguların kliniğe yansıtılmasında aşılması gereken ilave engeller mevcuttur. Ancak artmakta olan kanıtlar, meme kanserinde yapılan büyük ölçekli adjuvan çalışma da dahil olmak üzere, metforminin antikanser özelliklerini araştıran klinik çalışmaların başlaması için yeterli hale gelmiştir.

Anahtar Kelimeler

Metformin • Fenformin • Diabetes mellitus • AMP-aktive protein kinaz • PI_3K yolağı

Kısaltmalar

ACC	Asetil-CoA karboksilaz
ACF	Aberan kript odakları
ACL	ATP sitrat liyaz
AKT/PKB	Protein kinaz B
CaMKK2	Ca^{2+}/kalmodülin-aktive kinaz kinaz
cAMP	Siklik adenozin monofosfat
CI	Güven aralığı
CRTCS	cAMP-'a cevap veren element bağlayıcı protein (CREB)-regüle transkripsiyon koaktivatörü
CSC	Kanser kök hücresi
DM	Diabetes mellitus
ER	Östrojen reseptörü
ERK	Ekstraselüler sinyal-regüle kinaz
FAS	Yağ asidi sentaz
FOXO	Forkhead box class O
GLUT	Glukoz taşıyıcısı
GPCR	G-protein birleşik reseptör
HCC	Hepatoselüler karsinom
HIF-1α	Hipoksi ile indüklenebilir faktör 1α
HOMA	Homeastaz model değerlendirmesi
IGF	İnsülin büyüme faktörü
IGFBP	İnsülin büyüme faktörü bağlayıcı protein
IGF-R	İnsülin büyüme faktörü reseptörü
IR	İnsülin reseptörü
IRS	İnsülin reseptör substratları
LKB1	Karaciğer kinaz B1
MAPK	Mitojen aktive protein kinaz
MEF	Fare embriyonik fibroblastı
mTOR	Memeli rapamisin hedefi

mTORC1	mTOR kompleks 1
NAFLD	Nonalkolik yağlı karaciğer hastalığı
Nampt	Nikotinamid fosforibosiltransferaz
OCT	Organik katyon taşıyıcısı
PDK1-3	Piruvat dehidrogenaz kinaz 1 ve 3
PET	Pozitron emisyon tomografisi
PI3K	Fosfatidilinositol 3 kinaz
rag	Rekombinasyon aktive edici gen
RR	Rölatif risk
SREBP-1	Sterol regülatör element bağlayıcı protein 1
TSC	Tüberöz skleroz
UMIN	Üniversite Hastanesi Medikal Enformasyon Ağı
VEGF	Vasküler endotelyal büyüme faktörü

İçindekiler

1 Giriş 357
2 Kanser ve Metabolizma 358
3 Diyabet ve Kanser 360
4 Metformin ve Kanser 363
4.1 Epidemiyolojik Çalışmalar 363
4.2 Etki Mekanizması ve Preklinik Çalışmalar 366
4.3 Klinik Çalışmalar 370
5 Sonuçlar 371
Referanslar 372

1 Giriş

Diabetes mellitus (DM) insülin sekresyonu, insülin etkisi veya her ikisindeki defektlerden kaynaklanan kronik hiperglisemi ve anormal karbonhidrat, yağ ve protein metabolizması ile karakterize metabolik bir bozukluktur. Yüzyıllardır bilinen ve tedavi edilen majör ve global bir sağlık problemidir. Avrupalılar Orta Çağ'dan beri DM hastalarında görülen iki semptom olan "susama ve sıklıkla idrar yapma" belirtilerini daha sonra bir guanidin türevi olan galegin gibi aktif komponentler içerdiği tespit edilen otsu bir bitki olan Galega officinalis ekstreleri ile tedavi etmiştir. 1920'lerde galeginin kan şekerini ve insülin rezistansını azaltıcı etkisi olduğu bulunmuştur. Fenformin ve metformin gibi biguanid türevlerinin 1950'lerde klinik kullanıma sunulması oral antidiyabetik farmakoterapinin geliştirilmesinde önemli bir kilometre taşı olmuştur. Fenformin nadir görülen

fatal laktik asidoz yan etkisi nedeniyle ABD ve diğer birçok ülkede 1978'den itibaren piyasadan çekilmiştir. Ancak geçici gastrointestinal toksisiteye ve çok nadir ağır laktik asidoza neden olan metformin, birinci basamak antidiyabetik tedavide diyet ve egzersiz ile birlikte hala yaygın olarak tercih edilmektedir [80].

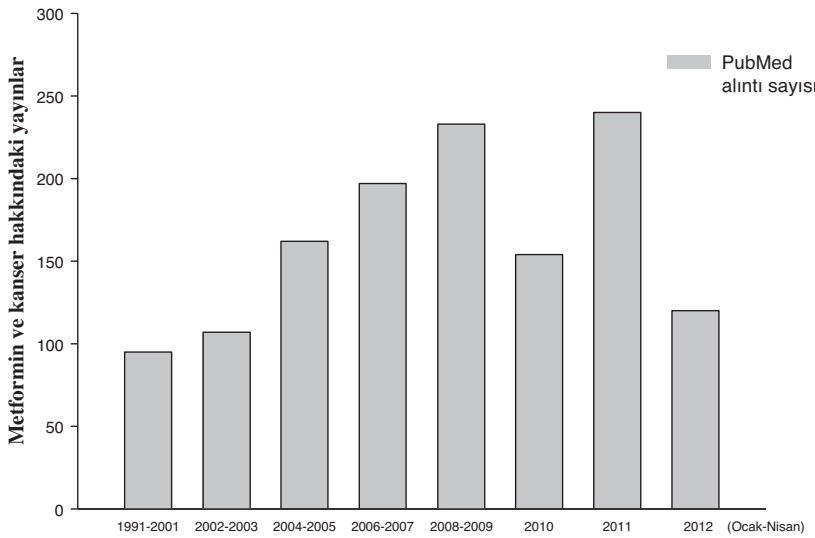
Güncel hasta serileri ve metaanalizlerde DM hastalarındaki kanser riskinin arttığı gösterilmiştir. Özellikle DM hastalarındaki metabolik dengenin deregülasyonunda rol oynayan başlıca organlar olan pankreas ve karaciğer kanserleri ile diyabet arasında güçlü bir ilişki gösterilmiştir [80]. Hiperglisemi ve hiperinsülinemi gibi metabolik patolojiler ve obezite ve yüksek oranda doymuş yağ içeren diyetler gibi DM ile ilişkili diğer unsurların da kanser için bağımsız risk faktörleri olmaları her iki hastalık arasındaki yakın ilişkiyi göstermektedir [39].

Buna karşın diyabet hastalarındaki metformin tedavisinin yaşam boyu kanser insidansında azalma ile korele olduğunu gösteren çeşitli retrospektif epidemiyolojik çalışmalar mevcuttur. Ayrıca günümüzde kanserin ana özelliklerinden biri olduğu kabul edilen metabolik programlama, antikanser tedavinin hedefi haline gelmiştir [73]. Bu bağlamda, NCI (Ulusal Kanser Enstitüsü) direktörü Harold Varmus dedike bir web sitesinde kanser araştırmalarındaki ilerlemeler ile ilgili kafa karıştırıcı problemler hakkında 24 provokatif soru sormuştur. Bu sorulardan kritik olan bir tanesi, yaygın ve kronik olarak farklı endikasyonlarda kullanılan bazı ilaçların (metformin ve diğerleri) kanserin insidans ve mortalitesini azaltabilen mekanizmalarının nasıl tanımlanacağıdır [9]. Metformin kanserde de etkili olan bir diyabet ilacı mı, yoksa diyabette de etkili olan bir kanser ilacı mıdır? [53]. Bu bölümde birçok tartışmanın yaşandığı bu alandaki tüm bu özellikleri gözden geçirerek soruların bazılarına cevap vermeye çalışacağız. Bu nedenle PubMed'de son 3 yıl içinde metformin ve kanser arasındaki ilişkiyi araştıran çok sayıda yayına rastlamak bir sürpriz değildir (Şekil 1).[1]

2 Kanser ve Metabolizma

Kanser hücrelerinin artan glukoz alımı ilk kez 1920'lerde Nobel Ödülü sahibi Otto Warburg tarafından tanımlanmıştır. Warburg etkisi adı verilen bu bulgu tümör hücrelerinin çoğunun yüksek oksijen basıncı (örn. aerobik glikoz) olan durumlarda bile korunan glikoliz artışı ile karakterize olmalarıdır. Bu artışı laktat üretim seviyelerinin artması takip eder. Bu metabolik durum, normal hücrelerin çoğundaki mitokondrial piruvatın oksidasyonu ile ilişkili olan düşük glikolitik oranlarla kontrast teşkil eder [12]. Warburg bu metabolizma değişiminin kanserin temel nedeni olduğu görüşünü de öne sürmüştür. Günümüzde, kanser hücrelerinin büyümelerinde hayati önemi olan çeşitli biyosentetik yolakların yönetilmesinde karbon kaynağı olarak artan oranlarda glukoz kullandıklarını

[1] http://provocativequestions.nci.nih.gov



Şekil 1 Grafik son 20 yıl içindeki PubMed kayıtlarında metformin ile kanser hakkındaki ilişki ile ilgili alıntıların sayısındaki artmayı göstermektedir (Mayıs 2012).

biliyoruz [47]. Glukoz metabolizmasındaki değişimler karsinogenezin erken dönemlerinde oluştuğu için, hem primer hem de metastatik kanserlerde alımı artan radyoaktif işaretli deoksiglukozu kullanarak kanseri teşhis etmeyi amaçlayan pozitron emisyon tomografisinin (PET) günümüzdeki kullanımının temeli Warburg etkisine dayanmaktadır [25, 79].

Aerobik glikolizin öncelikli kullanımı, yüksek oranda proliferatif olan hücrelerin sürekli değişen oksijen basıncı koşullarındaki sağkalımını iyileştirmektedir. Aksi halde sürekli değişen oksijen koşulları ATP üretimi için oksidatif fosforilasyona ihtiyaç duyan normal hücreler için öldürücü olacaktır [68]. Ayrıca kanser hücreleri tarafından üretilen laktik asit hücresel pH'yı etkileyerek tümör invazyonunu ve antikanser immun efektörlerin supresyonunu destekleyebilir. Pentoz fostat sistemi ile glukozu metabolize edebilen tümörler, yağ asidi sentezine katkı yapabilen ve kemoterapötik ajanlarla karşı koruyabilen NADPH üretebilirler [25, 73].

Warburg etkisi uzun yıllardır bilinmesine rağmen bu fenomenin altında yatan moleküler mekanizma henüz bilinmemektedir. Ayrıca antikanser yaklaşımlar için selektif bir hedefin tanımlanması da güçtür. Bazı yayınlarda, glukoz-6-fosfat dönüşümünü katalizleyen ve glikolitik yolakların birinci basamağının hızını sınırlayan bir metabolik enzim olan heksokinazın bir antikanser hedef olabileceği bildirilmiştir [87]. Ayrıca hem glikolitik yolaklarda rolü olan çeşitli metabolik reaksiyonların ve hem de tümör progresyonunu ve enflamatuar cevabı (örn. sirtuinler) etkileyen faktörlerin regülasyonunda hayati rol oynayan nikotinamid fosforibosiltransferaz (Nampt) ile ürünü olan nikotinamid adenin dinükleotid de (NAD) antikanser bir hedef olabilir [24].

Yeni yağ asidi üretim artışının kanser hücrelerinde hayati bir metabolik değişim olduğu ve ATP sitrat liyaz (ACL), asetil CoA karboksilaz (ACC) ve yağ asidi sentaz (FAS) gibi lipojenik enzimlerin hiperaktivitesi ile ilişkili olduğu düşünülmektedir [48]. FAS bir çok kanser türünde aşırı eksprese olur [81]. FAS'ın kimyasal inhibitörlerinin kanser hücrelerindeki proliferasyonu azaltıp, apoptozu artırdığı gösterilmiştir [48]. Güncel çalışmalarda kanser hücrelerindeki Warburg etkisinin, mitokondrial entegrasyon ve fonksiyonu korumak amacıyla, Krebs döngüsü yoluyla piruvat akışında azalmaya ve nonglukoz karbon kaynaklarının (örn. yağ asitleri) oksidasyonunda kaymaya yol açan mitokondrial ayrışmaya (kanser hücrelerinde mitokondrial membran potansiyeline cevap olarak ATP sentezinin ortadan kalkması) bağlı olabileceği bildirilmiştir [71]. Ancak diğer bazı yayınlarda Warburg etkisinin daimi mitokondrial disfonksiyonunda rol oynamayabileceği bildirilmiştir [87]. İlginç biçimde hücreleri sitotoksik saldırılara karşı daha dirençli hale getiren mitokondrilerin birbirlerinden ayrılmaları ve+ kemorezistans ile ilişkili olan yağ asidi oksidasyonunda artışın kanser tedavisinde ilave terapötik hedefler olma ihtimali vardır.

Kanser hücrelerinin metabolik yeniden programlanmaları ile il. bir başka hedefte düşük oksijenli ortama maruz kalan hücrelerin adaptasyonunda rol oynadığı düşünülen hipoksi ile indüklenen gen ekspresyonunu modüle eden bir transkripsiyon faktörü olan hipoksi ile indüklenen faktör 1a'dır (HIF-1α). Bu tür genler glikolizde rol oynayan genleri kaplar ve glukoz taşıyıcıları içerirler (GLUT1 ve GLUT3). Ayrıca güncel makalelerde, piruvat dehidrogenazın fosforilasyonunu ve devamında kanser hücrelerindeki mitokondrial respirasyonu kolaylaştıran piruvat dehidrogenaz kinaz 1 ve 3 (PDK1-3) ekspresyonunun HIF-1 tarafından indüklendiği gösterilmiştir [44, 52, 65].

Özet olarak hücresel metabolizmanın mitokondrial respirasyondan glikolize doğru kayması kanser hücrelerinin transformasyon ve progresyonları ile kemorezistansı yönlendirdiği için antikanser tedavide hayati bir hedef olarak değerlendirilmelidir.

3 Diyabet ve Kanser

DM iki predominant alt tipten oluşan (tip 1 ve 2) ve farklı metabolik aktiviteler ile karakterize olan bir grup metabolik bozukluktur. Tip 1 diyabette (tüm diyabetiklerin %5-10'u) endojen insülinin mevcut olmaması, insülin salgılayan β-pankreatik hücrelerin otoimmün harabiyetine bağlanır ve eksojen insülin uygulanmasını gerektirir. Buna karşın tip 2 diyabet ise (tüm diyabetiklerin %90'ı) uzun süreli hiperinsülinemi ve hiperglisemi ile karakterize olup periferik dokularda insülin rezistansı mevcuttur. Tip 2 diyabet tedavisinde sadece β-pankreatik hücrelerin fonksiyonlarını kaybetmeleri durumunda eksojen insülin tedavisi gerekir [39, 80]. Günümüzde DM tedavisinde kullanılan birçok ilaç çeşidi mevcuttur. Bunlar arasında hastaların pankreatik hücrelerindeki insülin üretim eksikliğni kompanse eden insülin, insülin analogları ve

insülin sekretagogları mevcuttur. Bir başka grup olan insülin duyarlılığını artırıcılar da, insülin rezistansını tedavi edebilen oral antidiyabetikler olan metformin veya tiazolidindionlar gibi ilaçları içerir. Son olarak akarboz gibi glukozidaz inhibitörleri de postprandiyal hipergliseminin önlenmesi amacıyla karbonhidrat sindirimi üzerinde etki gösterirler. Genel olarak tüm diyabetik ilaç sınıfları, DM ile sıklıkla birlikte görülen obezitenin engellenebilmesi için diyet ve egzersiz gibi hayat tarzı değişiklikleri ile birlikte kullanılırlar [62].

DM retinopati, nöropati, kardiyovasküler hastalıklar ve birçok çalışmada da bildirildiği üzere kanser riskinde artış gibi birçok komplikasyona neden olmaktadır.

Diyabetiklerden oluşan vaka kontrol ve kohort çalışmalarındaki kanserin rölatif riskini (RR) inceleyen çeşitli metaanalizlerde kanser ve kansere bağlı mortalitede hafif bir artış gösterilmiştir. Bu artış hem solid hem de hematolojik maligniteler için geçerli olsa da, spesifik bazı bölgelerdeki kanserler daha fazla artmaktadır. Rölatif risk artışı, DM gelişiminde rol oynayan başlıca organlar olan pankreasın (RR 2.50 %95 CI 1.8-3.5) ve karaciğerin (RR 1.94 %95 CI 1.53-2.46) kanserlerinde gösterilmiştir [22, 37].

Daha önce yayınlanan metaanalizlerde önceden mevcut olan diyabetin ekzokrin pankreatik kanserinin oluşumunu kolaylaştıran bir faktör mü olduğu ya da kanserin bir sonucu olarak mı ortaya çıktığı tespit edilemediği için, diyabetle pankreatik kanser arasındaki ilişkinin kesin olarak tanımlanması güçtür.

Orta yaşlı hastaların kaydedildiği güncel tarama çalışmalarında erken başlangıçlı diyabet pankreas kanserinin erken başlama ihtimalinin potansiyel göstergesi olarak kullanılmaktadır. Yaşlı hastalardaki pankreas kanserinde yüksek tahmin gücü olduğu gösterilen bu yöntem yaşlı diyabetiklerdeki 3 yıllık pankreas kanseri riskinin benzer yaş ve cinsiyetteki nondiyabetiklere göre 8 kat daha fazla olduğunu göstermiştir. Farklı çalışmalarda da yeni başlayan diyabetin normal pankreas dokusundaki değişimlerden çok pankreatik tümörlerinin sitokin üretiminden kaynaklanan erken bir olay olduğu gösterilmiştir [15, 64]. Metaanalizler yaş, ırk, sigara ve yükleme sonrası glukoz seviyelerine göre düzeltildiğinde hastalığın yeni başladığı diyabetik hastalardaki rölatif riskin yüksek kalması ilginç bir bulgudur. Bu bulgular hiperglisemi ve prediyabetik evrenin pankreas kanseri için risk faktörü olabileceğini ve kanser progresyonunun desteklenmesinde insülinin önemli rol oynadığını göstermektedir. Ancak tip 1 diyabetik hastalardaki pankreatik hücreler diğer dokulara kıyasla daha fazla insüline maruz kalmadıkları için, kanser progresyonunun desteklenmesinde tek başına insülin varlığı yetersizdir [64, 80].

Diyabetik hastalarda karaciğer kanserinin insidansında artış görülmesinin (özellikle hepatoselüler karsinom-HCC) başlıca nedeni karaciğer hücrelerinin portal dolaşım yolu ile maruz kaldıkları insülin seviyesinin artmasıdır. Bu durum özellikle tip 2 diyabetteki hiperinsülineminin ve insülin rezistansının şiddetlenmesi ile karakterize olan fizyolojik ve patolojik durumlar için geçerlidir. Eksojen insülin ile tedavi edilen tip 1 diyabet hastalarının karaciğer hücrelerindeki insülin düzeylerinin diğer organlar ile aynı seviyede olması dikkat çekicidir. Yukarıda pankreas kanseri ile ilgili olarak benzer şekilde bahsedil-

diği üzere, karaciğer kanserinde de artmış insülin düzeyleri kanser ve diyabet arasındaki korelasyonu açıklayamamaktadır. Bu nedenle çeşitli epidemiyolojik çalışmalarda diğer faktörler analiz edilmiştir. Örneğin iki hastalık arasında bağlantıya neden olan faktörler olarak hepatik steatoz ve siroz ile hepatit B ve C enfeksiyonları gösterilmiştir. Benzer şekilde nonalkolik yağlı karaciğer hastalığının da obez diyabetik hastalar ile tip 2 diyabet hastalarının %80'inde kanser riski için önemli bir faktör olabileceği bildirilmiştir [16, 18].

Sonuç olarak diyabet ile kanser arasındaki ilişki hala netleşmemiş olup diyabet tek bir rahatsızlıktan oluşan bir hastalık olmadığı için konunun yeniden değerlendirilmesi gerekmektedir. DM bir grup metabolik bozukluktan oluşur. Bu bozuklukların her biri hastaları farklı şekilde etkileyen özel metabolik ve hormonal anormalliklerle karakterize olur. Bu nedenle diyabetik hastaların homojen bir kohort olarak değerlendirilmesi güçtür. Diyabet ve kanser arasındaki bu kompleks ilişkiyi anlayabilmek için yeni çalışmalara ihtiyaç vardır.

Ayrıca fiziksel aktivite eksikliği, sigara, cinsiyet, etnik köken, komorbiditeler, tedavinin süresi, metabolik kontrolün kalitesi ve tedavi sırasında değiştirilen antidiyabetik ilaçların sayısı gibi birçok karıştırıcı faktör de mevcuttur. Bu tür faktörler metaanaliz sonuçlarını etkileyebilmektedir. Bu bağlamda yapılan güncel bir çalışmada insülin düzeylerinin erken takip için (teşhis sonrası ilk 5 yıl) fizyolojik bir gösterge olabileceği, leptin gibi obezite ile ilişkili faktörlerin de meme kanserinin uzun süreli takibinde önemli bir marker olabileceği gösterilmiştir [27].

Diyabetik hastalarda gözlenen tümör büyümesinde, moleküler düzeyde birçok faktör rol oynayabilir. Diyabet karsinogenezi, insülinin sadece metabolik yolakları modüle etmekle kalmayıp ekteki iki özgün mekanizma ile mitojenik sinyali de modüle eden kompleks aşağı yönlü sinyal ağı ile de destekleyebilir: (a) Hiperglisemi ve hiperinsülinemiyi de içeren spesifik değişimlerle ilişkili sistemik mekanizmalar ve (b) Spesifik organları etkileyen bölgeye özel mekanizmalar [80]. Hiperinsülinemi ilginç biçimde, epitel hücrelerindeki insülin reseptörlerini (IR) aktive ederek veya insülin büyüme faktörleri (IGF'ler), seks hormonları ve enflamatuar medyatörler gibi diğer modülatörleri indirekt olarak etkileyerek tümörijenezi destekler. Örneğin insülin çoğunlukla kanser hücrelerinde eksprese olan IR'nin A izoformuna bağlanarak IR substratları (IRS1-4) gibi adaptör proteinler yoluyla etki gösteren mitojenik sinyal yolaklarını tetikleyebilir. Bu sinyal mitojen aktive protein kinaz (MAPK) yolağının aktivasyonuna (insülin rezistansı varlığında korunan aktivasyon) ve AKT ve memeli rapamisin hedefi (mTOR) aracılığındaki sağkalım sinyalinin indüklenmesine neden olur [39, 55]. İnsülin yukarıda da bahsettiğimiz üzere, IGF'ler ve bunların aynı kökten gelen reseptörleri (IGF-R) vasıtasıyla indirekt etki gösterebilir. İnsülin rezistansı ve artmış insülin düzeyleri IGF'leri insülin büyüme faktörü bağlayıcı proteinlerden (IGFBP) ayırarak, tümör büyümesini ve kanser progresyonunu artırabilen serbest IGF düzeylerinde artışa yol açar. Meme kanseri hücre dizilerinde, insülin ile bu tümörde çok miktarda eksprese edilen IR izoformu olan IRA homodimeri ve IR-A/IGF1R heterodimeri arasında gözlenen etkileşim tümörijenezi stimüle eder ve sağkalım yolaklarını güçlendirir [6,

56, 66]. Ayrıca IGF1R'nin polimorfik formunun küçük hücreli dışı akciğer kanseri ile, IGF2R'nin polimorfizminin de gastrik kanser riski ile ilişkili olduğu gösterilmiştir [36, 86]. Meme kanserinde tümörün alt tipinden bağımsız olarak (örn. luminal, üçlü negatif veya Her2+) IGF1R/IR aktivasyonu gözlenmiştir. Bu aktivasyon sağkalımda azalma ve östrojen reseptörü ve Her ailesinin üyelerini de kapsayan hedefe yönelik tedavilere rezistans ile ilişkilidir. Yazarlar ayrıca spesifik tirozin kinaz inhibitörü olan BMS-536924'ün, meme kanserinin alt tipinden bağımsız olarak bu tür bir rezistansın üstesinden gelmek ve sağkalımı artırmak için kullanılabileceğini öne sürmüşlerdir [50].

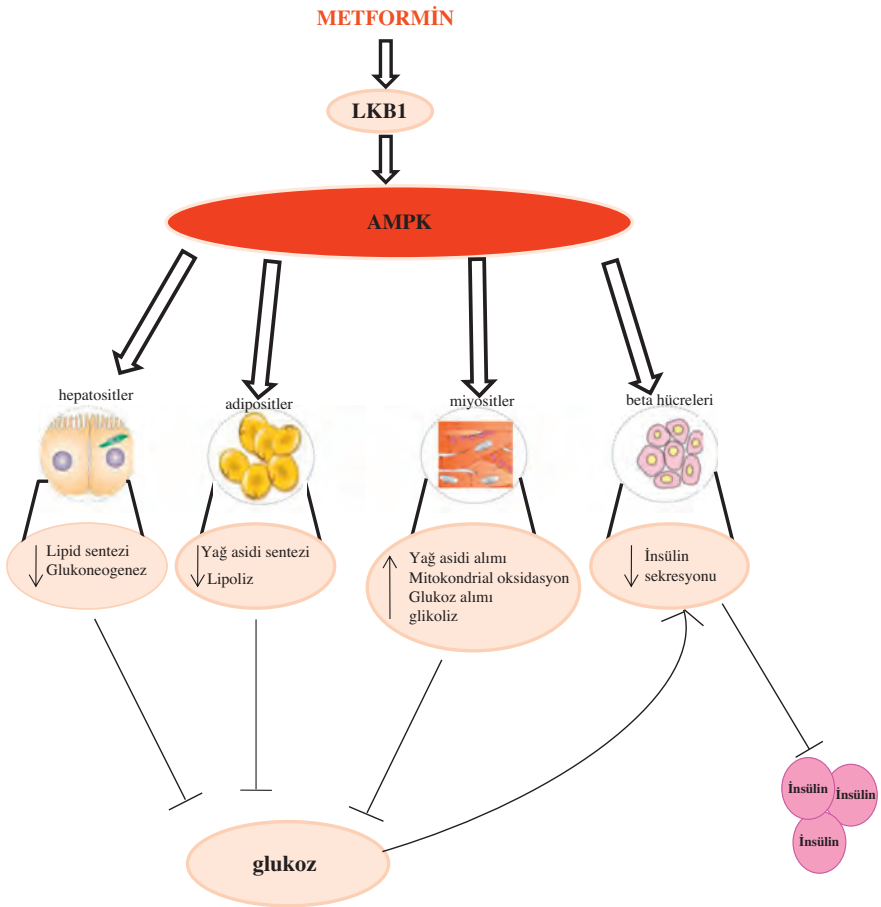
Yükselmiş insülin seviyeleri insülin rezistansı ile ilişkilidir. Bu rezistans overlerde üretilen serbest östrojen seviyelerini artırarak, seks hormonu bağlayıcı globülini bloke ederek ve adipöz dokudaki androjenin östrojene dönüşümünü artırarak tümörijenezi destekleyebilir [39, 80].

4 Metformin ve Kanser

4.1 Epidemiyolojik Çalışmalar

Bir biguanid türevi olan metformin (1, 1-dimetilbiguanid hidroklorid) oral bir hipoglisemik ajandır. Metformin başlıca hepatositler, miyositler, adipozitler ve pankreastaki β hücrelerinde etki gösterir (Şekil 2). Metformin karaciğerdeki glukoz üretimini inhibe ederken, periferik dokulardaki insülin sensitivitesini artırarak, iskelet kası ve adipöz dokuların glukoz alımının ve kullanımının artışına yol açar. Primer etkisi plazma insülin ve glukoz düzeylerinin azalmasıdır. Bunu kan glukoz kontrolünde iyileşme ve diyabetle ilişkili komplikasyonların azalması takip eder [8, 20]. Metforminin moleküler düzeydeki glukoz düşürücü etkisinin başlıca metabolik medyatörü hücresel enerji metabolizmasının regülasyonunda rol oynayan bir serin treonin kinaz olan AMPK aktivasyonudur [45, 67] (bkz. bölüm 5). Metformin görece düşük fiyatı, güvenli bir ilaç olarak bilinmesi ve kardiyovasküler hastalıkların önlenmesindeki etkileri nedeniyle tip 2 diyabette en sık reçetelenen birinci basamak ilaçlardandır [7]. Metforminin hafif-orta düzeyde toksisitesine bağlı olarak görülen bulantı, kusma ve diyare gibi gastrointestinal rahatsızlıklar doz azaltımı ile engellenebilir. Laktik asidoz nadir görülmesine rağmen en ciddi görülen yan etkisidir. En çok, mevcut hepatik, kardiyak veya renal komorbiditeleri olan yaşlı hastalarda görülür [20].

Son dekadda yapılan epidemiyolojik gözlem çalışmalarında DM hastalarında metformin kullanımının kanser insidansında azalma ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Evans ve. ark. tarafından yapılan 11.876 yeni tanı almış tip 2 diyabet hastası arasında bulunan 923 kanser hastasının değerlendirildiği vaka kontrol çalışmasında metformin tedavisi gören hastalardaki kanser insidansının diğer gruplara göre daha düşük olduğu ilk kez



Şekil 2 Metforminin tip 2 diyabet olan hastalardaki çeşitli dokularda ATP tüketen yolakların aşağı regülasyonuna ve ATP üreten yolakların yukarı regülasyonuna yol açan etkileri.

gösterilmiştir. Ayrıca tedavinin süresi ve reçetelerin sayısı da kanser insidansını etkilemektedir: Tedavi süresinde ve reçete sayılarındaki artış daha düşük kanser insidansı ile ilişkili bulunmuştur [23].

Bu çalışmadan sonra giderek artan sayıda retrospektif analiz yapılmaktadır. Bowker ve ark. 2006 yılında farklı tedaviler uygulanan (metformin, sülfonilüreler ve/veya insülin) 10.309 diyabet hastasından oluşan bir kohortun 5.4 yıl boyunca takip edildiği bir popülasyon çalışması gerçekleştirmiştir. Çalışmada sadece metformin ile tedavi edilen (insülin kullanmayan) hastalardaki kanser ölümlerinin, süfonilüre ile tedavi edilen hastalara göre (insülin kullanımından bağımsız olarak) azaldığı bildirilmiştir [11, 62]. Çalışmada tedavi görmeyen bir kontrol grubu olmadığı için, kanser riskinin metformin tarafından mı azaltıldığı yoksa insülin tarafından mı artırıldığı maalesef tespit edilememiştir.

Diğer gözlemsel çalışmalarda da benzer trendler bildirilmiştir [3, 60]. Kanser insidansı ve mortalitesinde metformin tedavisi ile görülen azalmanın, insülin varlığında veya insülin dozunun ayarlanması sonrasında da ilginç biçimde korunmuş olması metforminin etkilerinin insülinden bağımsız olduğunu düşündürmektedir [60].

Son zamanlarda, metforminin kanser insidansı ve mortalitesi üzerindeki etkisini anlamayı amaçlayan çeşitli metaanalizler yapılmıştır. Decensi ve ark. kapsamlı literatür taraması ile tespit ettikleri dil veya zaman sınırlaması olmayan 11 epidemiyolojik çalışmayı (tüm kanserlerle ilgili 5 kapsamlı çalışma ile, tek kanser tipine odaklanan 6 çalışma) incelemiştir. Analizden elde edilen veriler metformin tedavisinin kanser insidans ve mortalitesinde doza bağlı olarak %31'lik artış ile ilişkili olduğunu göstermiştir. İlginç biçimde, metformin tedavisi ile hepatoselüler ve pankreas kanseri arasında anlamlı bir korelasyon bulunurken, kolon, meme ve prostat kanserleri ile anlamlı bir korelasyonun tespit edilememiş olması metforminin etkilerini kanserin bölgesine spesifik olarak gösterdiğini düşündürmektedir [19]. 1353 tip 2 diyabet hastasında yapılan güncel bir çalışmada da metformin tedavisinin 9.6 yıllık takipteki kansere karşı koruyucu etkilerinin doza bağlı olarak ortaya çıktığı konfirme edilmiştir [1, 49].

Farklı ülkeleri kapsayan geniş kapsamlı popülasyon tabanlı verilerin kullanıldığı başka bir metaanalizde ise metformin tedavisinin kanserlerin (herhangi bir bölgedeki) insidans ve mortalitesini yaklaşık %33 oranında azalttığı gösterilmiştir. Azalma oranlarında kanserin bölgesine göre farklılıklar görülmüştür. Metformin tedavisi kolon, akciğer ve karaciğer kanseri risklerini de azaltmış, ancak hormona bağımlı prostat ve meme kanserleri ile pankreas ve gastrik kanser gelişimini etkilememiştir [61].

Metforminin metastaz gelişimindeki rolünü ve kemoterapinin etkinliğini artırıp artırmadığını anlamak amacıyla retrospektif analizler yapılmıştır. Özellikle akciğer kanseri olan diyabetik hastalarda yapılan bir analizde, metformin tedavisinin metastatik hastalığı azalttığı [57, 58] ve kemoterapötik etkinliği artırdığı bulunmuştur [78]. Jiralerspong benzer şekilde metformin tedavisinin, neoadjuvan kemoterapi alan meme kanseri hastalarındaki toplam patolojik cevabı artırdığını gözlemiştir Metformin 3 yıllık tahmini relapssız sağkalım oranlarını maalesef artırmamıştır [1, 42]. Buna karşın, metformin tedavisinin üçlü negatif meme kanserindeki genel sağkalım, hastalıksız sağkalım veya distal metastaz gelişimi üzerinde herhangi bir pozitif etkisi tespit edilememiştir [4].

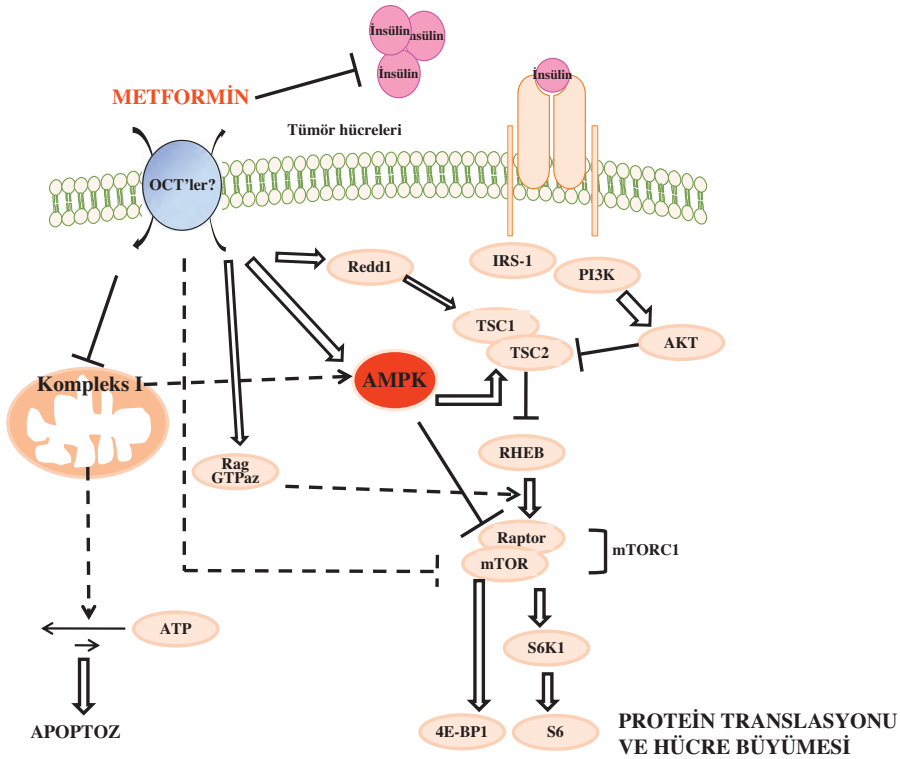
Sonuç olarak bazı çalışmalarda metforminin antikanser ilaç olarak kullanımı önerilmiş olmasına rağmen, mevcut kısıtlamaların göz önüne alınması gerekmektedir. Bu çalışmaların bir çoğu retrospektif çalışmalardır. Elde edilen veriler de popülasyon tabanlı kayıtlardan değil, klinik ve hastane kayıtlarından alınmıştır. Ayrıca çeşitli tedaviler uygulanan diyabetik hastalar metformin uygulamasına göre veya objektif kriterler kullanılarak randomize edilmemiştir (örn. kanser hikayesi olan bazı hastalar kanser riskini araştıran çalışmalarda yer almıştır). Ayrıca önemli kanser riskleri ile prognostik faktörler arasında bir dengesizlik olduğu da aşikardır. Ancak yine de bu tür gözlemsel çalış-

malar ile metforminin olası antitümör etkilerinin gösterilmiş olması prospektif klinik çalışmalar için bir altyapı oluşturmuştur.

4.2 Etki Mekanizması ve Preklinik Çalışmalar

Metforminin antitümör etkilerini açıklayabilmek amacıyla farklı mekanizmalar öne sürülmüştür. Ancak moleküler düzeydeki ana etkisi AMPK aktivasyonudur [21, 63]. AMPK metabolizma ve stresi algılayan hücresel sensör görevi yapar. Örneğin oksidatif stres, iskemi ve diğer faktörler AMP:ATP oranınında artışa yol açarak sonuçtaki AMPK aktivasyonunu artırırlar [20]. AMPK şu üç bağımsız mekanizma ile metformin tarafından aktive edilebilir: (1) AMPK'nın katalitik alt ünitesindeki Thr 172'nin fosforilasyonunun LKB1 (karaciğer kinaz B1) tarafından indüklenmesi ile [51]; (2) İndirekt olarak respiratuar zincirdeki kompleks I'in inhibisyonu ile; ve (3) Oligomisin gibi mitokondrial ATP sentezinin diğer inhibitörlerinin aktivasyonu ile. Respiratuar zincirdeki kompleks I'in blokajının düşük oksijen tüketimine yol açmasını, takip eden NAD+/NADH oranının modülasyonu ve AMP:ATP oranındaki artış, AMPK aktivasyonunda artışa yol açar [1]. Memelilerdeki bir diğer önemli kinaz da, AMP:ATP oranını değiştirmeden intraselüler Ca2+ artışına cevap olarak alternatif AMPK yolağını aktive eden Ca2+/kalmodulin aktive kinaz kinazdır (CaMKK2) [31]. Aktive AMPK fizyolojik şartlardaki hipoglisemik etkilerini Glut1 düzeylerinin artışını indükleyerek glukoz alımını artırdığı karaciğer, β-pankreatik hücreler, kaslar ve adipoz dokuda gösterir. AMPK ayrıca glikoliz gibi ATP üreten yolakları indüklerken, glukoneojenez, glikojen sentezi ve kolesterol sentezi gibi ATP tüketen yolakları inhibe eder [39, 45, 67]. AMPK aktivasyonu glukoz ve yağ asitlerinin oksidatif katabolizmalarının indüklenmesinde ve mitokondrial biyogenezin regülasyonunda hayati rol oynamaktadır. Ayrıca AMPK aktivasyonu, mTOR yolağını bloke ederek protein sentezinin inhibisyonuna da yol açar [31]. AMPK aktivasyonu genel olarak hem hipoglisemik etki gösterir hem de tümör gelişiminde rol oynayan çeşitli yolakları direkt olarak etkiler.

AMPK bu bulguların ışığında bir tümör baskılayıcı olarak kabul edilebilir. Solid tümörlerde genel olarak mutasyona uğrayan yukarı yönlü kinaz LKB1'in de tümör baskılayıcı etkiye sahip bir gen olması dikkate değerdir. LKB1 geni küçük hücreli olmayan akciğer kanserlerinin yaklaşık %30'unda ve servikal kanserlerin yaklaşık %20'sinde, genin kendi fonksiyonun kaybına yol açan mutasyonlara uğrar [40, 83]. LKB1 mutasyonlarının hücre büyümesini, hücre siklus progresyonunu ve polariteyi etkilediği gösterilmiştir [30, 82]. Ayrıca LKB1'in küçük hücreli olmayan akciğer kanserlerinde sıklıkla kRAS ile birlikte mutasyona uğraması tümör insidansı ve metastaz artışlarını indükler [30]. AMPK inhibisyonu, B-RAf V600E mutasyonuna sahip melanomlara yol açar. İçindeki LKB1 iki C-terminal bölgesinde fosforillenmiştir [88] ve AMPK'yi aktive edemez. Ayrıca birçok tümörde sıklıkla mevcut olan AKT hiperaktivasyonu, AMPK'nın LKB1 tarafından fosforilasyonunu ve aktivasyonunu inhibe eden ser485'teki AMPK'nın fosfo-



Şekil 3 Metformin insüline bağımlı olan ve olmayan mekanizmalar ile antitümör etki gösterir. AKT-mTOR yolağının inaktivasyonu ve/veya AMPK ve mitokondrial kompleks I üzerinde etki göstererek sırasıyla apoptoz artışına, protein translasyonunun aşağı regülasyonuna ve hücre büyümesinin inhibisyonuna yol açar.

rilasyonunu indükler [34]. AMPK'nin olumlu bir prognoz markeri olduğu bir başka çalışmada da gösterilmiştir. pAMPK ve pMAPK3/1'in konkomitant artışlarının, kolorektal kanser hastalarının tedavisi için olumlu prognostik faktörler olduğu düşünülmektedir. Bu bulgu bu iki yolağın ve yeni terapötik stratejilerin muhtemel bir etkileşimi olduğunu düşündürmektedir [2].

Metforminin antikanser etkilerinin şu iki özgün mekanizma ile gerçekleştiği düşünülmektedir: İndirekt insüline bağımlı etkisi ile insülinden bağımsız direkt olarak tümör üzerindeki etkisi (Şekil 3) Metforminin indirekt etkileri karaciğerde gerçekleşir. Burada AMPK aktivasyonunu indükleyerek hepatik glukoneogenezi inhibe etmesini takiben dolaşımdaki glukoz ve insülin düzeyleri azalır. İn vitro ve in vivo çalışmalarda metforminin diğer biguanidlere benzer şekilde glukozdan yoksun hücrelerdeki 4E-bağlayıcı proteinin hiperaktivasyonunu indükleyerek katlanmamış protein cevabının inhibisyonu ile mTOR yolağının güçlü inhibisyonuna yol açtığı gösterilmiştir [56]. Ayrıca Buzzai ve arkadaşları

da kolorektal hücre dizilerinde, metformine cevap olarak gelişen AMPK aktivasyonu ile oluşan glukoz deprivasyonu ile indüklenen p53'e bağımlı otofajiyi göstermişlerdir [14]. Buna karşın p53 statüsünün meme kanseri hücrelerinin metformin sensitivitesi ile ilişkili olmadığı görülmektedir. Metformin glukoz deprivasyonuna cevap olarak hem kaspaza bağımlı hem de kaspazdan bağımsız mekanizmalarla apoptozu, NAD+ düzeylerindeki azalma ile ilişkili hücresel enerji kolapsına bağlı mitokondrial morfolojideki ve membran permeabilitesindeki eş zamanlı değişimlerle birlikte indükler [90]. Ayrıca, pankreatik kanser hücrelerinin, insülin/IGF1 reseptörleri ile G-proteinine bağlı reseptörler (GPCR) arasındaki etkileşimi (crosstalk) indükleyerek, mTORC1, ERK, ve PI_3K tarafından indüklenen hücre büyümesinde ve sağkalım sinyalinde artışa yol açtığı son zamanlarda gösterilmiştir. İyi tanımlanmış KRAS efektörleri olan ERK ve PI_3K pankres kanserlerinin %90'ında mutasyona uğrar. Yukarıda sözü geçen etkileşim bu mutasyonlar tarafından güçlendirilir. İlginç bir şekilde metforminin IR/IGF1R ve GPCR'ler arasındaki etkileşimi bozarak her iki hücre dizisindeki [46] ve ksenograft modellerindeki hücre proliferasyonunu azalttığı gözlenmiştir [70].

Metforminin indirekt etkisi Memmott ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada tütün karsinojeni ile indüklenen akciğer tümörijenezinin metformin tarafından engellendiğinin gözlenmesi ile konfirme edilmiştir. Özellikle, metforminin tümör yükünü azalttığı ve tümörlerdeki mTOR'u eş zamanlı olarak belirgin şekilde aşağı regüle ettiği gösterilmiştir. Metformin mTOR'u karaciğerdeki AMPK'yı aktive ederek inhibe ederken, IR/IGF1R'yi indirekt olarak aşağı regüle ettiği ve AKT'yi azalttığı akciğerde aynı inhibisyona yol açmaması ilginçtir [59].

Metforminin kanser büyümesi üzerindeki direkt etkisi insülinden bağımsızdır ve lipojenik yolaklar gibi çeşitli yolakları SREBP-1 (sterol regülatör element bağlayıcı protein 1) supresyonu, hücre döngüsünün p53 ve FOXO3a [84] fosforilasyonu ile regülasyonu veya CRTCS fosforilasyonu (cAMP'a cevap veren element bağlayıcı protein (CREB)-regüle transkripsiyon koaktivatörü) ile östrojene bağımlı yolağın modülasyonu ile birçok yolağı inhibe eden AMPK'nin aktivasyonunda rol oynayabilir [13]. Direkt AMPK'ya bağımlı etki, AMPK'nın TSC2 üzerindeki direkt etkisini de kapsayabilir ve aşağı yönlü sinyalinin bir sonucu olarak hem protein sentezini hem de hücre döngüsünün progresyonunu azaltır. TSC2 kaybı sırasında, AMPK'nın mTOR ile ilişkili protein Raptor'u fosforilleyerek mTOR'u direkt olarak etkilediği öne sürülmüştür [29]. Ayrıca AMPK aktivasyonu ile metabolik sinyallerde rol oynayan bir protein olan adiponektin arasındaki korelasyonda son zamanlarda gösterilmiştir. Adiponektinin fizyolojik konsantrasyonlarının normal kilolu hastalardaki AMPK'yi aktive ederek ve S6 K'yı inhibe ederek prostat ve kolon kanserini engellediği bulunmuştur. Bu bulgunun düşük adiponektin seviyeleri olan obez hastalarda görülmemesi daha düşük AMPK aktivasyonuna ve tümör büyümesinde artışa yol açar. Yazarlar sonuç olarak, metforminin AMPK aktivatörü görevi yaparak adiponektine karşı olan rezistansı engelleyerek hücre büyümesini engellediğini belirtmişlerdir [85].

Metforminin TSC2 ve AMPK'dan bağımsız olarak mTOR üzerinde direkt etki yaptığı son zamanlarda gözlenmiştir [43]. Bu çalışmada metforminin MEF içindeki mTOR ak-

tivitesini azaltan bir protein olan Rheb içeren hücresel kompartmanlardaki mTORC1'in direkt translokasyonunda rol oynayan bir GTPaz proteini olan Rag'ı inhibe ederek antitümör etki gösterdiği bulunmuştur [43]. Bu bulguları konfirme edecek şekilde, pankreas hücreleri ile yapılan güncel bir çalışmada metforminin mTOR yolağını direkt olarak (p53'e bağımlı bir şekilde), mTOR'un negatif regülatörü olan REDD1'i AMPK'dan bağımsız bir mekanizmayla artırarak etkilediği gösterilmiştir. Ayrıca REDD1'in indüklenmesi ile AMPK1'den bağımsız olarak siklin D1 düzeylerinin azalması hücre döngüsünde durmaya yol açmıştır [8]. Metforminin tümör üzerindeki AMPK'dan bağımsız bir başka direkt etkisi de respiratuar zincirdeki kompleks I'i modüle ederek ATP düzeylerinin regülasyonuna yol açarak apoptozu etkilemesi olabilir.

Tümörlerin artan heterojenitesini baz alarak yapılan çeşitli güncel çalışmalarda metforminin özellikle kanser kök hücrelerini de (CSC) kapsayan kanser hücrelerinin alt kümelerinde selektif etki gösterdiği öne sürülmüştür [5, 33]. Bu hipotezi ilk kez metforminin üçlü negatif meme kanseri hücrelerindeki kanser kök hücrelerini selektif olarak hedefleyerek doksorubisin ile sinerjistik antitümör aktivite gösterdiğini gözlemleyen Hirsch ve ark. [33] öne sürmüştür. Bu bulgu metforminin çeşitli kanser hücre modellerinde farklı kemoterapötik ajanlarla kombine uygulanması ile muhtemelen yüksek oranda tümörijenik olan CSC-benzeri hücrelerin inhibisyonu ile hücre büyümesinin azaldığı ve relapsın önlendiği gözlenen güncel fare ksenogreftleri ile konfirme edilmiştir. Ayrıca metformin ile kemoterapötik ilaçlar arasındaki sinerjistik etkileşim de konfirme edilmiştir [38]. Metformin ile kemoterapötiklerin kombine uygulandığı bir başka çalışmada, metformin ile paklitakselin etkileri birleşerek AMPK aktivasyonunu artırarak hücre büyümesinin azalmasına yol açmıştır [69]. Metforminin kanser hücrelerinde AMPK aktivasyonu ve mTOR aktivasyonu ile radyorezistansı azaltarak, bu hücrelerin radyoterapiye daha sensitif hale gelmelerini sağladığı ve kanser kök hücreleri üzerinde sitotoksik etki yaptığı güncel bir çalışmada gösterilmiştir [75].

Metformin analoğu olan biguanide fenformin gibi bir katyondur. Metforminin direkt ve indirekt selektif antitümör etkileri organik katyon taşıyıcılarının ekspresyonuna dayanır (OCT1, 2 ve 3). Metformin diyabetik hastalardaki hepatik hücrelere hepatik portal vende ilaca yüksek maruziyet sırasında OCT1 taşıyıcıları ile girer. Katyonik taşıyıcılar hepatositlerde yüksek oranda eksprese olurlar; global OCT1 knockout'u ve OCT1 polifmorfizmleri mevcut olan farelerde metforminin hepatik alımı ciddi derecede bozulur ve hipoglisemik etkileri azalır [41, 59, 74, 89]. Neoplastik hücrelerdeki OCT1 hakkında çok az şey bilinmektedir. Ancak OCT1 ekspresyonunun hem epitelyal over kanser hücrelerinde hem de primer insan tümörlerinde yüksek oranda değişken olduğu son zamanlarda gösterilmiştir. Epitelyal over kanser hücre dizilerindeki OCT1 knockdown'u ve OCT1 inhibitörü kuinidin uygulanması ile metforminin antitümör etkisi azalmış ancak fenforminin antineoplastik aktivitesi etkilenmemiştir [31, "kişisel iletişim", 72].

4.3 Klinik Çalışmalar

Prospektif ve sürmekte olan klinik çalışmalar metforminin kanser hastalarındaki etkinlik ve güvenliğini diyabetten bağımsız olarak araştırmayı, kemopreventif ajan olarak rolünü analiz etmeyi ve biyolojik etkilerini tanımlamayı amaçlamaktadırlar (Şekil 3). NCI'ın metforminin kanser hastalarındaki etkinliğini araştıran elliden fazla çalışması cancer.gov'da kayıtlıdır. Bu çalışmaların çoğu biyomarker analizi ve metforminin tek ajan olarak veya diğer tedavi modaliteleri ile kombinasyon halinde uygulanmasını içeren faz II meme kanseri çalışmalarıdır.

Şu ana kadar metformin ile ilişkili az sayıda klinik çalışma yayınlanmıştır. Hadad ve ark. yaptıkları preoperatif "fırsat penceresi" randomize çalışmasında metforminin tümör dokularındaki olası biyolojik etkilerini göstermişlerdir. Metformin nondiyabetik meme kanseri hastalarına cerrahi öncesi uygulanmış ve antitümör etkileri tedavi almayan kontrol grubu ile karşılaştırılmıştır. İlginç biçimde metformin tedavisinin 2-3. haftalarından sonra hastalardaki tümör boyutlarında ölçülebilir bir değişim görülmemiştir. Ancak tümörlerden alınan biyopsilerin analizinde insülin düzeylerinde ve tümör dokularındaki muhtemel etkileri gösteren bir proliferasyon markeri olan ve Ki67 boyanmada azalma görülmüştür [30]. Buna karşın nondiyabetik meme kanseri hastalarında yapılan güncel bir çalışmada cerrahi öncesi uygulanan metforminin plasebo grubu ile karşılaştırıldığında Ki67 düzeylerini etkilemediği bulunmuştur. Planlı bir alt grup analizinde metforminin Ki67 üzerindeki etkileri HOMA (homeostaz model değerlendirmesi) indeksine göre insülin rezistansı bazında sınıflandırılabilmiştir. HOMA indeksi 2.8'den büyük olan hastalarda insülin düzeyleri ile metformin tedavisi arasında bir korelasyon gözlenmemiştir. Ancak HOMA indeksi 2.8'den düşük olan hastalarda Ki67 düzeylerinde değişimler gözlenmesi metforminin insülin rezistansının derecesine bağlı olarak indirekt etki yaptığını göstermektedir. İlginç biçimde fazla kilolu veya obez olan, abdominal obezitesi olan veya orta derecede alkol tüketen kadınlardaki Ki67'nin HOMA indeksine göre sınıflandırılmasında da benzer sonuçlar elde edilmiştir [10].

Gözlemsel çalışmalara göre nondiyabetik meme kanseri hastalarındaki artmış peptid-C düzeyleri kötü prognoz ile ilişkilidir [17]. Goodwin ve ark. [27, 28] standart doz olarak uygulanan metforminin (1500 mg/gün) relaps görülmeyen nondiyabetik meme kanseri hastalarındaki insülin düzeylerini %22 azalttığını göstermiştir. Aynı araştırma grubunun güncel bir neoadjuvan "fırsat penceresi" çalışmasında cerrahiden 2-4 hafta önce günde üç kez metformin uygulanmıştır. Metforminin olası faydaları ile ilişkili şu potansiyel göstergeleri belirlemişlerdir: Konak üzerindeki etkisi ile ilgili markerler olarak artmış VKİ, fiziksel inaktivite, yüksek açlık insülin düzeyleri ve Ki67 ve TUNEL boyama için tümör immunopozitivitesi, tümör etki markerları olarak da OCT1 ve LKB1 varlığı. İlginç biçimde, TUNEL boyanmada net bir artış ile Ki67 boyanmada azalmanın metabolik değişimler ile korele olduğunu tespit etmişlerdir [27, "kişisel iletişim", 76].

Metforminin kemopreventif rolü kolorektal kanser için endoskopik surrogate marker olarak kabul edilen rektal aberan kript odakları (ACF) ile yapılan kısa süreli klinik çalışmada gösterilmiştir. Metformin ACF'li nondiyabetik hastalardaki ACF sayılarını 1 aylık tedavi sonrası kontrol grubuna göre anlamlı olarak daha fazla azaltmıştır. Yazarlar prolifere olan hücre nükleer antijen işaretleme indeksini kullanarak değerlendirdikleri, aynı gruptaki kolonik epitelin proliferatif aktivitesinin de aşağı regüle olduğunu tespit etmişlerdir. Buna karşın önemli bir apoptotik modülasyon tespit edilmemiştir [35]. ACF'nin kolorektal kanserde surrogate marker olarak biyolojik önemi tartışmalıdır. Aynı grup Üniversite Hastanesi Medikal Araştırma Ağı (UMIN) veri tabanına UMIN000006254 nolu güncel bir prospektif, randomize, kontrollü çalışmayı kaydetmiştir. Bu çalışmada metforminin kemopreventif etkileri metakronoz kolorektal poliplerde ve nondiyabetik post-polipektomi hastalarında değerlendirilecektir [32].

5 Sonuçlar

Bu bölümde biguanid metforminin antitümör ajan olarak rolünü destekleyen çeşitli kanıtlardan bahsettik. Ancak metforminin ana etki mekanizması (direkt veya indirekt/konak etkisi), metformine cevabı etkileyebilen hasta veya tümör özellikleri, biguanidlere ne tür kanserlerin cevap verebileceği, hangi terapötik ortamın metforminin etkilerini artırabileceği (kemoprevensiyon, neoadjuvan, adjuvan, kombine veya tek ajan uygulaması) gibi konular henüz netleştirilememiştir.

Çeşitli yayınlarda metforminin antitümör aktivitesinin hem direkt hem indirekt mekanizmalarla ortaya çıktığı düşünülmektedir. İnsülin düzeylerini azaltarak ya da hem AMPK'ya bağımlı hem de bağımsız mekanizmalarla tümör dokularını direkt olarak etkileyerek etki gösterebileceği bildirilmiştir. Metformin aktivitesinin başlıca aracılarından biri olan AMPK birçok tümör hücrelerinde defektiftir. AMPK aktivasyonunun kaybına çeşitli mekanizmalar neden olabilir ve metforminin antitümör etkinliğini etkileyebilir. Metformin AMPK aktivasyonunun kaybolduğu tümörlerde, ATP düzeylerini daha fazla azaltabileceği ve apoptozu daha çok artırabileceği için paradoksal olarak daha etkili olabilir.

Fizyolojik ve klinik şartlara göre daha yüksek metformin, insülin ve glukoz düzeylerini kullanıldığı preklinik modellerdeki kısıtlamalardan dolayı metforminin etki mekanizması belirsizliğini korumaktadır. Örneğin klinik ve epidemiyolojik çalışmalarda kullanılan metformin dozu 250-2250 mg/gün iken, preklinik çalışmalardaki doz in vivo çalışmalar için bu dozun 45 katına, in vitro çalışmalar için de 10.000 katına kadar çıkabilmektedir. Bu çalışmalarda metformin için mM konsantrasyonları kullanılmaktadır. Ayrıca doku kültürleri de 3-5 kat daha fazla glukoz, ve 40 kata kadar daha fazla insülin içermektedir. Ancak son zamanlarda metforminin düşük dozlarının (yaklaşık 10 μM)

orta derecede AMPK aktivasyonunu ve devamındaki aşağı yönlü yolakların aktivasyonunu indüklemek için yeterli olduğu gösterilmiştir [77].

Bu konuları araştırmak için kaydedilen, güncel bir faz III randomize çalışmada erken evre meme kanseri hastalarında metformin ile kemoterapi kombinasyonunun etkinliği plasebo ile karşılaştırılmaktadır. Çalışmaya katılan hastalar hormon reseptör statüsüne, HER2 ekspresyonuna ve paklitaksel, doksorubisin ve siklofosfamid gibi kullanılan kemoterapötik ilaçlara göre sınıflandırılmıştır [26]. Primer sonlanım noktası kansersiz sağkalım iken, sekonder sonlanım noktaları ise genel sağkalım, hastalıksız sağkalım, advers olaylar ve kilo, açlık plazma insülin düzeyleri ve tümör dokusu gibi bağlantılı analizle ilişkili faktörlerden oluşmaktadır. Çalışmanın primer hipotezi başlangıçtaki yükselmiş açlık insülin düzeylerinde 6. ayda anlamlı bir düşüş olmasının metforminin faydasının göstergesi olduğudur ([27], "kişisel iletişim", [28]).

Klinik uygulamada hangi biguanid tipinin uygun olduğu da henüz netleşmeyen konulardadır. Örneğin tümör üzerinde direkt etki istenen durumlarda OCT1 reseptörünün ekspresyon düzeyleri önem kazandığı için, hücrelere penetre olmak için OCT1 reseptörlerinin varlığına ihtiyaç duymayan fenformin kullanımı daha uygun olabilir.

Güncel bir tartışmalı çalışmada tüm melanomların %50'sinde mevcut olan mutant V600E Braf geninin AMPK aktivasyonunu engelleyen RSK'yı aktive ederek metformine karşı in vitro rezistans gelişimine neden olduğu bildirilmiştir. Ayrıca metformin tedavisi ile in vitro ortamdaki tümör büyümesi hızlanmış ve VEGF-A ekspresyonu indüklenmiştir. Kombine anti-VEGF tedavisi Braf mutantındaki tümör büyümesini sinerjistik etkiyle azaltırken, aynı etkiye normal hücrelerde rastlanmamıştır [54].

Birçok çalışmada "eski" antidiyabetik ilaç olan metforminin yeni bir uygulama ile antikanser ilaç olarak kullanımı birçok çalışmada ne olarak gösterilmiştir. Ancak antitümör ilaç olarak optimal terapötik ve klinik kullanım şartlarını belirleyebilmek için etki mekanizması ile ilişkili daha ileri ve derinlemesine bilgilere ihtiyaç vardır.

Referanslar

1. Aljada A, Mousa SA (2012) Metformin and neoplasia: implications and indications. Pharmacol Ther 133:108–115
2. Baba Y, Nosho K, Shima K et al (2010) Prognostic significance of AMP-activated protein kinase expression and modifying effect of MAPK3/1 in colorectal cancer. Br J Cancer 103:1025–1033
3. Baur DM, Klotsche J, Hamnvik OP et al (2011) Type 2 diabetes mellitus and medications for type 2 diabetes mellitus are associated with risk for and mortality from cancer in a German primary care cohort. Metabolism 60:1363–1371
4. Bayraktar S, Hernadez-Aya LF, Lei X et al (2012) Effect of metformin on survival outcomes in diabetic patients with triple receptor-negative breast cancer. Cancer 118:1202–1211
5. Bednar F, Simeone DM (2012) Metformin and cancer stem cells: old drug, new targets. Cancer Prev Res (Phila) 5:351–354
6. Belfiore A, Frasca F (2008) IGF and insulin receptor signaling in breast cancer. J Mammary Gland Biol Neoplasia 13:381–406

7. Ben Sahra I, Le Marchand-Brustel Y, Tanti JF et al (2010) Metformin in cancer therapy: a new perspective for an old antidiabetic drug? Mol Cancer Ther 9:1092–1099
8. Ben Sahra I, Regazzetti C, Robert G et al (2011) Metformin, independent of AMPK, induces mTOR inhibition and cell-cycle arrest through REDD1. Cancer Res 71:4366–4372
9. Blagosklonny MV (2011) NCI's provocative questions on cancer: some answers to ignite discussion. Oncotarget 2:1352–1367
10. Bonanni B, Puntoni M, Cazzaniga M et al (2012) Dual effect of metformin on breast cancer proliferation in a randomized presurgical trial. J Clin Oncol 30(21):2593–2600
11. Bowker SL, Majumdar SR, Veugelers P et al (2006) Increased cancer-related mortality for patients with type 2 diabetes who use sulfonylureas or insulin. Diabetes Care 29:254–258
12. Brahimi-Horn MC, Chiche J, Pouyssegur J (2007) Hypoxia signalling controls metabolic demand. Curr Opin Cell Biol 19:223–229
13. Brown KA, Simpson ER (2010) Obesity and breast cancer: progress to understanding the relationship. Cancer Res 70:4–7
14. Buzzai M, Jones RG, Amaravadi RK et al (2007) Systemic treatment with the antidiabetic drug metformin selectively impairs p53-deficient tumor cell growth. Cancer Res 67:6745–6752
15. Chari ST, Leibson CL, Rabe KG et al (2008) Pancreatic cancer-associated diabetes mellitus: prevalence and temporal association with diagnosis of cancer. Gastroenterology 134:95–101
16. Chen HF, Li CY, Chen P et al (2006) Seroprevalence of hepatitis B and C in type 2 diabetic patients. J Chin Med Assoc 69:146–152
17. Chlebowski RT, Aiello E, McTiernan A (2002) Weight loss in breast cancer patient management. J Clin Oncol 20:1128–1143
18. Davila JA, Morgan RO, Shaib Y et al (2005) Diabetes increases the risk of hepatocellular carcinoma in the United States: a population based case control study. Gut 54:533–539
19. Decensi A, Puntoni M, Goodwin P et al (2010) Metformin and cancer risk in diabetic patients: a systematic review and meta-analysis. Cancer Prev Res (Phila) 3:1451–1461
20. Dowling RJ, Niraula S, Stambolic V et al (2012) Metformin in cancer: translational challenges. J Mol Endocrinol 48:R31–R43
21. El-Mir MY, Nogueira V, Fontaine E et al (2000) Dimethylbiguanide inhibits cell respiration via an indirect effect targeted on the respiratory chain complex I. J Biol Chem 275:223–228
22. El-Serag HB, Hampel H, Javadi F (2006) The association between diabetes and hepatocellular carcinoma: a systematic review of epidemiologic evidence. Clin Gastroenterol Hepatol 4:369–380
23. Evans JM, Donnelly LA, Emslie-Smith AM et al (2005) Metformin and reduced risk of cancer in diabetic patients. BMJ 330:1304–1305
24. Galli M, Van Gool F, Rongvaux A et al (2010) The nicotinamide phosphoribosyltransferase: a molecular link between metabolism, inflammation, and cancer. Cancer Res 70:8–11
25. Gatenby RA, Gillies RJ (2004) Why do cancers have high aerobic glycolysis? Nat Rev Cancer 4:891–899
26. Gonzalez-Angulo AM, Meric-Bernstam F (2010) Metformin: a therapeutic opportunity in breast cancer. Clin Cancer Res 16:1695–1700
27. Goodwin PJ, Ennis M, Pritchard KI et al (2012) Insulin- and obesity-related variables in early-stage breast cancer: correlations and time course of prognostic associations. J Clin Oncol 30:164–171
28. Goodwin PJ, Stambolic V, Lemieux J et al (2011) Evaluation of metformin in early breast cancer: a modification of the traditional paradigm for clinical testing of anti-cancer agents. Breast Cancer Res Treat 126:215–220
29. Gwinn DM, Shackelford DB, Egan DF et al (2008) AMPK phosphorylation of raptor mediates a metabolic checkpoint. Mol Cell 30:214–226
30. Hadad S, Iwamoto T, Jordan L et al (2011) Evidence for biological effects of metformin in operable breast cancer: a pre-operative, window-of-opportunity, randomized trial. Breast Cancer Res Treat 128:783–794

31. Hardie DG, Ross FA, Hawley SA (2012) AMPK: a nutrient and energy sensor that maintains energy homeostasis. Nat Rev Mol Cell Biol 13:251–262
32. Higurashi T, Takahashi H, Endo H et al (2012) Metformin efficacy and safety for colorectal polyps: a double-blind randomized controlled trial. BMC Cancer 12:118
33. Hirsch HA, Iliopoulos D, Tsichlis PN et al (2009) Metformin selectively targets cancer stem cells, and acts together with chemotherapy to block tumor growth and prolong remission. Cancer Res 69:7507–7511
34. Horman S, Vertommen D, Heath R et al (2006) Insulin antagonizes ischemia-induced Thr172 phosphorylation of AMP-activated protein kinase alpha-subunits in heart via hierarchical phosphorylation of Ser485/491. J Biol Chem 281:5335–5340
35. Hosono K, Endo H, Takahashi H et al (2010) Metformin suppresses colorectal aberrant crypt foci in a short-term clinical trial. Cancer Prev Res (Phila) 3:1077–1083
36. Hoyo C, Schildkraut JM, Murphy SK et al (2009) IGF2R polymorphisms and risk of esophageal and gastric adenocarcinomas. Int J Cancer 125:2673–2678
37. Huxley R, Ansary-Moghaddam A, Berrington de Gonzalez A et al (2005) Type-II diabetes and pancreatic cancer: a meta-analysis of 36 studies. Br J Cancer 92:2076–2083
38. Iliopoulos D, Hirsch HA, Struhl K (2011) Metformin decreases the dose of chemotherapy for prolonging tumor remission in mouse xenografts involving multiple cancer cell types. Cancer Res 71:3196–3201
39. Jalving M, Gietema JA, Lefrandt JD et al (2010) Metformin: taking away the candy for cancer? Eur J Cancer 46:2369–2380
40. Ji H, Ramsey MR, Hayes DN et al (2007) LKB1 modulates lung cancer differentiation and metastasis. Nature 448:807–810
41. Jin HE, Hong SS, Choi MK et al (2009) Reduced antidiabetic effect of metformin and down-regulation of hepatic Oct1 in rats with ethynylestradiol-induced cholestasis. Pharm Res 26:549–559
42. Jiralerspong S, Palla SL, Giordano SH et al (2009) Metformin and pathologic complete responses to neoadjuvant chemotherapy in diabetic patients with breast cancer. J Clin Oncol 27:3297–3302
43. Kalender A, Selvaraj A, Kim SY et al (2010) Metformin, independent of AMPK, inhibits mTORC1 in a rag GTPase-dependent manner. Cell Metab 11:390–401
44. Kim JW, Tchernyshyov I, Semenza GL et al (2006) HIF-1-mediated expression of pyruvate dehydrogenase kinase: a metabolic switch required for cellular adaptation to hypoxia. Cell Metab 3:177–185
45. Kim YH, Liang H, Liu X et al (2012) AMPKalpha modulation in cancer progression: multilayer integrative analysis of the whole transcriptome in Asian gastric cancer. Cancer Res 72:2512–2521
46. Kisfalvi K, Eibl G, Sinnett-Smith J et al (2009) Metformin disrupts crosstalk between G protein-coupled receptor and insulin receptor signaling systems and inhibits pancreatic cancer growth. Cancer Res 69:6539–6545
47. Kroemer G, Pouyssegur J (2008) Tumor cell metabolism: cancer's Achilles' heel. Cancer Cell 13:472–482
48. Kuhajda FP (2000) Fatty-acid synthase and human cancer: new perspectives on its role in tumor biology. Nutrition 16:202–208
49. Landman GW, Kleefstra N, van Hateren KJ et al (2010) Metformin associated with lower cancer mortality in type 2 diabetes: ZODIAC-16. Diabetes Care 33:322–326
50. Law JH, Habibi G, Hu K et al (2008) Phosphorylated insulin-like growth factor-i/insulin receptor is present in all breast cancer subtypes and is related to poor survival. Cancer Res 68:10238–10246
51. Long YC, Zierath JR (2006) AMP-activated protein kinase signaling in metabolic regulation. J Clin Invest 116:1776–1783

52. Lu CW, Lin SC, Chen KF et al (2008) Induction of pyruvate dehydrogenase kinase-3 by hypoxia-inducible factor-1 promotes metabolic switch and drug resistance. J Biol Chem 283:28106–28114
53. Martin M, Marais R (2012) Metformin: a diabetes drug for cancer, or a cancer drug for diabetics? J Clin Oncol 30(21):2698–2700
54. Martin MJ, Hayward R, Viros A et al (2012) Metformin accelerates the growth of BRAFV600E-driven melanoma by upregulating VEGF-A. Cancer Discov 2:344–355
55. Massoner P, Ladurner-Rennau M, Eder IE et al (2010) Insulin-like growth factors and insulin control a multifunctional signalling network of significant importance in cancer. Br J Cancer 103:1479–1484
56. Matsuo J, Tsukumo Y, Saito S et al (2012) Hyperactivation of 4E-binding protein 1 as a mediator of biguanide-induced cytotoxicity during glucose deprivation. Mol Cancer Ther 11:1082–1091
57. Mazzone PJ (2010) Lung cancer screening: an update, discussion, and look ahead. Curr Oncol Rep 12:226–234
58. Mazzone PJ (2010) Preoperative evaluation of the lung cancer resection candidate. Expert Rev Respir Med 4:97–113
59. Memmott RM, Mercado JR, Maier CR et al (2010) Metformin prevents tobacco carcinogen–induced lung tumorigenesis. Cancer Prev Res (Phila) 3:1066–1076
60. Monami M, Colombi C, Balzi D et al (2011) Metformin and cancer occurrence in insulin-treated type 2 diabetic patients. Diabetes Care 34:129–131
61. Noto H, Goto A, Tsujimoto T et al (2012) Cancer risk in diabetic patients treated with metformin: a systematic review and meta-analysis. PLoS ONE 7:e33411
62. Onitilo AA, Engel JM, Glurich I et al (2012) Diabetes and cancer II: role of diabetes medications and influence of shared risk factors. Cancer Causes Control 23:991–1008
63. Owen MR, Doran E, Halestrap AP (2000) Evidence that metformin exerts its anti-diabetic effects through inhibition of complex 1 of the mitochondrial respiratory chain. Biochem J 348(Pt 3):607–614
64. Pannala R, Basu A, Petersen GM et al (2009) New-onset diabetes: a potential clue to the early diagnosis of pancreatic cancer. Lancet Oncol 10:88–95
65. Papandreou I, Cairns RA, Fontana L et al (2006) HIF-1 mediates adaptation to hypoxia by actively downregulating mitochondrial oxygen consumption. Cell Metab 3:187–197
66. Pollak M (2008) Insulin and insulin-like growth factor signalling in neoplasia. Nat Rev Cancer 8:915–928
67. Pollak M (2012) Metformin and pancreatic cancer: a clue requiring investigation. Clin Cancer Res 18:2723–2725
68. Pouyssegur J, Dayan F, Mazure NM (2006) Hypoxia signalling in cancer and approaches to enforce tumour regression. Nature 441:437–443
69. Rocha GZ, Dias MM, Ropelle ER et al (2011) Metformin amplifies chemotherapy-induced AMPK activation and antitumoral growth. Clin Cancer Res 17:3993–4005
70. Rozengurt E, Sinnett-Smith J, Kisfalvi K (2010) Crosstalk between insulin/insulin-like growth factor-1 receptors and G protein-coupled receptor signaling systems: a novel target for the antidiabetic drug metformin in pancreatic cancer. Clin Cancer Res 16:2505–2511
71. Samudio I, Fiegl M, Andreeff M (2009) Mitochondrial uncoupling and the Warburg effect: molecular basis for the reprogramming of cancer cell metabolism. Cancer Res 69:2163–2166
72. Segal ED, Yasmeen A, Beauchamp MC et al (2011) Relevance of the OCT1 transporter to the antineoplastic effect of biguanides. Biochem Biophys Res Commun 414:694–699
73. Seyfried TN, Shelton LM (2010) Cancer as a metabolic disease. Nutr Metab (Lond) 7:7
74. Shu Y, Sheardown SA, Brown C et al (2007) Effect of genetic variation in the organic cation transporter 1 (OCT1) on metformin action. J Clin Invest 117:1422–1431
75. Song CW, Lee H, Dings RP et al (2012) Metformin kills and radiosensitizes cancer cells and preferentially kills cancer stem cells. Sci Rep 2:362
76. Stambolic V (2012). A. 2012. Chicago

77. Stambolic V, Woodgett JR, Fantus IG et al (2009) Utility of metformin in breast cancer treatment, is neoangiogenesis a risk factor? Breast Cancer Res Treat 114:387–389
78. Tan BX, Yao WX, Ge J et al (2011) Prognostic influence of metformin as first-line chemotherapy for advanced nonsmall cell lung cancer in patients with type 2 diabetes. Cancer 117:5103–5111
79. Vander Heiden MG, Cantley LC, Thompson CB (2009) Understanding the Warburg effect: the metabolic requirements of cell proliferation. Science 324:1029–1033
80. Vigneri P, Frasca F, Sciacca L et al (2009) Diabetes and cancer. Endocr Relat Cancer 16:1103–1123
81. Wang HQ, Altomare DA, Skele KL et al (2005) Positive feedback regulation between AKT activation and fatty acid synthase expression in ovarian carcinoma cells. Oncogene 24:3574–3582
82. Williams T, Brenman JE (2008) LKB1 and AMPK in cell polarity and division. Trends Cell Biol 18:193–198
83. Wingo SN, Gallardo TD, Akbay EA et al (2009) Somatic LKB1 mutations promote cervical cancer progression. PLoS ONE 4:e5137
84. Zadra G, Priolo C, Patnaik A et al (2010) New strategies in prostate cancer: targeting lipogenic pathways and the energy sensor AMPK. Clin Cancer Res 16:3322–3328
85. Zakikhani M, Dowling RJ, Sonenberg N et al (2008) The effects of adiponectin and metformin on prostate and colon neoplasia involve activation of AMP-activated protein kinase. Cancer Prev Res (Phila) 1:369–375
86. Zhang M, Hu Z, Huang J et al (2010) A 3'-untranslated region polymorphism in IGF1 predicts survival of non-small cell lung cancer in a Chinese population. Clin Cancer Res 16:1236–1244
87. Zhao Y, Liu H, Riker AI et al (2011) Emerging metabolic targets in cancer therapy. Front Biosci 16:1844–1860
88. Zheng B, Jeong JH, Asara JM et al (2009) Oncogenic B-RAF negatively regulates the tumor suppressor LKB1 to promote melanoma cell proliferation. Mol Cell 33:237–247
89. Zhou G, Myers R, Li Y et al (2001) Role of AMP-activated protein kinase in mechanism of metformin action. J Clin Invest 108:1167–1174
90. Zhuang Y, Miskimins WK (2011) Metformin induces both caspase-dependent and poly(ADP-ribose) polymerase-dependent cell death in breast cancer cells. Mol Cancer Res 9:603–615

İntestinal Mikroplar, Diyet ve Kanser

Meredith A. J. Hullar, Andrea N. Burnett-Hartman
ve Johanna W. Lampe

Özet

Giderek artan kanıtlar intestinal mikropların kanser etyolojisindeki rolünü desteklemektedir. Daha önce direkt olarak gastrointestinal maligniteleri başlatan veya destekleyen bakteri türlerinin tanımlanmalarına odaklanılıyordu; ancak intestinal mikropların sistemik enflamasyonu ve diğer aşağı yönlü yolakları etkileme kapasiteleri, bunların gastrointestinal kanal dışında dokulardaki kanser riskini de etkileyebileceğini göstermektedir. İntestinal mikrobiyotanın kansere karşı duyarlılıkla ilgili genel fonksiyonel katkıları arasında şunlar mevcuttur: (1) Başka türlü kullanılması mümkün olmayan diyet besin öğeleri ve/veya enerji kaynaklarına erişim (örn. diyet liflerinin ve dirençli nişastanın fermentasyonu); (2) Potansiyel olarak faydalı veya zararlı olabilen ksenobiyotiklerin metabolizması (örn. diyet bileşenleri, ilaçlar, karsinojenler v.s.); (3) İntestinal epitel hücrelerinin yenilenmesi ve mukozal entegrasyonun korunması; ve (4) İmmun sistem gelişim ve aktivitesinin etkilenmesi. İntestinal mikrobiyom, konak immun sistemi ve diyet maruziyetleri arasındaki kompleks ve dinamik ilişkilerin anlaşılması, karsinogenez mekanizmalarının tanımlanmasına yardımcı olarak gelecekteki kanser önleme ve tedavi stratejilerine ışık tutabilir.

Supported by US NIH grants U01 CA162077, R01 DK084157 and Fred Hutchinson Cancer Research Center.

M. A. J. Hullar · A. N. Burnett-Hartman · J. W. Lampe (✉)
Cancer Prevention Program, Public Health Sciences Division, Fred Hutchinson Cancer Research Center, 1100 Fairview Ave N, M4-B402, PO Box 19024Seattle, WA 98109, USA
e-mail: jlampe@fhcrc.org

J. W. Lampe
Department of Epidemiology, School of Public Health, University of Washington, Seattle, WA 98195, USA

V. Zappia et al. (eds.), *Advances in Nutrition and Cancer,*
Cancer Treatment and Research 159, DOI: 10.1007/978-3-642-38007-5_22,
© Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2014

Anahtar Kelimeler

Mikrobiyota · İntestinal mikrobiyom · İntestinal mikrobiyal topluluk · Kanserin önlenmesi

Kısaltmalar

PRR	Patern tanıma reseptörleri
ETFB	Enterojen *Backteroides fragilis*
LPS	Lipopolisakarid
TLR-4	Toll benzeri reseptör -4
LBP	LPS-bağlayıcı protein
MSI	Kararsız mikrosatelit
CIN	Kromozomal kararsızlık
SRB	Sülfat indirgeyici bakteri
UC	Ülseratif kolit
NOC	N-nitrozo bileşikleri
ODC	Ornitin dekarboksilaz
DFMO	Difluorometilornitin
ODMA	O-desmetilangolensin
ITC'ler	İzotiyosiyanatlar
EHC	Enterohepatik dolaşım
SSA	Sekonder safra asitleri
CA	Kolik asit
DCA	Deoksikolik asit
LCA	Litokolik asit
E_2	Östradiol
E_1	Östron
E_1S	Östron-3-sülfat
E_3	Östriol
DHEA	Dehidroepiandrosteron
16α-OHE1	16α-hidroksiöstron
TRFLP	Terminal restriksiyon uzunluk polimorfizmi
SHBG	Seks hormonu bağlayıcı globülin

İçindekiler

1 Giriş 379
2 İntestinal Mikrobik Topluluğun Moleküler Özellikleri 379
3 İntestinal Mikrobiyomun Kanser Gelişimindeki Direkt Etkileri 382
3.1 Enfeksiyon Ajanı Olarak İntestinal Mikroplar 382

3.2 Enflamasyonla İlişkili İntestinal Mikrobik Antijenik Partiküller 383
4 İntestinal Mikrobiyomun Kanserin Gelişimi ve Önlenmesindeki İndirekt Etkileri 383
4.1 Karsinogenez İle İlişkili Eksojen Substratların İntestinal Mikrobik Metabolizması 385
4.2 Karsinogenez İle İlişkili Endojen Substratların İntestinal Mikrobik Metabolizması 389
5 Sonuçlar 392
Referanslar 392

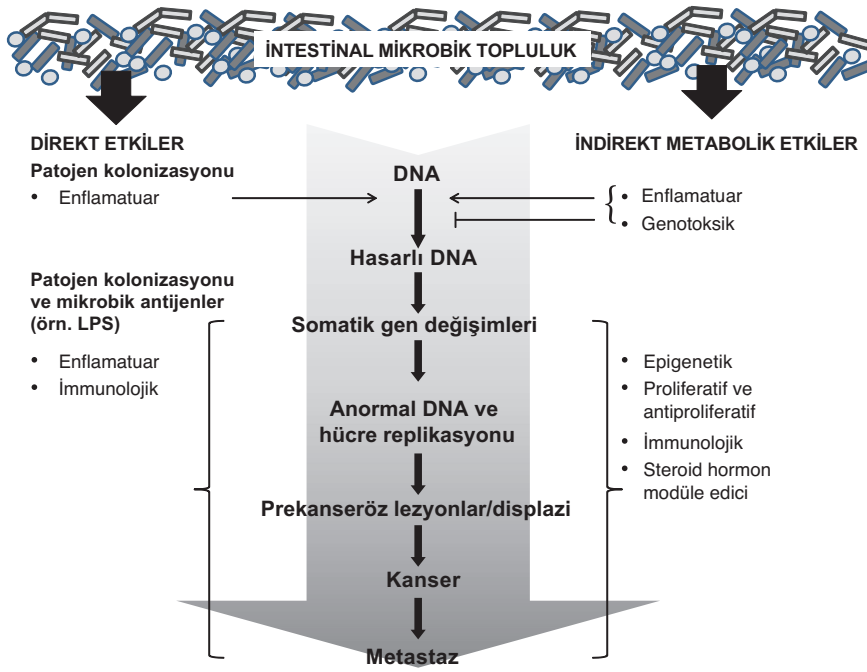
1 Giriş

İnsan bağırsaklarında büyük bir ekosistem oluşturan doğal bakterilerin çeşitli fizyolojik etkileri vardır. Ayrıca konağın sağlığını etkileyebilen multipl metabolik fonksiyonlara sahiptirler. Bakterilerin konağa bir çok farklı şekilde faydalı oldukları hipotezi mevcuttur. Bu faydalı etkiler arasında şunlar mevcuttur: (1) Metabolik dönüşümün ve faydalı diyet komponentlerinin kolaylaştırılması; (2) İntestinal pH'yı etkileyen faydalı fermentasyon son ürünlerinin üretimi ve intestinal mukoza epitel hücreleri ile etkileşim; (3) İntestinal mukozadaki patojenlerin bağlanma bölgeleri için yarışma yoluyla elimine edilmesi; (4) İntestinal immun sistem ile etkileşim ve immun sistemin regülasyonuna katkı; (5) Toksik maddelerin transformasyonu veya ekskresyonu; (6) Geçiş zamanını azaltan ve toksik maddeleri dilüe eden fekal kütlenin oluşturulması Mikropsuz ve normal hayvanlar arasındaki fenotipik farkları araştıran laboratuar çalışmalarında, mikrobiyotanın genel konak sağlığı üzerindeki etkisi gösterilmektedir [128, 142]; mikropsuz hayvanlarda daha düşük vücut ısısı, daha küçük lenf nodları, bilüribin ve safra asitlerinin dekonjugasyon yokluğu, üreaz ve β-glukuronidaz aktivitelerinin yokluğu ve daha düşük organ ağırlıkları görülür [20, 139].

Karsinogenez mikrobiyomla direkt ve indirekt yolaklar vasıtası ile ilişkilidir (Şekil 1). Direkt yolaklar arasında epitelde patojen kolonizasyonu veya patern tanıma reseptörleri olan bakteryel antijenik partiküller ile doğal immun sistem ile direkt etkileşim mevcuttur (PRR, örn. toll benzeri reseptör). İndirekt yolaklar arasında bakteryel karsinojen ve kemoprotektif faktörlerin diyet gibi eksojen kaynaklardan üretimi veya insanda metabolizma sonucunda ortaya çıkan endojen kaynaklardan üretilen bileşikler (örn. safra asitleri ve steroid hormonlar) mevcuttur. Aşağıda intestinal mikrobiyom, diyet ve kanser arasındaki ilişkiler ile ilgili epidemiyolojik ve deneysel kanıtlardan bahsedeceğiz.

2 İntestinal Mikrobik Topluluğun Moleküler Özellikleri

Bakteriler gastrointestinal kanal boyunca kolonize olurlar. Fekal örneklerdeki bakteriler insan kolon lümenindeki bakteryel kompozisyonu büyük oranda yansıtırlar [49, 129].



Şekil 1 İntestinal mikrobik toplulukların kanser riskini direkt ve indirekt olarak etkileme mekanizmaları. Patojenlerin intestinal epitelde direkt olarak kolonize olmaları ve mikrobik antijenlerin etkileri (örn. lipopolisakarid-LPS) enflamasyona ve immun fonksiyonun değişimine katkı yapabilir. Eksojen substratların (örn. diyet bileşenleri) mikrobik metabolitleri ve endojen konak bileşikleri (örn. steroid hormonlar, safra asitleri vs.) kolondaki karsinogenez sürecini ve sistemik etki ile de diğer dokulardaki karsinogenez sürecini etkileyebilir.

Erişkin insan bağırsağı 800'den fazla bakteri türü içeren bir bakteri topluluğuna ev sahipliği yapmaktadır [119]. Ancak bu mikrobik topluluk başlıca iki bakteryel tür olan Bacterioidetes ve Firmcutes ile bir Archaeal türü olan Methanobacter brevii tarafından oluşturulur [49, 62, 119, 143]. İntestinal mikropların metagenomik analizinde tüm bireylerde mevcut olan ana bir mikrobiyom olduğu gösterilmiştir. Ancak bireyler arasında intestinal mikrobik kompozisyonu oluşturan bakteri türleri yönünden büyük varyasyonlar mevcuttur [49, 62, 119, 143]. Bu nedenle insanda spesifik bir fenotip ile ilişkili özel bir bakterinin tanımlanması zor olabilir. Aktif bakterilerin izole edilmelerinde ve tanımlanmalarında kullanılan geleneksel kültür teknikleri zahmetli ve çok zaman alıcı yöntemlerdir. Ayrıca bakterilerin bu tekniklerle ölçümü, memeli bakteri türlerinin yaklaşık %40-60'ının klasik kültür teknikleri ile üretimlerinin mümkün olmaması nedeniyle sınırlıdır [20, 140].

İntestinal mikroplarla yapılan çalışmalar, klasik kültür tekniklerinin problemleri nedeniyle, intestinal bakteri türlerinin tanımlanmasında kullanılan moleküler sekans

bazlı yaklaşımlara kaymıştır [5, 53, 65, 92, 150]. Bakteryel DNA ve RNA bakterinin kültürde mevcudiyetinden bağımsız olarak tanımlanabilir. 16S ribozomal RNA (rRNA) geni filogenetik bazlı yaklaşımlar için idealdir. Çünkü bakteri türleri boyunca korunan DNA bölgeleri içerir. Ayrıca spesifik bakteri türlerine özgü sekanslar da içerir. Ayrıca enterik bakterilerdeki rRNA içeriği ile büyüme oranı arasındaki ilişki iyi bilinmektedir. Hücre başına düşen rRNA içeriği farklı beslenme şartlarındaki büyüme oranlarına bağlı olarak değişimler gösterir. Bu nedenle 16S rRNA içeriği mikrobik biyokütlenin [112, 124, 131] ve fizyolojik olarak aktif bakterilerin tahmininde kullanılabilir. Bu moleküler analizler alan düzeyine (örn. Eubacteria ve Archae), filum düzeyine (örn. Bacteroidetes ve Firmicutes), fonksiyonel grup düzeyine (örn. sülfat indirgeyici bakteriler) veya diğer türler düzeyine (örn. Clostridia türleri) odaklanmak amacıyla kullanılabilir.

Karşılaştırmalı omik teknolojileri mikrop kolonilerinin yapı ve fonksiyonlarının insan sağlığı ve hastalıkları ile ilişkilendirilmesine olanak tanımıştır Qin ve ark. 124 bireyin mikrobiyomlarındaki genleri metagenomik yaklaşım ile kataloglad ıkları güncel çalışmalarında 3.3 milyon bakteryel sekans tanımlamıştır [119]. Bu yaklaşım insanları, intestinal mikrobiyomların kompozisyon ve fonksiyonel potansiyellerine göre üç varsayımsal sınıfa ya da enterotipe ayırmak için kullanılmıştır [9]. Bu yaklaşım intestinal mikrobiyomun altında yatan fizyolojinin ve insanların bu mikrobiyomdan nasıl etkilenebileceklerinin potansiyel olarak tahmin edilebileceğini öne sürdüğü için merak uyandırıcıydı. Ancak bir genin varlığı, o genin her zaman eksprese olup mikrobiyom-konak ilişkilerini belirlemesi anlamına gelmemektedir. Fonksiyonel metagenomik yaklaşımların hangi genlerin aktif olarak eksprese olduğunu (metatranskriptomik) ve fonksiyonel proteinler haline dönüştüğünü (metaproteomik) değerlendiren yaklaşımlarla entegre olması gerekmektedir. Bu "omik" teknolojilerinin entegrasyonu ile sülfat indirgenmesi, nitrat indirgenmesi, sekonder safra asidi formasyonu ve diyetle etkileşime girerek insan sağlığını etkileyen diğer metabolik yolların değerlendirilmesi mümkündür. Epitel hücrelerinde karsinogenezi destekleyebilen patojenlerin direkt etkilerinin ölçümünde de kullanılabilirler. İntestinal mikrobiyomunun karsinogenezi direkt veya indirekt ajan olarak etkilediğini gösteren kanıtlar epidemiyolojik literatürde mevcuttur (bkz. aşağıdaki bölümler). İn vitro sistemler, fare modelleri ve kontrollü insan girişimleri ile birlikte intestinal mikrobiyomun insan sağlığını ve hastalık riskini etkileme mekanizmalarını anlamaya başlayabiliriz. Ancak intestinal mikrobiyomu prospektif bir şekilde örnekleyene kadar hastalık sonuçları üzerindeki nedensel etkilerini tam olarak anlamak güç olacaktır [86].

3 İntestinal Mikrobiyomun Kanser Gelişimindeki Direkt Etkileri

3.1 Enfeksiyon Ajanı Olarak İntestinal Mikroplar

Enfeksiyöz ajanların servikal, anal, penil, orofarengeal, karaciğer ve mide kanserleri ile belirli lenfoma tiplerinin etyolojilerinde önemli rol oynadıkları artık netleşmiştir [23, 42]. Dünyadaki kanser yükünün yaklaşık %20'si bilinen enfeksiyon ajanlarına bağlıdır. Bu oranın zaman içinde artması beklenmektedir [23, 153]. Enfeksiyonla ilişkili kanserlerin büyük bölümü viral ajanlara bağlı olarak oluşur. Servikal kanser ile insan papillomavirüs alfa tiplerinin veya karaciğer kanseri ile hepatit B ve C virüslerinin ilişkisi örnek olarak verilebilir [116]. Ancak özellikle intestinal mikropları kapsayan bakterilerin de karsinojenik etkileri olduğu bildirilmiştir [96].

Helicobakter pylori Uluslararası Kanser Araştırma Ajansı (IARC) tarafından klas I karsinojen olarak kabul edilmektedir. Gastrik kanserin ve MALT lenfomanın kabul edilen nedenlerinden biridir ve dünyadaki kanserlerin yaklaşık %5.5'inde sorumludur [72, 116]. Tifo ajanı olan *Salmonella typhi*'nin kronik mevcudiyetinin safra kesesi kanseri ile ilişkili olduğu hipotezi geliştirilmiştir [90]. Ayrıca çeşitli bakteri türleri de kolon kanserine yol açan potansiyel adaylar olarak belirlenmiştir. Bunlar arasında *Streptococcus bovis* (*S. gallolyticus* olarak da bilinir), *Fusobacterium nucleatum*, *H. pylori*, *Coriobacterialies*, ve enterotoksikojenik *Bacteroides fragilis* (ETFB) mevcuttur [27, 31, 63, 100].

Potansiyel enfeksiyöz bakteriyel ajanlarla intestinal karsinomları ilişkilendiren çalışmalarda vaka kontrol dizaynı kullanılmıştır. Vaka kontrol çalışmaları nadir hastalıkları incelemek için yeterli olsalar da, enfeksiyon ve kanser arasındaki zamana bağlı ilişkiyi tespit edemezler [99]. Bu metodolojik problem vaka kontrol çalışmalarının sonuçlarının yorumlanmasında önemlidir. Kanserde tümörün etrafındaki mikroçevre daha anaerobik hale gelerek, kanserin progrese olurken enfeksiyonlara muhtemelen daha duyarlı hale gelmesine neden olmaktadır [68]. Bu nedenle malign bir tümörün spesifik bakteryel ajanlar içeren enfeksiyonlara ideal bir ortam yaratıp yaratmadığı veya bakteryel enfeksiyonun kanserden önce başlayıp enflamasyon veya diğer yolaklarla karsinogeneze yol açıp açmadığı konusu henüz netleşmemiştir. Ayrıca bazı bakteri türleri erken karsinogenezde önemli rol oynasalar da, kanser gelişirken oluşan tümör ortamını tolere edemeyebilir; bu potansiyel olarak önemli ajanlar intestinal kanserle ilgili vaka kontrol çalışmalarında gözden kaçırılabilir. Bu nedenle prospektif çalışmalar ile kolorektal adenomlar gibi kanser prekürsörlerini araştıran çalışmalar bakteryel ajanlarla kanser arasındaki nedensel ilişkinin belirlenmesinde önemlidir.

Ayrıca bakteryel ajanlarla kanser arasındaki zamana bağlı ilişkinin tespit edilmesine ek olarak, enfeksiyon ajanlarının karsinogenezi hangi mekanizmalarla desteklediklerini de tespit edilmelidir. Yukarıda kısaca tartışılan tüm bakteri türlerinin, enfeksiyon bölgesindeki kanserleri klasik mikrobik karsinogenez ile direkt olarak desteklediklerini hipotezi

öne sürülmüştür. Bu modelde mikrobun intestinal mukozayı enfekte ederek kronik, lokal enflamatuar cevaba yol açmasının hücresel proliferasyonu, sitokin üretimini ve artan reaktif oksijen türlerine bağlı olarak DNA hasarın tetiklediği öne sürülmektedir [37]. Zaman içinde enfekte hücreler ile komşu hücrelerinde DNA hasarının akümüle olması ile tümör baskılayıcı genler ile morfolojik değişimleri indükleyen onkogenlerde ortaya çıkan mutasyonlar, sonuçta malign tümör gelişimine neden olur. Bu model *H. pylori* ve gastrik kanser gelişimi yönünden kesinlikle önemli olmasına rağmen [51], intestinal mikropların gastrointestinal sistem dışındaki bölgelerde bulunan karsinogenezi de etkileme potansiyelleri olduğunu ve diyet ile kompleks etkileşimlere girdiğini gösteren kanıtlar giderek artmaktadır [36, 123]. Örneğin bazı araştırmacılar *H.pylori* ve tuz alımının sinerjistik etki ile gastrik kanseri desteklediği hipotezini geliştirmiştir [147]. Ayrıca güncel çalışmalarda farelerdeki poliamin katabolizmasının ETFB tarafından indüklenen kolon tümörijenezine katkı yaptığı gösterilmiştir [63] (bkz. aşağıdaki diyet poliamin bölümü). Diyet ayrıca muhtemel karsinojen etkisi olan enfeksiyonların potansiyel kaynağı da olabilir. Örneğin kırmızı et tüketimi kolorektal kanser riskinde artış ile ilişkilidir [114]. Bu artışın kırmızı et ürünlerinde bulunan *S. bovis* gibi potansiyel karsinojenik bakteriyel kontaminantlardan kaynaklanıyor olması mümkündür [84].

3.2 Enflamasyonla İlişkili İntestinal Mikrobik Antijenik Partiküller

Gram negatif bakterilerin hücre duvarındaki komponentlerinden biri olan lipopolisakarid (LPS, endotoksin olarak da bilinir) obezitede düşük dereceli kronik enflamasyon [29, 30, 38] ve kolorektal kanser ile ilişkilidir [28, 56]. LPS toll benzeri doğal immunite ile ilişkili bir PRR olan ve TGF-β aracılığındaki yolakları tetikleyen reseptör-4 (TLR-4) yoluyla etki gösterir [1, 97]. Bu etki büyüme faktörlerini ve enflamatuar aracıları da içeren neoplaziye yol açabilen çeşitli genlerin ekspresyonu ile ilişkilidir. TLR-4 aktivasyonu ile LPS bağlayan, serum LPS-bağlayıcı protein (LBP) LPS'nin dolaşımdaki konsantrasyonları ile koreledir [117]. Güncel bir prospektif çalışmada LBP genindeki polimorfizmlerin kolorektal kanser riskinde artış ile ilişkili olduğu gösterilmiştir [33]. Bugüne kadar bu mutasyonların intestinal mikrobiyomdaki gram negatif bakterilerin dağılımı ve kanser riski ile ilişkisini araştıran bir çalışma yapılmamıştır.

4 İntestinal Mikrobiyomun Kanserin Gelişimi ve Önlenmesindeki İndirekt Etkileri

Diyet intestinal bakterilerin miktar ve tiplerini etkiler. Diyet bileşenlerinin intestinal metabolizmaları da hem koruyucu hem de zararlı metabolitlerin oluşumunu etkiler. Bu nedenle diyet ve ortak yaşayan intestinal bakteriler arasındaki etkileşimin sonucunda insanlardaki kanser riski etkilenebilir. Kanserler genomik ve epigenomik instabilite

Tablo 1 Spesifik eksojen ve endojen bileşiklerle ilgili intestinal mikrobik metabolizmanın kanser riski üzerindeki potansiyel etkisinin özeti

Bakteriyel metabolizma	Substrat kaynakları	Bakteri türleri	Kanserde potansiyel etkisi
Eksojen substratlar			
Hidrojen sülfür üretimi için sülfat indirgenmesi (H_2S)	Diyet proteinleri, özellikle sülfür içeren amino asitler ve inorganik sülfür kaynakları (su içindeki SO_4)	Sülfat indirgeyici bakteriler (SRB)	H_2S sitotoksik ve genotoksik etkilere sahiptir
Nitratın nitrite indirgenmesi N-nitrozo bileşiklerinin oluşumuna yol açar	Et (özellikle kırmızı et)	Multipl intestinal bakteri türleri	NOC, DNA eklentileri oluşturabilir
Poliamin üretimi	Ornitin	Multipl intestinal bakteri türleri	Enflamatuar mikroçevrenin büyümesi ile ilişkili poliamin
Flavonoid metabolizması: daidzein ekuola dönüşür	Soya	*Enterococcus faecium* suşu EPI1, *Laktobacillus mucosae* suşu EPI2, *Finegoldia magna* suşu EPI3 ve *Veillonella* türleri	Yüksek soya tüketen popülasyonlardaki ekuol üretimi düşük meme ve prostat kanseri riski ile ilişkilidir
Glukozinatların isotiyosiyanatlara (ITC) metabolize olması	Brokoli, lahana, kara lahana ve Brüksel lahanası gibi turpgiller ailesine ait sebzeler	*Escherichiacoli, Bacteroides thetaiotaomicron, Enterococcusfaecalis, Enterococcusfaecium, Peptostreptococcussp.* ve *Bifidobacterium* türleri	ITC'nin hücre siklusunu durdurma ve apoptozu indüklemeyi de içeren anti-karsinojenik özellikleri vardır
Endojen substratlar			
Sekonder safra asidi üretimi: Deoksikolik asit ve litokolik asit	Primer safra asitleri: Kolik asit ve kenodeoksikolik asit	Multipl Clostridium türleri	Sekonder safra asitleri tümör destekleyici aktiviteye bazı çalışmalar yüksek fekal sekonder safra asidi kolorektal kanser riskinde artış ile ilişkili olduğunu bildirmiştir
Endojen östrojen metabolizması	Östradiol (E2), östron 16α-hidroksiöstron, 16-oksoöstradiol, 15α-hidroksiöstron	*Clostridium paraputrificum, Bacteroides* türleri, *Eubacterium lentumu* da içeren çok sayıda reaksiyon gerçekleşir	Meme kanseri ile ilişkili olarak yükselen E2 konsantrasyonları

sonucunda ortaya çıkarlar. Bu instabilite normal, sağlıklı hücreleri kanser hücrelerine dönüştüren genetik ve epigenetik değişimlerin akümülasyonuna izin verir. Mikrobik metabolitler DNA üzerindeki direkt genotoksik etkileri ile DNA tamir sistemlerin modülasyonu ve histon asetilasyonu veya CpG adacık metilasyonu ile epigenetik mekanizmaların modülasyonu ile instabil mikrosatelit veya instabil kromozomlar içeren tümörlerin gelişimini etkileyebilirler [98, 137]. İnorganik bileşikleri büyüyebilmek için elektron akseptörü ve organik karbon kaynağı olarak kullanan kemolitoheterotroflar ile organik karbonu hem respirasyon hem de büyüme için kullanan organoheterotroflar gibi özgün metabolizmaları olan bakteriler kanserle ilişkilidir. Aşağıda özgün metabolizmaya sahip çeşitli bakteri örnekleri tanımladık. Bu mekanizmalar intestinal mikrobiyomun 1) Eksojen kaynaklardan (örn. diyet) tümörijenezi etkileyebilen metabolitleri üretebilmesine veya 2) Dolaşımda bulunan ve steroid hormonlar veya safra asitleri gibi tümörijenezi etkileyen endojen bileşiklere maruziyeti değiştirmesine neden olur.

4.1 Karsinogenez İle İlişkili Eksojen Substratların İntestinal Mikrobik Metabolizması

4.1.1 Sülfat İndirgenmesi

Hidrojen sülfit (H_2S) sülfat indirgeyici bakteri (SRB) tarafından üretilir ve hücre kültürü çalışmalarında hem sitotoksik hem de genotoksik etkilere sahiptir [13, 44, 75]. Örneğin Attene-Ramos ve ark. [13] modifiye komet deneyi kullanarak H_2S'in DNA hasarına yol açtığını göstermişlerdir. Sülfitin kolonik epitel hücrelerindeki bütiratın oksidasyonunu da önleyerek ATP formasyonunu ve enerji kullanımını azalttığı gösterilmiştir [34]. Bu etki iyonların absorpsiyonunu, mukus formasyonunu ve hücresel detoksifikasyonu engeller. Roediger ve ark. [121, 122] H2S'e maruz kalan kolonositlerdeki yağ asidi oksidasyonun azaldığını ve sülfitin hücresel redoks potansiyelini değişime uğratarak hücre proliferasyonunu değiştirdiğini bildirmiştir [44].

Sülfat indirgeyici bakterilerin enflamatuar bağırsak hastalığı ve kolorektal kanserdeki rolü çeşitli epidemiyolojik ve klinik çalışmalar tarafından araştırılmıştır [15, 60, 80, 118, 121, 122, 130]. Kolon kanseri için bir risk faktörü olan ve H2S maruziyetine bağlı olarak oluştuğu hipotezi geliştirilen genomik instabilite sporadik kolon kanseri ve ülseratif kolit ile ilişkilidir [14]. Popülasyon bazlı bir çalışmada (n=55) farklı etnik gruplardaki SRB dağılımı farklılıklar göstermiştir. SRB prevalansı daha yüksek kolon kanseri görülen gruplardaki diyet ile ilişkili bulunmuştur [115]. Ülseratif kolit muhtemelen SRB tarafından üretilen H2S ile ilişkili enflamasyon artışı ile bağlantılıdır [52]. Ayrıca ülseratif kolitli hastalardan alınan ve kültür yöntemi ile analiz edilen fekal örneklerde ülseratif kolit olmayanlara göre daha yüksek SRB konsantrasyonları tespit edilmiştir [61].

Normal intestinal mikrobiyatada sıklıkla bulunan SRB'nin dağılım ve aktivitesi diyetten etkilenebilir. Özellikle sülfür içeren amino asitler gibi diyet proteinleri ve inorganik sülfür kaynakları (suda SO_4) H_2S üretimine katkı yapabilir [46]. Magee ve ark. [95] tara-

fından yapılan kontrollü besleme çalışmasında H_2S üretiminin tüketilen protein miktarı ile anlamlı olarak ilişkili olduğu gösterilmiştir. Farelerden alınan fekal bulamaç ile inoküle edilmiş sürekli kültürde inorganik sülfat indirgenmesi [46] ve sülfonlu proteinler (örn. müsinler) sülfat indirgenmesini artırmış ve metanogenezi inhibe etmiştir [59]. Bu çalışmalar sülfat indirgenmesinin gerçekleşmesi için SRB gerektiğini ve SRB miktarının diyet tarafından değiştirilebileceğini göstermiştir. Delta Proteobacterianın delta alt divizyonunda bulunan SRB'lerin çoğu filogenetik olarak mütevazi bir grup oluştururlar. Gram pozitif bakterilerin Clostridium alt divizyonunda bulunan Desulfotomaculum bu duruma bir istisna teşkil eder [71]. Adenozin indirgenme yolağındaki ana enzimler, fonksiyonel genler olan katabolik (bi) sülfit redüktaz (*dsr*A) [154] ve adenozin-5' -fosfosülfat redüktazdır (*aps*A) [45, 55].

4.1.2 Nitrat İndirgenmesi

Epidemiyolojik çalışmalarda kırmızı ve işlenmiş et tüketimi ile kolon kanseri arasında ilişki olduğu gösterilmiştir [114]. Kırmızı ve işlenmiş etteki protein ve diğer nitrojenöz kalıntılar gibi instestinal bakterilerin N-nitrozo bileşikleri (NOC) üretmesine izin veren birçok bileşen [17] bu risk artışına katkı yapabilir [22]. Nitrat endojen olarak intestinal bakteriler tarafından üretilen nitrat redüktaz ile nitrite indirgenebilir. Nitrit organik bileşikler ile NOC oluşturmak üzere etkileşime girebilir. Feçeste nitrozaminler, nitrozamidler ve nitrozoguanidini de içeren birçok NOC sınıfı tespit edilmiştir [25]. NOC mutasyonları indükleyebilen DNA eklentileri oluşturabilir. Örneğin bazı NOC'ların K-ras geninin 12. veya 13. kodonunun ikinci tabanındaki GC'den AT'ye transisyonu indükleyebilen alkilleyici ajanlar oldukları gösterilmiştir. Bu K-ras mutasyonları olan kolorektal tümörlerde sık görülen bir mutasyondur [25]. Daha yakın zamanda yapılan bir çalışmada, ülseratif kolit teşhisi alan enflamatuar barsak hastaları ile enflamasyon olmayan irritabl barsak hastalarının kolon biyopsilerinin transkriptomik analizleri karşılaştırıldı [66]. Araştırmacılar gen ekspresyon düzeylerini çalışmaya katılan tüm deneklerdeki (vakalar ve kontroller) fekal NOC ile ilişkilendirdiler. Ağ analizi ile kromatin modifikasyonunun 11 histon geninin regülasyonunda değişim ile ilişkili olduğunu buldular. Bu bulgu epigenetik mekanizmaların NOC tarafından indüklenen karsinogenez ile ilişkili olabileceğini düşündürmektedir.

Diyet NOC konsantrasyonlarını etkileyebilir. Et tüketimi kolondaki nitrojenöz kalıntıları artırır [136]. Sekiz erkekte yapılan kontrollü besleme çalışmasında et tüketimi ile fekal NOC konsantrasyonları arasında doza bağlı ilişki tespit edilmiştir [73]. Fekal su genotoksisitesi, kırmızı et ile 7 günlük diyet girişim çalışasında, DNA hasar tamiri, hücre siklüsü ve apoptoz yolaklarını da içeren prokarsinojenik yolaklardaki kolonik gen ekspresyonunda değişimler ile ilişkili bulunmuştur Erkeklerde yapılan diğer kontrollü besleme çalışmalarında "hem demir" fekal NOC düzeylerini artırırken, "hem" yönünden zayıf protein kaynaklarının (örn. beyaz et ve sebze kaynaklı protein) fekal NOC'u artırmadığı bulunmuştur [22, 39]. Hem'in NOC üzerindeki bağımsız etkisi, bakteryel N-nitrozlaşmasına ek olarak kimyasal katalizin kırmızı etin endojen intestinal

N-nitrozlaşması üzerindeki doza bağlı etkisinden sorumlu olabileceğini düşündürmektedir [39]. Yüksek oranda kırmızı et içeren diyete brokoli, Brüksel lahanası ve bezelye eklenmesinin fekal NOC düzeylerine bir etkisi olmamıştır. Ancak soya eklenmesi fekal NOC düzeylerini anlamlı düzeyde baskılamıştır [74].

İntestinal bakterilerin N-nitrozlaşması üzerindeki önemi, nitrozlaştırma ajanı olarak nitrat verilen mikropsuz farelerde N-nitrozlaşması görülürken, normal intestinal mikrobiotası olan farelerde bu etkinin görülmemesi ile gösterilmiştir [103]. Bazı fakültatif ve anaerob bakteriler nitrat redüktaz yoluyla NOC katalizleyebilirler. Katabolik nitrat indirgenmesi bakteri grupları boyunca dağılmış bir grup bakteri tarafından yürütülür. NarG geni nitratın nitrite indirgenmesinden sorumludur. İnsanlarda yapılan güncel çalışmalarda haftada üç porsiyondan fazla kırmızı et tüketenlerde ve nükleotid eksizyon tamir yolağında polimorfizm olanlarda kolorektal kanser riskinde artış gözlenmiş olması ilginçtir [79]. Ancak intestinal mikrobik NOC formasyonunun derecesi ile konak DNA tamir mekanizmalarındaki varyasyonların kolorektral risk üzerindeki kombine etkileri araştırılmamıştır.

4.1.3 Poliamin Üretimi

Poliamine maruziyet kolonik mukoza enflamasyonu ve devamında kolon kanseri riski ile ilişkilendirilmiştir [58]. Ornitin spermidin ve spermin prekürsoru olan poliamin putreskine dönüşür. Bu yolak normal büyümede önemlidir. Ancak poliaminler okside olarak reaktif oksijen türlerinin üretimine yol açarak kronik enflamatuar mikroçevreye katkı yapabilirler. Epitelyuma poliamin akışında artış ökaryotik ornitin dekarboksilazı (ODC) yukarı regüle eder. Poliamin sentezinde rol oynayan önemli bir regülatör enzim olan ODC kolon kanserinde yukarı regüle olur. Bu ODC yukarı regülasyonu, CIN tümörlerinde bulunan K-ras mutasyonlarının aşağı yönündeki MAPK sinyal yolağı yukarı regüle olan kolon kanserlerini destekleyebilir [76, 89, 105].

Poliaminler endojen olarak üretilmelerine rağmen diyet ve diyet prekürsorlarının metabolizması ile üretilen poliaminler intestinal epitel hücrelerinin maruziyetini etkilerler. Gerner ve ark. [57] kemopreventif tedavilerin etkinliklerinin diyetle alınan putreskinin modülasyonu ile etkilenebileceğini göstermiştir. Ancak intestinal mikrobiyomunun modülasyonu dikkat çekmemiş bir kemopreventif opsiyondur. Ailesel adenamatöz polipoziste sıklıkla uygulanan bir kemoprevensiyon tedavisi ODC'nin difluorometilornitin (DFMO) ve nonsteroidal antienflamatuar ilaçlarla bloke edilmesidir [58]. DFMO poliaminlerin ökaryotik üretimlerinde rol oynar; ancak bakteryel yolla üretilen putreskinin tedarik miktarının değiştirilmesinde daha az etkili olabilir. Bakteryel amino asit dekarboksilazların filogenetik ve yapısal farklılıkları göz önüne alındığında [91] bakterilerin poliamin üretmelerini ve lümendeki poliamin konsantrasyonlarını etkilemelerini sağlayan multipl, farklı mekanizmaları mevcuttur. DFMO bu nedenle poliaminlerin ökaryotik üretimlerini etkilerken, bakteryel üretim etkilenmeyebilir. Örneğin DFMO'nun H. pylori büyüme oranlarını etkilediği gösterilmiştir. Ancak E. coli ve C. rodentium gibi diğer enterikleri etkilememektedir [16]. Poliamin üretiminin intestinal mikroplar tarafından azaltılmasının yeni yollarının tanımlanması veya intestinal mik-

robiyal topluluğunun değişimi, yüksek riskli hasta popülasyonlarında kullanılabilecek farklı bir kemoprevensiyon stratejisi olabilir.

4.1.4 Flavonoid Mekanizması

Epidemiyolojik çalışmalarda bitkisel kaynaklı besinlerin tüketiminin farklı kanser türlerinin risklerinde azalma ile ilişkili olduğu gösterilmiştir [152]. Polifenolik bileşikler olan flavonoidler insan diyetinde en çok bulunan bitkisel kaynaklı besin öğeleridir. Altı kategoriye ayırılırlar. Antioksidan özellikleri yoluyla DNA hasarının azaltılması veya enflamasyon yolakları ile etkileşime girebilme gibi çeşitli kanser engelleyici özellikleri mevcuttur ([138] nolu referansta incelenmiştir). Salgı miktarlarında ve dolaşımdaki konsantrasyonlarında büyük bireysel farklılıklar olması muhtemelen intestinal mikrobiyom varyasyonlarının bir yansımasıdır.

Bakteryel metabolizma üzerindeki etkileri en fazla araştırılmış flavonoid muhtemelen soya izoflavonu olan daidzeindir. Çalışmalarda popülasyonun yaklaşık %30-50'sinin daidzeini ekuole [54, 88], %80-90'ının da O-desmetilangolensine (ODMA) metabolize edebildiği gösterilmiştir [6, 81]. Çeşitli in vitro çalışmalarda ekuolinin prekürsörü olan daidzeine göre daha biyolojik olarak daha fazla aktif olduğu gösterilmiştir. Örneğin ekuolin daha fazla östrojenik [101], daha güçlü bir antioksidan olduğu [7, 120, 144, 145] ve serumda hem genistein hem de 17β-östradioldan daha yüksek serbest fraksiyonunun mevcut olduğu gösterilmiştir [110]. Bu bulgu 10 yıldan daha uzun süre önce ekuol üretebilen bireylerin soya tüketimine potansiyel "cevap verici" olması nedeniyle ilginin artmasına yol açmıştır. Setchell ve ark. [133] soya ve izoflavon takviye çalışmalarında çok farklı sonuçlar elde edilmesinin, bireylerin ekuol üretebilme yeteneklerinin "bakteryel tiplemesinin" yapılmamış olmasından kaynaklanabileceği hipotezini geliştirmiştir. Hepsi değilse de, bazı çalışmalarda ekuol üretiminin meme ve prostat kanseri risklerinde azalma ile ilişkili olduğu gösterilmiştir ([87] nolu referansta incelenmiştir). Ayrıca ekuol üretimi ile (meme kanseri riski yönünden), steroid hormonların ve üriner östrojen metabolitlerinin dolaşımdaki miktarları ve mamografik meme dansitesi arasında olumlu ilişkiler gözlenmiştir [10, 48, 54, 113].

İnsan intestinal bakterileri ekuol ve ODMA üretiminden sorumludur [11. 32]. Belirli bakterilerin ekuol üretim yolağında özgün fonksiyonları olduğu belirlenmiştir [135]. Ancak diğer çalışmalarda Enterococcus faecium suş EPI1, Lactobacillus mucosae EPI2 suşu, Finegoldia magna EPI3 suşu ve suşu henüz tespit edilemeyen Veillonella türünden bakterilerden oluşan bir konsorsiyumun da ekuol üretiminde rol oynayabileceği gösterilmiştir [43].

4.1.5 Turpgillerden Elde Edilen Glukozinolatların Metabolizmaları

Turpgiller veya hardal ailesine ait sebzelerin tüketiminin bazı kanser riskleriyle ters orantılı ilişkiye sahip olduğu gösterilmiştir [85]. Glukozinolatların hidroliz ürünü olan izotiyosiyanatların (ITC) hem in vitro hem de in vivo ortamda antikarsinojenik özellikleri olduğu gösterilmiştir ([111] nolu referansta incelenmiştir). ITC'lerin biyolojik etkileri çeşitlidir. Karsinogenezde önemli rol oynayan multipl yolaklarla iletişime girmeyi ve

yolakların kendi arasındaki etkileşimini de kapsayan çeşitli etkileri mevcuttur. ITC'nin tümörijenezi inhibe edici etkisinin, enzim aktivitelerinin faz 1 ve 2 biyotransformasyonlarını inhibe etmeleri ile karsinojenlerin metabolizmaları ve DNA'ya bağlanmaları gibi kimyasal karsinogenez ile ilişkili farklı mekanizmaları etkilemeleri yoluyla gerçekleştiği gösterilmiştir [70]. İn vitro çalışmalarda ITC'nin hücre döngüsünü durdurduğu ve apoptozu indüklediği de gösterilmiştir [109].

Glukozinolatlar bitki mirozinazları veya bakteriler tarafından üretilen tioglukozidazlar tarafından ITC'ye dönüştürülürler. Turpgillere ait bitkilerin pişirilmesi bitki mirozinazlarını deaktive eder. Turpgillerin çoğunun pişirilerek tüketildiği düşünülürse intestinal bakterilerin glukozinolatların ITC'ye dönüştürülmesinde önemli rol oynadığı ortaya çıkmaktadır. Daha önce yapılan çalışmalarda insan bağırsağından veya feçesten elde edilen Escherichia coli, Bacteroides thetaiotaomicron, Enterococcus faecalis, E. faecium, Peptostreptococcus türleri, ve Bifidobacterium türleri gibi belirli bakterilerin glukozinatları ITC veya diğer türevlerine dönüştürebildiği gösterilmiştir [26, 50, 69]. İnsanlardaki kontrollü besleme çalışmalarında (bitki mirozinaz aktivitesini yok etmek için ısıtılmış veya mikrodalga fırında ısıtılmış) aynı miktarda turpgilllere ait sebzelerin tüketimi sonrasında üriner ITC ekskresyon oranlarında önemli bireysel farklar gösterilmiştir [125, 134, 146]. Benzer sonuçlar sıçanlarla yapılan kontrollü besleme çalışmalarında da tespit edilmiştir [35, 126]. Bu bulgular ITC formasyonunda bireyler arasındaki intestinal bakterilerin aktivite veya kompozisyonlarının farklı olduğunu düşündürmektedir. Yakın zamanda yaptığımız bir çalışmada, standart pişirilmiş brokoli yemeğinden sonra idrarında daha yüksek ITC ekskresyonu görülen bireylerdeki fekal bakterilerin glukorafanini daha fazla metabolize ettiğini gösterdik [93].

4.2 Karsinogenez İle İlişkili Endojen Substratların İntestinal Mikrobik Metabolizması

4.2.1 Sekonder Safra Asitlerinin Üretimi

Kolonik bakteryel transformasyon ürünü olan sekonder safra asitl (SSA) deoksikolik asidin (DCA) safra taşı formasyonunda [141] ve kolorektal karsinogenezde [21, 106] rolü olduğu bildirilmiştir Primer safra asitleri olan kolik asit ve kenodeoksikolik asit karaciğer kolesteroldan sentezlendikten sonra glisin veya taurin ile konjuge olarak enterohepatik dolaşıma girerler. Karaciğer, safra kesesi ve bağırsaklar arasındaki enterohepatik dolaşım yaklaşık %95 oranında etkili olduğu halde, safra asitlerinin 5%'i bu dolaşımdan kaçarak kolondaki anaerobik bakteriler tarafından SSA, DCA ve litokolik aside (LCA) dönüştürülürler. Diyet kolona geçen safra asitlerinin miktarını direkt olarak etkileyebilir. Çalışmalar yüksek yağlı diyetlerin daha yüksek SSA konsantrasyonlarına yol açabileceğini göstermektedir [40, 104]. Hayvan çalışmalarında SSA'ların tümör destekleyici etkileri olduğu gösterilmiştir. İnsanlarda yapılan bazı çalışmalarda da yüksek fekal safra asidi konsantrasyonlarının kolorektal kanser riskini artırdığı belirtilmiştir ([104] nolu referansta incelenmiştir). Ancak bu ilişki tüm çalışmalarda gösterilememiştir [107]. İn. geçiş zamanı ve pH gibi faktörlerin fekal SSA konsantrasyonlarını etkilediği düşünüldü-

ğünde fekal safra asidi konsantrasyonları ile kolon kanseri arasındaki ilişkinin kompleks olduğu anlaşılmaktadır. Enterohepatik dolaşımdan kaçan hemen tüm safra asitlerinin ekskresyon öncesi SSA'ya dönüştürüldüğü göz önüne alınırsa, fekal safra asidi konsantrasyonları kullanılarak tahmin edilen safra asidi havuzundaki DCA miktarlarının gerçekte olduğundan daha yüksek çıkabileceği bildirilmiştir [104]. Ancak safra asidi havuzunu daha doğru ölçebilen serum DCA seviyelerinin de kolon kanseri hastalarında sağlıklı bireylerden daha yüksek olduğu gösterilmiştir [18, 19]. DCA ile kolon kanseri arasındaki potansiyel bir ilişki DCA'nın tümör supresyonuna müdahil olarak ve hücre büyüme sinyalleri yoluyla büyümeyi stimüle ederek apoptoz, proliferasyon ve intestinal epitelin farklılaşması [64] arasındaki dengeyi değiştirmesi olabilir.

DCA formasyonundan sorumlu bakterilerin *Clostridium* cinsine ait olduğu belirlenmiştir [47, 83, 148, 149]. Bu bakteriler düşük veya yüksek 7α-hidroksile edici aktivitelerine göre iki sınıfa ayrılmıştır. Bu sınıflar bireysel DCA konsantrasyonlarındaki varyasyonları kısmen açıklayabilir. Ayrıca kolik asidin DCA'ya bakteryel 7α-dehidroksilasyonunda rol oynayan safra asidi tarafından indüklenen operon da tanımlanmıştır [148].

4.2.2 Endojen Östrojenlerin Metabolizması

Meme kanseri riski idrarda yükselmiş östradiol (E_2), östron (E_1), E_1 sülfat (E_1S), östriol (E_3), dehidroepiandrosteron (DHEA) ve 16α-hidroksiöstron (16α-OHE_1) seviyeleri ile ilişkilidir [10]. Dolaşımdaki östrojen seviyelerini değiştiren hem genetik hem de çevresel faktörler de meme kanseri riskini etkileyebilir.

Östrojenler kan dolaşımında serbest ya da proteine bağlanmış, konjuge veya konjuge olmayan halde bulunabilir, hedef organ ile etkileşime girebilir veya salgılanabilirler. Östrojenler karaciğerde sülfatlanabilir, glukuronidasyona uğrayabilir ya da metile olabilirler. Yaklaşık %50'si idrarla atılırken kalan kısmı safraya geçerek enterohepatik dolaşıma geçer. Kolondaki bazı bileşikler feçesle atılırken bazıları da intestinal mikrobiyom tarafından metabolize edilir ([108] nolu referansta incelenmiştir). İn. mikrobiyom (1) dekonjugasyon yoluyla dolaşımdaki hormonlara maruziyeti artırabilir ve (2) dolaşımdaki hormonların kompozisyonunu (veya tiplerini) hidroksilasyon/dehidroksilasyon ve metilasyon/demetilasyon yoluyla etkileyebilir. Çeşitli intestinal bakterilerde bulunan β-glukozidazlar, β-glukuronidazlar ve sulfatazlar hormon konjugatlarını hidrolize ederler [41]. Bu unkonjuge östrojenler kan dolaşımına reabsorbe olduktan sonra, idrarla atılabilir veya tekrar enterohepatik dolaşıma girebilirler [132] Adlercreutz ve ark. otuz yıldan daha uzun süre önce antibiyotik uygulanması ile östrojenlerin idrarla atılımının azaldığını gözlemiştir. Bu bulgu intestinal bakterilerin östrojenlerin enterohepatik dolaşımının regüle edilmesinde ve buna bağlı olarak maruz kalınma derecelerinde önemli rol oynadıklarını göstermektedir [3, 4, 102]. Diyetin kendisi de östrojenleri direkt olarak diyet lifleri ile bağlayarak ya da intestinal mikropların östrojenleri metabolize etme derecelerini etkileyerek serum hormon konsantrasyonlarını etkileyebilir [2].

Birçok intestinal bakteri konjuge steroidlerin hidrolizasyonlarının ilk aşamasını gerçekleştirerek [151] diğer intestinal bakteriler tarafından daha ileri metabolize edilmelerinin yolunu açar. Östrojenlerin mikrobik metabolizmaları indirgenme, oksidasyon ve E_2'nin E_1'den

Tablo 2 Premenopozal kadınlardaki serum hormon konsantrasyonları (sonuç) ile intestinal mikrobik topluluk (maruziyet) ve diyet (maruziyet) arasındaki ilişkiler.

	β-Katsayısı	p değeri
Östron sülfat		
Archaea[b]	–0.11	0.028
Total lif	–0.01	0.019
Alu I Eksen 1	–0.18	0.017
Total lif	–0.01	0.094
Total yağ	–0.005	0.045
Serbest östradiol: östradiolun *tamamı*		
Alu I Eksen 2	0.21	0.013
Total lif	–0.01	0.099
Total östradiol		
Rsa I Eksen 2	0.17	0.028
Total lif	–0.011	0.053

[a] Basamaklı GLM (genel lineer model) ile hormonlar, vücut yağı yüzdesi ve potansiyel olarak bozucu demografik faktörler 0.10 düzeyinde değerlendirilmiştir

[b] Adipozite için düzeltme

ve E_2-3-glukuronidden, E_1'in E_2'den ve östron-3-sulfattan (E_1S) ve E_3'ün 16α-OHE_1'den oluşumunu içerir. Ayrıca in vitro enkübasyonda E_1, E_2, ve 16α-dehidroksiöstronun E_3'e, 16-oksoöstradiolun 16-epiöstriola, ve 15α-hidroksiöstronun 15α-hidroksiöstradiole dönüşümü de gösterilmiştir [77, 78, 94]. Ring-A indirgemesi *Clostridium paraputrificum* ve *Bacteroides* türleri gibi çok çeşitli bakterilerin enzimleri ile katalizlenir. Ring-D'nin redüktif dehidroksilasyonu ve dehidrojenasyon gibi oksidatif reaksiyonlar da *Eubacterium lentum* gibi bakteriler tarafından gerçekleştirilir [24].

Güncel bir çalışmada intestinal mikrobik topluluk kompozisyonu ile dolaşımdaki steroid hormon konsantrasyonları arasındaki ilişkileri 40-45 yaşları arasındaki 115 sağlıklı premenopozal kadında araştırdık [12]. Fekal örneklerdeki intestinal mikrobik topluluğun kompozisyonu Alu I (başlıca Bacteroidetes) ve Rsa I (başlıca Firmicutes) adlı iki restriksiyon enzimi içeren terminal restriksiyon uzunluk polimorfizmi (TRFLP) ve Bacteria, Bacteroides, Clostridia Küme XIVa ve Archaea'daki 16S rRNA genlerinin kuantitatif PCR'ı (qPCR) ile ölçüldü. Regresyon modelleri hormonlar ve intestinal mikrobik topluluk yapısı arasındaki ilişkileri değerlendirmek amacıyla kullanıldı. E_1, E_1S, total ve serbest E_2 ve seks hormonu bağlayıcı globülinin (SHBG) serum konsantrasyonları ile serbest E_2:total E_2 oranları ölçülmüştür. Ayrıca TRFLP analizi ve qPCR'dan elde edilen intestinal mikrobik topluluk çok değişkenli eksen maruziyetleri ölçülmüştür. Alu I TRFLP paternlerinin NMS (non-mass selected) analizlerinin final çözümünde 400 tekrar sonrası 16.65'lik stabil stres değeri elde edilmiştir. Üç eksen her iki alt kümedeki TRFLP verilerindeki varyasyonlarının %79.7'sini kümülatif olarak açıklayabilmiştir. 1, 2 ve 3. eksenler sırasıyla %26.2, %31.7, %21.7 oranında açıklanmıştır. Rsa I TRFLP pa-

ternlerinin NMS (non-mass selected) analizlerinin final çözümünde 400 tekrar sonrası 16.87'lik stabil stres değeri elde edilmiştir. Rsa I TRFLP'nin NMS analizi eksen 1 (%23), eksen 2 (%29) ve eksen 3 (%29) verilerindeki varyasyonların %82'sini açıklamıştır. E_1 ($p<0.004$), E_1S ($p<0.017$), E_2, ve serbest E_2:total E_2 oranı ALU I kullanan intestinal mikrobik topluluk ile anlamlı olarak ilişkili bulunmuştur ($p<0.05$). E_1S, E_2, ve serbest E_2:total E_2 oranı Rsa I ile tanımlanan intestinal mikrobik topluluk ile anlamlı olarak ilişkili bulunmuştur ($p<0.05$). E_2, ve serbest E_2:total E_2 oranı ve SHBG Bacteroides ile ilişkili bulunmuştur. E_1 ve E_1S Archaea ile ilişkilidir ($p<0.05$). Diyet faktörlerine ve demografik özelliklere göre düzeltme yapıldıktan sonra E_1S ile Archaea veya Alu Ekseni I, serbest E_2:total E_2 ve Alu Ekseni 2, ve E_2 ve Rsa Ekseni I arasında anlamlı ilişki bulunmuş olması intestinal mikrobiyomun kompozisyonunun dolaşımdaki steroid hormonlarının konsantrasyonlarının ve tiplerinin belirlenmesinde önemli bir faktör olabileceğini göstermektedir. Bu çalışma diyet gibi maruziyetlerin intestinal mikrobik topluluk ile ilişkisinin değerlendirilmesinin önemli olduğunu vurgulamaktadır (Tablo 2).

5 Sonuçlar

İnsan sağlığı intestinal mikrobiyom, diyet ve konak fizyolojisi arasındaki etkileşimlerden etkilenmektedir. Bu bölümde mikrobik olarak yönetilen kanserle ilgili yolaklar ile ilgili örnekler sunduk. Bu yolaklar 1) Patojeninin insanlar ile direkt temasını ve 2) Mikrobik metabolizmanın eksojen ve endojen substratlar üzerindeki indirekt etkilerini kapsamaktadır. Bu yolaklar enflamasyonun özelliklerini değiştirebilir, DNA'yı modifiye ederek mutasyonlara neden olabilir veya epigenetik ve gen sessizleştirmesinde rol oynayabilirler. Son zamanlarda intestinal mikrobiyomda yapılan metagenomik çalışmalarda, çeşitli kemoheterotrofik ve organoheterotrofik anaerobik metabolizmaların fermentasyonda ve konağa faydalı veya zararlı olabilen metabolitlerin üretiminde rol oynadığı gösterilmiştir [9, 143]. Ayrıca bu yaklaşımlar ile kolondaki tümörlü ve tümörsüz bölgelerdeki intestinal mikrobik topluluğun kompozisyonundaki farklılıklar da tanımlanmıştır [100]. Bireyler arası kanser riskindeki farklılıklar, mikrobik biyokütle, kompozisyon, fonksiyon ve diyet gibi konak faktörleri ile olan etkileşimden kaynaklanabilir. Gelecekteki çalışmalar intestinal mikrobiyomu konağın maruz kaldığı faktörler ile ilişkisine katkı yapan fonksiyonel bir ünite olarak değerlendirmelidir. Böylece hem intestinal mikrobiyomun hem de maruziyetlerin kanser riski üzerindeki etkileri anlaşılarak uygun önleme stratejileri dizayn edilebilir.

Referanslar

1. Abreu MT (2010) Toll-like receptor signalling in the intestinal epithelium: how bacterial recognition shapes intestinal function. Nat Rev Immunol 10:131–144
2. Adlercreutz H, Martin F (1980) Biliary excretion and intestinal metabolism of progesterone and estrogens in man. J Steroid Biochem 13:231–244
3. Adlercreutz H, Martin F, Pulkkinen M et al (1976) Intestinal metabolism of estrogens. J Clin Endocrinol Metab 43:497–505

4. Adlercreutz H, Martin F, Lehtinen T et al (1977) Effect of ampicillin administration on plasma conjugated and unconjugated estrogen and progesterone levels in pregnancy. Am J Obstet Gynecol 128:266–271
5. Amann RI, Binder BJ, Olson RJ et al (1990) Combination of 16S rRNA-targeted oligonucleotide probes with flow cytometry for analyzing mixed microbial populations. Appl Environ Microbiol 56:1919–1925
6. Arai Y, Uehara M, Sato Y et al (2000) Comparison of isoflavones among dietary intake, plasma concentration and urinary excretion for accurate estimation of phytoestrogen intake. J Epidemiol 10:127–135
7. Arora A, Nair MG, Strasburg GM (1998) Antioxidant activities of isoflavones and their biological metabolites in a liposomal system. Arch Biochem Biophys 356:133–141
8. Arts CJM, Govers CARL, Van den Berg H et al (1991) In vitro binding of estrogens by dietary fiber and the in vivo apparent digestibility tested in pigs. J Steroid Biochem Mol Biol 38:621–628
9. Arumugam M, Raes J, Pelletier E et al (2011) Enterotypes of the human gut microbiome. Nature 473:174–180
10. Atkinson C, Skor HE, Dawn Fitzgibbons E et al (2003) Urinary equol excretion in relation to 2-hydroxyestrone and 16alpha-hydroxyestrone concentrations: an observational study of young to middle-aged women. J Steroid Biochem Mol Biol 86:71–77
11. Atkinson C, Berman S, Humbert O et al (2004) In vitro incubation of human feces with daidzein and antibiotics suggests interindividual differences in the bacteria responsible for equol production. J Nutr 134:596–599
12. Atkinson C, Newton KM, Stanczyk FZ et al (2008) Daidzein-metabolizing phenotypes in relation to serum hormones and sex hormone binding globulin, and urinary estrogen metabolites in premenopausal women in the United States. Cancer Causes Control 19:1085–1093
13. Attene-Ramos MS, Wagner ED, Plewa MJ et al (2006) Evidence that hydrogen sulfide is a genotoxic agent. Mol Cancer Res 4:9–14
14. Attene-Ramos MS, Wagner ED, Gaskins HR et al (2007) Hydrogen sulfide induces direct radical-associated DNA damage. Mol Cancer Res 5:455–459
15. Balamurugan R, Rajendiran E, George S et al (2008) Real-time polymerase chain reaction quantification of specific butyrate-producing bacteria, Desulfovibrio and Enterococcus faecalis in the feces of patients with colorectal cancer. J Gastroenterol Hepatol 23:1298–1303
16. Barry DP, Asim M, Leiman DA et al (2011) Difluoromethylornithine is a novel inhibitor of Helicobacter pylori growth, CagA translocation, and interleukin-8 induction. PLoS ONE 6:e17510
17. Bastide NM, Pierre FH, Corpet DE (2011) Heme iron from meat and risk of colorectal cancer: a meta-analysis and a review of the mechanisms involved. Cancer Prev Res (Phila) 4:177–184
18. Bayerdorffer E, Mannes GA, Richter WO et al (1993) Increased serum deoxycholic acid levels in men with colorectal adenomas. Gastroenterology 104:145–151
19. Bayerdorffer E, Mannes GA, Ochsenkuhn T et al (1994) Variation of serum bile acids in patients with colorectal adenomas during a one-year follow-up. Digestion 55:121–129
20. Berg RD (1996) The indigenous gastrointestinal microflora. Trends Microbiol 4:430–435
21. Bernstein C, Holubec H, Bhattacharyya AK et al (2011) Carcinogenicity of deoxycholate, a secondary bile acid. Arch Toxicol 85:863–871
22. Bingham SA, Hughes R, Cross AJ (2002) Effect of white versus red meat on endogenous N-nitrosation in the human colon and further evidence of a dose response. J Nutr 132:3522S–3525S
23. Blaser MJ (2008) Understanding microbe-induced cancers. Cancer Prev Res 1:15–20
24. Bokkenheuser VD, Winter J (1980) Biotransformation of steroid hormones by gut bacteria. Am J Clin Nutr 33:2502–2506

25. Bos JL (1989) ras oncogenes in human cancer: a review. Cancer Res 49:4682–4689
26. Brabban AD, Edwards C (1994) Isolation of glucosinolate degrading microorganisms and their potential for reducing the glucosinolate content of rapemeal. FEMS Microbiol Lett 119:83–88
27. Burnett-Hartman AN, Newcomb PA, Potter JD (2008) Infectious agents and colorectal cancer: a review of Helicobacter pylori, Streptococcus bovis, JC virus, and human papillomavirus. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 17:2970–2979
28. Cammarota R, Bertolini V, Pennesi G et al (2010) The tumor microenvironment of colorectal cancer: stromal TLR-4 expression as a potential prognostic marker. J Transl Med 8:112
29. Cani PD, Neyrinck AM, Fava F et al (2007) Selective increases of bifidobacteria in gut microflora improve high-fat-diet-induced diabetes in mice through a mechanism associated with endotoxaemia. Diabetologia 50:2374–2383
30. Cani PD, Amar J, Iglesias MA et al (2007) Metabolic endotoxemia initiates obesity and insulin resistance. Diabetes 56:1761–1772
31. Castellarin M, Warren RL, Freeman JD et al (2011) *Fusobacterium nucleatum* infection is prevalent in human colorectal carcinoma. Genome Res 22:299
32. Chang YC, Nair MG (1995) Metabolism of daidzein and genistein by intestinal bacteria. J Nat Prod 58:1892–1896
33. Chen RFL, Wang Y et al (2011) LBP and CD14 polymorphisms correlate with increased colorectal carcinoma risk in Han Chinese. World J Gastroenterol 17:2326–2331
34. Christl SU, Eisner HD, Dusel G et al (1996) Antagonistic effects of sulfide and butyrate on proliferation of colonic mucosa: a potential role for these agents in the pathogenesis of ulcerative colitis. Dig Dis Sci 41:2477–2481
35. Conaway CC, Getahun SM, Liebes LL et al (2000) Disposition of glucosinolates and sulforaphane in humans after ingestion of steamed and fresh broccoli. Nutr Cancer 38:168–178
36. Conterno L, Fava F, Viola R et al (2011) Obesity and the gut microbiota: does up-regulating colonic fermentation protect against obesity and metabolic disease? Genes Nutr 6:241–260
37. Coussens LM, Werb Z (2002) Inflammation and cancer. Nature 420:860–867
38. Creely SJ, McTernan PG, Kusminski CM et al (2007) Lipopolysaccharide activates an innate immune system response in human adipose tissue in obesity and type 2 diabetes. Am J Physiol Endocrinol Metab 292:E740–E747
39. Cross AJ, Pollock JR, Bingham SA (2003) Haem, not protein or inorganic iron, is responsible for endogenous intestinal N-nitrosation arising from red meat. Cancer Res 63:2358–2360
40. Cummings JH, Wiggins HS, Jenkins DJ et al (1978) Influence of diets high and low in animal fat on bowel habit, gastrointestinal transit time, fecal microflora, bile acid, and fat excretion. J Clin Invest 61:953–963
41. Dabek M, McCrae SI, Stevens VJ et al (2008) Distribution of beta-glucosidase and beta-glucuronidase activity and of beta-glucuronidase gene gus in human colonic bacteria. FEMS Microbiol Ecol 66:487–495
42. De Flora S, Bonanni P (2011) The prevention of infection-associated cancers. Carcinogenesis 32:787–795
43. Decroos K, Vanhemmens S, Cattoir S et al (2005) Isolation and characterisation of an equol-producing mixed microbial culture from a human faecal sample and its activity under gastrointestinal conditions. Arch Microbiol 183:45–55
44. Deplancke B, Gaskins HR (2003) Hydrogen sulfide induces serum-independent cell cycle entry in nontransformed rat intestinal epithelial cells. FASEB J 17:1310–1312
45. Deplancke B, Hristova KR, Oakley HA et al (2000) Molecular ecological analysis of the succession and diversity of sulfate-reducing bacteria in the mouse gastrointestinal tract. Appl Environ Microbiol 66:2166–2174

46. Deplancke B, Finster K, Graham WV et al (2003) Gastrointestinal and microbial responses to sulfate-supplemented drinking water in mice. Exp Biol Med (Maywood) 228:424–433
47. Doerner KC, Takamine F, LaVoie CP et al (1997) Assessment of fecal bacteria with bile acid 7 alpha-dehydroxylating activity for the presence of bai-like genes. Appl Environ Microbiol 63:1185–1188
48. Duncan AM, Merz-Demlow BE, Xu X et al (2000) Premenopausal equol excretors show plasma hormone profiles associated with lowered risk of breast cancer. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 9:581–586
49. Eckburg PB, Bik EM, Bernstein CN et al (2005) Diversity of the human intestinal microbial flora. Science 308:1635–1638
50. Elfoul L, Rabot S, Khelifa N et al (2001) Formation of allyl isothiocyanate from sinigrin in the digestive tract of rats monoassociated with a human colonic strain of *Bacteroides thetaiotaomicron*. FEMS Microbiol Lett 197:99–103
51. Ernst P (1999) Review article: the role of inflammation in the pathogenesis of gastric cancer. Aliment Pharmacol Ther 13(Suppl 1):13–18
52. Florin T, Neale G, Gibson GR et al (1991) Metabolism of dietary sulfate—absorption and excretion in humans. Gut 32:766–773
53. Frank DN, Pace NR (2001) Molecular-phylogenetic analyses of human gastrointestinal microbiota. Curr Opin Gastroenterol 17:52–57
54. Frankenfeld CL, McTiernan A, Aiello EJ et al (2004) Mammographic density in relation to daidzein-metabolizing phenotypes in overweight, postmenopausal women. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 13:1156–1162
55. Friedrich MW (2002) Phylogenetic analysis reveals multiple lateral transfers of adenosine-5′-phosphosulfate reductase genes among sulfate-reducing microorganisms. J Bacteriol 184:278–289
56. Fukata M, Abreu MT (2007) TLR4 signalling in the intestine in health and disease. Biochem Soc Trans 35:1473–1478
57. Gerner EW (2007) Impact of dietary amino acids and polyamines on intestinal carcinogenesis and chemoprevention in mouse models. Biochem Soc Trans 35:322–325
58. Gerner EW, Meyskens FL Jr (2009) Combination chemoprevention for colon cancer targeting polyamine synthesis and inflammation. Clin Cancer Res 15:758–761
59. Gibson GR, Cummings JH, Macfarlane GT (1988) Use of a three-stage continuous culture system to study the effect of mucin on dissimilatory sulfate reduction and methanogenesis by mixed populations of human gut bacteria. Appl Environ Microbiol 54:2750–2755
60. Gibson GR, Cummings JH, Macfarlane GT (1991) Growth and activities of sulfate-reducing bacteria in gut contents of healthy-subjects and patients with ulcerative-colitis. FEMS Microbiol Ecol 86:103–111
61. Gibson GR, Macfarlane S, Macfarlane GT (1993) Metabolic interactions involving sulfate-reducing and methanogenic bacteria in the human large-intestine. FEMS Microbiol Ecol 12:117–125
62. Gill SR, Pop M, Deboy RT et al (2006) Metagenomic analysis of the human distal gut microbiome. Science 312:1355–1359
63. Goodwin AC, Destefano Shields CE, Wu S et al (2011) Polyamine catabolism contributes to enterotoxigenic *Bacteroides fragilis*-induced colon tumorigenesis. Proc Natl Acad Sci USA 108:15354–15359
64. Hague A, Elder DJ, Hicks DJ et al (1995) Apoptosis in colorectal tumour cells: induction by the short chain fatty acids butyrate, propionate and acetate and by the bile salt deoxycholate. Int J Cancer 60:400–406
65. Hayashi H, Sakamoto M, Benno Y (2002) Phylogenetic analysis of the human gut microbiota using 16S rDNA clone libraries and strictly anaerobic culture-based methods. Microbiol Immunol 46:535–548

66. Hebels DG, Sveje KM, de Kok MC et al (2011) N-nitroso compound exposure-associated transcriptomic profiles are indicative of an increased risk for colorectal cancer. Cancer Lett 309:1–10
67. Hebels DG, Sveje KM, de Kok MC et al (2012) Red meat intake-induced increases in fecal water genotoxicity correlate with pro-carcinogenic gene expression changes in the human colon. Food Chem Toxicol 50:95–103
68. Hirayama A, Kami K, Sugimoto M et al (2009) Quantitative metabolome profiling of colon and stomach cancer microenvironment by capillary electrophoresis time-of-flight mass spectrometry. Cancer Res 69:4918–4925
69. Holst B, Williamson G (2004) A critical review of the bioavailability of glucosinolates and related compounds. Nat Prod Rep 21:425–447
70. Holst JJ, Deacon CF (2004) Glucagon-like peptide 1 and inhibitors of dipeptidyl peptidase IV in the treatment of type 2 diabetes mellitus. Curr Opin Pharmacol 4:589–596
71. Hristova KR, Mau M, Zheng D et al (2000) Desulfotomaculum genus- and subgenus-specific 16S rRNA hybridization probes for environmental studies. Environ Microbiol 2:143–159
72. Huang JQ, Sridhar S, Chen Y et al (1998) Meta-analysis of the relationship between *Helicobacter pylori* seropositivity and gastric cancer. Gastroenterology 114:1169–1179
73. Hughes R, Cross AJ, Pollock JR et al (2001) Dose-dependent effect of dietary meat on endogenous colonic N-nitrosation. Carcinogenesis 22:199–202
74. Hughes R, Pollock JR, Bingham S (2002) Effect of vegetables, tea, and soy on endogenous N-nitrosation, fecal ammonia, and fecal water genotoxicity during a high red meat diet in humans. Nutr Cancer 42:70–77
75. Huycke MM, Gaskins HR (2004) Commensal bacteria, redox stress, and colorectal cancer: mechanisms and models. Exp Biol Med (Maywood) 229:586–597
76. Ignatenko NA, Gerner EW, Besselsen DG (2011) Defining the role of polyamines in colon carcinogenesis using mouse models. J Carcinog 10:10
77. Järvenpää P (1990) In vitro metabolism of catechol estrogens by human fecal microflora. J Steroid Biochem 35:289–292
78. Järvenpää P, Kosunen T, Fotsis T et al (1980) *In vitro* metabolism of estrogens by isolated intestinal micro-organisms and by human faecal microflora. J Steroid Biochem 13:345–349
79. Joshi AD, Corral R, Siegmund KD et al (2009) Red meat and poultry intake, polymorphisms in the nucleotide excision repair and mismatch repair pathways and colorectal cancer risk. Carcinogenesis 30:472–479
80. Kanazawa K, Konishi F, Mitsuoka T et al (1996) Factors influencing the development of sigmoid colon cancer. Bacteriologic and biochemical studies. Cancer 77:1701–1706
81. Kelly GE, Joannou GE, Reeder AY et al (1995) The variable metabolic response to dietary isoflavones in humans. Proc Soc Exp Biol Med 208:40–43
82. Key TJ (1999) Serum oestradiol and breast cancer risk. Endocr Relat Cancer 6:175–180
83. Kitahara M, Takamine F, Imamura T et al (2000) Assignment of *Eubacterium sp*. VPI 12708 and related strains with high bile acid 7alpha-dehydroxylating activity to *Clostridium scindens* and proposal of *Clostridium hylemonae sp*. nov., isolated from human faeces. Int J Syst Evol Microbiol 50(Pt 3):971–978
84. Knudtson LM, Hartman PA (1993) Comparison of fluorescent gentamicin-thallous-carbonate and KF streptococcal agars to enumerate enterococci and fecal streptococci in meats. Appl Environ Microbiol 59:936–938
85. Kristal AR, Lampe JW (2002) Brassica vegetables and prostate cancer risk: a review of the epidemiological evidence. Nutr Cancer 42:1–9
86. Lampe JW (2008) The human microbiome project: getting to the guts of the matter in cancer epidemiology. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 17:2523–2524
87. Lampe J (2010) Emerging research on equol and cancer. J Nutr 140:1369S–1372S
88. Lampe JW, Karr SC, Hutchins AM et al (1998) Urinary equol excretion with a soy challenge: influence of habitual diet. Proc Soc Exp Biol Med 217:335–339

89. Laukaitis CM, Gerner EW (2011) DFMO: targeted risk reduction therapy for colorectal neoplasia. Best Pract Res Clin Gastroenterol 25:495–506
90. Lazcano-Ponce EC, Miquel JF, Munoz N et al (2001) Epidemiology and molecular pathology of gallbladder cancer. CA Cancer J Clin 51:349–364
91. Lee J, Michael AJ, Martynowski D et al (2007) Phylogenetic diversity and the structural basis of substrate specificity in the beta/alpha-barrel fold basic amino acid decarboxylases. J Biol Chem 282:27115–27125
92. Ley RE, Bäckhed F, Turnbaugh P et al (2005) Obesity alters gut microbial ecology. Proc Natl Acad Sci USA 102:11070–11075
93. Li F, Hullar MA, Beresford SA et al (2011) Variation of glucoraphanin metabolism in vivo and ex vivo by human gut bacteria. Br J Nutr 106:408–416
94. Lombardi P, Goldin B, Boutin E et al (1978) Metabolism of androgens and estrogens by human fecal microorganisms. J Steroid Biochem 9:795–801
95. Magee EA, Curno R, Edmond LM et al (2004) Contribution of dietary protein and inorganic sulfur to urinary sulfate: toward a biomarker of inorganic sulfur intake. Am J Clin Nutr 80:137–142
96. Mager DL (2006) Bacteria and cancer: cause, coincidence or cure? A review. J Transl Med 4:14
97. Manco M, Putignani L, Bottazzo GF (2010) Gut microbiota, lipopolysaccharides, and innate immunity in the pathogenesis of obesity and cardiovascular risk. Endocr Rev 31:817–844
98. Maneval ML, Eckert KA (2004) Effects of oxidative and alkylating damage on microsatellite instability in nontumorigenic human cells. Mutat Res 546:29–38
99. Mann CJ (2003) Observational research methods. Research design II: cohort, cross sectional, and case-control studies. Emerg Med J 20:54–60
100. Marchesi JR, Dutilh BE, Hall N et al (2011) Towards the human colorectal cancer microbiome. PLoS ONE 6:e20447
101. Markiewicz L, Garey J, Adlercreutz H et al (1993) *In vitro* bioassays of non-steroidal phytoestrogens. J Steroid Biochem Mol Biol 45:399–405
102. Martin F, Peltonen J, Laatikainen T et al (1975) Excretion of progesterone metabolites and estriol in faeces from pregnant women during ampicillin administration. J Steroid Biochem 6:1339–1346
103. Massey RC, Key PE, Mallett AK et al (1988) An investigation of the endogenous formation of apparent total N-nitroso compounds in conventional microflora and germ-free rats. Food Chem Toxicol 26:595–600
104. McGarr SE, Ridlon JM, Hylemon PB (2005) Diet, anaerobic bacterial metabolism, and colon cancer: a review of the literature. J Clin Gastroenterol 39:98–109
105. Meyskens FL Jr, Gerner EW (2011) Back to the future: mechanism-based, mutation-specific combination chemoprevention with a synthetic lethality approach. Cancer Prev Res (Phila) 4:628–632
106. Mower HF, Ray RM, Shoff R et al (1979) Fecal bile acids in two Japanese populations with different colon cancer risks. Cancer Res 39:328–331
107. Mudd DG, McKelvey ST, Norwood W et al (1980) Faecal bile acid concentration of patients with carcinoma or increased risk of carcinoma in the large bowel. Gut 21:587–590
108. Munro IC, Harwood M, Hlywka JJ et al (2003) Soy isoflavones: a safety review. Nutr Rev 61:1–33
109. Myzak MC, Hardin K, Yan M et al (2006) Sulforaphane inhibits HDAC activity in prostate cancer cells, retards growth of PC3 xenografts, and inhibits HDAC activity in vivo. FASEB J 20:A150–A150
110. Nagel SC, vom Saal FS, Welshons WV (1998) The effective free fraction of estradiol and xenoestrogens in human serum measured by whole cell uptake assays: physiology of delivery modifies estrogenic activity. Proc Soc Exp Biol Med 217:300–309
111. Navarro SL, Li F, Lampe JW (2011) Mechanisms of action of isothiocyanates in cancer chemoprevention: an update. Food Funct 2:579–587

112. Neidhardt FC, Magasanik B (1960) Studies on the role of ribonucleic acid in the growth of bacteria. Biochim Biophys Acta 42:99–116
113. Nettleton JA, Greany KA, Thomas W et al (2005) The effect of soy consumption on the urinary 2:16-hydroxyestrone ratio in postmenopausal women depends on equol production status but is not influenced by probiotic consumption. J Nutr 135:603–608
114. Norat T, Bingham S, Ferrari P et al (2005) Meat, fish, and colorectal cancer risk: the European prospective investigation into cancer and nutrition. J Natl Cancer Inst 97:906–916
115. O'Keefe SJD, Carrim Y, van der Merwe CF et al (2004) Differences in diet and colonic bacterial metabolism that might account for the low risk of colon cancer in native Africans compared with Americans. J Nutr 134:3526S–3527S
116. Parkin DM (2006) The global health burden of infection-associated cancers in the year 2002. Int J Cancer 118:3030–3044
117. Pastor Rojo O, Lopez San Roman A, Albeniz Arbizu E et al (2007) Serum lipopolysaccharide-binding protein in endotoxemic patients with inflammatory bowel disease. Inflamm Bowel Dis 13:269–277
118. Pitcher MCL, Beatty ER, Gibson GR et al (1995) Sulfate-reducing bacteria—prevalence in active and inactive ulcerative-colitis. Gastroenterology 108:A894–A894
119. Qin J, Li R, Raes J et al (2010) A human gut microbial gene catalogue established by metagenomic sequencing. Nature 464:59–65
120. Rimbach G, De Pascual-Teresa S, Ewins BA et al (2003) Antioxidant and free radical scavenging activity of isoflavone metabolites. Xenobiotica 33:913–925
121. Roediger WEW (1998) Decreased sulphur amino acid intake in ulcerative colitis. Lancet 351:1555
122. Roediger WEW, Moore J, Babidge W (1997) Colonic sulfide in pathogenesis and treatment of ulcerative colitis. Dig Dis Sci 42:1571–1579
123. Rooks MG, Garrett WS (2011) Bacteria, food, and cancer. F1000 Biol Rep 3:12
124. Rosset R, Julien J, Monier R (1966) Ribonucleic acid composition of bacteria as a function of growth rate. J Mol Biol 18:308–320
125. Rouzaud G, Rabot S, Ratcliffe B et al (2003) Influence of plant and bacterial myrosinase activity on the metabolic fate of glucosinolates in gnotobiotic rats. Br J Nutr 90:395–404
126. Rouzaud G, Young SA, Duncan AJ (2004) Hydrolysis of glucosinolates to isothiocyanates after ingestion of raw or microwaved cabbage by human volunteers. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 13:125–131
127. Rowland IR (1999) Toxicological implications of the normal microflora. In: Tannock GW (ed) Medical importance of the normal microflora. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht
128. Samuel BS, Gordon JI (2006) A humanized gnotobiotic mouse model of host-archaeal-bacterial mutualism. Proc Natl Acad Sci USA 103:10011–10016
129. Savage DC (1977) Microbial ecology of the gastrointestinal tract. Annu Rev Microbiol 31:107–133
130. Scanlan PD, Shanahan F, Clune Y et al (2008) Culture-independent analysis of the gut microbiota in colorectal cancer and polyposis. Environ Microbiol 10:789–798
131. Schaechter M, Maalow O, Kjelgaard NO (1958) Dependency on medium and temperature of cell size and chemical composition during balanced grown of *Salmonella typhimurium*. J Gen Microbiol 19:592–606
132. Setchell KDR, Adlercreutz H (1988) Mammalian lignans and phyto-oestrogens: recent studies on their formation, metabolism and biological role in health and disease. In: Rowland I (ed) Role of the gut flora in toxicity and cancer. Academic Press, NY, pp 316–345
133. Setchell KD, Brown NM, Lydeking-Olsen E (2002) The clinical importance of the metabolite equol-a clue to the effectiveness of soy and its isoflavones. J Nutr 132:3577–3584

134. Shapiro TA, Fahey JW, Wade KL et al (1998) Human metabolism and excretion of cancer chemoprotective glucosinolates and isothiocyanates of cruciferous vegetables. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 7:1091–1100
135. Shimada Y, Yasuda S, Takahashi M et al (2010) Cloning and expression of a novel NADP(H)-dependent daidzein reductase, an enzyme involved in the metabolism of daidzein, from equol-producing Lactococcus strain 20–92. Appl Environ Microbiol 76:5892–5901
136. Silvester KR, Cummings JH (1995) Does digestibility of meat protein help explain large bowel cancer risk? Nutr Cancer 24:279–288
137. Soreide K (2008) Proteinase-activated receptor 2 (PAR-2) in gastrointestinal and pancreatic pathophysiology, inflammation and neoplasia. Scand J Gastroenterol 43:902–909
138. Spencer JPE, Crozier A (2012) Flavonoids and related compounds. CRC Press, Taylor & Francis Group, Boca Raton
139. Tannock GW (1999) The normal microflora: an introduction. In: Tannock GW (ed) Medical importance of the normal microfloraed. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, pp 1–23
140. Tannock GW, Munro K, Harmsen HJ et al (2000) Analysis of the fecal microflora of human subjects consuming a probiotic product containing *Lactobacillus rhamnosus* DR20. Appl Environ Microbiol 66:2578–2588
141. Thomas LA, Veysey MJ, Bathgate T et al (2000) Mechanism for the transit-induced increase in colonic deoxycholic acid formation in cholesterol cholelithiasis. Gastroenterology 119:806–815
142. Turnbaugh PJ, Ley RE, Mahowald MA et al (2006) An obesity-associated gut microbiome with increased capacity for energy harvest. Nature 444:1027–1031
143. Turnbaugh PJ, Hamady M, Yatsunenko T et al (2009) A core gut microbiome in obese and lean twins. Nature 457:480–484
144. Turner R, Baron T, Wolffram S et al (2004) Effect of circulating forms of soy isoflavones on the oxidation of low density lipoprotein. Free Radic Res 38:209–216
145. Vedavanam K, Srijayanta S, O'Reilly J et al (1999) Antioxidant action and potential antidiabetic properties of an isoflavonoid-containing soyabean phytochemical extract (SPE). Phytother Res 13:601–608
146. Vermeulen M, Van den Berg R, Freidig AP et al (2006) Association between consumption of cruciferous vegetables and condiments and excretion in urine of isothiocyanate mercapturic acids. J Agric Food Chem 54:5350–5358
147. Wang XQ, Terry PD, Yan H (2009) Review of salt consumption and stomach cancer risk: epidemiological and biological evidence. World J Gastroenterol 15:2204–2213
148. Wells JE, Hylemon PB (2000) Identification and characterization of a bile acid 7alpha-dehydroxylation operon in *Clostridium sp*. strain TO-931, a highly active 7alpha-dehydroxylating strain isolated from human feces. Appl Environ Microbiol 66:1107–1113
149. Wells JE, Berr F, Thomas LA et al (2000) Isolation and characterization of cholic acid 7alpha-dehydroxylating fecal bacteria from cholesterol gallstone patients. J Hepatol 32:4–10
150. Wilson KH, Blitchington RB (1996) Human colonic biota studied by ribosomal DNA sequence analysis. Appl Environ Microbiol 62:2273–2278
151. Winter J, Bokkenheuser VD (1987) Bacterial metabolism of natural and synthetic sex hormones undergoing enterohepatic circulation. J Steroid Biochem 27:1145–1149
152. World Cancer Research Fund (2007) Food, nutrition, physical activity, and the prevention of cancer: a global perspective. American Institute for Cancer Research, Washington, D.C
153. Zur Hausen H (2009) The search for infectious causes of human cancers: where and why. Virology 392:1–10
154. Zverlov V, Klein M, Lucker S et al (2005) Lateral gene transfer of dissimilatory (bi)sulfite reductase revisited. J Bacteriol 187:2203–2208

Kanserin Tedavisinde ve Önlenmesinde Enflamatuar Anjiogenez ve Tümör Mikroçevresinin Hedeflenmesi

Antonino Bruno, Arianna Pagani, Elena Magnani, Teresa Rossi, Douglas M. Noonan, Anna Rita Cantelmo ve Adriana Albini

Özet

Tümör hücreleri anormal şekilde transformasyona uğramış hücrelere ek olarak, stromal hücreler, vasküler hücreler ve prekürsorları ile immun hücreler gibi konak komponentlerine de sahiptir. Tüm bu bileşenler birbirleriyle hücresel ve moleküler düzeyde etkileşerek tümör mikroçevresi olarak tanımlanan karmaşık ve heterojen hücre komplekslerinin ve matriksin ortaya çıkmasına neden olur. Bu etkileşimlerde rol oynayan çeşitli yolaklar hem patolojik hem de fizyolojik senaryolar ile incelenmiştir. Günümüzdeki kemoterapötik ve koruyucu tedavilerin hedefinde farklı moleküller mevcuttur. Birçok fitokimyasal ve türevlerinin tümör mikroçevresinde etkili olarak tümör progresyonunu, anjiogenezi ve metastazı engelleyici etki yaptığı gösterilmiştir. Bu incelemede tümör mikroçevresinde rol oynayan başlıca oyuncular ve mekanizmalar ile bu etkileşimleri engelleyerek tümörlerin kontrolsüzlüğünü ve progresyonunu bloke etmeyi amaçlayan bazı ilginç bileşikleri tartışacağız. Bu değerlendirmeler sağlıklı görünen bireylerden oluşan büyük popülasyonlarda kanser riskinin azaltılmasında kullanılacak yeni koruyucu yaklaşımların geliştirilmesinde hayati rol oynayacaktır.

A. Bruno · A. Pagani
Polo Scientificoe Tecnologico, Multi Medica Onlus, Milano, Italy

T. Rossi · A. Albini (✉)
Research Infrastructure, IRCCS Arcispedale Santa Maria Nuova, Reggio Emilia, Italy
mail: adriana.albini@asmn.re.it

A. Pagani · D. M. Noonan
Department of Biotechnologies and Life Sciences, University of Insubria,Varese, Italy

E. Magnani · D. M. Noonan · A. R. Cantelmo
Polo Scientifico e Tecnologico, MultiMedica IRCCS, Milano, Italy

V. Zappia et al. (eds.), *Advances in Nutrition and Cancer,*
Cancer Treatment and Research 159, DOI: 10.1007/978-3-642-38007-5_23,
© Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2014

Anahtar Kelimeler

Tümör mikroçevresi • Anjiogenez • Enflamasyon • Antianjiogenik tedavi • Kemoprevensiyon

Kısaltmalar

IGF1-R	İnsülin benzeri büyüme faktörü 1-reseptörü
IκB	İnhibitör kinaz B
IKK	İnhibitör kinaz kinaz
IL-13	İnterlökin-13
IL-4	İnterlökin-4
IL-6	İnterlökin-6
IL-12	İnterlökin-12
IL1Rα	İnterlökin-1 reseptör-alfa
IL1β	İnterlökin-1 beta
JAK	Aktive Janus kinaz
MAPK	Mitojen aktive protein kinaz
MDM2	Mürin çift dakika 2
MDM4	Mürin çift dakika 4
MDSC	Myeloid-derive supresör hücre
MMP-1	Matriks metalo proteaz-1
MMP-2	Matriks metalo proteaz-2
MMP-7	Matriks metalo proteaz-7
MMP-9	Matriks metalo proteaz-9
mTOR	Memeli rapamisin hedefi
N1	N1-polarize nötrofiller
N2	N2-polarize nötrofiller
NAC	N-asetilsistein
NF-κB	Nükleer faktör kappa B
NSAİD	Nonsteroid antienflamatuar ilaç
NSCLC	Küçük hücreli olmayan akciğer kanseri
PDGF	Platelet derive büyüme faktörü
PDGFR-β	Platelet derive büyüme faktör reseptörü-beta
PDGFR	Platelet derive büyüme faktör reseptörü

PI3K	Fosfoinositid 3-kinaz
PIG3	p53 ile indüklenebilir gen 3
PlGF	Plasenta büyüme faktörü
PMNs	Polimorfonükleer nötrofiller
Raf	Root abundant factor
RAR	Retinoid asit reseptörü
RARβ	Retinoid asit reseptörü-beta
RCC	Renal hücreli karsinom
RelA	NFkB alt ünite-A
RelB	V-rel retiküloendotelioz viral onkojen homoloğu B
RET	Transfeksiyon sırasında yeniden düzenlenmiş
RHD	Rel homoloji alanı
RITA	p53 reaktivasyonu ve tümör hücre apoptozunun indüksiyonu
ROS	Reaktif oksijen türleri
RTK	Reseptör tirozin kinaz
STAT	Sinyal dönüştürücü ve transkripsiyon aktivatörü
STAT3	Sinyal dönüştürücü ve transkripsiyon aktivatörü 3
SV40	Simian virüsü 40
TAM	tümör ile ilişkili makrofaj
TEM	Tie2-eksprese eden makrofaj
TGFα	Transforme olan büyüme faktörü-alfa
TGFβ	Transforme olan büyüme faktörü-beta
Th	Yardımcı T
Th2	Yardımcı T tip-2 polarizasyon
TKİ	Tirozin kinaz inhibitörleri
TNF	Tümör nekroz faktörü
TNFα	Tümör nekroz faktörü-alfa
TP53TG1	TP53 hedefi 1
TSP-1	Trombospondin-1
VEGF-A	Vasküler endotelyal büyüme faktörü A izoformu
VEGF	Vasküler endotelyal büyüme faktörü
VEGFR	Vasküler endotelyal büyüme faktörü reseptörü
wSMC	Vasküler düz kas hücresi
WIP1	Yara ile indüklenen protein 1

İçindekiler

1 Tümör Mikroçevresi 404
1.1 Hücresel Oyuncular 405
1.2 Moleküler Yolaklar 408

2 Kanser Kemoprevensiyonu 412
2.1 N-asetilsistein 412
2.2 Fenretinid 413
3 Tümör Mikroçevresini Hedefleyen Tedaviler 414
4 Sonuçlar 416
Referanslar 417

1 Tümör Mikroçevresi

Konağın karsinogenezde ve tümör progresyonunda önemli bir rol oynadığı biliniyor da olsa, Virchow'un 1863 yılında kanserdeki enflamatuar hücreleri gözlemesi ve Paget tarafından 1889 yılında ortaya atılan ve günümüzde de geçerliliğini koruyan "tohum ve toprak" hipotezi yaklaşık bir yüzyıl boyunca göz ardı edilmiştir [14]. Kanserin bir doku olduğu ve sadece bir hücredeki mutasyonlardan kaynaklanmadığı ve konakta kanser gelişimine izin veren kompleks bir prosesinin mevcut olduğu günümüzde artık kabul edilmektedir [44]. Tümör mikroçevresinin, [46] hem kanser tedavisinde (örneğin giderek artan sayıda tümör tipinde anjiogenezin hedeflenmesi ile) ve belki de daha da önemli olarak kanserin önlenmesinde de [8, 10] bir hedef olabileceği konsepti giderek daha fazla gerçeğe yaklaşmaktadır.

Enflamasyon günümüzde karsinogenezi yöneten bir güç olarak kabul edilmektedir [31, 114]. Kanserin birçok çevresel nedeni ve risk faktörleri kronik enflamasyonun tiplerinden biri ile ilişkilidir. Kanserlerin %20'ye kadar olan kısmı kronik enfeksiyonlarla ilişkilidir. %30'u sigara ve inhale edilen kirleticilerle (örn. silika ve asbest), %35'i de diyet faktörleriyle (kanser yükünün %20'si obezite ile ilişkilidir) bağlantılıdır [77].

Enflamasyonun tümör progresyonundaki etkisi anjiogenezi başlatan "anjiogenetik anahtarı" etkileyebilme yeteneği ile ilişkilidir [7, 89, 106]. Kanser hücreleri vasküler endotelyal büyüme faktörü (VEGF) bir dizi büyüme faktörü salgılarlar. Bu faktörler endotel hücre yerleşimi ve aktivasyonunu indükleyen spesifik reseptörler etkileşirler. Aktive endotel hücreleri tümör damar ağının gelişimini başlatırlar. Tümör anjiogenezi olarak bilinen bu proses normal dokulardaki damar ağından oldukça farklıdır. Karmaşık, disorganize ve delikli damarlar, yüksek makromolekül difüzyon katsayıları ve yüksek interstisyel basınca neden olan yetersiz veya mevcut olmayan lenfatik ağ ile karakterizedir. Tümör vaskülarizasyonu kanser progresyonu için şarttır. Tümörün büyümesi, lokal invazyonu ve metastatik yayılımının bu yolla gerçekleşmesi tümör anjiogenezinin karsinogenez için kritik bir erken olay olduğunu gösterir [22, 47, 54, 59].

1.1 Hücresel Oyuncular

1.1.1 Enflamatuar Hücreler

Birçok çalışmada kanser ve enflamasyon arasında sıkı bir ilişki olduğu gösterilmiştir (Tablo 1). Kanserle ilişkili enflamasyon tümör mikroçevresindeki önemli rolü nedeniyle, yakın zamanda kanserin yedinci ana özelliği olarak tanımlanmıştır [28, 60]. Mikroçevresinin enflamatuar komponentleri, kanserle ilişkili enflamasyonda rol oynayan ve enflamasyonun sürdürülmesini sağlayan çeşitli hücre tiplerinden oluşur. Tümörlere infiltre olan başlıca enflamatuar hücreler, tümörle ilişkili makrofajlar (TAM), Tie2 eksprese eden monositler (TEM), miyeloid kaynaklı supresor hücreler (MDSC) ve nötrofillerdir. Tümöre infiltre olan makrofajların rolleri gayet iyi bilinmektedir. Makrofajlar mikroçevredeki uyarıcılara bağlı olarak, tümör progresyonunu veya spesifik immun cevapların gelişimini destekleyen kemokinler gibi farklı fenotiplere sahip olabilirler [31, 106, 121]. Tümörlere infiltre olabilen en önemli enflamatuar hücreler olan tümörle ilişkili makrofajlar bir dizi büyüme faktörleri, sitokinler ve ekstraselüler matriks modelleme molekülleri üreterek tümör proliferasyonunu ve anjiogenezi indüklerler. Monosit prekürsörlerinden kaynaklanan tümörle il. makrofajlar tümör hücrelerine CCL2 ve CSF-1 vasıtası ile kan dolaşımından ulaşırlar. tümörle il. makrofajlar CCL2 üreterek otokrin pozitif regülasyon döngüsünü oluştururlar [141]. Çeşitli çalışmalarda tümörle il. makrofajların nekrotik ve hipoksik bölgelerde lokalize olarak, TAM migrasyonunu regüle eden HIF-1'e bağımlı molekülleri (VEGF, CXCL12 ve CXCR4) salgıladıkları gösterilmiştir [104]. Aktive TAM'lar tümör büyümesini destekleyen ve sürdüren VEGF, PDGF, TGFβ ve FGF ailesi üyelerini de kapsayan bir dizi proanjiogenik hücre salgılarlar. TAM'lar ayrıca matriks metaloproteinazlar olan MMP-7, MMP-2, MMP-9, MMP-1 ve sikloksijenaz (COX)-2 gibi çok sayıda anjiogenez modüle edici enzim salgılarlar [106].

Çeşitli çalışmalarda infiltre olan TAM ile lenfoma [76, 165] ve meme kanseri [20] gibi malignitelerin prognozunda kötüleşme arasında korelasyon olduğu gösterilmiştir Son zamanlarda mürin gliom modellerinde CCL2'ye karşı geliştirilen ve test edilen bir antikorun TAM oranlarını anlamlı olarak azalttığı ve tümör olan farelerdeki sağkalımı uzattığı gösterilmiştir [182]. TEM'ler endotel hücreler ve tümör anjiogenezi ile yakından ilişkili olan Tie2 eksprese edici TAM'ların bir alt kümesidir [27].

Polimorfonükleer nötrofiller (PMN) lökositlerin kandaki en yaygın bulunan alt kümesini oluşturan ve esas olarak mikroorganizmalara karşı oluşan doğal immun cevapla ilişkili olan hücrelerdir. Esneklikleri ve regüle edebilme kapasiteleri giderek daha fazla anlaşılmaktadır [96, 149]. Nötrofiller stimülasyon sonrası etkilenen dokulara hızlıca yerleşerek degranüle olarak proteazları salgılar ve reaktif oksijen türlerini (ROS) üretirler. Bu faktörler doku hasarı ve hücre lizisine yol açtıkları gibi, hem başlatıcı hem de destekleyici görev yaparak potansiyel DNA hasarına yol açarlar [96]. Nötrofil düzeylerinin artması meme ve kolon kanseri gibi çeşitli kanser türlerinde ve enflamatuar lezyonlarda ve ülserli bölgelerde gözlenmiştir [104]. PMN'ler kemokin bağlayan CXCR2 tarafından

Tablo 1 Bazı kemoprevensiyon ajanlarının etki mekanizması

Bileşik	Fonksiyonel hedefler		Moleküler hedefler			
	↓Enflamasyon	Anjiyoprevensiyon	↓NF-κB	↓AKT	↓STAT3	↑AMPK
NAC	+	+	+	+*	+*	+*
Fenretinid	–	+	?	+	–	–
Aspirin	+	+	+	+	+	+**
Metformin	+	+	+	+	+	+
EGCG	+	+	+	+	+	+
Ksantohumol	+	+	+	+	–	–
Deguelin	+	+	+	+	+	+
Hiperforin	+	+	+	+	–	–
Kurkumin	+	+	+	+	+	+
Resveratrol	+	+	+	+	+	+
CDDO-Me	+	+	+	+	+	+
CDDO-Im	+	+	+	+	+	–
Tamoksifen	–	+	+	–	+***	–

Bu kanser prevensiyon ajanlarının bir çoğunun enflamasyonu (↓), anjiogenezi (anjioprevensiyon), NF-κB ve Akt yolaklarını inhibe ettikleri gösterilmiştir. Bazılarının STAT3 yolağını bloke ettikleri ve AMPK'yi (↑) aktive ettikleri gösterilmiştir (AMPK devamında Akt aşağı yönlü yolağını inhibe eder). +Aktivite var, - Literatürde aktivite kanıtı yok *Aktivite kontrast oksidatif stres kaynaklıdır. **Aktivite in vivo bir metabolit olan salisilat kaynaklıdır. *** Sadece bir makalede raloksifen kullanılmıştır. Referanslar için ekteki makalelere bakınız: [2,8,10,138,139].

indüklenen anjiogenezde direkt rol oynarlar. Kemokin bağlanması PMN'lerin VEGF üretimini indükler Çeşitli kanıtlara dayanarak tümörlerdeki PMN'lerin tümör makrofajları [106], anti-tümör "PMN1" (veya N1) ve protümör "PMN2" (veya N2) alt kümeleri ile benzer fenotipik polarizasyona sahip olabilecekleri hipotezini geliştirdik [73, 107, 142]. Deneysel modellerde yapılan güncel çalışmalarda pro-anjiogenik (N2) veya anti-tümör (N1) nötrofil fenotiplerinin varlığını destekleyen birçok bulgu elde edilmiştir [49]. İki fenotip arasındaki değişimin TGFβ'den kaynaklandığı düşünülmektedir. Çünkü TGFβ düzeylerindeki artış N2 nötrofilleri yönündeki polarizasyonu stimüle etmektedir [48, 49]. Nötrofiller tümör nekroz faktörü α (TNFα), interlökin (IL) 1b, IL12, IL1Rα ve VEGF gibi çok sayıda sitokin, kemokinlerler (CXCL1, CXCL8, CXCL9, CCL3 ve CCL4) ve MMP9 gibi proteazlar üretebilir [106].

1.1.2 Fibroblastlar ve Miyofibroblastlar

Fibroblastlar dokuların yapısal kelepçesi olan stromayı üretir ve tümör mikroçevresinde önemli rol oynarlar. Fizyolojik koşullarda oldukça sessizdirler. Ancak doku hasarı fibroblastları aktive ederek kollajen ve fibronektin gibi ekstraselüler matriks komponentle-

rinin üretimini artırırlar [125]. Ayrıca bazal membranın formasyonunda laminin ve tip IV kollajen salgılayarak rol oynarlar. Fibroblastlar karsinojenik prosesin ilk fazlarındaki tümör progresyonunu aktive fibroblastlar arasındaki ara bağlantılar yoluyla inhibe ederler. Tümör progrese olurken kanserle ilişkili fibroblastlar (CAF) tümörün büyümesini ve progresyonunu tümör stromasını modifiye ederek desteklerler [116]. Mekanik basınçlar aktive fibroblastların miyofibroblastlara farklılaşmasını sağlarlar. Güncel çalışmalarda fibrozisin karsinogenezin majör bir destekçisi olduğu bildirilmiştir [75]. Matriks rijiditesinin invazif tümör büyümesinin ve yayılımının ana yolu olan karsinogenez ve epitelyal mezenkimal geçişin (EMT) belirli özelliklerini regüle ettiği bilinmektedir [74]. CAF'lar tümörü çevreleyen stromaya çeşitli sitokinler ile hepatosit büyüme faktörü (HGF), fibroblast büyüme faktörü (FGF), CXCL2, IL6 ve TGFβ gibi çeşitli büyüme faktörleri salgılarlar [60]. CAF'lar stroma kaynaklı faktör-1 (SDF-1) olarak da bilinen ve endotel hücre prekürsörlerini çeken CXCL12 üreterek anjiogenezi desteklerler [110, 172]. Mobil dil skuamoz hücreli karsinomu olan hastalardaki CAF dansitesinin prognozu tahmin etmekte güvenilir bir faktör olduğu güncel bir çalışmada gösterilmiştir [15].

1.1.3 Endotel Hücreleri ve Perisitler

Tümörlerdeki damarların yapıları normal damarlardan oldukça farklıdır. Bunun en önemli nedeni endotel-endotel ve endotel-perisit etkileşimlerindeki değişimlerin iyi gelişmemiş çapraşık damar gelişimine neden olmasıdır. Bu damarlar delikli duvarlar, perisitlerin az sayıda olması gibi fonksiyonel değişimlere yol açan yapısal varyasyonlara sahiptir. Mevcut damarlardan yeni damarların formasyonu ile karakterize olan anjiogenez farklı basamakları olan kompleks bir prosestir. Başlangıçta, metaloproteinazlar gibi proteinazlar tarafından indüklenen ekstraselüler matriks hasarı ile özellikle VEGF'yi de içeren ve kendileri de permeabiliteye yol açan anjiogenez faktörlerinin etkisi ile vasküler permeabilite artışı görülür [71]. Daha sonra endotel hücreleri anjiogenik uyarının kaynağına doğru yer değiştirerek prolifere ve sonrasında da diferansiye olurlar. Duvar hücreleri yeni damar hücreleri oluşturan endotel hücrelerini stabilize ederler. Bu proses anjipoietinler, integrinler, kemokinler, oksijen sensörleri ve diğer ilgili faktörlerin aracılığındaki uyarıcı ve inhibe edici sinyallerin hassas regülasyonunu gerektirir [21]. Normal damarlardaki perisitler kapiler yatağının entegre parçalarıdır. Sızıntıyı önlemek için damarın endotel hücreleri ile diğer komponentleri arasındaki intraselüler sinyalleri koordine ederler. Kan damarlarının vasküler tonusları ve kontraksiyonları damarların etrafında tek veya multipl tabakalar oluşturan damar düz kas hücreleri tarafından sağlanır [128].

Buna karşın proanjiogenik ve antianjiogenik faktörlerin disregülasyonuna bağlı olarak anjiogenik sitokinlerin ve inhibitörlerin dengesiz ekspresyonu sonucu tümör damarlarının immatür olduğu gözlenir. Tümör mikroçevre tümörijenez esnasında kemik iliğindeki endotel prekürsör hücrelerini çeken uyarılar oluşturur. Sonrasında endotel veya mural hücrelerinin diferansiye olarak olgunlaşmalarını sağlar [66]. Bu prosesin başlıca medyatörlerinden biri çeşitli neoplastik hücrelerden salgılanan VEGF-A'dır. VEGF-A hipoksi varlığında yukarı regüle olarak EPC'lerde bulunan reseptörlere bağlanır ve mo-

bilize olmalarını indükler. VEGF-A ve VEGA-A reseptörleri, monoklonal antikorlar ile antitümör ve antianjiogenik aktiviteleri olan küçük inhibitör moleküller gibi farklı bileşikler tarafından hedeflenirler. Anjiogenezin hedeflenmesi kanserin önlenmesinde kullanılabilecek bir yöntem (Tablo 1) ve terapötik bir modalite olarak değerlendirilmeye başlanan bir konudur [8, 9, 153].

Perisitlerin tümör damar ağı üzerindeki rolü son zamanlarda incelenmektedir. Fibroblastik/düz kas benzeri hücreler olan perisitler endotel hücreleri ile yakın temas halindedir. Yerleşimleri, farklılaşmaları, fonksiyonları ve homeostazları platelet kaynaklı büyüme faktörü (PDGF), TGFβ ve anjiopoietinler gibi bir dizi sinyal yolağı tarafından hassasiyetle regüle edilmektedir [117]. Perisitler endotel hücrelerini anti-VEGF tedaviden koruyabilir. Yeterli miktarda perisite sahip olmayan tümör hücreleri antianjiogenik tedavilere karşı daha hassastırlar [117]. Bu nedenle, çeşitli araştırma grupları, endotel hücrelerin anti-VEGF terapi ile hedeflenmeleri ile perisitlerin anti-PDGF terapi ile hedeflenmelerinin fizibilitesini değerlendirmiştir. Çift hedefli tedavilerin etkinliklerinin daha yüksek olduğu çeşitli fare modellerinde gösterilmiştir [17, 42]. Ancak güncel çalışmalarda klinik araştırmalarla ilgili bazı problemlerin hala mevcut olduğu gösterilmiştir [92]. İlginç biçimde, renal karsinom ve diğer bazı kanser türlerinde onaylı iki küçük moleküllü tirozin kinaz inhibitörü olan (TKİ) antianjiogenik ajanlar (Sorafenib ve Sunitinib) hem VEGFR'leri hem de PDGFR'leri hedeflemektedir. Ancak deneysel çalışmalarda anjiogenez inhibisyonunun metastatik yayılımı destekleyebileceği yönündeki bulgular [43, 111], daha sonra perisitlerin kapsama alanlarının inhibisyonuna ve devamında tümör hücrelerinin damarlara ulaşmalarının kolaylaşmasına bağlanmıştır [26, 170].

1.2 Moleküler Yolaklar

Mikroçevre içindeki moleküler yolakların deregülasyonu sitokinlerin, kemokinlerin ve diğer ilgili faktörlerin yaygın olarak stimüle olması ile karsinogenezin tüm evrelerinde gerçekleşir. Bu durum hücrelerde bir tür yaşam veya ölüm meselesi oluşması anlamına gelir. Bu dinamik dengesizliğin mevcudiyetinde, farklı evrelerdeki sinyal yolaklarını hedefleyen kimyasallar hücresel şartlara uygun şekilde kullanılabilir. Bu bölümde aşağıda açıkladığımız doğal bileşikler tarafından modüle edilen ana yolakları tanımlıyoruz. Bu yolaklar basitçe paralel veya farklı yönlere giden yollar gibi gözükseler de, birbirleri ile çapraşık bir biçimde kesiştikleri için nihai sonucun veya hedefin tahmin edilmesi güç ve rastlantısal bir hale gelmesine neden olurlar [152, 166].

1.2.1 p53

p53 mitojenik onkogenlerin dergülasyonu, DNA hasarı, besin öğesi eksikliği, hipoksi ve stroma desteği kaybı ile indüklenen hücresel strese cevap olarak aktive olan, hücrenin geleceğini belirleyen başlıca regülatörlerden biridir [161]. Moll ve Schramm tanımladıkları "tümörijenezdeki akrobat" ifadesini, p53 proteininin diğer moleküler partnerlerle girdiği multipl etkileşimler sonucunda hücre sağkalımında oynadığı "iyi polis/kötü polis" rolünü anlatmak için kullanmışlardır [136] 1979 yılında bulunan p53, SV40-

dönüştürülmüş hücrelerindeki büyük T antijeni ile ko-immunopresipitasyona uğrayan konak tarafından üretilen bir 55-kDA proteinidir [85]. Normal dokulardaki p53 düzeyleri ölçülemezken, birçok tümörde aşırı derecede eksprese olduğu bulunmuştur [32]. Bu bulgu diğer deneysel kanıtlarla [97, 100] bir arada değerlendirildiğinde hücre proliferasyonunun pozitif regülasyonunda rol oynadığı düşünülebilir. Ancak 1980'lerin sonunda p53'ün insan kanserlerinin yaklaşık yarısında mutasyona uğrayarak fonksiyon kaybına uğradığı bulunmuştur [61, 62]. Büyük T antijeni Rb ve p53 ile bir kompleks oluşturarak her iki molekülü de inaktive ederek SV40 virüsünün potent hücre transformasyon kapasitesinde rol oynar. Ayrıca sıçan fibroblastlarına doğal (wild type) p53 enjeksiyonu başka onkogenler tarafından transforme edilmesini engellemektedir [88]. Bu bulgular geniş kabul görmüş ve p53 tümör baskılayıcı bir gen olarak tanımlanmıştır. Başlangıçta TP53 geni tarafından kodlanan tek ürün olduğu düşünülmüş olsa da, şu anda p53 ailesinin alternatif ayrışma, alternatif promotör kullanımı veya translasyon başlamasından kaynaklanan en az dokuz izoformu mevcuttur. p53 spesifik DNA cevap element sekansları bağlayan, hücre döngüsü kontrolünde (p21, GADD45, WIP1, mdm-2, EGFR, PCNA, Siklin D1, Siklin G, TGFα, ve 14-3-3 s), DNA tamirinde (GADD45, PCNA, ve p21), apoptozda (BAX, Bcl-L, FAS1, FASL, IGF-BP3, PAG608 ve DR5/KILLER ve GML) anjiogenezde (TSP-1, BAI1) ve hücresel stres cevabında (TP53TG1, CSR, ve PIG3) rol oynayan genleri aktive eden bir transkripsiyon faktörüdür [122]. Güncel bulgular, p53 tarafından tetiklenen tümör progresyonunda, sadece hücre döngüsünün durdurulması ve apoptozun değil, senesansın indüksiyonuna bağlı olarak organizma tarafından verilen immun cevapların da rol oynayabileceğini ilginç bir biçimde göstermektedir [173]. Güncel bir çalışmada p53'ün mikroRNA ekspresyonunu [63] regüle edebildiğinin ve Bcl-2 ailesinin üyeleri ile direkt olarak etkileşime girerek sitoplazmadaki otofaji ve apoptozisi tetikleyen nontranskripsiyonel aktiviteye de sahip olduğunun keşfedilmiş olması tümör baskılayıcı rolüne yeni bir kompleks mekanizmanın eklenmesini sağlamıştır [56]. p53 aktivitesi geçiş denetçisi MDM2 tarafından sıkı bir şekilde regüle edilir. MDM2 p53'ün transaktivasyon bölgesine bağlanarak transkripsiyonel aktivitesini bloke ederek [102] ve p53'e ubikutin eklenmesini sağlayarak proteazom için degrade olmasını sağlar [83]. MDM2 p53'ün direkt transkripsiyonel hedefi olduğu için [169], sistem sıkı bir şekilde regüle edilir. MDM4 de MDM2 gibi p53'e bağlanarak degradasyonunda rol oynar [90]. MDM2-p53 döngüsünün ayarlanması antikanser tedavi için ümit verici bir hedeftir.

Onkogen sinyallerin tümör hücrelerindeki anjiogenik programı, HIF1α'yı stabilize ederek [103, 133], VEGF ve diğer proanjiogenik faktörleri de artırarak aktive ettiği tespit edilmiştir [79, 123, 124]. Ancak onkosupresörler hem normal hem de tümör hücrelerindeki anjiogenik programın regülasyonunda rol oynarlar [50, 150]. Anjiogenez birçok kemoterapötikten etkilenen veya kemoterapötiklerin efektörü olan başlıca moleküllerden birisi ve ana regülatör ve kritik tümör supresörü olan p53 tarafından modüle edilir [50, 150]. Multivalan tümör supresörü olan p53'ün tümörlerdeki yolakları sıklıkla inaktive ederek kanseri engelleyici etkiye sahip olduğu gösterilmiştir [109].

p53'e atfedilen birçok fonksiyon arasında tamir ve rekombinasyon üzerinde direkt etki, genom stabilitesinde rol oynayan proteinlerle ilişkisi ve kromatin modifikasyonu

mevcuttur. Ancak en önemli hücresel etkisi transkripsiyon faktörü üzerindedir. p53'ün kontrol ettiği büyük gen ağındaki ana regülatör etkisi, apoptoz, hücre döngüsü regülasyonu, senesans, enerji metabolizması, immun cevap, motilite ve migrasyon ile hücreler arası iletişim gibi çeşitli biyolojik aktivitelerden kaynaklanır [162].

p53'ün anjogenezi çeşitli farklı mekanizmalar yoluyla da suprese ettiğini gösteren kanıtlar giderek artmaktadır: (1) Ektraselüler matrikste bulunan ve kolajen prolil-4-hidroksilazın kolajen aktivitesinden kaynaklanan p53'ün transkripsiyonel hedefi olan antianjiogenik moleküllerin üretimini artırır [151]; (2) VEGF ve bFGF gibi proanjiogenik moleküllerin transkripsiyonunu represe eder [150]; (3) HIF1α degradasyonunu direkt bağlanma ile stimüle eder [126]; (4) miR107 gibi HIF1β'yi modüle eden mikroRNA'ları modüle eder [174]; (5) Tümörlerdeki anjiogenez anahtarını p19ARF ile birlikte inhibe eder[155]. Ayrıca p53 yolağının nongenotoksik aktivatörü olan nutlin-3'ün de endotel hücre migrasyonunu ve tüp formasyonunu inhibe ettiği ancak endotel hücre döngüsü ve apoptoz üzerinde minör etkileri olduğu gösterilmiştir [132]. MDM2-p53 etkileşimini bozan iki ilaç olan nutilinler ve RITA preklinik çalışmalarda önemli antikanser aktivite göstermiştir [70, 157]. Bu etkinin klinikte de test edilmesini umuyoruz.

1.2.2 NF-κB

NF-κB spesifik DNA sekansları bağlayan transkripsiyon faktörüdür [134]. Çok sayıda normal hücresel cevabın kontrolünde (immun ve enflamatuar cevaplar, gelişim, hücresel büyüme ve apoptoz) rol oynar. NF-κB kronik enflamasyon, kalp hastalığı ve kanseri de içeren birçok hastalıkta rol oynar [11, 84].

NF-κB DNA bağlayabilen Rel homoloji alanı (RHD) adı verilen korunan N-terminal bölgesini paylaşan beş farklı proteinin (p50, p52, p65 RelA, RelB, ve c-Rel) hetero- ve homodimerlerinden oluşur. IκB adı verilen inhibitör partner ailesi de mevcuttur [13]. NF-κB birçok hücrede IκB ailesinin yedi üyesinden birine direkt olarak bağlandığı için sitoplazmada tecrit edilmiş halde bulunur. Bu etkileşimin yukarı yönlü regülatörü IκB kinazdır (IKK). İki katalitik alt üniteden (IKKα ve IKKβ) ve bir regülatuar alt üniteden (IKKγ) oluşur. Ektraselüler sinyallarin aktivasyonunu takiben IIK IκB'yi fosforiller. IκB devamında çoklu ubikutin eklenme degradasyon yolağına girerek sitoplazmada tecrit halindeki NF-κB'nin serbestleşmesini sağlar. NF-κB çekirdeğe girince sitokinleri, kemokinleri, immunoreseptörleri, hücre adezyon moleküllerini, hücre yüzey reseptörlerini ve pro- ve antiapoptotik proteinleri kodlayan çok sayıda geni regüle edebilir [53]. Birçok farklı uyarı NF-κB'yi üç farklı yolak ile aktive edebilir. Kanonik yolak proenflamatuar sitokinler ve viral/mikrobik enfeksiyonlar ve IKK aktivasyonu-IκB degradasyonu-p50:ReIa nükleer lokalizasyonu ile tetiklenerek doğal immunitede yer alan genlerin ekspresyonuna ve apoptozun inhibisyonuna yol açar [77, 135]. Nonkanonik yolağında ise, TNF sitokin aile üyeleri tarafından stimüle edildikten sonra prekürsör kompleksi p100:ReIB'nin proseslenmesi ile p52:ReIB oluşur. Bu da adaptif immun cevapta rol oynayan genlerin modülasyonuna ve sekonder lenfoid organ gelişimine yol açar [171]. Atipik olan üçüncü yolak ise IKK aktivasyonuna ihtiyaç duymaz. DNA hasarı (ultraviyole

radyasyon), belir kemoterapötik ilaçlar ve ARF aktivasyonu antiapoptotik genleri aktive etmek yerine p50:ReIA ile represe ederek tümör baskılayıcı fonksiyon yapar [112]. Aktive edici stokinlerin (TNF-a, IL-1b) [51] aşırı üretimleri, ras veya myc gibi onkogenler veya NF-κB kodlayan genlerdeki genetik değişimler [30, 127] birçok malignitedeki NF-κB'nin yapısal ekspresyonunu belirler. NF-κB kanser destekleyici bir faktör olarak apoptozu [140] represe eder, anjiogenezi [24], tümör metastazını [68] ve hücre döngü progresyonunu [67] güçlendirir. NF-κB aracılığındaki kemorezistans apoptozu inhibe edici etkisinden sorumludur. Ancak bazı durumlarda (paklitaksel, doksorubisin) ilaçla indüklenen hücre ölümü için NF-κB gerekir [18, 68]. Araştırmacılar kanser ve enflamasyondaki karmaşık rolü nedeniyle NF-κB yolağını ve sıklıkla natürel bileşiklerden (kurkumin, resveratrol), sentetik ilaçlardan (talidomid) veya biyomoleküler araçlardan (hücre permeabl peptidler, mikroRNA ve tuzak oligodeoksinükleotidler) oluşan regüle edici partnerlerini (Tablo 1) spesifik olarak hedefleyen yeni stratejilerin geliştirilebilmesi için büyük çaba harcamaktadırlar [12, 78, 87].

1.2.3 Sinyal Dönüştürücü ve Transkripsiyon Aktivatörü

Tümör hücreleri tarafından salgılanan sitokinler ve büyüme faktörleri kanser hücrelerindeki ve tümör mikroçevresinin diğer komponentlerindeki yapısal NF-κB aktivasyonunu tetikler [57, 91, 131]. IL-6 ve FGF gibi spesifik faktörler sinyal dönüştürücü ve transkripsiyon aktivatörü 3'ün (STAT3) aktivatörüdür [41, 181]. Memelilerde herbiri farklı bir gende kodlanan yedi STAT proteini mevcut olup, bazılarının farklı alternatif ayrışma izoformları mevcuttur. Orijinal olarak IFN ile indüklenen cevapların [35] araştırılması ile tespit edilen STAT'lar çok farklı olan ve STAT spesifitesine katkı yapan karboksi-terminal transkripsiyonel aktivasyon bölgesi haricinde yapısal ve fonksiyonel olarak korunan alanları paylaşırlar [178]. En yüksek oranda korunan alan olan SH2 alanı sadece STAT'ların homo-heterodimerize edebilme kapasitelerinden değil [137], aynı zamanda spesifik fosfotirozin motiflerine bağlanabilmelerinden de sorumludur. Gerçekten de bu son SH2 özelliği STAT sinyali için vazgeçilmezdir. Sitokin reseptörüne STAT yerleşimini ve aktive edici Janus kinaz (JAK) ile ilişkisini sağlarlar [58] Bilinen yedi STAT proteini içinde, STAT3, STAT5 ve STAT6'nın yapısal aktivasyonunun lösemi, multipl miyelom ve çeşitli solid tümörlerde rol oynadığı bilinmektedir. Bu bulgular, NF-κB sinyal yolağındaki rolleri ile birlikte STAT'ları kanser tedavisi için uygun hedefler haline getirmektedir. STAT3 ilk olarak IL-6'ya cevap veren genlerin transkripsiyonlarında rol oynayan akut faz cevap faktörleri (APRF) olarak tanımlanmıştır [5]. Daha sonra yapılan çalışmalarda STAT3'ün yapısal aktivasyonunun Src gibi onkogenik tirozin kinazlar tarafından transforme edilen hücrelerde gerçekleştiği gösterilmiştir [177, 178]. Yapısal STAT3 aktivasyonunun mekanizması, esas olarak tümördeki enflamatuar ortamda bulunan IL-6'nın, STAT3 fosforilasyonuna yol açan otokrin ve parakrin üretiminden kaynaklanmaktadır. IL-6 ile indüklenen STAT3'ün, devamında ileri beslemeli aktivasyon döngüsü ile IL-6'yı indüklemesi ilginç bir bulgudur. STAT3 aktivasyonu hücreleri apoptozdan korurken, hücre döngüsünün progresyonunu ve metastazı destekler [23]. Çeşitli çalışmalarda

STAT3 ve NF-κB yolakları arasında bağlantılar tanımlanmıştır: STAT3, NF-κB'nin transkripsiyonal hedefleri olan IL-6 [105, 181] ve COX-2 [34] tarafından aktive edilmektedir. Diğer yandan STAT3 normal immun hücrelerdeki NF-κB aktivasyonunu IKK'yı inhibe ederek kontrol etmektedir [166]. Fosrolillenmemiş STAT3, fosforillenmemiş NF-κB'yi bağlayarak çekirdekte akümüle olur ve NF-κB'ye bağımlı genlerin alt kümesini aktive eder [175]. Ayrıca, Lee ve ark. güncel bir çalışmalarında STAT3'ün ReIA ile direkt olarak etkileşerek p300 tarafından asetile edilmesini kolaylaştırıp hem tümör hem de tümör ile ilişkili immun hücrelerdeki NF-κB'nin nükleer retansiyonunu nasıl uzattığı açıklanmaktadır. STAT6'nın önce IL-4 tarafından, devamında da IL-4 ile bir reseptör zinciri paylaşan IL13 tarafından aktive edildiği gösterilmiştir. İnterlökin-4 yardımcı T hücre alt kümelerinin dengelerinin modüle edilmesinde önemli rol oynayarak, Th2 türünün Th1'e göre daha fazla yayılmasını sağlamaktadır. Gerçekten de STAT6 knockout fareler Th2 hücreleri geliştiremezler [148].

2 Kanser Kemoprevensiyonu

2.1 N-asetilsistein

N-asetilsistein (NAC) mikroçevresinin korunmasında ümit vadeden ajanlardan biri [39] olarak görünmektedir (Tablo 1). Vücuttaki en önemli antioksidan olan sistein ve glutatyonun sentetik prekürsörüdür. Glutatyon düzeylerinin artmasına yol açan NAC'ın kendisi de bir antioksidan ilaç olarak kabul edilmekte ve artrit, kanser, kardiyovasküler ve respiratuar hastalıklarda reaktif oksijen türlerinin yol açtığı oksidatif stresi tamponlamakta önemli bir rol oynamaktadır [179]. NAC ilk kez 1960'larda bir mukolitik ilaç olarak [119] kronik obstruktif akciğer hastalığının alevlenmelerine engel olmak amacıyla kullanılmıştır. Daha sonra 1980'lerde hayvan modellerinde yapılan çeşitli deneylerde kanser önleyici potansiyeli ortaya çıkmıştır. NAC'ın karsinojenler aracılığında gerçekleşen oksidatif DNA hasarını önlediği, tümörlerin ve neoplastik lezyonların gelişimini baskıladığı ya da geciktirdiği kemirgenlerde gösterilmiştir [37, 38]. NAC ayrıca HIV1 aracılığında düşük sistein ve glutatyon düzeylerine bağlı olarak oluşan oksidatif stresi takiben oluşan hücresel hasarı engelleyebilir [118].

Son zamanlarda fare epitel hücre dizilerinde DNA eklentilerinin oluşumunu engellediği bildirildiği için meme kanserine karşı korumada uygun bir ilaç olabileceği önerilmiştir [160]. NAC'ın koruyucu rolünün gerçekleşmesinde yer alan moleküler mekanizmalar derinlemesine araştırılmıştır. NF-κB, AP1, MAPK yolaklarını inhibe etmekte, proenflamatuar ve büyüme faktörü sinyalleri ile mücadele etmekte ve kemoterapi ile radyoterapi sonrası görülen hücre hasarını azaltmaktadır [147]. NAC, AKT fosforilasyonunu azalttığı için mikroçevreyi de hedeflemektedir. Anjiogenezi ve tümör metastazlarını deneysel modellerde engellediğinin gösterilmesi antikanser etkilerini destekleyen bulgulardır [6, 94]. İyi bir kemopreventif ilacın birçok özelliğine sahip olmasına rağmen, NAC ile yapılan kli-

nik çalışmalar büyük hayal kırıklığı yaratmıştır: BRONCUS çalışmasında pulmoner hastalıkta bir faydası tespit edilmemiştir [40]; EUROSCAN çalışmasında da boyun, baş veya akciğer kanseri olan hastalarda NAC uygulanması ile herhangi bir fayda tespit edilmemiştir [156]. Ayrıca kardiyovasküler, karaciğer ve böbrek hastalıklarındaki etkisine işaret edebilecek güçlü klinik kanıtlar da mevcut değildir [3]. Deneysel çalışmalarda NAC'ın Cu II varlığında DNA hasarına yol açarak muhtemel karsinojenik etki gösterebilme ihtimali de (diğer antioksidanlar ile benzer şekilde) gösterilmiştir [108].

2.2 Fenrenitid

N-(4-hidroksifenil)retinamid (4HPR) olarak da bilinen fenrenitid kanser kemoprevensiyonunda en sık kullanılan retinoid asit analoğudur. Retinoik asit reseptörünün intraselüler reseptörünün steroid/tiroid hormon üst ailesine ait olduğu biliniyor olsa da, analoğu aktivitesini tümör hücrelerindeki çeşitli yolakları etkileyerek gösterir. 4HPR hepatoselüler karsinom, akciğer, baş, boyun kanseri ve çeşitli ovaryum hücre dizilerinde RARβ bağlayarak kaspaz 3'ü aktive ederek apoptozu indükler [19, 129]. RARβ normal hücre büyüme ve regülasyonunda rol oynayan üç retinoid asit reseptöründen (RAR) birisidir. Fenretinid apoptozu kaspazdan bağımsız olarak redoks dengesini bozarak, reaktif oksijen türlerinin üretimini ve sitokrom c salınımını tetikleyerek de indükleyebilir. Ayrıca seramid/sfingomiyelin aracılığındaki yolakları da aktive eder [159]. Bu etki mekanizmaları miyeloid lösemi hücrelerinde [72], prostat kanseri hücrelerinde [55], insan pankreas hücrelerinde [98], nöroblastom [33], retinoblastom [154, 159] ve karaciğer kanseri hücrelerinde aktiftir [176].

Fenretinid tümör mikroçevresinin anjiogenik komponentini de etkiler (Tablo 1). Direkt olarak endotel fonksiyonunu bozar, çeşitli büyüme faktörlerinin ve sitokinlerin üretim, salınım ve aktivasyonunu etkiler. Pienta ve ark. onbeş yıl önce 4HPR'nin prostat kanser modelinde endotel hücre motilitesini inhibe ettiğini, kapiler benzeri yapılar oluşturabildiğini ve neovaskülarizasyona yol açabildiğini gösterdiler [115]. Biz de daha sonra 4HPR'nin retinoblastom ve Kaposi sarkomu modellerindeki tümör anjiogenezini azalttığını gösterdik [45, 154]. Fehretinid ayrıca IGF1/IGF1 reseptörü, TGFβ ve NF-κB gibi diğer yolakları hedefleyen hücrelerin yaşama yeteneklerini de etkiler [138].

Çeşitli klinik çalışmalarda fenretinidin hem kemopreventif hem de kemoterapötik etkinliği araştırılmıştır. En büyük faz III klinik çalışma İstituto Nazionale dei Tumori of Milan koordinatörlüğünde 1987 yılında başlatılan ve evre I meme kanseri olan hastalardaki tümör insidansı üzerinde fenrenitinidin etkilerini araştıran çok merkezli, randomize, kemoprevensiyon çalışmasıdır. Bu çalışmanın sonuçları fenretinidinin premenopozal kadınlarda kemopreventif etkisi olduğunu göstermiştir. Ancak postmenopozal kadınlarda paradoksik şekilde karşıt etkileri olduğu görülmektedir. Şu anda serviks, mesane ve ovaryum kanserinde fenretinidin kemoprevensiyon özelliğini araştıran klinik çalışmalar sürmektedir. Diğer çalışmalar 4HPR'nin baş ve boyun kanseri, lenfoma, nöroblastom, böbrek kanseri, gliom, küçük hücreli akciğer kanseri ve prostat kanseri hastalarında kemoterapötik ilaç olarak etkinliğini araştırmayı amaçlamaktadır.

3 Tümör Mikroçevresini Hedefleyen Tedaviler

Konvansiyonel kanser tedavisinde tümör hücresinin kendisini hedefleyen tedavilere alternatif veya ek olarak tümör mikroçevresinin hedeflenmesinin ümit verici olduğu açıktır. Bu teori tümör mikroçevresinin kansere yol açan tek neden olduğunu öneren bulgularla desteklenmektedir [163, 164]. Ayrıca tümör mikroçevresinin çeşitli kemoprevensiyon ajanları tarafından hızlıca ve efektif olarak hedeflenebilmesi ile tümörün agresifliği engellenebilmekte ya da geciktirilebilmektedir.

Solid tümörlerin klinik olarak sessiz olan küçük hücre grubu durumundan, onkoloji hastalarının çoğunun ölüm nedeni olan metastaz yapabilecek hale gelebilmesi için anjiogenez şarttır. Bu gerçek araştırmacıların ve endüstrinin efektif antianjiogenik tedaviler geliştirmek için sarf ettikleri büyük enerjinin nedenidir. Folkman 1971 yılında anjiogenezin karsinogenezdeki rolünü öngörmüştür [46]. Tümör hücreleri genetik ve çevresel değişimleri takiben proanjiogenik büyüme faktörlerini (örn. VEGF) salgılayarak tümör damar ağı formasyonuna neden olan "anjiogenik anahtarı" aktive ederler. Bu anjiogenik fenotipin oluşumunda rol oynayan tüm yolaklar ve moleküler oyuncular antianjiogenik terapi için iyi birer adaydır. Çalışmaların çoğu VEGF/VEGFR yolağına odaklanmıştır. Bevakizumab VEGF (VEGF-A) izoformlarını inhibe ederek reseptörlerine bağlanmasını engelleyen hümanize monoklonal antikordur. FDA tarafından kolorektal kanser tedavisinde kemoterapi rejimi ile kombinasyon halinde kullanım için onaylı ilk antianjiogenik ilaçtır. Bevakizumab, muhtemelen tümör damarları üzerindeki "normalizasyon" etkisi nedeniyle, hemen her zaman sadece kemoterapi ile kombine olarak kullanıldığında etkilidir. Bu dengesiz ve düzensiz tümör damar düzeninin "tamiri" sızıntıları azaltarak interstisyel basıncı düşürür. Böylece ilaçların daha iyi dağılmasını ve etkinlik göstermelerini sağlar [71, 80, 99].

Aflibersept (VEGF-Tuzağı) VEGFR-1 ve VEGFR-2'nin ekstraselüler bölgelerinin IgG'nin Fc fragmanı ile birlikte füzyonu sonucunda elde edilen bir moleküldür. Füzyon proteinlerinin preklinik çalışmalarda, VEGF ve PIGF'nin hücresel reseptörlerine bağlanmalarını inhibe ederek anjiogenezi ve tümör büyümesini bloke ettikleri tespit edilmiştir. Akut myeloid lösemi, glioblastom, karsinom, metastatik pankreas kanseri, küçük hücreli akciğer kanseri ile diğer bazı kanser türlerinde yapılmakta olan güncel klinik çalışmalarda değerlendirilmektedir [64].

Yoğun olarak araştırılan bir başka bileşik sınıfı da RTK inhbitörleri olarak da bilinen tirozin kinazların reseptörlerini hedefleyen TKİ'lerdir. Bazı reseptörler hem endotel hem de kanser hücreleri tarafından eksprese edildikleri için, bu moleküller her iki hücre tipinde de etkili olabilirler. Bu sınıfa ait olan ilk bileşik olan semaksanib ilk olarak 5-florourasil ile kombinasyon halinde test edilmiştir. Ancak çalışma hayal kırıklığı yaratan sonuçları ve yüksek toksisite nedeniyle durdurulmuştur [130]. Küçük bir oral molekül olan ve VEGFR, PDGFR, c-kit, RET ve koloni stimüle edici faktör (CSF)-1R'yi hedefleyen sunitinib tedavisi ile metastatik renal hücreli karsinom (RCC) hastalarında yapılan klinik çalışmada ümit verici sonuçlar alınması sonrası metastatik renal hücreli karsinom ve gastrointestinal stromal tümör tedavisinde FDA onayı al-

mıştır [28]. Aynı bileşik grubuna ait olan sorafenib de VEGFR, PDGFR-β ve c-kit'i inhibe eder. Bu molekül çeşitli tümör hücre dizilerinde Raf kinazları ve ERK1/1 MAPK sinyalini de hedefler. Metastastik RCC ve rezeke edilemeyen hepatoselüler karsinom tedavisinde onaylıdır [167].

EGFR/HER1 inhibitörü olan erlotinibin antikanser aktivitesini VEGF'yi de içeren büyüme faktörlerinin ekspresyonunu represe ederek gösterdiği düşünülmektedir. Pankreas kanserinin tedavisinde gemsitabin ile kombine halde ve küçük hücreli olmayan akciğer kanserinin (NSCLC) tedavisinde onaylıdır [120]. PDGFR ve Bcr/Abl inhibitörü olan imatinib kronik miyeloid lösemi tedavisinde kullanılır. İn vitro anjiogenetik etkileri de olan imatinib endotel hücrelerini ve perisitleri PDGFR ile etkileşimi sayesinde etkiler. Perisitlerin hedeflenmesi damar ağını etkilemek için geçerli bir yaklaşımdır. Ancak bu yaklaşım dezavantajı sızdıran damarların metastaza neden olma ihtimalidir. Bu potansiyel yan etkilerden kaçınabilmek için iyi dizayn edilmiş bir tedavi gereklidir [144].

Uzun süreli anti-VEGF tedavinin faydaları yanında kardiyovasküler komplikasyonlar ve direnç kazanımı gibi yan etkileri de vardır. Kardiyovasküler yan etkiler bu bileşiklerin hem tümör hem de tümörle ilişkili olmayan endotel hücrelerinde etki gösteriyor olmalarından kaynaklanır. Tümörle ilişkisiz endotel hücrelerinde etki göstermeleri anjiogenez sinyallerinin çokluğundan kaynaklanır. Bu dezavantajların üstesinde gelebilmek için çok hedefli bir yaklaşım gerekir.

İnter- ve intraselüler iletişimlerin altında yatan kompleks ağ nedeniyle, sinyal yolaklarını hedeflemek üzere geliştirilen birçok bileşik aynı zamanda anjiogenezi de etkilemektedir. EGFR'yi hedefleyen monoklonal antikor olan setuksimab metastatik kolorektal kanserdeki proanjiogenik sitokin ekspresyonunu represe eder [82].

PI3K ailesinin iki inhibitörü olan LY294002 ve wortmannin yüksek toksisiteleri nedeniyle klinik kullanıma girememiştir [145]. AKT/mTOR yolağı perifozin (bir alkilfosfolipid), rapamisin ve analogları (temsirolimus ve everolimus) tarafından hedeflenir; bu bileşikler renal hücreli karsinom tedavisinde etkilidir [69]. Sinyal ağındaki bir diğer merkezde hipoksi ile indüklenebilir faktör HIF'dır. HIF, DNA'ya bağlanmasını (Ekinomisin) [81] ve p300 (Ketomin) [143] veya HSP90 (Geldanamisin) [95] gibi kofaktörlerle etkileşimini engelleyerek, transkripsiyonel aktivitesinin inhibe eden [180] multipl bileşikler tarafından hedeflenir. HIF'ı hedeflemenin diğer yöntemleri ekspresyonunu ve akümülasyonunu (2-Metoksiöstradiol) tioredoksinlerin inhibisyonu (PX-12) ile engellemektir. Geldanamisin, 2-Metoksiöstradiol ve PX-12 ile ilgili süren çalışmalarda bazı ön sonuçlar alınmıştır [29].

Çeşitli epidemiyolojik çalışmalarda antienflamatuar ilaçlarla (NSAİD) ve diğer COX-2 inhibitörleri ile uzun süre tedavi edilen hastalardaki kolon, meme ve gastrik kanserlerin insidansları daha düşük bulunmuştur [10]. COX-2 adenokarsinom, over ve kolon kanseri gibi farklı kanser türleri olan hastalarda kötü prognoz ile koreledir. COX-2 inhibitörü selekoksibin (Celebrex) prostat, baş ve boyun, küçük hücreli akciğer kanserleri gibi çeşitli kanserlerin tedavisinde kullanıldığı klinik çalışmalar sürmektedir [52].

En önemli proenflamatuar moleküllerden biri TNFα'dır. TNFα, tümörlerin büyüme ve yayılımları için gerekli olan NF-κB yolağını ve dokuların yeniden yapılanmasını aktive eder. TNFα aktivitesine engel olmak için çözünür TNF reseptörü, etanersept, TNF'e karşı kimerik bir monoklonal antikor, infliksimab ve pegile hümanize anti-TNFα parçası, CDP870 gibi çeşitli yaklaşımlar kullanılmıştır [1]. Bu inhibitörler günümüzde başta romatoid artrit olmak üzere çeşitli kronik enflamatuar hastalıkların tedavisinde klinikte kullanılmaktadır. TNFα inhibitörlerini anti-neoplastik tedavide kullanımlarını araştıran çeşitli klinik çalışmalar sürmektedir. Ancak şu ana kadar etkinliklerini gösteren net bir kanıt bulunmamıştır (http://clinicaltrials.gov/).

Tanımlanan moleküler yolaklara ek olarak, tümör mikroçevresini oluşturan enflamatuar hücreler de kanser tedavisinde uygun hedefler olabilir. Yukarıda bahsedildiği üzere, TAM'lar kanser ile ilişkili enflamasyonda çok önemli rol oynarlar; çoğunlukla CSF-1 ve CCL-2 tarafından alınırlar. TAM infiltrasyonunu inhibe etmenin muhtemel bir yolu CSF-1/CFS-1 reseptörünü (CSF-1R) veya CCL2/CCL2 reseptör (CCR2) eksenini hedeflemektir. RTK inhibitörü olan sunitinib in vitro deneylerde CSF-1R'yi bloke edebilmektedir [25]. CCR2 inhibitörleri çeşitli ilaç firmaları tarafından araştırılmaktadır. Merck'in son zamanlarda geliştirdiği MK0812 tedavisi ataklar ve remisyonlarla karakterize multipl sklerozda ve romatoid artritte sürmekte olan faz II klinik çalışma ile araştırılmaktadır [168] (http://clinicaltrials.gov/).

TAM'lar yerleşimlerini takiben, karsinojenezi destekleyen çok miktarda proanjiogenik ve protümörijenik faktörler salgılarlar. Bu nedenle diğer stratejiler aktive TAM'ları hedeflerler. Kemik metastazları ile ilgili iskelet problemlerini azalttığı bilinen zoledronik asidin, TAM'lara yönelik miyeloid farklılaşmayı bozarak ve TAM'ların MMP9 salgılamalarını azaltarak da etki gösterdiği güncel çalışmalarda gösterilmiştir [158]. Ayrıca CAF'lar da güncel bir tedavi hedefidir. CAF'lar, endotel hücre prekürsorlarını (EPC) kendilerine çekerek anjiogenezi destekleyen CXCR4 ligandı olan SDF-1 üretirler. CXCR4 inhibitörü olarak geliştirilen AMD3100'ün akut myeloid lösemi, lenfoma, relaps/refrakter multipl miyelom ve diğer malignitelerin tedavisinde kullanımını araştıran klinik çalışmalar sürmektedir [36].

Tümör mikroçevresinin hedeflenmesinin avantajı, (en azından teorik olarak) nontümör hücre popülasyonlarının genetik olarak stabil olmaları nedeniyle kazanılmış ilaç rezistansına yol açan mutasyonların akümülasyonuna daha az eğilimli olmalarıdır. Ancak bu varsayım tam olarak doğru değildir. Örneğin endotel hücrelerinin tümör hücrelerinden kaynaklanabileceği ve tümörle ilişkili endotel hücrelerinde genetik dş.lerin bazı vakalarda görüldüğü güncel deneyler ile gösterilmiştir [4, 93, 113, 146].

4 Sonuçlar

Sonuç olarak etkili bir tümör tedavisi sadece tümör hücresini değil bütün hücresel oyuncuları hedef almalıdır: Bu komplike proseste rol oynayan endotel hücreleri, perisitler, immun hücreler ve fibroblastlar hedeflenmelidir. Bu hedefe ulaşmak için çok sayıda

adım atılmıştır. Ancak kanseri ve karsinogenez prosesini etkili bir şekilde hedefleyebilmek için çok daha fazlasına ihtiyaç vardır. Çok miktarda deneysel veriler, klinik ve preklinik gözlemler göz önüne alındığında kanseri yok edebilmek için tümör hücrelerinin hedeflenmesinin yeterli olmadığı açıktır. Çeşitli terapötik protokollerde bevakizumab, sunitib ve sorafenib gibi antianjiogenik ilaçlar yer almaktadır. Tümör mikroçevresine uyarlanmış antienflamatuar ilaçlar da mevcuttur. Tedaviler bu çok hedefli yaklaşımlara rağmen sıklıkla başarısız olmaktadır. Bu durum kısmen hastalığın ileri evrede teşhis ve tedavi edilmesine bağladır. Bu nedenle tümörlerin henüz klinik olarak teşhis edilemedikleri başlangıç evrelerinde kanser kemoprevensiyonu yoluyla hedeflenmeleri ilginç bir alternatif stratejidir. Bu yaklaşımın başlıca özelliklerinden biri tümör mikroçevresinin hedeflenmesidir. Hatta tümör mikroçevresinin oluşmadan önce engellenerek tümör büyüme ve progresyonunun durdurulması en ideal yaklaşımdır.

Bu yaklaşımın altında yatan bilimsel mantığın bazı yönleri ile tümör, tümör mikroçevresi ve ilaçlar arasındaki etkileşimlerin gerçekleştiği biyolojik senaryoyu tanımladık. Karsinogenezin tüm evreleri, preneoplastik hücrelerdeki genetik mutasyonlar, mikroçevresinin moleküler sinyalleri ve tümör homeostazı ilaçların olası hedefleridir. Bu bölümde hem preklinik hem de klinik çalışmalarda kanser kemoprevensiyonunda kullanımları araştırılmakta olan en fazla ümit vadeden bileşiklerle ilgili güncel bilgilerden bahsettik. Bazıları çelişkili olsa da genel olarak ümit verici olan çalışma sonuçlarında, tümör mikroçevresinin önemi vurgulanmakta ve kemopreventif yaklaşımların kanserin ve progresyonunun önlenmesinde geçerli stratejiler haline gelebileceği bildirilmektedir.

Teşekkürler Bu çalışmalara maddi destke veren kurumlar: AIRC (Associazione Italiana per la Ricerca sul Cancro), Ministero della Salute, ISS (Istituto Superiore della Sanità). AB, FIRC (Fondazione Italiana per la Ricerca sul Cancro) asistanıdır. AP, "Caterina Forni" AIRC bursu almıştır. Veri yönetimi için Dr Paola Corradino'ya (Multimedica IRCCS) teşekkür ediyoruz.

Referanslar

1. Aaltonen KJ, Virkki LM, Malmivaara A, Konttinen YT, Nordstrom DC, Blom M (2012) Systematic review and meta-analysis of the efficacy and safety of existing TNF blocking agents in treatment of rheumatoid arthritis. PLoS One 7:e30275
2. Aggarwal BB, Vijayalekshmi RV, Sung B (2009) Targeting inflammatory pathways for prevention and therapy of cancer: short-term friend, long-term foe. Clin Cancer Res 15:425–430
3. Aitio ML (2006) N-acetylcysteine—passe-partout or much ado about nothing? Br J Clin Pharmacol 61:5–15
4. Akino T, Hida K, Hida Y, Tsuchiya K, Freedman D, Muraki C, Ohga N, Matsuda K, Akiyama K, Harabayashi T, Shinohara N, Nonomura K, Klagsbrun M, Shindoh M (2009) Cytogenetic abnormalities of tumor-associated endothelial cells in human malignant tumors. Am J Pathol 175:2657–2667
5. Akira S, Nishio Y, Inoue M, Wang XJ, Wei S, Matsusaka T, Yoshida K, Sudo T, Naruto M, Kishimoto T (1994) Molecular cloning of APRF, a novel IFN-stimulated gene factor 3 p91-

related transcription factor involved in the gp130-mediated signaling pathway. Cell 77:63–71
6. Albini A, Morini M, D'Agostini F, Ferrari N, Campelli F, Arena G, Noonan DM, Pesce C, De Flora S (2001) Inhibition of angiogenesis-driven Kaposi's sarcoma tumor growth in nude mice by oral N-acetylcysteine. Cancer Res 61:8171–8178
7. Albini A, Noonan DM (2012) Angiopoietin2 and tie2: tied to lymphangiogenesis and lung metastasis. New perspectives in antimetastatic antiangiogenic therapy. J Natl Cancer Inst 104:429–431
8. Albini A, Sporn MB (2007) The tumour microenvironment as a target for chemoprevention. Nat Rev Cancer 7:139–147
9. Albini A, Tosetti F, Benelli R, Noonan DM (2005) Tumor inflammatory angiogenesis and its chemoprevention. Cancer Res 65:10637–10641
10. Albini A, Tosetti F, Li VW, Noonan DM, Li WW (2012) Cancer prevention by targeting angiogenesis. Nat Rev Clin Oncol 9:498–509
11. Aradhya S, Nelson DL (2001) NF-kappaB signaling and human disease. Curr Opin Genet Dev 11:300–306
12. Aravindaram K, Yang NS (2010) Anti-inflammatory plant natural products for cancer therapy. Planta Med 76:1103–1117
13. Baldwin AS Jr (1996) The NF-kappa B and I kappa B proteins: new discoveries and insights. Annu Rev Immunol 14:649–683
14. Balkwill F, Mantovani A (2001) Inflammation and cancer: back to Virchow? Lancet 357:539–545
15. Bello IO, Vered M, Dayan D, Dobriyan A, Yahalom R, Alanen K, Nieminen P, Kantola S, Laara E, Salo T (2011) Cancer-associated fibroblasts, a parameter of the tumor microenvironment, overcomes carcinoma-associated parameters in the prognosis of patients with mobile tongue cancer. Oral Oncol 47:33–38
16. Benelli R, Morini M, Carrozzino F, Ferrari N, Minghelli S, Santi L, Cassatella M, Noonan DM, Albini A (2002) Neutrophils as a key cellular target for angiostatin: implications for regulation of angiogenesis and inflammation. FASEB J 16:267–269
17. Bergers G, Song S, Meyer-Morse N, Bergsland E, Hanahan D (2003) Benefits of targeting both pericytes and endothelial cells in the tumor vasculature with kinase inhibitors. J Clin Invest 111:1287–1295
18. Bian X, McAllister-Lucas LM, Shao F, Schumacher KR, Feng Z, Porter AG, Castle VP, Opipari AW Jr (2001) NF-kappa B activation mediates doxorubicin-induced cell death in N-type neuroblastoma cells. J Biol Chem 276:48921–48929
19. Bu P, Wan YJ (2007) Fenretinide-induced apoptosis of Huh-7 hepatocellular carcinoma is retinoic acid receptor beta dependent. BMC Cancer 7:236
20. Campbell MJ, Tonlaar NY, Garwood ER, Huo D, Moore DH, Khramtsov AI, Au A, Baehner F, Chen Y, Malaka DO, Lin A, Adeyanju OO, Li S, Gong C, McGrath M, Olopade OI, Esserman LJ (2011) Proliferating macrophages associated with high grade, hormone receptor negative breast cancer and poor clinical outcome. Breast Cancer Res Treat 128:703–711
21. Carmeliet P (2003) Angiogenesis in health and disease. Nat Med 9:653–660
22. Carmeliet P, Jain RK (2000) Angiogenesis in cancer and other diseases. Nature 407:249–257
23. Chan KS, Sano S, Kiguchi K, Anders J, Komazawa N, Takeda J, DiGiovanni J (2004) Disruption of Stat3 reveals a critical role in both the initiation and the promotion stages of epithelial carcinogenesis. J Clin Invest 114:720–728
24. Chilov D, Kukk E, Taira S, Jeltsch M, Kaukonen J, Palotie A, Joukov V, Alitalo K (1997) Genomic organization of human and mouse genes for vascular endothelial growth factor C. J Biol Chem 272:25176–25183
25. Chow LQ, Eckhardt SG (2007) Sunitinib: from rational design to clinical efficacy. J Clin Oncol 25:884–896

26. Chung AS, Lee J, Ferrara N (2010) Targeting the tumour vasculature: insights from physiological angiogenesis. Nat Rev Cancer 10:505–514
27. Coffelt SB, Hughes R, Lewis CE (2009) Tumor-associated macrophages: effectors of angiogenesis and tumor progression. Biochim Biophys Acta 1796:11–18
28. Colotta F, Allavena P, Sica A, Garlanda C, Mantovani A (2009) Cancer-related inflammation, the seventh hallmark of cancer: links to genetic instability. Carcinogenesis 30:1073–1081
29. Cook KM, Figg WD (2010) Angiogenesis inhibitors: current strategies and future prospects. CA Cancer J Clin 60:222–243
30. Courtois G, Smahi A (2006) NF-kappaB-related genetic diseases. Cell Death Differ 13:843–851
31. Coussens LM, Werb Z (2002) Inflammation and cancer. Nature 420:860–867
32. Crawford LV, Pim DC, Gurney EG, Goodfellow P, Taylor-Papadimitriou J (1981) Detection of a common feature in several human tumor cell lines–a 53,000-dalton protein. Proc Natl Acad Sci USA 78:41–45
33. Cuperus R, Leen R, Tytgat GA, Caron HN, van Kuilenburg AB (2010) Fenretinide induces mitochondrial ROS and inhibits the mitochondrial respiratory chain in neuroblastoma. Cell Mol Life Sci 67:807–816
34. Dalwadi H, Krysan K, Heuze-Vourc'h N, Dohadwala M, Elashoff D, Sharma S, Cacalano N, Lichtenstein A, Dubinett S (2005) Cyclooxygenase-2-dependent activation of signal transducer and activator of transcription 3 by interleukin-6 in non-small cell lung cancer. Clin Cancer Res 11:7674–7682
35. Darnell JE Jr, Kerr IM, Stark GR (1994) Jak-STAT pathways and transcriptional activation in response to IFNs and other extracellular signaling proteins. Science 264:1415–1421
36. De Clercq E (2010) Recent advances on the use of the CXCR4 antagonist plerixafor (AMD3100, Mozobil) and potential of other CXCR4 antagonists as stem cell mobilizers. Pharmacol Ther 128:509–518
37. De Flora S, Bennicelli C, Zanacchi P, Camoirano A, Morelli A, De Flora A (1984) In vitro effects of N-acetylcysteine on the mutagenicity of direct-acting compounds and procarcinogens. Carcinogenesis 5:505–510
38. De Flora S, D'Agostini F, Izzotti A, Balansky R (1991) Prevention by N-acetylcysteine of benzo[a]pyrene clastogenicity and DNA adducts in rats. Mutat Res 250:87–93
39. De Flora S, Izzotti A, D'Agostini F, Balansky RM (2001) Mechanisms of N-acetylcysteine in the prevention of DNA damage and cancer, with special reference to smoking-related end-points. Carcinogenesis 22:999–1013
40. Decramer M, Rutten-van Molken M, Dekhuijzen PN, Troosters T, van Herwaarden C, Pellegrino R, van Schayck CP, Olivieri D, Del Donno M, De Backer W, Lankhorst I, Ardia A (2005) Effects of N-acetylcysteine on outcomes in chronic obstructive pulmonary disease (Bronchitis Randomized on NAC Cost-Utility Study, BRONCUS): a randomised placebo-controlled trial. Lancet 365:1552–1560
41. Deo DD, Axelrad TW, Robert EG, Marcheselli V, Bazan NG, Hunt JD (2002) Phosphorylation of STAT-3 in response to basic fibroblast growth factor occurs through a mechanism involving platelet-activating factor, JAK-2, and Src in human umbilical vein endothelial cells. Evidence for a dual kinase mechanism. J Biol Chem 277:21237–21245
42. Duignan IJ, Corcoran E, Pennello A, Plym MJ, Amatulli M, Claros N, Iacolina M, Youssoufian H, Witte L, Samakoglu S, Schwartz J, Surguladze D, Tonra JR (2011) Pleiotropic stromal effects of vascular endothelial growth factor receptor 2 antibody therapy in renal cell carcinoma models. Neoplasia 13:49–59
43. Ebos JM, Lee CR, Cruz-Munoz W, Bjarnason GA, Christensen JG, Kerbel RS (2009) Accelerated metastasis after short-term treatment with a potent inhibitor of tumor angiogenesis. Cancer Cell 15:232–239
44. Egeblad M, Nakasone ES, Werb Z (2010) Tumors as organs: complex tissues that interface with the entire organism. Dev Cell 18:884–901

45. Ferrari N, Morini M, Pfeffer U, Minghelli S, Noonan DM, Albini A (2003) Inhibition of Kaposi's sarcoma in vivo by fenretinide. Clin Cancer Res 9:6020–6029
46. Folkman J (1971) Tumor angiogenesis: therapeutic implications. N Engl J Med 285:1182–1186
47. Folkman J (2002) Role of angiogenesis in tumor growth and metastasis. Semin Oncol 29:15–18
48. Fridlender ZG, Albelda SM (2012) Tumor-associated neutrophils: friend or foe? Carcinogenesis
49. Fridlender ZG, Sun J, Kim S, Kapoor V, Cheng G, Ling L, Worthen GS, Albelda SM (2009) Polarization of tumor-associated neutrophil phenotype by TGF-beta: "N1" versus "N2" TAN. Cancer Cell 16:183–194
50. Gabellini C, Del Bufalo D, Zupi G (2006) Involvement of RB gene family in tumor angiogenesis. Oncogene 25:5326–5332
51. Garg AK, Aggarwal BB (2002) Reactive oxygen intermediates in TNF signaling. Mol Immunol 39:509–517
52. Ghosh N, Chaki R, Mandal V, Mandal SC (2010) COX-2 as a target for cancer chemotherapy. Pharmacol Rep 62:233–244
53. Ghosh S, Karin M (2002) Missing pieces in the NF-kappaB puzzle. Cell 109(Suppl):S81–S96
54. Goh PP, Sze DM, Roufogalis BD (2007) Molecular and cellular regulators of cancer angiogenesis. Curr Cancer Drug Targets 7:743–758
55. Gouaze-Andersson V, Flowers M, Karimi R, Fabrias G, Delgado A, Casas J, Cabot MC (2011) Inhibition of acid ceramidase by a 2-substituted aminoethanol amide synergistically sensitizes prostate cancer cells to N-(4-hydroxyphenyl) retinamide. Prostate 71:1064–1073
56. Green DR, Kroemer G (2009) Cytoplasmic functions of the tumour suppressor p53. Nature 458:1127–1130
57. Greten FR, Karin M (2004) The IKK/NF-kappaB activation pathway-a target for prevention and treatment of cancer. Cancer Lett 206:193–199
58. Gupta S, Yan H, Wong LH, Ralph S, Krolewski J, Schindler C (1996) The SH2 domains of Stat1 and Stat2 mediate multiple interactions in the transduction of IFN-alpha signals. EMBO J 15:1075–1084
59. Hanahan D, Folkman J (1996) Patterns and emerging mechanisms of the angiogenic switch during tumorigenesis. Cell 86:353–364
60. Hanahan D, Weinberg RA (2011) Hallmarks of cancer: the next generation. Cell 144:646–674
61. Harris CC (1993) p53: at the crossroads of molecular carcinogenesis and risk assessment. Science 262:1980–1981
62. Harris CC, Hollstein M (1993) Clinical implications of the p53 tumor-suppressor gene. N Engl J Med 329:1318–1327
63. Hermeking H (2007) p53 enters the microRNA world. Cancer Cell 12:414–418
64. Holash J, Davis S, Papadopoulos N, Croll SD, Ho L, Russell M, Boland P, Leidich R, Hylton D, Burova E, Ioffe E, Huang T, Radziejewski C, Bailey K, Fandl JP, Daly T, Wiegand SJ, Yancopoulos GD, Rudge JS (2002) VEGF-Trap: a VEGF blocker with potent antitumor effects. Proc Natl Acad Sci USA 99:11393–11398
65. Hou J, Schindler U, Henzel WJ, Ho TC, Brasseur M, McKnight SL (1994) An interleukin-4-induced transcription factor: IL-4 Stat. Science 265:1701–1706
66. Hristov M, Erl W, Weber PC (2003) Endothelial progenitor cells: mobilization, differentiation, and homing. Arterioscler Thromb Vasc Biol 23:1185–1189
67. Hsia CY, Cheng S, Owyang AM, Dowdy SF, Liou HC (2002) c-Rel regulation of the cell cycle in primary mouse B lymphocytes. Int Immunol 14:905–916
68. Huang S, DeGuzman A, Bucana CD, Fidler IJ (2000) Nuclear factor-kappaB activity correlates with growth, angiogenesis, and metastasis of human melanoma cells in nude mice. Clin Cancer Res 6:2573–2581

69. Hudes GR (2009) Targeting mTOR in renal cell carcinoma. Cancer 115:2313–2320
70. Issaeva N, Bozko P, Enge M, Protopopova M, Verhoef LG, Masucci M, Pramanik A, Selivanova G (2004) Small molecule RITA binds to p53, blocks p53-HDM-2 interaction and activates p53 function in tumors. Nat Med 10:1321–1328
71. Jain RK (2002) Tumor angiogenesis and accessibility: role of vascular endothelial growth factor. Semin Oncol 29:3–9
72. Jiang L, Pan X, Chen Y, Wang K, Du Y, Zhang J (2011) Preferential involvement of both ROS and ceramide in fenretinide-induced apoptosis of HL60 rather than NB4 and U937 cells. Biochem Biophys Res Commun 405:314–318
73. Kaipainen A, Kieran MW, Huang S, Butterfield C, Bielenberg D, Mostoslavsky G, Mulligan R, Folkman J, Panigrahy D (2007) PPARalpha deficiency in inflammatory cells suppresses tumor growth. PLoS One 2:e260
74. Kalluri R (2009) EMT: when epithelial cells decide to become mesenchymal-like cells. J Clin Invest 119:1417–1419
75. Kalluri R, Zeisberg M (2006) Fibroblasts in cancer. Nat Rev Cancer 6:392–401
76. Kamper P, Bendix K, Hamilton-Dutoit S, Honore B, Nyengaard JR, d'Amore F (2011) Tumor-infiltrating macrophages correlate with adverse prognosis and Epstein-Barr virus status in classical Hodgkin's lymphoma. Haematologica 96:269–276
77. Karin M, Lin A (2002) NF-kappaB at the crossroads of life and death. Nat Immunol 3:221–227
78. Kasinski AL, Slack FJ (2010) Potential microRNA therapies targeting Ras, NFkappaB and p53 signaling. Curr Opin Mol Ther 12:147–157
79. Kerbel RS (2008) Tumor angiogenesis. N Engl J Med 358:2039–2049
80. Kim S (1993) Liposomes as carriers of cancer chemotherapy. Current status and future prospects. Drugs 46:618–638
81. Kong D, Park EJ, Stephen AG, Calvani M, Cardellina JH, Monks A, Fisher RJ, Shoemaker RH, Melillo G (2005) Echinomycin, a small-molecule inhibitor of hypoxia-inducible factor-1 DNA-binding activity. Cancer Res 65:9047–9055
82. Ku GY, Haaland BA, de Lima Lopes G (2012) Cetuximab in the first-line treatment of K-ras wild-type metastatic colorectal cancer: the choice and schedule of fluoropyrimidine matters. Cancer Chemother Pharmacol 70:231–238
83. Kubbutat MH, Jones SN, Vousden KH (1997) Regulation of p53 stability by Mdm2. Nature 387:299–303
84. Kumar A, Takada Y, Boriek AM, Aggarwal BB (2004) Nuclear factor-kappaB: its role in health and disease. J Mol Med (Berl) 82:434–448
85. Lane DP, Crawford LV (1979) T antigen is bound to a host protein in SV40-transformed cells. Nature 278:261–263
86. Lee H, Herrmann A, Deng JH, Kujawski M, Niu G, Li Z, Forman S, Jove R, Pardoll DM, Yu H (2009) Persistently activated Stat3 maintains constitutive NF-kappaB activity in tumors. Cancer Cell 15:283–293
87. Leen AM, Christin A, Khalil M, Weiss H, Gee AP, Brenner MK, Heslop HE, Rooney CM, Bollard CM (2008) Identification of hexon-specific CD4 and CD8 T-cell epitopes for vaccine and immunotherapy. J Virol 82:546–554
88. Levine AJ (1989) The p53 tumor suppressor gene and gene product. Princess Takamatsu Symp 20:221–230
89. Lewis CE, Pollard JW (2006) Distinct role of macrophages in different tumor microenvironments. Cancer Res 66:605–612
90. Linares LK, Hengstermann A, Ciechanover A, Muller S, Scheffner M (2003) HdmX stimulates Hdm2-mediated ubiquitination and degradation of p53. Proc Natl Acad Sci USA 100:12009–12014
91. Lu T, Sathe SS, Swiatkowski SM, Hampole CV, Stark GR (2004) Secretion of cytokines and growth factors as a general cause of constitutive NFkappaB activation in cancer. Oncogene 23:2138–2145

92. Lu-Emerson C, Norden AD, Drappatz J, Quant EC, Beroukhim R, Ciampa AS, Doherty LM, Lafrankie DC, Ruland S, Wen PY (2011) Retrospective study of dasatinib for recurrent glioblastoma after bevacizumab failure. J Neurooncol 104:287–291
93. Lyden D, Hattori K, Dias S, Costa C, Blaikie P, Butros L, Chadburn A, Heissig B, Marks W, Witte L, Wu Y, Hicklin D, Zhu Z, Hackett NR, Crystal RG, Moore MA, Hajjar KA, Manova K, Benezra R, Rafii S (2001) Impaired recruitment of bone-marrow-derived endothelial and hematopoietic precursor cells blocks tumor angiogenesis and growth. Nat Med 7:1194–1201
94. Ma WW, Adjei AA (2009) Novel agents on the horizon for cancer therapy. CA Cancer J Clin 59:111–137
95. Mabjeesh NJ, Post DE, Willard MT, Kaur B, Van Meir EG, Simons JW, Zhong H (2002) Geldanamycin induces degradation of hypoxia-inducible factor 1alpha protein via the proteosome pathway in prostate cancer cells. Cancer Res 62:2478–2482
96. Mantovani A, Cassatella MA, Costantini C, Jaillon S (2011) Neutrophils in the activation and regulation of innate and adaptive immunity. Nat Rev Immunol 11:519–531
97. Mercer WE, Avignolo C, Baserga R (1984) Role of the p53 protein in cell proliferation as studied by microinjection of monoclonal antibodies. Mol Cell Biol 4:276–281
98. Messner MC, Cabot MC (2011) Cytotoxic responses to N-(4-hydroxyphenyl) retinamide in human pancreatic cancer cells. Cancer Chemother Pharmacol 68:477–487
99. Miller RB, Reece G, Kroll SS, Chang D, Langstein H, Ziogas A, Robb G, Evans GR (2007) Microvascular breast reconstruction in the diabetic patient. Plast Reconstr Surg 119: 38–45; discussion 46–48
100. Milner BJ, Allan LA, Eccles DM, Kitchener HC, Leonard RC, Kelly KF, Parkin DE, Haites NE (1993) p53 mutation is a common genetic event in ovarian carcinoma. Cancer Res 53:2128–2132
101. Moll UM, Schramm LM (1998) p53–an acrobat in tumorigenesis. Crit Rev Oral Biol Med 9:23–37
102. Momand J, Zambetti GP, Olson DC, George D, Levine AJ (1992) The mdm-2 oncogene product forms a complex with the p53 protein and inhibits p53-mediated transactivation. Cell 69:1237–1245
103. Monti E, Gariboldi MB (2011) HIF-1 as a target for cancer chemotherapy, chemosensitization and chemoprevention. Curr Mol Pharmacol 4:62–77
104. Murdoch C, Muthana M, Coffelt SB, Lewis CE (2008) The role of myeloid cells in the promotion of tumour angiogenesis. Nat Rev Cancer 8:618–631
105. Naugler WE, Karin M (2008) The wolf in sheep's clothing: the role of interleukin-6 in immunity, inflammation and cancer. Trends Mol Med 14:109–119
106. Noonan DM, De Lerma Barbaro A, Vannini N, Mortara L, Albini A (2008) Inflammation, inflammatory cells and angiogenesis: decisions and indecisions. Cancer Metastasis Rev 27:31–40
107. Nozawa H, Chiu C, Hanahan D (2006) Infiltrating neutrophils mediate the initial angiogenic switch in a mouse model of multistage carcinogenesis. Proc Natl Acad Sci USA 103:12493–12498
108. Oikawa S, Yamada K, Yamashita N, Tada-Oikawa S, Kawanishi S (1999) N-acetylcysteine, a cancer chemopreventive agent, causes oxidative damage to cellular and isolated DNA. Carcinogenesis 20:1485–1490
109. Olivier M, Hollstein M, Hainaut P (2010) TP53 mutations in human cancers: origins, consequences, and clinical use. Cold Spring Harb Perspect Biol 2: a001008
110. Orimo A, Gupta PB, Sgroi DC, Arenzana-Seisdedos F, Delaunay T, Naeem R, Carey VJ, Richardson AL, Weinberg RA (2005) Stromal fibroblasts present in invasive human breast carcinomas promote tumor growth and angiogenesis through elevated SDF-1/CXCL12 secretion. Cell 121:335–348

111. Paez-Ribes M, Allen E, Hudock J, Takeda T, Okuyama H, Vinals F, Inoue M, Bergers G, Hanahan D, Casanovas O (2009) Antiangiogenic therapy elicits malignant progression of tumors to increased local invasion and distant metastasis. Cancer Cell 15:220–231
112. Perkins ND (2004) Regulation of NF-kappaB by atypical activators and tumour suppressors. Biochem Soc Trans 32:936–939
113. Pezzolo A, Parodi F, Corrias MV, Cinti R, Gambini C, Pistoia V (2007) Tumor origin of endothelial cells in human neuroblastoma. J Clin Oncol 25:376–383
114. Philip M, Rowley DA, Schreiber H (2004) Inflammation as a tumor promoter in cancer induction. Semin Cancer Biol 14:433–439
115. Pienta KJ, Nguyen NM, Lehr JE (1993) Treatment of prostate cancer in the rat with the synthetic retinoid fenretinide. Cancer Res 53:224–226
116. Pietras K, Ostman A (2010) Hallmarks of cancer: interactions with the tumor stroma. Exp Cell Res 316:1324–1331
117. Pietras K, Pahler J, Bergers G, Hanahan D (2008) Functions of paracrine PDGF signaling in the proangiogenic tumor stroma revealed by pharmacological targeting. PLoS Med 5:e19
118. Pollicita M, Muscoli C, Sgura A, Biasin A, Granato T, Masuelli L, Mollace V, Tanzarella C, Del Duca C, Rodino P, Perno CF, Aquaro S (2009) Apoptosis and telomeres shortening related to HIV-1 induced oxidative stress in an astrocytoma cell line. BMC Neurosci 10:51
119. Poppe JK (1964) Clinical Experiences with Acetylcysteine as a Mucolytic Agent. Dis Chest 46:66–69
120. Pore N, Gupta AK, Cerniglia GJ, Jiang Z, Bernhard EJ, Evans SM, Koch CJ, Hahn SM, Maity A (2006) Nelfinavir down-regulates hypoxia-inducible factor 1alpha and VEGF expression and increases tumor oxygenation: implications for radiotherapy. Cancer Res 66:9252–9259
121. Pucci F, Venneri MA, Biziato D, Nonis A, Moi D, Sica A, Di Serio C, Naldini L, De Palma M (2009) A distinguishing gene signature shared by tumor-infiltrating Tie2-expressing monocytes, blood "resident" monocytes, and embryonic macrophages suggests common functions and developmental relationships. Blood 114:901–914
122. Qian H, Wang T, Naumovski L, Lopez CD, Brachmann RK (2002) Groups of p53 target genes involved in specific p53 downstream effects cluster into different classes of DNA binding sites. Oncogene 21:7901–7911
123. Rak J, Klement G (2000) Impact of oncogenes and tumor suppressor genes on deregulation of hemostasis and angiogenesis in cancer. Cancer Metastasis Rev 19:93–96
124. Rak J, Yu JL, Kerbel RS, Coomber BL (2002) What do oncogenic mutations have to do with angiogenesis/vascular dependence of tumors? Cancer Res 62:1931–1934
125. Rasanen K, Vaheri A (2010) Activation of fibroblasts in cancer stroma. Exp Cell Res 316:2713–2722
126. Ravi R, Mookerjee B, Bhujwalla ZM, Sutter CH, Artemov D, Zeng Q, Dillehay LE, Madan A, Semenza GL, Bedi A (2000) Regulation of tumor angiogenesis by p53-induced degradation of hypoxia-inducible factor 1alpha. Genes Dev 14:34–44
127. Rayet B, Gelinas C (1999) Aberrant rel/nfkb genes and activity in human cancer. Oncogene 18:6938–6947
128. Raza A, Franklin MJ, Dudek AZ (2010) Pericytes and vessel maturation during tumor angiogenesis and metastasis. Am J Hematol 85:593–598
129. Sabichi AL, Lerner SP, Grossman HB, Lippman SM (1998) Retinoids in the chemoprevention of bladder cancer. Curr Opin Oncol 10:479–484
130. Sakamoto J, Kodaira S, Hamada C, Ito K, Maehara Y, Takagi H, Sugimachi K, Nakazato H, Ohashi Y (2001) An individual patient data meta-analysis of long supported adjuvant chemotherapy with oral carmofur in patients with curatively resected colorectal cancer. Oncol Rep 8:697–703
131. Scapini P, Morini M, Tecchio C, Minghelli S, Di Carlo E, Tanghetti E, Albini A, Lowell C, Berton G, Noonan DM, Cassatella MA (2004) CXCL1/macrophage inflammatory protein-2-

induced angiogenesis in vivo is mediated by neutrophil-derived vascular endothelial growth factor-A. J Immunol 172:5034–5040
132. Secchiero P, Corallini F, Gonelli A, Dell'Eva R, Vitale M, Capitani S, Albini A, Zauli G (2007) Antiangiogenic activity of the MDM2 antagonist nutlin-3. Circ Res 100:61–69
133. Semenza GL (2010) Vascular responses to hypoxia and ischemia. Arterioscler Thromb Vasc Biol 30:648–52
134. Sen R, Baltimore D (1986) Inducibility of kappa immunoglobulin enhancer-binding protein Nf-kappa B by a posttranslational mechanism. Cell 47:921–928
135. Senftleben U, Cao Y, Xiao G, Greten FR, Krahn G, Bonizzi G, Chen Y, Hu Y, Fong A, Sun SC, Karin M (2001) Activation by IKKalpha of a second, evolutionary conserved, NF-kappa B signaling pathway. Science 293:1495–1499
136. Sharpless NE, DePinho RA (2002) p53: good cop/bad cop. Cell 110:9–12
137. Shuai K, Horvath CM, Huang LH, Qureshi SA, Cowburn D, Darnell JE Jr (1994) Interferon activation of the transcription factor Stat91 involves dimerization through SH2-phosphotyrosyl peptide interactions. Cell 76:821–828
138. Sogno I, Vene R, Ferrari N, De Censi A, Imperatori A, Noonan DM, Tosetti F, Albini A (2010) Angioprevention with fenretinide: targeting angiogenesis in prevention and therapeutic strategies. Crit Rev Oncol Hematol 75:2–14
139. Sogno I, Vene R, Sapienza C, Ferrari N, Tosetti F, Albini A (2009) Anti-angiogenic properties of chemopreventive drugs: fenretinide as a prototype. Recent Results Cancer Res 181:71–76
140. Sohur US, Dixit MN, Chen CL, Byrom MW, Kerr LA (1999) Rel/NF-kappaB represses bcl-2 transcription in pro-B lymphocytes. Gene Expr 8:219–229
141. Solinas G, Germano G, Mantovani A, Allavena P (2009) Tumor-associated macrophages (TAM) as major players of the cancer-related inflammation. J Leukoc Biol 86:1065–1073
142. Sparmann A, Bar-Sagi D (2004) Ras-induced interleukin-8 expression plays a critical role in tumor growth and angiogenesis. Cancer Cell 6:447–458
143. Staab A, Loeffler J, Said HM, Diehlmann D, Katzer A, Beyer M, Fleischer M, Schwab F, Baier K, Einsele H, Flentje M, Vordermark D (2007) Effects of HIF-1 inhibition by chetomin on hypoxia-related transcription and radiosensitivity in HT 1080 human fibrosarcoma cells. BMC Cancer 7:213
144. Steeghs N, Nortier JW, Gelderblom H (2007) Small molecule tyrosine kinase inhibitors in the treatment of solid tumors: an update of recent developments. Ann Surg Oncol 14:942–953
145. Stein RC (2001) Prospects for phosphoinositide 3-kinase inhibition as a cancer treatment. Endocr Relat Cancer 8:237–248
146. Streubel B, Chott A, Huber D, Exner M, Jager U, Wagner O, Schwarzinger I (2004) Lymphoma-specific genetic aberrations in microvascular endothelial cells in B-cell lymphomas. N Engl J Med 351:250–259
147. Sun Y, Chen J, Rigas B (2009) Chemopreventive agents induce oxidative stress in cancer cells leading to COX-2 overexpression and COX-2-independent cell death. Carcinogenesis 30:93–100
148. Takeda K, Kamanaka M, Tanaka T, Kishimoto T, Akira S (1996) Impaired IL-13-mediated functions of macrophages in STAT6-deficient mice. J Immunol 157:3220–3222
149. Tazzyman S, Lewis CE, Murdoch C (2009) Neutrophils: key mediators of tumour angiogenesis. Int J Exp Pathol 90:222–231
150. Teodoro JG, Evans SK, Green MR (2007) Inhibition of tumor angiogenesis by p53: a new role for the guardian of the genome. J Mol Med (Berl) 85:1175–1186
151. Teodoro JG, Parker AE, Zhu X, Green MR (2006) p53-mediated inhibition of angiogenesis through up-regulation of a collagen prolyl hydroxylase. Science 313:968–971
152. Tergaonkar V (2009) p53 and NFkappaB: fresh breath in the cross talk. Cell Res 19:1313–1315

153. Tosetti F, Ferrari N, De Flora S, Albini A (2002) Angioprevention': angiogenesis is a common and key target for cancer chemopreventive agents. Faseb J 16:2–14
154. Tosetti F, Vene R, Arena G, Morini M, Minghelli S, Noonan DM, Albini A (2003) N-(4-hydroxyphenyl) retinamide inhibits retinoblastoma growth through reactive oxygen species-mediated cell death. Mol Pharmacol 63:565–573
155. Ulanet DB, Hanahan D (2010) Loss of p19 (Arf) facilitates the angiogenic switch and tumor initiation in a multi-stage cancer model via p53-dependent and independent mechanisms. PLoS One 5:e12454
156. van Zandwijk N, Dalesio O, Pastorino U, de Vries N, van Tinteren H (2000) EUROSCAN, a randomized trial of vitamin A and N-acetylcysteine in patients with head and neck cancer or lung cancer. For the European organization for research and treatment of cancer head and neck and lung cancer cooperative groups. J Natl Cancer Inst 92:977–986
157. Vassilev LT (2004) Small-molecule antagonists of p53-MDM2 binding: research tools and potential therapeutics. Cell Cycle 3:419–421
158. Veltman JD, Lambers ME, van Nimwegen M, Hendriks RW, Hoogsteden HC, Hegmans JP, Aerts JG (2010) Zoledronic acid impairs myeloid differentiation to tumour-associated macrophages in mesothelioma. Br J Cancer 103:629–641
159. Vene R, Arena G, Poggi A, D'Arrigo C, Mormino M, Noonan DM, Albini A, Tosetti F (2007) Novel cell death pathways induced by N-(4-hydroxyphenyl) retinamide: therapeutic implications. Mol Cancer Ther 6:286–298
160. Venugopal D, Zahid M, Mailander PC, Meza JL, Rogan EG, Cavalieri EL, Chakravarti D (2008) Reduction of estrogen-induced transformation of mouse mammary epithelial cells by N-acetylcysteine. J Steroid Biochem Mol Biol 109:22–30
161. Vousden KH, Lu X (2002) Live or let die: the cell's response to p53. Nat Rev Cancer 2:594–604
162. Vousden KH, Ryan KM (2009) p53 and metabolism. Nat Rev Cancer 9:691–700
163. Walkley CR, Olsen GH, Dworkin S, Fabb SA, Swann J, McArthur GA, Westmoreland SV, Chambon P, Scadden DT, Purton LE (2007) A microenvironment-induced myeloproliferative syndrome caused by retinoic acid receptor gamma deficiency. Cell 129:1097–1110
164. Walkley CR, Shea JM, Sims NA, Purton LE, Orkin SH (2007) Rb regulates interactions between hematopoietic stem cells and their bone marrow microenvironment. Cell 129:1081–1095
165. Wang L, Zheng GG, Ma CH, Lin YM, Zhang HY, Ma YY, Chong JH, Wu KF (2008) A special linker between macrophage and hematopoietic malignant cells: membrane form of macrophage colony-stimulating factor. Cancer Res 68:5639–5647
166. Welte T, Zhang SS, Wang T, Zhang Z, Hesslein DG, Yin Z, Kano A, Iwamoto Y, Li E, Craft JE, Bothwell AL, Fikrig E, Koni PA, Flavell RA, Fu XY (2003) STAT3 deletion during hematopoiesis causes Crohn's disease-like pathogenesis and lethality: a critical role of STAT3 in innate immunity. Proc Natl Acad Sci USA 100:1879–1884
167. Wilhelm SM, Adnane L, Newell P, Villanueva A, Llovet JM, Lynch M (2008) Preclinical overview of sorafenib, a multikinase inhibitor that targets both Raf and VEGF and PDGF receptor tyrosine kinase signaling. Mol Cancer Ther 7:3129–3140
168. Wisniewski T, Bayne E, Flanagan J, Shao Q, Wnek R, Matheravidathu S, Fischer P, Forrest MJ, Peterson L, Song X, Yang L, Demartino JA, Struthers M (2010) Assessment of chemokine receptor function on monocytes in whole blood: In vitro and ex vivo evaluations of a CCR2 antagonist. J Immunol Methods 352:101–110
169. Wu X, Bayle JH, Olson D, Levine AJ (1993) The p53-mdm-2 autoregulatory feedback loop. Genes Dev 7:1126–1132
170. Xian X, Hakansson J, Stahlberg A, Lindblom P, Betsholtz C, Gerhardt H, Semb H (2006) Pericytes limit tumor cell metastasis. J Clin Invest 116:642–651

171. Xiao ZL, Sun GY, Xia QM, Qian GS (2001) Experimental research on permeability injury of pulmonary microvascular endothelial cells monolayer induced by tumor necrosis factor. Zhongguo Ying Yong Sheng Li Xue Za Zhi 17:79–81
172. Xing F, Saidou J, Watabe K (2010) Cancer associated fibroblasts (CAFs) in tumor microenvironment. Front Biosci 15:166–179
173. Xue W, Zender L, Miething C, Dickins RA, Hernando E, Krizhanovsky V, Cordon-Cardo C, Lowe SW (2007) Senescence and tumour clearance is triggered by p53 restoration in murine liver carcinomas. Nature 445:656–660
174. Yamakuchi M, Lotterman CD, Bao C, Hruban RH, Karim B, Mendell JT, Huso D, Lowenstein CJ P53-induced microRNA-107 inhibits HIF-1 and tumor angiogenesis. Proc Natl Acad Sci U S A 107: 6334-9
175. Yang G, Yu F, Fu H, Lu F, Huang B, Bai L, Zhao Z, Yao L, Lu Z (2007) Identification of the distinct promoters for the two transcripts of apoptosis related protein 3 and their transcriptional regulation by NFAT and NFkappaB. Mol Cell Biochem 302:187–194
176. Yang H, Bushue N, Bu P, Wan YJ (2010) Induction and intracellular localization of Nur77 dictate fenretinide-induced apoptosis of human liver cancer cells. Biochem Pharmacol 79:948–954
177. Yu CL, Meyer DJ, Campbell GS, Larner AC, Carter-Su C, Schwartz J, Jove R (1995) Enhanced DNA-binding activity of a Stat3-related protein in cells transformed by the Src oncoprotein. Science 269:81–83
178. Yu H, Pardoll D, Jove R (2009) STATs in cancer inflammation and immunity: a leading role for STAT3. Nat Rev Cancer 9:798–809
179. Zafarullah M, Li WQ, Sylvester J, Ahmad M (2003) Molecular mechanisms of N-acetylcysteine actions. Cell Mol Life Sci 60:6–20
180. Zhang Q, Zhang ZF, Rao JY, Sato JD, Brown J, Messadi DV, Le AD (2004) Treatment with siRNA and antisense oligonucleotides targeted to HIF-1alpha induced apoptosis in human tongue squamous cell carcinomas. Int J Cancer 111:849–857
181. Zhong Z, Wen Z, Darnell JE Jr (1994) Stat3: a STAT family member activated by tyrosine phosphorylation in response to epidermal growth factor and interleukin-6. Science 264:95–98
182. Zhu X, Fujita M, Snyder LA, Okada H (2011) Systemic delivery of neutralizing antibody targeting CCL2 for glioma therapy. J Neurooncol 104:83–92

DNA Hasarının Önlenmesinde, Telomer Bütünlüğünün Korunmasında ve Kanser Büyümesinin Kontrolünde Nutriomlar ve Bireyselleştirilmiş Beslenme

Michael F. Fenech

Özet

Baz sekans ve kromozom düzeyindeki DNA hasarı gelişimsel ve dejeneratif hastalıkların temel nedenlerinden biridir. Multipl mikrobesinler ve bunların genetik ve/veya edinsel genom ile etkileşimleri DNA hasarının ve genomik instabilite oranlarını belirler. Aşılması gereken ana zorluk her birey için genom stabilitesini optimize edebilecek (telomer bütünlüğü ve fonksiyonelliği ile DNA tamiri dahil) mikrobesin kombinasyonlarının ve dozlarının (örn. nutriom) belirlenmesidir. Nutrient (besin öğesi) dizilim sistemleri ile birlikte DNA hasarı, hücre ölümü ve hücre büyümesinin geniş içerikli analizlerinin kullanımı, DNA hasar kontrolü ve kanser büyüme kontrolü için gereken optimal nutriomun bireysel bazda tespit edilmesine olanak tanır. Bu bilgi terapötiklerde kullanılan hücrelerin kültür sistemlerin geliştirilmesi için de kullanılabilir. Kök hücrelerinin vücuda uygulanmadan önce genetik olarak anormal olmadıklarının tespiti bu kullanıma bir örnektir. Bu bilgiler ayrıca mikrobesin eksikliğine veya fazlalığına bağlı DNA hasarının engellenebilmesi için gereken mikrobesin kombinasyon ve konsantrasyonlarına sahip diyet paternlerinin dizayn edilmesi için de kullanılabilir. Bu yaklaşım ile spesifik kanser türlerinin kontrol edilebilmesi için gereken diyet kısıtlamaları ve/veya takviyeleri hakkında yeni bilgiler elde edilebilir. Bu yaklaşım kanser teşhisi alan bireyler için güvenilir ve valide önerilerin henüz mevcut olmadığı göz önüne alındığında özel olarak önemlidir.

M. F. Fenech (✉)
CSIRO Food and Nutritional Sciences, 10041 Adelaide BC, SA 5000, Australia
e-mail: michael.fenech@csiro.au

V. Zappia et al. (eds.), *Advances in Nutrition and Cancer,*
Cancer Treatment and Research 159, DOI: 10.1007/978-3-642-38007-5_24,
© Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2014

Anahtar Kelimeler

Nutriomlar • DNA hasarı • Telomer • Genom stabilitesi • Bireyselleştirilmiş beslenme

Kısaltmalar

MRI	Manyetik rezonans görüntleme
TRF1; TRF2	Telomerik-tekrar bağlayıcı faktörler 1 ve 2
MTHFR	Metilentetrahidrofolat redüktaz
ADH1	Alkol dehidrogenaz
ALDH2	Aldehit dehidrogenaz
CBMN Cyt	Sitokinez-bloke mikronükleus sitom
MTAP	Metiltioadenozin fosforilaz

İçindekiler

1 Arkaplan ve Güncel Durum 428
2 İn Vivo Ortamda Nutriomlar, DNA Hasarı ve Telomer Koruma 429
3 Nütrisyonel İhtiyaçlar ve Doku Kültür Sistemlerindeki Bilgi Eksiklikleri 432
4 Nutriomların Nutrient Dizilerinde Test Edilmesi 434
5 Kanser Büyümesinin Kontrolü İçin Nutrient Kısıtlaması 436
6 Sonuçlar 438
Referanslar 438

1 Arka Plan ve Güncel Durum

Baz sekans ve kromozom düzeyindeki DNA hasarı gelişimsel ve dejeneratif hastalıkların temel nedenlerinden biridir (yaşlanma hızlanması dahil) ve bu hastalıkların prospektif olarak tahmin edilebilmesini sağlar [1-3]. Genom bütünlüğünde rol oynayan yüzlerce gen mevcuttur. Bireyler arasında enzim aktivitelerinin farklı olmasına yol açan polimorfizmlerde büyük kişisel farklılıklar mevcuttur [4-8]. DNA replikasyonu, DNA tamiri ve potansiyel genotoksinlerin detoksifikasyonunda rol oynayan genler için gerekli olan proteinlerin optimal fonksiyon gösterebilmeleri diyetle alınan önemli kofaktörlere bağlıdır [9-24]. Bireyler arasındaki diyet profilleri edinilmiş veya ailesel diyet tercihlerine ve gıdaların mevcudiyet durumuna göre değişmektedir; ayrıca mikrobesinlerin sindirim sisteminde reabsorbe olmaları ve hücrelere taşınmaları genetik özelliklere ve taşıyıcı ekspresyonunda yaşa bağlı olarak ortaya çıkan değişimlere bağlıdır [25-27]. İn vivo ortamda genomun korunması için gereken nütrisyonel faktörler büyük farklılıklar gösterir. Aynı durum, in vitro ortamda kullanılan farklı kültür ortamları içinde geçerlidir [28-29]. Genom bütünlüğünün in vitro ortamda korunması özellikle uzun süreli hücre

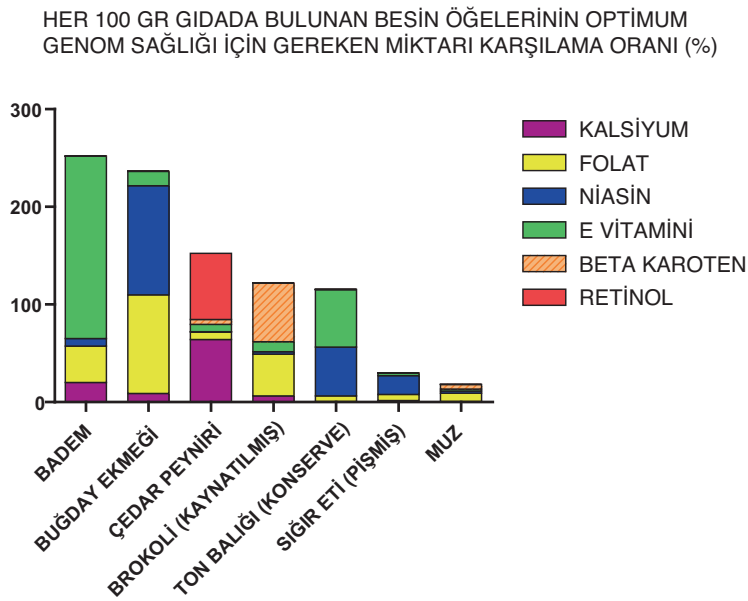
kültürleri (örn. kök hücreler) için kritik öneme sahiptir. Bireyden alınan bu hücreler kültür ortamında çoğaltıldıktan sonra medikal tedavi amaçlı olarak orijinal donöre veya diğer hastalara uygulanır. İn vitro ortamda oluşabilecek DNA hasarı kök hücrelerinde onkojenik olayların gelişimine neden olabilir [30, 31]. Günümüzdeki diyet referans değerleri (örn. tavsiye edilen günlük tüketim miktarları, üst güvenlik sınırları) ve kültür ortamlarının içerikleri ve özellikleri, genom bütünlüğü üzerindeki etkileri dikkate almamaktadır. DNA sekans ve/veya epigenom hasarı hala hücrelerin ve organizmaların sağlıkları ve hastalıkları ile ilişkili en temel ve kritik patolojilerdir.

2 İn Vivo Ortamda Nutriomlar, DNA Hasarı ve Telomer Koruma

Gıdaların tüketim sıklığını sorgulayan anketleri ve DNA hasarının [1] en iyi valide edilmiş biyomarkerlerinden biri olan sitokinez-bloke mikronükleus analizini kullanarak kromozom kırılması veya kaybı ile ilişkili dokuz mikrobesini belirlemeyi başardık. Diyetle alınan E vitamini, folat, retinol ve nikotinik asit tüketimlerinin artması DNA hasarında azalma ile ilişkili bulunurken, riboflavin, pantotenik asit ve biyotin tüketimlerinin artması daha yüksek DNA hasarına neden olmuştur. Beta-karotenin orta derece kullanımının faydalı ancak aşırı tüketimin zararlı olabileceğini gösteren U şekilli bir ilişki tespit edilmiştir [32]. Ayrıca bu faktörlerin kendi aralarında da interaktif etkileşimler olduğu tespit edilmiştir.

Bu çalışmaların sonuçları kullanılarak, DNA hasarının önlenmesine yönelik olarak E vitamini, kalsiyum, folat, retinol, beta karoten ve nikotinik asitten oluşan gıdaların nutriom içeriklerinin şekil 1'de gösterildiği üzere sınıflandırılması mümkündür. Bu sınıflandırmadan sığır eti ve muzun, genom koruyucu nutriom içeriği yönünden badem, buğday kepeği, peynir, brokoli ve ton balığına göre daha fakir olduğu anlaşılmaktadır. Nutriomların bu yaklaşımla incelenmesi, genom düzeyindeki başlıca patolojilere karşı en iyi koruma sağlayan gıdaların ve diyet paternlerinin belirlenmesinde daha etkili bir yöntem olabilir. En önemli komponentlerin analiz edildiği güncel bir çalışmada, plazma nutriomlarının kognitif fonksiyonlarda ve beyin MRI bulgularında düzelmelere yol açtığı ilk kez bildirilmiştir [33]. Benzer yaklaşımlar DNA hasarı ve kanserden korunma ile ilişkili besin öğelerinin biyomarker paternlerinin tanımlanmasında da kullanılabilir.

Bu yolla elde edilecek daha detaylı bilgiler optimal sağlık için uyulması gereken diyet tavsiyelerinin mükemmelleştirilmesine yardımcı olabilir. Örneğin en güncel WHO/FAO raporunda kalp hastalığı, kanser, diyabet ve obeziteden korunmak ve özellikle az gelişmiş ülkelerdeki mikrobesin eksikliklerini engellemek ve mevcut eksiklikleri düzeltebilmek amacıyla günde en az 400 gr. sebze ve meyve tüketimi önerilmektedir [34]. Tablo 1'deki genom bütünlüğü ve normal fetal gelişim için başlıca mikrobesinlerden biri olan folat örneğine bakıldığında bu önerinin yanlış yönlendirici olma ihtimali ortaya çıkmaktadır [35, 36]. Başlıca dört sebze tipi mevcuttur. Meyveler bu sebze tiplerinden



Şekil 1 Sık kullanılan bazı gıdalardaki DNA hasarında azalma ile ilişkili mikrobesinler. Farklı besinleri gösteren sütunların içindeki mikrobesinlerin günlük tavsiye edilen minimum alım miktarını karşılama yüzdeleri Fenech ve ark. tarafından yapılan çalışmada lenfositlerde azalan mikronükleus sıklık indeksi kullanılarak tespit edilmiştir [32]. Her mikrobesinin (mevcut ise) rölatif katkısı farklı renklerdeki sütunların yüksekliği ile gösterilmektedir. Besin öğesi içerikleri USDA Nutrient Veri Tabanı (http://www.nal.usda.gov/fnic/foodcomp/search/) ile McCance ve Widdowson Kompozisyonu (6. Özet Baskı) gibi gıda içerik tabloları kullanılarak belirlenmiştir.

bir tanesidir. Seçilen veya tercih edilen sebzeler içerdikleri folat miktarı veya günlük tüketim ihtiyacını karşılama oranları büyük farklılıklar göstermektedir. Yüksek folat içerikli sebzelerin (örn. baklagiller ve/veya yeşil yapraklı veya turpgiller ailesine ait sebzeler) günde 400 gr tüketilmeleri (günlük 400 µg'lık folat ihtiyacının karşılanabilmesi için) yeterlidir. Ancak kök veya yumru sebzelerin veya "meyve sebzelerin" tercih edilmesi durumunda tüketilmesi gereken miktar pratikte imkansız ve çok pahalı olan 2.5 kg'a yükselmektedir. Ayrıca meyvelerin içindeki folat miktarı kök ve yumru sebzelerin yarısından daha azdır. Tek başına bu örnek bile güncel tavsiyelerin, folat gibi önemli mikrobesinlerin alımının etkili bir şekilde maksimize edilmesinde yetersiz kaldığını göstermektedir. Acil olarak baklagiller ve taneli tahıllar gibi nutrient yönünden zengin olan gıdalara ve genom bütünlüğünün korunmasında etkili kombinasyonlara odaklanan daha kesin tavsiyelere ihtiyaç vardır.

Telomer, genomik ile uğraşan bilim adamlarının giderek daha fazla ilgisini çeken genom bölgesidir. Kromozomların uçlarında bulunan başlıklar olan telomerler TTAGGG tandem tekrar sekanslarıdır. İlişkili oldukları shelterin proteinleri (örn. TRF1 ve TRF2) ile birlikte disentrik kromozomların, anafaz köprülerinin, kromozom

kırığı döngülerinin ve başlıksız kromozomların ortaya çıkmasına bağlı olarak daha ileri füzyonların oluşumuna yol açan kromozom uçlarının füzyonunu engellerler. Bu kırılma-füzyon-köprü döngüsü aşırı telomer kısalması ve/veya telomer/telozom kompleksinin disfonksiyonundan kaynaklanır [37, 38]. Nütrisyon şu nedenlerle muhtemel koruyucu rol oynayabilir: (1) Telomer sekansındaki guaninin oksidasyonu telomer stabilitesi ve fonksiyonu için gereken TRF1 ve TRF2 bağlanmasını engelleyebilir. Guanin oksidasyonu diyetle uygun antioksidan alımı ile engellenebilir; (2) Telomer sekansında urasil akümülasyonuna engel olmak için folat gereklidir. Urasil birikimi telomer ve subtelomerde kırıklara neden olarak telomer silinmeleri ve kaybına yol açarken, subtelomer hipometilasyonu ise telomer uzunluk kontrolünün kaybına ve disfonksiyonuna yol açar; (3) Niasin, tankiraz aktivitesi için NAD sağlanmasında gereklidir. Bu aktivite telomerazın, telomeri korunma işlevini yerine getirebilmesi için gereklidir [39, 40].

İn vivo çalışmalarda folat, D vitamini, omega 3 yağ asitleri, multivitamin kullanımı, kalori kısıtlaması ile kilo kaybı ve tahıl lifinin daha uzun telomerler ile ilişkili olduğu bulunmuştur. Oksidatif stres, yüksek plazma homosisteini, işlenmiş et, lineolik asit, psikolojik stres ve obezite ise daha kısa telomerlerle ilişkilidir [41, 47]. Bu sonuçların büyük bölümü tekil çalışmalardan elde edildiği için anlamlılık dereceleri netleşmemiştir. Telomer kısalmasının sağlıksız yaşlanma ile ilişkisi aşırı uzun ve aşırı kısa telomerlerin kanser riski ile ilişkili olduğu göz önüne alınarak araştırılmıştır [48].

Tablo 1 Sebzelerin folat içerikleri (Her 100gr'da µg olarak diyet folat eşdeğeri)[a]

Yüksek folat içeren sebzeler		Düşük folat içeren sebzeler	
Baklagiller	Yeşil yapraklı sebzeler veya turpgiller	Kökler veya yumrular	"Meyve" sebzeler
Kırmızı barbunya (130)	Brokoli (93)	Soğan (16)	Domates (15)
Maş fasulyesi (60)	Brüksel lahanası (60)	Patates (22)	Bal kabağı (9)
Bezelye (171)	Lahana (43)	Turp (9)	Salatalık (6)
Mercimek (180)	Hindiba (142)	Yabani havuç (57)	Kırmızı biber (11)
Nohut (59)	Ispanak (146)	Şalgam (21)	Patlıcan (14)
Kuru fasulye (50)	Marul (73)	Havuç (14)	Zeytin (0)
Ortalama (108)	Ortalama (93)	Ortalama (23)	Ortalama (10)
	Ortalama (100)		Ortalama (16)

[a]Veriler USDA Nutrient Veri Tabanı (http://www.nal.usda.gov/fnic/foodcomp/search/) Diyet folat eşdeğeri değerleri parantez içinde gösterilmiştir.

3 Nütrisyonel İhtiyaçlar ve Doku Kültür Sistemlerindeki Bilgi Eksiklikleri

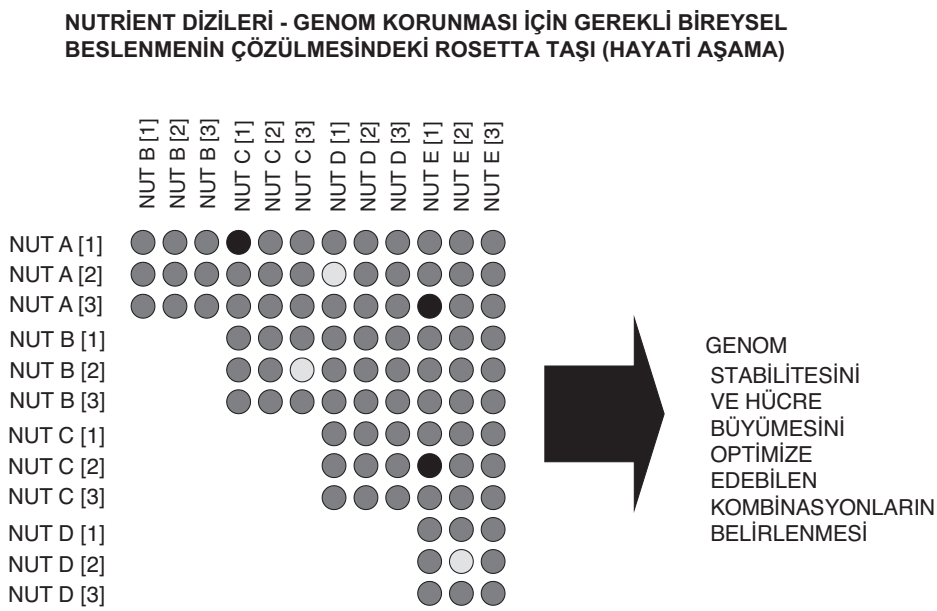
Doku kültüründeki önemli problemlerden bir tanesi hem kültür ortamı hem de oksijen basıncının fizyolojik koşullardan uzak olmasıdır. Her iki faktör de hücre büyümesinde ve kromozomal instabilite düzeylerinde önemli etkilere sahiptir. Örneğin farklı kültür ortamları mineral ve vitamin içerikleri yönünden büyük farklara sahip olup insan serumuna kıyasla da sıklıkla suprafizyolojik ya da normalden düşük konsantrasyonlarda bulunmaktadırlar. RPMI 1640 kültür ortamı insan hücrelerinin kültüründe en sık kullanılan ortamlardandır. Kültürdeki folat, metionin ve riboflavin konsantrasyonları insan serumuna göre suprafizyolojik düzeylerde iken, demir, bakır, çinko, magnezyum ve sülfür oranları ise normalden düşüktür (Tablo 2). Kültür ortamındaki bazı eksiklikler sadece %5-10 oranında eklenen fetal sığır serumu ile kısmen giderilebilir. Ancak kültürde eksik olan ya da hiç olmayan mikrobesinler hala istenilen düzeye gelmeyebilir. Günümüzde kullanılan kültür ortamlarının insan serumuna kıyasla fizyolojik olmadıkları açıktır Bu nedenle in vitro çalışmalardan elde edilen veriler in vivo tahminler yapmak için kullanılacağında dikkatli olunmalıdır. Bu tür tahminler yapmak sadece insan serumuna ve diğer vücut sıvıların (örn. serebrospinal sıvı, interstisyel sıvı) eşdeğer kompozisyona ve oksijen basıncına sahip fizyolojik kültür ortamları geliştirildiğinde makul hale gelecektir. Fizyolojik oksijen basıncı hücre kültür inkübatörlerinde kullanılan atmosferik oksijene göre 2-4 kat daha azdır. Fizyolojik oksijen şartlarında büyüyen hücrelerin daha az oksidatif strese maruz kaldıkları ve atmosferik oksijen inkübatörlerindeki hücrelere göre paradoksik olarak daha yavaş büyüdükleri gösterilmiştir [49, 50]. Daha hızlı büyüme daha iyi genom stabilitesine yol açmayabilir. Çünkü hızlı büyüme, hücre döngüsü kontrol noktalarının izin vermesi ile hücre döngü zamanında kısalmalara ve/veya DNA hasarı olan hücrelerin apoptozunda azalmalara yol açar. Biz ve diğer yazarlar kültür hücrelerindeki DNA hasarının, hücre ölümünün ve büyümesinin önemli mikrobesinlerin konsantrasyonlarından ciddi oranda etkilendiğini göstermiştir. Fizyolojik sınırlara göre hem daha fazla hem de daha az konsantrasyon genoma zarar vererek hücre büyümesi ve sağkalım kinetiklerini değiştirebilmektedir [23, 28, 29, 51–54]. Kültür ortamlarındaki metil donörlerinin (örn. folat, metionin, kolin, b12 vitamini) aşırı yüksek konsantrasyonları teorik olarak advers DNA metilasyon paternine yol açarak, önemli idareci genlerin sessizleşmesine neden olabilir. Ancak bu teoriyi desteklemesi beklenen güçlü kanıtlar henüz mevcut değildir [55]. Genomun korunması ve tamiri için gereken geniş mikrobesin spektrumu göz önüne alındığında, fizyolojik kültür ortamı kompozisyonunun geliştirilmesi, genomik olarak stabil durumda olan insan hücrelerinin büyüyebilmesi için optimal kültür şartlarının sağlanması ve farklı mikrobesin kombinasyonlarının (örn. nutriomlar) ve farklı genetik altyapılardaki dozajların etkilerinin incelenebilmesi için şarttır. Bu gelişmeler in vitro verilerin bireysel bazda in vivo etkilerin tahmin edilmesinde kullanılacağı durumlar için de kritiktir. Bu bağlamda, in vitro ortamda ulaşılabilen

Tablo 2 İnsan serum örneği ile normal komple RPMI 1640 kültür ortamındaki bazı mikrobesinlerin konsantrasyonlarının karşılaştırması (daha önce yayınlanmamış veriler)

Mikrobesinler	Konsantrasyon	İnsan serumu	RPMI 1640 kültür ortamı
Folat	μmol/L	0.028	2.3
Metionin	μmol/L	30	100
Riboflavin	μmol/L	0.05	0.53
Demir	mg/L	0.84	0.19
Bakır	mg/L	1.4	<0.1
Çinko	mg/L	0.94	0.17
Kalsiyum	mg/L	98	26
Magnezyum	mg/L	20	11
Sodyum	mg/L	3,400	3,200
Potasyum	mg/L	154	200
Fosfor	mg/L	121	174
Sülfür	mg/L	1,110	64

mikrobesin konsantrasyonlarına in vivo ortamda dokulardaki yeniden dağılım nedeniyle ulaşılamayacağı dikkate alınmalıdır. Ayrıca vücut sıvıları dikkate alındığında kan plazmasındaki mikrobesin konsantrasyonları hakkında oldukça iyi bilgilere sahibiz. Ancak organların çevreleyen interstisyel sıvı (örn. serebrospinal sıvı) ve dokulardaki konsantrasyonlarla ilgili bilgilerimiz oldukça yetersizdir. Hem fizyolojik hem de suprafizyolojik olarak en uygun sınırları göz önünde bulundurmalıyız. Ancak sadece in vivo ortamda ulaşılabilen "fizyolojik doz aralıklarını" in vitro modellerin in vivo tahmininde kullanabiliriz.

In vitro ve in vivo hücre sağlığı ile ilgili genom ve epigenom hasar parametrelerinin mikrobesin konsantrasyonlarındaki değişimlere "normal" fizyolojik sınırlarda bile son derece duyarlı oldukları giderek daha fazla kabul görmektedir [23, 28, 29, 52, 55, 56]. Bu nedenle diyet referans değerlerinin DNA hasarını minimize edebilecek doku konsantrasyonlarına ulaşılmasını sağlayacak şekilde yeniden gözden geçirilmesi pratik, makul ve arzu edilen bir durumdur. DNA hasarının validasyon statüsü ile ilgili detaylı bir inceleme, malnütrisyonun genomik etkilerini ölçen biyomarkerler ve optimal gen koruması için gereken nutrient ve nutriom gerekliliklerinin belirlenmesinde kullanılabilecek bir yol haritası için Fenech çalışmasına başvurabilirsiniz [1, 18].



Şekil 2 Basit nutrient dizilerinin mikrokültür sistemi için teorik bir örnek NUT = tek nutrient veya multipl nutrient kombinasyonu; A-E = farklı nutrient veya nutrient kombinasyonları; 1-3= artan doz düzeyleri. Farklı gri tonları, kullanılan kombinasyona bağlı olarak ortaya çıkabilen hücre büyümesi, canlılığı ve genom stabilitesindeki potansiyel varyasyonların göstergesidir. Buradaki en önemli zorluk her birey için en iyi kombinasyonun tanımlanmasıdır.

4 Nutriomların Nutrient Dizilerinde Test Edilmesi

Nütrisyonel genomik ile ilgili en büyük zorluk indirgeyici tek-nutrient-tek-gen etkileşimi yaklaşımından komple nutrient kombinasyonunun (örn. nutriom) bireysel bazda bir bireyin tüm genomu ile etkileşiminin incelenmesidir. Nihai hedef her bireyin genomuna en uygun nutriomu bulmaktır. Böylece hücresel fonksiyon, genom ve epigenomun optimal bir biçimde sürdürülebilmesi sağlanabilecektir. Bu bulmacayı çözebilmek için gereken "Rosetta Taşı" (mekanizma veya kod) mikrokültür sistemleri içinde nutrient dizileri geliştirmektir. Böylece multipl nutriomlar eş zamanlı olarak test edilirken, farklı dozajların etkileri de değerlendirilmiş olur (Şekil 2). Hücre üreten mikrokuyucuk uygun ve tutarlı bir şekilde prolifere olurken genom ve epigenom stabilitesinin korunması ile bireyin hücrelerine en uygun nutriomun tespit edilmesi mümkün olacaktır. Geniş içerikli otomatikleştirilmiş DNA hasar analizlerinin geliştirilebilmesi kantitatif görüntü sitometrisi kullanımı ile uygulanabilir hale gelmiştir [57-60]. Bu yöntem interfaz hücrelerin sayıları ve nükleer DNA içeriklerini de kapsayan multipl ölçütler içerebilir. Genom

stabilitesi ile ilgili telomer uzunluğu ve FISH ile aneuploidi ölçümü gibi multipl ölçütler, immunohistokimyasal yöntemlerle oksidize guanin ve DNA metilasyonu tespiti, sitokinez bloke çift çekirdekli hücrelerde mikronükleus sitom testleri ile kromozom hasarı ve telomer uç füzyonları gibi ölçütler ve daha birçok ölçüt örnek olarak verilebilir.

Bu tür bir sistemde basit bir tarama ile multipl mikrobesinlerin eksikliği veya güvenli üst sınır aralıkları bireysel bazda tespit edilebilir. Ayrıca normalde tahmin edilemeyecek şekilde sitotoksik veya genotoksik olabilen beklenmedik kombinasyonlar da tespit edilebilir. Bu tür bir ihtimalin akla yakın olabileceği genom instabilitesinin, düşük folat konsantrasyonlarında (20 nM) ve riboflavin konsantrasyonları doygun hale geldiğinde arttığını gösteren gözlemlerimizle desteklenmiştir [20]. Bu bulgu muhtemelen MTHFR'nin FAD kofaktörünün prekürsörü olan riboflavinin, 5,10-metilentetrahidrofolatın 5-metiltetrahidrofolata irreversibl dönüşümünü katalizleyen MTHFR aktivitesini artırmasıyla, dUMP'den dTMP sentezi için gereken öncel folat türlerinin miktarını azaltıp DNA'daki urasili artırmasından kaynaklanıyor olabilir. DNA'da aşırı urasil bulunması abazik bölgelerin oluşmasına ve urasil glikozilazlar bu yüksek oranda mutajenik lezyonu tamir etmeye çalışırken DNA zincir kırıklarına yol açar [1, 18, 55]. Bu nedenle farklı dozajlardaki multipl mikrobesin kombinasyonlarını etkili bir biçimde incelemeye olanak tanıyacak nutrient dizi sistemlerinin geliştirilmesi önemlidir. Bu tür bir yaklaşım bireylerin genetik geçmişlerini bilmeye gerek kalmadan genom sağlığının koruması için gereken bireysel nutriomların tanımlanmasına olanak sağladığı için avantajlıdır. Ayrıca bu tür sistemler farklı genotiplerin benzer nutriom şartlarındaki cevaplarını karşılaştırmak ve ölçülen biyomarkerların değişim yüzdelerini karşılaştırmak için de kullanılabilir. Bu değişimler test edilen nutriomlardaki farklı genotipler ve farklı nutrientler ile aralarındaki etkileşimlerden kaynaklanmaktadır.

DNA hasarı, hücre ölümü ve hücre büyümesi ile ilişkili aşağıdaki interaktif etkileri araştırmayı amaçlayan bu yaklaşımın kullanıldığı prototipler bizim grubumuz ve farklı araştırmacılar tarafından geliştirilmiştir:

1. Sabit fizyolojik metionin konsantrasyonlarında farklı sülfür- ve seleno-metionin oranları [54].
2. Alkolde folat konsantrasyonları [61].
3. Alkol/asetaldehit konsantrasyonları ve ADH1 veya ADLH2 genotipi [62, 63].
4. BRCA1 veya BRCA2 genotipinde folat konsantrasyonları [64, 65].
5. MRHFR C677T genotipinde riboflavin konsantrasyonu ile folat konsantrasyonu [29].

Bu çalışmalarda CBMN Cyt testi kromozomal instabilite, hücre ölümü ve hücre bölünmesi ile ilişkili multipl ölçümlerin yapılması için kullanılmıştır [66, 67]. Bu yaklaşımın sonuçları oldukça ümit vericidir. Çünkü sadece spesifik bir mikrobesin, genotip ve bu parametreler arasındaki etkileşimler ile ilişkili genotoksisite, sitotoksisite, metabolit ve hücre büyüme markerlerindaki yüzdesel varyasyonların tanımlanmasında değil, genetik olarak tanımlanmış hücre tiplerindeki nutrient/DNA hasarı doz-cevap eğrisinin şeklinin belirlenmesinde de kullanılabilir. CBMN Cyt testinin kullanılması bu amaç için özellikle uygundur. Çünkü bir nutriomdaki multipl kombinasyonlardaki mikrobesinler

ve konsantrasyonları arttığında veya azaldığında rölatif DNA hasarı, hücre ölüm olayları ve sitostaz insidansları da değişmektedir. Tek bir metabolik yolakla ilgili nutriomlar ikiden fazla mikrobesin içerebilir. Örneğin folat-metionin döngüsü substrat olarak farklı folat formlarına ve kofaktörler olarak da betain, B12 vitamini, B6 vitamini ve B2 vitaminine ihtiyaç göstermektedir. Bu nedenle nutrient dizilerinin multipl mikrobesinlerin kombinasyonlarını eş zamanlı ve dozla ilişkili şekilde inceleyecek biçimde dizayn edilmeleri de gerekir. Bu dizayn bir mikrobesinin farklı veya çelişkili doz düzeylerinin diğer mikrobesinlerle karşılaştırılmasını da içermelidir.

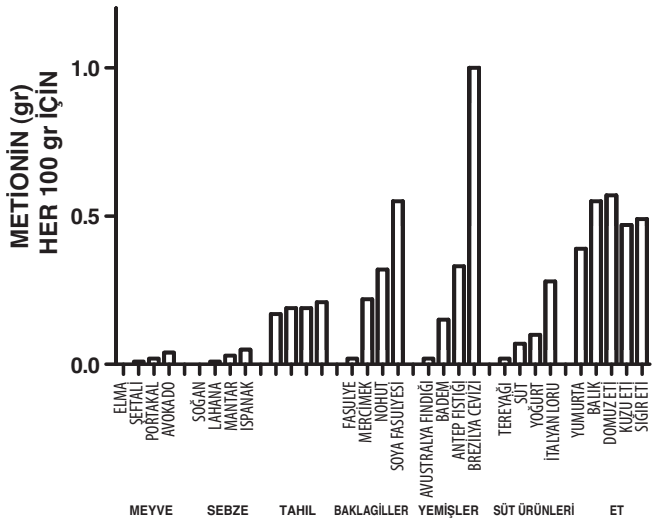
İn vitro nutrient dizi sistemi çeşitli spesifik ve önemli metabolik yolaklar ile ilgili geliştirilmekte olan nutrigenomik matematiksel modellerin [68, 69] doğruluklarının test edilmesinde de ideal bir mekanizma olabilir. Çünkü bu sistemin in vivo insan modellerine kıyasla, diyet girişimlerine uyum, beklenmeyen hayat tarzları, stres ve uyuşturucu kullanımı gibi sorunlardan ve genom hasarı ölçümlerini etkileyebilen çevresel genotoksik etkenlerden daha az etkilenmesi olasıdır. Ayrıca multipl mikrobesinlerin in vivo ortamda test edilmesi oldukça pahalıdır.

5 Kanser Büyümesinin Kontrolü İçin Nutrient Kısıtlaması

Yaşlanmakta olan popülasyonlardaki en önemli problemlerden birisi yaşla artan kanserlerin proliferasyonlarının engellenmesi gereksinimidir. Günümüzde kanser teşhisi alan bireylerde kullanılabilecek valide diyet önerileri mevcut değildir. Çünkü kanserde nutrient-gen ilişkisi ile ilgili bilgilerimiz çok sınırlıdır. Ayrıca genom koruması ve hücre büyümesi (örn. folat, metionin) için takviye amaçlı kullanılan bazı nutrientlerin kanser büyümesini stimüle edebilecekleri yönünde endişeler de mevcuttur. Her kanser türünün büyümesini engelleyebilecek nutriomların tanımlanması mümkün müdür?

Nutriomlar ve nutrient dizi sistemleri ideal olarak, sadece bir bireydeki normal hücrelerde büyüme ve genom koruması için gerekli nütrisyonel gereksinimleri incelemekle kalmamalıdır. Aynı zamanda bu tür bir nutriomun bireyde mevcut olma ihtimali olan kanser hücrelerinin büyümesini stimüle etmediği de doğrulanmalıdır. Kanser hücrelerinin genotiplerinin konağın diğer normal hücrelerine göre farklılıklar göstermesi olasıdır. Bu nedenle aynı nutriomlara farklı cevaplar verebilirler. Örneğin bazı kanser hücreleri folik asit reseptörlerine yüksek afinitelerini artırarak [68] normal hücrelere göre potansiyel olarak avantajlı hale gelirler. Ortamdaki folat miktarı kısıtlandığında çevre sıvılardaki folatı kullanabilirler. Yaşlanmakta olan veya kansere duyarlı bireylerdeki ideal nutriom, normal hücrelerin yenilenmelerinin korunmasını genetik bütünlük içinde sağlarken, kanser hücrelerinin büyümelerini de inhibe etmelidir. Bir bireyde bulunan hem normal hem de kanser hücrelerinin eş zamanlı olarak aynı tek-nutrient dizi sisteminde test edilmesi mantıklı bir yaklaşımdır.

Kanser büyümesinin engellenmesi için nutrigenetik diyet kısıtlaması uygun olabilir. Önerdiğim strateji aşağıdaki basamakları içermektedir:



Şekil 3 Tipik meyveler, sebzeler, tahıllar, baklagiller, sert kabuklu yemişler, süt ve etin her 100 gramında bulunan metionin içeriği: Metionin içerikleri USDA Nutrient Veri Tabanı (http://www.nal.usda.gov/fnic/foodcomp/search/) ile McCance ve Widdowson Kompozisyonu (6. Özet Baskı) gibi gıda içerik tabloları kullanılarak belirlenmiştir.

1. DNA tamir ve büyümesi için gereken mikrobesinlerle spesifik ve güçlü olarak bağlantılı olan kansere yol açan genetik defektin tanımlanması.
2. Nutriom-nutrient dizi sistemi kullanarak mikrobesin kısıtlamasına karşı oluşan duyarlılığın test edilmesi.
3. (1) Genotoksik ilaçlarla yapılan tedavinin tedavi edebilme oranını artırabilmek için bireysel diyet kısıtlamalarının dizaynı, veya (2) Tedavi sonrası kalan kanser kalıntılarındaki hücre büyümesini inhibe edebilecek veya hücre ölümünü indükleyebilecek bireysel diyet kısıtlamalarının dizayn edilmesi.

Sağlıklı hayat süresini uzatabilmek ve kanserlerin büyümelerini kontrol edebilmek amacıyla uygulanan metionin kısıtlaması son zamanlarda önemli derecede ilgi çeken bir konudur (Güncel incelemesi Cavuoto ve Fenech tarafından yapılmıştır [70]). Bu ihtimalin nedeni birçok kanserin metionine bağımlı fenotipe sahip olmasıdır. Kanserlerin metionin metabolizma genlerindeki yan yolaklardaki veya yeni oluşan yolaklardaki mutasyonlardan kaynaklandığı düşünülmektedir. Bu mutasyonların en sık görülen ve en iyi tanımlanmış örneği yan yolaktaki MTAP geninin silinmesidir. Bu mutasyon sıklıkla, kanserlerin tipine bağlı olarak %8-60'ında görülen CDKN2A (p16INK4) silinmesi ile birlikte görülür. Bu iki önemli genetik olayın birlikte görülmesi iki genin 9. kromozomun p koluna çok yakın konumda olmalarından kaynaklanmaktadır. Yüksek metionin düzeyleri hücre büyümesini artırma eğilimi gösterir. Çünkü poliamin sentezi için metionin gereklidir. Kanser hücrelerindeki MTAP silindiği zaman, metionini rejenere edemez hale geldikleri, için tamamen diyetle metionin tedarikine bağımlı hale gelirler. Kanserin

metionine bağımlı olduğu bilgisi, (yukarıda tanımlanan kritik mutasyona sahip olduğu durumlarda) kanserin kontrolü amacıyla diyet metionin kısıtlamasının önerilebileceği düşüncesini doğurmaktadır. Bu yaklaşımın fizibilitesi şu anda laboratuarımızda test edilmektedir. Metionin kısıtlamasının bireysel kanser büyüme kontrolünde (özellikle MTAP silinmesi olan bireylerde) rol oynama ihtimali diyet metionin kaynaklarına daha fazla konsantre olunması gereksinimini doğurmaktadır.

Şekil 3 incelendiğinde en zengin metionin kaynaklarının et, yumurta, bazı süt ürünleri (örn. peynir), bazı sert kabuklu yemişler (örn. Brezilya cevizi) ve bazı baklagiller (örn. soya fasulyesi) olduğu görülmektedir. En fakir kaynaklar ise meyve ve sebzelerdir. Dikkatli olarak düzenlenen meyve ve sebze yönünden zengin vegan diyetlerinin metionin alımını en çok kısıtlayan diyet olacağı açıktır.

6 Sonuçlar

Sonuç olarak nutriomların incelenmesi ve multipl nutrient dozlarına ve kombinasyonlarına verilen genomik cevapların araştırılması makul bir yaklaşım olup aynı zamanda takviye ve kısıtlamaları da içeren tüm nütrisyonel gereksinimlerin eksiksiz olarak tanımlanmasında çok ümit vadeden bir yöntemdir. Bu şekilde normal şekilde farklılaşan propenitor hücrelerin ve kök hücrelerinin büyüme veya çoğalmalarının genetik olarak stabil bir şekilde korunması ve kanser hücrelerinin büyümelerinin baskılanarak yok edilmeleri mümkün olabilecektir.

Referanslar

1. Fenech MF (2010) Dietary reference values of individual micronutrients and nutriomes for genome damage prevention: current status and a road map to the future. Am J Clin Nutr 91(5):1438S–1454S
2. Hoeijmakers JH (2009) DNA damage, aging, and cancer. N Engl J Med 361:1475–1485
3. Larsson NG (2010) Somatic mitochondrial DNA mutations in mammalian aging. Annu Rev Biochem 79:683–706
4. Behrens MI, Lendon C, Roe CM (2009) A common biological mechanism in cancer and Alzheimer's disease? Curr Alzheimer Res 6:196–204
5. Coppede F, Migliore L (2009) DNA damage and repair in Alzheimer's disease. Curr Alzheimer Res 6:36–47
6. Iarmarcovai G, Bonassi S, Botta A, Baan RA, Orsiere T (2008) Genetic polymorphisms and micronucleus formation: a review of the literature. Mutat Res 658:215–233
7. Jiang J, Zhang X, Yang H, Wang W (2009) Polymorphisms of DNA repair genes: ADPRT, XRCC1, and XPD and cancer risk in genetic epidemiology. Methods Mol Biol 471:305–333
8. Mocellin S, Verdi D, Nitti D (2009) DNA repair gene polymorphisms and risk of cutaneous melanoma: a systematic review and meta-analysis. Carcinogenesis 30:1735–1743
9. Ames BN (2003) The metabolic tune-up: metabolic harmony and disease prevention. J Nutr 133:1544S–1548S
10. Ames BN, Wakimoto P (2002) Are vitamin and mineral deficiencies a major cancer risk? Nat Rev Cancer 2:694–704

11. Claycombe KJ, Meydani SN (2001) Vitamin E and genome stability. Mutat Res 475:37–44
12. Dreosti IE (2001) Zinc and the gene. Mutat Res 475:161–167
13. Fenech M (2001) Recommended dietary allowances (RDAs) for genomic stability. Mutat Res 480–481:51–54
14. Fenech M (2001) The role of folic acid and Vitamin B12 in genomic stability of human cells. Mutat Res 475:57–67
15. Fenech M (2003) Nutritional treatment of genome instability: a paradigm shift in disease prevention and in the setting of recommended dietary allowances. Nutr Res Rev 16:109–122
16. Fenech M (2008) Genome health nutrigenomics and nutrigenetics–diagnosis and nutritional treatment of genome damage on an individual basis. Food Chem Toxicol 46:1365–1370
17. Fenech M, Ferguson LR (2001) Vitamins/minerals and genomic stability in humans. Mutat Res 475:1–6
18. Fenech M (2010) Folate, DNA damage and the aging brain. Mech Ageing Dev 131(4):236–241
19. Ferguson LR, Philpott M (2008) Nutrition and mutagenesis. Annu Rev Nutr 28:313–329
20. Hageman GJ, Stierum RH (2001) Niacin, poly (ADP-ribose) polymerase-1 and genomic stability. Mutat Res 475:45–56
21. Halliwell B (2001) Vitamin C and genomic stability. Mutat Res 475:29–35
22. Hartwig A (2001) Role of magnesium in genomic stability. Mutat Res 475:113–121
23. Ho E, Ames BN (2002) Low intracellular zinc induces oxidative DNA damage, disrupts p53, NFkappa B, and AP1 DNA binding, and affects DNA repair in a rat glioma cell line. Proc Natl Acad Sci USA 99:16770–16775
24. Keen CL, Zidenberg-Cherr S (2003) Manganese. In: Zeigler EE, Filer LJ (eds) Present knowledge in nutrition. ILSI Press, Washington DC
25. Lovell MA (2009) A potential role for alterations of zinc and zinc transport proteins in the progression of Alzheimer's disease. J Alzheimers Dis 16:471–483
26. Park S, Johnson MA (2006) What is an adequate dose of oral vitamin B12 in older people with poor vitamin B12 status? Nutr Rev 64:373–378
27. van Ommen B, El-Sohemy A, Hesketh J, Kaput J, Fenech M, Evelo CT, McArdle HJ, Bouwman J, Lietz G, Mathers JC, Fairweather-Tait S, van Kranen H, Elliott R, Wopereis S, Ferguson LR, Meplan C, Perozzi G, Allen L, Rivero D (2010) The micronutrient genomics project: a community-driven knowledge base for micronutrient research. Genes Nutr 5:285–296
28. Crott JW, Mashiyama ST, Ames BN, Fenech M (2001) The effect of folic acid deficiency and MTHFR C677T polymorphism on chromosome damage in human lymphocytes in vitro. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 10:1089–1096
29. Kimura M, Umegaki K, Higuchi M, Thomas P, Fenech M (2004) Methylenetetrahydrofolate reductase C677T polymorphism, folic acid and riboflavin are important determinants of genome stability in cultured human lymphocytes. J Nutr 134:48–56
30. Holzwarth C, Vaegler M, Gieseke F, Pfister SM, Handgretinger R, Kerst G, Muller I (2010) Low physiologic oxygen tensions reduce proliferation and differentiation of human multipotent mesenchymal stromal cells. BMC Cell Biol 11:11
31. Vukicevic V, Jauch A, Dinger TC, Gebauer L, Hornich V, Bornstein SR, Ehrhart-Bornstein M, Muller AM (2010) Genetic instability and diminished differentiation capacity in long-term cultured mouse neurosphere cells. Mech Ageing Dev 131:124–132
32. Fenech M, Baghurst P, Luderer W, Turner J, Record S, Ceppi M, Bonassi S (2005) Low intake of calcium, folate, nicotinic acid, vitamin E, retinol, beta-carotene and high intake of pantothenic acid, biotin and riboflavin are significantly associated with increased genome instability–results from a dietary intake and micronucleus index survey in South Australia. Carcinogenesis 26:991–999
33. Bowman GL, Silbert LC, Howieson D, Dodge HH, Traber MG, Frei B, Kaye JA, Shannon J, Quinn JF (2012) Nutrient biomarker patterns, cognitive function, and MRI measures of brain aging. Neurology 78:241–249

34. Nishida C, Uauy R, Kumanyika S, Shetty P (2004) The joint WHO/FAO expert consultation on diet, nutrition and the prevention of chronic diseases: process, product and policy implications. Public Health Nutr 7:245–250
35. Fenech M (2012) Folate (vitamin B9) and vitamin B12 and their function in the maintenance of nuclear and mitochondrial genome integrity. Mutat Res 733:21–33
36. Stover PJ (2009) One-carbon metabolism-genome interactions in folate-associated pathologies. J Nutr 139:2402–2405
37. de Lange T (2010) How shelterin solves the telomere end-protection problem. Cold Spring Harb Symp Quant Biol 75:167–177
38. Sfeir A, de Lange T (2012) Removal of shelterin reveals the telomere end-protection problem. Science 336:593–597
39. Bull C, Fenech M (2008) Genome-health nutrigenomics and nutrigenetics: nutritional requirements or 'nutriomes' for chromosomal stability and telomere maintenance at the individual level. Proc Nutr Soc 67:146–156
40. Paul L (2011) Diet, nutrition and telomere length. J Nutr Biochem 22:895–901
41. Bull CF, O'Callaghan NJ, Mayrhofer G, Fenech MF (2009) Telomere length in lymphocytes of older South Australian men may be inversely associated with plasma homocysteine. Rejuvenation Res 12:341–349
42. Cassidy A, De Vivo I, Liu Y, Han J, Prescott J, Hunter DJ, Rimm EB (2010) Associations between diet, lifestyle factors, and telomere length in women. Am J Clin Nutr 91:1273–1280
43. Farzaneh-Far R, Lin J, Epel ES, Harris WS, Blackburn EH, Whooley MA (2010) Association of marine omega-3 fatty acid levels with telomeric aging in patients with coronary heart disease. JAMA 303:250–257
44. Nettleton JA, Diez-Roux A, Jenny NS, Fitzpatrick AL, Jacobs DR Jr (2008) Dietary patterns, food groups, and telomere length in the multi-ethnic study of atherosclerosis (MESA). Am J Clin Nutr 88:1405–1412
45. O'Callaghan NJ, Clifton PM, Noakes M, Fenech M (2009) Weight loss in obese men is associated with increased telomere length and decreased abasic sites in rectal mucosa. Rejuvenation Res 12:169–176
46. Richards JB, Valdes AM, Gardner JP, Paximadas D, Kimura M, Nessa A, Lu X, Surdulescu GL, Swaminathan R, Spector TD, Aviv A (2007) Higher serum vitamin D concentrations are associated with longer leukocyte telomere length in women. Am J Clin Nutr 86:1420–1425
47. Xu Q, Parks CG, DeRoo LA, Cawthon RM, Sandler DP, Chen H (2009) Multivitamin use and telomere length in women. Am J Clin Nutr 89:1857–1863
48. Hou L, Zhang X, Gawron AJ, Liu J (2012) Surrogate tissue telomere length and cancer risk: shorter or longer? Cancer Lett 319:130–135
49. Atkuri KR, Herzenberg LA (2005) Culturing at atmospheric oxygen levels impacts lymphocyte function. Proc Natl Acad Sci USA 102:3756–3759
50. Atkuri KR, Herzenberg LA, Niemi AK, Cowan T (2007) Importance of culturing primary lymphocytes at physiological oxygen levels. Proc Natl Acad Sci USA 104:4547–4552
51. Bull CF, Mayrhofer G, Zeegers D, Mun GL, Hande MP, Fenech MF (2012) Folate deficiency is associated with the formation of complex nuclear anomalies in the cytokinesis-block micronucleus cytome assay. Environ Mol Mutagen 53:311–323
52. de Vogel S, Bongaerts BW, Wouters KA, Kester AD, Schouten LJ, de Goeij AF, de Bruine AP, Goldbohm RA, van den Brandt PA, van Engeland M, Weijenberg MP (2008) Associations of dietary methyl donor intake with MLH1 promoter hypermethylation and related molecular phenotypes in sporadic colorectal cancer. Carcinogenesis 29:1765–1773
53. Sharif R, Thomas P, Zalewski P, Graham RD, Fenech M (2011) The effect of zinc sulphate and zinc carnosine on genome stability and cytotoxicity in the WIL2-NS human lymphoblastoid cell line. Mutat Res 720:22–33
54. Wu J, Lyons GH, Graham RD, Fenech MF (2009) The effect of selenium, as selenomethionine, on genome stability and cytotoxicity in human lymphocytes measured using the cytokinesis-block micronucleus cytome assay. Mutagenesis 24:225–232

55. Chango A, Abdel Nour AM, Niquet C, Tessier FJ (2009) Simultaneous determination of genomic DNA methylation and uracil misincorporation. Med Princ Pract 18:81–84
56. Bistulfi G, Vandette E, Matsui S, Smiraglia DJ (2010) Mild folate deficiency induces genetic and epigenetic instability and phenotype changes in prostate cancer cells. BMC Biol 8:6
57. Decordier I, Papine A, Plas G, Roesems S, Vande Loock K, Moreno-Palomo J, Cemeli E, Anderson D, Fucic A, Marcos R, Soussaline F, Kirsch-Volders M (2009) Automated image analysis of cytokinesis-blocked micronuclei: an adapted protocol and a validated scoring procedure for biomonitoring. Mutagenesis 24:85–93
58. Varga D, Johannes T, Jainta S, Schuster S, Schwarz-Boeger U, Kiechle M, Patino Garcia B, Vogel W (2004) An automated scoring procedure for the micronucleus test by image analysis. Mutagenesis 19:391–397
59. Zhao H, Albino AP, Jorgensen E, Traganos F, Darzynkiewicz Z (2009) DNA damage response induced by tobacco smoke in normal human bronchial epithelial and A549 pulmonary adenocarcinoma cells assessed by laser scanning cytometry. Cytometry A 75:840–847
60. Zhao H, Traganos F, Darzynkiewicz Z (2010) Kinetics of the UV-induced DNA damage response in relation to cell cycle phase correlation with DNA replication. Cytometry A 77:285–293
61. Teo T, Fenech M (2008) The interactive effect of alcohol and folic acid on genome stability in human WIL2-NS cells measured using the cytokinesis-block micronucleus cytome assay. Mutat Res 657:32–38
62. Ishikawa H, Ishikawa T, Yamamoto H, Fukao A, Yokoyama K (2007) Genotoxic effects of alcohol in human peripheral lymphocytes modulated by ADH1B and ALDH2 gene polymorphisms. Mutat Res 615:134–142
63. Kim JS, Kim YJ, Kim TY, Song JY, Cho YH, Park YC, Chung HW (2005) Association of ALDH2 polymorphism with sensitivity to acetaldehyde-induced micronuclei and facial flushing after alcohol intake. Toxicology 210:169–174
64. Beetstra S, Salisbury C, Turner J, Altree M, McKinnon R, Suthers G, Fenech M (2006) Lymphocytes of BRCA1 and BRCA2 germ-line mutation carriers, with or without breast cancer, are not abnormally sensitive to the chromosome damaging effect of moderate folate deficiency. Carcinogenesis 27:517–524
65. Beetstra S, Suthers G, Dhillon V, Salisbury C, Turner J, Altree M, McKinnon R, Fenech M (2008) Methionine-dependence phenotype in the de novo pathway in BRCA1 and BRCA2 mutation carriers with and without breast cancer. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 17:2565–2571
66. Fenech M (2006) Cytokinesis-block micronucleus assay evolves into a “cytome” assay of chromosomal instability, mitotic dysfunction and cell death. Mutat Res 600:658–666
67. Fenech M (2007) Cytokinesis-block micronucleus cytome assay. Nat Protoc 2:1084–1104
68. Kelemen LE (2006) The role of folate receptor alpha in cancer development, progression and treatment: cause, consequence or innocent bystander? Int J Cancer 119:243–250
69. Nijhout HF, Gregory JF, Fitzpatrick C, Cho E, Lamers KY, Ulrich CM, Reed MC (2009) A mathematical model gives insights into the effects of vitamin B-6 deficiency on 1-carbon and glutathione metabolism. J Nutr 139:784–791
70. Cavuoto P, Fenech MF (2012) A review of methionine dependency and the role of methionine restriction in cancer growth control and life-span extension. Cancer Treat Rev 38:726–736

Melanomun Önlenmesi ve Tedavisinde Özgün Yaklaşımlar

Antonio M. Grimaldi, Pamela B. Cassidy, Sancy Leachmann ve Paolo A. Ascierto

Özet

Kutanöz melanom insidansı diğer malignitelere göre anlamlı olarak daha yüksek oranlarda artmaktadır. Bu artış popülasyonların hem güneş hem de solaryum kaynaklı aşırı ultraviyole (UV) radyasyonu maruziyetlerinin tehlikeleri hakkında bilgilendirilme çabalarına rağmen sürmektedir. Melanom görece daha genç popülasyonları etkileyen ve metastaz yapma eğilimi ile mevcut terapötik rejimlere zayıf cevap vermesi ile tanınan bir hastalıktır. Bu faktörler melanomun önlenmesini, hastalık ile ilişkili mortalitenin azaltılması için gösterilen çabaların vazgeçilmez bir komponenti haline getirmiştir. Melanositlerin malign melanoma dönüşmesinde genetik faktörler, ultraviyole radyasyon ve tümör mikroçevresi arasındaki etkileşimler rol oynar. UV radyasyonunun melanom etyolojisindeki rolü hem foto ürünlerinin formasyonu ile oluşan DNA hasarından hem de reaktif oksijen türlerinin üretiminden kaynaklanmaktadır. Melanomun önlenmesi amacıyla geliştirilmekte olan ümit verici antioksidan ajanların çoğu gıda kaynaklıdır. Serin/treonin-spesifik protein kinazlar içeren Raf kinaz ailesinin bir üyesi olan B-Raf, MAP kinaz/ERK sinyal yolağının regülasyonunda rol oynamaktadır. Melanomların yaklaşık %50'sinde BRAF mutasyonları mevcuttur. Melanomlarda bulunan BRAF mutasyonları gövde ve kol-

A. M. Grimaldi · P. A. Ascierto (✉)
Unit of Melanoma, Immunotherapy and Innovative Therapies, Istituto Nazionale per lo Studio e la Cura dei Tumori Fondazione G. Pascale, Via Mariano Semmola, 80131, Naples, Italy
e-mail: paolo.ascierto@gmail.com

P. B. Cassidy · S. Leachmann
Huntsman Cancer Institute, University of Utah, Melanoma and Cutaneous Oncology Program, Salt Lake, UT, USA

V. Zappia et al. (eds.), *Advances in Nutrition and Cancer,*
Cancer Treatment and Research 159, DOI: 10.1007/978-3-642-38007-5_25,
© Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2014

ları aralıklı olarak güneşe maruz kalanların %59'unda oluşurken, aynı mutasyon akral melanomların sadece %23'ünde, mukozal melanomların %11'inde mevcuttur. Üveal melanomlarda bu mutasyon görülmez. İki yeni ajan olan ipilimumab ve vemurafenibin ileri melanomun sonuçlarında iyileşmelere yol açtığı Amerikan Klinik Onkoloji Derneği'nin 2011 yılındaki yıllık toplantısında sunulmuştur. Vemurafenib BRAFV600 mutasyonu olan metastatik melanomda progresyonsuz sağkalımda ve genel sağkalımda iyileşmeye yol açtığı gösterilen ilk bileşiktir. Aynı zamanda antiproliferatif etkisini yüksek oranda spesifik moleküler bir hedefin inhibisiyonu ile gösteren ilk ilaç sınıfına ait ilk ilaçtır. GSK2118436 (dabrafenib) faz I ve faz II çalışmalarda vemurafenib ile benzer sonuçlar veren ikinci BRAF inhibitörüdür. Bir faz III çalışması şu anda sürmektedir. Vemurafenib ve dabrafenibin klinik geliştirme süreçlerinde, BRAF inhibitörlerinin bu mutasyonu taşıyan melanomların progresyonlarını durdurabildiği veya tersine çevirebildiği net olarak gösterilmiştir. BRAF inhibitörleri tarihsel standart tedavilere göre de sağkalım zamanlarını artırmıştır (kemoterapi ve interlökin-2). RAF265 ve LGX818 gibi BRAF inhibitörlerinin klinik geliştirme süreçleri de devam etmektedir. BRAF inhibitörlerinin ipilimumab, bir anti-CTLA-4 antikoru ve/veya MEK inhibitörleri veya metformin ile kombinasyon stratejileri klinik çalışmalarda araştırılmaktadır.

Anahtar Kelimeler

Melanom • BRAF • İpilimumab • Vemurafenib • Dabrafenib

Kısaltmalar

GTE	Yeşil çay ekstresi
EGCG	Epigallokateçin-3-gallat
CSD	kronik güneş hasarı
CTLA-4	sitotoksik T lenfosit ile ilişkili antijen 4
cSCC	Kutanöz skuamöz hücreli karsinom
VEGFR-2	vasküler endotelyal büyüme faktörü reseptörü 2

İçindekiler

1 Giriş 445
2 Melanom Önleme Stratejileri 445
2.1 Diyet ve Melanom 446
2.2 BRAF Proteininin Melanomdaki Rolü 447
2.3 İleri Melanom Tedavisi 449
3 Sonuçlar 452
Referanslar 453

1 Giriş

Kutanöz melanom insidansı diğer malignitelere göre anlamlı olarak daha yüksek oranlarda artmaktadır. Son 30 yıl içinde beyaz ırkta yıllık yaklaşık %3'lük artış görülmüştür. Bu artış halkın, hem güneş hem de solaryum kaynaklı aşırı ultraviyole radyasyonu maruziyetlerinin tehlikeleri hakkında bilgilendirilme çabalarına rağmen sürmektedir [1]. Melanom ile ilişkili diğer risk faktörleri arasında açık renkli ve bronzlaşamayan cilt, kızıl saç, açık göz rengi, çok sayıda veya atipik benler, >50 yaş, erkek cinsiyet ve kişisel veya ailesel hikaye mevcuttur [2]. Erken evrelerde tespit edilen kutanöz melanom vakalarının %90'ından fazlası cerrahi eksizyon ile kesin tedavi edilir. Ancak bölgesel metastaz varlığındaki 5 yıllık sağkalım %60'a, uzak metastaz varlığında ise %16'nın altına düşmektedir [3]. Melanom görece daha genç popülasyonları etkileyen ve metastaz yapma eğilimi ile mevcut terapötik rejimlere zayıf cevap vermesi ile tanınan bir hastalıktır. Bu faktörler melanomun önlenmesini, hastalık ile ilişkili mortalitenin azaltılması için gösterilen çabaların vazgeçilmez bir komponenti haline getirmiştir.

Epidemiyolojik veriler UV radyasyonunun melanom için majör çevresel karsinojen olduğunu göstermektedir. B (UV-B; 260–320 nm) ve A (UV-A; 320–400 nm) dalga boylarında UV maruziyeti sporadik melanom gelişimi ile biyolojik olarak en ilişkili çevresel risk faktörüdür. Ancak UV radyasyonunun melanomu indükleme mekanizması henüz tam olarak anlaşılamamıştır. Melanositlerin malign melanoma dönüşmesinde genetik faktörler, ultraviyole radyasyon ve tümör mikroçevresi arasındaki etkileşimlerin rol oynadığı günümüzde anlaşılmıştır [4].

Dokuz farklı ülkeden 20 araştırmacı solaryum kullananlarda görülen cilt kanseri insidansları ile ilişkili 20'den fazla epidemiyolojik çalışmanın analizini yapmıştır. Verilerin incelenmesi ile 30 yaşından önce solaryum kullanmaya başlayanlardaki melanom riskinin %75 arttığı bulunmuştur. Bu metaanalizin ayrıntılı makalesi "The Lancet Oncology" dergisinde yayınlanmıştır [5]. Makale Dünya Sağlık Örgütünün (WHO) solaryumdan ve aşırı güneş ışığından kaçınılması yönündeki önerisini desteklemektedir. Uluslararası Kanser Araştırma Ajansı (IARC) UV ışınları yayan bronzlaşma cihazlarını "muhtemel karsinojen" kategorisinden "insanlar için karsinojen" kategorisine yükseltmiştir (WHO IARC Çalışma Grubu) [6]. Bu yeni sınıflandırma solaryum ve güneş ışığı lambalarını asbest, radon, sigara, alkol ve hepatitin de bulunduğu faktörleri içeren kanser risk faktörleri grubuna sokmuştur.

2 Melanom Önleme Stratejileri

Melanomun önlenmesi primer, sekonder ve tersiyer stratejilerden oluşur. Primer önleme stratejileri karsinogenezin en erken evresinde yani kanserin ilk etkisinin görülmesinden önce uygulanır. Güneş kremleri gibi primer önleme stratejileri "normal" bir hücrenin maruz kaldığı ilk mutasyonları azaltmaktadır. Sekonder korumayı oluşturan,

tarama protokolleri kullanılan önleme rejimleri, premalign lezyonları erkenden tespit etmeyi veya bu lezyonların kansere dönüşmesini engelleyen ajanlarla tedaviyi içerir. Tersiyer koruma kanser tedavisi gören hastalardaki reküransların önlenmesi ve sağkalım süresinin uzatılmasını amaçlar.

UV radyasyonuna maruziyet foto ürünlerinin formasyonu ile direkt DNA hasarına yol açarken, reaktif oksijen türleri de indirekt oksidatif hasara neden olur. Her iki etki de UV ile indüklenen karsinogeneze ve foto yaşlanmaya neden olur [7]. Melanomdan koruma amaçlı geliştirilmekte olan ümit verici antioksidan ajanların büyük bölümü gıda kaynaklarından elde edilir ve oksidatif DNA hasarını azaltarak etki gösterir.

2.1 Diyet ve Melanom

2.1.1 Likopen

Likopen sıklıkla domateste bulunan kırmızı renkli bir bileşiktir. Tüm karotenoidlerin en etkili oksijen söndürücü (ve antioksidan) olanıdır. İngiltere'de yayınlanan yeni bir makalede UV ile indüklenen ışın hasarı, 12 hafta boyunca günlük olarak zeytinyağı içinde 55 gram domates salçası (16 mg likopen) tüketen kadınlarda sadece zeytinyağı tüketenlere göre anlamlı olarak azalmıştır [8]. Ancak primer melanomun önlenmesinde likopen kullanımı için hala fare melanom modellerinde preklinik değerlendirme yapılmasına ihtiyaç vardır.

2.1.2 Sulforafan

Brokoli filizlerinden izole edilen küçük moleküllü bir antioksidan olan sulforafan (SF), turpgiller ailesine ait sebzelerin büyük oranda tüketiminin kanser riskini azalttığı gözlemini açıklamak amacıyla dizayn edilen bir çalışmada tespit edilen kimyasal maddelerden biridir. Reaktif oksijen türlerini direkt olarak etkileyen karotenoidlerin aksine, SF antioksidan kapasitesini dokulardaki doğal antioksidan enzimleri yukarı regüle ederek gösterir. SF'nin topikal olarak uygulanması ile antioksidan enzimlerin indüklendiği ve insan cildindeki UV radyasyonuna karşı oluşan MED'i (minimal eritem dozu) artırdığı bulunmuştur [9]. İkinci bir çalışmada farelerin brokoli filizlerinden oluşan takviye ile oral yoldan beslenmesinin UV ile indüklenen skuamoz hücreli karsinomları azalttığı gösterilmiştir [10]. Ancak SF'nin melanomdan primer korunmadaki kullanımı henüz fare modelinde test edilmemiştir.

2.1.3 Yeşil çay ekstresi

Yeşil çayın antikanser özelliklerinin içerdiği polifenollerden (özellikle (-) epigallokateçin-3-gallat (EGCG)) kaynaklandığı düşünülmektedir. EGCG'nin kimyasal özellikleri hem güneş kremi hem de serbest radikal söndürücüsü olarak etki yapabileceğini göstermektedir. Ancak bu özelliklerin tek başına biyolojik aktivite göstermesi için yetip yetmediği

şüphelidir [11]. Yeşil çay ekstresi ve EGCG fare modellerindeki UV kaynaklı melanom üzerinde test edilmemiştir. EGCG'nin eşgenetikli fare melanom modelinde kuyruk venine B16 melanom hücrelerinin enjekte edilmesi sonrasında akciğer metastazlarını azalttığı bulgusu sekonder önleme modalitesinde kullanılabileceğini göstermiştir [12]. Topikal EGCG uygulaması UV radyasyonuna maruz kalan insan cildinde eritem, oksidatif stres ve enflamatuar lökositlerin infiltrasyonunu azaltmış ve DNA'daki pirimidin dimer tamirini iyileştirmiştir. Güneş kremlerini de içeren birçok cilt bakımı ürünü yeşil çay ekstresi içermektedir. Ancak birçoğunun polifenol içeriği standardize değildir. Yeşil çay ekstresinin ve EGCG'nin melanomu da kapsayan cilt kanserlerinin önlenmesini araştıran daha ileri klinik çalışmalara kesinlikle ihtiyaç vardır.

2.2 BRAF Proteininin Melanomdaki Rolü

B-Raf, serin/treonin-spesifik protein kinazlar içeren Raf kinaz ailesinin bir üyesidir. Bu protein MAP kinaz/ERK sinyal yolağının regülasyonunda hücre bölünme, farklılaşma ve sekresyonunu etkileyerek rol oynar [13]. Bu gendeki mutasyonlar melanom, papiler tiroid karsinomu, kolorektal kanser, non-Hodgkin lenfoma, küçük hücreli olmayan akciğer karsinomu ve akciğer adenokarsinomu gibi farklı kanser türlerinde görülür [14].

İnsan kanserlerinde BRAF geninin otuzdan fazla mutasyonu tespit edilmiştir. BRAF mutasyonlarının sıklığı insanlardaki kanserin türüne göre büyük farklılıklar gösterir. Melanomların yaklaşık %50'sinde BRAF mutasyonları mevcuttur. Bu mutasyonların %90'ı kodon 600 düzeyindedir (örn. V600E mutasyonu). En sık görülen ikinci mutasyon BRAFV600 K'dır [15]. Kutanöz melanomlardaki yüksek BRAF mutasyonu prevalansı ve UV ile melanom arasındaki epidemiyolojik link, BRAFV600E mutasyonunun UV hasarına bağlı olarak ortaya çıktığı spekülasyonunu doğurmuştur. Melanomlarda bulunan BRAF mutasyonları gövde ve kolları aralıklı olarak güneşe maruz kalanların %59'unda oluşurken, aynı mutasyon akral melanomların sadece %23'ünde, mukozal melanomların %11'inde [16] mevcuttur. Üveal melanomlarda bu mutasyon görülmez [17, 18]. UV-BRAF arasındaki bağlantı kronik olarak güneşe maruz kalan (solar elastoza işaret eden histopatolojik kanıtlar ile tanımlanır) bölgelerdeki BRAFV600E mutasyonunun sadece %11 olduğunun tespit edilmesiyle komplike hale gelmiştir [19]. Bu çelişkili gözlemler BRAF mutasyonlarının oluşumunda rol oynayan ve özellikle güneş maruziyetini de içeren moleküler faktörlerle ilgili belirsizlikleri vurgulamaktadır. BRAFV600E, melanom progresyonu ile ilişkili farklı mekanizmalar da rol oynamaktadır: Aşağı yönlü MEK/ERK yolağının aktivasyonu, senesans ve apoptozdan sakınma, kontrolsüz replikatif potansiyel, anjiogenez (MEK'ye bağımlı HIF-1α ve VEGF aktivasyonu yoluyla), doku invazyonu, metastaz (migrasyon, integrin sinyali, hücre kontraktilitesi, tümör ve mikroçevre kaynaklı interlökin-8 gibi çeşitli proteinlerin yukarı regülasyonu), immun cevaptan sakınma [20]. Primer melanomların klinikopatolojik özellikleri şu bulgularla tutarlı olarak ilgilidir: Genç yaşlarda da görülen mutant BRAF,

çevre dokularda kronik güneş hasarının daha az sayıda markeri, daha yüksek total vücut beni sayısı, spesifik histopatolojik bulgular (büyük epiteloid kriptomorfoloji, ağır melanizasyon ve melanositlerin belirgin yukarı yönlü epidermal yayılımı). Bir Avustralya araştırma grubu [21] metastatik melanomdaki onkogenik BRAF mutasyonlarının sıklık ve tiplerini araştıran çalışmanın sonuçlarını ve BRAF statüsünün klinikopatolojik özellikler ve sonuçlarla ilişkisini yayınlamıştır. Cerrahi olarak çıkarılması mümkün olmayan AJCC evre IIIC ve evre IV melanomu olan 197 hasta çalışmaya alınmıştır. 95 hastada mutasyonlu BRAF tespit edilmiştir (%48). Mutant BRAF melanomu olan hastalar normal (wild-type) BRAF melanomu olan hastalara gör hem uzak metastaz tanısı esnasında (medyan yaş, sırasıyla 55.8'e karşı 63.1) hem de primer melanom tanısı esnasında (medyan yaş, sırasıyla 55.8'e karşı 63.1) daha genç yaştaydı. Metastatik melanomu olan hastaların hastalıksız intervali de içeren diğer özellikleri, mutant BRAF veya normal BRAF olan hastalar arasında anlamlı farklılıklar göstermemiştir. Bu çalışma BRAF mutant metastatik melanomu olan hastaların genel prognozunun hastalıksız sağkalım yönünden normal BRAF olan hastalardan daha iyi olmadığını göstermiştir. Buna rağmen çalışma periyodu sırasında yeni teşhis edilen melanomu olan BRAF mutant hastaların üçte ikisine BRAF inhibitörü tedavisi verilmemiş ve bu hastalardaki genel sağkalım normal BRAF olan hastalara göre tutarlı olarak daha kötü bulunmuştur. Primer melanomdaki mutant BRAF ile bağlantılı olan faktörler kanserin bölgesi (gövde), kronik güneş hasarı, nodüler ve yüzeysel yayılan histopatolojik alt tipler, ve mitoz sayılarıdır. Bu bulgular mutant BRAF olan melanomun biyolojik olarak heterojen olduğu ve özel bir fenotip oluşturacak şekilde diğer genetik değişimlerle birlikte etki yaptığı görüşünü desteklemektedir. BRAF onkogeninde aktive edici mutasyon varlığı uzak ve rezeke edilemeyen metastazların gelişim zamanı üzerinde bir etki yapmamıştır. Ancak devamında daha kötü sonuçlar ile ilişkilidir. Uzak metastaz teşhisi sonrası yapılan sağkalım analizlerinde, BRAF inhibitörü kullanan BRAF mutant hasta alt kümesinden dolayı iki nedenle karışıklık oluşmuştur. Birincisi BRAF inhibitörlerinin genel sağkalımı uzatmasıdır; ikincisi klinik çalışmalarda yer almak üzere seçilen hastaların daha iyi performans statüsü, semptomatik beyin metastazlarının yokluğu ve diğer ölçülemeyen faktörleri de kapsayan daha iyi prognostik faktörlere sahip olma ihtimalleridir. Metastatik melanom olan hastalarda mutant BRAF varlığı, ilk melanomun teşhisinden ilk uzak metastaz teşhisine kadar olan interval üzerinde bir etki yapmamıştır (ilk rezeke edilemeyen lokorejyonal rekürans dahil). BRAF inhibitörlerinin BRAF mutant hastalardaki sağkalım analizinde karışıklığa neden olması kısmen bu gruptaki hastaların diğer hastalara göre daha uzun sağkalıma sahip olmalarından kaynaklanmaktadır. BRAF mutasyonunun varlığı metastatik melanom hastalarında daha kısa sağkalım ile ilişkili gözükmektedir. Ancak bu bulgu BRAF inhibitörlerinin henüz mevcut olmadığı zamanlardaki hasta kohortlarında konfime edilmelidir.

2.3 İleri Melanom Tedavisi

2.3.1 2011'den Önce İleri Melanom Tedavisi

ABD Gıda ve İlaç İdaresi (FDA) tarafından 2011 öncesinde metastatik melanom tedavisinde onaylı olan tek kemoterapötik ajan olan dakarbazin ile yapılan faz III çalışmalardaki cevap oranı %7-12, medyan genel sağkalım ise tedavi başlangıcından itibaren 5.6-7.8 ay bulunmuştur [22].

2.3.2 2011'den Sonra İleri Melanom Tedavisi

İpilimumab ve vemurafenibın ileri melanom tedavisinde kullanıldığı iki farklı çalışmanın sıradışı ilerlemeler içeren pozitif sonuçları yayınlanmıştır. ipilimumab CTLA-4'e bağlanan (sitotoksik T lenfosit ile ilişkili antijen 4) tam bir insan antikoru olan ve doğal immun cevapların regülasyonunda kritik rol oynadığına inanılan sitotoksik T lenfositleri etkileyen bir moleküldür [23]. CTLA-4'ün varlığı immun sistemin hastalıklarla savaşan T-hücre cevabının zayıflamasına neden olurken, yokluğu ise bu cevabın güçlenmesine neden olur. İpilimumab CTLA-4 aktivitesini bloke edecek şekilde dizayn edildiği için melanom hücrelerine saldırırken aynı zamanda aktif immun cevabın ortaya çıkmasına da neden olur. İpilimumabın melanomda görülen immun toleransı tersine çevirici etkisi bir hasta popülasyondan uzun süreli yanıt alınmasına neden olmuştur. Aynı zamanda otoimmun yan etkiler de indüklenmiştir [24].

Onkogenik mutant BRAF'ın selektif ve potent inhibitörü [25] olan vemurafenib (PLX4032/RG7204/RO5185426) klinik çalışmalarda çok iyi sonuçlar vermiştir. Daha önce melanom tedavisi gören ve BRAFV600E mutasyonu olan hastalarda yapılan faz II çalışmada vemurafenibin aktivitesi, genel cevap oranı (tedavi edilen hastalardaki tümör cevabını ölçen primer sonlanım noktası), cevabın süresi ve genel sağkalım ölçülerek tespit edilmiştir. Çalışmaya alınan 132 hasta günde iki kez 960 mg oral vemurafenib ile (kabul edilemeyen yan etkiler veya progresyon görülene kadar) tedavi edilmiştir. Çalışmada konfirme cevap oranının %53, cevabın süresinin 6.7 ay, medyan genel sağkalımın 15.9 ay bulunmuş olması melanom hastaları için eşi görülmemiş sonuçlar anlamına geliyordu [26].

Takip süresi boyunca (medyan 12.9 ay, aralık 0.6-20.1) vemurafenib kullanırken progresyon görülen hastaların %24'üne ipilimumab tedavisi uygulanmıştır. Planlanmamış bir post hoc analizde medyan genel sağkalım 15.9 ayda kalmıştır (%95 CI %11.6-%18.3) [27].

2.3.3 BRIM-3 Sonuçları

İki kollu, randomize, faz III BRIM-3 (melanomda BRAF inhibitörü-3) çalışmasında günde iki kez 960 mg oral vemurafenib ile 1000 mg/m^2 dozunda her üç haftada bir kullanılan dakarzabin kemoterapisinin birinci basamak tedavi olarak kullanımları metastatik melanom hastalarında karşılaştırılmıştır. Progresyonsuz sağkalım ve genel sağkalım çalışmanın primer sonlanım noktasını oluşturuyordu. Daha önce tedavi görmemiş, rezeke edilemeyen evre IIIC veya evre IV metastatik melanomu ve BRAFV600E mutasyonu

olan 675 hasta çalışmaya alınmıştır. Çalışmanın sonuçları BRAFV600E mutasyonu olan hastalardaki ölüm riskinin %63, tümör progresyonu riskinin ise %74 azaldığını göstermiştir. Uzun süreli takipte vemurafenib kolundaki genel sağkalım 13.2 ay, dakarzabin kolunda ise 9.9 ay bulunmuştur. Vemurafenib kolundaki hastaların %38'inin doz azaltımına ihtiyaç duymuş olması dikkat çekicidir [28]. Vemurafenib ile en sık görülen advers olaylar kutanöz olaylar, artralji ve yorgunluktur. BRIM-3 çalışmasında fotosensitiviteye bağlı 2 ve 3. derecede deri reaksiyonları hastaların %12'sinde görülmüştür. Su toplama ile karakterize 3. derece reaksiyonlar sıklıkla güneş kremi ile engellenebilmiştir. BRIM-3 çalışmasındaki vemurafenib grubundaki 336 hastanın 129'unda (%38) doz modifikasyonu veya tedavinin kesilmesi gerekmiştir. 61 hastada (%18) kutanöz skuamöz hücreli karsinom (cSCC), keratoakantom veya her iki rahatsızlık birlikte görülmüştür Tüm lezyonlar basit eksizyon ile tedavi edilmiştir. Vemurafenib bugüne kadar tamamlanan tüm klinik çalışmalarda iyi tolere edilmiştir. BRIM-3 çalışmasında, 1-2 derece ve 3-4 derece advers olayların oranı daha önce yapılan çalışmalar ile benzer bulunmuştur.

Vemurafenib BRAFV600 mutasyonu olan metastatik melanomda progresyonsuz sağkalım ve genel sağkalımı artırdığı gösterilen ilk bireyselleştirilmiş bileşiktir. BRIM-3 çalışmasının sonuçları metastatik melanom tedavisinde bugüne kadar elde edilen en dramatik ilerlemelerin gösterildiği çalışmadır. ABD Gıda ve İlaç İdaresi (FDA) 17 Ağustos 2011'de rezeke edilemeyen veya BRAFV600E mutasyonu (FDA tarafından onaylı bir test ile tespit edilen) olan metastatik melanomun birinci ve ikinci basamak tedavisinde vemurafenib kullanımını onaylamıştır. Avrupa İlaç Ajansının (EMA) İnsan İlaç Ürünleri Komitesi (CHMP) 15 Aralık 2011'de vemurafenibin metastatik veya rezeke edilemeyen BRAFV600 mutasyonlu melanom tedavisinde kullanım için pazara verilmesine izin verilmesini tavsiye etmiştir. Avrupa komisyonu 17 Şubat 2012'de 27 Avrupa Birliği ülkesinde pazarlama izni vermiştir (Patient W.A.I.T. Indicator EFPIA 2010).

2.3.4 BRAF İnhibitörü Tedavisinin Geleceği

İkinci BRAF inhibitörü olan GSK2118436 (dabrafenib) ile yapılan faz I ve faz II çalışmalarda [29] vemurafenib çalışmalarına benzer sonuçlar elde edilmiştir. Dabrafenib mutant V600EBRAF'ın (mt BRAF) yüksek oranda spesifik bir inhibitörüdür. Dabrafenib melanom hücre dizilerindeki mutant BRAF'ı vemurafenibden dört kat daha güçlü inhibe ederken, mutant BRAF olan selektivitesi de (doğal BRAF'a göre) vemurafenib ile benzer düzeydedir. Faz I sonuçları hem güvenlik hem de etkinlik anlamında en az vemurafenib ile yapılan faz I çalışmaların sonuçları kadar etkileyicidir. Dabrafenib ile yapılan faz I çalışmasının dizaynı vemurafenib çalışmasının dizaynına benzerdir. Elde edilen sonuçlar ise daha çarpıcıdır. Çalışmanın doz artırma fazında kaydedilen 93 hastanın 85'inde metastatik melanom mevcuttu. Melanom hastalarının 76'sında aktive edici BRAF mutasyonları vardı. En yüksek iki dozla tedavi edilen 16 hastanın 10'unda ölçülebilir cevap elde edilmiştir (%63 cevap oranı). Bir faz III çalışma ise hala sürmektedir. Ayrıca beyin metastazı olan melanom hastalarında da cevaplar görülmüştür. Vemurafenib ve dabrafenibin klinik geliştirme süreçleri BRAF inhibitörlerinin bu mutasyonu taşıyan

melanomların progresyonlarını durdurabildiği veya tersine çevirebildiği (en azından geçici olarak) net olarak gösterilmiştir. BRAF inhibitörleri ayrıca standart tarihsel tedavilere kıyasla sağkalım zamanlarını da artırmıştır (kemoterapi ve interlökin-2).

RAF265 ise BRAF, CRAF ve mutant BRAF'ı da inhibe edebilen oral kullanılan bir başka selektif RAF inhibitörüdür. RAF265 vasküler endotelyal büyüme faktörü reseptörü 2'yi (VEGFR-2) inhibe ederek antianjiogenik aktivite de gösterir. RAF265 BRAF mutant ksenogreft fare modelinde doza bağlı tümör regresyonuna yol açmıştır ([30] Stuart ve ark. 2001). RAF265 ileri malign melanomlu hastalarda yapılmakta olan faz I çalışmada araştırılmaktadır.

LGX818 [31] mükemmel bir farmakolojik profile imkan veren özgün biyokimyasal özelliklere sahip potent ve selektif RAF kinaz inhibitörüdür. LGX818, BRAFV600E eksprese eden hücreler üzerinde selektif antiproliferatif ve apoptotik etkiye sahiptir. LGX818, A375 (BRAFV600E) insan melanom hücre dizilerinde fosfo-ERK'i (EC_{50} = 3 nM) suprese ederek potent proliferasyon inhibisyonuna yol açar. LGX818 bağışıklık sistemi zayıflatılmış fare ve sıçanlardaki multipl insan ksenogreft modellerinde tümör regresyonunu 1 mg/kg gibi düşük dozlarda indükleyebilmektedir. BRAF mutant tümörleri olan hastalarda yapılan faz I çalışma halen sürmektedir (http://cancertrialaustraliaa.com/Clinical-Trials-Register.aspx.Cancer Trials Australia).[32]

2.3.5 Kombinasyon Stratejileri

Vemurafenib ile ipilimumab kombinasyonunun güvenlik, tolerabilite ve etkinliğini araştıran faz I/II çalışma dizayn edilmiştir [33]. Bu tedavi hedefe yönelik ve immunoterapi yaklaşımlarını kombine etmektedir. İki ilacın etki mekanizmaları farklıdır. İpilimumab (ABD'de birinci ve ikinci basamak tedavide, Avrupa'da ikinci basamak tedavide 3 mg/kg dozunda ileri evre rezeke edilemeyen melanom hastalarının tedavisinde kullanılır) aktif immun cevabın sürdürülmesini sağlar. Vemurafenib ve ipilimumab farklı etki paterni de gösterirler: Vemurafenib hızlı etki göstererek metabolizmayı durdurur. Ancak hastalık medyan olarak 6-8 ay sonra progresyon gösterir. İpilimumab ise daha yavaş etki gösterir ve hastalığı kronik hale getirme yeteneği vardır.

Başka bir kombinasyon da BRIM-7 çalışmasında test edilmektedir [34]. Bu faz Ib, doz yükseltme çalışması tek başına vemurafenib tedavisi ile progresyon görülen BRAFV600E pozitif metastatik melanom hastalarında, vemurafenib ile GDC-0973 kombinasyonunun güvenlik, tolerabilite ve farmakokinetiklerini araştırmayı amaçlamaktadır. GDC-0973, BRAF'ın aşağı yönlü hedefi olan MEK1/2'nin potent ve yüksek oranda selektif inhibitörüdür. Bu kombine tedavinin altında yatan mantık iki aşamalıdır: Birincisi progresyonsuz sağkalım üzerinde aditif ve muhtemelen de sinerjistik etki beklentisidir; ikincisi ise BRAF inhibitörleri tek başlarına kullanıldığında MEK yolağının paradoksik olarak stimüle olabilmesi ile ortaya çıkabilen muhtemel toksisitenin engellenmesidir. BRAF inhibitörlerinin tek başlarında kullanıldığı çalışmaların çoğunda bildirilen kutanöz skuamöz hücreli karsinom ve keratoakantomaların ortaya çıkmalarının nedeni bu paradoksik etki olabilir. Güncel faz I ve faz II çalışmalarda bu yaklaşımın güvenli olduğu ve her iki ajanın tek

başlarına kullanımları ile oluşan toksisiteyi azalttığı gösterilmiştir. Faz I çalışmasına 43 BRAF mutasyonlu melanom hastası (tümü BRAF inhibitörü naif) kaydedilmiştir. 3. derece advers etkiler olarak generalize döküntü (%2.4) ve nötropeni (%2.4) görülmüştür. 2. derece ve daha ileri cilt toksisiteleri 9 hastada (%20) görülmüştür. Bunlar arasında 2. derece döküntü (%4.8) ve maküler döküntü mevcuttur (n=1). Herhangi bir doz düzeyinde kutanöz skuamöz hücreli karsinom ve hiperproliferatif cilt lezyonları görülmemiştir. Değerlendirilen 16 hastadan 13'ü parsiyel cevap verirken, 3'ünde hastalık stabil hale gelmiştir. Objektif cevap oranı (ORR) %81'dir (%95CI %54.4-96.0). İki hasta dışındaki tüm hastalar tamamlamıştır. Bir başka kombinasyon çalışmasında günde iki kez 150 mg dabrafenib + günde bir kez ≥1 mg trametinib uygulanan 10 hastanın, 9'u parsiyel cevap verirken, 1'inde de hastalık stabil hale gelmiştir. Günde bir kez 2 mg uygulanan trametinib, günde iki kez 150 mg dabrafenib ile güvenle kombine edilmiştir. Şu ana kadar skuamöz hücreli karsinom vakasına rastlanmamıştır. Ayrıca bu kombinasyon ile daha önce tek başına dabrafenib veya trametinib kullanılan çalışmalarda görülen deri döküntüleri de azalmıştır [35]. Preliminer antitümör aktivitesi için daha ileri çalışmalara ihtiyaç vardır. Şu anda faz II randomize bir çalışma (3. bölüm) sürmektedir.

Tek başına metformin tedavisi 19 hücre dizisinden 12 tanesindeki proliferasyonu BRAF mutasyon statüsünden bağımsız olarak inhibe etmiştir. Ancak bir $NRAS^{Q61K}$ mutant hücre dizisindeki hücre büyümesini güçlü bir şekilde stimüle etmiştir [36]. Metformin ile vemurafenib kombinasyonunun sinerjistik antiproliferatif etkisi 11 BRAFV600E mutantının 6 tanesinde gözlenmiştir. Bunlar arasında 2 BRAFV600E mutant melanom hücre dizisindeki yüksek oranda sinerjistik etki de mevcuttur. Özellikle tek ajan olarak uygulanan vemurafenibe dirençli BRAFV600E mutant hücre dizilerini de kapsayan bazı hücre dizilerinde antagonistik etkiler gözlenmiştir. Kombinasyon tedavisi ile 8 mutasyonsuz BRAF hücre dizisinin yedisinde marjinal sinerjistik antiproliferatif etki görülmüştür. Bu hücre dizilerinden bir tanesi kombinasyon ile yüksek düzeyde antagonistik etki göstermiştir. Bu farklı sonuçlar sadece her bir ilaca karşı olan sensitiviteye bağlı olmayıp, hücre döngüsü veya sinyal yolakları üzerindeki etkilerden de kaynaklanmaktadır. Vemurafenib ile metformin kombinasyonunun BRAFV600E mutant hücre dizileri üzerinde daha güçlü antiproliferatif etki gösterme eğilimi vardır [36]. Ancak bu kombinasyonun potansiyel klinik kullanımı test edilmeden önce vemurafenib ve metformin sinerjizminin veya antagonizminin belirleyicilerinin daha detaylı anlaşılması gerekmektedir.

3 Sonuçlar

UV radyasyonu melanom gelişimi için majör bir çevresel karsinojendir. UV radyasyonunun melanoma yol açma mekanizması belirlenememiştir. Ancak melanositlerin malign melanoma dönüşümünün genetik faktörler, UV maruziyeti ve tümör mikroçevresi arasındaki etkileşimden kaynaklandığı artık bilinmektedir. Cilt kanseri ile ilgili 20'den fazla epidemiyolojik çalışmanın analizinde 30 yaşından önce solaryum kullanan bireylerdeki melanom riskinin %75 arttığı tespit edilmiştir. Bu sonuçlara bağlı olarak UV ışınları yayan bronzlaşma cihazlarının kategorisi "muhtemel karsinojen" kategorisinden

"insanlar için karsinojen" kategorisine yükseltilmiştir. Bu yeni sınıflandırma solaryum ve güneş ışığı lambalarını asbest, radon, sigara, alkol ve hepatitin de bulunduğu faktörleri içeren kanser risk faktörleri grubuna sokmuştur. UV radyasyonunun melanom etyolojisindeki rolü foto ürünlerinin formasyonu ile oluşan DNA hasarından ve reaktif oksijen türlerinin üretiminden (UV ile indüklenen oksidatif stres, enflamasyon ve fotoyaşlanmaya katkı yaparlar) kaynaklanmaktadır. Melanomun önlenmesi amaçlı geliştirilmekte olan ümit vadeden antioksidan ajanların çoğu gıda kaynaklıdır. Primer, sekonder ve tersiyer önleme stratejilerinin geliştirilmelerinin, kansere neden olan mutasyonların ve devamında malignite oluşumunun güvenli bir şekilde önlenebilme potansiyeli vardır. Başarılı önleme stratejilerinin melanom kaynaklı morbidite ve mortaliteyi azaltmakta çok büyük potansiyeli mevcuttur.

Metastatik melanomun prognozu geleneksel kemoterapötiklere (dakarzabin) cevap alınamaması nedeniyle oldukça kötüdür. Tüm melanomların yaklaşık %50'si aktive edici BRAF mutasyonuna sahiptir. BRAF inhibitörleri sahip oldukları çok iyi klinik etkinlik ve iyi güvenlik profili nedeniyle hedefe yönelik antikanser tedavisine mükemmel bir örnek oluşturmaktadırlar. Metastatik melanom hastalarındaki BRAF'ın mutasyonlu veya normal alt kümelere ayrılarak sınıflandırılması, hastalığın prognoz ve tedavine yaklaşımın değişmesine neden olmuştur. Diğer kanser tiplerine benzer şekilde, moleküler bir hedefin keşfi, terapötik hedefin tanımlanmasına yol açmaktadır (örn. meme kanseri için HER2, NH lenfomalar için CD20, kolorektal ve rektal kanserler için EGFR). Aynı patern BRAF mutant melanomlar için de geçerlidir. Bu mutasyonun varlığı daha genç yaşta başlangıç ve agresif seyir ile ilişkilidir. Ancak spesifik inhibitörlerin geliştirilmesi ile bu melanomlu hasta grubundaki prognoz dramatik bir şekilde iyileşmiştir. Gerçekten de BRAF inhibitörlerinin ipilimumab gibi diğer aktif ajanlarla veya aynı yolağı hedefleyen MEK inhibitörleri gibi diğer sinerjistik ajanlarla kombinasyonları, etkinliğin daha da artması ve toksisitenin veya yan etkilerin azalması potansiyeline sahiptir. Tek ajanla yapılan bu çalışmaların ümit vadeden sonuçlarına dayanarak melanom hastalarının geleceğini farklı şekilde dizayn etme zamanı olabilir: Kombinasyon stratejileri [37].

Referanslar

1. Lazovich DA, Vogel RI, Berwick M, Weinstock MA, Anderson KE, Warshaw EM (2010). Indoor tanning and Risk of Melanoma: A case-control study in a highly exposed population. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 19(6):1557–1568.
2. Pho L, Grossman D, Leachman SA (2006) Melanoma genetics: a review of genetic factors and clinical phenotypesin familian melanomas. Curr Opin Oncol 18(2):173–179
3. Balch CM, Buzaid AC, Soong SJ, Atkins MB, Cascinelli N, Coit DG, Fleming ID, Gershenwald JE, Houghton A Jr, Kirkwood JM, McMasters KM, Mihm MF, Morton DL, Reintgen DS, Ross MI, Sober A, Thompson JA, Thompson JF (2001) Final version of the American joint committee on cancer staging system for cutaneous melanoma. J Clin Oncol 19:3635–3648
4. Gruijl FR (2003) IL-40 UV carcinogenesis and melanocytes. Pigment Cell Res 16:591
5. Ghissassi F, Baan R, Straif K, Grosse Y, Secretan B, Bouvard V, Benbrahim-Tallaa L, Guha N, Freeman C, Galichet L, Cogliano V (2009) On behalf of the WHO international agency for

research on cancer monograph working group. Special report: policy a review of human carcinogens—Part D: radiation. Lancet Oncol, 10(8):751–752
6. WHO (2006) International agency for fresearch on cancer. exposure to artificial UV radiation and skin cancer. IARC working group reports. Vol 1
7. Meyskens FL, Jr McNulty SE, Buckmeier JA, Tohidian NB, Spillane TJ, Kahlon RS, Gonzalez RI (2001) Aberrant redox regulation in human metastatic melanoma cells compared to normal melanocytes. Free Radic Biol Med 31:799–808
8. Rizwan M, Rodriguez-Blanco I, Harbottle A, Birch-Machin MA, Watson RE, Rhodes LE (2011) Tomato paste rich in lycopene protects against cutaneous photo damage in humans in vivo: a randomized controlled trial. Br J Dermatol 164:154–162
9. Talalay P, Fahey JW, Healy ZR, Wehage SL, Benedict AL, Min C, Dinkova-Kostova AT (2007) Sulforaphane mobilizes cellular defenses that protect skin against damage by UV radiation. Proc Natl Acad Sci USA 104: 17500–17505
10. Dinkova-Kostova AT, JW Fahey, AL Benedict, SN Jenkins, L Ye, SL Wehage, P Talalay (2010) Dietary glucoraphanin-rich broccoli sprout extracts protect against UV radiation-induced skin carcinogenesis in SKH-1 hairless mice. Photochemical and Photobiological Sciences 9: 597–600
11. Nichols JA, Katyar SK (2010) Skin photoprotection and natural polyphenol:anti-inflammatory, antioxidant and DNA repair mechanisms. Arch Dermatol Res 302(2):71–83
12. Taniguchi S, Fujiki H, Kobayashi H, Go H, Miyado K, Sadano H, Shimokawa R (1992) Effect of (-)-epigallocatechin gallate, the main constituent of green tea, on lung metastasis with mouse B16 melanoma cell lines. Cancer Lett 65:51–54
13. Wellbrock C, Karasarides M, Marais R (2004) The RAF proteins take centre stage. Nat Rev Mol Cell Biol 5:875–885
14. Namba H, Nakashima M, Hayashi T, Hayashida N, Maeda S, Rogounovitch TI, Ohtsuru A, Saenko VA, Kanematsu T, Yamashita S (2003) Clinical implication of hot spot BRAF mutation, V599E, in papillary thyroid cancers. J Clin Endocrinol Metab 88(9):4393–4397. doi:10.1210/jc.2003-030305.PMID12970315
15. Curtin JA, Fridlyand J, Kageshita T, Patel HN, Busam KJ, Kutzner H, Cho KH, Aiba S, Bröcker EB, LeBoit PE, Pinkel D, Bastian BC (2005) Distinct sets of genetic alterations in melanoma. N Engl J Med, 353:2135–2147
16. Edwards RH, Ward MR, Wu H, Medina CA, Brose MS, Volpe P, Nussen-Lee S, Haupt HM, Martin AM, Herlyn M, Lessin SR, Weber BL (2004) Absence of BRAF mutations in UV-protected mucosal melanomas. J Med Genet 41:270–272
17. Cohen Y, Goldenberg-Cohen N, Parrella P, Chowers I, Merbs SL, Pe'er J, Sidransky D (2003) Lack of BRAF mutation in primary uveal melanoma invest. Ophthalmol Vis Sci, 44:72876–2878
18. Cruz F, Rubin BP, Wilson D, Town A, Schroeder A, Haley A, Bainbridge T, Heinrich MC, Corless CL (2003) Absence of *BRAF* and *NRAS* mutations in uveal melanoma. cancer res, 63(18):5761–5766
19. Maldonado JL, Fridlyand J, Patel H, Jain AN, Busam K, Kageshita T, Ono T, Albertson DG, Pinkel D, Bastian BC (2003) Determinants of BRAF Mutations in Primary Melanomas. J Natl Cancer Inst 95(24):1878–1890
20. Maurer G, Tarkowski B, Baccarini M (2011) Raf kinases in cancer-roles and therapeutic opportunities. Oncogene 30:3477–3488
21. Long GV, Menzies AM, Nagrial AM, Haydu LE, Hamilton AL, Mann GJ, Hughes TM, Thompson JF, Scolyer RA, Kefford RF (2011) Prognostic and clinicopathologic associations of oncogenic BRAF in metastatic melanoma. JCO April 1, 29(10):1239–1246
22. Huncharek M, Caubet JF, McGarry R (2001) Single-agent DTIC versus combination chemotherapy with or without immunotherapy in metastatic melanoma: a meta-analysis of 3,273 patients from 20 randomized trials. Melanoma Res, 11(1):75–81
23. Tarhini AA, Iqbal F (2010) CTLA-4 blockade: therapeutic potential in cancer treatments. Onco Targets Ther 3:15–25

24. Robert C, Ghiringhelli F (2009) What is the role of cytotoxic T lymphocyte-associated antigen 4 blockade in patients with metastatic melanoma? Oncologist 8:848–861
25. Bollag G, Hirth P, Tsai J, Zhang J, Ibrahim PN, Cho H, Spevak W, Zhang C, Zhang Y, Habets G et al (2010) Clinical efficacy of a RAF inhibitor needs broad target blockade in BRAF-mutant melanoma. Nature 467:596–599
26. Flaherty KT, Puzanov I, Kim KB, Ribas A, McArthur GA, Sosman JA, O'Dwyer PJ, Lee RJ, Grippo JF, Nolop K, Chapman PB (2010) Inhibition of mutated, activated BRAF in metastatic melanoma. N Engl J Med 363:809–819
27. Sosman JA, Kim KB, Schuchter L, Gonzalez R, Pavlick AC, Weber JS, McArthur GA, Hutson TE, Moschos SJ, Flaherty KT et al (2012) Survival in BRAF V600-mutant advanced melanoma treated with Vemurafenib. N Engl J Med 366:707–714
28. Chapman PB, Hauschild A, Robert C, Haanen JB, Ascierto P, Larkin J, Dummer R, Garbe C, Testori A, Maio M et al (2011) Improved survival with vemurafenib in melanoma with BRAF V600E mutation. N Engl J Med 364:2507–2516
29. Kefford R et al (2010) Phase I/II study of GSK2118436, a selective inhibitor of oncogenic mutant BRAF kinase, in patients with metastatic melanoma and other solid tumors. J Clin Oncol 28:15 s, (suppl; abstr 8503)
30. Amiri P, Aikawa ME, Dove J et al (2006) CHIR-265 is a potent selective inhibitor of c-Raf/B-Raf/$_{mut}$B-Raf that effectively inhibits proliferation and survival of cancer cell lines with RAS/RAF pathway mutations. Proc Am Assoc Cancer Res, 47 (Abstract 4855)
31. Stuart DD, Li N, Poon DJ, Aardalen K, Kaufman S, Merritt H, Salangsang F, Lorenzana E, Li A, Ghoddusi M, Caponigro G, Sun F, Kulkarni S, Kakar S, Turner N, Zang R, Tellew J, Pryer N. Preclinical profile of LGX818: a potent and selective RAF kinase inhibitor.#3790
32. http://www.cancertrialsaustralia.com/Clinical-Trials-Register.aspx. Cancer Trials Australia
33. http://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01400451?term=Vemurafinib&rank=5.U.S. NIH
34. Halaban R, Zhang W, Bacchiocchi A, Cheng E, Parisi F, Ariyan S, Krauthammer M, McCusker JP, Kluger Y, Sznol M (2010) PLX4032, a selective BRAF (V600E) kinase inhibitor, activates the ERK pathway and enhances cell migration and proliferation of BRAF melanoma cells. Pigment Cell Melanoma Res 23:190–200
35. Infante JR et al (2011) Phase I/II study to assess safety, pharmacokinetics, and efficacy of the oral MEK 1/2 inhibitor GSK1120212 (GSK212) dosed in combination with the oral BRAF inhibitor GSK2118436 (GSK436). J Clin Oncol 29: (suppl; abstr CRA8503)
36. Niehr et al (2011) Combination therapy with Vemurafinib (PLX4032/RG7204) and Metformin in melanoma cell lines with distinct driver mutations. J Trans Med, 9:76
37. Ascierto PA, Streicher HZ, Sznol M (2010) Melanoma: a model for testing new agents in combination therapies. J Trans Med 8:38

Sonsöz

Rodolfo Saracci

İçindekiler

Referanslar..... 459

Mayıs 2012'de Napoli'de yapılan 3. Nütrisyon ve Kanserdeki İlerlemeler Konferasında sunulan ve bu kitapta yer alan çok çeşitli konuları ve araştırma perspektiflerini özetlemeye çalışma çabası en iyi ihtimalle tekrar, en kötü ihtimalle de kafa karıştırıcı olacaktır. Bu nedenle, burada yapacağımız özet Ekim 1998'de Napoli'de yapılan 2. Nütrisyon ve Kanserdeki İlerlemeler Konferansında ortaya çıkan veya ortaya çıkmakta olan birkaç önemli konuyu kapsayacaktır.

Kesin olan birşey varsa o da dünyanın ve özellikle de insan sağlığına ilişkin nütrisyon dünyasının 1998 yılından itibaren ciddi anlamda değişime uğramış olmasıdır. İnsanoğlunun sayı, ağırlık ve boyları artmaktadır. Dünya nüfusu altı milyardan yedi milyara doğru büyüdükçe, fazla kilo ve obezite sadece ekonomik anlamda gelişmiş ülkelerde değil, dünyanın daha az zengin bölgelerinde de hızla yayılmaktadır. Ortalama insan boyunun azaldığı bir ülke yoktur. Aksine ortalama boylar ya artmakta ya da sabit seyretmektedir. Bu majör ve hala devam etmekte olan trendlerin ana belirleyicisi gıda tüketimidir. Dünya çapında nütrisyona yönelik etkili önlemler alınmadığı sürece bu trendler gelecekte de sürerek mutlak kanser rakamlarının artışına yol açacaktır.

R. Saracci
Institute of Clinical Physiology, National Research Council, via Trieste 41, 56100, Pisa, Italy

R. Saracci (✉)
Istituto di Fisiologia Clinica, CNR, via Trieste 41, 56100, Pisa, Italy
e-mail: saracci@hotmail.com

V. Zappia et al. (eds.), *Advances in Nutrition and Cancer,*
Cancer Treatment and Research 159, DOI: 10.1007/978-3-642-38007-5_26,
© Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2014

Ayrıca fazla kilo (hayat boyu süren kalorik dengesizliğin göstergesi) ile veya boy (erken yaşamdaki nütrisyonun göstergesi) ile ilgili olduğu gösterilen kanser türlerinde de muhtemel artışlar olacaktır. Nütrisyonun intrauterin hayat, çocukluk ve adolesan dönemdeki rolü ile erişkin yaşamdaki uzun dönemli sağlık ve kanseri de içeren hastalıklar üzerindeki etkilerini verimli bir şekilde "hayat seyri" boyunca araştıran çalışma alanı gelişmiştir [1].

Ayrıca biyolojide de devrim niteliğinde gelişmeler olmuştur. İnsan genomunun tümünün yapısı 2003 yılında belirlenmiştir. Bu başarı, şaşırtıcı bir hızla gelişen genomik ve sonrasında da epigenomik bilimleri nedeniyle adeta çok uzun süre önce yapılmış bir keşif hissi vermektedir. Hem genomik hem epigenomik bilimleri, son iki dekaddaki kayda değer teknolojik gelişmelerle hızla büyüyerek günümüzdeki biyolojik araştırmalara sistematik ve global yaklaşımı mümkün kılmıştır. Bu araştırma konularına örnek olarak, intestinal floranın seçilmiş mikroorganizmaları yerine intestinal mikrobik topluluğun kollektif genomları adı verilen insan intestinal mikrobiyom "evreninin" diyet bileşenlerini etkileyerek karsinogenezde çeşitli rolleri olan bileşikler oluşturma yetenekleri verilebilir [2]. Benzer şekilde çeşitli bitki ekstrelerinin tüm metabolitlerinde (metabolom) mevcut olan ve (onkolojiyi de içeren) insan farmakolojisi ile potansiyel olarak ilişkili bileşikler günümüzde mevcut olan nükleer manyetik rezonans teknikleriyle ölçülebilmektedir. DNA'nın lezyonlara karşı korunma düzeyini optimize edebilecek veya karsinogenezde potansiyel epigenetik yolaklar olan DNA metilasyon paternlerini etkileyebilecek bireysel düzeydeki mikrobesinlerin optimal kombinasyonunu (bireysel "nütriom") belirlemekte genom boyunca yapılan metilasyon testleri kullanılmaktadır [4]. Bu yaklaşımların gelecek 10 yıl içinde nütrisyonel faktörlerin kanserin oluşumunda rol oynayan ana mekanizmaları ile ilgili anlayışımızı nasıl değiştireceğini görmek en fazla ilgi çeken alan olacaktır. Bu yaklaşımlar ile ortaya çıkan çok büyük miktardaki veriyi analiz etmek için yaratıcı yöntemlere ihtiyaç olduğu kesindir.

Genomik ve epigenomik (bu yeni sistemik yaklaşımlara ek olarak), kanser hücrelerine özgü ölümü indükleyen epigenetik dönüştürücülerden [5], normal ve kanseröz insan hücrelerinin hayat sürelerini belirleyen telomeraz üzerindeki epigenetik etkileri oluşturan nütrientler ile ilgili araştırmalara kadar olan hedefe yönelik çalışmaların boyutlarını ve derinliklerini büyük oranda artırmıştır [6].

Bu kadar hızla ilerleyen alanların mevcudiyetine karşın, diğer bazı araştırma konuları görece olarak yavaş ilerlemektedir. Bazı konular ile ilgili 15 yıl önce hatırladıklarımı hala bugün de hatırlıyor olmam, ilerlemenin umulandan çok daha yavaş olduğunun göstergesidir. Bu konuların en başta geleni, iyileşme, konsantrasyon ve yer değiştirme kategorileri ile ilgili nutrient ve gıdalara spesifik maruziyet biyomarkerlerine olan ihtiyaçtır. Örneğin altın standart olarak kabul edilen iyileşme biyomarkerleri kategorisinde, enerji alımını ve idrardaki nitrojen, potasyum ve sodyumu ölçmek için hala ciddi anlamda kısıtlı olan çift etiketli su yöntemini kullanıyoruz. İnsanların bugün , dün ve geçmişte neyi ne şekilde yedikleri konusu, araştırma ajandasında sürekli yer alan bir problem olmaya devam etmektedir. Yukarıda bahsettiğimiz sistemik yaklaşımlarla korelasyon halindeki

kapsamlı gıda ve besin öğesi tüketim paternleri, bu tür profillerin spesifik gıda tüketimleri için güvenilir biyomarkerler olup olmadığını inceleyen yeni araştırma alanlarıdır. Gıda ve besin öğesi alımının sağlık üzerindeki erken ve geç etkilerinin biyomarkerleri arasındaki nedensel bağlantıları değerlendiren kontrollü randomize çalışmalar yapılmaya devam etmektedir. Ancak bunlar çeşitli pratik uygulamalar yönünden sıklıkla zahmetli ve problemli çalışmalar olup sayıları giderek azalmaktadır.

Bu çok hızlı ve yavaş ilerleyen araştırma konuları arasında, insanların yemek yeme alışkanlıklarının nütrisyonel analizi mevcuttur. Bu konuda 1998 yılından beri bazı yeni bulgular bildirilmiş, eskiden bildirilen bazı sonuçlar da konfirme edilmiştir. Bir diyette bulunan multipl besin öğelerinin birlikte etki göstererek absorpsiyon, metabolizma ve biyolojik etkileri modifiye ettikleri uzun süredir bilinmektedir. Bu nedenle sadece besin öğelerinin değil, belirli gıdaların, gıda sınıflarının ve gıda paternlerinin araştırılması gerekmektedir. Antioksidan içerikleri yönünden zengin olan sebze ve meyvelerin kolorektal kanseri de içeren çeşitli kanser türlerini engelleyici etkileri olduğu kabul edilmektedir. 2010 yılının sonuna kadar yayınlanan tüm prospektif çalışmaları içeren güncel bir metaanaliz bu koruyucu etkiyi sadece kısmen konfirme etmektedir [7]. Fark sadece yüksek miktarda meyve ve sebze tüketen bireylerle çok az tüketen bireyler arasında gösterilebilmiştir. Ancak uygun miktarda sebze ve meyve tüketen bireylerin tüketimlerinin günlük 100 gramın üstüne yükseltilmesi ilave bir koruma sağlamamaktadır. 1990'lardan itibaren "Akdeniz diyetlerinin" sadece kardiyovasküler hastalıklara karşı değil, aynı zamanda metabolik hastalıklara ve kanserlere karşı da koruyucu olduğunu gösteren kanıtlar farklı platformlarda konfirme edilmiştir [8]. Alınan kalori ile harcanan kalori arasındaki temel ve ince ayar gerektiren dengeyi sağlayabilen bu diyetler (formda kalmaya yardımcı olan düzenli fiziksel aktivite yardımıyla) İtalya'daki makarna tüketimi gibi bazı lokal farklılıklar içermelerine rağmen ortak komponentler içerirler. Ortak komponentler şunlardır: Yüksek tahıl, baklagiller, sebze ve balık tüketimi; düşük kırmızı et, işlenmiş et ve alkol tüketimi; diyet kombinasyonunda önemli bir faktör olan zeytinyağı ile yüksek monoansatüre yağ oranı.

Bu kalitatif ve kantitatif özellikler şu genel tavsiye ile hoş bir uyum sergilemektedir: "Her şeyi aşırıya kaçmadan kararında tüketiniz. Aşırıya kaçmamada da aşırıya kaçmayınız". Bu sadece iyi bir sağlık için değil, Aristo'nun da çok önceden bildiği gibi "iyi bir yaşam" için de gereken dengeli ve dinamik bir reçetedir.

Referanslar

1. Lillycrop KA, Burdge GC (2013) Breast cancer and the importance of early life nutrition. In: Zappia V, Russo GL, Panico S, Budillon A, Della Ragione F (eds) Advances in nutrition and cancer 3. Springer-Verlag GmbH, Heidelberg
2. Hullar MAJ, Burnett-Hartman AN, Lampe JW (2013) Gut microbes, diet and cancer. In: Zappia V, Russo GL, Panico S, Budillon A, Della Ragione F (eds) Advances in nutrition and cancer 3. Springer-Verlag GmbH, Heidelberg

3. Fenech MF (2013) Nutriomes and personalised nutrition for DNA damage prevention, telomere integrity maintenance and cancer growth control. In: Zappia V, Russo GL, Panico S, Budillon A, Della Ragione F (eds) Advances in nutrition and cancer 3. Springer-Verlag GmbH, Heidelberg
4. van Veldhoven K, Rahman S, Vineis P (2013) Epigenetics and epidemiology: models of study and examples. In: Zappia V, Russo GL, Panico S, Budillon A, Della Ragione F (eds) Advances in nutrition and cancer 3. Springer-Verlag GmbH, Heidelberg, Germany
5. Conte M, Altucci L (2013) Functions, aberrations and advances for chromatin modulation in cancer. In: Zappia V, Russo GL, Panico S, Budillon A, Della Ragione F (eds) Advances in nutrition and cancer 3. Springer-Verlag GmbH, Heidelberg
6. Tollefsbol TO (2013) Dietary Epigenetics in cancer and aging. In: Zappia V, Russo GL, Panico S, Budillon A, Della Ragione F (eds) Advances in nutrition and cancer 3. Springer-Verlag GmbH, Heidelberg
7. Norat T, Aune D, Chan D, Romaguera D (2013) Fruits and vegetables. Updating the epidemiologic evidence for the WCRF-AICR lifestyle recommendations for cancer prevention. In: Zappia V, Russo GL, Panico S, Budillon A, Della Ragione F (eds) Advances in nutrition and cancer 3. Springer-Verlag GmbH, Heidelberg
8. Panico S, Mattiello A, Panico C, Chiodini P (2013) Mediterranean dietary pattern and chronic diseases. In: Zappia V, Russo GL, Panico S, Budillon A, Della Ragione F (eds) Advances in nutrition and cancer 3. Springer-Verlag GmbH, Heidelberg

Türkiye Kanserle Savaş Vakfı'nın hekimlere armağanıdır.

www.nobeltip.com

ISBN 978-975-96147-3-7

Kanser Tedavisi ve Araştırmaları

Cilt 159

Seri Editörü

Steven T. Rosen, Chicago, IL, USA

Türkiye Kanserle Savaş Vakfı'nın hekimlere armağanıdır.

Editörler

Vincenzo Zappia
Fulvio Della Ragione
Department of Biochemistry and Biophysics
Second University of Naples
Naples
Italy

Salvatore Panico
Clinical and Experimental Medicine
University of Naples "Federico II"
Naples
Italy

Gian Luigi Russo
Institute of Food Sciences
National Research Council
Avellino
Italy

Alfredo Budillon
Department of Experimental Oncology
National Cancer Institute
Naples
Italy

Diğer bölümler için:
http://www.springer.com/series/5808

Vincenzo Zappia · Salvatore Panico
Gian Luigi Russo · Alfredo Budillon
Fulvio Della Ragione
Editörler

Nütrisyon ve Kanser Tedavisindeki Gelişmeler

Çeviri Editörleri

Prof. Dr. Gül Başaran
Acıbadem Üniversitesi Tıp Fakültesi
Medikal Onkoloji

Prof. Dr. Mert Başaran
İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesi
Onkoloji Enstitüsü, Medikal Onkoloji

NOBEL TIP KİTABEVLERİ

© 2015
Türkiye Kanserle Savaş Vakfı adına sahibi:
Prof. Dr. Metin Ertem

Nütrisyon ve Kanser Tedavisindeki Gelişmeler
Çeviri Editörleri: Prof. Dr. Gül Başaran, Prof. Dr. Mert Başaran
ISBN: 978-975-96147-3-7

Advances in Nutrition and Cancer
Vincenzo Zappia • Salvatore Panico
Gian Luigi Russo • Alfredo Budillon
Fulvio Della Ragione

ISBN: 978-3-642-38006-8
© Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2014

Bu kitabın Türkçeye çeviri hakkı ©Springer-Verlag Berlin Heidelberg tarafından Nobel Tıp Kitabevleri Tic. Ltd. Şti.'ne verilmiştir. 5846 ve 2936 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri yasası hükümleri gereğince herhangi bir bölümü, resmi veya yazısı, yazarların ve yayınlayıcısının yazılı izni alınmadan tekrarlanamaz, basılamaz, kopyası çıkarılamaz, fotokopisi alınamaz veya kopya anlamı taşıyabilecek hiçbir işlem yapılamaz.

Yayımcı	:	Nobel Tıp Kitabevleri Tic. Ltd. Şti. Millet Cad. No:111 34104 Fatih-İstanbul
Yayımcı Sertifika No	:	15710
Baskı / Cilt	:	No-bel Matbaacılık San. Tic. Ltd. Şti. Kurtini Mevki, General Şükrü Kanatlı Cad. Ömerli - Hadımköy - İstanbul
Matbaa Sertifika No	:	12565
Sayfa Tasarımı - Düzenleme	:	Nobel Tıp Kitabevleri, Hakkı Çakır
Kapak Tasarım	:	Hakkı Çakır
Baskı Tarihi	:	Aralık 2014 - İstanbul

Önsöz

Bu kitap Mayıs 2012'de Napoli İtalya'da yapılan Üçüncü Uluslararası Nütrisyon ve Kanserde İlerlemeler Konferansında sunulan 26 makaleyi içermektedir.

Konferansın başlıca amacı bu alandaki en güncel ve yaratıcı projelerin sunulması ve hem kemoprevensiyon hem de moleküler epidemiyoloji ve diyet girişimi programları ile ilgili özgün stratejilerin sunulmasını sağlamaktı. Konferansta farklı alanlardaki uzmanlardan oluşan bir grup bilim adamı, insanda nütrisyon ve maligniteler arasındaki etkileşimlerle ilgili önemli ve güncel konuları tartışmıştır.

Bu konferansta tartışılan konular ile daha önce yapılan iki toplantının (1992, 1998) konuları karşılaştırıldığında, en önemli bilimsel ilerlemelerin moleküler biyoloji, moleküler epidemiyoloji ve nütrisyon araştırmalarındaki çeşitli epigenetik yaklaşımların yoğun biçimde kullanılmasından kaynaklandığı kesindir.

Günümüzde dünya çapında 24 milyon insanı etkileyen kanser, yılda altı milyonun üzerinde ölüme neden olmaktadır. Erken teşhis ile belirli faydalar sağlanmasına rağmen, birçok tümör vakasının hala ileri evrelerde tedavi edilmeleri ile elden edilen başarı düzeyi kısıtlıdır. Bundan dolayı bu ciddi pandemi ile savaşmanın başlıca yolu hastalığın önlenmesidir. Doll ve Peto'nun (1981) hala geçerli olan, tüm kanserlerin en az %30'unun diyet uygulamaları ile önlenebileceği yönündeki önemli çıkarımları farklı çalışmalardaki birçok sonuç ile konfirme edilmiştir: Diyet, nütrisyon ve kanser riski arasındaki ilişki şüpheye yer vermeyecek şekilde kesindir.

Kitabın ilk bölümü hayata tarzı, diyet ve kanser ile ilgili genel özelliklere odaklanmaktadır. Obezite, enerji dengesi, fiziksel aktivite ve kanser riski ile progresyonunun altında yatan moleküler mekanizmalar ile tuz kullanımı ile alkollü ve gazlı içeceklerin sindirim kanalı kanserleriyle ilgisi detaylı olarak incelenmektedir.

Özellikleri gayet iyi tanımlanmış olan çok çeşitli bitkisel kaynaklı kimyasallar ve doğal antioksidanlar potansiyel kemopreventif/kemoterapötik ajanlar olarak önerilmiştir. Resveratrol, kuersetin, sulforafanın etkileri ve etki mekanizmaları ile selenyum ve selenoproteinler hakkındaki çelişkili sonuçlar ikinci bölümde yer almaktadır.

Diyetin farklı dokulardaki hücrelerin metilasyonlarını etkileyebildiği iyi bilinmekte ve diyet tarafından etkilenen epigenetik faktörler kanserin önlenmesinde ve terapötik hedefler olarak ciddi anlamda ilgi çekmektedir. Üçüncü bölüm bu hayati ve en çok ümit

vadeden konulara atfedilmiştir. Yeni ve önemli bir başka alan da maternal diyetin intrauterin yaşam üzerindeki advers etkileri ile ilgilidir. Diyet DNA metilasyonunu etkileyerek bireyi erişkinlik dönemindeki hastalıklara predispozan hale getirmektedir.

Dördüncü bölümde fonksiyonel bir gıda olan zeytin yağının kanserin önlenmesindeki yararlı etkileri incelenmektedir. Akdeniz diyetindeki majör yağ kaynağı olan natürel sızma zeytin yağının kemopreventif etkilerinin, kardiyovasküler hastalığın ve meme kanseri gibi bazı tümörlerin düşük insidansı ile ilişkili olduğunu gösteren kanıtlar incelenmektedir. Antioksidanların insan hepatom hücreleri üzerindeki etkileri ve diğer gıda içerikleri ile kimyasal etkileşimlerinin nütrisyonel ve duyusal kalite üzerindeki etkileri özel olarak vurgulanmaktadır.

Son iki bölümde hayat tarzı değişimlerinin (diyeti de kapsayan) kanserin reküransını efektif olarak engelleyebildiğini gösteren epidemiyolojik kanıtları da içeren önemli sonuçlara odaklanılmıştır.

Antianjiogeneze de yer ayrılmıştır: Çeşitli preklinik, kimyasal ve epidemiyolojik veriler anjiogenez İnhibisyonunun kanserin önlenmesinde kullanılabileceğini göstermektedir. Diyet kaynaklı çeşitli kemopreventif komponentler de anjiogenezi genel olarak hedefleyebilmektedir. İnsan intestinal mikrobiyomu ile gastrointestinal maligniteler arasındaki ilişki de tartışılmıştır; intestinal mikrobiyom, immun sistem ve diyete maruziyet arasındaki dinamik etkileşimler gelecekteki kanser önleme stratejilerine katkı yapabilir.

Bu kitapta vurgulandığı üzere, kanser gelişimi ile ilgili temel bilgilerimize ciddi katkılar yapan disiplinler arası yaklaşım, gelecekte dönüm noktası olacak klinik gelişmelerin temelini atacaktır. Kitabımız bu çok önemli ve sağlam temelli araştırma alanındaki yüksek teknolojik uygulamalar hakkında, okuyuculara genel bir bakış açısı sağlamayı amaçlamaktadır. Bu toplantının multidisipliner yapısının katılımcıları olduğu kadar okuyucuyu da bilgilendirip stimüle etmesinden mutluluk duyacağız. Kitabın bu ilgi çekici ve kompleks alanın tüm yönlerini kapsayan daha ileri araştırmalara ilham kaynağı olması en büyük dileğimizdir.

Vincenzo Zappia

Sunuş

Türkiye Kanserle Savaş Vakfı olarak son iki yıldır eğitime ağırlık vermeyi kararlaştırdı. Vakıf olarak onkoloji alanında genç uzman hekim arkadaşlarımızın, geliştirdikleri projeler kapsamında verdiğimiz karşılıksız burs ile yurt dışında eğitimlerine katkı sağlamaktayız. Amacımız ülkemizde onkoloji alanında dünya standartlarında hizmet sağlayacak bilgi birikimini oluşturmaktır.

Yine onkoloji alanındaki çalışmaları teşvik etmek amacıyla gelenek haline gelen ve yıllardır sürdürdüğümüz, onkolojinin üç dalında, radyasyon onkolojisi, medikal onkoloji ve cerrahi onkoloji dallarında bilimsel çalışmalara vermekte olduğumuz ödüllere bir yenisini ilave ederek '2014 Bilim Ödülü' başlığında ülkemizde onkoloji alanına katkılarından dolayı bir bilim adamımıza ödül verdik. Bu saygın ödülü her yıl tekrarlayarak sürdürmeyi uygun gördük.

Türkiye Kanserla Savaş Vakfı olarak yılda dört sayı olarak 'Kanser Gündemi' isimli periyodik dergimizi çıkartmaya devam ediyoruz. Hekimlerimize yönelik her bir sayısında bir kanser konusunun işlendiği güncel bilgilerin aktarıldığı bu dergi arşivimize ve halkımızı bilinçlendirmeye yönelik sanat ve tıbbi bilgilerin yer aldığı 'Menekşe ve Yaşam' dergilerine www.kanservakfi.com'dan ulaşabilirsiniz.

Kanser konusunda öne çıkan güncel, yabancı dilde yazılmış bilimsel kitapları türkçeye kazandırmayı ve hekimlerimize ulaştırmayı kararlaştırdık. Bu amaçla ilkini 2013 yılında 'Kanser Evreleme Atlası' olarak gerçekleştirdik ve bin adet basılan bu kitabı ücretsiz olarak Ulusal Kanser Kongresi'nde hekimlerimize ulaştırdık.

Bu yıl, oldukça güncel olan kanser ve beslenme konusunda bir kitabın çevirisini tercih ettik. Kanser ve beslenme konusu bildiğiniz gibi her zaman suistimal edilmiştir. Bu konuda maalesef bilimsel temelleri olmayan değişik görüşler ileri sürülmüş ve sürülmektedir. Bu konuda hekimlerimize referans oluşturacak 'Nütrisyon ve Kanser tedavisindeki gelişmer' Başlıklı kitabı iki değerli hocamızı katkılar ile Türkçe'ye kazandırdık.

Kanser ve beslenme kitabımızın çeviri editörlüğünü gerçekleştiren sayın Prof. Dr. Gül Başaran ve sayın Prof. Dr. Mert Başaran'a ve kitabın baskı aşamalarını gerçekleştiren Nobel Tıp kitap evine teşekkür ederiz.

Bu kitabı bilgilerimize katkı oluşturacağını düşünerek hekimlerimize hediye ediyoruz.

Türkiye Kanserle Savaş Vakfı
Yönetim Kurulu Başkanı
Prof. Dr. Metin Ertem

Çeviri Editörlerinin Önsözü

Bu kitabın tercümesini yapmamızdaki en önemli neden, son yıllarda basılı ve sözlü medyada kanser tedavisi ve önleminde çok sayıda görüş ve tedavi yöntemlerinden bahsedilmesidir. Ne yazık ki, çoğu akademisyen, diyetisyen ve konu üzerine eğitim ve bilgisi olmayan kişi, ilgi çekmesi sebebi ile konu hakkında fikir verir ve toplumu yönlendirir olmuştur.

Kitabın bu konuda bir eksikliği gidereceği fikrini sayın Prof. Dr. Metin Erten vermiş ve kitabın seçiminde öncü olmuştur.

Kanserin etyolojisinde genetik, edinsel faktörler yanında çevresel faktörler de rol oynamaktadır. Kanserojen gazlar, kimyasal bileşimler, radyasyon gibi faktörlerin yanı sıra kanser gelişiminde insanın aklını karıştıran en önemli faktörlerden biri yediği içtiği olmuştur. Bazı gıdaların aşırı tüketilmesi, mineral eksikliği, ya da fazlalığı ile kanser arasında ilişkilendirme hep kurulmuştur. Ancak direk olarak bir gıdanın kesinlikle kanser yaptığını söylemek mümkün olmamaktadır. Bugün tüm kanser olgularının üçte birinin etyolojisinde beslenme alışkanlıklarının olduğu öngörülmektedir.

Doğum öncesi anne karnında başlayan ve hayatımızın sonuna kadar geçen süre sadece beslenme içeriği ile değil, bunun yanında obeziteye kadar giden aşırı beslemenin de kanser gelişiminde risk yarattığı bilinmektedir.

Daha sağlıklı bir hayat için fazla kilodan kaçınmak, düzenli egzersiz yapmak, doğal üretilen ve kontrolü yapılan gıdalarla beslenmek, tüm besinlerden yeterli ve dengeli şekilde almaya özen göstermek kanserle savaşmada en önemli yöntemlerdir.

Asbest, radon gazı, sigara gibi bilinen kanserojenler yanında bazı gıda ve çevresel faktörlerin kanser gelişiminde daha düşük de olsa risk yarattığı bilinmektedir. Farklı gıdalardan alınan vitamin, mineral veya moleküllerin de kanserden koruyabileceği düşünülmektedir. Bazen bir gıdayla ilgili, olduğundan daha fazla yarar sağlayacağına dair yanlış kanılar da oluşmaktadır.

Bu kitapta gıdaların içeriği ve toplumların beslenme alışkanlıklarına göre kanser gelişimi ve önlenmesi, bilimsel veriler ışığında irdelenmiştir.

Kitabın bütününde kişilerin kendi inandıklarını ifade etmekten öte; bilimsel veriler ışığında yapılan yayınların derlemesi ile yorumlar yapılmış, meta-analizler oluşturulmuştur.

Bir yayından veya bir gözlemden oluşan bilgiyi tüm topluma uyarlamaya çalışmak ve bunu medya önünde farklı bir alternatifi yokmuş gibi göstermek, toplumu yanlış bilinçlendirebilmektedir. Bu kitapta bu tarzda yorumlardan kaçınılmış olması güncel beslenme ve kanser arasındaki ilişkiyi bilimsel ortamda değerlendirmesi referans danışma kitabı olmasını sağlamaktadır.

Kanserde yeni yolakların ortaya konulması, gıdaların ve minerallerin bu yolaklar üzerindeki etkilerinin hızlanıp yavaşlaması üzerine etkilerinin bilinmesi ile belki ilerleyen yıllar içerisinde daha doğru beslenmenin detayları da ortaya çıkacaktır.

Tercümesinde bulunduğumuz bu kitabın beslenme ve kanser gelişimi hakkında doğru bilgiye daha hızlı ulaşmada herkes için faydalı ve yararlı olacağına inanıyoruz.

Prof. Dr. Gül Başaran
Acıbadem Üniversitesi Tıp Fakültesi
Medikal Onkoloji

Prof. Dr. Mert Başaran
İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesi
Onkoloji Enstitüsü, Medikal Onkoloji

Teşekkürler

Mayıs 2012'de düzenlenen Üçüncü Uluslararası Nütrisyon ve Kanserde İlerlemeler Konferansının sponsorları: Ulusal Kanser Araştırma Enstitüsü "Fondazione G. Pascale", Napoli; Kar amacı gütmeyen Arfacid Onlus, Napoli; Mercogliano Onkoloji Araştırma Merkezi; Napoli İkinci Üniversitesi Biyokimya ve Genel Patoloji Departmanları; Napoli Üniversitesi Klinik Tıp ve Moleküler Onkoloji Departmanları, Ulusal Araştırma Konseyi "Federico II" Gıda Bilim Enstitüsü, Avellino; İtalya Napoli'deki İtalyan Filozofik Çalışmalar Enstitüsü.

Toplantıya saygın destekleri ile katkıda bulunan kurumlar: Accademia Nazionale dei Lincei, Consiglio Nazionale delle Ricerche, Regione Campania, Comune di Napoli, Provincia di Napoli, Seconda Università degli Studi di Napoli, Università degli Studi di Napoli "Federico II," Lega Italiana per la Lotta contro i Tumori— Sezione di Napoli, Associazione Italiana di Oncologia Medica, Società Italiana di Biochimica, Società Italiana di Cancerologia, ve Ordine dei Medici di Napoli.

Konferansa destek olanlar diğer kurumlar: Banca di Credito Popolare, Roche, Acen, Biorad, DBA Italia, Delchimica, Diasorin, Euroclone, Farmacia Morrica, Istituto Varelli, Life Technologies, Microtech, Strategies Consulting, Vinci Biochem ve Carl Zeiss.

Editörler, yazarlar ve Springer Verlag arasındaki editoryal koordinasyon Janet Gates ve Paola Colonna ve Pina Carfora yönetimindeki organizasyon sekreterliği tarafından yürütülmüştür.

Editörler olarak Dr. Giuseppe Lacomino'ya konferansın organizasyonundaki değerli katkıları için teşekkür ediyoruz. Ayrıca yazarlara makaleleri için, Springer Verlag'a bu kitabın basımını mümkün kıldığı için teşekkürü borç biliriz.

İçindekiler

1. Bölüm Hayat Tarzı, Diyet ve Kanser

Kanserin Oluşumunda ve Önlenmesinde Metabolik Karsinogenezin Rolü: Prospektif Avrupa Çalışmasından Kanser ve Nütrisyonla İlgili Kanıtlar 3
Elio Riboli

Obezite, Enerji Dengesi ve Kanser: Mekanik Perspektif 21
Stephen D. Hursting

Meyve ve Sebzeler: WCFR/AICR Kanserin Önlenmesi İçin Hayat Tarzı Önerilerindeki Epidemiyolojik Kanıtların Güncellenmesi 35
Teresa Norat, Dagfinn Aune, Doris Chan ve Dora Romaguera

İnsanda Prostat Kanseri Nedeni Olarak Diyet 51
William G. Nelson, Angelo M. DeMarzo ve Srinivasan Yegnasubramanian

Akdeniz Diyet Paterni ve Kronik Hastalıklar 69
Salvatore Panico, Amalia Mattiello, Camilla Panico ve Paolo Chiodini

Diyetle Tuz Tüketimi ve Mide Kanseri Riski. 83
Lanfranco D'Elia, Ferruccio Galletti ve Pasquale Strazzullo

Alkollü İçkiler ve Gazlı İçecekler: Tüketim ve Gastrointestinal Kanser Riski 97
Rosario Cuomo, Paolo Andreozzi ve Francesco Paolo Zito

2. Bölüm Doğal Diyet Molekülleri

Doğal Antienflamatuar ve Antikanser İlaçlar 123
Barbora Orlikova, Noémie Legrand, Jana Panning, Mario Dicato ve Marc Diederich

Selenyum ve Kanser: Unutulmaması Gereken Bir Hikaye-Genom Biliminden Örnekler 145
Catherine Méplan ve John Hesketh

Resveratrol: Temel Çalışmalardan Yatak Başına 167
Adriana Borriello, Debora Bencivenga, Ilaria Caldarelli, Annunziata Tramontano, Alessia Borgia, Vincenzo Zappia ve Fulvio Della Ragione

Kuersetin: Kansere Karşı Pleiotropik Kinaz İnhibitörü 185
Gian Luigi Russo, Maria Russo, Carmela Spagnuolo, Idolo Tedesco, Stefania Bilotto, Roberta Iannitti ve Rosanna Palumbo

Sulforafan: Kanserle Savaşta Ümit Vadeden Bir Molekül 207
Monia Lenzi, Carmela Fimognari ve Patrizia Hrelia

3. Bölüm Genetik ve Epigenetik

Kanserde Kromatin Modülasyonunun Fonksiyonları, Anormallikleri ve Gelişmeler 227
Mariarosaria Conte ve Lucia Altucci

Epigenetik ve Epidemiyoloji: Çalışma Modelleri ve Örnekler 241
Karin van Veldhoven, Shati Rahman ve Paolo Vineis

Kanser ve Yaşlanmada Diyet Epigenetiği 257
Trygve O. Tollefsbol

Meme Kanseri ve Erken Yaşlardaki Beslenmenin Önemi 269
Karen A. Lillycrop ve Graham C. Burdge

4. Bölüm Zeytinyağı ve Kanserin Önlenmesi

Meme Kanserinde Zeytinyağı ve Diğer Diyet Lipidleri 289
Eduard Escrich, Montserrat Solanas ve Raquel Moral

Doğal Antioksidanların Enflamasyon ve Karaciğer Kanseri Üzerindeki Etkilerinin Araştırılmasına Holistik Bir Yaklaşım 311
Susan Costantini, Giovanni Colonna ve Giuseppe Castello

Natürel Sızma Zeytinyağı: Kompozisyondan Moleküler Gastronomiye . . . 325
Raffaele Sacchi, Antonello Paduano, Maria Savarese, Paola Vitaglione ve Vincenzo Fogliano

5. Bölüm Kanserin Hayat Tarzı Değişimleri ile Önlenmesi

Kanser Reküransının Hayat Tarzı Değişimleri ile Önlenmesi: Yin ve Yang 341
Franco Berrino

6. Bölüm Çığır Açan Yenilikler

Eski Bir Antidiyabetik İlaca Yeni Yaklaşım: Antikanser Ajan Olarak Metformin 355
Alessandra Leone, Elena Di Gennaro, Francesca Bruzzese, Antonio Avallone ve Alfredo Budillon

İntestinal Mikroplar, Diyet ve Kanser 377
Meredith A. J. Hullar, Andrea N. Burnett-Hartman ve Johanna W. Lampe

Kanserin Tedavisinde ve Önlenmesinde Enflamatuar Anjiogenez ve Tümör Mikroçevresinin Hedeflenmesi 401
Antonino Bruno, Arianna Pagani, Elena Magnani, Teresa Rossi, Douglas M. Noonan, Anna Rita Cantelmo ve Adriana Albini

DNA Hasarının Önlenmesinde, Telomer Bütünlüğünün Korunmasında ve Kanser Büyümesinin Kontrolünde Nutriomlar ve Bireyselleştirilmiş Beslenme 427
Michael F. Fenech

Melanomun Önlenmesi ve Tedavisinde Özgün Yaklaşımlar 443
Antonio M. Grimaldi, Pamela B. Cassidy, Sancy Leachmann ve Paolo A. Ascierto

Sonsöz 457
Rodolfo Saracci

Yazarlar

Adriana Albini, IRCCS Multimedica, Milan, Italy, e-mail: adriana.albini@multimedica.it

Lucia Altucci Department of Biochemistry, Biophysics and General Pathology, Second University of Naples, Naples, Italy, e-mail: lucia.altucci@unina2.il

Paolo A. Ascierto Unit of Medical Oncology and Innovative Therapies, National Cancer Institute "G. Pascale" Foundation, Naples, Italy, e-mail: paolo.ascierto@gmail.com

Franco Berrino Department of Preventive and Predictive Medicine, Istituto Nazionale Tumori Milano, Milan, Italy, e-mail: franco.berrino@istitutotumori.mi.it

Alfredo Budillon Experimental Pharmacology Unit, Department of Research, National Cancer Institute "G. Pascale" Foundation, Naples, Italy, e-mail: abudillon@yahoo.com

Susan Costantini, Cancer Research Center Mercogliano, CROM, Mercogliano, Italy, e-mail: susan.costantini@cro-m.eu

Rosario Cuomo Department of Clinical and Experimental, University of Naples "Federico II", Naples, Italy, e-mail: rcuomo@unina.it

Fulvio Della Ragione Department of Biochemistry, Biophysics and General Pathology, Second University of Naples, Naples, Italy, e-mail: fulvio.dellaragione@unina2.it

Marc Diederich Laboratoire de Biologie Moléculaire et Cellulaire du Cancer, "Fondation de Recherche Cancer et Sang", Hôpital Kirchberg, Kirchberg, Luxembourg, e-mail: marc.diederich@lbmcc.lu

Eduard Escrich Department of Cell Biology, Physiology and Immunology Medicine School, Universitat Autònoma de Barcelona, Barcelona, Spain, e-mail: Eduard.Escrich@uab.es

Michael F. Fenech, CSIRO Food and Nutritional Sciences, Adelaide, Australia, e-mail: Michael.Fenech@csiro.au

John E. Hesketh Institute for Cell and Molecular Biosciences, University of Newcastle Medical School, Newcastle Upon Tyne, UK, e-mail: j.e.hesketh@newcastle.ac.uk, j.e.hesketh@ncl.ac.uk

Patrizia Hrelia Department of Pharmacology, Alma Mater Studiorum-University of Bologna, Bologna, Italy, e-mail: patrizia.hrelia@unibo.it

Steven D. Hursting Department of Nutritional Sciences, Dell Pediatric Research Institute, University of Texas, Smithville, USA, e-mail: shursting@austin.utexas.edu

Johanna W. Lampe, Fred Hutchinson Cancer Research Center, Seattle, USA, e-mail: jlampe@fhcrc.org

Karen A. Lillycrop School of Biological Sciences, Institute of Developmental Sciences, University of Southampton, Southampton, UK, e-mail: K.A.Lillycrop@soton.ac.uk

William G. Nelson Environmental Health Sciences, The Sidney Kimmel Comprehensive Cancer Center, Johns Hopkins University, Baltimore, USA, e-mail: bnelson@jhmi.edu

Teresa Norat Department of Epidemiology and Biostatistics, School of Public Health, Imperial College, London, UK,

Salvatore Panico Department of Clinical and Experimental, University of Naples "Federico II", Naples, Italy, e-mail: spanico@unina.it

Elio Riboli School of Public Health, Imperial College, London, UK, e-mail: e.riboli@imperial.ac.uk

Gian Luigi Russo Institute of Food Sciences, National Research Council, Avellino, Italy, e-mail: gianluigi.russo@gmail.com

Raffaele Sacchi Department of Food Science, Faculty of Agriculture, Portici, Naples, Italy, e-mail: raffaele.sacchi@unina.it

Rodolfo Saracci, IFC-National Research Council, Pisa, Italy, e-mail: saracci@hotmail.com

Montserrat Solanas Department of Cell Biology, Physiology and Immunology Medicine School, Universitat Autònoma de Barcelona, Barcelona, Spain, e-mail: Montserrat.Solanas@uab.es

Pasquale Strazzullo Department of Clinical and Experimental, University of Naples "Federico II", Naples, Italy, e-mail: strazzul@unina.it

Trygve O. Tollefsbol Department of Biology, The University of Alabama, Birmingham, USA, e-mail: trygve@uab.edu

Paolo Vineis School of Public Health, MRC/HPA Centre for Environment and Health, Imperial College, London, UK, e-mail: p.vineis@imperial.ac.uk

Kanserin Oluşumunda ve Önlenmesinde Metabolik Karsinogenezin Rolü: Prospektif Avrupa Çalışmasından Kanser ve Nütrisyonla İlgili Kanıtlar

Elio Riboli

Özet

Nütrisyonun kanserin oluşmasında ve kanserden korunmada rol oynayabileceği teorisi 100 yıldan uzun süre önce diyetin tümör büyümesindeki etkilerini inceleyen laboratuvar çalışmalarından doğmuştur. Yirminci yüzyılın ortalarında ise kanser epidemiyolojisinin ana odak noktası tütün ve alkolün rolüydü. Doll ve Peto 1980'lerin ilk yıllarında kanser nedenleri ile ilgili orijinal makaleyi yayınlayana kadar kanser ve beslenme ile ilgili majör araştırma programları başlatılmamıştı. Avrupa Prospektif Kanser ve Nütrisyon Araştırması (EPIC) IARC-WHO tarafından diyet, nütrisyonel faktörler, antropometri ve fiziksel aktivitenin kanser riskiyle ilişkisini araştırmak amacıyla özel olarak dizayn edilen büyük ölçekli, prospektif, kohort çalışmasıdır. EPIC bu faktörlerin kanser riski üzerindeki etkilerinin anlaşılmasında 1990'ların ilk yıllarından itibaren büyük katkılar yapmıştır. Bu bölümde nütrisyonel kanser epidemiyolojisinin gelişimi ile kanser ve nütrisyon ilişkisini araştıran EPIC çalışmasının dizaynı özetlenmektedir. EPIC Çalışmasının nütrisyonel ve metabolik faktörlerin kanserdeki rolü ile ilgili ana bulguları vurgulanmaktadır.

Anahtar Kelimeler

Nütrisyon • Diyet • Metabolik faktörler • Steroid hormonlar • Kanser • Epidemiyoloji • Büyük ölçekli prospektif kohort çalışması • Avrupa Prospektif Kanser ve Nütrisyon Araştırması

E. Riboli (✉)
School of Public Health, Imperial College, London, UK
e-mail: e.riboli@imperial.ac.uk

V. Zappia et al. (eds.), *Advances in Nutrition and Cancer,*
Cancer Treatment and Research 159, DOI: 10.1007/978-3-642-38007-5_1,
© Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2014

İçindekiler

1 Tarihsel Arkaplan 4
2 EPIC Projesinin Dizaynı ve Hayata Geçirilmesi 8
3 Nütrisyon, Metabolik Faktörler ve Kanser ile İlgili Araştırma Bulguları 10
3.1 Gıdalar ve Besin Öğeleri 10
3.2 Obezite 11
3.3 Boy 12
3.4 İnsülin Rezistansı 13
3.5 Seks Steroid Hormonları 14
4 Sonuçlar 14
Referanslar 16

1 Tarihsel Arkaplan

Nütrisyonun kanserin oluşumunda ve kanserden korunmada rol oynayabileceği teorisinin gelişimine, 1900'lü yılların başlarında farklı diyetlerin, tümörlerin gelişim ve büyümeleri üzerindeki etkilerini araştıran laboratuvar çalışmaları yol açmıştır. Bu ilk araştırmalarda kemirgenlerdeki spontan ya da transplante tümörlerin iyi beslenenlerde büyüdüğü, kısıtlı kalori alanlarda ise bu büyümenin inhibe olduğu gözlenmiştir. Tümör büyümesini inhibe etmek için, kalori alımının dilediği kadar kalori alan gruba göre ciddi oranda kısıtlanması gerekiyordu. Daha sonraki çalışmalarda kalori kısıtlamasının eksizyon sonrası transplante edilen spontan tümörlerin reküransını da önlediği gösterilmiştir [30, 36, 42].

Albert Tannenbaum ve çalışma arkadaşları kemirgen modellerinde yüksek kalorili, yüksek yağlı ve yüksek proteinli diyetlerin kanserle ilişkisini otuz yıl boyunca araştırdıkları laboratuar çalışmalarına 1930'larda başlamışladır [44, 46, 47]. Özellikle meme bezleri, karaciğer ve akciğerde görülenleri de içeren bazı tümör tiplerinin yüksek kalorili veya yüksek yağlı diyetlerden (ya da her ikisinden) daha fazla etkilendiğini tespit etmişlerdir. Bu veriler yüksek yağlı diyetin tümör gelişimine katkısının (en azından bir kısmının) yağ artışı ile yükselen kalori miktarına bağlı olduğunu gösteren Baumann tarafından bildirilmiştir [29].

İnsanlarda diyet ve kanser epidemiyolojisi ile ilgili bilinen ilk çalışma 1933 yılında yayınlanmıştır. 462 kanser hastası ve 435 kontrol deneği ile gerçekleştirilen çalışmada sebze tüketimindeki artışın kanser riskini azalttığı, fazla bira içenlerde ise üst gastrointestinal sistem kanserlerinin arttığı bulunmuştur [41].

Tannenbaum obezitenin kanser ve diğer hastalıklara bağlı mortalite ile ilişkisini araştıran ve muhtemelen ilk kez yapılan retrospektif kohort çalışmasını yönetmiştir. Çalışmada Kuzey Amerika hayat sigortası şirketlerinden alınan veriler kullanılmıştır. İlk kez hayat sigortası satın aldığı esnada obez olan bireylerdeki kansere bağlı mortalitenin %30-50 oranında arttığı bulunmuştur [45].

Bu sonuçlar kanser araştırmalarında kullanılan yaygın yaklaşımlar üzerinde önemli bir değişime yol açmamıştır. O dönemde kanserin hava, içme suyu, besinler (kontami-

nantlar veya kimyasal katkılar) veya iş ortamında mevcut olan kimyasal veya fiziksel bileşiklerin etkisi ile oluştuğu hipotezine yaygın olarak inanılıyordu. Bu nedenle kanser ile ilgili çalışmaların çoğu yeni karsinojenlerin tanımlanması ile kimyasal ve fiziksel karsinogenezin mekanizmasının anlaşılmasına yönelik olarak dizayn ediliyordu.

O dönemde araştırma konusu olan majör faktörler, yaşam tarzı ile ilişkili iki potansiyel karsinojen olan tütün ve alkol kullanımı idi. 1950'lerde İngiltere'de Richard Doll ve Bradford Hill [5–8], ABD'de ise Ernst Wynder [51] tarafından yapılan çalışmalarda tütünün rolü net olarak belirlenmişti. Bu çalışmalarda yaşamları boyunca sigara içenlerde çok yüksek oranda karsinojenik etki tespit edilmişti. Örneğin sigaraya 18-20 yaşında başlayan ve günde 20-30 sigara içen bir bireydeki akciğer kanseri riskinin 30 ile 40 kat arttığı bulunmuştu. Sigarada bulunan kimyasal bileşiklerin tanımlanarak laboratuar karsinogenez modellerinde test edilmeleri ile epidemiyolojik çalışmalar için hızlı ve güçlü destek sağlanmıştır.

Bu çerçevede ortaya çıkan bilimsel kanıtlar alkol tüketimi ile kanser arasında doğrusal ilişkinin çok daha az olduğunu ortaya koymuştur. Bu durum alkol tüketimi ile kanser arasındaki ilişkinin gücü gibi birçok nedenden kaynaklanır. Gerçekte alkol tüketimi rölatif kanser riskini önemli oranda artırmaktadır. Ancak bu artış sigara ile akciğer kanseri ilişkisindeki kadar güçlü değildir. Artan alkol tüketimi (örn. günde 70-80gr alkol, bir şişe şarap veya dört büyük şişe bira eşdeğeridir) üst sindirim ve solunum yolu kanserlerini (ağız, farenks, larenks ve özofagus) tipik olarak 5 ila 6 kat artırmaktadır. Aynı zamanda sigara kullanımı da mevcutsa bu artış birkaç kat daha yükselir. Ancak diğer birçok kanser türündeki rölatif risk artışı (örn. kolorektal, karaciğer ve meme kanserleri) 1.5 kat gibi çok daha düşük seviyelerdedir.

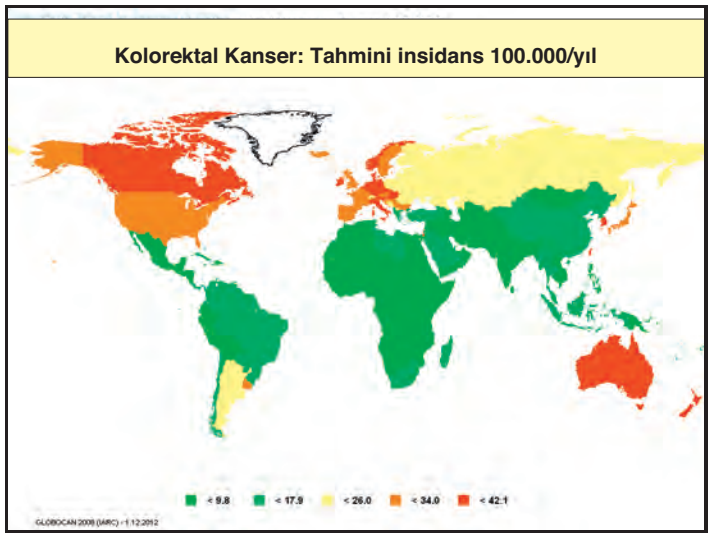
Deneysel hayvan modellerinden elde edilen ve alkolün kansere neden olduğunu gösteren kanıtların toplanabilmesi sigaradaki kimyasalların tespitinden çok daha uzun sürmüştür. Alkolün kanser riski üzerindeki etkisi ile ilgili olarak tanımlanabilen mekanizmalar arasında [19], özellikle üst gastrointestinal sistem ve karaciğerle ilişkili olarak asetaldehite bağlı DNA hasarı; meme kanseriyle ilişkili olarak östrojen sekresyon ve biyoyararlanımında artış; reaktif oksijen ve nitrojen türlerinin üretimi ve folat metabolizmasındaki değişimler sayılabilir.

Diyetin kanser gelişimindeki muhtemel rolünü araştırmak amacıyla modern epidemiyolojik yöntemlerle dizayn edilen ilk vaka kontrol çalışmaları ise 1960'lı ve 1970'li yıllara kadar yapılamamıştır. İlk çalışmalarda çoğunlukla gastrointestinal (mide, kolon, rektum) ve respiratuar (larenks, akciğer) sistemlerle ilgili kanserler araştırılmıştır [31]. Nütrisyona ilginin tekrar artmasını, farklı global popülasyonlardaki kanser insidanslarının yayınlanması tetiklemiştir [9, 10].

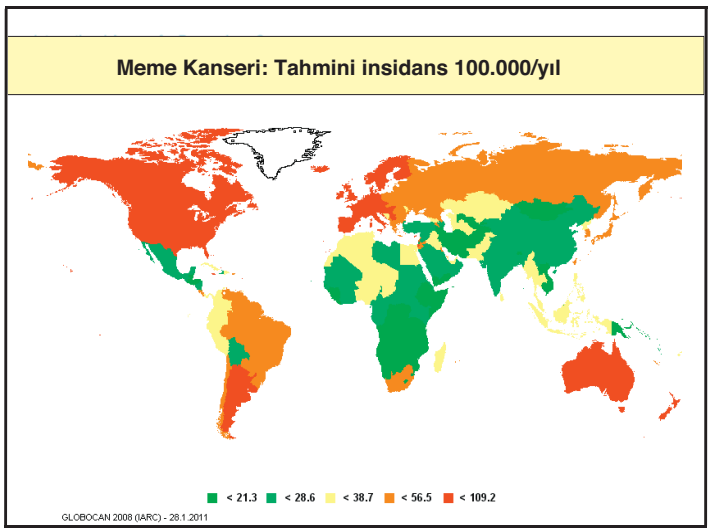
Popülasyon tabanlı kanser kayıt çalışmaları verileri birçok kanserin global insidanslarının ciddi anlamda farklı olduğunu ortaya koydu. Dünya'daki farklı popülasyonlardaki bazı kanserlerin insidansları arasında 15 ila 20 kata varan farklar mevcuttur (Şekil 1).

Tütün kullanım hikayesi ve prevalansındaki farklılıklar veya son zamanlarda gösterildiği üzere hepatit B ve C insidans ve prevalansı veya küf ile kontamine olmuş yiyecek veya alkollü içki kullanımı ile aflatoksinlere maruz kalınması akciğer ve karaciğer kanse-

(a)



(b)



Şekil 1 GLOBOCAN 2008 Dünya genelinde tahmini kanser insidansları 100.000/yıl (**a**) Kolorektal (**b**) Meme kanseri. [14] nolu referanstan uyarlanmıştır.

ri gibi bazı kanser türlerinde görülen varyasyonların ortaya çıkmasında rol oynayan en muhtemel nedenlerdir. Meme, kolon ve rektum, prostat ve mide kanserleri gibi birçok diğer kanser türündeki büyük varyasyonların nedenlerinin bilinmiyor oluşu etyolojilerinde diyetin rol oynayabileceği hipotezini doğurmuştur.

İlk yapılan epidemiyolojik çalışmalarda belirli bazı besinlerle kanser riski arasındaki ilişki araştırılmıştır. Zaman içinde özellikle meyve, sebze ve zengin lifli tahıllar gibi belirli bazı yiyeceklerin tüketilmesi ile kanser riskinin azalabileceğini gösteren bazı kanıtlar ortaya konulmuştur. Buna karşın çok tuz içeren (sebze turşuları, korum amaçlı tuzlanmış et), kırmızı et ve hayvan yağları (bitkisel yağların aksine) kanser riskini artırabilir.

Bu çalışma ile diyet ile kanser riski arasındaki ilişki daha iyi anlaşılmış da olsa, araştırma tüketilen gıdaların toplam tüketim miktarının, alınan besin ve enerji içeriğinin kesin bir ölçümüne değil gıdanın tipine odaklanmıştır. Ayrıca vücut ağırlığı ve fiziksel aktivitenin kanser riskindeki potansiyel önemini incelemeye yönelik bir girişim de yapılmamıştır. O dönemde yağ alımının toplam kalori alımını aşırı düzeyde artırabildiği için değil sadece kimyasal ve nütrisyonel özellikleri nedeniyle kanser riskini artırdığı düşünülüyordu. Obezite majör risk faktörü olarak görülmüyordu. Yapılan çalışmaların hiçbirinde kalori alımının etkileri ile tüketilen yağ miktarının etkisi birbirinden ayrılmamıştı.

1981 yılında Richard Doll ve Richard Peto tarafından kanser nedenleri hakkında yayınlanan dönüm noktası sayılan makalede ABD'deki kanser türlerinin tahmini olarak %35'inin beslenme kaynaklı olabileceği bilgisi mevcuttu. Ancak %10 ila %70 arasında çok geniş bir güven aralığı mevcuttu [11]. Bu makalenin ABD Ulusal Bilim Akademisi'nin (National Academy of Science 1982) diyet ve kanser hakkında yayınladığı başka bir makale ile kombinasyon halinde yayınlanması IARC-WHO'yu harekete geçirerek Dr. Rodolfo Saracci direktörlüğündeki Analitik Epidemiyoloji Ünitesi'nde nütrisyon ve kanser konulu yeni araştırma programının başlatılmasını sağlamıştır.

Diyet, nütrisyonel faktörler, antropometri ve fiziksel aktivitenin kanser riski ile ilişkisini araştırmak üzere özel dizayn edilmiş büyük ölçekli, prospektif, kohort çalışmaları kanser epidemiyolojisinde yeni bir dönemin başlamasına katkı sağlamıştır. Bu çalışmaların ilki Kuzey Amerika'da başlamıştır. Özellikle Harvard Üniversitesi'nden Walter Willett çok büyük kohort çalışmalarında kullanıma uygun anketlerin geliştirilmesinde, makrobesinlerin tüketim ve enerjilerinin hesaplanma ve ayarlanmalarında kullanılan yöntemlerin formülize edilmesinde çok önemli çalışmalar yapmıştır.

Avrupa'da İsveç Lund Üniversitesi IARC kolaborasyonu, Malmö'de prospektif kohort çalışması dizayn etmeye başlamıştır. Paralel olarak Danimarka Kanser Derneği de Kopenhag ve Aarhus'ta benzer bir projenin planlamasına başlamıştır.

Hollanda, İngiltere (Cambridge), İtalya (Milan) ve Fransa'daki (Paris) farklı araştırmacılar da nütrisyon ile ilgili prospektif çalışmaların dizaynlarını yapmaktadır.

Bu yeni ilgi alanında IARC bünyesinde geliştirilen nütrisyon ve kanser araştırma programı, çok merkezli Avrupa prospektif kohort çalışmasının planlamasının temelini oluşturmuş ve sonuç olarak Avrupa Prospektif Kanser ve Nütrisyon Araştırması (EPIC) ortaya çıkmıştır.

2 EPIC Projesinin Dizaynı ve Hayata Geçirilmesi

1989 yılında başlatılan EPIC projesi büyük ölçekli, çok merkezli ve çok dilli kohort çalışmalarında kullanılmak üzere dizayn edilen diyet ölçüm yöntemlerinin rölatif geçerlilik ve tekrarlanabilirliklerini test etmeyi amaçlayan bir dizi metodolojik çalışma ile birlikte başlatılmıştır.

Bu metodolojik çalışmalar bir yıllık periyodun başlangıcında ve bitiminde yeni geliştirilen diyet değerlendirme anketi kullanılarak iki ölçüm yapmayı hedefleyen basit bir dizayna sahiptir. Diyet anketlerinin sonuçları, çalışma süresince aylık olarak yapılan ve 12 kez tekrar edilen 24 saatlik hatırlama (hastaya sorarak görüşmeden önceki gün içindeki yiyecek alımını tanımlama ve oranını saptama) yöntemi ile diyetle ortalama enerji alımını tahmin eden referans yöntemle karşılaştırılmıştır.

Dörder kez tekrar edilen kan ve idrar örneklerinde ölçülen biyomarkerler ile diyetle alınan tahmini besin öğeleri ve gıdalar karşılaştırılmıştır.

Aynı zamanda çok sayıda çalışma deneğinden maliyet etkin bir yöntem ile toplanan yaşam tarzı ve medikal hikaye bilgileri ile alınan biyolojik örneklerin de fizibilitesi test edilmiştir. Bu metodolojik ve pilot fazın başarılı bir şekilde tamamlanması ile Avrupa Komisyonu'nun "Kansere Karşı Avrupa" programı ve birçok ulusal enstitüden sağlanan ve tam ölçekli projenin başlaması için gereken maddi desteğin de önü açılmış oldu.

EPIC kayıtları 7 ana EPIC ülkesindeki (Fransa, Almanya, Yunanistan, İtalya, Hollanda, İspanya ve İngiltere) 17 merkezde 1992 yılında başladı. Devamındaki 2-3 yıl içinde Danimarka, Norveç ve İsveç'te benzer çalışmalar yapan araştırma merkezleri de EPIC konsorsiyumuna katıldı.

Kayıtların büyük bölümü 1993-1999 yılları arasında gerçekleştirildi. Çalışmaya çoğu belirli coğrafi bölgelerde yaşayan genel popülasyondan, 35-70 yaşları arasındaki bireyler davet edildi. Bazı istisnalar da mevcuttu. Örneğin Utrecht kohortu meme kanseri taraması yapılan kadınlardan, Oxford kohortu hem genel popülasyon hem de vejeteryan ve veganlardan, Fransız kohortu da ulusal sağlık sigortası kapsamındaki okul çalışanlarından oluşuyordu.

EPIC, çalışmaya kayıt fazının sona erdiği 1999 yılında 10 Avrupa ülkesindeki 23 çalışma merkezinden 521.330 katılımcı ile kanser ve nütrisyon arasındaki ilişkiyi incelemek üzere dizayn edilen en büyük prospektif kohort çalışması olmuştur (Şekil 2).

Prospektif kohort yaklaşımı diyet ve hayat tarzı faktörleri ile ilgili başlangıç anketlerini, antropometrik karakteristiklerin standardize protokollere göre ölçümünü (vücut ağırlığı, boy, oturma yüksekliği, bel ve kalça çevresi), kan basıncı ve nabız değerlerinin toplanmasını kapsar. EPIC aynı zamanda çok fazla sayıda katılımcıdan kan örneklerinin toplanarak saklandığı ilk çalışmaydı: Her biri 30 ml olan 388.467 kan örneği alındıktan sonra her örnek sitratlı plazma ve serum içeren 28 plastik pipete bölünerek, sıvı nitrojen içinde saklandı. Örnekler güvenlik amacıyla bölünerek IARC'nin ana deposunda ve her ulusal merkezde depolandı.

Avrupa Prospektif Kanser ve Nütrisyon Araştırması (EPIC): Sorumlu Araştırmacılar ve Katılımcı Merkezler

Imperial College Londra (ICL)
• Elio Riboli (EPIC Koordinatörü), Gwyneth Davey†, Marc Gunter, Teresa Norat.

Uluslararası Kanser Araştırmaları Ajansı Dünya Sağlık Örgütü (IARC, Lyon)
• Isabelle Romieu, Paul Brennan, Pietro Ferrari, Mazda Jenab, Nadia Slimani, Rodolfo Saracci.

Danimarka
• Kim Overvad, Aarhus Üniversitesi
• Anne Tjønneland, Danimarka Kanser Derneği, Kopenhag.

Fransa
• Marie-Christine Boutron-Ruault, Françoise Clavel-Chapelon, Laure Dossus, INSERM U1018, Paris South Üniversitesi and Gustave Roussy Enstitüsü, Villejuif.

Almanya
• Heiner Boeing, Alman İnsan Nütrisyon Enstitüsü, Potsdam.
• Rudolf Kaaks, DKFZ, Heidelberg.

Yunanistan
• Antonia Trichopoulou, Hellenic Sağlık Vakfı; Atina Üniversitesi Tıp Fakültesi
• Dimitrios Trichopoulos, Harvard Halk Sağlığı Fakültesi Atina Akademisi
• Pagona Lagiou, Atina Üniversitesi Tıp Fakültesi

İtalya
• Franco Berrino and Vittorio Krogh, Ulusal Kanser Enstitüsü, Milan.
• Domenico Palli, Giovanna Masala, Kanser Araştırma ve Önleme Merkezi-CSPO, Floransa
• Salvatore Panico, Federico II Üniversitesi, Napoli.
• Rosario Tumino, Kanser Kayıt, Associazione Iblea Ricerca Epidemiologica - ONLUS and ASP, Ragusa.
• Paolo Vineis, Turin Üniversitesi ve HuGeF Vakfı.

Hollanda
• Bas Bueno-de-Mesquita, Ulusal Halk Sağlığı ve Çevre Enstitüsü, Bilthoven
• Petra Peeters, Julius Sağlık Bilimleri ve Birinci Basamak Merkezi, Üniversite Medikal Merkezi, Utrecht.

Norveç
• Eiliv Lund,Guri Skeie, Elisabete Weiderpass, Toplum Sağlığı Departmanı, Tromsø Üniversitesi



İspanya
• Carlos A. González, Antonio Agudo, Eric Duell, Katalan Onkoloji Enstitüsü, Barcelona
• Aurelio Barricarte, Navarre Halk Sağlığı Enstitüsü, Pamplona.
• Miren Dorronsoro, Guipuzcoa Halk Sağlığı Ofisi, San Sebastian.
• Carmen Navarro, Murcia Bölgesel Sağlık Konseyi, Murcia
• María José Sánchez Pérez, Andalusian Halk Sağlığı Okulu, Granada.
• J. Ramon Quirós Halk Sağlığı Direktörlüğü, Asturias.

İsveç
• Göran Berglund, Jonas Manjer, Malmö Diyet ve Kanser Çalışması, Lund Üniversitesi, Malmö.
• Göran Hallmans, Mattias Johannson, Malin Sund, Umeå Üniversitesi.

İngiltere
• Nicholas E Day, Kay-Tee Khaw, Sheila Bingham†, Nicolas Wareham, John Danesh, Cambridge Üniversitesi.
• Timothy J Key, Ruth C Travis, Oxford Üniversitesi.

Şekil 2 EPIC konsorsiyumunda yer alan Avrupa merkezleri ve sorumlu araştırmacıları.

EPIC Çalışmasının ana özelliklerinden birisi geniş coğrafi kapsama alanı sayesinde değişken diyet ve hayat tarzı alışkanlıkları ile farklı kanser insidanslarına sahip popülasyonlardan oluşmasıdır. Çalışma dizaynındaki maruziyet ve hastalık sonuçları ile ilgili heterojeniteler, diyet ile hastalıklar arasındaki ilişkilerin belirlenmesindeki genel istatistiksel gücü artırması yönünden önemlidir.

Ancak çalışma merkezleri arasındaki diyet ve dil farklılıkları, belirli gıda ve besin öğelerinin alım miktarlarının sistematik olarak gerçekte olandan daha az ya da daha çok tahmin edilmesine yol açabilir. Bu metodolojik zorluğun üstesinden gelebilmek amacıyla içerdiği kalibrasyon alt çalışması ile diyet ölçümünü iyileştirmeyi amaçlayan bir araştırma programı geliştirildi. Her EPIC ülkesinde tüm kohortun %7'sini (38.000 kişi) kapsayan

detaylı 24 saatlik diyet hatırlama değerlendirmeleri yapıldı. Bu veriler kullanılarak her merkezden alınan veriler kalibre edildi. Böylece çalışmanın başlangıcındaki diyet değerlendirmelerindeki olası sistematik tahmin hatalarının düzeltilmesi amaçlandı.

Katılımcılar başlangıç verilerinin toplanmasından sonra diyet ve hayat tarzlarında olabilecek majör değişiklikler ile sık görülen hastalıklar ve medikal problemler yönünden takip edildiler.

Takibin amacı EPIC kohortunda gelişen kanser vakalarının popülasyon kanser kayıt verilerinden faydalanarak belirlenmesiydi. Yaşadıkları bölge itibarı ile kayıt çalışmaları kapsamına girmeyen deneklerin mevcut olduğu bazı EPIC ülkelerinde (örn. Fransa, Almanya, Yunanistan) kanser insidans bilgilerine çalışma deneklerinin ve yakınlarının aktif takibi, sağlık sigortası kayıtları, klinik ve patolojik kayıtlar gibi yöntemler ile ulaşıldı.

IARC-WHO bünyesindeki güvenli merkezi veri tabanında saklanan bu veriler spesifik çalışmalar için EPIC araştırmacılarının hizmetine sunulmaktadır. Şu ana kadar 60.000'in üzerinde yeni kanser vakası bildirilmiştir. Bunlar arasında yaklaşık 14.000 meme, 3600 akciğer, 5200 kolorektal, 1180 pankreas ve 1400 endometrium kanseri vakası mevcuttur. Bu veriler kanser nedenlerini araştıracak yeterli güce sahip çalışmalar için altyapı oluşturmaktadır.

3 Nütrisyon, Metabolik Faktörler ve Kanser ile İlgili Araştırma Bulguları

EPIC kanser etyolojisi ile ilgili epidemiyolojik çalışmalar için gelişmiş ve büyük ölçekli bir kaynaktır. Diyet, fiziksel aktiviteler, antropometri ve biyomarker ölçümü ile ilgili çalışma verileri, nütrisyonun ve metabolik faktörlerin kanserde oynadığı rol ile ilgili büyük resmi oluşturabilmek amacıyla entegre edilebilir. Aşağıda EPIC kapsamındaki araştırmanın bazı önemli noktaları özetlenmiştir.

3.1 Gıdalar ve Besin Öğeleri

Belirli gıda ve besin öğelerinin kanser riski ile ilişkisi hakkında EPIC kapsamında gerçekleştirilen spesifik araştırma projelerinde spesifik kanser türlerinin gelişimi ile ilgili birçok ilişki belirlemiştir. Bunlar aşağıda kısaca özetlenmektedir.

Özellikle tahıl kaynaklı lif tüketiminin kolorektal kanser gelişim riskini istikrarlı ve yüksek oranda anlamlı olarak azalttığı bulunmuştur [2, 3]. Kırmızı et ve işlenmiş et ürünleri mide, kolon ve rektumu da kapsayan sindirim kanalı kanserlerinde artışla ilişkilidir [17, 32].

Bazı besin öğelerinin belirli kan düzeylerinde bulunmaları anlamlı olarak azalmış kanser riski ile ilişkili bulunmuştur. B vitaminlerinin kolorektal kanserler [12] ile akciğer kanserine [23], askorbik asit ve bazı karotenoidlerin mide kanserine [20], D vitamininin kolorektal kanserlere [22] karşı koruyucu etkileri ile ilgili kayda değer bağlantılar bulunmuştur.

Ancak bu makalenin ana odak noktası antropometrik ve metabolik faktörler ile kanser riski arasındaki ilişkiyle ilgili majör bulgulardır.

3.2 Obezite

Vücut kütle indeksi (VKİ) ile diğer antropometrik ölçütler ve kanser riski arasındaki ilişki EPIC popülasyonundaki birçok kanser tipi için araştırılmıştır. Vücut ağırlığı ve VKİ erkeklerdeki kolon kanseri riskiyle pozitif ilişkili bulunmuştur. Aynı ilişki kadınlarda zayıftır ya da mevcut değildir. Ancak abdominal obezitenin göstergesi olan bel çevresi ve bel-kalça oranı (BKO) analizlerinin hem kadın hem de erkeklerdeki kolon kanserini tahmin etmekte kullanılabilecekleri bulunmuştur. En yüksek BKO'ya sahip beşte birlik dilim ile en düşük BKO'ya sahip beşte birlik dilim arasındaki rölatif risk erkeklerde 1.51 (%95 CI = 1.06-2.15); kadınlarda ise 1.52 (%95 CI = 1.12-2.05) bulunmuştur [33].

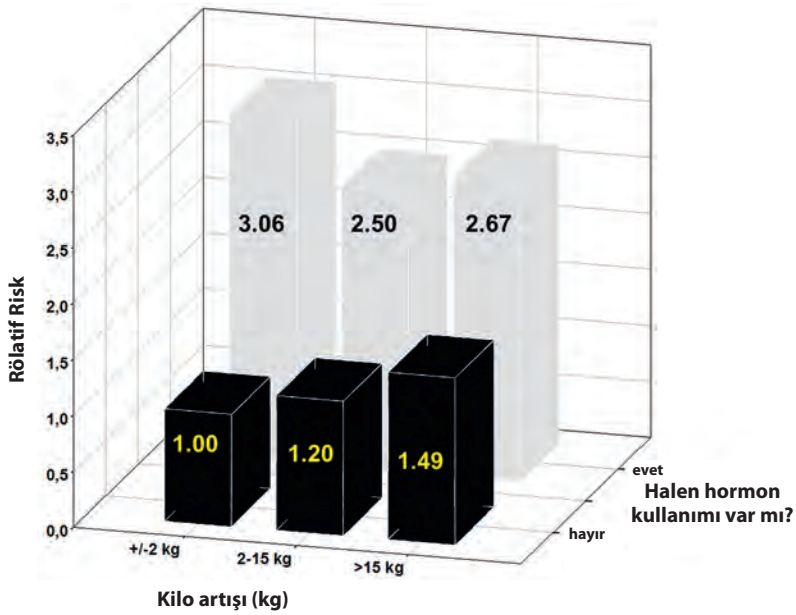
Postmenopozal kadınlardaki abdominal obezitenin kolon kanseri ile ilişkisi hormon replasman tedavisi (HRT) kullanımına bağlı olarak değişimler gösterir. Hiç HRT uygulanmamış kadınlarda daha sıklıkla ortaya çıkıyor görünmektedir. Bu konunun incelenmesi için ilave çalışmalara ihtiyaç vardır [33].

Bel çevresi ≥88 cm olan kadınlarda kolon kanserinin rölatif riski bel çevresi <80 cm olanlara göre 1.76'dır (%95 CI = 1.42-2.19); kilo, bel, kalça çevresi ve BKO ile artmış endometrial kanser riski arasında da güçlü bir ilişki mevcuttur [16].

Fazla kilolu olmanın (VKİ ile gösterilir) HRT uygulanmayan postmenopozal kadınlardaki meme kanseri riskinin anlamlı bir göstergesi olduğu bulunmuştur. Analiz başlangıçta veya başlangıçtan birkaç yıl önce HRT kullanan kadınlar ile sınırlandığında VKİ ile meme kanseri arasındaki ilişkinin gözle görülür şekilde zayıfladığı gözlenmiştir [27]. Diğer bazı kohort çalışmalarında da benzer sonuçlar bildirilmiştir [18]. Ancak bu sonuçlar yorumlanırken her iki risk faktörünün gerçek zamanlı sıralaması göz önüne alınmamıştır. Gerçekte bu kadınlar önce kilo almış, daha sonra da HRT tedavisi kullanmaya başlamışlardır (veya başlamamışlardır). Bu nedenle HRT ile normal kilolu kadınlardaki meme kanseri riski daha fazla artarken, fazla kilolu ve obez kadınlarda progresif olarak daha az artış görüldüğü yönünde yorumlanmalıdır (Şekil 3.).

Premenopozal kadınlarda meme kanseri ile vücut ağırlığı ve VKİ arasında zayıf bir ters orantı mevcuttur. EPIC çalışmasında bu ilişki anlamlı bulunmamıştır. Ancak bazı çalışmaların sonuçlarının da benzer yönde olması beklenmeyen bir araştırma sorusunun doğmasına neden olmuştur. Fazla kilolu ve obez kadınlardaki meme kanseri riskinin 45-50 yaşlarından önce niçin azaldığını açıklayabilecek bir mekanizma mevcut değildir.

Bu beklenmeyen bağlantı, EPIC çalışmasında bir insülin rezistansı markeri olan C-peptid düzeylerinin artmasının meme kanseri riski ile ters orantılı olduğunun bulunması ile desteklenmiştir. Bu markerin artışı menopoz öncesi meme kanserinde hafif azalmanın, menopoz sonrasındaki riskte de artışın göstergesidir.[49].



Şekil 3 EPIC çalışmasındaki postmenopozal kadınlarda çok değişkenli, düzeltilmiş, rölatif meme kanseri riskinin kilo alımı ve hormon kullanımı yönünden değerlendirilmesi.

Popülasyonun çeşitli segmentlerdeki etki farklılıkları göz önüne alındığında obezitenin hangi mekanizmalarla kanser riskini etkilediğinin anlaşılması önem kazanmaktadır. Meme kanseri etyolojisinde hormonal mekanizmaların rol oynadığı teorisini destekleyen çok önemli kanıtlar mevcuttur.

Orta ve yüksek düzeyde fiziksel aktivite ile eğlence ve ev aktivitelerinin kombinasyonunun fazla kilodan bağımsız olarak meme kanseri riskini azalttığı bulunmuştur. Meme kanseri ile hormon reseptör durumu arasındaki heterojen bağlantılar, hormonlarla ilgili mekanizmaların rol oynadığını göstermektedir [28, 40].

Benzer şekilde artan fiziksel aktivitenin kolorektal kanser riskini de azalttığı bulunmuştur. Fiziksel olarak aktif ve zayıf olan bireylerdeki bu risk fazla kilolu ve sedanter bireylere göre yarı yarıya azalmıştır [15].

Fiziksel aktivite ile lenfoid neoplazmaları da içeren diğer birçok kanser tipi arasında bir ilişki tespit edilememiştir [48].

3.3 Boy

Erken boy uzamasının hayatın ilerleyen dönemlerindeki kanser riskini artırabileceği teorisi ile uyumlu olarak, boyun bazı kanserlerin riskinde ve genel kanser insidansı ile kanser mortalitesinde artış ile ilişkili olduğu gösterilmiştir [50].

Bu ilişkinin özellikle kolorektal ve meme kanseri için geçerli olduğu EPIC çalışmasında gösterilmiştir. Uzun boylu erkek (≥180.5 cm) ve kadınlardaki (≥167.5 cm) kolorektal kanser rölatif riski (RR) kısa boylu erkek (<168 cm) ve kadınlara (<156 cm) göre sırasıyla 1.40 (95% CI = 0.99–1.98) ve 1.79 (%95 CI = 1.30–2.46)bulunmuştur. Boy farkları arasında lineer bir ilişki mevcuttur [33].

Uzun boylu kadınlarda kısa boylu kadınlara göre meme kanseri riski premenopozal kadınlarda 1.33 (%95 CI 0.96–1.84) postmenopozal kadınlarda ise 1.40 (%95 CI 1.16–1.69) bulunmuştur.

Burada da boy farkları arasında lineer ilişki mevcuttur. Her 5 cm daha uzun boy premenopozal kadınlarda 1.05 (%95 CI 1.00–1.16) postmenopozal kadınlarda ise 1.10 (%95 CI 1.05–1.16) risk artışına yol açmaktadır.

Boy uzunluğunun kanser üzerindeki etkilerinin mekanizması bilinmemekle birlikte, muhtemelen genetik, çevresel, hormonal ve nütrisyonel faktörlerin bir kombinasyonundan kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Burada ilgi çekici olan nokta metabolik faktörlerin erken yaşlarda, birey en uzun boyuna ulaşmadan önce etki ederek hayatın ilerleyen dönemlerinde etkisini gösterecek kalıcı bir "damga" bırakmasıdır. Hem büyümeyi hem de hayatın devamında ortaya çıkan bulaşıcı olmayan kanser, kardiyovasküler ve respiratuar hastalıkları etkileyen faktörlerin anlaşılması henüz bilinmeyen hastalık mekanizmalarının anlaşılması için gelecekte yapılacak araştırmalarda incelenecek önemli konular olmalıdır.

3.4 İnsülin Rezistansı

Kompleks bir metabolik durum olan insülin rezistansında hücrelere glukoz girişi için normalden daha yüksek insülin düzeyleri gerekmektedir. Pankreas bozukluğun hafif seviyelerinde insülin sentezini artırarak artan ihtiyaca cevap verebilir. İnsülin rezistansı ilerledikçe pankreas gereken insülin miktarını sağlayamaz hale gelir. Böylece yüksek insülin seviyeleri ile hiperglisemi birlikte görülür. Bu bozukluk yıllar içinde ilerleyerek belirgin tip 2 diyabet gelişimine yol açabilir ya da bireyin hayatı boyunca hafif düzeyde seyrederek diyabete yol açmaz.

İnsülin rezistansının tespiti için en yaygın kullanılan serum markerleri C-peptid ve glikolize hemoglobindir (HbA1c). Yükselen C-peptid düzeyleri insülin rezistansını HbA1c'ye göre daha erken gösteren bir markerdir. Glikolize hemoglobin ancak periferik insülin rezistansını kompanse etmek ve glisemiyi kontrol etmek için gereken yüksek insülin sekresyonu yeterli olmadığı zaman normal seviyelerin üzerine yükselir. Buna karşın insülin sekresyonunun bir markeri olan C-peptid ise glisemi ve HbA1c henüz normal değer aralığında iken bile yükselebilir. Bu nedenle EPIC çalışmasındaki insülin rezistansının kanser riski ile ilişkisini inceleyen birçok araştırmada C-peptid değerlerini kullanmayı tercih ettik.

İlk olarak New York Üniversitesi Kadın Sağlığı Çalışmasında serum C-peptid düzeyleri ile kolon ve rektum kanserinin rölatif riski arasında güçlü bir ilişki bildirdik. C-peptid değerleri yönünden en yüksek ve düşük beşte birlik dilimler arasındaki olasılık oranını 2.92 (%95 CI 1.26-6.75) olarak tespit ettik [24]. Aynı ilişki EPIC çalışmasındaki çok daha fazla sayıdaki kolon ve rektum kanser vakaları için de tespit edilmiş olsa da aradaki ilişkinin gücü daha düşük bulunmuştur [21].

Tüm yaşlardaki endometrium kanseri için de pozitif bir ilişki gözlenmiştir [4]. Meme kanseri için premenopozal ve postmenopozal kadınlarda ise birbirinin karşıtı etkiler tespit edilmiştir (aşağıda tanımlanmıştır, [49]). Meme kanseri tanısı sırasında 50 yaşından genç olan ve başlangıç C-peptid düzeyleri yüksek olan hastalardaki meme kanseri riskinin anlamlı olarak azaldığı tespit edilmiştir [49].

3.5 Seks Steroid Hormonları

Kanserin yukarıda tanımlanan antropometrik özellikleri ile ilgili altta yatan hormonal mekanizmalar mevcuttur. Bu durum EPIC çalışmasının meme kanseri araştırmaları gibi hormonal faktörler ile kanser riskini araştıran birçok detaylı çalışmanın doğmasına yol açmıştır.

VKİ ile meme kanseri riski arasında doğru orantı bulunan postmenopozal kadınlarda VKİ ile östron, serbest östradiol ve serbest testosteron düzeyleri arasında da doğru orantı mevcuttur [25]. Seks hormonu bağlayıcı globülin (SHBG) düzeyleri ile VKİ arasında ters orantı mevcuttur. Bu glikoprotein androjen ve östrojenleri tecrit ederek hücre reseptörlerine bağlanmalarına engel olur. Bu gözlemlere ek olarak, bir grup hormonun seviyelerindeki artmanın artan meme kanseri riski ile güçlü ilişkisi mevcuttur. SHBG meme kanseri riskinde azalma ile ilişkili olan tek faktördür (Şekil 4.) [25].

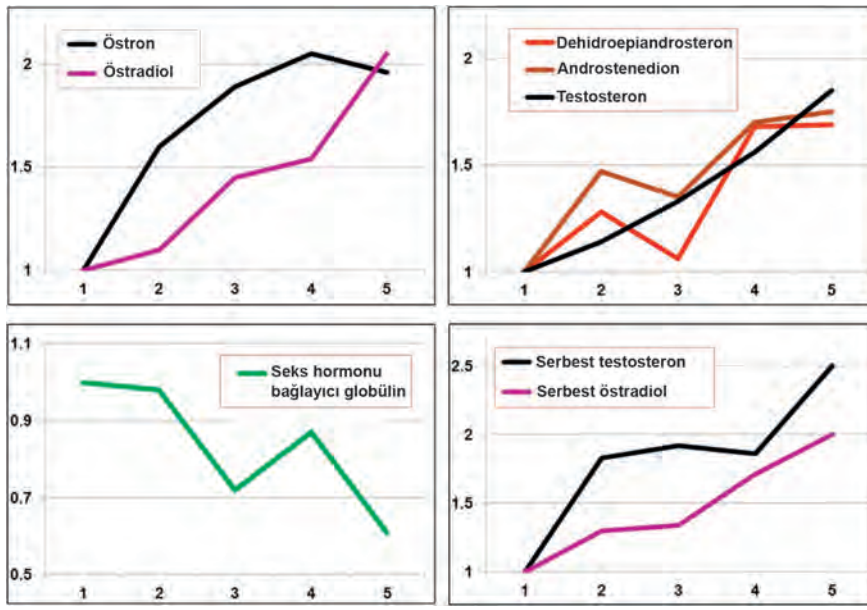
Buna karşın (VKİ ile meme kanseri arasında ters orantı mevcut olan) premenopozal kadınlardaki östrojen veya SHBG ilişkileri gözlenmemiştir. Ancak artmış androjen düzeyleri meme kanseri riskinde artış ile ilişkilidir [26].

4 Sonuçlar

Kanserin oluşumunda bir dizi kimyasal, fiziksel ve biyolojik karsinojenlerin rol oynadığı kesindir. Bu faktörler bazı durumlarda Dünya'daki kanser insidanslarındaki varyasyonların çoğundan da sorumludur. Ancak bu faktörler dünyadaki kanser yükünün önemli bir kısmını oluşturan birçok kanser türündeki global varyasyonları açıklayamamaktadırlar.

Geçmiş dekadlarda gerçekleştirilen özellikle EPIC gibi büyük ölçekli prospektif çalışmaları da içeren araştırmalarda diyet, nütrisyon, fiziksel aktivite ve antropometrinin popülasyonlardaki kanser riski üzerinde majör rol oynadıkları tespit edilmiştir.

Bilimsel bir bakış açısı ile Batı tipi diyet ve hayat tarzının bazı komponentleri ile ilişkili olan yüksek kanser riskinin altında yatan mekanik etkilerin anlaşılması oldukça zordur. Bu etki genel bir bozukluktan ziyade normal fizyolojik prosesin ince modülasyonu veya hafif bozukluğundan kaynaklanabilir. Bu durum bazı güçlü eksojen karsinojenler için geçerli olabilir.



Şekil 4 EPIC çalışmasında ortalama 8 yıl takip edilen 300.000 postmenopozal kadındaki serum seks steroid düzeylerine göre (beşte birlik dilimlere ayrılmış) rölatif meme kanseri riski Çalışma merkezinde koşullu lojistik regresyon ile hesaplanan olasılık oranı, kan alımı sırasındaki yaş, zaman ve açlık durumu, meme kanseri olan vakalar ile kontroller arasında eşleştirme faktörleri olarak kullanılarak tahmin edilmiştir. x ekseni: düşükten [45] yükseğe [10] beşte birlik hormon konsantrasyon dilimleri; y ekseni: rölatif risk

Bu metabolik hayat tarzı faktörleri halk sağlığı açısından bakıldığında bilinen majör kardiyovasküler ve diyabet risk faktörleri ile büyük oranda örtüştükleri için büyük ilgi çekmekte ve aynı halk sağlığı girişimlerinin kullanılarak birçok bulaşıcı olmayan hastalığın önlenebilmesine imkân sunmaktadırlar [13].

Claire Westwood'da metnin hazırlanmasındaki yardımları için teşekkür ederim. Aşağıdakilere EPIC çalışmasına yaptıkları finansal destekler için teşekkür ederim: European Commission (DG-SANCO); International Agency for Research on Cancer; Danish Cancer Society (Denmark); Ligue Contre le Cancer, Institut Gustave Roussy, Mutuelle Générale de l'Education Nationale, Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale (INSERM) (France); Deutsche Krebshilfe, Deutsches Krebsforschungszentrum and Federal Ministry of Education and Research (Germany); Ministry of Health and Social Solidarity, Stavros Niarchos Foundation and Hellenic Health Foundation (Greece); Italian Association for Research on Cancer (AIRC) and National Research Council (Italy); Dutch Ministry of Public Health, Welfare and Sports (VWS), Netherlands Cancer Registry (NKR), LK Research Funds, Dutch Prevention Funds, Dutch ZON (Zorg Onderzoek Nederland), World Cancer Research Fund (WCRF), Statistics Netherlands (The Netherlands); ERC-2009-AdG 232997 and Nordforsk, Nordic Centre of Excellence programme on Food, Nutrition and Health. (Norway); Health Research Fund (FIS), Regional Governments of Andalucía, Asturias, Basque Country, Murcia and Navarra, ISCIII RETIC (RD06/0020) (Spain); Swedish Cancer Society, Swedish Scientific Council and

Regional Government of Skåne and Västerbotten (Sweden); Cancer Research UK, Medical Research Council, Stroke Association, British Heart Foundation, Department of Health, Food Standards Agency, and Wellcome Trust (United Kingdom).

Referanslar

1. Belanger C, Speizer FE, Hennekens CH, Rosner B, Willett W, Bain C (1980) The nurses' health study: current findings. Am J Nurs 80:1333
2. Bingham SA, Day NE, Luben R, Ferrari P, Slimani N, Norat T, Clavel-Chapelon F, Kesse E, Nieters A, Boeing H, Tjonneland A, Overvad K, Martinez C, Dorronsoro M, Gonzalez CA, Key TJ, Trichopoulou A, Naska A, Vineis P, Tumino R, Krogh V, Bueno-De-Mesquita HB, Peeters PH, Berglund G, Hallmans G, Lund E, Skeie G, Kaaks R, Riboli E (2003) Dietary fibre in food and protection against colorectal cancer in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC): an observational study. Lancet 361:1496–1501
3. Bingham SA, Norat T, Moskal A, Ferrari P, Slimani N, Clavel-Chapelon F, Kesse E, Nieters A, Boeing H, Tjonneland A, Overvad K, Martinez C, Dorronsoro M, Gonzalez CA, Ardanaz E, Navarro C, Quiros JR, Key TJ, Day NE, Trichopoulou A, Naska A, Krogh V, Tumino R, Palli D, Panico S, Vineis P, Bueno-De-Mesquita HB, Ocke MC, Peeters PH, Berglund G, Hallmans G, Lund E, Skeie G, Kaaks R, Riboli E (2005) Is the association with fiber from foods in colorectal cancer confounded by folate intake? Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 14:1552–1556
4. Cust AE, Allen NE, Rinaldi S, Dossus L, Friedenreich C, Olsen A, Tjonneland A, Overvad K, Clavel-Chapelon F, Boutron-Ruault MC, Linseisen J, Chang-Claude J, Boeing H, Schulz M, Benetou V, Trichopoulou A, Trichopoulos D, Palli D, Berrino F, Tumino R, Mattiello A, Vineis P, Quiros JR, Agudo A, Sanchez MJ, Larranaga N, Navarro C, Ardanaz E, Bueno-De-Mesquita HB, Peeters PH, van Gils CH, Bingham S, Khaw KT, Key T, Slimani N, Riboli E, Kaaks R (2007) Serum levels of C-peptide, IGFBP-1 and IGFBP-2 and endometrial cancer risk; results from the European prospective investigation into cancer and nutrition. Int J Cancer 120:2656–2664
5. Doll R, Hill AB (1950) Smoking and carcinoma of the lung; preliminary report. Br Med J 2:739–748
6. Doll R, Hill AB (1952) A study of the aetiology of carcinoma of the lung. Br Med J 2:1271–1286
7. Doll R, Hill AB (1954) The mortality of doctors in relation to their smoking habits; a preliminary report. Br Med J 1:1451–1455
8. Doll R, Hill AB (1956) Lung cancer and other causes of death in relation to smoking; a second report on the mortality of British doctors. Br Med J 2:1071–1081
9. Doll R, Payne P, Waterhouse JAH (eds) (1966) Cancer Incidence in Five Continents: a Technical Report Union Internationale Contre le Cancer, Geneva
10. Doll R, Muir CS, Waterhouse JAH (eds) (1970) Cancer Incidence in Five Continents, vol II. Union Internationale Contre le Cancer, Geneva
11. Doll R, Peto R (1981) The causes of cancer: quantitative estimates of avoidable risks of cancer in the United States today. J Natl Cancer Inst 66:1191–1308
12. Eussen SJ, Vollset SE, Hustad S, Midttun O, Meyer K, Fredriksen A, Ueland PM, Jenab M, Slimani N, Boffetta P, Overvad K, Thorlacius-Ussing O, Tjonneland A, Olsen A, Clavel-Chapelon F, Boutron-Ruault MC, Morois S, Weikert C, Pischon T, Linseisen J, Kaaks R, Trichopoulou A, Zilis D, Katsoulis M, Palli D, Pala V, Vineis P, Tumino R, Panico S, Peeters PH, Bueno-de-Mesquita HB, van Duijnhoven FJ, Skeie G, Munoz X, Martinez C, Dorronsoro M, Ardanaz E, Navarro C, Rodriguez L, VanGuelpen B, Palmqvist R, Manjer J, Ericson U, Bingham S, Khaw KT, Norat T, Riboli E (2010) Plasma vitamins B2, B6, and B12, and

related genetic variants as predictors of colorectal cancer risk. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 19:2549–2561
13. Ezzati M, Riboli E (2012) Can noncommunicable diseases be prevented? Lessons from studies of populations and individuals. Science 337:1482–1487
14. Ferlay J, Shin HR, Bray F, Forman D, Mathers C and Parkin DM. GLOBOCAN 2008 v2.0, Cancer Incidence and Mortality Worldwide: IARC CancerBase No. 10 [Internet]. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer; 2010. Available from: http://globocan.iarc.fr. accessed on 01 Dec 12 (colorectum); 28 Jan 2011 (breast)
15. Friedenreich C, Norat T, Steindorf K, Boutron-Ruault MC, Pischon T, Mazuir M, Clavel-Chapelon F, Linseisen J, Boeing H, Bergman M, Johnsen NF, Tjonneland A, Overvad K, Mendez M, Quiros JR, Martinez C, Dorronsoro M, Navarro C, Gurrea AB, Bingham S, Khaw KT, Allen N, Key T, Trichopoulou A, Trichopoulos D, Orfanou N, Krogh V, Palli D, Tumino R, Panico S, Vineis P, Bueno-De-Mesquita HB, Peeters PH, Monninkhof E, Berglund G, Manjer J, Ferrari P, Slimani N, Kaaks R, Riboli E (2006) Physical activity and risk of colon and rectal cancers: the European prospective investigation into cancer and nutrition. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 15:2398–2407
16. Friedenreich C, Cust A, Lahmann PH, Steindorf K, Boutron-Ruault MC, Clavel-Chapelon F, Mesrine S, Linseisen J, Rohrmann S, Boeing H, Pischon T, Tjonneland A, Halkjaer J, Overvad K, Mendez M, Redondo ML, Garcia CM, Larranaga N, Tormo MJ, Gurrea AB, Bingham S, Khaw KT, Allen N, Key T, Trichopoulou A, Vasilopoulou E, Trichopoulos D, Pala V, Palli D, Tumino R, Mattiello A, Vineis P, Bueno-De-Mesquita HB, Peeters PH, Berglund G, Manjer J, Lundin E, Lukanova A, Slimani N, Jenab M, Kaaks R, Riboli E (2007) Anthropometric factors and risk of endometrial cancer: the European prospective investigation into cancer and nutrition. Cancer Causes Control 18:399–413
17. Gonzalez CA, Jakszyn P, Pera G, Agudo A, Bingham S, Palli D, Ferrari P, Boeing H, Del GG, Plebani M, Carneiro F, Nesi G, Berrino F, Sacerdote C, Tumino R, Panico S, Berglund G, Siman H, Nyren O, Hallmans G, Martinez C, Dorronsoro M, Barricarte A, Navarro C, Quiros JR, Allen N, Key TJ, Day NE, Linseisen J, Nagel G, Bergmann MM, Overvad K, Jensen MK, Tjonneland A, Olsen A, Bueno-De-Mesquita HB, Ocke M, Peeters PH, Numans ME, Clavel-Chapelon F, Boutron-Ruault MC, Trichopoulou A, Psaltopoulou T, Roukos D, Lund E, Hemon B, Kaaks R, Norat T, Riboli E (2006) Meat intake and risk of stomach and esophageal adenocarcinoma within the European Prospective Investigation Into Cancer and Nutrition (EPIC). J Natl Cancer Inst 98:345–354
18. Huang Z, Hankinson SE, Colditz GA, Stampfer MJ, Hunter DJ, Manson JE, Hennekens CH, Rosner B, Speizer FE, Willett WC (1997) Dual effects of weight and weight gain on breast cancer risk. JAMA 278:1407–1411
19. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans (2010) Alcohol Consumption and Ethyl Carbamate, vol 96. IARC, Lyon, France
20. Jenab M, Riboli E, Ferrari P, Sabate J, Slimani N, Norat T, Friesen M, Tjonneland A, Olsen A, Overvad K, Boutron-Ruault MC, Clavel-Chapelon F, Touvier M, Boeing H, Schulz M, Linseisen J, Nagel G, Trichopoulou A, Naska A, Oikonomou E, Krogh V, Panico S, Masala G, Sacerdote C, Tumino R, Peeters PH, Numans ME, Bueno-de-Mesquita HB, Buchner FL, Lund E, Pera G, Sanchez CN, Sanchez MJ, Arriola L, Barricarte A, Quiros JR, Hallmans G, Stenling R, Berglund G, Bingham S, Khaw KT, Key T, Allen N, Carneiro F, Mahlke U, Del GG, Palli D, Kaaks R, Gonzalez CA (2006) Plasma and dietary vitamin C levels and risk of gastric cancer in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC-EURGAST). Carcinogenesis 27:2250–2257
21. Jenab M, Riboli E, Cleveland RJ, Norat T, Rinaldi S, Nieters A, Biessy C, Tjonneland A, Olsen A, Overvad K, Gronbaek H, Clavel-Chapelon F, Boutron-Ruault MC, Linseisen J, Boeing H, Pischon T, Trichopoulos D, Oikonomou E, Trichopoulou A, Panico S, Vineis P, Berrino F, Tumino R, Masala G, Peters PH, van Gils CH, Bueno-De-Mesquita HB, Ocke MC, Lund E, Mendez MA, Tormo MJ, Barricarte A, Martinez-Garcia C, Dorronsoro M, Quiros JR, Hallmans G, Palmqvist R, Berglund G, Manjer J, Key T, Allen NE, Bingham S,

Khaw KT, Cust A, Kaaks R (2007) Serum C-peptide, IGFBP-1 and IGFBP-2 and risk of colon and rectal cancers in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition. Int J Cancer 121:368–376

22. Jenab M, Bueno-De-Mesquita HB, Ferrari P, van Duijnhoven FJ, Norat T, Pischon T, Jansen EH, Slimani N, Byrnes G, Rinaldi S, Tjonneland A, Olsen A, Overvad K, Boutron-Ruault MC, Clavel-Chapelon F, Morois S, Kaaks R, Linseisen J, Boeing H, Bergmann MM, Trichopoulou A, Misirli G, Trichopoulos D, Berrino F, Vineis P, Panico S, Palli D, Tumino R, Ros MM, van Gils CH, Peeters PH, Brustad M, Lund E, Tormo MJ, Ardanaz E, Rodriguez L, Sanchez MJ, Dorronsoro M, Gonzalez CA, Hallmans G, Palmqvist R, Roddam A, Key TJ, Khaw KT, Autier P, Hainaut P, Riboli E (2010) Association between pre-diagnostic circulating vitamin D concentration and risk of colorectal cancer in European populations:a nested case-control study. BMJ 340:b5500
23. Johansson M, Relton C, Ueland PM, Vollset SE, Midttun O, Nygard O, Slimani N, Boffetta P, Jenab M, Clavel-Chapelon F, Boutron-Ruault MC, Fagherazzi G, Kaaks R, Rohrmann S, Boeing H, Weikert C, Bueno-de-Mesquita HB, Ros MM, van Gils CH, Peeters PH, Agudo A, Barricarte A, Navarro C, Rodriguez L, Sanchez MJ, Larranaga N, Khaw KT, Wareham N, Allen NE, Crowe F, Gallo V, Norat T, Krogh V, Masala G, Panico S, Sacerdote C, Tumino R, Trichopoulou A, Lagiou P, Trichopoulos D, Rasmuson T, Hallmans G, Riboli E, Vineis P, Brennan P (2010) Serum B vitamin levels and risk of lung cancer. JAMA 303:2377–2385
24. Kaaks R, Toniolo P, Akhmedkhanov A, Lukanova A, Biessy C, Dechaud H, Rinaldi S, Zeleniuch-Jacquotte A, Shore RE, Riboli E (2000) Serum C-peptide, insulin-like growth factor (IGF)-I, IGF-binding proteins, and colorectal cancer risk in women. J Natl Cancer Inst 92:1592–1600
25. Kaaks R, Rinaldi S, Key TJ, Berrino F, Peeters PH, Biessy C, Dossus L, Lukanova A, Bingham S, Khaw KT, Allen NE, Bueno-De-Mesquita HB, van Gils CH, Grobbee D, Boeing H, Lahmann PH, Nagel G, Chang-Claude J, Clavel-Chapelon F, Fournier A, Thiebaut A, Gonzalez CA, Quiros JR, Tormo MJ, Ardanaz E, Amiano P, Krogh V, Palli D, Panico S, Tumino R, Vineis P, Trichopoulou A, Kalapothaki V, Trichopoulos D, Ferrari P, Norat T, Saracci R, Riboli E (2005) Postmenopausal serum androgens, oestrogens and breast cancer risk: the European prospective investigation into cancer and nutrition. Endocr Relat Cancer 12:1071–1082
26. Kaaks R, Berrino F, Key T, Rinaldi S, Dossus L, Biessy C, Secreto G, Amiano P, Bingham S, Boeing H, Bueno de Mesquita HB, Chang-Claude J, Clavel-Chapelon F, Fournier A, van Gils CH, Gonzalez CA, Gurrea AB, Critselis E, Khaw KT, Krogh V, Lahmann PH, Nagel G, Olsen A, Onland-Moret NC, Overvad K, Palli D, Panico S, Peeters P, Quiros JR, Roddam A, Thiebaut A, Tjonneland A, Chirlaque MD, Trichopoulou A, Trichopoulos D, Tumino R, Vineis P, Norat T, Ferrari P, Slimani N, Riboli E (2005) Serum sex steroids in premenopausal women and breast cancer risk within the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC). J Natl Cancer Inst 97:755–765
27. Lahmann PH, Hoffmann K, Allen N, van Gils CH, Khaw KT, Tehard B, Berrino F, Tjonneland A, Bigaard J, Olsen A, Overvad K, Clavel-Chapelon F, Nagel G, Boeing H, Trichopoulos D, Economou G, Bellos G, Palli D, Tumino R, Panico S, Sacerdote C, Krogh V, Peeters PH, Bueno-De-Mesquita HB, Lund E, Ardanaz E, Amiano P, Pera G, Quiros JR, Martinez C, Tormo MJ, Wirfalt E, Berglund G, Hallmans G, Key TJ, Reeves G, Bingham S, Norat T, Biessy C, Kaaks R, Riboli E (2004) Body size and breast cancer risk: findings from the European Prospective Investigation into Cancer And Nutrition (EPIC). Int J Cancer 111:762–771
28. Lahmann PH, Friedenreich C, Schuit AJ, Salvini S, Allen NE, Key TJ, Khaw KT, Bingham S, Peeters PH, Monninkhof E, Bueno-De-Mesquita HB, Wirfalt E, Manjer J, Gonzales CA, Ardanaz E, Amiano P, Quiros JR, Navarro C, Martinez C, Berrino F, Palli D, Tumino R, Panico S, Vineis P, Trichopoulou A, Bamia C, Trichopoulos D, Boeing H, Schulz M, Linseisen J, Chang-Claude J, Chapelon FC, Fournier A, Boutron-Ruault MC, Tjonneland A, Fons JN, Overvad K, Kaaks R, Riboli E (2007) Physical activity and breast cancer risk: the

European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 16:36–42
29. Lavik PS, Baumann CA (1943) Further studies on the tumor-promoting action of fat. Cancer Res 3:749–756
30. Moreschi C (1909) Beziehungen zwischen Ernahrung und Tumorwachstum. Z fur Immunitatsforsch. 2:661–675
31. National Academy of Sciences (1982) Diet nutrition and cancer. National Academy Press, Washington DC
32. Norat T, Bingham S, Ferrari P, Slimani N, Jenab M, Mazuir M, Overvad K, Olsen A, Tjonneland A, Clavel F, Boutron-Ruault MC, Kesse E, Boeing H, Bergmann MM, Nieters A, Linseisen J, Trichopoulou A, Trichopoulos D, Tountas Y, Berrino F, Palli D, Panico S, Tumino R, Vineis P, Bueno-De-Mesquita HB, Peeters PH, Engeset D, Lund E, Skeie G, Ardanaz E, Gonzalez C, Navarro C, Quiros JR, Sanchez MJ, Berglund G, Mattisson I, Hallmans G, Palmqvist R, Day NE, Khaw KT, Key TJ, San JM, Hemon B, Saracci R, Kaaks R, Riboli E (2005) Meat, fish, and colorectal cancer risk: the European Prospective Investigation into cancer and nutrition. J Natl Cancer Inst 97:906–916
33. Pischon T, Lahmann PH, Boeing H, Friedenreich C, Norat T, Tjonneland A, Halkjaer J, Overvad K, Clavel-Chapelon F, Boutron-Ruault MC, Guernec G, Bergmann MM, Linseisen J, Becker N, Trichopoulou A, Trichopoulos D, Sieri S, Palli D, Tumino R, Vineis P, Panico S, Peeters PH, Bueno-De-Mesquita HB, Boshuizen HC, Van GB, Palmqvist R, Berglund G, Gonzalez CA, Dorronsoro M, Barricarte A, Navarro C, Martinez C, Quiros JR, Roddam A, Allen N, Bingham S, Khaw KT, Ferrari P, Kaaks R, Slimani N, Riboli E (2006) Body size and risk of colon and rectal cancer in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC). J Natl Cancer Inst 98:920–931
34. Riboli E (1992) Nutrition and cancer: background and rationale of the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC). Ann Oncol 3:783–791
35. Riboli E, Kaaks R (1997) The EPIC Project: rationale and study design. European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition. Int J Epidemiol 26 Suppl 1:S6-14
36. Rous P (1914) The influence of diet on transplanted and spontaneous mouse tumors. J Exp Med 20:433–451
37. Slimani N, Deharveng G, Charrondiere RU, van Kappel AL, Ocke MC, Welch A, Lagiou A, van LM, Agudo A, Pala V, Brandstetter B, Andren C, Stripp C, van Staveren WA, Riboli E (1999) Structure of the standardized computerized 24-h diet recall interview used as reference method in the 22 centers participating in the EPIC project. European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition. Comput Methods Programs Biomed 58:251–266
38. Slimani N, Ferrari P, Ocke M, Welch A, Boeing H, Liere M, Pala V, Amiano P, Lagiou A, Mattisson I, Stripp C, Engeset D, Charrondiere R, Buzzard M, Staveren W, Riboli E (2000) Standardization of the 24-hour diet recall calibration method used in the european prospective investigation into cancer and nutrition (EPIC): general concepts and preliminary results. Eur J Clin Nutr 54:900–917
39. Slimani N, Kaaks R, Ferrari P, Casagrande C, Clavel-Chapelon F, Lotze G, Kroke A, Trichopoulos D, Trichopoulou A, Lauria C, Bellegotti M, Ocke MC, Peeters PH, Engeset D, Lund E, Agudo A, Larranaga N, Mattisson I, Andren C, Johansson I, Davey G, Welch AA, Overvad K, Tjonneland A, van Staveren WA, Saracci R, Riboli E (2002) European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC) calibration study: rationale, design and population characteristics. Public Health Nutr 5:1125–1145
40. Steindorf K, Ritte R, Eomois PP, Lukanova A, Tjonneland A, Johnsen NF, Overvad K, Ostergaard JN, Clavel-Chapelon F, Fournier A, Dossus L, Teucher B, Rohrmann S, Boeing H, Wientzek A, Trichopoulou A, Karapetyan T, Trichopoulos D, Masala G, Berrino F, Mattiello A, Tumino R, Ricceri F, Quiros JR, Travier N, Sanchez MJ, Navarro C, Ardanaz E, Amiano P, Bueno-De-Mesquita HB, van DF, Monninkhof E, May AM, Khaw KT, Wareham N, Key TJ, Travis RC, Borch KB, Sund M, Andersson A, Fedirko V, Rinaldi S, Romieu I, Wahrendorf J, Riboli E, Kaaks R (2012) Physical activity and risk of breast cancer overall

and by hormone receptor status: The European prospective investigation into cancer and nutrition. Int J Cancer
41. Stocks P, Karn MN (1933) A cooperative study of the habits, home life, dietary and family histories of 45 cancer patients and of an equal number of control patients. Ann Eugenics 5(3–4): 237–280
42. Sugiura K, Benedict SR (1926) The influence of insufficient diets upon tumor recurrence and growth in rats and mice. J Cancer Res 10(309–31):8
43. Supplement 1, 1997 Int. J. Epidemiol. Feb; 26(Suppl 1): S1-S189
44. Tannenbaum A (1940a) The initiation and growth of tumours—Introduction: effects of undernutrition. Am J Cancer 38:335–350
45. Tannenbaum A (1940b) Relationship of body weight to cancer incidence. Arch Pathol 30:509–517
46. Tannenbaum A (1942a) The genesis and growth of tumors II effects of caloric restriction per se. Canc Res 2:460–467
47. Tannenbaum A (1942b) The genesis and growth of tumors III effects of a high fat diet. Canc Res 2:468–475
48. van Veldhoven CM, Khan AE, Teucher B, Rohrmann S, Raaschou-Nielsen O, Tjonneland A, Overvad K, Vigl M, Boeing H, Benetou V, Trichopoulou A, Trichopoulos D, Masala G, Mattiello A, Krogh V, Tumino R, Vermeulen R, Monninkhof E, May AM, Bueno-de-Mesquita B, Lund E, Ardanaz E, Huerta JM, Jakszyn P, Dorronsoro M, Arguelles M, Sanchez MJ, Hallmans G, Manjer J, Borgquist S, Allen NE, Travis RC, Khaw KT, Wareham N, Boffetta P, Vineis P, Riboli E (2011) Physical activity and lymphoid neoplasms in the European Prospective Investigation into Cancer and nutrition (EPIC). Eur J Cancer 47:748–760
49. Verheus M, Peeters PH, Rinaldi S, Dossus L, Biessy C, Olsen A, Tjonneland A, Overvad K, Jeppesen M, Clavel-Chapelon F, Tehard B, Nagel G, Linseisen J, Boeing H, Lahmann PH, Arvaniti A, Psaltopoulou T, Trichopoulou A, Palli D, Tumino R, Panico S, Sacerdote C, Sieri S, van Gils CH, Bueno-de-Mesquita BH, Gonzalez CA, Ardanaz E, Larranaga N, Garcia CM, Navarro C, Quiros JR, Key T, Allen N, Bingham S, Khaw KT, Slimani N, Riboli E, Kaaks R (2006) Serum C-peptide levels and breast cancer risk: results from the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC). Int J Cancer 119:659–667
50. Wiseman M (2008) The second World Cancer Research Fund/American Institute for Cancer Research expert report. Food, nutrition, physical activity, and the prevention of cancer: a global perspective. Proc Nutr Soc 67:253–256
51. Wynder EL, Graham EA (1950) Tobacco smoking as a possible etiologic factor in bronchiogenic carcinoma; a study of 684 proved cases. J Am Med Assoc 143:329–336

Obezite, Enerji Dengesi ve Kanser: Mekanik Perspektif

Stephen D. Hursting

Özet

ABD'de yaşayan erişkinlerin yaklaşık %36'sı, çocukların ise %20'si obezdir. Obezite vücut kütle indeksinin (VKİ) ≥30 kg/m^2 olmasıdır. Metabolik regülasyon bozukluğu ile seyreden obezite sıklıkla birçok kanser türü için bilinen bir risk faktörü olan metabolik sendrom ile birlikte seyreder. Obezitenin büyümeyi uyaran, proenflamatuar ortamında kanser riskini ve/veya progresyonunu uyarabilen obezite ile ilgili hormonlar, sitokinler ve diğer medyatörlerin etkileri ile makrofajlar, adipozitler ve epitel hücreleri birbirleri ile etkileşime girerler. Bu bölümde obezite ile kanser arasındaki bağlantıda rol oynayan biyolojik mekanizmalarla ilgili kanıtları inceleyeceğiz. Özellikle obezitenin hızlandırdığı büyüme faktörü sinyali, enflamasyon, vasküler entegrasyon prosesleri gibi faktörlere ve obeziteye bağlı olarak epitelyal mezenkimal geçişi de içeren mikroçevre bozukluklarına odaklanacağız. Birbiri ile ilgili bu mekanizmalar obezite kanser bağlantısını kırmaya yardımcı olabilecek muhtemel mekanik hedefler olabilirler.

Anahtar Kelimeler

Obezite • Enflamasyon • Büyüme faktörü sinyali • Vasküler bozukluklar • İnsülin rezistansı

S. D. Hursting (✉)
Department of Nutritional Sciences, Dell Pediatric Research Institute, University of Texas at Austin, 1400 Barbara Jordan Blvd, Austin, TX 78723, United States
e-mail: shursting@austin.utexas.edu

V. Zappia et al. (eds.), *Advances in Nutrition and Cancer,*
Cancer Treatment and Research 159, DOI: 10.1007/978-3-642-38007-5_2,
© Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2014

Kısaltmalar

AMPK	AMP-aktive kinaz
COX-2	Siklooksijenaz-2
DIO	Diyetle indüklenen obezite
EMT	Epitelyal mezenkimal geçiş
FGF-2	Fibroblast büyüme faktörü-2
IGF-1	İnsüline benzer büyüme faktörü
JAK	Janus kinaz
mTOR	Rapamisin memeli hedefi
MCP-1	Monosit kemoatraktan protein-1
NF-κB	Aktive B hücrelerinde nükleer faktör kappa hafif zincir güçlendirici
PAI-1	Plazminojen aktivatör inhibitörü-1
PI3K	Fosfatidilinositol 3-kinaz
STAT	Sinyal ileticisi transkripsiyon aktivatörü
TNF-α	Tümör nekroz faktörü-α
tPA	Doku tipi plazminojen aktivatörleri
uPA	Ürokinaz tipi plazminojen aktivatörleri
VEGF	Vasküler endotelyal büyüme faktörü
VKİ	Vücut kütle indeksi
ZEB1	Zinc finger E-box-binding homeobox

İçindekiler

1 Giriş 23
2 Disregüle Büyüme Sinyalleri 24
2.1 İnsülin ve IGF-1 24
2.2 Aşağı Yönlü İnsülin Reseptörü ve IGF-1R Sinyal Yolakları 24
2.3 Leptin, Adiponektin ve Oranları 24
3 Kronik Enflamasyon 2
3.1 Sitokinler ve Adipositlerin, Makrofajların ve Epitel Hücrelerinin Etkileşimi (Cross Talk) 25
3.2 Enflamasyon ve Kanser 26
4 Mikroçevresel Faktörler 26
4.1 Vasküler Bozukluklar 26
4.2 Epitelyal Mezenkimal Geçiş 27
5 Özet ve Sonuçlar 29
Referanslar 30

1 Giriş

Vücut kütle endeksinin (VKİ, vücut ağrılığının [kg] boy uzunluğunun [metre] karesine bölümü) ≥30/m^2 olması ile ifade obezite son dekadlarda dramatik olarak artmıştır. ABD'deki yetişkinlerin yaklaşık %36'sı ile çocukların %20'sinde obezite mevcuttur [1]. Obez erişkinlerin yaklaşık %60'ı insülin rezistansı, hiperglisemi, dislipidemiler (özellikle hipertrigliseridemi) ve hipertansiyondan oluşan metabolik sendrom kriterlerine sahiptir [2]. Obezite ve/veya metabolik sendromda dolaşımdaki insülin, biyolojik olarak kullanılabilir insülin benzeri büyüme faktörü (IGF-1), adipokinler (örn. leptin ve adiponektin), enflamatuar faktörler (örn. sitokinler) ve vasküler entegrasyonla ilgili faktörler (örn. vasküler endotelyal büyüme faktörü [VEGF] ve plazminojen aktivatör inhibitörü [PAI]-1) düzeylerinde değişimler olur [3, 4]. Obezite ve metabolik sendrom bu medyatörler vasıtası ile kardiyovasküler hastalık, tip 2 diyabet ve bu incelemenin konusu olan kanser gibi çeşitli kronik hastalıklar [3, 5] ile bağlantılıdır.

Kanıta dayalı kanser önleme kılavuzlarında obezitenin önlenmesi gerektiği net olarak vurgulanmaktadır [6]. Erkeklerdeki kanser ölümlerinin %14'ü, kadınlardaki kanser ölümlerinin ise %20'si fazla kilo ve obezite ile ilişkilidir [7] Obezite erkeklerdeki prostat ve mide kanseri ölümlerini artırır. Kadınlarda ise meme (postmenopozal), endometrium, serviks, uterus ve ovaryum kanserlerinden ölümü artırır. Böbrek (renal hücreli), kolon, özofagus (adenokarsinom), pankreas, safra kesesi ve karaciğer kanseri ise her iki cinsiyette artar [7]. Metabolik sendrom ile spesifik kanser türleri arasındaki ilişki bu kadar net değildir. 580.000 erişkini kapsayan bir Avrupa kohortunda gerçekleştirilen Metabolik Sendrom ve Kanser Projesi metabolik sendromdaki obezite (veya VKİ) ile kolorektal, tiroid ve servikal kanser arasındaki ilişkiyi göstermiştir [8]. Obezite ve metabolik sendrom prevalanslarının sürekli arttığı bir ortamda bu bozukluklar ile kanser arasındaki ilişkiyi ortadan kaldıracak stratejilere acil olarak ihtiyaç vardır [3].

Bu bölümde obezite, metabolik sendrom ve kanser arasındaki ilişkinin mekanizmasını, obezitenin birçok kanser türündeki büyüme sinyalizasyonu, enflamasyon, anjiogenik prosesler ile makrofaj, adiposit, endotel hücreleri arasındaki etkileşimi (cross talk) artırıcı etkisine odaklanacağız. Özellikle obezite mevcudiyetinde kanser süreçlerine multifaktöryel katkı yapabilen büyüme sinyallerinin (insülin, IGF-1, aşağı yönlü sinyal yolakları ve adipokinler), sitokinlerin, hücresel etkileşimin ve vasküler entegrasyon faktörlerinin disregülasyonunu tanımlayacağız. Muhtemelen, birbirleriyle ilişkili olan bu yolakların komponentleri aşırı vücut ağırlığı veya metabolik sendrom nedeniyle oluşan (veya ilgili olan) kanserlerin önlenmelerini ve kontrol edilmelerini sağlayabilecek, mekanizmaya dayalı hedefler sunabilirler. Ancak obezite, metabolik sendrom ve kanser arasındaki ilişkiyi ve bu ilişkiyi ortadan kaldırma ihtimali olan varsayımsal stratejilerle ilgili henüz cevaplanamamış soruları da tartışacağız.

2 Disregüle Büyüme Sinyalleri

2.1 İnsülin ve IGF-1

İnsülin pankreasın beta hücrelerinde üretilen ve kan glukozundaki artışa cevap olarak salgılanan peptid hormondur. Metabolik sendromun önemli bir özelliği olan hiperglisemi, insülin rezistansı, anormal glukoz metabolizması, kronik enflamasyon ve IGF-1, leptin ve adiponektin gibi diğer metabolik hormonların salgılanması ile ilişkilidir [9]. İnsülin ile yaklaşık %50 homolog olan IGF-1 primer olarak büyüme hormonu tarafından stimüle edilen karaciğer tarafından salgılan bir peptid büyüme faktörüdür. IGF-1 özellikle prenatal dönemde birçok dokunun büyüme ve gelişimlerini regüle eder [10]. Dolaşımdaki IGF-1 tipik olarak IGF bağlayıcı proteinlere (IGFBP) bağlıdır. Bu protein biyolojik olarak kullanılabilir serbest IGF-1 miktarını regüle ederek IGF-1 reseptörüne (IGF-1R) bağlanmasını, büyümeyi ve sağkalım sinyalini sağlar [10]. Metabolik sendromda muhtemelen hiperglisemi tarafından indüklenen IGFBP sentezinin supresyonu ve/veya hiperinsülinemi tarafından indüklenen hepatik büyüme hormonu reseptör ekspresyonu ve IGF-1 sentezi ile dolaşımdaki IGF-1 miktarı artar [9]. Dolaşımdaki IGF-1 düzeylerinin artışı birçok kanser riski için bilinen risk faktörüdür [10, 11].

2.2 Aşağı Yönlü İnsülin Reseptörü ve IGF-1R Sinyal Yolakları

İnsülin reseptörünün ve IGF-1R'nin aşağı yönlü yolağı fosfatidilinositol 3-kinaz (PI3K)/Akt epitel kanserlerinde en çok değişime uğrayan yolaklardan biridir. Bu yolak hücresel sağkalımı, proliferasyonu, protein dönüşümünü ve metabolizmayı regüle edebilmek için büyüme faktörü konsantrasyonları ve besin öğeleri mevcudiyeti gibi intraselüler ve çevresel işaretleri entegre eder. İnsülin reseptörü veya IGF-1R gibi reseptör tirozin kinazların aktivasyonu Akt kaskadının aktivasyonunu kolaylaştıran lipid habercilerinin üretimi için PI3K'yı stimüle eder. Akt hücre büyümesini, hücre proliferasyonunu aşağı yönlü medyatörler ile regüle eden rapamisin memeli hedefini (mTOR) regüle eder[13]. mTOR aktivasyonu AMP aktive kinaz (AMPK) tarafından düşük derecede besin öğeleri mevcudiyetinde inhibe olur [13]. Artmış mTOR aktivasyonu tümörlerde ve obez ve/veya diyabetik farelerdeki birçok normal dokuda sıklıkla görülür [15]. Spesifik mTOR inhibitörleri obezitenin fare modellerindeki tümör geliştirici etkilerini inhibe eder.

2.3 Leptin, Adiponektin ve Oranları

Adipositler tarafından salgılanan bir peptid hormon olan leptin, adipöz depoları ve nutrisyonel durum ile pozitif korelasyona sahiptir. Beyine iştahı azaltma sinyali gönderen enerji sensörü olarak görev yapar. Obez durumda adipoz dokunun aşırı derecede leptin

sağlaması sonucu beyin sinyale cevap vermez hale gelir. İnsülin, glukokortikoidler, tümör nekroz faktörü alfa (TNF-α) ve östrojenler leptin salınımını stimüle ederler[18]. Leptin periferik dokuları direkt, hipotalamik yolakları indirekt olarak etkileyerek immun fonksiyonu, sitokin üretimini, anjiogenezi, karsinogenezi ve diğer biyolojik prosesleri modüle eder [18]. Leptin reseptörü, Janus kinaz ve sinyal ileticisi transkripsiyon aktivatörü (JAK/STAT) yoluyla sinyal veren klas 1 sitokinlere benzer homolojiye sahiptir. Bu yolak kanserde sıklıkla disregüle olur [19].

Adiponektin başlıca viseral adipoz dokudan salgılanan bir hormondur. Adiponektin düzeyleri, leptinin aksine adipozite ile negatif korelasyona sahiptir. Adiponektin obezite ve hiperleptinemi ile ilişkili metabolik programı engellemek için glukoz metabolizmasını modüle eder, yağ asidi oksidasyonunu ve insülin sensitivitesini artırır ve enflamatuar sitokinlerin üretimini azaltır [20]. Adiponektinin antikanser etkisinin muhtemel mekanizmaları arasında insülin sensitivitesini artırması ve AMPK aktivasyonu ile de insülin/IGF-1 ve mTOR sinyalizasyonunu azaltması mevcuttur. Adiponektin proenflamatuar sitokin ekspresyonunu aktive B hücrelerindeki nükleer faktör kappa hafif zincir güçlendiriciyi de (NF-κB) inhibe ederek azaltır [21-23].

Leptin [23-25] veya adiponektinin [21, 26-28] kanser riski ile ilişkisi hakkında farklılıklar gösteren in vitro, hayvan ve epidemiyolojik kanıtlar vardır. Adiponektinin leptine oranı ile metabolik sendrom [29-31] ve bazı kanser türleri [32--34] arasında ilişkiler bildirilmiştir. Bu ilişkilerin daha ileri araştırmalara ihtiyaç vardır

3 Kronik Enflamasyon

3.1 Sitokinler ve Adipositlerin, Makrofajların ve Epitel Hücrelerinin Etkileşimi (Cross Talk)

Obezite ve metabolik sendrom, dolaşımda serbest yağ asitlerinin artışı ve immun hücrelerin (örn. enflamatuar medyatörler salgılayan makrofajlar) lokal ortama kimyasal çekimleri ile karakterize düşük dereceli ve kronik enflamasyon ile ilişkilidir [35-37]. Bu etkiler interlökin (IL)-1β, IL-6, TNF-α ve monosit kemoatraktan protein (MCP)-1 gibi enflamatuar sitokinlerin salgılanması ile daha da güçlenir. Adipositler efektif oksijen difüzyonunu bozarak hipoksiye ve nihayetinde nekroza neden olabilirler. Serbest yağ asitleri tıkanmış/nekrotik adipositlerden kaçarak diğer dokularda birikirler ve insülin rezistansı, diyabet (insülin reseptörlerinin ve glukoz taşıyıcılarının aşağı regülasyonu ile), hipertansiyon ve yağlı karaciğer hastalığını artırırlar. Aynı zamanda NF-κB gibi epitel karsinogenezinde rol oynayan sinyalizasyon moleküllerini aktive ederler [38].

NF-κB bakteryel ve viral stimülasyon, büyüme faktörleri ve enflamatuar moleküller (örn. Tnf-α, IL-6 ve IL-1β) ile aktive olan bir transkripsiyon faktörüdür. Hücre proliferasyonu, apoptoz, enflamasyon, metastaz ve anjiogenez ile ilişkili gen ekspresyonu-

nu indüklerler. Birçok tümörün genel karakteristiği olan NF-κB aktivasyonu, insülin rezistansı, dolaşımdaki leptin, insülin ve/veya IGF-1 düzeylerinin artışı ile ilişkilidir [39, 40].

3.2 Enflamasyon ve Kanser

Kronik enflamasyon ile kanser arasındaki bağlantı ilk olarak yaklaşık 150 yıl önce neoplastik dokularda aşırı miktarda lökosit olduğunu gözleyen Rudolph Virchow tarafından fark edildi [41]. Günümüzde kanserin ana özelliklerinden biri olan enflamasyonun kanser riskinde artışa yol açtığını gösteren kanıtlar giderek artmaktadır [42-44]. Çeşitli dokuların spesifik enflamatuar lezyonlarının invazif kanserin neoplastik prekürsorları olduğu tespit edilmiştir. Gastrik kanser için gastrit, kolon kanseri için enflamatuar barsak hastalığı ve pankreatik kanser için pankreatit bu prekürsorlardan bazılarıdır [45-46].

Tümör mikroçevreleri epitel hücreleri, fibroblastlar, mast hücreleri ve immun sistemin kalıtsal ve adaptif hücreleri gibi birçok hücre tipinden oluşmaktadır [46, 47]. Yukarıda da anlatıldığı üzere, obezlerde aktive olan makrofajlar tümörlere infiltre olarak çoğunlukla NF-κB'ye bağımlı sitokin ve anjiogenik faktörlerin üretimi ile enflamatuar tümör mikroçevresini şiddetlendirirler [46]. Birçok tümör tipinde yukarı regüle olan kanserle ilişki başka bir önemli enflamatuar medyatör olan siklooksijenaz (COX)-2, potent enflamatuar lipid metaboliti prostoglandin E2 sentezini katalize eder. COX-2'nin aşırı ekspresyonu birçok kanser tipi için kötü prognoz göstergesidir [48].

Bazı kanserlerde enflamatuar şartlar malign değişikliklerin (yukarıda da bahsedildiği üzere) öncüsü iken diğer bazı kanser tiplerinde ise genetik değişimler ve premalign değişimler enflamatuar mikroçevre ve neoplaziden önce görülür [44]. Bundan dolayı enflamasyon maligniteleri başlatabilir veya şiddetlendirebilir. Enflamasyon markerlerinin artması kanserin nedeni ve/veya sonucu olabilir [43, 44]. Enflamatuar mikroçevre her iki senaryoda da, genetik instabilite ve kanserle ilgili hücre proliferasyonu ve sağkalımı, anjiogenez ve metastazla ilgili olan disregüle enflamasyon yolakları ile tümörlerin gelişimine katkı yapar [42, 43, 49].

4 Mikroçevresel Faktörler

4.1 Vasküler Bozukluklar

Adipositler ve tümör hücreleri tarafından üretilen bir heparin bağlayıcı protein olan VEGF endotel hücrelerine spesifik olarak anjiogenik, mitojenik ve vasküler permeabilite artıcı aktiviteye sahiptir [50]. Obezlerde VEGF'nin dolaşımdaki düzeyleri normal kilolu insanlar ve hayvanlara göre artmıştır. VEGF'nin tümöral ekspresyonunun artma-

sı, obezite ile ilişkili bazı kanser türlerindeki kötü prognoz ile ilişkilidir [51]. Besinler ve oksijen tümör hücrelerinin VEGF üretimini tetikleyerek hızlı büyüyen tümörü besleyen yeni kan damarlarının oluşumuna yol açarak tümör hücrelerinin metastatik yayılımını kolaylaştırabilirler [50].

Adipositler endotel hücreleri ile bir dizi proanjiogenik ve vasküler permeabilite artırıcı faktör üreterek iletişime geçerler. Bunlar arasında VEGF, IGF-1, PAI-1, leptin, hepatosit büyüme faktörü ve fibroblast büyüme faktörü-2 mevcuttur [52]. Bu faktörler tümör bulunmayan obezlerde artan yağ kütlesini destekleyebilmek için neovaskülarizasyonu stimüle edebilirler. Adipoz doku kaynaklı bu faktörler obezite ile bağlantılı tümör anjiogenezine de katkı yapabilirler. Konvansiyonel kemoterapi ile kombine edilen bevakizumab bazlı tedavi (örn. anti-VEGF tedavi) ileri kolorektal kanseri olan hastalarda birinci basamak tedavi opsiyonudur. Ancak tedavi etkisinin obez hastalarda azaldığı bildirilmiştir. Bu durumun viseral beyaz adipoz doku tarafından üretilen VEGF düzeylerinde (ve/veya proanjiogenik faktörlerde) artış ile ilişkili olduğu speküle edilmiştir [53, 54]. Tümör kaynaklı ve adiposit kaynaklı proanjiogenik faktörlerin tümör gelişimi, progresyonu ve metastazı üzerindeki rölatif katkı düzeyleri henüz netleşmemiştir.

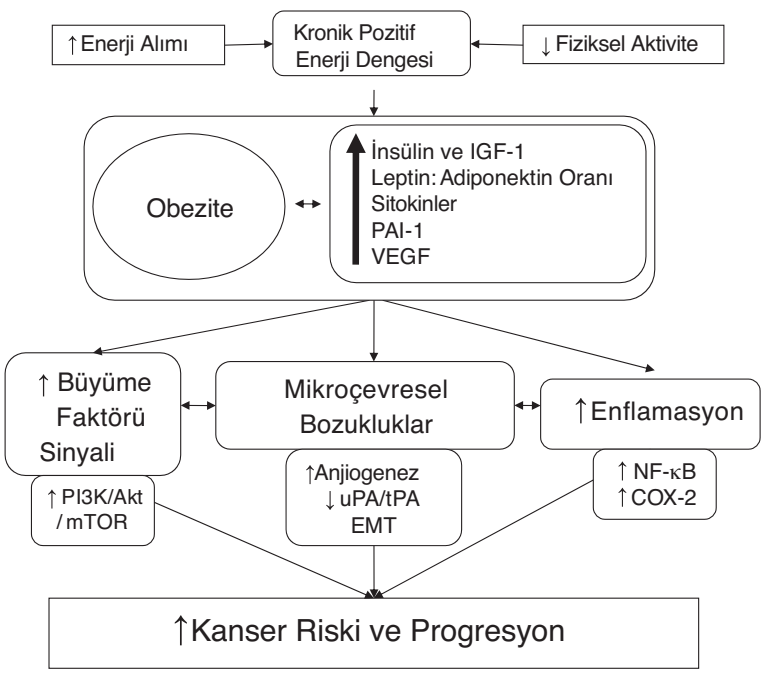
PAI-1 endotel hücreleri, stroma hücreleri ve viseral beyaz adipoz doku tarafından salgılanan serin proteaz inhibitörüdür [55]. Obez bireylerde sıklıkla görülen dolaşımdaki PAI-1 düzeylerinin yükselmesinin aterojenez, kardiyovasküler hastalık, diyabet ve çeşitli kanser risklerinde artış ile ilişkili olduğu bulunmuştur [4, 55]. PAI-1 ürokinaz tipi ve doku tipi plazminojen aktivatörlerini inhibe ederek fibrinolizi ve ekstraselüler matriksin entegrasyonunu regüle eder. PAI-1 aynı zamanda anjiogenez ile de ilgili olduğu için tümör hücrelerinin büyüme, invazyon ve metastazlarına katkı yapabilir [4]. Obez bireylerdeki PAI-1 düzeyleri kilo kaybı veya Tnf-α blokajı ile azaltılabiliyor da olsa [56, 57], tümör gelişimindeki rolü hala tartışmalıdır [55].

4.2 Epitelyal Mezenkimal Geçiş

Kanserle ilgili fare modeli çalışmaları tipik olarak insan tümör hücrelerinin immun yetmezlikli fareye ksenotransplantasyonu ile yapılır [58, 59]. Ancak ksenogreft modelleri normal tümör mikroçevresinden yoksun olmaları nedeniyle son derece kısıtlıdır. Meme bezi gelişimleri bozulmuş olan immun yetmezlikli fareler normal immun/enflamatuar cevap oluşturamazlar. Diyetle indüklenen obezite ve kalori kısıtlaması fenotiplerinin geliştirilmesine karşı dirençli olmaları, bu sistemdeki enerji dengesi ile kanser gelişimi ve progresyonu arasındaki ilişkinin aydınlatılmasına engel olmaktadır. Bu kısıtlamaları aşmanın bir yolu immunolojik yönden normal olan farelerde eş genetiğe sahip transplant modelleri oluşturarak enerji dengesi-kanser ilişkisinin incelenmesini sağlamaktır. Örneğin laboratuvarımızın güncel bir yayınında klaudin-düşük ve bazal hücreli benzeri meme kanserinde transplant modelinin geliştirilmesi ve karakteristikleri tanımlanmaktadır. Bu model ile mevcut ksenograft modellerinin kısıtlamaları aşılmıştır: (a) MMTV-Wnt-1 faresinin spontan meme tümöründen alınan hücreler kadınlardaki bazal hücreli benzeri meme kanserleri gibi kalori kısıtlamasına ve obeziteye cevap verir, ve (b) Doğal

türden üretilmiş eş genetiğe sahip farelerin immun fonksiyonları, meme bezi gelişimi ve enerji dengesi modülasyonuna verdikleri cevaplar normaldir [60].

Bu modeldeki bulgularımız enerji dengesi ile epitelyal mezenkimal geçiş (EMT) ve meme kanseri progresyonundaki tümör başlatıcı hücreler arasında mekanik bir link olduğunu göstermektedir [60]. Diyetle indüklenen obezitenin verimli toprağı (tümör mikroçevresi) EMT, intratümöral adipositler, lokal ve sistemik hormonlar, büyüme faktörleri ve sitokinlerdeki değişimleri de kapsayacak şekilde hazırlayabileceğini spekülе ettik. Hazırlanan bu ortamdaki büyümenin belirleyicileri arasında bitki çeşitliliği (intrinsik meme kanseri alt tipi) ve/veya tohum dansitesi (tümör başlatıcı hücrelerin kapsamı) mevcuttur. Buna karşın kalori kısıtlaması ile (diyetle indüklenen obezitenin aksine etki ile) epitel farklılaşmasının artışı, EMT'nin engellenmesi, intratümöral adiposit infiltrasyonunun engellenmesi, sistemik hormonların, büyüme faktörlerinin ve sitokinlerin azaltılması ile tümör gelişimi yavaşlatılabilir. Diyetle indüklenen obezitenin meme kanserinin farklı alt tipleri ile diğer epitel kanserlerindeki tümör geliştirici etkisinin, tümör başlatıcı hücrelerin kapsamına bağlı olup olmadığının anlaşılması ve kalori kısıtlamasının meme kanseri progresyonunda diyetle indüklenen obeziteye göre farklı bir yolağı (belki de tümör başlatıcı hücrelerden bağımsız olarak) hedefleyip hedeflemediğinin tespiti için yeni çalışmalara ihtiyaç vardır.



Şekil 1. Obezite ve kanser: Mekanizmalara genel bakış Metindeki oklar etkinin yönünü gösterir (örn. aktivite veya konsantrasyon). Kısaltmalar: *IGF-1* İnsülin benzeri büyüme faktörü-1; *uPA* ürokinaz tipi plazminojen aktivatörü; *VEGF* vasküler endotelyal büyüme faktörü; *EMT* epitelyal mezenkimal geçiş.

Bundan dolayı EMT komponentleri kanserin önlenmesinde ve kontrolünde yeni ve özgün bir hedef olabilir. Ayrıca özellikle obez kadınlarda enerji denge modülasyonu ve diğer girişimler için özgün bir yanıt biyomarkeri olabilir. Enerji modülasyonuna cevap veren büyüme sinyalizasyon yolaklarının tümör hücrelerinin farklılaşmalarını ve tümör başlatıcı hücrelerin proliferasyonunu, obezite ile ilişkili serum hormonları ve sitokinlerin (bu inceleme de sözü geçenler de dahil) yukarı regülasyonu ile kontrol etmeleri akla yakın bir varsayımdır. Örnek olarak dolaşımdaki IGF-1 düzeylerinin artmasının pre- ve postmenopozal kadınlarda meme kanseri riskinde artışla ilgili olması [61, 62] ve hayvan modellerinde tümör büyümesini hızlandırması verilebilir [16, 17, 63]. IGF-1 meme bezinin gelişimi sırasında normal meme kök hücrelerinin büyümelerinin stimüle edilmesinde de önemli rol oynamaktadır [64]. Ayrıca IGF-1 reseptör sinyali hepatositlerdeki SLUG-aracılığı ile gerçekleşen EMT'yi güçlendirir [65] ve prostat kanseri hücrelerinde ZEB1 aracılığı ile gerçekleşen EMT'yi artırır [66]. Ancak IGF-1 reseptörünün meme kanseri hücrelerindeki EMT ile ilişkisi hakkında bilgi yoktur. Diyabette kullanılan standart bir ilaç olan ve insülin sensitivitesini artıran metformin tümör başlatıcı hücrelerin proliferasyon ve sağkalımlarını efektif olarak inhibe etmektedir [67, 68]. Obezite ile ilişkili olarak serum leptin seviyelerinin artışının, meme kanseri riski ve prognoz ile ilişkili olduğu daha önce gösterilmiştir [69]. Leptin hücrelerin kaderine ve hepatik stellat hücrelerdeki EMT'ye katkı yapan Hedgedhog sinyalini aktive ederek gen ekspresyon programlarını değiştirir [70].

5 Özet ve Sonuçlar

Obezite sıklıkla aşırı enerji alımı ve/veya azalmış enerji harcaması sonucunda ortaya çıkan kronik pozitif enerji dengesinden kaynaklanır (Şekil 1). Metabolik sonuçları arasında, dolaşımdaki insülin ve biyolojik olarak kullanılabilir IGF-1 düzeylerini artırması ile adipokin, sitokin ve proanjiogenik/vasküler entegrasyon faktörlerinde değişimlere yol açması vardır. Bu kritik sistem regülatörlerinin yolaklarının aşağı yönlü aktivasyonu ile büyüme faktörü sinyallerinde artış, vasküler bozukluklar, enflamasyon, mikroçevrenin kanser lehine değişimi (örn. EMT) görülür. Bu nedenle kanser gelişimi ve/veya progresyonu hızlanabilir. **Birbiri ile ilişkili olan bu yolakların komponentleri, obez veya metabolik regülasyonu bozuk bireylerdeki kanserin önlenmesi veya kontrolünde uygulanabilecek hayat tarzı veya farmakolojik girişimler için mekanizmaya dayalı ümit verici hedefler ortaya koymaktadır.** Obeziteyle ilgili kanserlerin önlenmesi ve kontrolü amacıyla kullanılacak mekanizmaya dayalı yeni girişim hedeflerinin belirlenebilmesini hızlandırmak için obeziteye cevap veren büyüme sinyali, enflamasyon, mikroçevre regüle edici yolaklar ile kanserin spesifik komponentleri arasındaki ilişkiyi tespit edecek çalışmalara ihtiyaç vardır.

Teşekkürler: Dr. S. Hursting'e kısmi maddi destek sağlayanlar: the National Cancer Institute (R01CA129409 and R01CA135306), the Breast Cancer Research Foundation (UTA09-001068), ve the National Institute of Environmental Health Sciences (P30ES007784).

Referanslar

1. Flegal KM, Carroll MD, Ogden CL, Curtin LR (2010) Prevalence and trends in obesity among US adults, 1999–2008. JAMA 303:235–241
2. Ford ES, Li C, Zhao G (2010) Prevalence and correlates of metabolic syndrome based on a harmonious definition among adults in the US. J Diabetes 2:180–193
3. Hursting SD, Berger NA (2010) Energy balance, host-related factors, and cancer progression. J Clin Oncol 28:4058–4065
4. Carter JC, Church FC (2009) Obesity and breast cancer: the roles of peroxisome proliferator-activated receptor-gamma and plasminogen activator inhibitor-1. PPAR Res 345320:13
5. Poirier P, Giles TD, Bray GA, Hong Y, Stern JS, Pi-Sunyer FX, Eckel RH (2006) Obesity and cardiovascular disease: pathophysiology, evaluation, and effect of weight loss. Arterioscler Thromb Vasc Biol 26:968–976
6. World Cancer Research Fund/American Institute for Cancer Research (2007) Food, nutrition, physical activity and the prevention of cancer: a global perspective. AICR, Washington, DC
7. Calle EE, Rodriguez C, Walker-Thurmond K, Thun MJ (2003) Overweight, obesity, and mortality from cancer in a prospective studied cohort of U.S. adults. N Engl J Med 348:1625–1638
8. Stocks T, Borena W, Strohmaier S, Bjorge T, Manjer J, Engeland A, Johansen D, Selmer R, Hallmans G, Rapp K, Concin H, Jonsson H, Ulmer H, Stattin P (2010) Cohort profile: the metabolic syndrome and cancer project (Me-Can). Int J Epidemiol 39:660–667
9. Braun S, Bitton-Worms K, LeRoith D (2011) The link between the metabolic syndrome and cancer. Int J Biol Sci 7:1003–1015
10. Pollak M (2008) Insulin and insulin-like growth factor signalling in neoplasia. Nat Rev Cancer 8:915–928
11. Hursting SD, Smith SM, Lashinger LM, Harvey AE, Perkins SN (2010) Calories and carcinogenesis: lessons learned from 30 years of calorie restriction research. Carcinogenesis 31:83–89
12. Wong KK, Engelman JA, Cantley LC (2010) Targeting the PI3K signaling pathway in cancer. Curr Opin Genet Dev 20:87–90
13. Memmott RM, Dennis PA (2009) Akt-dependent and -independent mechanisms of mTOR regulation in cancer. Cell Signal 21:656–664
14. Lindsley JE, Rutter J (2004) Nutrient sensing and metabolic decisions. Comp Biochem Physiol B: Biochem Mol Biol 139:543–559
15. Moore T, Beltran LD, Carbajal S, Strom S, Traag J, Hursting SD, DiGiovanni J (2008) Dietary energy balance modulates signaling through the Akt/mammalian target of rapamycin pathway in multiple epithelial tissues. Cancer Prev Res 1:65–76
16. De Angel RE, Conti CJ, Wheatley KE, Brenner AJ, deGraffenried LA, Hursting SD. The enhancing effects of obesity on mammary tumor growth and Akt/mTOR pathway activation persist after weight loss and are reversed by Rad001. Mol Carcinog Jan 30 [epub ahead of print]
17. Nogueira LM, Dunlap SM, Ford NA, Hursting SD (2012) Calorie restriction and rapamycin inhibit MMTV-Wnt-1 mammary tumor growth in a mouse model of postmenopausal obesity. Endocr Relat Cancer 19:57–68
18. Gautron L, Elmquist JK (2011) Sixteen years and counting: an update on leptin in energy balance. J Clin Invest 121:2087–2093
19. Villanueva EC, Myers MG (2008) Leptin receptor signaling and the regulation of mammalian physiology. Int J Obes (Lond). 32(Suppl 7):S8–S12
20. Vaiopoulos AG, Marinou K, Christodoulides C, Koutsilieris M (2012) The role of adiponectin in human vascular physiology. Int J Cardiol 155:188–193
21. Barb D, Williams CJ, Neuwirth AK, Mantzoros CS (2007) Adiponectin in relation to malignancies: a review of existing basic research and clinical evidence. Am J Clin Nutr 86:s858–s866

22. Stofkova A (2009) Leptin and adiponectin: from energy and metabolic dysbalance to inflammation and autoimmunity. Endocr Regul 43:157–168
23. Stattin P, Lukanova A, Biessy C, Soderberg S, Palmqvist R, Kaaks R, Olsson T, Jellum E (2004) Obesity and colon cancer: does leptin provide a link? Int J Cancer 109:149–152
24. Wu MH, Chou YC, Chou WY, Hsu GC, Chu CH, Yu CP, Yu JC, Sun CA (2009) Circulating levels of leptin, adiposity and breast cancer risk. Br J Cancer 100:578–582
25. Fenton JI, Hord NG, Lavigne JA, Perkins SN, Hursting SD (2005) Leptin, insulin-like growth factor-1, and insulin-like growth factor-2 are mitogens in ApcMin/+ but not Apc+/+ colonic epithelial cells. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 14:1646–1652
26. Grossmann ME, Nkhata KJ, Mizuno NK, Ray A, Cleary MP (2008) Effects of adiponectin on breast cancer cell growth and signaling. Br J Cancer 98:370–379
27. Rzepka-Gorska I, Bedner R, Cymbaluk-Ploska A, Chudecka-Glaz A (2008) Serum adiponectin in relation to endometrial cancer and endometrial hyperplasia with atypia in obese women. Eur J Gynaecol Oncol 29:594–597
28. Tian YF, Chu CH, Wh MH, Chang CL, Yang T, Chou YC, Hsu GC, Yu CP, Yu JC, Sun CA (2007) Anthropometric measures, plasma adiponectin, and breast cancer risk. Endocr Relat Cancer 14:669–677
29. Jung CH, Rhee EJ, Choi JH, Bae JC, Yoo SH, Kim WJ, Park CY, Mok JO, Kim CH, Lee WY, Oh KW, Park SW, Kim SW (2010) The relationship of adiponectin/leptin ratio with homeostasis model assessment insulin resistance index and metabolic syndrome in apparently healthy Korean male adults. Korean Diabetes J 34:237–243
30. Mirza S, Qu HQ, Li Q, Martinez PJ, Rentfro AR, McCormick JB, Fisher-Hoch SP (2011) Adiponectin/leptin ratio and metabolic syndrome in a Mexican American population. Clin Invest Med 34:E290
31. Labruna G, Pasanisi F, Nardelli C, Caso R, Vitale DF, Contaldo F, Sacchetti L (2011) High leptin/adiponectin ratio and serum triglycerides are associated with an "at-risk" phenotype in young severely obese patients. Obesity 19:1492–1496
32. Cleary MP, Ray A, Rogozina OP, Dogan S, Grossman ME (2009) Targeting the adiponectin:leptin ratio for postmenopausal breast cancer prevention. Front Biosci 1:329–357
33. Ashizawa N, Yahata T, Quan J, Adachi S (2010) Yoshihara, Tanaka K. Serum leptin-adiponectin ratio and endometrial cancer risk in postmenopausal female subjects. Gynecol Oncol 119:65–69
34. Chen DC, Chung YF, Yeh YT, Chaung HC, Kuo FC, Fu OY, Chen HY, Hou ME, Yuan SS (2006) Serum adiponectin and leptin levels in Taiwanese breast cancer patients. Cancer Lett 237:109–114
35. Harvey AE, Lashinger LM, Hursting SD (2011) The growing challenge of obesity and cancer: an inflammatory subject. Ann NY Acad Sci 1229:45–52
36. Subbaramaiah K, Howe LR, Bhardway P, Du B, Gravaghi C, Yantiss RK, Zhou XK, Blaho VA, Hia T, Yang P, Kopelovich L, Hudis CA, Dannenberg AJ (2011) Obesity is associated with inflammation and elevated aromatase expression in the mouse mammary gland. Cancer Prev Res 4:329–346
37. Olefsky JM, Glass CK (2010) Macrophages, inflammation, and insulin resistance. Annu Rev Physiol 72:219–246
38. O'Rourke RW (2009) Inflammation in obesity-related diseases. Surgery 145:255–259
39. Renehan AG, Roberts DL, Dive C (2008) Obesity and cancer: pathophysiological and biological mechanisms. Arch Physiol Biochem 114:71–83
40. Karin M (2006) Nuclear factor-kappaB in cancer development and progression. Nature 441:431–436
41. Virchow R (1863) Die Krankenhasften Geschwulste. Verlag von August Hirchwald; Berlin, Germany. Aetologie der neoplastichen Geschwelste/Pathogenie der neoplastischen Geschwulste p 58
42. Aggarwal BB, Gehlot P (2009) Inflammation and cancer: how friendly is the relationship for patients? Curr Opin Pharmacol 9:351–369

43. Ono M (2008) Molecular links between tumor angiogenesis and inflammation: inflammatory stimuli of macrophages and cancer cells as targets for therapeutic strategy. Cancer Sci 99:1501–1506
44. Del Prete A, Allavena P, Santoro G, Fumarulo R, Corsi MM, Mantovani A (2011) Molecular pathways in cancer-related inflammation. Biochem Med 21:264–275
45. Foltz CJ, Fox JG, Cahill R, Murphy JC, Yan L, Shames B, Schauer DB (1998) Spontaneous inflammatory bowel disease in multiple mutant mouse lines: association with colonization by Helicobacter hepaticus. Helicobacter 3:69–78
46. Coussens LM, Werb Z (2002) Inflammation and cancer. Nature 420:860–867
47. Allavena P, Sica A, Garlanda C, Mantovani A (2008) The Yin-Yang of tumor-associated macrophages in neoplastic progression and immune surveillance. Immunol Rev 222:155–161
48. Koki A, Khan NK, Woerner BM, Dannenberg AJ, Olson L, Seibert K, Edwards D, Hardy M, Isakson P, Masterrer JL (2002) Cyclooxygenase-2 in human pathological disease. Adv Exp Med Biol 507:177–184
49. Kunku JK, Surh YJ (2008) Inflammation: gearing the journey to cancer. Mutat Res 659:15–30
50. Byrne AM, Bouchier-Hayes DJ, Harmey JH (2005) Angiogenic and cell survival functions of vascular endothelial growth factor (VEGF). J Cell Mol Med 9:777–794
51. Liu Y, Tamimi RM, Collins LC, Schnitt SJ, Gilmore HL, Connolly JL, Colditz GA (2011) The association between vascular endothelial growth factor expression in invasive breast cancer and survival varies with intrinsic subtypes and use of adjuvant systemic therapy: results from the Nurses' Health Study. Breast Cancer Res Treat 129:175–184
52. Cao Y (2007) Angiogeneis modulates adipogenesis and obesity. J Clin Invest 117:2362–2368
53. Renehan AG (2010) Body fatness and bevacizumab-based therapy in metastatic colorectal cancer. Gut 59:280–290
54. Simkens LH, Koopman M, Mol L, Veldhuis GJ, Ten Huinink Bokkel D, Muller EW, Derleyn VA, Teerenstra S, Punt CJ (2011) Influence of body mass index on outcome in advanced colorectal cancer patients receiving chemotherapy with or without targeted therapy. Eur J Cancer 47:2560–2567
55. Iwaki T, Urano T, Umemura K (2012) PAI-1, progress in understanding the clinical problem and its aetiology. Br J Haematol 157:291–298
56. Skurk T, Hauner H (2004) Obesity and impaired fibrinolysis: role of adipose production of plasminogen activator inhibitor-1. Int J Obes Relat Metab Disord 28:1357–1364
57. Muldowney JA, Chen Q, Blakemore DL, Vaughan DE (2012) Pentoxifylline lowers plasminogen activator inhibitor 1 levels in obese individuals: a pilot study. Angiology 21 Feb [epub ahead of print]
58. de Jong M, Maina T (2010) Of mice and humans: are they the same?–implications in cancer translational research. J Nucl Med 51:501–504
59. Charafe-Jauffret E, Monville F, Ginestier C, Dontu G, Birnbaum D, Wicha MS (2008) Cancer stem cells in breast: current opinion and future challenges. Pathobiology 75:75–84
60. Dunlap SM, Chiao LJ, Nogueira L, Usary J, Perou CM, Varticovski L, Hursting SD (2012) Obesity enhances epithelial-to-mesenchymal transition, cancer stem cell enrichment, and tumor progression in a novel Wnt-1 mammary cancer model. Cancer Prev Res 15 May (Epub ahead of print)
61. DeLellis K, Ingles S, Kolonel L, McKean-Cowdin R, Henderson B, Stanczyk F et al (2003) IGF1 genotype, mean plasma level and breast cancer risk in the Hawaii/Los Angeles multiethnic cohort. Br J Cancer 88:277–282
62. Baglietto L, English DR, Hopper JL, Morris HA, Tilley WD, Giles GG (2007) Circulating insulin-like growth factor-I and binding protein-3 and the risk of breast cancer. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 16:763–768
63. Nunez NP, Perkins SN, Smith NC, Berrigan D, Berendes DM, Varticovski L, Barrett JC, Hursting SD (2008) Obesity accelerates mouse mammary tumor growth in the absence of ovarian hormones. Nutr Cancer 60:534–541

64. Ruan W, Kleinberg DL (1999) Insulin-like growth factor I is essential for terminal end bud formation and ductal morphogenesis during mammary development. Endocrinology 140:5075–5081
65. Sivakumar R, Koga H, Selvendiran K, Maeyama M, Ueno T, Sata M (2009) Autocrine loop for IGF-I receptor signaling in SLUG-mediated epithelial-mesenchymal transition. Int J Oncol 34:329–338
66. Graham TR, Zhau HE, Odero-Marah VA, Osunkoya AO, Kimbro KS, Tighiouart M et al (2008) Insulin-like growth factor-I-dependent up-regulation of ZEB1 drives epithelial-to-mesenchymal transition in human prostate cancer cells. Cancer Res 68:2479–2488
67. Wysocki PJ, Wierusz-Wysocka B (2010) Obesity, hyperinsulinemia and breast cancer: novel targets and a novel role for metformin. Expert Rev Mol Diagn 10:509–519
68. Hirsch HA, Iliopoulos D, Tsichlis PN, Struhl K (2009) Metformin selectively targets cancer stem cells, and acts together with chemotherapy to block tumor growth and prolong remission. Cancer Res 69:7507–7511
69. Wu MH, Chou YC, Chou WY, Hsu GC, Chu CH, Yu CP et al (2009) Circulating levels of leptin, adiposity and breast cancer risk. Br J Cancer 100:578–582
70. Choi SS, Syn WK, Karaca GF, Omenetti A, Moylan CA, Witek RP et al (2010) Leptin promotes the myofibroblastic phenotype in hepatic stellate cells by activating the hedgehog pathway. J Biol Chem 285:36551–36560

Meyve ve Sebzeler: WCFR/AICR Kanserin Önlenmesi İçin Hayat Tarzı Önerilerindeki Epidemiyolojik Kanıtların Güncellenmesi

Teresa Norat, Dagfinn Aune, Doris Chan ve Dora Romaguera

Özet

Dünya Kanser Araştırma Fonu/Amerikan Kanser Araştırma Enstitüsü (WCRF/AICR) tarafından yayınlanan kanserden korunma amaçlı güncel diyet önerileri "günde en az 5 porsiyon çeşitli nişastasız sebze ve/veya meyve tüketilmesi gereklidir" cümlesini içermektedir. WCRF/AICR'nin en güncel yayınında (2007) meyve ve sebzelerin kanserden koruyucu etkileri ile ilgili ağız, farenks ve larenks, özofagus, mide, akciğer kanseri için "muhtemel", nasofarenks, akciğer, kolorektum, over, endometrium, pankreas, karaciğer kanserleri için de "sınırlı anlamlı" ifadeleri yer almaktadır. WCRF/AICR tarafından 1997 yılında yayınlanan daha önceki bir bildiride ise meyve ve sebzelerin kanser riskiyle ilişkileri hakkındaki kanıtların ikna edici olduğu belirtilmiştir. Bu yargı esas olarak vaka kontrol çalışmalarına dayanmaktaydı. Meyve ve sebze tüketiminin kolorektal, meme ve pankreas kanseri ile ilişkisi Sürekli Güncelleme Projesi (CUP) tarafından tekrar incelenmiştir. Elde edilen sonuçlar metaanalizlerde kantitatif olarak özetlenmiştir. CUP elindeki yeni verilerle WCRF/AICR'nin meyve ve sebzelerin kanser etyolojisindeki rolleri hakkında ikna edici kanıtlar olmadığını bildiren ikinci uzman raporunu konfirme etmiştir. Ancak diyet lif tüketiminin kolorektal kanserdeki rolü ile ilgili CUP tarafından toplanan veriler daha tutarlıdır. CUP uzman paneli diyet lifinin kolorektal kanser etyolojisindeki rolünü kısa süre önce "muhtemel" düzeyinden "ikna edici" düzeyine yükseltmiştir.

T. Norat (✉) · D. Aune · D. Chan · D. Romaguera
Department of Epidemiology and Biostatistics, School of Public Health, Imperial College London, St. Mary's Campus, Norfolk, Place, Paddington, UK W2 1PG, London
e-mail: t.norat@imperial.ac.uk

V. Zappia et al. (eds.), *Advances in Nutrition and Cancer,*
Cancer Treatment and Research 159, DOI: 10.1007/978-3-642-38007-5_3,
© Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2014

Anahtar Kelimeler
Hayat Tarzı Tavsiyeleri • Kanserin önlenmesi • Kanser riski

Kısaltmalar

WCRF/AICR	Dünya Kanser Araştırma Fonu/Amerikan Kanser Araştırma Enstitüsü
CUP	Sürekli Güncelleme Projesi
RR	Rölatif Risk
EPIC	Avrupa Kanser ve Nütrisyon Araştırması

İçindekiler

1 Giriş 36
2 Sürekli Güncelleme Projesi 39
3 Meyve, Sebze ve Kanser Riskinin ilişkisi ile İlgili Epidemiyolojik Kanıtlar 40
4 Sürekli Güncelleme Projesinden Bitkisel Gıdaların Meme, Kolorektal ve Pankreas Kanserleri ile İlişkisi Hakkında Güncel Kanıtlar 41
5 WCRF/AICR Önerilerine Uyum Bir Popülasyondaki Kanser Riskini Azaltır mı? 46
5 Sonuç Değerlendirmesi 48
Referanslar 49

1 Giriş

Dünya Kanser Araştırma Fonu (WCRF) ve Amerikan Kanser Araştırma Enstitüsü (AICR) 2007 yılında "Gıda, Nütrisyon, Fiziksel Aktivite ve Kanserin Önlenmesi: Global bir Perspektif" başlıklı İkinci Uzman Raporu'nu yayınladı [24]. İkinci Uzman Raporu kanserin önlenmesi için bu alandaki bilimsel kanıtların kapsamlı incelemesine dayanan on adet öneri içermektedir. Bu raporu "Kanser Önleme Politikası ve Faaliyetleri: Gıda, Nütrisyon ve Fiziksel Aktivite - Global bir Perspektif" başlıklı ikinci yayın [25] takip etti. Rapor politikalar ve politikacılar ile ilgili faaliyetler, politika yapıcılar, sağlık profesyonelleri ve diğer partiler ile ilgili öneriler içeriyordu. Öneriler gıda tüketimi ve fiziksel aktivite paternlerinin sosyal, kültürel, politik ve ekonomik faktörlerden etkilendiği prensibinden yola çıkarak hazırlanmıştı.

İkinci Uzman Raporu bu konuda yayınlamış en otoriter analiz olma özelliğini de taşıyordu. İkinci Uzman Raporunun yazılma süreci bir grup uzmanın (Çalışma Grubu) sistematik analizler, gözlemsel epidemiyolojik çalışmalar ve kanser etyolojisinin gıda, nütrisyon ve fiziksel aktivite ile ilişkisini araştıran girişimsel çalışmalarda kullanılan detaylı metodolojileri değerlendirilmesi ile başlamıştır [23, http://www.dietandcancerreport.org/cancer_resource_center /downloads/SLR_Manual.pdf]. Kullanılan spesifikasyon kılavuzunun fizibilitesi, kullanışlılığı ve çoğaltılabilirlik düzeyi endometrium kanserini test konusu olarak kullanan iki bağımsız akademik enstitü tarafından test edildi [22]. Gıda, nütrisyon ve fiziksel aktivitenin on yedi kanser türü ve kanser sağkalımı ile ilişkisi hakkındaki epidemiyolojik kanıtlar ve obezitenin belirleyici faktörleri Avrupa ve ABD'deki dokuz akademik araştırma kurumunda sistematik olarak incelendi.

Epidemiyolojik, deneysel ve laboratuvar araştırmalarının sistematik analizi WCRF/AICR tarafından atanan uluslararası uzman panelinin gıdaların, nütrisyonun, fiziksel aktivitenin ve şişmanlığın kanser etyolojisindeki rolüyle ilgili kanıtları değerlendirip kategorilendirerek kanserin önlenmesi ile ilgili öneriler ve halk sağlığı hedefleri belirlemelerinin temelini oluşturmuştur. Diğer hastalıkların önlenmesi ile ilgili önerilerde bulunan ulusal ve uluslararası raporlarda göz önüne alınarak kanserin önlenmesi ile ilgili önerilerin geniş bir halk sağlığı bakış açısıyla oluşturulması amaçlanmıştır. Panel kanıtları sunmadan önce her kategori için gerekli olan minimum kriterler üzerinde fikir birliğine varmıştır. Kategoriler ikna edici, muhtemel, sınırlı ve risk üzerinde anlamlı etki yapma olasılığı az olarak belirlenmiştir. Sınırlı kategorisi, nedensel ilişki düşünülen durumlar için "sınırlı anlamlı", çıkarım yapılamayan durumlar için de "sınırlı - çıkarım yok" olarak ikiye ayrılmıştır. Bunlara ek olarak esneklik sağlamak amacıyla, kanıtların belirli özellikleri çıkarımların derecesini yükseltmek veya düşürmek amacıyla kullanılmıştır. Önerilerin temelini çıkarımlar oluşturmuştur. Önerilerin oluşturulmasında sadece muhtemel veya ikna edici olarak sınıflandırılan çıkarımlar kullanılmıştır.

İkinci uzman raporu sekiz genel ve iki özel öneri içermektedir (Tablo 1). Öneriler halk sağlığına hitap edebilmek amacıyla geniş tabanlı bir yaklaşım kullanmıştır. Kanseri önlemeyi amaçlayan gıda ve diyet tavsiyeleri spesifik besin öğeleri ve kanser türlerine odaklanmak yerine genel bir yaklaşımla hazırlanmıştır.

Ancak bilimsel kanıtlar sürekli olarak artmaya devam etmektedir. Mevcut kanıtların ışığında yeni çalışmaların yapılması gerekmektedir. WCRF/AICR kanıtların sürekli olarak güncellenmesini sağlayabilmek için Londra Imperial College araştırmacıları ile işbirliği içinde Sürekli Güncelleme Projesini (CUP) yürütmektedir.

Tablo 1 2007 Dünya Kanser Araştırma Fonu/Amerikan Kanser Araştırma Enstitüsü Kanserin Önlenmesinde Bireysel Öneriler

Öneriler
ŞİŞMANLIK
Normal sınırlar içindeki vücut ağırlığına mümkün olduğu kadar yakın olunuz
Çocukluk ve adolesan dönemdeki vücut ağırlığından tahmin edilen 21 yaşındaki olası VKİ'nin normalin alt sınırına yakın olmasını sağlayınız
Vücut ağırlığının 21 yaşından itibaren normal sınırlar içinde kalmasını sağlayınız
Erişkin yaşam boyunca kilo alımını ve bel çevresi artışını engelleyiniz
FİZİKSEL AKTİVİTE
Fiziksel aktiviteyi günlük yaşamın bir parçası haline getirerek aktif kalınız
Günde en az 30 dakika tempolu yürüyebilecek şekilde orta derecede aktif kalınız
Egzersiz faydalı olduğu için hergün ≥ 60 dakika orta düzeyde veya ≥ 30 dakika hızlı tempolu egzersiz yapınız.
Televizyon seyretmek gibi sedanter alışkanlıkları azaltınız
KİLO ALIMINA YOL AÇAN YİYECEK VE İÇECEKLER
Enerji yoğun besinlerin tüketimini azaltınız Şekerli içeceklerden kaçınız
Enerji yoğun yiyecekleri az miktarda tüketiniz
Şekerli içeceklerden kaçınınız
"Fast food" ürünlerini az miktarda tüketiniz
BİTKİSEL BESİNLER
Çoğunlukla bitkisel kaynaklı gıdalar tüketiniz
Günde en az beş porsiyon (400 gr veya 14 oz) farklı çeşitlerde nişastasız sebze ve/veya meyve tüketiniz
Her öğünle görece olarak az işlenmiş tahil (taneli) ve/veya bakliyat tüketiniz
Rafine nişastalı besinleri azaltınız
Nişastalı kök ve yumru sebzeleri tüketenlerin nişastasız sebze, meyve ve baklagilleri de yemeleri gereklidir
HAYVANSAL GIDALAR
Kırmızı et tüketimini azaltınız ve işlenmiş et ürünlerinden kaçınınız
Kırmızı etin haftada 500 gr'dan (18oz) az tüketilmesi, işlenmiş et ürünlerinin de çok az miktarda yenilmesi uygundur
ALKOLLÜ İÇKİLER
Alkollü içecekleri azaltınız
Alkollü içkiler kullanılıyorsa, erkekler için günde iki kadeh, kadınlar için de günde bir kadeh ile sınırlayınız.
KORUMA, İŞLEME, HAZIRLAMA

*(*devam ediyor*)*

Tablo 1 (devam ediyor)

Öneriler
Tuz tüketimini azaltınız
Küflü tahıl (taneli) ve baklagillerden sakınınız
Koruma amaçlı tuz eklenen, tuzlanmış veya tuzlu gıdalardan sakınınız. Besinleri tuz kullanmadan koruyunuz
Tuz eklenerek işlenmiş gıdaları azaltınız. Günde 6 gr'dan (2.4 gr sodyum) tuz tüketiniz
Küflü tahıl (taneli) ve baklagilleri yemeyiniz
DİYET TAKVİYELERİ
Nütrisyonel hedefleri sadece diyet ile karşılamaya çalışınız
Diyet takviyeleri kanserin önlenmesinde tavsiye edilmemektedir
EMZİRME
Anneler emzirmeli; çocuklar emzirilmelidir
Bebek altı ay boyunca sadece anne sütü ile emzirilmelidir. Sonrasında ilave gıdalar ile devam edilir
KANSER HASTALARI
Kanser hastalığı ile ilişkili önerilere uyunuz
Her kanser hastası uygun eğitimli bir profesyonelden nütrisyon desteği almalıdır.
Yapılabiliyorsa farklı tavsiye edilmediği sürece diyet, sağlıklı kilo ve fiziksel aktivite ile ilgili önerilere uyulması hedeflenmelidir.
[24] nolu referanstan uyarlanmıştır

2 Sürekli Güncelleme Projesi

CUP gıda, nütrisyon, fiziksel aktivite, şişmanlık ve kanser riski ile ilgili literatürlerin sürekli olarak değerlendirildiği projedir [http://www.wcrf.org/cancer_ research/cup/index.php]. CUP yayınlanan kanıtlarla ilgili sistematik literatür analizini WCRF/AICR ikinci uzman raporunda kullanılan yönteme benzer şekilde gerçekleştirerek kanıtların incelenmesinde tutarlı bir yaklaşım sağlamayı hedeflemektedir. Ayrıca WCRF/AICR'nin atadığı diyet, fiziksel aktivite, obezite ve kanser konusunda lider bilim adamlarından oluşan bağımsız uzmanlar paneli de (CUP paneli) önerilerin yayınlanmasından önce CUP'ın ürettiği sistematik literatür analiz sonuçlarını mekanik çalışmaların kanıtları ile birlikte değerlendirerek gereken sonuçları çıkarmaktadır. Verileri toplayan ve özetleyenler ile bu verileri değerlendirenlerin farklı uzmanlar olmasının amacı, CUP'ın yaptığı veri analiz ve yorumlarının bağımsız bir şekilde gerçekleşmesini sağlayarak 2007 WCRF/ AICR kanser önleme önerilerinin gözden geçirilmesini ve gerektiğinde güncellenmesini sağlayacak temeli oluşturmaktır.

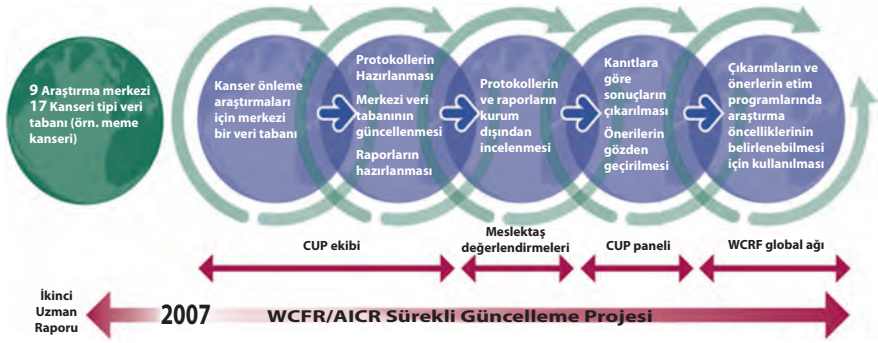
İkinci uzman raporundaki önerilerin çoğu prospektif ve randomize kontrollü çalışmaların sonuçları baz alınarak geliştirilmiştir. Bu süreçte yer alan iki çalışmanın dizaynları kanıt hiyerarşisinin üst basamağında yer almıştır [15]. Nütrisyon ve kanserle ilgili vaka kontrol ve kohort çalışmalarının birbirleri ile uyumlu sonuçlar vermediğini gösteren yaygın kanıtlar da mevcuttur [20]. Bu nedenle kohort ve randomize kontrollü çalışmalardan elde edilen kanıtlar CUP tarafından sürekli olarak incelenmektedir. Analizlerde vaka kontrol çalışmaları, kesitsel çalışmalar ve ekolojik çalışmalar yer almamaktadır.

CUP'ın bir özelliği de gıda, nütrisyon, fiziksel aktivite ve obezitenin kanser riski ile ilişkisini araştıran tüm kohort ve randomize kontrollü çalışmaların sonuçlarını içeren büyük veri tabanının sürekli olarak güncellenmesidir (Şekil 1). CUP veri tabanının sürekli güncellenmesinin ilk adımı sistematik kanser analizleri ile oluşturulan veri tabanlarının tek bir özgün veri tabanı içinde kombine edilerek toplanan tüm verilerin aynı formatla standardize edilmesidir. CUP nütrisyon ve kanser ile ilgili epidemiyolojik verileri içeren bilinen en büyük veri tabanına sahiptir. Bu veri tabanı uzman panelini bilgilendirmekte kullanılan CUP metaanalizlerinin kaynağıdır.

3 Meyve, Sebze ve Kanser Riskinin ilişkisi ile İlgili Epidemiyolojik Kanıtlar

2003 yılında meyve ve sebze tüketiminin kanser ile ilişkisini konu alan büyük ölçekli sistematik analizde vaka kontrol çalışmalarından alınan genel veriler meyve ve sebze tüketiminin özofagus, akciğer, mide ve kolorektal kanser riskini azalttığı görüşünü desteklemektedir. Meme kanseri riski sebze tüketimi ile ters orantılıdır. Ancak bu ilişki meyve tüketimi için geçerli değildir. Meyve tüketimi mesane kanseri ile ilişkili bulunurken bu ilişki sebze tüketimi için geçerli değildir. Ancak meyve ve sebze tüketiminin birçok kanser türünden koruyucu etkilerini araştıran kohort çalışmalarından elde edilen veriler, vaka kontrol çalışmaları verileri kadar ikna edici değildir. Kohort çalışmalarında sadece akciğer ve mesane kanserinin meyve tüketimi ile anlamlı bir bağlantısı tespit edilmiştir [20]. Vaka kontrol ve kohort çalışmalarının genel sonuçları arasındaki bu çelişkiler hatırlama veya seçim sapmalarından kaynaklanıyor olabilir. Diğer yandan bazı prospektif çalışmalarda da her kohorttaki diyet ölçümlerinin yanlış yapılmasından veya diyetle alınan gıda miktarlarındaki varyasyonların sınırlı olmasından kaynaklanan bazı ilişkilerin yeterince dikkate alınmamış olması mümkündür.

2007 yılında kohort çalışmalarından alınan daha kapsamlı kanıtlarla yayınlanan WCRF/AICR ikinci uzman raporunda meyve ve sebze kullanımının kanser riskini modifiye edebileceği yönündeki kanıtların tatminkar olmadığı sonucuna varılmıştır (Tablo 2). Raporda meyve ve sebze tüketiminin ağız, farenks, özofagus ve mide kanserleriyle muhtemelen ilişkili olduğu ifadesi de yer almıştır. Meyve tüketiminin akciğer kanseriyle,



Şekil 1 Sürekli Güncelleme Projesinin İşleyişi.

karoten içeren gıdaların prostat kanseriyle, folat içeren gıdaların da pankreas kanseriyle muhtemel ilişkisi olduğu bildirilmiştir.

Bu yargıların büyük bölümü vaka kontrol çalışmalarının sonuçlarına dayanmaktadır. Kanser riskinde azalmaya yol açan diyetlerin çoğunun bitkisel gıdalardan oluştuğu yönündeki entegre bir yaklaşımı [24] değerlendiren uzman paneli, farklı çeşitlerdeki nişastasız sebzelerin ve meyvelerin her gün tüketilmesini önermiştir. Ayrıca işlenmemiş tahıl ve baklagiller tüketimini önerirken nişastalı gıdaların tüketiminin de sınırlanmasını tavsiye etmiştir.

4 Sürekli Güncelleme Projesinden Bitkisel Gıdaların Meme Kolorektal ve Pankreas Kanserleri ile İlişkisi Hakkında Güncel Kanıtlar

CUP meme, kolorektal ve pankreas kanserleri ile ilgili sistematik literatür analizleri Londra Imperial College'deki araştırıcılar tarafından gerçekleştirilmektedir. WCRF/AICR ikinci uzman raporu için yapılan sistematik literatür analizinde (Haziran 2006'ya kadar) yayınlanmış makalelerin araştırılması ve verilerin toplanması işlemi Milan İtalya'daki İstituo Nazionale Tumori (meme kanseri), Hollanda'daki Wageningen Üniversitesi (kolorektal kanser) ve İngiltere'deki Leeds Üniversitesi (pankreas kanseri) araştırmacıları tarafından gerçekleştirilmiştir. Bu merkezlerde toplanan veriler güncel CUP analizlerinde kullanılmıştır.

CUP metaanalizlerinde kullanılan yöntemlerden bu bölümün farklı yerlerinde bahsedilmektedir [11]. En yüksek tüketim miktarları ile en düşük tüketim miktarları ve doz cevap analizinin risk oranlarının (RR) ve güven aralıklarının (%95 CI) hesaplanmasında kısa rastgele etki modelleri kullanılmıştır.[13]. Risk oranının doğal logaritması tahmin edilmiştir. Her çalışmanın risk oranı varyansının karşıtı ile dengelenmiştir. Greenland ve Longnecker [14] tarafından tanımlanan yöntem, tüketim kategorileri boyunca risk oranlarının ve güven aralıklarının doğal logaritmalarından lineer trendleri ve %95 güven aralıklarını hesaplamak amacıyla doz cevap analizlerinde kullanılmıştır. WCRF/

Tablo 2 WCRF/AICR ikinci uzman raporunda meyve, sebze ve kanser riski ilişkisindeki kanıtların uzman paneli tarafından sınıflandırılması

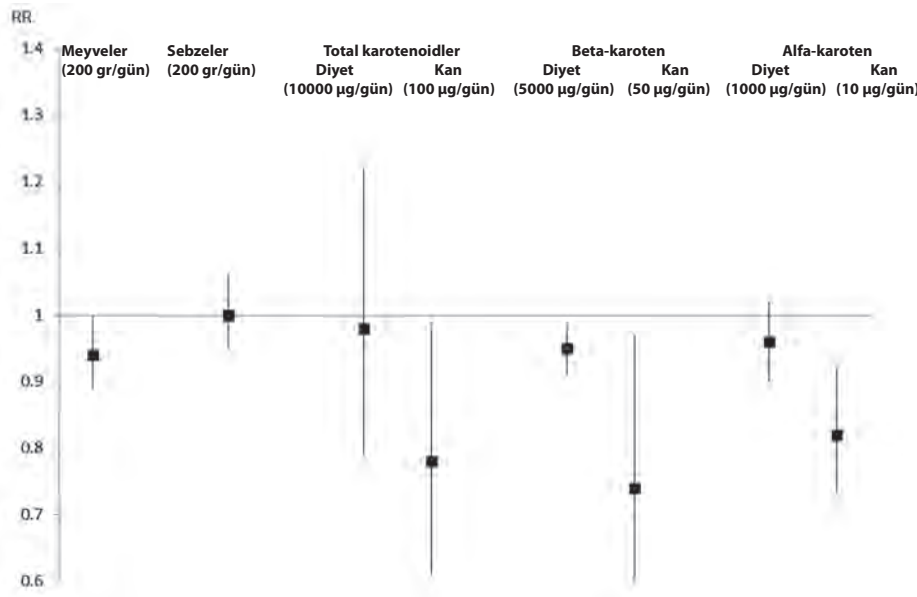
Kanıt Düzeyi	Risk azalması	
	Maruziyet	Kanser bölgesi
İkna edici	Meyve ve sebzelerin kanser riskini modifiye etmeleri ile ilgili ikna edici kanıt yoktur	
Muhtemel	Nişastasız sebzeler	Ağız, farenks, larenks
		Özofagus
		Mide
	Alyum bitkileri	Mide
	Sarımsak	Kolorektum
	Meyveler	Ağız, farenks, larenks
		Özofagus
		Akciğer
		Mide
	Folat içeren besinler	Pankreas
Sınırlı anlamlı	Nişastasız sebzeler	Nazofarenks
		Akciğer
		Kolorektum
		Over
		Endometrium
	Havuç	Serviks
	Meyveler	Nazofarenks
		Pankreas
		Karaciğer
		Kolorektum

[24] nolu referanstan adapte edilmiştir

AICR ikinci uzman raporu için yapılan literatür araştırmasında ortaya çıkan eksik veriler için eldeki verilerden doz cevap eğrilerinin ve güven aralığının tahmin edilmesinde birkaç farklı yaklaşım kullanılmıştır [8]. İkinci uzman raporu için meyve ve sebze tüketiminin kanser riskiyle ilişkisi hakkında daha önce yapılan literatür analizlerinde kullanıldığı üzere, tüketimi frekans olarak bildiren çalışmalardaki tüketimlerin ortak bir ölçek üzerinde [gram/gün] yeniden hesaplanabilmesi için porsiyon miktarı olarak 8 gr kullanılmıştır [7]. Çalışmalar arasındaki heterojenite Q ve I^2 istatistikleri ile değerlendirildi [17]. İstatistiksel analizler için STATA programı kullanıldı.

- Meme kanseri, meyve ve sebzelerle ilgili sürekli güncelleme

2007 WCRF/ AICR raporunda meyve ve sebze ile meme kanseri arasındaki ilişki ile ilgili kanıtların bir sonuç çıkarabilmek için çok kısıtlı veya tutarsız oldukları bildirilmiştir.



Şekil 2 Meme ve kolorektal kanserlerin diyetle total lif alımına ve gıda kaynağına göre lineer doz cevaplarını inceleyen metaanaliz sonuçlarının özeti. Rölatif riskler ve güven aralıkları 10 gr/gün artışa göre hesaplanmıştır (şekiller CUP verilerini baz almaktadır [1, 2]).

Nisan 2011'e kadar yayınlanan 15 prospektif çalışmanın sonuçlarını içeren güncel CUP analizinde meyve ve sebze tüketiminin meme kanserini azalttığı yönünde kanıt mevcut değildir [3, 4]. En yüksek meyve tüketim kategorisi ile en düşük meyve tüketim kategorisinin karşılaştırılmasında heterojenite kanıtı olmaksızın zayıf bir ters orantı gözlenmiştir (rölatif risk [RR] = 0.92; %95 CI=0.86-0.98). Lineer doz cevap eğrilerinde meyve tüketimindeki 200 gr artış ile meme kanserinde görülen %6'lık hafif azalma istatistiksel olarak (sınırda) anlamlıdır ([RR] = 0.94; %95 CI=0.89-1.00). Doz cevap modellerindeki sebze tüketimi (sebze tüketiminde 200 gr artış için [RR] = 1.00; %95 CI = 0.95-1.06) ile veya en yüksek tüketim kategorisi ile en düşük kategorinin karşılaştırılmasında (RR = 1.00; %95 CI = 0.95–1.06) bir ilişki gösterilememiştir [4].

Diyet biyomarkerlerinin kullanıldığı farklı gözlemsel çalışmalarda (diyet anket verileri ile tahmin edilen ilişkilere göre) diyet ve hastalık sonlanım noktaları arasında daha güçlü ilişkiler bildirilmiştir [9, 16, 18]. Bu sonuçlar bazı diyet hastalık ilişkilerinin diyet ölçüm hataları nedeniyle eksik değerlendirildiğini düşündürmektedir [12]. CUP kapsamındaki diyetle alınan karotenoidler ve kan karotenoid düzeyleri ile ilgili metaanalizler bu gözlemi desteklemektedir (Şekil 2). CUP metaanalizlerinde meme kanseri ile diyet karotenoidleri arasında bir ilişki bulunmamıştır (10,000 için RR = 0.98; %95 CI = 0.79–1.22). Ancak kan karotenoid düzeyleri ile meme kanseri anlamlı bir ilişki gözlenmiştir

(100 μg/dl için RR = 0.78; %95 CI = 0.61–0.99) [3]. Kandaki alfa ve beta-karoten seviyeleri ile gözlenen anlamlı ters orantılı ilişkiler, aynı makrobesinleri kullananlardaki anketlerin sonuçlarından daha güçlü bulunmuştur. Karotenoidlerin kan konsantrasyonları diyet ile orta derecede korele olduğu için, sıklıkla meyve ve sebze tüketimi ile ilgili biyomarkerler olarak kullanılmaktadırlar (korelasyon aralığı 0.2 değerinden 0.5 değerinin üstüne kadar değişmektedir). Karotenoidler yağda çözündükleri için biyoyararlanımları diyetin yağ içeriği veya diğer kişisel faktörler ve muhtemelen de genetik farklılıklardan etkilenebilir. Karoteinlerin kandaki düzeyleri, farklı popülasyonlardaki biyoyararlanımları veya vücudun tamamındaki maruziyet hakkında iyi bir tahmin aracı olabilir ([19] nolu referansta incelenmiştir).

Meme tümörlerinin karakteristik özelliklerine göre mevye ve sebze tüketimi ile ilişkisinin de farklılıklar gösterebilme ihtimali mevcuttur. CUP kapsamında meme kanserini tümör özelliklerine göre sınıflandıran metaanalizlerin yapılabilmesi için gerekli olan sayıda çalışma mevcut değildir. 18 prospektif kohort çalışmasındaki 33.380 hastayı içeren Kohort Çalışmaları Havuzu Projesi, alfakaroten, betakaroten ve lutein/zeaksantin tüketiminin östrojen reseptörü negatif meme kanseri ile ters orantılı olduğunu ancak östrojen reseptörü pozitif meme kanseri ile bu ilişkinin mevcut olmadığını bildirmiştir. Projede yer alan çalışmalardaki karoteinod tüketimi anket verileri kullanılarak tahmin edilmiştir [26].

Meyve, sebze ve tahıllar birçok toplumdaki diyet lifinin ana kaynağıdır. Güncel CUP meme kanseri analizinde diyetle lif tüketimi ile meme kanseri arasında ters orantı bulunmuştur (her 10 gr/gün için RR = 0.95 CI = %95 = 0.91–0.98). Meyve lifi (RR = 0.88; %95 CI = 0.75–1.03) veya tahıl lifi tüketimi (RR = 0.91; %95 CI = 0.79–1.04) ile ters orantılı ancak anlamlı olmayan ilişkiler bulunmuştur. Ancak sebzelerden alınan lifler ile ilgili bir ilişki tespit edilmemiştir (RR = 0.97; %95 CI = 0.55–1.12) [1].

- Kolorektal kanser, meyve ve sebzelerle ilgili sürekli güncelleme

2007 WCRF/AICR raporunda meyve ve sebzelerin kolorektal kansere karşı koruyuculukları hakkında sınırlı kanıt olduğu yönünde panel kararı vardır. Meyve, sebze ve kolorektal kanser ilişkisi hakkında birçok çalışma mevcut olsa da sonuçları tam olarak tutarlı değildir.

Kolorektal kanser hakkındaki güncel CUP analizi için 31 Aralık 2010'a kadar yayınlanmış 19 prospektif çalışma belirlemiştir. Bu kohort çalışmalarının genel sonuçları (en yüksek ve en düşük tüketimler karşılaştırıldığında) kolorektal kanser ile meyve tüketimi arasında zayıf bir ilişki göstermiştir (RR = 0.90; %95 CI = 0.83–0.98). Ancak doz cevap ilişkisi mevcut değildir (Her 100 gr/gün için RR = 0.98; %95 CI = 0.94–1.01). Sebze tüketimi ile ters orantılı doz cevap ilişkisi gözlenmiştir (Her 100 gr/gün için RR = 0.98; 95 %CI = 0.97–0.99). Aynı ilişki en yüksek ve en düşük tüketimlerin karşılaştırılmasında da mevcuttur (RR = 0.91; 95 %95 CI = 0.86–0.96). Meyve, sebze ve kolorektal kanser ilişkisi fraksiyonel polinominal modeller ile de incelenmiştir [6]. Nonlineer modeller doz cevap ilişkilerinin çok düşük tüketim düzeylerinde daha belirgin olduğunu göstermiştir. Bu bulgu çok az meyve ve sebze tüketen bireylerin orta derecede artmış kolorektal kanser riski altında olduğunu ve meyve, sebze tüketimini

Tablo 3 Sürekli güncelleme projesinin kolorektal kanserle ilgili "ikna edici" ve "muhtemel" sonuçları

Gıda, nütrisyon, fiziksel aktivite ile kolon ve rektum kanserlerinin ilişkisi		
	Risk azalması	Risk artışı
İkna edici	Fiziksel aktivite	Kırmızı et
	Diyet lifi içeren besinler İşlenmiş et	İşlenmiş et
		Alkollü içkiler (erkek)
		Obezite
		Abdominal obezite
		Erişkin boyu
Muhtemel	Sarımsak	Alkollü içkiler (kadın)
	Süt	
	Kalsiyum	

WCRF/AICR Sürekli Güncelleme Projesi 2011, http://www.wcrf.org/cancer_research/cup/colorectal_cancer.php

100gr/gün düzeyinin üzerine çıkarmanın da az miktarda fayda sağladığını düşündürmektedir [5].

Diyet lifiyle ilgili WCRF/AICR ikinci uzman raporunda lif içeren gıdaların yüksek miktarda tüketiminin kolorektal kansere karşı muhtemel koruyucu etkisi değerlendirilmiştir. Lif tüketimi ve kolorektal kanser ile ilgili çalışmalarda tutarsız sonuçlar görüldüğü ve lif tüketimi sağlıklı yaşam tarzı ile ilişkili olma eğilimi gösterdiği için, gözlenen ilişkilerin (en azından kısmen) sağlıklı hayat tarzının rezidüel etkisi ile ilişkili olabileceği panel tarafından bildirilmiştir.

16 prospektif çalışmanın güncel CUP metaanalize kolorektal kanser riskinin diyetle lif tüketimi ile ters orantılı olduğunu konfirme etmiştir (10 gr/gün için RR = 0.90; %95 CI = 0.86–0.94) [2]. Gıda kaynağı ile ilgili CUP metaanalizleri bu ters orantılı ilişkinin tahıllardan alınan lif ile sınırlı olduğunu göstermiştir (10 gr/gün için RR = 0.90; 95 %CI = 0.83–0.97); meyvelerden alınan lif miktarı ile de ters orantılı bir ilişki gözlense de anlamlılık düzeyine ulaşılamamıştır (10 gr/gün için RR = 0.93; 95 %CI = 0.82–1.05). Sebzelerden alınan lif ile ilgili bir ilişki tespit edilmemiştir (10 gr/gün için RR = 0.98; %95 CI = 0.91–1.06) (Şekil 2). Diyet lifi ve kolorektal kanser ile ilgili veriler genel olarak tutarlıdır; çalışma sonuçları içinde anlamlı bir heterojenite tespit edilmemiştir (I^2 = %0). CUP uzman paneli 2011 yılındaki CUP sonuçlarının ışığında 2007 yılındaki WCRF/AICR ikinci uzman raporu panelinin çıkarımlarını modifiye etmiştir. Diyet lifi içeren gıdaların kolorektal kanserden koruyuculuk statüsü muhtemelden ikna edici seviyesine çıkarılmıştır (Tablo 3).

- Pankreas kanseri, meyve ve sebzelerle ilgili sürekli güncelleme

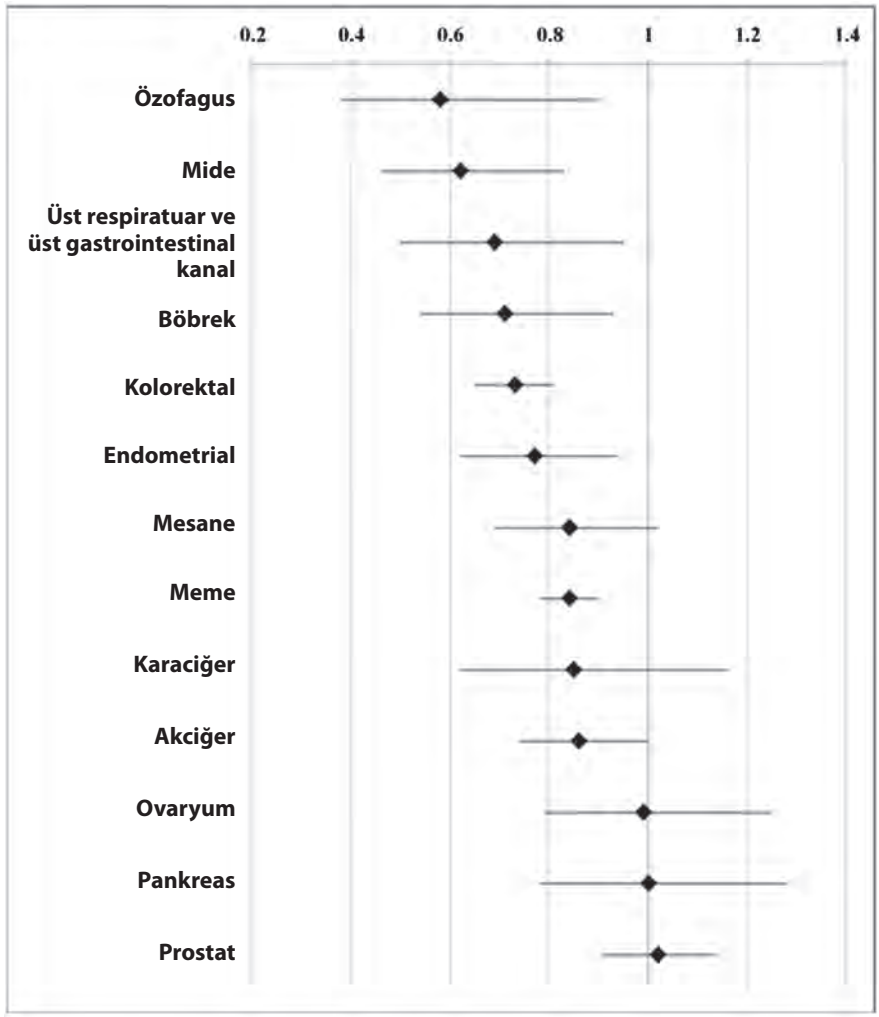
Pankreas kanseri ile ilişkili CUP analizi 31 Aralık 2011'e kadar yayınlanan çalışmaların sonuçları ile güncellenmiştir. İkinci uzman raporunun yayınlandığı 2007 yılından sonra pankreas kanseri hakkındaki prospektif çalışmalarla ilgili yayınların sayısında ciddi bir artış olmuştur. Pankreas kanseri insidansı ile mortalite ve sebzelerle ilgili 10, meyvelerle ilgili 12 çalışma belirlenmiştir. Bu çalışmaların 8 tanesi ikinci uzman raporundan sonra yayınlanmıştır.

CUP metaanalizleri meyve ve sebze tüketiminin pankreas kanseri ile ilişkisi hakkında herhangi bir kanıt içermemektedir. 100 gr'lık tüketim artışının rölatif riski sebzeler için 1.00 (%95 CI = 0.96–1.03), meyveler için de 1.00 (%95 CI = 0.95–1.05) bulunmuştur (yayınlanmamış veriler).

5 WCRF/AICR Önerilerine Uyum Bir Popülasyondaki Kanser Riskini Azaltır mı?

WCRF önerilerine uymanın bir popülasyondaki kanser riskini modifiye edebileceği varsayımındaki olası nedensel ilişkiye direkt kanıt sağlayabilecek araştırmalar randomize kontrollü çalışmalardır. Ancak bu tür çalışmalar sadece çalışma popülasyonu için gereken sayıdaki deneğin toplanmasında harcanacak zaman ve kaynak nedeniyle değil, aynı zamanda girişimin uygulanması ve sürdürülebilmesindeki metodolojik zorluklar, uyum ölçümü, girişim sırasında modifiye olabilen faktörlerin kontrolü ve etkilerin sapmalara meydan vermeksizin ölçümlerinin zorluğu gibi nedenler yüzünden her zaman uygulanabilir değildir. Bunun yerine gözlemsel prospektif çalışmalardan alınan indirekt kanıtlar kullanılarak WCRF/AICR önerilerine uygun hayat tarzı süren bireylerin daha düşük kanser riski taşıyıp taşımadıkları belirlenebilir. Bu görüş 1992-2000 yılları arasında kaydedilen 25-70 yaşları arasındaki, 521.330 kadın ve erkek ile gerçekleştirilen Avrupa Prospektif Kanser ve Nütrisyon Araştırması (EPIC) ile test edilmiştir. Çalışmaya 10 Avrupa ülkesi katılmıştır: Danimarka, Fransa, Almanya, Yunanistan, İtalya, Hollanda, Norveç, İspanya, İsveç ve İngiltere. Katılımcılar çalışmaya kayıt esnasında alkol kullanımı, sigara, fiziksel aktivite, eğitim, üreme geçmişi, emzirme, ekzojen hormon kullanımı ve geçirilmiş hastalık detaylarını da kapsayan medikal, diyet ve hayat tarzı anketleri doldurdular. Merkezlerin çoğunda vücut ağırlığı ve boy ölçümü ile ülkelere spesifik olarak valide edilmiş anketlerle rutin gıda tüketimleri belirlendi. EPIC çalışmasının detayları diğer bölümlerde anlatılmıştır [10].

WCRF/AICR önerileri ile uyum derecesinin değerlendirilmesi için önerilere uyum skorlaması geliştirilmiş ve çalışmaya kayıt esnasında toplanan veriler kullanılarak 386.355 EPIC katılımcısına uygulanmıştır. Başlangıçtaki skor ile devamında gelişebilecek kanser riski arasındaki ilişki araştırılmıştır. Medyan 11 yıllık takip süresi sonunda 36.994 EPIC katılımcısında kanser tespit edilmiştir. Sonuçlarda WCRF/AICR'nin kanseri önleme amaçlı diyet, nütrisyon, fiziksel aktivite ve kilo kontrolü ile ilgili öne-



Şekil 3 EPIC popülasyonundaki WCRF-AICR önerilerine en yüksek ve en düşük uyum skorları ile ilişkili spesifik kanser tiplerinin risk oranları (%95 CI). [21] nolu referanstan alınmıştır.

rilerine uymanın kanserin birçok türünün gelişme riskini azalttığı tespit edilmiştir. En yüksek WCRF/AICR uyum skoru grubunda (erkekler için ≥5 puan, kadınlar için ≥6 puan) alan katılımcıların herhangi bir kanser gelişme riski en düşük skor grubuna göre (erkekler için ≤2 puan, kadınlar için ≤3 puan) %18 daha az bulunmuştur. WCRF-AICR önerileri ile uyumun üst respiratuar sistem, üst gastrointestinal sistem, özofagus, mide, kolorektum, endometrium ve meme kanserini tahmin etmekte kullanılabileceği tespit edilmiştir (Şekil 3). WCRF-AICR skoru ile prostat, over, pankreas

ve mesane kanserleri tespit edilememektedir. Bu ilişkiler ikinci uzman raporundaki çıkarımlarla da uyumludur.

Skoru oluşturan komponentler arasında bitkisel gıdalarla ilgili önerilere uyum derecesinin kanser tahminindeki en güçlü gösterge olduğu bulunmuştur. Bitkisel gıda önerilerine en yüksek uyum skoru alan gruptaki (erkekler için ≥5 puan, kadınlar için ≥6 puan) herhangi bir kanser gelişme riski en düşük skor grubuna göre (erkekler için ≤2 puan, kadınlar için ≤3 puan) %11 (%95 CI = %6-16) daha az bulunmuştur [21]. Diğer komponentler ile ilişkili rölatif risk azalmaları %4 ile %6 arasında değişmektedir. Kilo artışına yol açan gıdalar ve emzirme ile ilgili önerilerin genel kanser riski ile ilişkili olmadığı (skorun diğer komponentlerine göre düzeltildikten sonra) bulunmuştur. Analizler sigara, eğitim durumu, kadınlarda (herhangi bir zamanda) oral kontraseptif kullanımı, hormon replasman tedavisi, ilk menarş yaşı, ilk hamilelik yaşı ve menopozal duruma göre düzeltilmiştir.

6 Sonuç Değerlendirmesi

2007 WCRF-AICR ikinci uzman raporu meyve ve sebzelerin kansere karşı koruyuculukları hakkındaki kanıtların ikna edici olmadığı sonucuna varmıştır. Daha fazla veriyi analiz eden CUP, WCRF-AICR ikinci uzman raporunun sonuçlarını konfirme etmiştir.

Buna karşın CUP öncesinde ve sırasına toplanan kanıtlar yüksek kan karotenoid düzeylerinin meme kanseri riskinde azalma ile ilişkili olduğunu göstermiştir. Ancak bu ilişki diyet karotenoidleri ile yapılan birçok çalışmada gözlenememiştir. Diyet ölçümündeki hatalardan kaynaklanma ihtimali olan bu çelişki diyet değerlendirme yöntemlerinin geliştirilebilmesi için daha fazla biyomarkera ihtiyaç olduğunu göstermektedir. Diğer taraftan diyetle az miktarda meyve ve sebze tüketen bireylerdeki kolorektal kanser ihtimalinin artabileceği CUP sonuçları tarafından desteklenmektedir. CUP lif tüketiminin kolorektal kanseri önlemedeki rolünü gösteren ikna edici veriler toplamış ve özetlemiştir.

EPIC çalışmasında yer alan bir popülasyonda WCRF/AICR önerilerine uyum skorunun belirlenmesi ile bu önerilere uymanın popülasyondaki kanser riskini azaltabileceği gösterilmiştir. Bitkisel gıdaların tüketimi ile ilgili önerilere uyum skorunun en önemli kanser tahmin öğesi olduğu bildirilmiştir.

Randomize kontrollü çalışmalar dizaynları gereği kanserin diyet modifikasyonları ile önlenip önlenemeyeceğini gösterebilmek için gereken neden sonuç ilişkisini inceleyen çalışmalardır. Ancak metodolojik problemler bu amaçla yapılabilecek randomize kontrollü çalışmaların yapılmasını sıklıkla uygulanabilir olmaktan çıkarmaktadır. Hayata geçirilebilmeleri için besin öğelerinin mevcudiyetini ölçecek biyomarkerlerin ve ara sonlanım noktalarının tanımlanması, spesifik besin öğeleri ile ilgili biyolojik yolakların ve mekanizmaların incelenmesinde önemli olabilir.

Diyet ve kanseri araştıran prospektif çalışmaların da diyet anketlerinin ölçüm hataları, valide biyomarkerlerin kısıtlı sayıları ve takip sürecinde tekrar değerlendirmelerin yapılmaması gibi kısıtlamaları mevcuttur. Ancak CUP tarafından gerçekleştirilen kapsamlı literatür analizleri ve daha önce yayınlanan makalelerde de görüldüğü gibi kanser riskinin gıda, nütrisyon, fiziksel aktivite ve obezite ile ilişkisi hakkındaki en önemli güncel veri kaynağı prospektif çalışmalardır.

Referanslar

1. Aune D, Chan DS, Greenwood DC, Vieira AR, Rosenblatt DA, Vieira R, Norat T (2012) Dietary fiber and breast cancer risk: a systematic review and meta-analysis of prospective studies. Ann Oncol 23:1394–1402
2. Aune D, Chan DS, Lau R, Vieira R, Greenwood DC, Kampman E, Norat T (2011) Dietary fibre, whole grains, and risk of colorectal cancer: systematic review and dose-response meta-analysis of prospective studies. BMJ 343:d6617. doi:10.1136/bmj.d6617.D6617
3. Aune D, Chan DS Vieira, AR, Navarro-Rosenblatt DA, Vieira R, Greenwood D, Norat T (2012) Dietary compared with blood concentrations of carotenoids and breast cancer risk: a systematic review and meta-analysis of prospective studies. Am J Clin Nutr 96:356
4. Aune D, Chan DS Vieira AR, Rosenblatt DA Vieira R, Greenwood DC, Norat T (2012) Fruits vegetables and breast cancer risk: a systematic review and meta-analysis of prospective studies. Breast Cancer Res Treat 134:479
5. Aune D, Lau R, Chan DS, Vieira R, Greenwood DC, Kampman E, Norat T (2011) Nonlinear reduction in risk for colorectal cancer by fruit and vegetable intake based on meta-analysis of prospective studies. Gastroenterology 141:106–118
6. Bagnardi V, Zambon A, Quatto P, Corrao G (2004) Flexible meta-regression functions for modeling aggregate dose-response data, with an application to alcohol and mortality. Am J Epidemiol 159:1077–1086
7. Bandera EV, Kushi LH, Moore DF, Gifkins DM, McCullough M (2007) Fruits and vegetables and endometrial cancer risk: a systematic literature review and meta-analysis. Nutr Cancer 58:6–21
8. Bekkering GE, Harris RJ, Thomas S, Mayer AM, Beynon R, Ness AR, Harbord RM, Bain C, Smith GD, Sterne JA (2008) How much of the data published in observational studies of the association between diet and prostate or bladder cancer is usable for meta-analysis? Am J Epidemiol 167:1017–1026
9. Bingham S, Luben R, Welch A, Low YL, Khaw KT, Wareham N, Day N (2008) Associations between dietary methods and biomarkers, and between fruits and vegetables and risk of ischaemic heart disease, in the EPIC Norfolk Cohort Study. Int J Epidemiol 37:978–987
10. Bingham S, Riboli E (2004) Diet and cancer—the European prospective investigation into cancer and nutrition. Nat Rev Cancer 4:206–215
11. Chan DS, Lau R, Aune D, Vieira R, Greenwood DC, Kampman E, Norat T (2011) Red and processed meat and colorectal cancer incidence: meta-analysis of prospective studies. PLoS ONE 6:e20456
12. Day NE, Wong MY, Bingham S, Khaw KT, Luben R, Michels KB, Welch A, Wareham NJ (2004) Correlated measurement error–implications for nutritional epidemiology. Int J Epidemiol 33:1373–1381
13. DerSimonian R, Laird N (1986) Meta-analysis in clinical trials. Control Clin Trials 7:177–188
14. Greenland S, Longnecker MP (1992) Methods for trend estimation from summarized dose-response data, with applications to meta-analysis. Am J Epidemiol 135:1301–1309

15. Guyatt GH, Sackett DL, Sinclair JC, Hayward R, Cook DJ, Cook RJ (1995) Users' guides to the medical literature. IX. A method for grading health care recommendations. Evidence-based medicine working group. JAMA 274:1800–1804
16. Harding AH, Wareham NJ, Bingham SA, Khaw K, Luben R, Welch A, Forouhi NG (2008) Plasma vitamin C level, fruit and vegetable consumption, and the risk of new-onset type 2 diabetes mellitus: the European prospective investigation of cancer–Norfolk prospective study. Arch Intern Med 168:1493–1499
17. Higgins JP, Thompson SG (2002) Quantifying heterogeneity in a meta-analysis. Stat Med 21:1539–1558
18. Jenab M, Riboli E, Ferrari P, Friesen M, Sabate J, Norat T, Slimani N, Tjonneland A, Olsen A, Overvad K, Boutron-Ruault MC, Clavel-Chapelon F, Boeing H, Schulz M, Linseisen J, Nagel G, Trichopoulou A, Naska A, Oikonomou E, Berrino F, Panico S, Palli D, Sacerdote C, Tumino R, Peeters PH, Numans ME, Bueno-de-Mesquita HB, Buchner FL, Lund E, Pera G, Chirlaque MD, Sanchez MJ, Arriola L, Barricarte A, Quiros JR, Johansson I, Johansson A, Berglund G, Bingham S, Khaw KT, Allen N, Key T, Carneiro F, Save V Del G.G, Plebani M, Kaaks R, Gonzalez CA (2006). Plasma and dietary carotenoid, retinol and tocopherol levels and the risk of gastric adenocarcinomas in the European prospective investigation into cancer and nutrition. Br J Cancer 95:406–415
19. Jenab M, Slimani N, Bictash M, Ferrari P, Bingham SA (2009) Biomarkers in nutritional epidemiology: applications, needs and new horizons. Hum Genet 125:507–525
20. Riboli E, Norat T (2003) Epidemiologic evidence of the protective effect of fruit and vegetables on cancer risk. Am J Clin Nutr 78:559S–569S
21. Romaguera D, Vergnaud AC, Peeters PH, Van Gils CH, Chan DS, Ferrari P, Romieu I, Jenab M, Slimani N, Clavel-Chapelon F, Fagherazzi G, Perquier F, Kaaks R, Teucher B, Boeing H, Von RA, Tjonneland A, Olsen A, Dahm CC, Overvad K, Quiros JR, Gonzalez CA, Sanchez MJ, Navarro C, Barricarte A, Dorronsoro M, Khaw KT, Wareham NJ, Crowe FL, Key TJ, Trichopoulou A, Lagiou P, Bamia C, Masala G, Vineis P, Tumino R, Sieri S, Panico S, May AM, Bueno-de-Mesquita HB, Buchner FL, Wirfalt E, Manjer J, Johansson I, Hallmans G, Skeie G, Benjaminsen BK, Parr CL, Riboli E, Norat T (2012) Is concordance with World Cancer Research Fund/American Institute for Cancer Research guidelines for cancer prevention related to subsequent risk of cancer? Results from the EPIC study. Am J Clin Nutr 96:150–163
22. Thompson R, Bandera E, Burley V, Cade J, Forman D, Freudenheim J, Greenwood D, Jacobs D, Kalliecharan R, Kushi L, McCullough M, Miles L, Moore D, Moreton J, Rastogi T, Wiseman M (2008) Reproducibility of systematic literature reviews on food, nutrition, physical activity and endometrial cancer. Public Health Nutr 11:1006–1014
23. Wiseman M (2008) The second World Cancer Research Fund/American Institute for Cancer Research expert report. Food, nutrition, physical activity, and the prevention of cancer: a global perspective. Proc Nutr Soc 67:253–256
24. World Cancer Research Fund/American Institute for Cancer Research (2007) Food, nutrition, physical activity and the prevention of cancer: a global perspective. AICR, Washington DC
25. World Cancer Research Fund/American Institute for Cancer Research (2009) Policy and action for cancer prevention food, nutrition and physical activity: a global perspective. AICR, Washington DC
26. Zhang X, Spiegelman D, Baglietto L, Bernstein L, Boggs DA, Van den Brandt PA, Buring JE, Gapstur SM, Giles GG, Giovannucci E, Goodman G, Hankinson SE, Helzlsouer KJ, Horn-Ross PL, Inoue M, Jung S, Khudyakov P, Larsson SC, Lof M, McCullough ML, Miller AB, Neuhouser ML, Palmer JR, Park Y, Robien K, Rohan TE, Ross JA, Schouten LJ, Shikany JM, Tsugane S, Visvanathan K, Weiderpass E, Wolk A, Willett WC, Zhang SM, Ziegler RG, Smith-Warner SA (2012) Carotenoid intakes and risk of breast cancer defined by estrogen receptor and progesterone receptor status: a pooled analysis of 18 prospective cohort studies. Am J Clin Nutr 95:713–725

İnsanda Prostat Kanseri Nedeni Olarak Diyet

William G. Nelson, Angelo M. DeMarzo ve Srinivasan Yegnasubramanian

Özet

Asemptomatik prostat enflamasyonu ve prostat kanseri gelişmiş dünyadaki erkeklerde epidemik boyutlara ulaşmıştır. Hayvan deneylerinde fazla pişirilmiş etlerdeki heterosiklik aminler gibi diyet kaynaklı karsinojenler, başta östrojen olmak üzere seks steroid hormonları prostat kanserine aday etyolojiler olarak gösterilmektedir. Herbiri kronik veya reküran bir hal alabilen enflamatuar cevabı tetikleyerek epitel hücre hasarına yol açmaktadır. Bu ortamda prostat kanserinin prekürsor lezyonlarının ilkini temsil eden bir tür fokal atrofi olan proliferatif enflamatuar atrofinin (PİA) gelişimi kolaylaşmaktadır. Yüksek c-Myc ekspresyonu, kısalmış telomer segmentleri, GSTP1 gibi bazı genlerin epigenetik olarak sessizleştirilmesi, π-sınıfı glutatyon S-transferazın kodlanması gibi prostatik intraepitelyal neoplazi (PİN) ve prostat kanserinin tüm özelliklerini taşıyan hücreler içeren PİA lezyonları nadir olarak görülür. Devamında görülen gen translokasyonları/silinmeleri gibi genetik değişimler androjenle regüle olan genlerle (örn. TMPRSS2) ETS ailesine ait transkripsiyon faktörlerini şifreleyen genler arasında (örn. ERG1) füzyon transkriptleri oluşturarak PİN lezyonlarının oluşumuna yol açarak prostatik adenokarsinom hücrelerinin invazif karakteristiğini artırabilirler. Letal prostat kanserleri belirgin olarak bozulmuş genomlar ve epigenomlar içerirler. Diyet karsinojenlerinin ve/veya östrojenlerin etkisiyle yüzlerce geni etkileyen ve klonal evrimleşmeyi metastatik yayılım yoluyla yöneten epigenetik "facianın" bir parçası olarak ortaya çıkan epigenetik sessizleştirme iltihaplı mikroçevreye bir cevap olarak ortaya çıkıyor görünmektedir. İlk epigene-

W. G. Nelson (✉) · A. M. DeMarzo · S. Yegnasubramanian
Departments of Oncology, Pathology, and Urology, Sidney Kimmel Comprehensive Cancer Center, Johns Hopkins University School of Medicine, Weinberg Bldg 1100, 1650 Orleans Street, Baltimore, MD 21231, USA
e-mail: bnelson@jhmi.edu

V. Zappia et al. (eds.), *Advances in Nutrition and Cancer,*
Cancer Treatment and Research 159, DOI: 10.1007/978-3-642-38007-5_4,
© Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2014

tik facianın nedeni belirlenememiş olmasına rağmen, muhtemelen aşırı DNA metilasyonu veya histon modifikasyonunun yol açtığı kromatin yapının korunmasında defektler içermektedir. Gelişmiş ülkelerdeki diyet karsinojenlerinin ve östrojenlerin indüklediği prokarsinojenik enflamasyon varlığında, diyetle ilgili komponentlerin prostat kanserini azaltabileceği ile ilgili spekülasyonlar caziptir. Özellikle domates ve turpgillerin kronik ve reküran enflamatuar prosesleri düzeltebilme potansiyellerini de içeren meyve ve sebze kullanımı bunlara örnek olarak verilebilir. Nütrisyonel ajanlar PIA lezyonlarının gelişimini önleyebilir veya PIA lezyonlarının epigenom bozulması ile oluşan genetik facia eğilimini azaltabilirler.

Anahtar Kelimeler

Prostat · Proliferatif enflamatuar atrofi · Heterosiklik aminler · Epigenetik · DNA metilasyonu

Kısaltmalar

PSA	Prostat spesifik antijen
BPH	Benign prostat hiperplazisi
PIA	Proliferatif enflamatuar atrofi
PIN	Prostatik intraepitelyal neoplazi
PhIP	Fenilimidazopiridin
GST	Glutatyon S-transferaz
TLRs	Toll benzeri reseptörler
COX	Siklooksijenaz
NSAİD	Nonsteroid antienflamatuar ilaç

İçindekiler

1 Proliferatif Enflamatuar Atrofi: Prostat Kanseri ile İlişkili Epitel Hasarı 53
2 Diyet: Prostat Epitel Hasarına ve PİA'ya yol Açabilen Karsinojen Kaynağı 55
3 Prostat Epitel Hasarına, Prostat Enflamasyonuna ve PİA'ya Yol Açabilen Diyet Dışı Faktörler 57
4 Enflamasyon, PİA ve Prostat Kanserinin Moleküler Patojenezi 59
5 Prostat Kanserini Önlemede Rasyonel Girişimler 61
6 Özet ve Sonuçlar 63
Referanslar 64

Prostat kanseri ABD ve Batı Avrupa'daki erkeklerde en sık teşhis edilen kanser türüdür. Geçmişte dünyanın geri kalan kısmında nadir görülen prostat kanseri, Asya ülkeleri ile diğer birçok gelişmekte olan ülkede artmaya başlamıştır. Diyet ve hayat tarzının yaş, aile

hikayesi, seks steroidleri gibi faktörlerle beraber prostatik karsinogenezisde rol oynadığı uzun süredir düşünülmektedir [57]. Ancak daha yakın zamanda yapılan moleküler patoloji çalışmaları, prostat kanseri gelişiminin erken basamaklarında kronik ve reküran epitel hücre hasarı ile birlikte seyreden kalıtsal ve adaptif enflamatuar cevapların sorumlu olduğunu düşündürmektedir [18]. Çok pişirilmiş etlerde oluşan heterosiklik aminler gibi bu tür bir hasara yol açabilen diyet komponentlerinin prostat kanseri karsinojeni olma ihtimalleri ağır basmaktadır. Bazı diyet komponentleri de hücre ve genom hasarını sınırlayarak ve/veya prostat enflamasyonunu azaltarak prostat kanserinden korunmaya yardımcı olabilirler. Diyet komponentleri, genetik yatkınlık ve seks steroidlerinin epitel hasarına yol açmaları ve/veya enflamatuar prosesleri yönlendirmelerinin altında yatan mekanizmaların daha iyi anlaşılması prostat kanserinden korunmada, kanser tarama stratejilerinin gelişmesinde ve belki de tedavi sonuçlarının iyileştirilmesinde yeni fırsatlar sunabilir.

1 Proliferatif Enflamatuar Atrofi: Prostat Kanseri ile İlişkili Epitel Hasarı

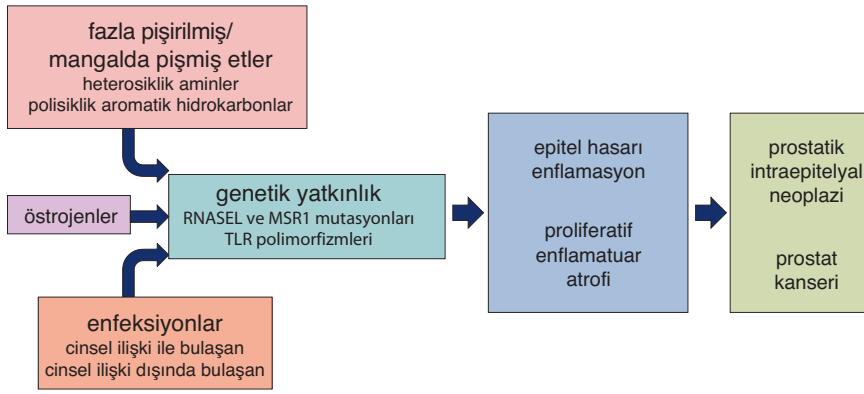
Dünyada prostat kanseri insidansının yüksek olduğu bölgelerde prostat enflamasyonu oldukça yaygın görülür [18]. Özellikle kanserin sık görüldüğü bölge olan periferik zonu etkileyen ve sıklıkla asemptomatik seyreden prostatitin serum prostatik antijeni (PSA) yükseltme özelliğinin olması nedeniyle prostat kanseri teşhisini yönlendirdiği (prostat kanserine yol açabilme eğiliminden bağımsız olarak) bilinmektedir. Enflamasyonlu prostatta, epitelin bariyer fonksiyonunun bozulması PSA gibi proteinleri de içeren prostat salgılarının geriye doğru akışına neden olur. Bu da salgıların prostat parankimine ve sonrasında da kan dolaşımına geçmesine yol açar. PSA'nın serumda tespiti prostat kanseri teşhisinde kullanılan prostat biyopsisini tetikler. Prostat enflamasyonu ABD'de her yıl gerçekleştirilen 30 milyon PSA testinden ve bir milyondan fazla biyopsiden sorumludur [36]. Bununla birlikte 40'lı yaşlar civarında serum PSA artışlarının görülmesi ilerleyen yaşlardaki prostat kanserinde artışla ilişkilidir [23, 24].

Prostat enflamasyonunun PSA düzeylerini artırma eğilimi popülasyon çalışmalarında prostatit ile prostat kanseri arasındaki ilişkinin test edilmesini büyük oranda zorlaştırmaktadır. Kanserle ilişkilendirme çalışmalarının sadece semptomatik prostatit ile sınırlandırılması da çok yardımcı olmamıştır. Semptomatik prostatit tipik olarak üretra yakınında benign prostat hiperplazisinin de (BPH) görüldüğü transizyon zonunda görülür. ABD'de her birinde PSA testi de uygulanan yıllık 2 milyon doktor başvurusuna yol açan irritatif idrar yapma problemleri yapar [50]. Sonuç olarak, epidemiyolojik çalışmalarda semptomatik prostatit ve prostat kanseri arasında tespit

edilen birçok korelasyonun, aslında prostatit hastalarına çok daha fazla biyopsi uygulanmasının yarattığı yanılgıdan (bias) kaynaklandığı düşünülmektedir [19]. Ayrıca semptomatik prostatit prostat kanserinin görüldüğü periferik zondaki enflamasyonu yansıtmadığı için, prostatitin prokarsinojenik enflamatuar prosesin zayıf bir göstergesi olduğu söylenebilir. Bu sınırlamaların üstesinden gelmek ve periferik zon enflamasyonunun prostat kanseri ile korele olup olmadığını anlayabilmek için serum PSA düzeyleri <3ng/ml olan asemptomatik hastalarda yapılan (finasterid ile) Prostat Kanseri Önleme Çalışmasının sonunda plasebo kullanan hastalardan alınan biyopsiler analiz edilmiştir [83]. Sonuçlarının yakın zamanda açıklanması beklenen çalışmanın prostattaki enflamasyonun kanser ile direkt olarak ilgili olup olmadığının kesin olarak anlaşılmasını sağlaması beklenmektedir.

Prostat enflamasyonunun en büyük nedeni diyet karsinojenleri, östrojenler ve enflamatuar oksidanların neden olduğu epitel hasarıdır [18]. Özellikle prostat kanseri olan prostat dokularının mikroskobik analizinde kronik olarak tekrarlanan doku hasarlarının ve yerleşik immün cevapların uzun süreli mevcudiyetleri ile ilgili kanıtlar bulunmuştur. Örneğin çok sayıda korpora amilasea, kalprotektin içeren mikroskobik lamine cisimler, miyeloperoksidaz ve nötrofil granüllerinden α-defensinler sıklıkla prostat bezi boyunca yaygın halde bulunurlar [71]. Bu cisimler akut enflamasyon sırasında nötrofil deşarjı ile oluşur ve enflamasyon hafifledikten sonra da kalırlar (kullanılmış mermi kovanları gibi). Sıçan prostat dokusunun prostat enflamasyonuna ve kanserine yatkın olması ve bol miktarda korpora amilasea içermesi de ilginçtir [32]. Prostat epiteli hasar gördüğünde dilate glandular lümenler ve immatür epitel hücreleri ile karakterize fokal atrofi lezyonları oluşur [16, 17]. Strese cevap olarak salgılanan α- ve π- sınıfı glutatyon S-transferazlar, siklooksijenaz-2 ve genom hasar savunması ve hücresel sağkalımla ilgili diğer medyatörlerin de indüklenmesi ile epitel hücreleri normal sekretuar hücre farklılaşma yolağı devre dışı kalmış gibi davranırlar [60, 86, 94]. Korpora amilasea ile çevrelenmiş fokal atrofik lezyonlar hücre ve organ hasarı olan prostat dokusunu işaretler ve prokarsinojenik bir ortam oluşur.

Prostattaki fokal atrofik tip hasar cevaplarından oluşan proliferatif enflamatuar atrofi (PİA) lezyonları (Şekil 1) enflamatuar hücrelerin çok yüksek epitel proliferasyonu ve infiltrasyon göstermeleri ile oluşur [67]. Epitel hasarına verilen cevabın tipi, diğer organlarda görülen atrofik gastrik, hepatit ve siroz gibi kanser oluşumuna yol açtığı bilinen bir dizi hastalıktaki cevapları andırır. PİA lezyonlarının prekürsor kanser lezyonları olarak prostatik intraepitelyal neoplaziye (PİN) ya da direkt olarak prostat kanserine yol açmaları şaşırtıcı değildir [64]. PİA gelişimine yol açan epitel hasarının prostat kanserini başlatabileceği yönündeki kanıtlar son dekadda artmıştır: (1) PİN ve prostat kanserinde görülenler ile tıpatıp aynı olan somatik genom ve epigenom defektlerinin bulunması, (2) PİA ve PİN ile PİA ve prostat kanseri arasında direkt morfolojik geçişlerin görülmesi, (3) PİN ve PİA lezyonlarındaki kanserde somatik genetik ve epigenetik değişimlerin sıklıkla gözlenmesi. Bunlar çoğunlukla normal ve neoplazi arasında bir derecededir, (4) prostat periferik zonundaki yüksek PİA lezyon prevalansının dünyada yüksek prostat kanseri



Şekil 1 Prostat kanserinin etyolojik faktörleri Prostat karsinogenezi, proliferatif enflamatuar atrofik lezyonlara yol açan prostat epitel hasarı, rejeneratif proliferasyon ve kronik/reküran enflamasyonu takip eder. c-Myc aktivasyonunun, telomer kısalmasının ve epigenetik aktivasyonun prostatik intraepitelyal neoplaziye ve prostat kanserine yol açabilme etkisi nedeniyle, bu lezyonlar, yeniden yapılanmış hedef genler, mutasyonlar ve ileri düzeyde bozulmuş epigenoma sahip hücrelerin oluşmasına neden olurlar.

riski olan bölgelerde görülmesi, (5) Diyet karsinojenlerini de içeren preklinik prostatik karsinogenez modellerinde kanserden önce PİA lezyonlarının ortaya çıktığının gösterilmiş olması [18].

Bozulmuş kalıtsal immün cevap ve doku hasarı cevabının takip ettiği prostat hasarı, diyetten prostat kanseri gelişimine kadar olan süreçleri de içeren ve çevresel maruziyetleri birbirine bağlayan bir yolak olabilir. Hem popüler çalışmalarda hem de moleküler patolojik analizlerde prostat enflamasyonu, PIA ve prostat kanseri arasındaki ilişki gayet nettir. Ancak diyet alışkanlıklarının ve diğer maruziyetlerin prostat kanseri oluşumuna yol açma mekanizmaları henüz tam olarak anlaşılamamıştır.

2 Diyet: Prostat Epitel Hasarına ve PİA'ya yol Açabilen Karsinojen Kaynağı

Prostat kanseri ile ilgili epidemiyoloji çalışmalarında diyetin prostat kanserini modüle eden majör bir faktör olduğu gösterilmiştir. Prostat kanseri insidansı ve mortalite çeşitli coğrafi bölgeler arasında farklılıklar gösterir. ABD ve Avrupa'da yüksek, Asya'da düşük prostat kanser riski mevcuttur. Ancak düşük riski bölgelerden yüksek riskli bölgelere göç edenlerdeki risk özellikler kültürel asimilasyonun etkisi ile tipik olarak artmaktadır [27, 73]. Bu durum muhtemelen diyet farklılıklarının yansımasıdır: Yüksek riskli bölgelerdeki diyet alışkanlıkları prostat kanseri riskini artırmakta ve/veya düşük riskli bölgelerdeki diyet alışkanlıkları bu riski azaltmaktadır. Detaylı incelemede prostat kanseri riskiyle kırmızı et ve/veya hayvan yağlarının tüketimi arasındaki ilişki, riski artıran

en tutarlı diyet faktörü olarak görünmektedir [26, 43]. Kırmızı etlerin yüksek ısılarda veya mangalda pişirilmesi ile aromatik amin ve polisiklik hidrokarbon yapısında karsinojenler oluşmaktadır [39, 44]. Bu pişirme alışkanlıkları prostat kanseri riskinde artış ile de ilişkili olup ABD'de yaşayan Afrika-Amerikalılardaki prostat kanseri gelişim riskinin beyazlara göre niçin daha fazla olduğunu da kısmen açıklayabilir [37, 82].

Bu karsinojenlerin en iyi araştırılmış olanı olan 2-amino-1-metil6-fenilimidazopiridin (PhIP), fazla pişirilen etlerde oluşabilen >20 heteroksiklik amin arasında en çok bulunanıdır [8, 85, 87]. Hayvan modellerinde PHIP alımının PİA ve prostat kanserine yol açtığı gösterilmiştir [74]. PhIP nontoksik ve nonmutajeniktir. Ancak aktivasyon sonrası ilk olarak karaciğerde veya diğer bölgelerde CYP1A1 veya CYP1A2 ile N-OH-PhIP'ye sonra da prostattaki epitel hücrelerinde sülfoniltransferaz veya kinaz fosfataz ile farklı reaktif türlere dönüşen PhIP, belirgin prostat epitel hasarı ve enflamatuar cevaplara yol açarak DNA ile promutajenik katım bileşikleri oluşturabilir [51]. Enflamatuar cevabın eşlik ettiği epitel hasarı sıçanlardaki PhIP prostat karsinogenezinin kritik bir özelliğidir. PhIP ile beslenen sıçanlardaki ventral, dorsolateral ve anterior prostat loblarında genom mutasyonları oluştuğu gösterilmiştir. Ancak epitel hücre hasarı, enflamasyon ve PİA sadece ventral loblarda oluşmaktadır [51]. Epidemiyolojik çalışmalarda kullanılan ve yemek hazırlama tercihleri ile ilgili sorular da içeren yemek yeme sıklığı anketleri ile kesin bir PhIP maruziyet tahmini yapmak zordur. Bu durum muhtemelen pişirme şekillerinin birçok heterosiklik amin oluşturmasından kaynaklanmaktadır. Ancak yine de sıklıkla et tüketen ve tam pişmiş, tavada kızartılmış veya ızgara olarak yemeyi tercih eden erkeklerdeki prostat kanseri riskinin artabileceği düşünülmektedir [15]. Daha güncel çalışmalarda ise P450 enzimleri, sülfoniltransferazlar ve UDP-glukuronid transferazları da içeren PhIP'leri metabolize eden enzimlerdeki germline varyantlarının çok pişirilmiş et tüketimine bağlı hasar ile ilişkili olabileceği gösterilmiştir. [40].

Et tüketiminin etkisi sadece prostat kanserinin başlangıç aşaması ile sınırlı olmayabilir. İnsandaki prostat kanserinin doğal gelişim süreci yıllar sürmektedir. ABD'de 20-30 yaşlarındaki bireylerde yapılan otopsi çalışmalarında bile küçük prostat kanserleri tespit edilebilmekte veya 60-70 yaşlarında lokalize kanser teşhisi koyulabilmektedir. Prostat kanserinden ölüm 70 yaş ve üstünde gerçekleşmektedir. Bu veri kronik PhIP alımının prostat kanseri patojenezini etkileyebilme potansiyeli için geniş bir fırsat penceresi sağlamaktadır. PhIP kullanılan sıçan modellerinde, karsinojen puberte esnasında kısa süreli uygulandıktan sonra aylar boyunca takip edilmiştir. PhIP'nin karsinogenezin sadece başlangıç ve erken evrelerinde etkili olduğu tespit edilmiştir [74]. Ancak insan prostat kanserinin patojenezinde en sık tespit edilen somatik gen defekti GSTP1'in epigenetik olarak sessizleştirilmesidir. Bu da π-sınıfı glutatyon S-transferaz (GST) ekspresyonunun kaybına yol açar. Bu fenotip PhIP'nin aracılığı ile gerçekleşen hücre ve genom hasarına belirgin olarak duyarlı olabilir [56]. İlk olarak PİA lezyonlarında görülen bu değişim prostat karsinom hücrelerinin metasatik diseminasyonu boyunca devam eder [52, 91]. Bu nedenle PhIP sadece PİA formasyonuna yol açan epitel hasarı yapmakla kalmayıp hücre ve genom hasarını birçok dekad boyunca destekleyerek malign prostat kanseri progresyonuna yol açabilir.

3 Prostat Epitel Hasarına, Prostat Enflamasyonuna ve PİA'ya Yol Açabilen Diyet Dışı Faktörler

Seks steroid hormonları, enfeksiyonlar ve kalıtsal faktörlerin prostat kanseri gelişiminde etkili oldukları düşünülmektedir. Testosteron ve dihidrotestosteron gibi android hormonlar ve androjen reseptörleri, prostat ve seminal vezikülleri de içeren aksesuar üreme glandlarının normal büyüme ve gelişimleri için gereklidir. Ancak androjenlerin tek başlarına prostat kanserine yol açtıklarını gösteren kanıtlar çok azdır. 21 yaşında en yüksek düzeye ulaşan androjen düzeyleri erişkin hayat boyunca düşmeye devam eder. Prostat kanseri de bu süreçte oluşur [66, 88]. ABD'deki Afrika-Amerikalı erkeklerde beyaz ırk ile benzer androjen düzeylerine karşın (yaşa göre düzeltilmiş) daha sık prostat kanseri görülür [66]. Ayrıca erişkin erkeklerde kolumnar epitelyal hücre fenotipinin terminal farklılaşması için androjen sinyali gerekir. Böylece PSA ve TMPRSS2 genlerinin transkripsiyon ve translasyonunun indüklenmesi ile ejakülattaki sekresyonların üretimi desteklenir. Androjenler bu etkileri ile epitel hücre proliferasyonunu baskılama eğilim gösterirler.

Androjen sinyalinin yerleşik prostat kanserlerinin progresyonunda önemli bir rol oynadığı kesindir. Bunun mekanizması androjenlerle regüle edilen TMPRSS2 gibi transkripsiyon genleri ve ETS transkripsiyon faktör ailesinden ERG ve ETV1 gibi onkojenlerden meydana gelen füzyon transkriptlerini oluşturan somatik genom translokasyonlarının ve silinmelerinin kazanımını kapsar [84]. Bu somatik gen defektlerine sahip olan prostat kanser hücreleri neoplastik fenotipin sürdürülebilmesi için gereken androjen sinyalini oluşturur. Bu durum ileri prostat kanserlerinin androjen deprivasyonuna veya antiandrojenlere sıklıkla verdiği cevapların mekanik temeli olabilir: Androjen sinyali ile etkileşim prostat kanser hücrelerindeki TMPRSS2-ERG veya diğer füzyon transkriplerinin düzeylerinde azalmaya yol açarak hücre büyümesini zayıflatır ve hücre sağkalımını sınırlar. Androjenlerin prostat kanserini başlatmaktan ziyade mevcut prostat kanserini etkiledikleri bilinmesine rağmen, yeni verilerde androjen hedef gen transkripsiyonunun başlatılmasının, DNA'daki düğümleri çözme yeteneği olan androjen reseptörü ile ilişkili TOP2B'nin TMPRSS2'deki sıklıkla translokasyonlar ve silinmeler ile ilişkili olan bölgelere yönlendirilmesi ile DNA çift sarmallarında kırılmalardan kaynaklanabileceğinin bildirilmesi dikkat çekicidir [28]. TMPRSS2-ERG füzyonlarına yol açan bu kırıkların PİA lezyonlarının oluşumundan sonra ortaya çıkmaları muhtemel olup, PİN hücrelerinin daha invazif karsinom hücreleri haline dönüşmelerini indükleme ihtimalleri mevcuttur. Topoizomerazlar sarmal geçişini sağlayabilmek amacıyla kırılma/tekrar birleşme reaksiyonlarını katalizleyerek DNA düğümlenmesini engellemektedirler. Bu enzimlerin tekrar birleşme reaksiyonlarını bozabilen ve rekombinojenik DNA çift sarmal kırıklarına yol açan birçok bileşiğe duyarlı oldukları bilinmektedir. Ancak diyet faktörlerinin, prostat kanseri patojenezinde TOP2B medyatörlüğünde oluşan DNA çift sarmal kırıklarından sorumlu olup olmadığı konusunda bilgi yoktur.

Östojenler androjenlerin aksine prostat epiteline hasar vererek prostat kanserinin erken evrelerinde rol oynayabilirler. Dünyadaki meme ve prostat kanserlerinin benzer dağılımı, östrojenlerin her iki hastalığa da neden olabileceği hipotezini doğurmuştur [14]. Kemirgen modelleri ile büyük oranda desteklenen bu hipotez östrojene maruziyetin hem prostat enflamasyonuna hem de prostat kanserine yol açabileceği öne sürülmektedir [59]. Erişkin erkek Wistar sıçanlarının 17ß-östradiole maruz bırakılmaları ile dihidrotestosteron uygulanıp uygulanmadığından bağımsız olarak prostat enflamasyonu gelişmesi örnek olarak verilebilir [55]. Neonatal dönemde östrojene maruz kalan erkek kemirgenler erişkinliğe ulaştıklarında prostatit görülmektedir [55, 75, 76]. Östrojenler kemirgen prostatında otoimmünite indüksiyonu ile enflamasyonu tetikleyebilirler. Çünkü 17ß-östradiol uygulanan erişkin erkek farelerden transer edilen adoptif T-hücreleri ile nonöstrojen uygulanan sıçanlarda prostatit indüklenebilir [69]. Östrojenlerin otoimmün prostat enflamasyonuna neden olma mekanizmaları henüz tam olarak anlaşılamamıştır. Ancak pitütier prolaktin sekresyonu, östrojenik hormonların prostattaki östrojen reseptör izoformları üzerinde farklı etkiler göstermeleri ve/veya östrojen redoks döngüsü ile reaktif oksijen türlerinin oluşumu gibi nedenleri kapsayabilir. Ayrıca erkeklerde büyük oranda yağ dokusundaki aromatazların androjenler üzerindeki etkisi sonucu oluşan östrojen düzeylerinin diyet alışkanlıkları ile ilişkisi henüz belirlenememiştir. Ancak, ABD'de daha yüksek prostat kanseri riski altındaki Afrika-Amerikalılardaki östrojen düzeylerinin beyaz ırka göre daha yüksek olma eğiliminde olduğu da dikkate alınmalıdır [66].

Prostat kanserine yol açan enfeksiyöz nedenlerin saptanması daha zordur. Prostat doku örneklerinde veya prostat sekresyonlarında birçok enfeksiyöz ajan tespit edilmiş olmasına rağmen, bunların hangilerinin gerçekten prostat hasarına yol açarak prostatın enflamatuar cevaplarını tetikledikleri henüz sistematik olarak tespit edilememiştir [70]. En iyi araştırılan enfeksiyonlar cinsel yolla bulaşanlardır. Gonore ve klamidya enfeksyonlarında prostattaki epitelyal bariyer fonksiyonunun bozulduğunu gösteren serum PSA düzeylerinin artışı vakaların en az %32'sinde mevcuttur [78]. Efektif antibiyotik tedavisi sonrasında, kronik epitel hasarı ve disfonksiyonunun göstergesi olan PSA düzeylerinin aylar boyunca yüksek seyretmesi dikkat çekicidir. Bu bulgu popülasyon çalışmalarında erken yaşta serum PSA yüksekliği ve/veya cinsel yolla bulaşan hastalık hikayesi olanlarda artan prostat kanseri riski ile uyumludur [23, 24, 79]. Bu durum kohort çalışmalarında prostat kanserinin enfeksiyöz etyolojilerinin araştırılmasını komplike hale getirmektedir. Prostat enfeksiyonu genç erkeklerde prostat epitel hasarı oluşturarak, yaşla birlikte kalıcı kolonizasyon olmaksızın PİA ve kronik prostat enflamasyonuna yol açabiliyorsa, hangi enfeksiyöz patojenin bu "vur ve kaç" fenomenine yol açtığını tespit etmek çok güçtür. Ancak kemirgen prostatlarına direkt bakteri veya virüs inokülasyonu ile belirgin enflamatuar cevaplar ve devamında prostat kanserinin prekürsor lezyonları tetiklenmektedir [21, 22].

Ayrıca prostat kanseri gelişimi ile ilgili kalıtsal yatkınlık yerleşik enflamatuar cevapların aktivasyonunu ve yoğunluğunu yönlendiren genlerin varlığı ile açıklanabilir. Bu genlerden ikisi olan RNASEL ve MSR1'in prostat kanseri ile ilişkili bazı ailesel kümelerden sorumlu olduğu düşünülmektedir [11, 90]. RNASEL viral enfeksiyon veya diğer hücre hasarına yol açan stresler ile aktive olan, interferon ile indüklenen RNA yıkım

yolağında rol alan bir ribonükleazı kodlar; MSR1 ise bakteryel liposakarid ve lipoteikoik asidi bağlayan makrofaj süpürücü bir reseptörün alt ünitelerini kodlar. Farelerde her iki proteinin fonksiyonlarının kaybı çeşitli enfeksiyonları tam olarak temizleyebilme yeteneğinin azalmasına yol açar [80, 86]. Popülasyon çalışmalarında prostat kanseri ile TLR ve TLR1-TLR6-TLR10 kümesi gibi toll benzeri reseptörleri kodlayan genlerin polimorfik varyantları arasında oldukça tutarlı ilişkiler tespit edilmiştir [77, 95]. Birçok patojen türünü ve/veya hasarlı hücre komponentlerini bağlayabilen TLR'ler, NF-jB sinyali ile etki göstererek güçlü kalıtsal immün cevapları desteklerler [12].

Diyet ile ilişkili etkilerin yokluğunda, östrojen ve enfeksiyonların PİA'ya yol açabilen prostat epitel hasarına neden oldukları gözlenmiş olsa da, bu süreçlerin her biri dünyada prostat kanseri riskinin yüksek olduğu bölgelerdeki diyet alışkanlıklarından etkilenmiş olabilir. Yağ dokusu fazla olan erkeklerdeki östrojen miktarının daha yüksek olma eğilimi vardır. Enfeksiyon veya enfeksiyonlara karşı kolonizasyon direnç kaynağı olan mikrobiyomlar, diyet alışkanlıklarına bağlı olarak büyük değişiklikler göstermektedirler. Diyet, östrojen ve enfeksiyonların prostat hasarına yol açma eğilimlerini etkileyerek prostat kanserini indirekt olarak destekleyebilir. Benzer şekilde diyetle alınan heterosiklik aminlerin yol açtıkları prostat hasarının derecesi de muhtemelen, konağın prostat enfeksiyonlarına verdiği cevabın yoğunluğunu regüle eden aynı genetik faktörler tarafından belirlenmektedir. RNASEL hem insan RNA'sını hem de viral RNA'yı degrade ederek apoptoza yol açabilir [89]. MSR1 serumdaki okside düşük dansiteli lipoproteinlerin temizlenmesine yardım eder [41]. TLR'ler hasarlı insan hücre komponentleri tarafından aktive edilir [12]. Bu nedenle, diyetin insandaki prostat kanserinin gelişimi üzerinde direkt ve indirekt etkilere sahip olması muhtemeldir.

4 Enflamasyon, PİA ve Prostat Kanserinin Moleküler Patojenezi

Hayatı tehdit eden prostat kanseri hücreleri 3866 mutasyon (20 sessiz olmayan gen kodlayan mutasyon), 108 yeniden yapılanma, 5408 DNA hipermetilasyon bölgesi, kısalmış telomer sekansları ve aktive olmuş c-Myc protein içerirler [7, 58, 92]. Somatik mutasyonların, prostatik karsinogenezi tetikleyen tek bir faktörü veya bir karsinojenin diğer bir karsinojene göre daha tutarlı bir genetik kod değişimine yol açtığını işaret etmemeleri ilginçtir. Bunun yerine gen tamir anormalliklerinden ve/veya promutajenik tedavilerin kullanımından etkilenen bireysel kanserlerdeki mutasyonların, zaman içinde akümüle oldukları düşünülmektedir. Daha tutarlı somatik defektler yukarıda tanımlanan translokasyonlardan kaynaklanır. Özellikle TMPRSS2-ERG gibi kanser genlerine tutunan androjen sinyal gen hedeflerini içeren ve androjen etkisine cevap olarak oluşan transkripsiyon hatalarının başlatılmasına yol açarak TOP2B ile ilişkili DNA çift sarmal kırıklarına yol açanlar önemlidir [28]. PİN lezyonlarında oluştuğu düşünülen somatik genom defektleri muhtemelen karsinomun invazif karakteristiğinden sorumludur. Prostat kanser hücrelerindeki tüm somatik değişimler arasında en tutarlısı ve en erken ortaya çıkanının epigenetik gen sessizleştirmesi, telomer kısalması ve c-Myc indüksiyonu olduğu düşünülmektedir [58].

Genleri regüle eden sekanslardaki DNA metilasyonunun artması ile ortaya çıkan gen sessizleştirilmesi insanda prostat kanserini başlatabilen bir olay olmaya adaydır. Örnek vermek gerekirse, p-sınıfı GST kodlayan ve oksidan ve karsinojenleri detoksifiye eden bir enzim olan GSTP1'in, PİA lezyonlarının %5-10'unda epigenetik olarak sessizleştirildiği bulunmuştur [9, 52, 58]. GSTP1'in sessizleştirilmesi, genin 50 regüle edici bölgesindeki yeni bir DNA hipermetilasyonuna atfedilmiştir [45]. DNA metilasyonu potansiyel olarak reversibl olduğu için DNA sekansı bozulmadan korunur; prostat kanserinin progresyonu sırasındaki GSTP1 inaktivasyonunun inatçı bir şekilde devam etmesi prostatik karsinogenezin selektif büyüme veya sağkalım avantajının öncül kanıtıdır. Bu selektif avantajın mekanizması henüz anlaşılmamıştır. GSTP1'in karsinogenez esnasındaki gen fonksiyonunun genel bir koruyucusu olduğu kesindir. GSTP1'siz insan prostat kanser hücreleri, hücre ve genom hasarına yol açan PhIP'yi daha kolay aktive ederken, bozulmuş Gstp 1/2 genleri taşıyan farelerde (normal farelere göre) topikal karsinojenlere yanıt olarak daha fazla cilt tümörü görüldüğü ve yoğun enflamasyon varlığında daha fazla intestinal tümör oluştuğu tespit edilmiştir [30, 65]. Pbc-Myc transgenlerini taşıyan ve prostat kanseri gelişen fareler seçilmiş fenotip için bir ipucu olabilir [33]. Ön veriler bu farelerdeki p-sınıfı GST fonksiyon kaybının hızlanmış prostat karsinogenezini tetiklediğini düşündürmektedir.

GSTP1 muhtemelen prostatik karsinogenez sırasında epigenetik olarak sessizleştirilen ve bazı proseslerle prostat enflamasyonu ve PİA ile ilişkilendirilen birçok genden birisidir [58]. Bu genlerin prostatın enflamasyonlu mikroortamındaki veya kanser gelişebilen diğer organlardaki epigenetik sessizleştirilmelerinin mekanizması şu ana kadar maalesef anlaşılamamıştır. Ancak yine de enflamasyon ve epigenetik sessizleştirmenin epitelyal karsinogenezin erken basamaklarına katkı yapan majör faktörler oldukları düşünülmektedir. Prostattaki PİA lezyonlarına ek olarak, enflamatuar barsak hastalığı, hepatit, gastrit ile ilgili net örnekler bu görüşü desteklemektedir [81]. Enflamasyonlu mikroçevre, epigenetik gen sessizleştirmeyi ve anormal DNA metilasyonunu desteklediği varsayılmaktadır. Bunu kromatin yapısının regülasyonunu etkileyerek, DNA metilasyon paterninin korunmasını bazı belirli gen bölgelerindeki aşırı metilasyonu desteklemek suretiyle engelleyerek veya hem kromatin yapısını hem de DNA metilasyonunun sürdürülmesini bozarak sağlamaktadır. İntestinal tümörijenezi araştıran bir fare modelinde enflamasyonlu dokulardaki 250 gen lokusunda yeni DNA metilasyon değişimleri tespit edilmiştir. Bu genlerin %70'inin represyona yol açan polikomb kompleksler tarafından hedef alındığı bilinmektedir [29]. Bu gözlem polikomb kompleks represyonunun, proneoplastik enflamasyon varlığında yeni DNA metilasyon değişimlerinde rol oynayan faktörlerden biri olduğunu düşündürmektedir. Bu tür bir mekanizmadaki DNA metilasyonu polikomb kompleks represyonunu, epigenetik gen sessizleştirmesini sürdürebilmek için bir şekilde sağlamlaştırır. Tamamlayıcı olduğu düşünülen bir mekanizmada rol oynayan enflamatuar sitokin interlökin 1b'nin DNA metiltransferazın aşırı aktivasyonuna yol açan nitrik oksit üretimini destekleyerek belirli bazı hücrelerde gen sessizleştirilmesini tetiklediği bulunmuştur [31]. Prostattaki PİA lezyonlarındaki epigenetik faciayı yöneten mekanizmalar net olarak anlaşılamamıştır. GSTP1'in ekspresyonu, stres yanıtı oluşturan diğer genlerle birlikte PİA lezyonlarında yüksek derecede indüklenme

eğilimindedir. Sadece az sayıda PİA hücresinde GSTP1 ekspresyonu ve yeni metilasyon görülmez [52]. Bu nedenle transkripsiyonal transaktivasyona rağmen epigenetik sessizleştirme ve DNA metilasyonu oluşmak zorundadır.

DNA metilasyonuna ek olarak ortaya çıkan telomer kısalması ve cMyc proteininin aşırı ekspresyonu, insan prostat karsinogenezine sıklıkla eşlik ederler [33, 49]. Telomeraz enzimindeki 50-TTAGGG-30 sekansının ~2000 tekrarını içeren özel yapılar olan kromozom telomerleri, replikasyon sırasında DNA sarmal sentezindeki gecikmelere bağlı DNA sekans kaybını ve uygun olmayan rekombinasyonları azaltma görevi yaparlar [48]. Telomeraz enziminin veya bir tür telomer sekans hasarının kritik bir göstergesi olan kısa telomerler PİN lezyonlarının ve prostat kanser hücrelerinin özelliğidir [49]. Kısa telomer sekanslarının aynı zamanda hepatit ve enflamatuar barsak hastalığı ile de ilgili olabileceği akılda tutulmalıdır [2, 38]. Enflamasyon bölgelerindeki oksidanların prostattaki telomerlere hasar verebilme ve kısaltabilmeleri de mümkündür. İnsan prostat kanser hücrelerinde de yaygın olarak rastlanan c-Myc ekspresyonu farelerdeki prostat tümörijenezini de yönlendirebilir: Fare prostatındaki forse cMyc ekspresyonu ile nükleer ve nükleolar boyutları artmış, farklılaşması bozulmuş ve prostata spesifik homeodomain transkripsiyon faktörü ve tümör supresörü olan Nkx3.1'in ekspresyonu azalmış neoplastik hücrelerin oluştuğu tespit edilmiştir [33]. c-Myc'nin aşırı ekspresyonunun, telomer kısalması gibi enflamatuar ortamdan etkilenme ihtimali vardır. Defektif Apc geni taşıyan fareler intestinal mikrofloradaki TLR ligandlarına maruz kaldıkları için c-Myc fosforilasyonu ve stabilizasyonu ile karakterize tümörijenezise eğilimlidirler [42].

Doku ve hücre hasarına cevap olarak oluşan PİA lezyonları, enflamatuar lezyonların indüklenmesi ve diyet karsinojenlerine ve östrojenlerine maruz kalma sonucu prostat kanserine dönüşebilir. PİA lezyonlarında en erken stereotipik moleküler olaylar olan epigenetik gen sessizleştirilmesi, telomer kısalması ve c-Myc aktivasyonu görülür. Ancak bu moleküler olaylara yol açan kesin mekanizmalar tam olarak açıklanamamıştır. Her biri farklı bir nedenden kaynaklanabilir ya da diyet karsinojenleri veya enflamatuar cevap gibi hasar verici olaylardan en azından kısmen etkilenebilirler. Prostat karsinogenezi bu yolla bir çok organdaki maruziyete bağlı kanser gelişimine benzer bir seyir gösterebilir.

5 Prostat Kanserini Önlemede Rasyonel Girişimler

Gelişmiş ülkelerdeki prostat kanseri epidemisi kronik prostat enflamasyonuna yol açabilen diyet karsinojenlerine ve/veya östrojenlere maruziyet ile açıklanabilir. Prostat kanserinin önlenmesindeki rasyonel yaklaşım şunları içermelidir: (1) Maruziyetlerin engellenmesi, (2) Karsinojenler tarafından oluşturulan prostat hücre ve doku hasarının hafifletilmesi, ve/veya (3) Prostattaki enflamasyonun yoğunluk ve süresinin azaltılması. Bu yaklaşımları destekleyen epidemiyolojik ve klinik çalışma verilerinin ortaya çıkıyor olması sürpriz değildir.

Diyette bulunan heterosiklik aminlere maruziyetin azaltılması sadece bireylerin aşırı pişmiş et tüketmeme yönünde eğitilmesinden değil, aynı zamanda yemek pişirme şe-

killerinin toplum bazında modifiye edilmesinden de geçmektedir. Buharda ve mikrodalgada pişirme ve marine etme yöntemlerinin, daha az heterosiklik amin oluşumunda yağda kızartma, mangal ve kızartma yağının tekrar kullanımı gibi yöntemlerden daha faydalı olduğu bilinmektedir [85]. Uygun önlemlerle birlikte, pişmiş olarak satılan gıdalardaki heterosiklik amin içeriğinin ölçülmesi restoran ve marketlerin daha güvenli pişirme şekillerine yönelmelerini sağlayabilir. Bu ortam sağlanana kadar, fazla pişirilmiş etlerin devam eden tüketimine rağmen, karsinojenlere bağlı prostat hasarının azaltılması mümkün olabilir. PhIP gibi heterosiklik amin yapısındaki karsinojenlerin hücre ve genom hasarını tetikleyebilmeleri için metabolizma tarafından aktive edilmeleri gerektiği için, karsinogenezin azaltımı için biyoaktivasyonun engellenmesi cazip bir strateji olabilir. Keap1-Nrf2 yolağını aktive eden faz 2 metabolik enzim ekspresyonu indükleyicilerinden zengin diyetler hayvan modellerindeki karsinojen hasarı genel olarak azaltırlar. Ayrıca epidemiyolojik çalışmalarda insan prostat kanseri riskini de azaltırlar [1, 13, 20]. İzotiosiyanat sulforafan gibi en fazla faz 2 metabolik enzim indükleyici içeren gıdalar turpgillerden brokoli, brüksel lahanası, karnıbahar ve diğerleridir. İnsan gönüllülerde yapılan bir çalışmada pişmiş et yemeği tüketimine cevap olarak oluşan PhIP'nin DNA'ya eklenmesinin turpgiller tarafından engellendiği bildirilmiştir [88]. Östrojene maruziyetin azaltılması daha zordur. Östrojenler yağ dokusunda aromataz ve androjenlerin etkisi ile üretilir. Bu ABD ve diğer gelişmiş ülkelerdeki artan obezite epidemisi göz önüne alındığında endişe verici bir gelişmedir. Afrika-Amerikalı erkeklerdeki östrojen düzeylerinin (androjen düzeyleri benzerdir) beyaz erkeklerden daha yüksek olması nedeniyle prostat kanseri riski daha yüksektir [66]. Obezitenin kontrol altına alınması muhtemelen prostat kanseri riskinde azalmaya yol açacaktır.

Prostat kanserini önlemede kullanılan antienflamatuar yaklaşımlardan farklı sonuçlar alınmıştır. Kronik ve reküran enflamasyon, hücre ve doku hasarına yol açabilen reaktif oksijen ve nitrojen türlerinin oluşmasına neden olabilir [3, 34]. Bu nedenle diyetle alınan antioksidan ve antienflamatuar ajanların (PİA lezyonları oluşmuş olsa bile) prostat hücrelerini süregelen hasardan koruyabilmesi mümkündür. Örneğin Asya'da daha sık ve bol miktarda tüketilen soya gibi diyet komponentlerinin prostatla ilgili antienflamatuar etkileri olması mümkündür; soyadan zengin diyetlerin sıçan modellerindeki prostat enflamasyonunu azalttığı gösterilmiştir [72]. Ayrıca gelişmiş ülkelerdeki kohortlara odaklanan prostat kanser epidemiyolojisi çalışmalarında, vitamin E, selenyum, domatesteki likopenler gibi bir dizi antioksidan mikrobesinin yetersiz alımının prostat kanseri riskinde artışa yol açmasının kuvvetle muhtemel olduğunu bildirilmektedir [10, 25, 93]. Ancak yakın zamanda yapılan SELECT çalışmasında (Selenyum ve Vitamin E Kanser Önleme Araştırması) sadece selenyumun (risk oranı (HR) 1.04; %99 güven aralığı; 0.87–1.24) veya sadece E vitamininin (risk oranı (HR) 1.13; %99 güven aralığı; 0.95–1.35) ya da her ikisinin kombinasyonunun (risk oranı (HR) 1.05; %99 güven aralığı; 0.88–1.25) prostat kanseri insidansını azaltmadığı gösterilmiştir [46]. Bu çalışmanın halen antioksidan tüketimi yetersiz (ya da yeterli) olan erkeklerde yapılıp yapılmadığı belirtilmemiştir.

Diyet ve antienflamatuar ilaçlar prostat kanseri riskini azaltmakta farklı bir strateji sunabilirler [6]. Aspirini de içeren siklooksijenaz (COX) inhibitörleri ve nonsteroid an-

tienflamatuar ilaçlar (NSAİD'ler) insanlardaki bir çok kanserin insidansında ve mortalitesinde azalma ile ilişkilidir [5]. Bu ilaçlar nadir de olsa gastrointestinal kanama ve kardiyovasküler olaylara yol açtıkları için kanserin önlenmesinde ne yazık ki yaygın olarak kullanılmazlar. Bu ilaçların prostat kanserine karşı koruma amaçlı kullanılmaları birçok probleme neden olmuştur. Selekoksib ve rofekoksibi de içeren selektif COX-2 inhibitörleri ile (kemirgen prostat kanseri modellerinde ümit verici olmakla beraber) şu ana kadar yapılan insan çalışmalarında özel bir etki tespit edilememiştir [4, 53, 54]. İnsan ve kemirgenler arasındaki farklardan birisi, insanlardaki COX-2'yi kodlayan PTGS2'nin hemen tüm prostat kanserlerinde genetik olarak sessizleştirilmiş olması olabilir. Bu durum kemirgenler için geçerli değildir [91, 94]. COX inhibitörlerinin prostat kanseri riskinin azaltılmasındaki etkinliği ile ilgili veriler zayıf olmasına rağmen, düzenli aspirin kullanımı ile prostat kanseri arasında tutarlı bir ters korelasyon tespit edilmiştir [35, 47, 61]. Bu potansiyel faydanın aspirinin nonselektif COX inhibisyonundan mı yoksa diğer antienflamatuar etkilerinden mi kaynaklandığı henüz çözülememiştir. Antienflamatuar etkilerde gösterebilen statinlerin prostat kanseri riskindeki azalma ile ilişkili bulunmuş olması da henüz tam olarak açıklanamamıştır [62, 63].

6 Özet ve Sonuçlar

Diyetteki karsinojenlere veya aşırı östrojen miktarına ya da her ikisine de cevap olarak ortaya çıkan prostat epitel hasarı gelişmiş ülkelerdeki prostat karsinogenezinin epidemik düzeye ulaşmasına katkı yapmaktadır. Bu patojenez mekanizmanın PİN ve prostat kanserinin öncü lezyonu olan PİA'nın oluşumunda devreye girdiği bulunmuştur. PİA lezyonlarındaki hücrelerin süregelen enflamatuar streslere rağmen prostat epitelini rejenere etmeye çalışırlar. Bu hücrelerin GSTP1'in sessizleştirilmesi, yeni DNA metilasyonu, telomer kısalması ve c-Myc aktivasyonunu ile tespit edilen epigenom hasarından muzdarip oldukları düşünülmektedir. Bu hücrelerdeki androjen sinyali, prostat kanseri farklılaşma genlerinin lokuslarındaki TOP2B bağlanma bölgelerinde androjen tutulumu ile aktive olur. Bu da malign prostat kanser progresyonunu indükleyen TMPRSS2-ERG gibi gen transkript füzyonlarının oluşumuna yol açar. Toplum bazındaki diyet alışkanlıklarına odaklanarak pişirme yöntemlerinin değiştirilmesi ile karsinojen üretimi kısıtlanabilir. Turpgillerin tüketimlerinin artırılması ile karsinojen biyoaktivasyonu, antienflamatuar ve antioksidan mikrobesinlerin tüketimlerinin artırılması ile de prostat enflamasyonu azaltılarak prostat kanserinin toplumsal yükünün azaltılmasına katkı yapılabilir.

Referanslar

1. Ahn YH, Hwang Y, Liu H et al (2010) Electrophilic tuning of the chemoprotective natural product sulforaphane. Proc Natl Acad Sci USA 107:9590–9595

2. Aikata H, Takaishi H, Kawakami Y et al (2000) Telomere reduction in human liver tissues with age and chronic inflammation. Exp Cell Res 256:578–582
3. Ames BN, Gold LS, Willett WC (1995) The causes and prevention of cancer. Proc Natl Acad Sci USA 92:5258–5265
4. Antonarakis ES, Heath EI, Walczak JR et al (2009) Phase II, randomized, placebo-controlled trial of neoadjuvant celecoxib in men with clinically localized prostate cancer: evaluation of drug-specific biomarkers. J Clin Oncol 27:4986–4993
5. Bardia A, Ebbert JO, Vierkant RA et al (2007) Association of aspirin and nonaspirin nonsteroidal anti-inflammatory drugs with cancer incidence and mortality. J Natl Cancer Inst 99:881–889
6. Bardia A, Platz EA, Yegnasubramanian S et al (2009) Anti-inflammatory drugs, antioxidants, and prostate cancer prevention. Curr Opin Pharmacol 9:419–426
7. Berger MF, Lawrence MS, Demichelis F et al (2011) The genomic complexity of primary human prostate cancer. Nature 470:214–220
8. Bordas M, Moyano E, Puignou L et al (2004) Formation and stability of heterocyclic amines in a meat flavour model system. Effect of temperature, time and precursors. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci 802:11–17
9. Brooks JD, Weinstein M, Lin X et al (1998) CG island methylation changes near the *GSTP1* gene in prostatic intraepithelial neoplasia (PIN). Cancer Epid Biom Prev 7:531–536
10. Brooks JD, Metter EJ, Chan DW et al (2001) Plasma selenium level before diagnosis and the risk of prostate cancer development. J Urol 166:2034–2038
11. Carpten J, Nupponen N, Isaacs S et al (2002) Germline mutations in the ribonuclease L gene in families showing linkage with HPC1. Nat Genet 30:181–184
12. Caruso C, Balistreri CR, Candore G et al (2009) Polymorphisms of pro-inflammatory genes and prostate cancer risk: a pharmacogenomic approach. Cancer Immunol Immunother 58:1919–1933
13. Cohen JH, Kristal AR, Stanford JL (2000) Fruit and vegetable intakes and prostate cancer risk. J Natl Cancer Inst 92:61–68
14. Coffey DS (2001) Similarities of prostate and breast cancer: evolution, diet, and estrogens. Urology 57:31–38
15. Cross AJ, Peters U, Kirsh VA et al (2005) A prospective study of meat and meat mutagens and prostate cancer risk. Cancer Res 65:11779–11784
16. De Marzo AM, Marchi VL, Epstein JI et al (1999) Proliferative inflammatory atrophy of the prostate: implications for prostatic carcinogenesis. Am J Pathol 155:1985–1992
17. De Marzo AM, Platz EA, Epstein JI et al (2006) A working group classification of focal prostate atrophy lesions. Am J Surg Pathol 30:1281–1291
18. De Marzo AM, Platz EA, Sutcliffe S et al (2007) Inflammation in prostate carcinogenesis. Nat Rev Cancer 7:256–269
19. Dennis LK, Lynch CF, Torner JC (2002) Epidemiologic association between prostatitis and prostate cancer. Urology 60:78–83
20. Dinkova-Kostova AT, Talalay P (2008) Direct and indirect antioxidant properties of inducers of cytoprotective proteins. Mol Nutr Food Res 52(Suppl 1):S128–S138
21. Elkahwaji JE, Zhong W, Hopkins WJ et al (2007) Chronic bacterial infection and inflammation incite reactive hyperplasia in a mouse model of chronic prostatitis. Prostate 67:14–21
22. Elkahwaji JE, Hauke RJ, Brawner CM (2009) Chronic bacterial inflammation induces prostatic intraepithelial neoplasia in mouse prostate. Br J Cancer 101:1740–1748
23. Fang J, Metter EJ, Landis P et al (2001) Low levels of prostate-specific antigen predict long-term risk of prostate cancer: results from the Baltimore longitudinal study of aging. Urology 58:411–416
24. Gann PH, Hennekens CH, Stampfer MJ (1995) A prospective evaluation of plasma prostate-specific antigen for detection of prostatic cancer. JAMA 273:289–294

25. Gann PH, Ma J, Giovannucci E et al (1999) Lower prostate cancer risk in men with elevated plasma lycopene levels: results of a prospective analysis. Cancer Res 59:1225–1230
26. Giovannucci E, Rimm EB, Colditz GA et al (1993) A prospective study of dietary fat and risk of prostate cancer [see comments]. J Natl Cancer Inst 85:1571–1579
27. Haenszel W, Kurihara M (1968) Studies of Japanese migrants. I. Mortality from cancer and other diseases among Japanese in the United States. J Natl Cancer Inst 40:43–68
28. Haffner MC, Aryee MJ, Toubaji A et al (2010) Androgen-induced TOP2B-mediated double-strand breaks and prostate cancer gene rearrangements. Nat Genet 42:668–675
29. Hahn MA, Hahn T, Lee DH et al (2008) Methylation of polycomb target genes in intestinal cancer is mediated by inflammation. Cancer Res 68:10280–10289
30. Henderson CJ, Smith AG, Ure J et al (1998) Increased skin tumorigenesis in mice lacking pi class glutathione S- transferases. Proc Natl Acad Sci USA 95:5275–5280
31. Hmadcha A, Bedoya FJ, Sobrino F et al (1999) Methylation-dependent gene silencing induced by interleukin 1beta via nitric oxide production. J Exp Med 190:1595–1604
32. Isaacs JT (1984) The aging ACI/Seg versus Copenhagen male rat as a model system for the study of prostatic carcinogenesis. Cancer Res 44:5785–5796
33. Iwata T, Schultz D, Hicks J et al (2010) MYC overexpression induces prostatic intraepithelial neoplasia and loss of Nkx3.1 in mouse luminal epithelial cells. PLoS ONE 5:e9427
34. Jackson AL, Loeb LA (2001) The contribution of endogenous sources of DNA damage to the multiple mutations in cancer. Mutat Res 477:7–21
35. Jacobs EJ, Rodriguez C, Mondul AM et al (2005) A large cohort study of aspirin and other nonsteroidal anti-inflammatory drugs and prostate cancer incidence. J Natl Cancer Inst 97:975–980
36. Jemal A, Siegel R, Ward E, Hao Y, Xu J, Thun MJ (2009) Cancer statistics, 2009. CA Cancer J Clin 59:225–249
37. Kidd LC, Stillwell WG, Yu MC et al (1999) Urinary excretion of 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine (PhIP) in White, African–American, and Asian–American men in Los Angeles county. Cancer Epidemiol Biomarkers Prevent 8:439–445
38. Kinouchi Y, Hiwatashi N, Chida M et al (1998) Telomere shortening in the colonic mucosa of patients with ulcerative colitis. J Gastroenterol 33:343–348
39. Knize MG, Salmon CP, Mehta SS et al (1997) Analysis of cooked muscle meats for heterocyclic aromatic amine carcinogens. Mutat Res 376:129–134
40. Koutros S, Berndt SI, Sinha R et al (2009) Xenobiotic metabolizing gene variants, dietary heterocyclic amine intake, and risk of prostate cancer. Cancer Res 69:1877–1884
41. Krieger M, Herz J (1994) Structures and functions of multiligand lipoprotein receptors: macrophage scavenger receptors and LDL receptor-related protein (LRP). Annu Rev Biochem 63:601–637
42. Lee SH, Hu LL, Gonzalez-Navajas J et al (2010) ERK activation drives intestinal tumorigenesis in Apc(min/+) mice. Nat Med 16:665–670
43. Le Marchand L, Kolonel LN, Wilkens LR et al (1994) Animal fat consumption and prostate cancer: a prospective study in Hawaii. Epidemiology 5:276–282
44. Lijinsky W, Shubik P (1964) Benzo(a)pyrene and other polynuclear hydrocarbons in charcoal-broiled meat. Science 145:53–55
45. Lin X, Tascilar M, Lee W-H et al (2001) *GSTP1* CpG island hypermethylation is responsible for the absence of GSTP1 expression in human prostate cancer cells. Am J Pathol 159:1815–1826
46. Lippman SM, Klein EA, Goodman PJ et al (2009) Effect of selenium and vitamin E on risk of prostate cancer and other cancers: the selenium and vitamin E cancer prevention trial (SELECT). JAMA 301:39–51
47. Mahmud S, Franco E, Aprikian A (2004) Prostate cancer and use of nonsteroidal anti-inflammatory drugs: systematic review and meta-analysis. Br J Cancer 90:93–99
48. Maser RS, DePinho RA (2002) Connecting chromosomes, crisis, and cancer. Science 297:565–569

49. Meeker AK, Hicks JL, Platz EA et al (2002) Telomere shortening is an early somatic DNA alteration in human prostate tumorigenesis. Cancer Res 62:6405–6409
50. Murphy AB, Macejko A, Taylor A et al (2009) Chronic prostatitis: management strategies. Drugs 69:71–84
51. Nakai Y, Nelson WG, De Marzo AM (2007) The dietary charred meat carcinogen 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine acts as both a tumor initiator and promoter in the rat ventral prostate. Cancer Res 67:1378–1384
52. Nakayama M, Bennett CJ, Hicks JL et al (2003) Hypermethylation of the human glutathione S-transferase-pi gene (GSTP1) CpG island is present in a subset of proliferative inflammatory atrophy lesions but not in normal or hyperplastic epithelium of the prostate: a detailed study using laser-capture microdissection. Am J Pathol 163:923–933
53. Narayanan BA, Condon MS, Bosland MC et al (2003) Suppression of N-methyl-N-nitrosourea/testosterone-induced rat prostate cancer growth by celecoxib: effects on cyclooxygenase-2, cell cycle regulation, and apoptosis mechanism(s). Clin Cancer Res 9:3503–3513
54. Narayanan BA, Narayanan NK, Pittman B et al (2004) Regression of mouse prostatic intraepithelial neoplasia by nonsteroidal anti-inflammatory drugs in the transgenic adenocarcinoma mouse prostate model. Clin Cancer Res 10:7727–7737
55. Naslund MJ, Strandberg JD, Coffey DS (1988) The role of androgens and estrogens in the pathogenesis of experimental nonbacterial prostatitis. J Urol 140:1049–1053
56. Nelson CP, Kidd LC, Sauvageot J et al (2001) Protection against 2-hydroxyamino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5- b]pyridine cytotoxicity and DNA adduct formation in human prostate by glutathione S-transferase P1. Cancer Res 61:103–109
57. Nelson WG, De Marzo AM, Isaacs WB (2003) Prostate cancer. N Engl J Med 349:366–381
58. Nelson WG, De Marzo AM, Yegnasubramanian S (2009) Epigenetic alterations in human prostate cancers. Endocrinology 150:3991–4002
59. Palapattu GS, Sutcliffe S, Bastian PJ et al (2005) Prostate carcinogenesis and inflammation: emerging insights. Carcinogenesis 26:1170–1181
60. Parsons JK, Nelson CP, Gage WR et al (2001) GSTA1 expression in normal, preneoplastic, and neoplastic human prostate tissue. Prostate 49:30–37
61. Platz EA, Rohrmann S, Pearson JD et al (2005) Nonsteroidal anti-inflammatory drugs and risk of prostate cancer in the Baltimore longitudinal study of aging. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 14:390–396
62. Platz EA, Leitzmann MF, Visvanathan K et al (2006) Statin drugs and risk of advanced prostate cancer. J Natl Cancer Inst 98:1819–1825
63. Platz EA, Till C, Goodman PJ et al (2009) Men with low serum cholesterol have a lower risk of high-grade prostate cancer in the placebo arm of the prostate cancer prevention trial. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 18:2807–2813
64. Putzi MJ, De Marzo AM (2000) Morphologic transitions between proliferative inflammatory atrophy and high-grade prostatic intraepithelial neoplasia. Urology 56:828–832
65. Ritchie KJ, Walsh S, Sansom OJ et al (2009) Markedly enhanced colon tumorigenesis in ApcMin mice lacking glutathione S-transferase Pi. Proc Natl Acad Sci USA 106:20859–20864
66. Rohrmann S, Nelson WG, Rifai N et al (2007) Serum estrogen, but not testosterone, levels differ between black and white men in a nationally representative sample of Americans. J Clin Endocrinol Metab 92:2519–2525
67. Ruska KM, Sauvageot J, Epstein JI (1998) Histology and cellular kinetics of prostatic atrophy. Am J Surg Pathol 22:1073–1077
68. Sakr WA, Grignon DJ, Crissman JD et al (1994) High grade prostatic intraepithelial neoplasia (HGPIN) and prostatic adenocarcinoma between the ages of 20–69: an autopsy study of 249 cases. In Vivo 8:439–443
69. Seethalakshmi L, Bala RS, Malhotra RK et al (1996) 17 beta-estradiol induced prostatitis in the rat is an autoimmune disease. J Urol 156:1838–1842

70. Sfanos KS, Sauvageot J, Fedor HL et al (2008) A molecular analysis of prokaryotic and viral DNA sequences in prostate tissue from patients with prostate cancer indicates the presence of multiple and diverse microorganisms. Prostate 68:306–320
71. Sfanos KS, Wilson BA, De Marzo AM et al (2009) Acute inflammatory proteins constitute the organic matrix of prostatic corpora amylacea and calculi in men with prostate cancer. Proc Natl Acad Sci USA 106:3443–3448
72. Sharma OP, Adlercreutz H, Strandberg JD et al (1992) Soy of dietary source plays a preventive role against the pathogenesis of prostatitis in rats. J Steroid Biochem Mol Biol 43:557–564
73. Shimizu H, Ross RK, Bernstein L et al (1991) Cancers of the prostate and breast among Japanese and white immigrants in Los Angeles County. Br J Cancer 63:963–966
74. Shirai T, Sano M, Tamano S et al (1997) The prostate: a target for carcinogenicity of 2-amino-1-methyl-6- phenylimidazo[4,5-b]pyridine (PhIP) derived from cooked foods. Cancer Res 57:195–198
75. Stoker TE, Robinette CL, Britt BH et al (1999) Prepubertal exposure to compounds that increase prolactin secretion in the male rat: effects on the adult prostate. Biol Reprod 61:1636–1643
76. Stoker TE, Robinette CL, Cooper RL (1999) Perinatal exposure to estrogenic compounds and the subsequent effects on the prostate of the adult rat: evaluation of inflammation in the ventral and lateral lobes. Reprod Toxicol 13:463–472
77. Sun J, Wiklund F, Zheng SL et al (2005) Sequence variants in Toll-like receptor gene cluster (TLR6-TLR1-TLR10) and prostate cancer risk. J Natl Cancer Inst 97:525–532
78. Sutcliffe S, Zenilman JM, Ghanem KG et al (2006) Sexually transmitted infections and prostatic inflammation/cell damage as measured by serum prostate specific antigen concentration. J Urol 175:1937–1942
79. Sutcliffe S, Platz EA (2008) Inflammation and prostate cancer: a focus on infections. Curr Urol Rep 9:243–249
80. Suzuki H, Kurihara Y, Takeya M et al (1997) A role for macrophage scavenger receptors in atherosclerosis and susceptibility to infection. Nature 386:292–296
81. Suzuki H, Toyota M, Kondo Y et al (2009) Inflammation-related aberrant patterns of DNA methylation: detection and role in epigenetic deregulation of cancer cell transcriptome. Methods Mol Biol 512:55–69
82. Tang D, Liu JJ, Bock CH et al (2007) Racial differences in clinical and pathological associations with PhIP-DNA adducts in prostate. Int J Cancer 121:1319–1324
83. Thompson IM, Goodman PJ, Tangen CM et al (2003) The influence of finasteride on the development of prostate cancer. N Engl J Med 349:215–224
84. Tomlins SA, Rhodes DR, Perner S et al (2005) Recurrent fusion of TMPRSS2 and ETS transcription factor genes in prostate cancer. Science 310:644–648
85. Turesky RJ (2007) Formation and biochemistry of carcinogenic heterocyclic aromatic amines in cooked meats. Toxicol Lett 168:219–227
86. van Leenders GJ, Gage WR, Hicks JL et al (2003) Intermediate cells in human prostate epithelium are enriched in proliferative inflammatory atrophy. Am J Pathol 162:1529–1537
87. Wakabayashi K, Ushiyama H, Takahashi M et al (1993) Exposure to heterocyclic amines. Environ Health Perspect 99:129–134
88. Walters DG, Young PJ, Agus C et al (2004) Cruciferous vegetable consumption alters the metabolism of the dietary carcinogen 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine (PhIP) in humans. Carcinogenesis 25:1659–1669
89. Xiang Y, Wang Z, Murakami J et al (2003) Effects of RNase L mutations associated with prostate cancer on apoptosis induced by 2′, 5′-oligoadenylates. Cancer Res 63:6795–6801
90. Xu J, Zheng SL, Komiya A et al (2002) Germline mutations and sequence variants of the macrophage scavenger receptor 1 gene are associated with prostate cancer risk. Nat Genet 32:321–325

91. Yegnasubramanian S, Kowalski J, Gonzalgo ML et al (2004) Hypermethylation of CpG islands in primary and metastatic human prostate cancer. Cancer Res 64:1975–1986
92. Yegnasubramanian S, Wu Z, Haffner MC et al (2011) Chromosome-wide mapping of DNA methylation patterns in normal and malignant prostate cells reveals pervasive methylation of gene-associated and conserved intergenic sequences. BMC Genomics 12:213
93. Yoshizawa K, Willett WC, Morris SJ et al (1998) Study of prediagnostic selenium level in toenails and the risk of advanced prostate cancer. J Natl Cancer Inst 90:1219–1224
94. Zha S, Gage WR, Sauvageot J et al (2001) Cyclooxygenase-2 is up-regulated in proliferative inflammatory atrophy of the prostate, but not in prostate carcinoma. Cancer Res 61:8617–8623
95. Zheng SL, Augustsson-Balter K, Chang B et al (2004) Sequence variants of toll-like receptor 4 are associated with prostate cancer risk: results from the cancer prostate in Sweden study. Cancer Res 64:2918–2922
96. Zhou A, Paranjape J, Brown TL et al (1997) Interferon action and apoptosis are defective in mice devoid of 2′,5′- oligoadenylate-dependent RNase L. EMBO J 16:6355–6363

Akdeniz Diyet Paterni ve Kronik Hastalıklar

Salvatore Panico, Amalia Mattiello, Camilla Panico ve Paolo Chiodini

Özet

Akdeniz tipi beslenme ile ekonomik olarak gelişmiş ülkelerde tipik olarak görülen hastalıkların ilişkisinin araştırılması nütrisyonel epidemiyolojinin başlangıç noktası olarak kabul edilir. 1950'lerde yapılan Yedi Ülke Çalışmasından günümüzdeki EPIC kolaborasyonuna kadar kardiyovasküler hastalık ve kanser gibi diyetten etkilenen hastalıkların komponentlerinin değerlendirilmesi esas olarak Akdeniz diyet alışkanlıklarını oluşturan gıda ve besin öğelerinin analizine dayanıyordu. Bu uzun araştırma geçmişi zaman içinde tek besin öğesi/gıda gruplarının veya daha kompleks diyet paternlerinin analizlerinin sonucunda tutarlı verilerin ortaya çıkmasına neden oldu: Akdeniz tipi beslenme kardiyovasküler hastalıklar ve birçok kanser türünden koruyucu özelliğe sahiptir. İtalya 1950'lerden başlamak üzere kardiyovasküler hastalıklarla başlayan ve majör kanserlerle devam eden araştırmaların doğal merkezi olmuştur. İtalyan toplumunun sağlıksız alışkanlıkların globalizasyonu nedeniyle (daha zengin diyet ve daha düşük fiziksel aktivite) hayat tarzında oluşan istenmeyen değişikliklere rağmen, Akdeniz diyet tarzını izleyenler hala anlamlı oranda koruma altındadırlar. EPIC çalışmasındaki İtalyan kohortlarında yer alan 50.000 kişiden elde edilen güncel veriler bu bulguları onaylar nitelikte olup diğer Avrupa toplumları ve bazı durumlarda da Kuzey Amerika toplumlarının verileri ile

S. Panico (✉) · A. Mattiello
Department of Clinical and Experimental Medicine, Federico II University, Naples, Italy
e-mail: spanico@unina.it

C. Panico
School of Medicine, Federico II University, Naples, Italy

P. Chiodini
Medical Statistics Unit, Department of Public, Clinical and Preventive Medicine,
Second University, Naples, Italy

V. Zappia et al. (eds.), *Advances in Nutrition and Cancer,*
Cancer Treatment and Research 159, DOI: 10.1007/978-3-642-38007-5_5,
© Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2014

de uyum içindedir. Ayrıca çeşitli çalışmalar bu tür bir diyetin kronik hastalıklardaki metabolik risk durumunu düzelttiğini hastalıkların ortaya çıkmasını engellediğini göstermiştir. Sonuç olarak Akdeniz diyet paternlerinden esinlenen beslenme şekilleri sadece kronik hastalık epidemilerine karşı koruyucu olmayıp aynı zamanda lezzetli seçeneklerdir.

Anahtar Kelimeler

Akdeniz diyeti • Kronik hastalık • Nütrisyonel epidemiyoloji

Kısaltmalar

EPIC Avrupa Kanser ve Nütrisyon Araştırması

İçindekiler

1 Avrupa'da Son Birkaç Dekaddaki Diyet Alışkanlıkları ... 71
2 Keys Diyet- Kalp Hipotezi ... 71
3 Sadece Basit Bir Diyet Yağ ve Lipid Problemi mi? ... 72
4 Diyet Göstergeleri: Gıda, Besin Öğeleri ve Kronik Hastalıkların Etyolojisini Araştıran Çalışmaların Paternleri ... 73
5 Akdeniz Skorları ve Kronik Hastalıklar ... 74
6 Akdeniz Diyet Paternleri ve İtalya'daki Güncel Popülasyon Çalışmalarındaki Kronik Hastalıklar ... 75
7 Son Yorumlar ... 77
Referanslar ... 78

Yemek kültürü her uygarlığın önemli bir özelliğidir; tarihsel kimliği çeşitli popülasyonların günlük yaşamlarından gelişmiştir. Avrasya insan gelişim konsepti çerçevesinde Akdeniz havzası içinde üç önemli gıda (şarap, zeytin yağı ve ekmek) kültürün temel unsurları olmuş ve bu miras Santral-Kuzey Avrupa yemek kültürleri (et, domuz yağı ve tereyağı) ile karışana kadar korunmuştur [40]. Yüzyıllar boyunca süregelen kültürel gıda değişimine rağmen Avrupa'daki farklılıklar ortadan kalkmamıştır. Globalize Avrupa'da bile tipik Akdeniz diyetini uygulayan bireyleri belirleyen spesifik gıda markerları mevcuttur.

Tablo 1 EPIC çalışmasında yer alan 4 ülkede en sık tüketilen diyet komponentleri

Almanya	Tereyağı, işlenmiş etler, meyve suları
İngiltere	Çay, kekler, alkolsüz içkiler, süt, tereyağı
Yunanistan	Bitkisel yağlar, baklagiller ve sebzeler, balık
İtalya	Bitkisel yağlar, tahıllar ve tahıl ürünleri, meyve

1 Avrupa'da Son Birkaç Dekaddaki Diyet Alışkanlıkları

Yirminci yüzyıl Avrupa istatistiklerinden 1950'ler ve 1960'larda dünyadaki en uzun yaşam beklentisine Yunanlıların (özellikle Girit halkı) sahip olduğunu biliyoruz. Yunanlıları Güney İtalya, İspanya ve Fransa halkları takip etmekteydi [61]. Ancel Keys ve çalışma arkadaşları 1950'lerden itibaren koroner kalp hastalığının Santral ve Kuzey Avrupa ile Kuzey Amerika'ya göre çok daha az görüldüğü Akdeniz havzasındaki toplumların diyetleri hakkında araştırma yapmaya başlamışlardır. O zaman tespit edilen Akdeniz diyeti yüksek miktarda tahıl, sebze, kuru fasulye, zeytin yağı, sarımsak, taze baharatlar, deniz ürünleri, meyve ile ölçülü miktarda şarap içeriyordu. Et ve kümes hayvanları tüketimi de ölçülüydü. Kümes hayvanları kırmızı ete göre daha fazla tüketiliyordu. Tereyağı, krema ve domuz yağını içeren hayvan yağları diyette yer almıyordu [10]. Akdeniz bölgesi ile diğer bölgeler arasındaki gıda tüketim farklarının çarpıcı bir şekilde azalmasına yol açan diyet alışkanlıklarının tüm Avrupa'da değişmiş olmasına rağmen, EPIC çalışması bazı spesifik özellikleri belirleyebilmiştir (Tablo 1). Bu özellikler belirli bazı Avrupa popülasyonlarının tipik gıda tüketim alışkanlıklarını göstermektedir [53].

Avrupa'da yürütülen nütrisyon ile kronik hastalıkları inceleyen majör çalışma olan EPIC, kanser ve kardiyovasküler hastalıklar ile ilgili özgün bir bilimsel kaynaktır. Çoğunluğu 35-69 yaşları arasında olan 370.000 kadın ve 150.000 erkekten oluşan EPIC kohortunun kayıtları 1992 ile 1998 yılları arasında 10 Avrupa ülkesindeki 23 merkezde yapılmıştır (Danimarka, Fransa, Almanya, Yunanistan, İtalya, Norveç, İspanya, İsveç, Hollanda ve İngiltere). Başlangıç anketleri mevcut diyet alışkanlıkları hakkında detaylı sorular içeriyordu. Ayrıca ölçüm hatalarına engel olabilmek amacıyla tüm kohortu temsil eden örnek bir grupta ek diyet araştırması da yapılmıştır [47, 48].

2 Keys Diyet-Kalp Hipotezi

Ancel Keys 2. Dünya Savaşı sırasında ABD ordusunda görev yaparken, ABD ile Akdeniz bölgesinde yaşayan İtalyan ve Yunanlılar arasındaki miyokard enfarktüsü oranlarında farklılıklar olduğunu gözlemlemişti. Popülasyon düzeyinde derinlemesine

araştırma yapma inisiyatifini alan Keys, "zengin" diyetin (Akdeniz dışındaki ülkelerin tipik diyeti), daha yüksek plazma kolesterol düzeylerine ve sinsi koroner kalp hastalığı eğilimine yol açabilme ihtimalini inceledi: Sonuç gerçek bir dönüm noktasıydı. Çalışmasını tartışmak amacıyla 1954 yılında İtalya'nın Napoli kentinde farklı ülkelerden seçkin araştırmacıların katıldığı bir toplantı düzenledi [34]. Amaç diyet-kalp konseptini farklı popülasyonlarda karşılaştıracak bir araştırmanın organize edilmesiydi. Bu toplantı Finlandiya, Yunanistan, İtalya, Japonya, Hollanda, ABD ve Yugoslavya'dan popülasyon örnekleri ile gerçekleştirilen "Yedi Ülke Çalışmasının" başlangıcı olmuştu. Çalışmanın amacı hastalığın gelecek yıllardaki gelişim sıklığını araştırmaktı. 50 yıldan uzun süren analizlerin yapıldığı çalışmadan elde edilen veriler hala değerlidir. Diyet-kalp konsepti Yedi Ülke Çalışmasının sonuçları ile net olarak konfirme edilmişti [32, 33]. Popülasyonlar arası analizlerde 10 yıllık koroner mortalitenin diyetle alınan ortalama doymuş yağ asidi miktarıyla anlamlı olarak ilişkili olduğu bulunmuştu. Serum kolesterol düzeyleri için de benzer sonuçlar bulunmuştu. Ortalama örnek kolesterol seviyesi arttıkça koroner mortalite oranı da artmaktaydı. Ayrıca diyetle alınan doymuş yağ asitlerinin serum kolesterol düzeyleri ile yakından ilişkili olduğu da bulunmuştu. Üç yönlü ilişkiye dayanan temel konsept şu gözlemler tarafından kuvvetle desteklenmiştir: Bulunan kanıtlar diyetle alınan lipid miktarının serum kolesterolünü, serum kolesterolünün ise kalp hastalığını belirlediğini göstermiştir. Keys ve çalışma arkadaşlarının yaptığı dönüm noktası oluşturan çeşitli (metabolik koğuş) besleme çalışmalarının sonuçları, geliştirdikleri kritik öneme sahip (izokalorik koşullarda diyet lipidlerindeki değişimlerin serum total kolesterolündeki değişim ile ilişkisi hakkındaki) denklemin alt yapısını oluşturan verileri sağlamıştır: ATC=1.35 (2 ΔSFA- ΔPFA) +1.5 ΔCHOL 1/2. ATC serum kolesterolündeki değişimi, ΔSFA ve ΔFPA sırasıyla satüre ve poliansatüre yağ asitlerinin total diyet kalorisi içindeki yüzdesinin değişimini, ΔCHOL de diyet kolesterolündeki değişimi (mg/1000 kcal) göstermektedir. Nütrisyon araştırmalarında sürekli olarak kullanılmakta olan bu denklem araştırmacılar arasında "Keys denklemi" olarak bilinmektedir [20, 31]. Keys grubunun yaptığı diğer tarihi (metabolik koğuş) çalışmalarında "Batı" diyetindeki kalori dengesinin kan kolesterolünü etkilediği, kilo alımının serum kolesterolünü artırdığı, obez hastalardaki kilo kaybının serum kolesterolünü azalttığı ve diyetteki suda çözünebilen liflerin serum kolesterolünü azalttığı gösterilmiştir [7, 30]. 1970 yılından önce yapılan tüm bu bilimsel katkılar zaman içinde dünya genelindeki araştırmacıların çalışmalarında tekrarlanmıştır. Bu katkılar toplum düzeyinde epidemik kardiyovasküler hastalıktan korunmanın temelini oluşturan majör koroner risk faktörlerinin tanımlanmasında kritik öneme sahiptir [25]. Bu önemli çalışma Akdeniz diyetinin kardiyovasküler hastalıklardan koruyan standart diyet haline gelmesine katkı yapmıştır.

3 Sadece Basit Bir Diyet Yağ ve Lipid Problemi mi?

Koroner kalp hastalığının az veya çok görüldüğü toplumlar arasındaki diyetle alınan lipid ve kan kolesterolü düzeylerinin farklılığı ile ilgili bariz kanıtlar, kardiyovasküler hastalıkların etyolojisi ile ilgili çalışmalar üzerinde tarihi bir etki yapmıştır: Yıllar boyunca diyet komponentlerinin bütünsel olarak değerlendirilmesi bir şekilde ihmal edilmiştir.

1980'lerde İtalya'da (tüm ülkeden seçilen randomize örneklerle) yapılan toplum tabanlı bir çalışmanın diyet ve kardiyometabolik risk faktörleri ile ilgili ilk sonuçları Akdeniz tipi diyetin koruyucu etkisini açıklamanın karmaşıklığını ortaya koymuştur. Daha fazla "aterojenik" gıda tüketimi ile serum kolesterol ve kan basıncı arasında bulunan ilişkiye ek olarak daha yüksek kan glukoz düzeyleri ile de ilişkili bulunmuştur [55]. Yaygın olarak zeytin yağı tüketen bireylerin yaygın olarak tereyağı tüketenlerle karşılaştırmasında da kan glukoz düzeyleri ile ilişkili sonuçlar bulunmuştur [56]. Akdeniz bölgesinde yaşayanlarla Kuzey Avrupa ve Avustralya'da yaşayan bireylerin karşılaştırıldığı kültürler arası bir çalışmada, diyetteki monoansatüre yağ asitlerinin satüre yağ asitleri ile değiştirilmesinin insülin sensitivitesini bozduğu tespit edilmiştir [60].

Bu çalışmaların sonuçları diyet ve kardiyovasküler hastalıkla ilişkili diğer metabolik yolakların önemini ortaya koymuştur; diyet komponentlerinin kardiyovasküler hastalıkları sadece lipid metabolizması yoluyla değil karbonhidratlar yoluyla da etkilediği ortaya koyulmuştur. Bir çok metabolik çalışma kardiyovasküler hastalık etyolojisi ile ilişkili bu gözlemleri konfirme etmiştir. Ayrıca karbonhidrat metabolizmasının birçok kanser türünün etyoloji ve patojenezindeki önemini gösteren bazı güncel çalışmalar, özellikle insülinin büyüme faktörleri üzerindeki proliferatif etkiyi regüle edici etkisine odaklanmaktadır. Bu gözlemler diyetin kardiyovasküler hastalılar ve kanser gibi kronik hastalıklardan koruyucu etkilerinin anlaşılabilmesi için daha kompleks bir yaklaşım gerektiğini ortaya koymaktadır.

4 Diyet Göstergeleri: Gıda, Besin Öğeleri ve Kronik Hastalıkların Etyolojisini Araştıran Çalışmaların Paternleri

Nütrisyonel epidemiyoloji ile ilgili geleneksel analizlerde bir veya az sayıda besin öğesi ve gıdanın hastalıklarla ilgileri araştırılmaktadır. Bu yaklaşımla elde edilen önemli miktarda kanıta rağmen bazı kavramsal ve metodolojik kısıtlamaları olduğu da göz önünde bulundurulmalıdır. İnsanlar izole besin öğeleri tüketmezler. Yemekler interaktif ve sinerjistik olabilen farklı besin öğelerinin kompleks kombinasyonlarından oluşurlar [41]. Bu nedenle tek besin öğesinin değerlendirilmesi doğru olmayabilir. Ancak çok sayıda besin öğesi veya gıda ile yapılan analizlerde istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunma ihtimali de şansa bağlı bir durumdur [15]. Aynı zamanda bazı besin öğelerinin birbirleri ile yüksek oranda ilişkili olması etkilerinin ayrı ayrı incelenmesini çok zorlaştırmakta-

dır; bu durum besin öğelerinin aynı modelde kullanılması ile bağımsız varyasyon oranlarının azalmasına bağlıdır [36].

Bir diyet paterninde yer alan multipl besin öğelerinin kümülatif etkileri yeterince büyük olduğu için muhtemelen tespit edilebilirken, tek bir besin öğesinin etkisi çok küçük olduğu için fark edilemeyebilir [50]. Bazı önemli diyet girişim çalışmaları ile ilgili literatürleri incelediğimizde, kan basıncı düşürme çalışmalarında görüldüğü gibi tek bir besin öğesi yerine diyet paternlerini değiştirmenin daha efektif olabileceğini gözlemledik [8].

Sonuç olarak belirli besin öğelerinin tüketimi genel olarak belirli diyet tipleri ile ilişkili oldukları için [27, 46], besin öğelerinin tek olarak analizleri diyet paternlerinden etkilenerek sonuçlarda karışıklık meydana gelebilir. Düşük diyet yağı; meyve, sebze, fiber, folat ve tam tahıl tüketimi ile ilişkili ise, bu durum her birinin bağımsız olarak koroner kalp hastalığı riskini azaltmasından kaynaklanıyor olabilir. Bu da diyet yağı ve koroner hastalık arasındaki ilişki değerlendirildiğinde potansiyel karışıklığa yol açabilecekleri anlamına gelir [59]. Diyet komponentleri arasındaki etkileşim nedeniyle oluşan karmaşanın ortadan kaldırılması zor olduğu için bu durumun istatistiksel analizle kontrol edilmeye çalışılması da başarısızlıkla sonuçlanabilir. Bu durumu çözmenin bir yolu gıda ve besin öğelerinin kombinasyonlar halinde nasıl tüketildiğini değerlendirmek amacıyla genel diyet paterninin kullanılmasıdır [2, 13, 21, 23, 24, 26, 28, 57]. Diyet paternleri kullanılarak yapılan analizlerde, paternler yemek yeme alışkanlıklarına göre belirlendiği için gıda ve besin öğeleri arasındaki eş bağlantıların kullanılması avantajlı olabilir [22].

5 Akdeniz Skorları ve Kronik Hastalıklar

Önceki paragrafta vurgulandığı üzere diyet paternlerinin belirlenebilmesi amacıyla kompleks bir indeksin kullanılması bireylerin yemek yeme kategorilerine göre gruplanabilmesini sağladığı için diyet alışkanlıkları daha iyi karakterize edilebilir. Bilimsel literatürde diyet patern göstergeleri ile ilgili farklı örnekler mevcuttur; bu makalede Akdeniz paterninin göstergeleri ve kronik hastalıklara odaklanacağız.

Yedi Ülke Çalışmasının araştırıcıları diyetlerin sağlığa uygunluk derecesini incelemek için geliştirdikleri Akdeniz Uygunluk İndeksini (MAİ) 1960 yılında pilot çalışma bölgesi olarak seçilen Güney İtalya'nın kırsal kesimindeki Nicotera'da test ettiler [4, 5, 17].

Yedi Ülke Çalışmasının 25 yıllık takibinde MAİ ile koroner kalp hastalığına bağlı mortalite arasında güçlü ters orantılı ilişki tespit edilmiştir [18]. Yedi Ülke Çalışmasındaki iki kırsal İtalyan kohortundaki sağlıklı Akdeniz diyet paterni 20. ve 40. yıllardaki kardiyovasküler olay gelişimini azaltmıştır [39].

MEDSCORE'u (Yunan diyetinin komponentlerini baz alan Akdeniz uygunluk indeksi) geliştiren araştırmacılar yaşlı bir Yunan kohortundaki sağkalımın Akdeniz-Yunan diyetine uyum sağlandığı oranda arttığını bulmuşlardır [57]. Yunan indeksinin modifiye bir versiyonu (m-MEDSCORE) EPIC çalışmasındaki çeşitli analizlerde kul-

lanılmaktadır. Modifikasyon Santral ve Kuzey Avrupa toplumlarının diyet özellikleri dikkate alınarak yapılmıştır. Ancak indeksin Akdeniz tipi diyete uyumun derecesini ölçebilme yeteneği korunmuştur. Yüksek m-MEDSCORE değerlerinin Avrupa ülkelerindeki yaşam sürelerine pozitif katkı yapmada tekli besin öğelerinden daha önemli olduğu bulunmuştur [58]. Skorun İspanyol EPIC kohortunda kullanımı ile başlangıçta sağlıklı olan orta yaşlı bireylerdeki fatal ve nonfatal kardiyovasküler hastalık insidansı ile Akdeniz diyetine uyum arasında ters orantılı ilişki tespit edilmiştir [37].

EPIC Çalışması m-MEDSCORE ile ölçülen Akdeniz diyetine uyum derecesi ile tüm kanser tipleri arasındaki ilişki ile ilgili önemli bir kanıt sağlamıştır: Skor ne kadar yükselirse kanser riski o kadar azalmıştır [11]. m-MEDSCORE'un Asya-Amerikalı kadınlardan oluşan kohorta uygulanması ile Akdeniz diyetine yüksek uyumun meme kanserine karşı koruyucu etkisi olduğu tespit edilmiştir [63]. Ayrıca m-MEDSCORE kullanılan popülasyonlarda diyet ve kognitif bozulma ilişkisi hakkında güncel kanıtlar mevcuttur: Yüksek indeks skorlarının manyetik rezonans kullanılarak ölçümlenen beyaz maddede görülen bozulmaları da azalttığı bulunmuştur [19].

EPIC çalışmasının Avrupa kohortlarında m-MEDSCORE skoru ile metabolik sendrom gibi yüksek insülin rezistansı ile karakterize rahatsızlıkları da kapsayan bazı metabolik özelliklerin ilişkisi analiz edilmiştir. Yüksek m-MEDSCORE düzeylerinin zaman içinde bel çevresinde daha az artış görülmesi ile ilişkili olduğunun bulunmuş olması [49], Akdeniz popülasyonlarında son yıllarda görülen kilo artışının [16, 42], yüksek enerji alımından (gıdanın kalitesinde değil miktarındaki artış) kaynaklandığının ve bazı diyet alışkanlıklarının değişerek Batı tarzı diyete yaklaştığının [35] ve Akdeniz avantajını azalttığının [45] göstergesidir. Ayrıca daha düşük metabolik sendrom prevalansı da azalmış endometrial [12], kolorektal [6] ve meme kanseri [1] riski ile ilişkili bulunmuştur. Bu bulgu Akdeniz diyetinin bu kanser türlerinin riskleri üzerindeki etkisini indirekt olarak konfirme edebilir. Güncel metaanalizlerde Akdeniz diyeti ile metabolik sendrom komponentlerinin düşük yağlı diyete göre [43], anlamlı olarak azaldığı ve Akdeniz diyeti ile beslenenlerde daha az metabolik sendrom görüldüğü yönünde ikna edici kanıtlar mevcuttur [29].

6 Akdeniz Diyet Paternleri ve İtalya'daki Güncel Popülasyon Çalışmalarındaki Kronik Hastalıklar

İtalya'daki en büyük ölçekli kronik hastalık etyoloji araştırması (başlıca kanser ve kardiyovasküler hastalıklar ile ilgili) EPIC çalışmasının İtalyan kohortunda sürdürülmektedir. İtalya'daki beş merkezde 1993-1998 yılları arasında 47.749 gönüllü (15.171 erkek; 32.578 kadın) kaydedilmiştir: Kuzey İtalya'da iki merkez (Varese, n=12.083; Turin, n=10.604), Orta İtalya'da bir merkez (Floransa, n=13.597), ve Güney İtalya'da iki merkez (Ragusa, n=6403; Napolis, n=5062) mevcuttur. Tüm maruziyet değişkenleri ile kanser insidansını ve mortaliteyi belirlemekte kullanılan tüm prosedürler Avrupa Araştırmasında olduğu

Tablo 2 İtalyan Akdeniz İndeksi: Skoru oluşturan komponentler

Yüksek oranda tüketim ile pozitif skor	Makarna
Yüksek oranda tüketim ile pozitif skor	Tipik Akdeniz sebzeleri (örn. çiğ ya da pişmiş yeşil yapraklı sebzeler, çiğ domates, soğan ve sarımsak, lahana ve kök bitkiler dışındaki diğer tüm sebzeler)
	Meyve
	Bakliyat
	Zeytin yağı
	Balık
Az miktarda tüketim ile pozitif skor	Alkolsüz
	Tereyağ
	Kırmızı et
	Patates

WCRF/AICR Sürekli Güncelleme Projesi 2011, http://www.wcrf.org/cancer_research/cup/colorectal_cancer.php

gibi belirlenmiştir [48]. Diyet lokal yeme alışkanlıklarını tespit etmeyi amaçlayan semi-kantitatif yeme sıklığı anketleri ile değerlendirilmiştir [44]. EPICOR, EPIC İtalya'nın kardiyovasküler hastalıklarla ilgili bölümüdür. Koroner ve serebrovasküler olayların insidanslarının belirlenmesinde spesifik olarak valide edilen prosedürler dizayn edilmiş ve uygulanmıştır [2, 9, 14, 51].

Diyet paternlerinin kronik hastalıklardaki rolünü değerlendirebilmek amacıyla İtalyan Akdeniz Diyet İndeksi geliştirilmiştir. Bu indeksin analizinde ortaya 11 gıdanın tüketimine dayanan bir skor çıkmıştır: 6 tipik Akdeniz gıdası yüksek miktarda tüketilmektedir (makarna, tipik Akdeniz sebzeleri olan çiğ ya da pişmiş yeşil yapraklı sebzeler, çiğ domates, soğan ve sarımsak ile lahana ve kök bitkiler dışındaki tüm diğer sebzeler, meyve, bakliyat, zeytin yağı ve balık); Akdeniz için tipik olmayan 4 gıda düşük miktarda tüketilmektedir (alkolsüz içkiler, tereyağı, kırmızı et ve patates) ve alkol. Tipik Akdeniz gıdalarının tüketim miktarı dağılımın üçüncü üçte birlik diliminde ise 1 puan, diğer tüm tüketimler için 0 puan verildi. Akdeniz için tipik olmayan gıdaların tüketimi dağılımın birinci üçte birlik diliminde ise 1 puan verildi. Etanole 12 $g \cdot d^{-1}$ dozuna kadar 1 puan, hiç kullanmayanlar ile >12 $g \cdot d^{-1}$ dozları için de 0 puan verildi.

İtalyan indeksi Yunan MEDSCORE indeksinden biraz farklıdır. Majör farklardan biri tipik İtalyan gıdası olan makarnanın komponentleri arasındadır [2]. Antropoloji bağlayıcıdır: İtalyanların yemek kültürü belirgin olarak makarna tarafından karakterize edilir. Bu durum ülkenin özellikle Akdeniz'deki kısmı için geçerlidir. İtalya'nın yeniden birleşmesi sırasında (1860-1861), Savoia Krallığı Başbakanı (Camillo Benso di Cavour, Kuzey

İtalya'daki Turin'de yaşıyordu) Güney İtalya'nın Giuseppe Garibaldi tarafından fethedilmesini beklerken Paris'teki elçisine şu şifreli sözleri yazmıştı: "Kısa süre sonra hepimiz makarna yiyeceğiz" [40]. EPIC'te yer alan yüksek kaliteli diyet verilerine paralel olarak diğer hayat tarzı değişkenleri ile ilgili veriler de yüksek kalitededir. Bu veriler analiz için önem arz etmektedir. Bu değişkenlerin bazıları göz önüne alındığında Akdeniz diyet paterninin kardiyovasküler hastalıklar ve kansere karşı potansiyel koruyucu rolü hakkında elde edilen sonuçlar oldukça etkileyicidir. İtalyan Akdeniz İndeksi kullanılarak yapılan analizler diğer gruplardaki tipik Akdeniz diyet komponentlerinin analizleri ile paralellik göstermektedir.

Yeşil yapraklı sebzelerin ve zeytin yağının yüksek oranda tüketiminin (düşük tüketime göre) kadınlardaki koroner kalp hastalığına karşı koruyucu olduğu bulunmuştur [9]. Bilimsel bir toplantıda sunulan preliminer veriler İtalyan Akdeniz İndeksinin koroner kalp hastalığı (fatal ve nonfatal) insidansı ile ters orantılı olduğunu göstermiştir. Kadınlardaki fark istatistiksel anlamlılığa yakındır. Ayrıca izokalorik Akdeniz diyeti için tipik olmayan şekilde glisemik indeksi yüksek olan karbonhidratlar yönünden zengin diyetin (yüksek glisemik yük) koroner kalp hastalığı riskinde %50'den daha fazla anlamlı risk artışına yol açtığı tespit edilmiştir [51].

İtalyan Akdeniz İndeksi yüksek olan bireylerdeki inme riskinin skoru düşük olanlara göre azaldığı bulunmuştur: Anlamlı rölatif risk tüm inme tipleri için 0.47, iskemik inme için 0.37 bulunmuştur [2]. Gıdaların total antioksidan kapasitelerinin koruyucu olduğu indirekt olarak konfirme edilmiştir: Üst ve alt üçte birlik dilimler karşılaştırıldığında bulunan 0.57'lik rölatif risk anlamlıdır [14].

İtalyan Akdeniz İndeksi yüksek olan bireylerdeki kolorektal kanser riski düşük skorlu bireylere göre anlamlı olarak azalmıştır: Erkeklerdeki rölatif risk 0.54; kadınlardaki rölatif risk 0.46 [3].

Meme kanseri için de bir dizi tutarlı sonuç açıklanmıştır. Kohortun bir bölümü (Milano kohortu) ile ilgili verilerin sunulduğu bilimsel toplantıda İtalyan Akdeniz indeksinin anlamlı derecede azalmış riskle ilişkili olduğu bildirilmiştir (üst ve alt üçte birlik dilimler arasındaki rölatif risk 0.64). Glisemik yük ile koroner kalp hastalığı arasında da anlamlı ilişki mevcuttur (yüksek glisemik yük ile düşük glisemik yük karşılaştırılmasındaki rölatif risk 1.46) [52]. Sebze tüketimi ile ilgili analizler de tüm sebze tiplerinin anlamlı koruma sağladığını göstermiştir (tüm sebzeler için 0.65; yeşil yapraklı sebzeler için 0.70) [38].

7 Son Yorumlar

Uzun bir tarihe sahip olan Akdeniz diyeti ile kardiyovasküler hastalık etyolojisi arasındaki ilişki güncel veriler tarafından da desteklenmektedir. Bu durum özellikler İtalya için geçerlidir. İtalyan popülasyonunun diyet alışkanlıklarındaki olumsuz değişimlere rağmen, hala Akdeniz tipi diyete yakın olan bireyler anlamlı düzeyde korunmaktadır.

Bir diğer iyi haber de aynı diyet paterninin sık görülen kanser türlerine karşı da koruyucu olmasıdır (örn. meme ve kolorektal kanserler). İtalyan verileri diğer Avrupa toplumlarından ve kısmen de Kuzey Amerika toplumlarından elde edilen verilerle uyumludur: Kapsamlı bir metaanaliz bu verileri desteklemektedir [54]. WHO bu kanıtların ışığında, kronik hastalıkların önlenebilmesi için uygulanan diyetlerin Akdeniz diyetine göre modifiye edilmesini kuvvetle desteklemektedir [62]. Sonuç olarak Akdeniz diyet paternlerinden esinlenen beslenme şekilleri kronik hastalık epidemilerine karşı koruyucu olan lezzetli seçeneklerdir.

Referanslar

1. Agnoli C, Berrino F, Abagnato CA, Muti P, Panico S, Crosignani P, Krogh V (2010) Metabolic syndrome and postmenopausal breast cancer in the ORDET cohort: a nested case-control study. Nutr Metab Cardiovasc Dis 20(1):41–48
2. Agnoli C, Krogh V, Grioni S, Sieri S, Palli D, Masala G, Sacerdote C, Vineis P, Tumino R, Frasca G, Pala V, Berrino F, Chiodini P, Mattiello A, Panico S (2011) A priori-defined dietary patterns are associated with reduced risk of stroke in a large Italian cohort. J Nutr 141(8):1552–1558
3. Agnoli C, Grioni S, Sieri S, Palli D, Masala G, Sacerdote C, Vineis P, Tumino R, Giurdanella MC, Pala V, Berrino F, Mattiello A, Panico S, Krogh V (2012) Italian mediterranean index and risk of colorectal cancer in the Italian section of the EPIC cohort. Int J Cancer. doi: 10.1002/ijc.27740
4. Alberti-Fidanza A, Fidanza F, Chiuchiu MP, Verducci G, Fruttini D (1999) Dietary studies on two Italian population groups of the seven countries study. 3. Trends in food and nutrient intake from 1960 and 1991. Eur J Clin Nutr 53:854–860
5. Alberti-Fidanza A, Fidanza F (2004) Mediterranean adequacy index of Italian diets. Public Health Nutr 7:937–941
6. Aleksandrova K, Boeing H, Jenab M, Bas Bueno-de-Mesquita H, Jansen E, van Duijnhoven FJ, Fedirko V, Rinaldi S, Romieu I, Riboli E, Romaguera D, Overvad K, Østergaard JN, Olsen A, Tjønneland A, Boutron-Ruault MC, Clavel-Chapelon F, Morois S, Masala G, Agnoli C, Panico S, Tumino R, Vineis P, Kaaks R, Lukanova A, Trichopoulou A, Naska A, Bamia C, Peeters PH, Rodríguez L, Buckland G, Sánchez MJ, Dorronsoro M, Huerta JM, Barricarte A, Hallmans G, Palmqvist R, Khaw KT, Wareham N, Allen NE, Tsilidis KK, Pischon T (2011) Metabolic syndrome and risks of colon and rectal cancer: the European prospective investigation into cancer and nutrition study. Cancer Prev Res (Phila) 4(11):1873–1883
7. Anderson JT, Lawer A, Keys A (1957) Weight gain from simple overeating. Serum lipids and blood volume. J Clin Invest 36:81–88
8. Appel L, Moore TJ, Obrazanek E, for the DASH collaborative research group (1997) A clinical trial of the effects of dietary patterns on blood pressure. N Engl J Med 336:1117–1124
9. Bendinelli B, Masala G, Saieva C, Salvini S, Calonico C, Sacerdote C, Agnoli C, Grioni S, Frasca G, Mattiello A, Chiodini P, Tumino R, Vineis P, Palli D, Panico S (2011) Fruit, vegetables, and olive oil and risk of coronary heart disease in Italian women: the EPICOR Study. Am J Clin Nutr 93(2):275–283
10. Contaldo F, Pasanisi F, Mancini M (2003) Beyond the traditional interpretation of mediterranean diet. Nutr Metab Cardiovasc Dis 13:117–119.)
11. Couto E, Boffetta P, Lagiou P, Ferrari P, Buckland G, Overvad K, Dahm CC, Tjønneland A, Olsen A, Clavel-Chapelon F, Boutron-Ruault M-C, Cottet V, Trichopoulos D, Naska A,

Benetou V, Kaaks R, Rohrmann S, Boeing H, von Ruesten A, Panico S, Pala V, Vineis P, Palli D, Tumino R, May A, Peeters PH, Bueno-de-Mesquita HB, Buchner FL, Lund E, Skeie G, Engeset D, Gonzalez CA, Navarro C, Rodrıguez L, Sanchez M-J, Amiano P, Barricarte A, Hallmans G, Johansson I, Manjer J, Wirfart E, Allen NE, Crowe F, Khaw K-T, Wareham N, Moskal A, Slimani N, Jenab M, Romaguera D, Mouw T, Norat T, Riboli E, Trichopoulou A (2001) Mediterranean dietary pattern and cancer risk in the EPIC cohort. Br J Cancer 104:1493–1499

12. Cust AE, Kaaks R, Friedenreich C, Bonnet F, Laville M, Tjønneland A, Olsen A, Overvad K, Uhre Jakobsen M, Chajes V, Clavel-Chapelon F, Boutron-Ruault M-C, Linseisen J, Lukanova A, Boeing H, PischonT Trichopoulou A, Bamia C, Trichopoulos D, Palli D, Berrino F, Panico S, Tumino R, Sacerdote C, Gram IT, Lund E, Quiros JR, Travier N, Martınez-Garcıa N, Larranaga N, Chirlaque MD, Ardanaz E, Berglund G, Lundin E, Bueno-de-Mesquita HB, van Duijnhoven FJB, Peeters PHM, Bingham S, Khaw K-T, Allen NE, Key T, Ferrari P, Rinaldi S, Slimani N, Riboli E (2007) Metabolic syndrome, plasma lipid, lipoprotein and glucose levels, and endometrial cancer risk in the European prospective investigation into cancer and nutrition (EPIC). Endocr Relat Cancer 14:755–767
13. Department of Health and Human Services and USDA (2005) Dietary guidelines for Americans. Government Printing Office, Washington, DC
14. Del Rio D, Agnoli C, Pellegrini N, Krogh V, Brighenti F, Mazzeo T, Masala G, Bendinelli B, Berrino F, Sieri S, Tumino R, Rollo PC, Gallo V, Sacerdote C, Mattiello A, Chiodini P, Panico S (2011) Total antioxidant capacity of the diet is associated with lower risk of ischemic stroke in a large italian cohort. J Nutr 141:118–123
15. Farchi G, Mariotti S, Menotti A et al (1989) Diet and 20-year mortality in two rural population groups of middle-aged men in Italy. Am J Clin Nutr 50:1095–1103
16. Ferro-Luzzi A, James WP, Kafatos A (2002) The high-fat Greek diet: a recipe for all? Eur J Clin Nutr 56:796–809
17. Fidanza F (1991) The mediterranean Italian diet; keys to contemporary thinking. Proc Nutr Soc 50:519–526
18. Fidanza F, Alberti A, Lanti M, Menotti A (2004) Mediterranean adequacy index: correlation with 25-year mortality from coronary heart disease in the seven countries study. Nutr Metab Cardiovasc Dis 14:254–258
19. Gardener H, Scarmeas N, Gu Y, Boden-Albala B, Elkind MS, Sacco RL, DeCarli C, Wright CB (2012) Mediterranean diet and white matter hyperintensity volume in the Northern Manhattan study. Arch Neurol 69(2):251–256
20. Grande F, Anderson JT, Chlouverakis C, Proja M, Keys A (1965) Effect of dietary cholesterol on man's serum lipids. J Nutr 87(1):52–62
21. Guenther PM, Reedy J, Krebs-Smith SM (2008) Development of the healthy eating index-2005. J Am Diet Assoc 108:1896–1901
22. Hu FB (2002) Dietary pattern analysis: a new direction in nutritional epidemiology. Curr Opin Lipidol 13:3–9
23. Huijbregts PPCW, Feskens EJM, Kromhout D (1995) Dietary patterns and cardiovascular risk factors in elderly men: the Zutphen Elderly study. Int J Epidemiol 24:313–320
24. Huijbregts P, Feskens E, Rasanen L et al (1997) Dietary pattern and 20 year mortality in elderly men in Finland, Italy, and the Netherlands: longitudinal cohort study. BMJ 315:13–17
25. Inter-Society Commission for Heart Disease Resources, Atherosclerosis Study Group and Epidemiology Study Group (1970) Primary prevention of the atherosclerotic diseases. Circulation 42:A55–A95
26. Jacobson HN, Stanton JL (1986) Pattern analysis in nutrition. Clin Nutr 5:249–253
27. Kant AK, Schatzkin A, Block G et al (1991) Food group intake patterns and associated nutrient profiles of the US population. J Am Diet Assoc 91:1532–1537
28. Kant AK (1996) Indexes of overall diet quality: a review. J Am Diet Assoc 96:785–791

29. Kastorini KM, Milionis HJ, Esposito K, Giugliano D, Goudevenos JA, Panagiotakos DB (2011) The effect of mediterranean diet on metabolic syndrome and its components: A meta-analysis of 50 Studies and 534,906 individuals. J Am Coll Cardiol 57:1299–1313
30. Keys A, Grande F, Anderson JT (1961) Fiber and pectin in the diet and serum cholesterol concentration in man. Proc Soc Exp Biol Med 106:555–562
31. Keys A, Anderson JT, Grande F (1965) Serum cholesterol response to changes in the diet (I-IV). Metabolism 14:776
32. Keys A (1970) Coronary heart disease in seven countries. Circulation 41(Suppl. 1):1–2
33. Keys A et al (1980) Seven countries. A multivariate analysis of death and coronary heart disease. A commonwealth fund book. Harvard University Press, Cambridge
34. Keys A (1993) The inception and pilot surveys. In: Kromhout D, Menotti A, Blackburn H (eds) The Seven Countries Study. Brower, Utrecht
35. Keys A (1995) Mediterranean diet and public health: personal reflections. Am J Clin Nutr 61(6 Suppl):1321S–1323S
36. Lee CN, Reed DM, MacLean CJ et al (1988) Dietary potassium and stroke. N Engl J Med 318:995–996
37. Martınez-Gonzalez MA, Garcıa-Lopez M, Bes-Rastrollo M, Toledo E, Martınez-Lapiscina EH, Delgado-Rodriguez M, Vazquez Z, Benito S, Beunza JJ (2011) Mediterranean diet and the incidence of cardiovascular disease: a Spanish cohort nutrition. Metab Cardiovasc Dis 21:237–244
38. Masala G, Assedi M, Bendinelli B, Ermini I, Sieri S, Grioni S, Sacerdote C, Ricceri F, Panico S, Mattiello A, Tumino R, Giurdanella MC, Berrino F, Saieva C, Palli D (2012) Fruit and vegetables consumption and breast cancer risk: the EPIC Italy study. Breast Cancer Res Treat 132(3):1127–1136
39. Menotti A, Alberti-Fidanza A, Fidanza F (2012) The association of the mediterranean adequacy index with fatal coronary events in an Italian middle-aged male population followed for 40 years. Nutr Metab Cardiovasc Dis 22:369–375
40. Montanari M (2010) L'identità italiana in cucina—Laterza Editore
41. National Research Council—Committee on Diet and Health. Diet and health (1989) Implications for reducing chronic disease risk. National Academy Press, Washington, DC
42. Newby PK, Muller D, Hallfrisch J, Qiao N, Andres R, Tucker KL (2003) Dietary patterns and changes in body mass index and waist circumference in adults. Am J Clin Nutr 77:1417–1425
43. Nordmann AJ, Suter-Zimmermann K, Bucher HC, Shai I, Tuttle KR, Estruch R, Briel M (2011) Meta-analysis comparing mediterranean to low-fat diets for modification of cardiovascular risk factors. Am J Med 124:841–851
44. Palli D, Berrino F, Vineis P, Tumino R, Panico S, Masala G et al (2003) A molecular epidemiology project on diet and cancer: the EPIC-Italy prospective study. Design and baseline characteristics of participants. Tumori 89:586–593
45. Panico S, Palmieri L, Donfrancesco C, Vanuzzo D, Chiodini P, Cesana G, Ferrario M, Mattiello A, Pilotto L, Sega R, Giampaoli S, Stamler J (2008) Preventive potential of body mass reduction to lower cardiovascular risk: the Italian progetto CUORE study. Prev Med 47(1):53–60
46. Randall E, Marshall JR, Graham S, Brasure J (1990) Patterns in food use and their associations with nutrient intakes. Am J Clin Nutr 52:739–745
47. Riboli E, Kaaks R. (1997) The EPIC project: rationale and study design. European prospective investigation into cancer and nutrition. Int. J. Epidemiol 26(suppl. 1):S6–S14
48. Riboli E, Hunt KJ, Slimani N et al (2002) European prospective investigation into cancer and nutrition (EPIC): study populations and data collection. Public Health Nutr 5:1113–1124
49. Romaguera D, Norat T, Mouw T, May AM, Bamia C, Slimani N, Travier N, Besson H, Luan J, Wareham N, Rinaldi S, Couto E, Clavel-Chapelon F, Boutron-Ruault MC, Cottet V, Palli P, Agnoli C, Panico S, Tumino R, Vineis P, Agudo A, Rodriguez L, Sanchez MJ, Amiano P, Barricarte A, Huerta JM, Key TJ, Spencer EA, Bueno-de-Mesquita HB, Buchner FL, Orfanos P, Naska A, Trichopoulou A, Rohrmann S, Kaaks R, Bergmann M, Boeing H, Johansson J,

Hellstrom V, Manjer J, Wirfalt E, Uhre Jacobsen M, Overvad K, Tjonneland A, Halkjaer J, Lund E, Braaten T, Engeset D, Odysseos A, Riboli E, Peeters PHM (2009) Adherence to the Mediterranean diet is associated with lower abdominal adiposity in European men and women. J Nutr 139:1728–1737

50. Sacks FM, Obarzanek E, Windhauser MM, for the DASH investigators (1994) Rational and design of the dietary approaches to stop hypertension trial (DASH): a multicenter controlled-feeding study of dietary patterns to lower blood pressure. Ann Epidemiol 5:108–118
51. Sieri S, Krogh V, Berrino F, Evangelista A, Agnoli C, Brighenti F, Pellegrini N, Palli D, Masala G, Sacerdote C, Veglia F, Tumino R, Frasca G, Grioni S, Pala V, Mattiello A, Chiodini P, Panico S (2010) Dietary glycemic load and index and risk of coronary heart disease in a large Italian cohort: the EPICOR study. Arch Intern Med 170(7):640–647
52. Sieri S, Pala V, Brighenti F, Agnoli C, Grioni S, Berrino F, Scazzina F, Palli D, Masala G, Vineis P, Sacerdote C, Tumino R, Giurdanella MC, Mattiello A, Panico S, Krogh V (2012) High glycemic diet and breast cancer occurrence in the Italian EPIC cohort. Nutr Metab Cardiovasc Dis 23(7):650–657 [Epub ahead of print]
53. Slimani N, Fahey M, Welch AA, Wirfält E, Stripp C, Bergström E, Linseisen J, Schulze MB, Bamia C, Chloptsios Y, Veglia F, Panico S, Bueno-de-Mesquita HB, Ocké MC, Brustad M, Lund E, González CA, Barcos A, Berglund G, Winkvist A, Mulligan A, Appleby P, Overvad K, Tjønneland A, Clavel-Chapelon F, Kesse E, Ferrari P, Van Staveren WA, Riboli E (2002) Diversity of dietary patterns observed in the European prospective investigation into cancer and nutrition (EPIC) project. Public Health Nutr 5(6B):1311–1328
54. Sofi F, Cesari F, Abbate R, Gensini GF, Casini A (2008) Adherence to mediterranean diet and health status: meta-analysis. BMJ 337:a1344
55. Trevisan M, Krogh V, Freudenheim JL, Blake A, Muti P, Panico S, Farinaro E, Mancini M, Menotti A, Ricci G (1990) Diet and coronary heart disease risk factors in a population with varied intake. The research group ATS-RF2 of The Italian National Research Council. Prev Med 19(3):231–241
56. Trevisan M, Krogh V, Freudenheim J, Blake A, Muti P, Panico S, Farinaro E, Mancini M, Menotti A, Ricci G (1990) Consumption of olive oil, butter, and vegetable oils and coronary heart disease risk factors. The Research Group ATS-RF2 of the Italian National Research Council. JAMA 263(5):688–692
57. Trichopoulou A, Kouris-Blazos A, Wahlqvist ML, Gnardellis C, Lagiou P, Polychronopoulos E et al (1995) Diet and overall survival in elderly people. BMJ 311:1457–1460
58. Trichopoulou A, Orfanos P, Norat T, Bueno-de-Mesquita B, Ocke MC, Peeters PH et al (2005) Modified Mediterranean diet and survival: EPIC-elderly prospective cohort study. BMJ 330:991
59. Ursin G, Ziegler RG, Subar AF et al (1993) Dietary patterns associated with a low-fat diet in the National Health Examination follow-up study: identification of potential confounders for epidemiologic analyses. Am J Epidemiol 137:916–927
60. Vessby B, Uusitupa M, Hermansen K, Riccardi G, Rivellese AA, Tapsell LC, Nälsén C, Berglund L, Louheranta A, Rasmussen BM, Calvert GD, Maffetone A, Pedersen E, Gustafsson IB, Storlien LH; KANWU Study (2001) Substituting dietary saturated for monounsaturated fat impairs insulin sensitivity in healthy men and women: The KANWU Study. Diabetologia 44(3):312–319
61. Willett WC, Sacks F, Trichopoulou A, Drescher G, Ferro-Luzzi A, Helsing E et al (1995) Mediterranean diet pyramid: a cultural model of healthy eating. Am J Clin Nutr 61:1402S–1406S
62. World Health Organization Study Group (2003) Diet, nutrition, and the prevention of chronic disease. WHO Tech Rep Ser, p 9166
63. Wu AH, Yu MC, Tseng CC, Stanczyk FZ, Pike MC (2009) Dietary patterns and breast cancer risk in Asian American women. Am J Clin Nutr 89(4):1145–1154

Diyetle Tuz Tüketimi ve Mide Kanseri Riski

Lanfranco D'Elia, Ferruccio Galletti ve Pasquale Strazzullo

Özet

İnsanlar yaklaşık 5000 yıl önce gıdaların korunması amacıyla büyük miktarda tuz kullanmaya başladılar. Günümüzde gelişen teknolojiler gıdaların saklaması için gereken tuz miktarının büyük oranda azaltılabilmesine olanak verdiği halde diyetle aşırı tuz tüketimi hala yaygındır. Sık görülen bir neoplazi olan mide kanserinin oluşumunda tuz tüketimini de içeren diyetle ilgili faktörlerin rol oynadığı düşünülmektedir. Bir dizi deneysel çalışmanın sonuçları tuzun Helicobacter pylori enfeksiyonu ile sinerjistik etki göstererek kokarsinojen etki yaptığı görüşünü desteklemektedir. Tuz ayrıca hücre proliferasyonu ve endojen mutasyonları artırıcı bağımsız etkiye de sahiptir. Birçok epidemiyolojik çalışmada aşırı tuz tüketimi ile mide kanseri arasındaki ilişki incelenmiştir. Hem kesitsel hem de prospektif çalışmalarda doza bağlı bir ilişki olabileceği gösterilmiştir. Özellikle longitudinal çalışmaları inceleyen kapsamlı bir metaanalizde toplam tuz tüketimi ve tuzdan zengin yiyeceklerin genel popülasyondaki gastrik kanser riski üzerinde olumsuz etkileri olduğu gösterilmiştir. Epidemiyolojik, klinik ve deneysel kanıtlar bir araya geldiğinde popülasyondaki tuz tüketiminin progresif olarak azaltımının gastrik kanser oranlarını da önemli oranda azaltabileceği ihtimalini desteklemektedir.

L. D'Elia · F. Galletti · P. Strazzullo
Department of Clinical and Experimental Medicine, "Federico II" University of Naples, Naples, Italy

P. Strazzullo (✉)
Department of Clinical and Experimental Medicine ESH—Excellence Center of Hypertension, "Federico II" University Medical School, via S. Pansini, 5, 80131, Naples, Italy
e-mail: strazzul@unina.it

V. Zappia et al. (eds.), *Advances in Nutrition and Cancer,*
Cancer Treatment and Research 159, DOI: 10.1007/978-3-642-38007-5_6,
© Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2014

Anahtar Kelimeler

Tuz tüketimi · Gastrik kanser · Risk · Gıda depolama · Helicopbacter pylori · Risk faktörü

Kısaltmalar

HP	*Helicobacter pylori*
COX-2	Siklooksijenaz-2
iNOS	İndüklenebilir nitrik oksit sentetaz
CagA	Sitotoksin ile ilişkili A geni
MNNG	Metilnitronitrozo guanidin
MNU	N-nitrozo-N-metilüre

İçindekiler

1 Giriş 84
2 Tuz Tüketimi ve Gastrik Kanser: Epidemiyolojik Kanıtlar 85
3 Tuz Tüketimi ve Helicobacter Pylori Enfeksiyonu 88
4 Diğer Biyolojik Mekanizmalar ve Deneysel Kanıtlar 91
5 Perspektifler 92
Referanslar 92

1 Giriş

Ekstraselüler sıvıda en fazla bulunan elektrolit olan sodyum vücut sıvı hacmi, plazma ozmolaritesi ve hücre membran potansiyelinin regülasyonunda majör rol oynamaktadır. İnsan vücudu evrim esnasında sodyum ve klorür miktarlarını korumak ve ekstraselüler sıvıdaki sodyum konsantrasyonunu rölatif olarak dar bir aralıkta tutabilmek için güçlü mekanizmalar geliştirmiştir [1]. Yaklaşık 5000 yıl önce doğal gıdalardaki sodyum miktarları oldukça düşük olduğu için insanların diyetindeki sodyum oranları son derece düşüktü [2]. Yüksek tuz tüketimine geçiş birçok gıdaya tuz eklenmesi ile çabuk bozulmalarının engellenebileceğinin keşfedilmesi ile başlamıştı [3]; bu yüksek tuz tüketimi yiyeceklerin korunmasında kullanılan modern teknolojilerin yaygın olarak mevcudiyetine rağmen hala devam etmektedir. Günümüzdeki tuz tüketiminin kabul edilemeyecek biçimde artmış olması ile tüm dünyada majör bir sağlık problemi olduğu anlaşılan tuz tüketimi hipertansiyon [4, 5], kardiyovasküler olaylar [6],renal disfonksiyon [8] ve osteoporoz [9] gibi epidemik rahatsızlıkların gelişimi ile ilişkilidir.

Yaygın bir neoplazi olan gastrik kanser tüm dünyadaki kanser ölümlerinin üçüncü en sık nedenidir [10, 11, 12]. Mide kanseri insidansının büyük coğrafi ve etnik farklılıklar göstermesine ve son dekadlardaki görülme oranı yavaşça azalmasına rağmen hala önemli bir halk sağlığı yüküdür. Tüm dünyada en azından kısmen engellenebilir bir halk sağlığı problemidir [10, 11, 12]. Kanıtlar diyetteki tuz miktarı ve çok tuzlu gıdaların tüketilme alışkanlıklarını da içeren bir dizi diyet faktörü ile gastrik kanser arasında az ya da çok ilişki olduğunu ortaya koymaktadır. Bu bağlamda yüksek tuz tüketiminin gastrik kanser riski üzerindeki advers etkileri birçok vaka kontrol çalışması tarafından ortaya konulmuştur [13]. Ayrıca tuz ve tuzlu gıdaların tüketimi ile mide kanseri riski arasındaki ilişkiyi araştırmak amacıyla birkaç prospektif çalışma da gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmaların güncel bir metaanalizinde diyetle alınan tuzun gastrik kanser riski ile direkt olarak ilişkili olduğu ve habitüel tüketim miktarı arttıkça riskin de progresif olarak arttığı gösterilmiştir [14]. Epidemiyolojik kanıtlar yüksek tuz tüketiminin koruyucu gastrik mukus bariyerinin viskozitesini değiştirdiğini [15] ve gastrik kanseri için risk faktörü olduğu kabul edilen Helicobacter pylori (HP) kolonizasyonunu artırdığını [16] gösteren klinik ve deneysel çalışmalar tarafından desteklenmektedir. Yüksek intragastrik sodyum konsantrasyonlarının mukoza hasarı ve enflamasyonu yaptığı gösterilmiştir. Bu durumun da hücre proliferasyonunu ve endojen mutasyonları artırdığı bildirilmiştir [17, 18].

Esas olarak aşırı tuz tüketimi ile gastrik kanser riski arasındaki ilişkiyle ilgili güncel epidemiyolojik gelişmelere odaklanan bu bölümde, aşırı tuz tüketiminin gastrik kanser gelişimine yol açma ihtimali olan mekanizmaları ile ilgili bilgiler de mevcuttur.

2 Tuz Tüketimi ve Gastrik Kanser: Epidemiyolojik Kanıtlar

Gastrik kanserin insidans oranları coğrafi bölgelere göre farklılıklar göstermektedir. Bu farklılıklar genetik faktörlere ek olarak hayat tarzı ve/veya çevresel faktörlere bağlı olarak ortaya çıkıyor olabilir. Göçmen çalışmaları tuz ve gastrik kanser arasındaki ilişkiye odaklanmaktadır. Japon göçmenlerin analizinde Hawaii'de yaşayan Japonlardaki gastrik kanserin azalma oranlarının Brezilya'ya yerleşen Japonlardan daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Analizin devamında Brezilya'daki Japonlardaki gastrik kanser oranlarının Japonya'da kalanlarla benzer düzeyde olduğu da bulunmuştur [19]. Bu farklılıklar yüksek tuz tüketme alışkanlığının göç edilen ülkelerde sürdürülme düzeyleri ile açıklanabilir.

Daha eski ekolojik araştırmalarda da yüksek tuz tüketiminin gastrik kanser riski üzerindeki olumsuz etkileri gösterilmiştir: 24 ülkede gerçekleştirilen INTERSALT çalışmasında 24 saatlik üriner sodyum atılımı (diyet tuz tüketiminin geçerli bir göstergesi) ile gastrik kansere bağlı mortalite arasında anlamlı bir direkt ilişki gösterilmiştir [20]. Çin'in 65 kırsal eyaletinde yapılan bir analizde de tuz kullanılarak muhafaza edilen sebzelerin tüketimi ile mide kanserine bağlı mortalite arasında pozitif ilişki gösterilmiştir

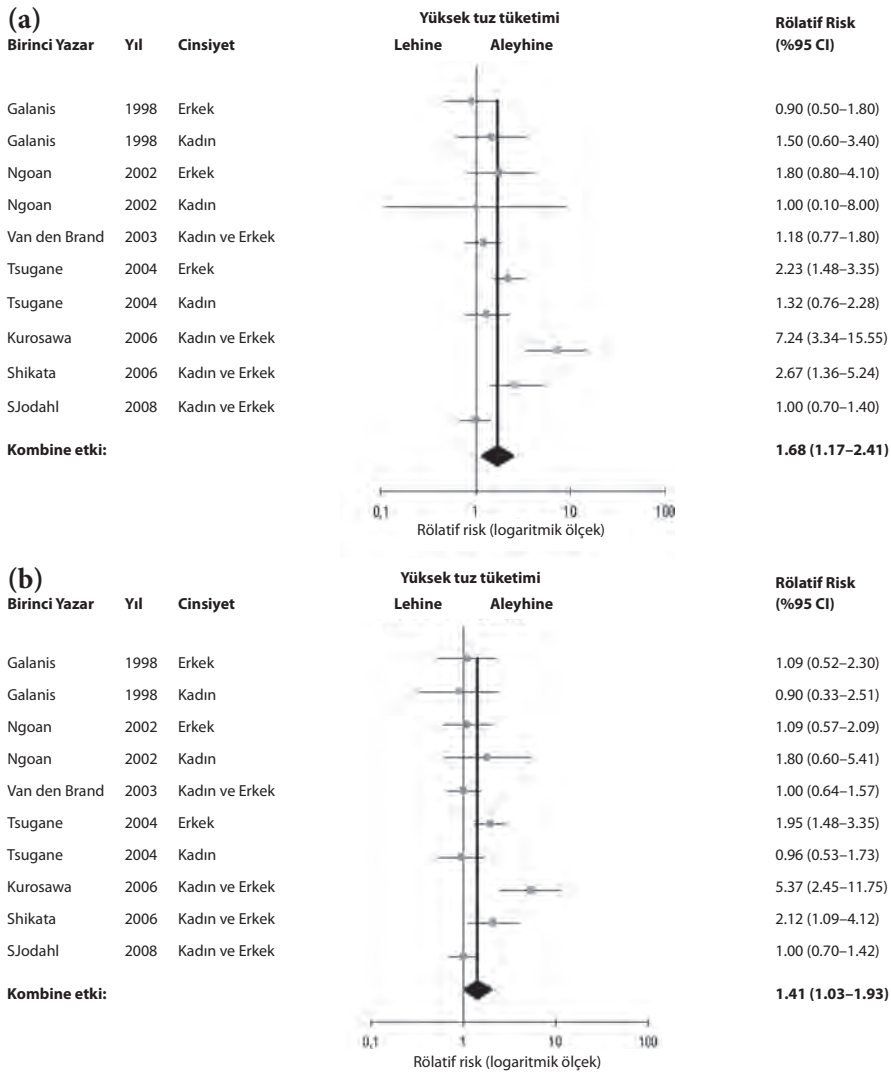
[21]. Benzer sonuçlar araştırmacıların 24 saatlik üriner sodyum atılımı ile gastrik kanser mortalitesi arasındaki pozitif ilişki tespit ettiği Japonya'nın 5 bölgesinde elde edilmiştir [22, 23].

Farklı ülkelerdeki gastrik kanser prevalansı büyük farklılıklar göstermektedir. Ancak çok sayıda vaka kontrol çalışmasında diyetle yüksek miktarda tuz alımının veya tuzlu gıdaların fazla tüketiminin sadece Asya ülkelerinde [24, 25] değil, Amerika [26, 27] ve Avrupa [28, 29, 30] ülkelerindeki gastrik kanser riskini de olumsuz etkilediği gösterilmiştir. En güncel Avrupa vaka kontrol çalışması da yüksek tuz tüketiminin, HP enfeksiyonu, tümörün bölgesi ve histolojik tipinden bağımsız olarak gastrik kanser riskini artıran önemli bir faktör olduğu sonucunu desteklemektedir [31]. Dünya Kanser Araştırma Fonunun 2007 yılında yayınladığı konsensus da tuz tüketimi ile gastrik kanser riski arasındaki ilişkiyi desteklemekte olup o esnada mevcut olan vaka kontrol çalışmalarının metaanaliz sonuçlarını da yayınlamıştır [13]. Bu analizde özellikle tuzlu gıdaların tüketim alışkanlığının gastrik kanser ile doğru orantılı ilişkiye sahip olduğu ve günlük tüketilen her porsiyon ile riskin beş kat arttığı gösterilmiştir.

Sonuç olarak, daha önce de bahsedildiği üzere çok sayıda prospektif çalışmada diyetle tuz alımının gastrik kanser riskini tahmin etmede önemli rol oynadığı bildirilmiştir. Bu çalışmaların çoğu Japonya'da gerçekleştirilmiştir. Ortalama 11 yıl boyunca takip edilen 39.065 kadın ve erkek Japon katılımcıdan oluşan büyük kohort çalışmasında anket soruları ile tespit edilen toplam tuz tüketimi ile gastrik kanser arasındaki ilişki erkeklerde anlamlı olarak yüksek bulunmuştur (RR=2.23). Kadınlarda da pozitif bir ilişki bulunmuş olsa da anlamlılık seviyesine ulaşılamamıştır (RR=1.32) [32]. Ayrıca yine Japonya'da yapılan ve 11 ve 14 yıllık takip sürelerine sahip iki farklı araştırmada da yüksek tuz tüketimi ile gastrik kanser arasında benzer bir ilişki bulunmuştur [33, 34]. Bu sonuçların aksine 12.000 kadın ve erkeğin 15 yıl süreyle takip edildiği Hawai kohortunda ise sadece kadınlarda pozitif bir ilişki tespit edilmiştir [35]. Hollanda'da gerçekleştirilen büyük bir popülasyon çalışmasında da bildirilen tuz tüketimi ile gastrik kanser arasında anlamlı bir ilişki tespit edilememiştir (RR=1.18) [36].

Çok tuzlu gıdaların tüketimine odaklanan prospektif çalışmalarda genel olarak tuz tüketiminin artmasının mide kanseri riskini olumsuz yönde etkilediği gösterilmiştir. 520.000 kadın ve erkeği içeren bir Avrupa kohortunda ise işlenmiş et tüketimi ile gastrik kanser arasında güçlü bir pozitif ilişki tespit edilmiştir. Çalışmada daha yüksek oranda işlenmiş et tüketenlerdeki risk (daha az tüketenlere göre %68 daha fazla bulunmuştur [37]. Yüksek oranda işlenmiş et tüketimi ile görülen benzer bir etki 970.000 Amerikalının ortalama 14 yıl süreyle takip edildiği büyük ölçekli prospektif araştırmada da tespit edilmiştir [38].

Tuzlu balık tüketimi ile de benzer sonuçlar elde edilmiştir. 17.600 Amerikalı erkeği içeren bir çalışmada daha fazla tuzlu balık tüketiminin daha yüksek gastrik kanser mortalitesi ile korele olduğu gösterilmiştir (RR=1.90) [39]. Bir Japon kohortunda yapılan araştırmada erkeklerdeki daha yüksek tuzlu balık tüketiminin gastrik kanser insidansını anlamlı olarak artırdığı bulunmuştur (RR=1.77). Kadınlardaki artış ise anlamlılık düzeyine ulaşamamıştır (RR = 1.17) [32].



Şekil 1 *Diyet Tuz Tüketimi ve Mide Kanseri Riski* **a** "*Yüksek" tuz tüketimi*: "Yüksek" veya "düşük" tuz tüketimi ile ilişkili gastrik kanser riskinin karşılaştırıldığı 7 yayınlanmış prospektif çalışmadaki 10 popülasyon kohortunun meta analiz diyagramı **b** *"Orta-yüksek" tuz tüketimi*: "Orta-yüksek" veya "düşük" tuz tüketimi ile ilişkili gastrik kanser riskinin karşılaştırıldığı 7 yayınlanmış prospektif çalışmadaki 10 popülasyon kohortunun meta analiz diyagramı Total popülasyon n=268.718; olay sayısı n=1474; Sonuçlar rölatif risk (RR) ve %95 güven aralığı (%95 CI) ile gösterilmektedir. ([14] nolu referanstan adapte edilmiştir).

Ancak yazarlar yüksek salamura gıda tüketiminin de hem kadın hem de erkeklerde daha yüksek gastrik kanser ile ilişkili olduğunu da bildirmiştir [32]. Atom bombası sonrası sağ kalan 55.000 Japon'dan oluşan bir kohorttaki 20 yıllık takipte yüksek sa-

lamura gıda tüketiminin gastrik kanser riskini artırma eğilimine sahip olduğu gösterilmiştir. Ancak bu farklılık istatistiksel anlamlılık düzeyine ulaşmamıştır (RR = 1.11) [40].

Ayrıca yine Asya diyetinde sık tüketilen çok tuzlu bir gıda olan miso çorbasının analizinde de artmış tüketimin hem küçük bir Amerikan kohortunda [35] hem de büyük bir Japon popülasyonunda [41] görülen gastrik kanser olaylarında anlamlı olmayan bir yükselişe neden olduğu tespit edilmiştir.

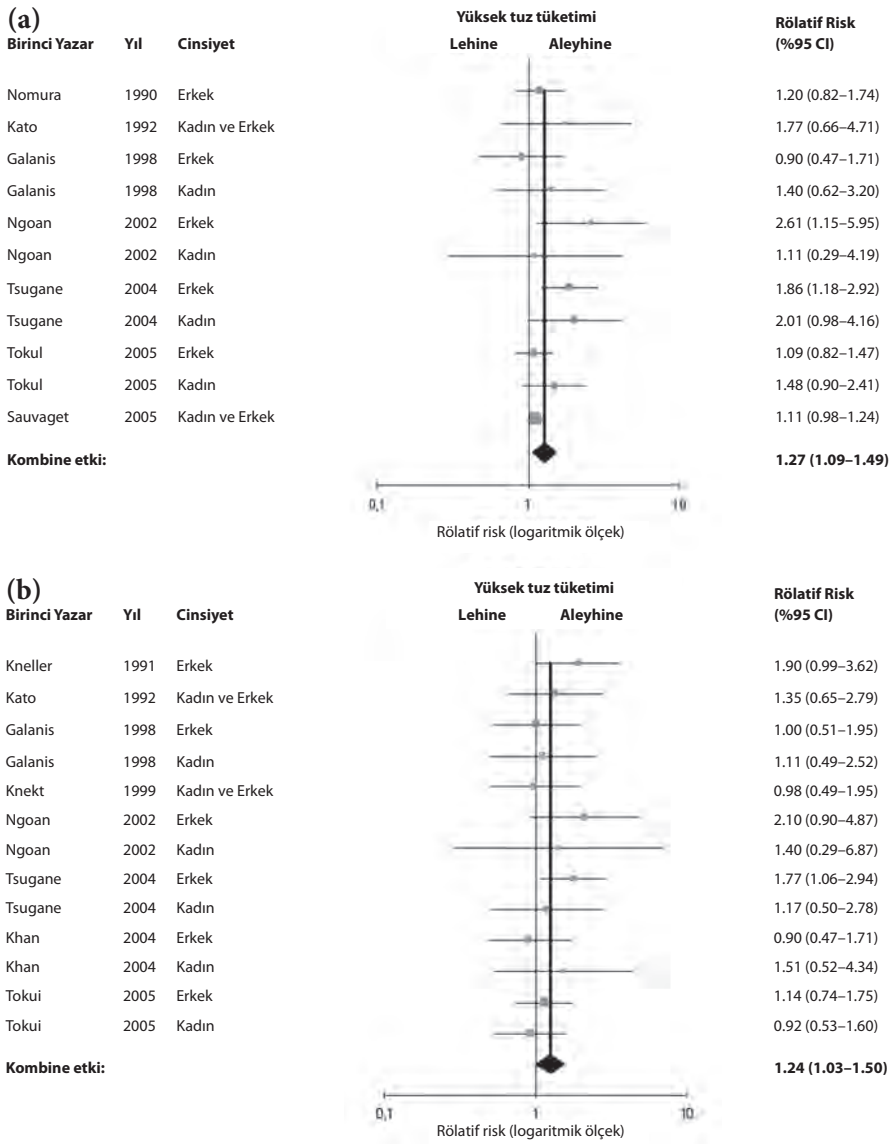
Tüm prospektif çalışmaları içeren güncel bir sistematik analizde de yüksek tuz tüketimi ile gastrik kanser arasında tartışmasız direkt ve anlamlı bir ilişki olduğunu gösterilmiştir [14]. Bu metaanaliz 1998 ile 2008 yılları arasında 270.000 hasta ile yapılan (1474 olay görülen), çalışmaların sonuçlarını kapsamaktadır. 6-15 yıl süre ile takip edilen hastalardan elde edilen verilerin ortak analizinde tuz tüketim alışkanlıkları ile gastrik kanser insidansı arasında kademeli pozitif ilişki olduğu gösterilmiştir. "Yüksek" ve "orta-yüksek" tuz tüketimin "düşük" tuz tüketimine göre sırasıyla %68 ve %41 daha fazla kanser riski ile ilişkili olduğu bulunmuştur (Şekil 1). Bu ilişki kadın ve erkekler arasında anlamlı farklılık göstermediği gibi takibin süresi, yayın yılı ve kayıt esnasındaki yaş gibi faktörlerden de etkilenmemiştir. Özellikle Japon popülasyonlarda gerçekleştirilen çalışmalardaki tuz tüketiminin gastrik kanser için güçlü bir gösterge olduğu tespit edilmiştir. Farklı analizlerde zengin tuz içeren gıdaları tüketme alışkanlığı olanlardaki gastrik kanser riskinin daha yüksek olduğu gösterilmiştir: Özellikle salamura gıdalar, tuzlu balık ve işlenmiş et tüketiminin gastrik kanser riskinde sırasıyla %27, %24 ve %24 artış ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Ancak miso çorbası ile görülen artış anlamlılık düzeyine ulaşamamıştır (RR = 1.05) (Şekil 2).

Son olarak Dias-Neto ve ark. [42] tarafından yapılan analizde de tuzlu gıda tüketimi ve tuzlu gıda tercihi (veya tuzluk kullanımı) ile gastrik intestinal metaplazi arasındaki ilişki incelenmiştir. Kohort, vaka kontrol ve kesitsel analizleri içeren çalışmada yüksek tuz tüketimi ile görülen artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır.

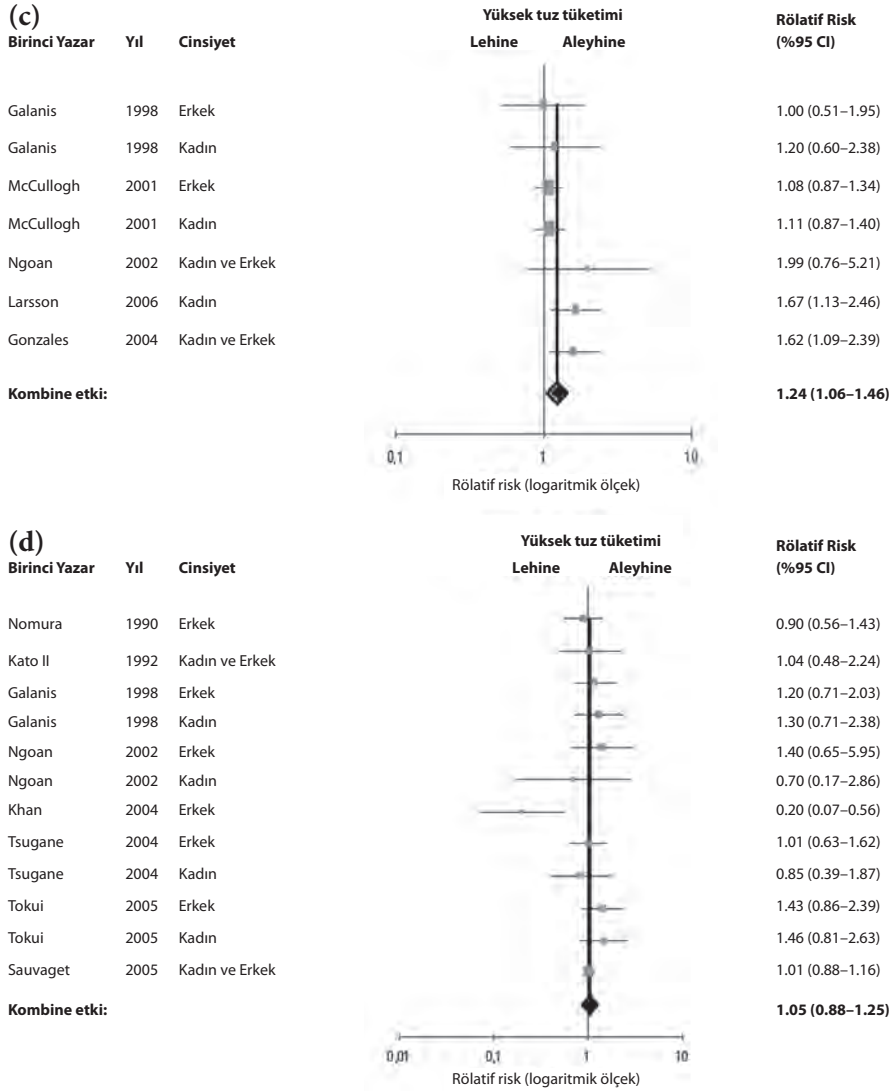
3 Tuz Tüketimi ve Helicobacter Pylori Enfeksiyonu

Helicobakter pylori (HP) enfeksiyonu gastrik kanser gelişiminin ana göstergelerinden birisidir. Yüksek tuz tüketimi HP kolonizasyonunu artırırken [16], inatçı HP enfeksiyonu da mukoza hasarını indüklemiştir [16]. Birkaç çalışmada da aşırı tuz tüketimi, HP enfeksiyonu ve karsinogenez arasında muhtemel bir ilişki olabileceği bildirilmiştir [34, 43, 44].

40-49 yaşları arasındaki 634 Japon erkekle gerçekleştirilen kesitsel çalışmada yüksek oranda tuz içeren gıdaların (özellikle miso çorbası ve salamura sebzeler) tüketim alışkanlıklarının yüksek HP enfeksiyonu prevalansı ile ilişkili olduğu bulunmuştur [45]. 24 saatlik üriner sodyum atılımını ulusal HP oranları ile ilişkilendiren uluslararası INTERSALT projesinde tespit edilen benzer bir ilişki EUROGAST tarafından



Şekil 2 *Yüksek oranda tuz içeren gıdalar ve gastrik kanser riski* **a** *Salamura gıdalar*: "Yüksek" veya "düşük" salamura gıda tüketimi ile ilişkili gastrik kanser riskinin karşılaştırıldığı 7 yayınlanmış prospektif çalışmadaki 11 popülasyon kohortunun meta analiz diyagramı. Total popülasyon, n=242.568; olay sayısı, n=2858 **b** *Tuzlanmış balık*: "Yüksek" veya "düşük" tuzlanmış balık tüketimi ile ilişkili gastrik kanser riskinin karşılaştırıldığı 8 yayınlanmış prospektif çalışmadaki 13 popülasyon kohortunun meta analiz diyagramı. Total popülasyon, n=209.704; olay sayısı, n=1447 **c** İşlenmiş et: "Yüksek" veya "düşük" işlenmiş tüketimi ile ilişkili gastrik kanser riskinin karşılaştırıldığı 5 yayınlanmış prospektif çalışmadaki 7 popülasyon kohortunun meta analiz diyagramı. Total popülasyon, n=1.578.092; olay sayısı, n=2002 Salamura gıdalar: "Yüksek" salamura gıda tüketimi ve "düşük" salamura gıda tüketimi ile ilişkili gastrik kanser riskinin karşılaştırıldığı 7 yayınlanmış prospektif çalışmadaki 11 popülasyon kohortunun meta analiz diyagramı. Total popülasyon, n=242.568; olay sayısı, n=2858 **d** *Miso çorbası*: "Yüksek" veya "düşük" miso çorbası tüketimi ile ilişkili gastrik kanser riskinin karşılaştırıldığı 8 yayınlanmış prospektif çalışmadaki 12 popülasyon kohortunun meta analiz diyagramı. Total popülasyon, n=249.931; olay sayısı, n=3022. Sonuçlar rölatif risk (RR) ve %95 güven aralığı (%95 CI) ile gösterilmektedir. ([14] nolu referanstan adapte edilmiştir).



Şekil 2 (Devamı)

da bildirilmiştir. HP enfeksiyonu oranları ile üriner sodyum atılımı arasında hemen hemen tüm yaş ve cinsiyet kategorilerini kapsayan pozitif bir ilişki tespit edilmiştir [46].

Japon [44] ve Korelilerde [34] gerçekleştirilen iki küçük vaka kontrol çalışmasında gastrik kanser gelişenlerde HP enfeksiyonu ve tuz tüketiminin ilişkisi incelenmiştir. Yazarlar yüksek tuz tüketimi ile HP enfeksiyonunun kombinasyonunun düşük tuz tüketi-

mi ve negatif HP enfeksiyonuna göre daha yüksek gastrik kanser riski taşıdığını tespit etmişlerdir. Ayrıca Japonlardaki yüksek tuz tüketimi ve HP enfeksiyonu varlığının, düşük tuz tüketimi ve HP enfeksiyonu pozitif olanlara göre daha yüksek gastrik kanser riski ile ilişkili olduğu gösterilmiştir [44].

İnsanlardaki tuz tüketimi ile HP enfeksiyonu arasındaki potansiyel ilişkiyi inceleyen Japon prospektif çalışmasında sadece HP enfeksiyonu pozitif olan gruptaki yüksek tuz tüketimi ile gastrik kanser arasında bir ilişki bulunmuştur [34]. Sonuçlarda hem atrofik gastrit hem de HP enfeksiyonu olan bireylerdeki yüksek tuz tüketiminin gastrik karsinogenez üzerinde güçlü bir etki yaptığı da gösterilmiştir.

Diyetle yüksek tuz tüketimi ve HP enfeksiyonunun gastrik karsinogenez üzerindeki sinerjistik etkileri hayvan deneylerinde de tespit edilmiştir. Helicobacter pylori (HP) enfeksiyonu tuzlu diyet uygulanan farelerdeki gastrik mukoza hasarını artırmaktadır [47]. Ayrıca HP enfeksiyonu olan Moğol çöl farelerinde yapılan bir çalışmada yüksek tuz tüketiminin kokarsinojenik etkisi teyit edilmiştir. Yüksek tuz tüketiminin anti HP antikorların titresinde artış, hipergastrinemi ve enflamatuar hücre infiltrasyonu ile de ilişkili olduğu gösterilmiştir [43].

4 Diğer Biyolojik Mekanizmalar ve Deneysel Kanıtlar

Bir dizi deneysel çalışmada aşırı tuz tüketiminin gastrik kanser eğilimi üzerindeki olumsuz etkisinin muhtemel mekanizmaları araştırılmıştır. Daha önce de bahsettiğimiz gibi, aşırı tuz tüketimi ile HP enfeksiyonu arasında güçlü bir etkileşim mevcuttur. Yüksek tuz tüketimi gastrik mukozadaki HP kolonizasyonunu artırır [16], yüzeydeki mukus hücrelerini çoğaltır ve mukus bez hücrelerinden salgılanan müsini azaltır [43]. Sıçanlarda yapılan bir çalışmada yüksek tuz tüketiminin hücre salgısını azalttığı ve mutajeneze duyarlı S faz hücrelerinin sayısını artırdığı gösterilmiştir [17]. Aynı türde tuz uygulanması ile yüzey mukus hücre katmanında doza bağlı hasar ve replikatif DNA sentezinde artış olmaktadır [18]. Ayrıca HP enfeksiyonu olan çöl farelerinde yüksek tuz tüketiminin etkisi ile COX-2 ve İNOS yukarı regüle olurken [48], HP enfeksiyonunun etkileri güçlenerek gastrik kanser progresyonuna neden olmuştur [49]. Yüksek tuz tüketimi CagA ekspresyonunu (HP geni) güçlendirirerek bu genin gastrik epitel hücrelerinin için doğru yer değiştirme kapasitesini artırır. HP enfeksiyonunun epitel hücrelerinin fonksiyonlarını değiştirme kapasiteleri de artar [50].

Ek olarak HP enfeksiyonu varlığında yüksek tuz tüketimi ile indüklenen hipergastrinemi [43] ile kronik hipergastrinemi ve HP enfeksiyonunun sinerjistik etkisi parietal hücre kaybına ve gastrik kanser progresyonuna katkıda bulunabilir [51].

Birçok çalışmada tuz tüketimindeki artışın gıda kaynaklı karsinojenlerin etkilerini desteklediği veya artırdığı gösterilmiştir. Örneğin farklı bölgelerde tümör oluşumuna

yol açabilen [53] potent karsinojen olan N-nitrozo bileşikleri [1, 15, 52] koruyucu mukus bariyerinin [43] viskozitesini etkileyerek gastrik epitel hasarına yol açar.

Sonuç olarak hayvan modellerinde yapılan bazı deneysel araştırmalardaki yüksek tuz tüketiminin kimyasal karsinojenlerle (MNNG ve MNU) sinerjistik etki göstererek gastrik kanser gelişiminde rol oynadığı gösterilmiştir [54, 55].

5 Perspektifler

Dünya çapında en yaygın görülen kanser türlerinden olan gastrik kanser yılda yaklaşık 870.000 yeni vaka [56, 57] ile tüm yeni kanser vakalarının %9.9'unu oluşturmaktadır [58]. Gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde (benzer oranlarda görülen) 628.000'den fazla ölüm vakası (%12.1) ile seyreden mortalite oranları da yüksek seyretmeye devam etmektedir [59]. Mide kanserinin dünya çapındaki insidansı son dekadlar içinde hızla azalmaktadır. Bu azalma Batı ülkeleri, Çin ve diğer Doğu Asya ülkelerinde diğer ülkeler kadar yüksek değildir. İnsidans artışı en yaşlı ve en genç yaş gruplarında gözlenmiştir [60]. Gastrik kanser Çin toplumunda Batı'ya göre daha erken yaşlarda başlamaktadır. Bu da yeni çevresel faktörlerin bir göstergesi olabilir.

Dünyadaki erişkin popülasyonların çoğundaki tuz tüketimi günde 6 gr'dan daha fazladır [1, 61, 62]. Birçok Doğu Avrupa ve Asya ülkesindeki tüketim de günde 12 gr'ın üstündedir [63]. WHO ortalama popülasyon tuz tüketim oranlarının günde 5 gr'ın altında olmasını tavsiye etmektedir [64]. Hem gelişmiş hem de gelişmekte olan ülkelerdeki tuz tüketiminin azaltılması yüksek maliyetli kardiyovasküler hastalık epidemilerinin engellenebilmesi için global öncelik olarak kabul edilmiştir [1, 65, 66, 67, 68, 69]. Bu politikanın kardiyovasküler hastalıklar üzerindeki olumlu etkilerine ek olarak farklı faydalar sunduğu yönünde de çok sayıda kanıt mevcuttur [70].

Referanslar

1. Antunes-Rodrigues J, de Castro M, Elias LL et al (2004) Neuroendocrine control of body fluid metabolism. Physiol Rev 84(1):169–208
2. Cordain L, Eaton SB, Miller JB et al (2002) The paradoxical nature of huntergatherer diets: meat-based, yet non-atherogenic. Eur J Clin Nutr 56 Suppl1:S42–S52
3. Eaton SB, Konner M (1985) Paleolithic nutrition. A consideration of its nature and current implications. N Engl J Med 312:283–289
4. Elliott P, Stamler J, Nichols R et al (1996) Intersalt revisited: further analysis of 24 hour sodium excretion and blood pressure within and across populations. Intersalt Coop Res Group. BMJ 312:1249–1253
5. Kupari M, Koskinen P, Virolainen J (1994) Correlates of left ventricular mass in a population sample aged 36 to 37 years. Focus on lifestyle and salt intake. Circulation 89:1041–1050
6. Strazzullo P, D'Elia L, Kandala NB et al (2009) Salt intake, stroke, and cardiovascular disease: meta-analysis of prospective studies. BMJ. doi:10.1136/bmj.b4567
7. Cianciaruso B, Bellizzi V, Minutolo R et al (1998) Salt intake and renal outcome in patients with progressive renal disease. Miner Electrolyte Metab 24(4):296–301

8. Cappuccio FP, Kalaitzidis R, Duneclift S et al (2000) Unravelling the links between calcium excretion, salt intake, hypertension, kidney stones and bone metabolism. J Nephrol 13:169–177
9. Devine A, Criddle RA, Dick IM et al (1995) A longitudinal study of the effect of sodium and calcium intakes on regional bone density in postmenopausal women. Am J Clin Nutr 62:740–745
10. Stewart BW, Kleihues P (2003) World cancer report. IARC Press, Lyon
11. Kamangar F, Dores GM, Anderson WF (2006) Patterns of cancer incidence, mortality, and prevalence across five continents: defining priorities to reduce cancer disparities in different geographic regions of the world. J Clin Oncol 24:2137–2150
12. Parkin DM (2006) The global health burden of infection associated cancers in the year 2002. Int J Cancer 118:3030–3044
13. World Cancer Research Fund/American Institute for Cancer Research (2007) Food, nutrition, physical activity, and the prevention of cancer: a global perspective. AICR, Washington DC
14. D'Elia L, Rossi G, Ippolito R et al (2012) Habitual salt intake and risk of gastric cancer: a meta-analysis of prospective studies. Clin Nutr. doi:10.1016/j.clnu.2012.01.003
15. Tatematsu M, Takahashi M, Fukushima S et al (1975) Effects in rats of sodium chloride on experimental gastric cancers induced by N-methyl-N-nitro-N-nitrosoguanidine or 4-nitroquinoline-1-oxide. J Natl Cancer Inst 55:101–106
16. Fox JG, Dangler CA, Taylor NS et al (1999) High-salt diet induces gastric epithelial hyperplasia and parietal cell loss, and enhances Helicobacter pylori colonization in C57BL/6 mice. Cancer Res 59:4823–4828
17. Charnley G, Tannenbaum SR (1985) Flow cytometric analysis of the effect of sodium chloride on gastric cancer risk in the rat. Cancer Res 45:5608–5616
18. Furihata C, Ohta H, Katsuyama T (1996) Cause and effect between concentration-dependent tissue damage and temporary cell proliferation in rat stomach mucosa by NaCl, a stomach tumor promoter. Carcinogenesis 17:401–406
19. Tsugane S, de Souza JM, Costa ML Jr et al (1990) Cancer incidence rates among Japanese immigrants in the city of Sao Paulo, Brazil, 1969–78. Cancer Causes Control 1:189–193
20. Joossens JV, Hill MJ, Elliott P et al (1996) Dietary salt, nitrate and stomach cancer mortality in 24 countries. European cancer prevention (ECP) and the INTERSALT cooperative research group. Int J Epidemiol 25:494–504
21. Kneller RW, Guo WD, Hsing AW et al (1992) Risk factors for stomach cancer in sixty-five Chinese counties. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 1:113–118
22. Tsugane S, Gey F, Ichinowatari Y et al (1992) Cross-sectional epidemiologic study for assessing cancer risks at the population level. I. Study design and participation rate. J Epidemiol 2:75–81
23. Tsugane S, Gey F, Ichinowatari Y et al (1992) Cross-sectional epidemiologic study for assessing cancer risks at the population level. II. Baseline data and correlation analysis. J Epidemiol 2:83–89
24. Ji BT, Chow WH, Yang G et al (1998) Dietary habits and stomach cancer in Shanghai, China. Int J Cancer 76:659–664
25. Lee JK, Park BJ, Yoo KY et al (1995) Dietary factors and stomach cancer: a case-control study in Korea. Int J Epidemiol 24:33–41
26. Graham S, Haughey B, Marshall J et al (1990) Diet in the epidemiology of gastric cancer. Nutr Cancer 13:19–34
27. López-Carrillo L, López-Cervantes M, Ward MH et al (1999) Nutrient intake and gastric cancer in Mexico. Int J Cancer 83:601–605
28. Coggon D, Barker DJ, Cole RB et al (1989) Stomach cancer and food storage. J Natl Cancer Inst 81:1178–1182
29. La Vecchia C, Negri E, Franceschi S et al (1997) Case-control study on influence of methionine, nitrite, and salt on gastric carcinogenesis in northern Italy. Nutr Cancer 27:65–68

30. Ramón JM, Serra-Majem L, Cerdó C et al (1993) Nutrient intake and gastric cancer risk: a case-control study in Spain. Int J Epidemiol 22:983–988
31. Peleteiro B, Lopes C, Figueiredo C et al (2011) Salt intake and gastric cancer risk according to Helicobacter pylori infection, smoking, tumour site and histological type. Brit J Cancer. doi:10.1038/sj.bjc.6605993
32. Tsugane S, Sasazuki S, Kobayashi M et al (2004) Salt and salted food intake and subsequent risk of gastric cancer among middle-aged Japanese men and women. Br J Cancer 90:128–134
33. Kurosawa M, Kikuchi S, Xu J et al (2006) Highly salted food and mountain herbs elevate the risk for stomach cancer death in a rural area of Japan. J Gastroenterol Hepatol 21:1681–1686
34. Shikata K, Kiyohara Y, Kubo M et al (2006) A prospective study of dietary salt intake and gastric cancer incidence in a defined Japanese population: the Hisayama study. Int J Cancer 119:196–201
35. Galanis DJ, Kolonel LN, Lee J et al (1998) Intakes of selected foods and beverages and the incidence of gastric cancer among the Japanese residents of Hawaii: a prospective study. Int J Epidemiol 27:173–180
36. Van den Brandt PA, Botterweck AA, Goldbohm RA (2003) Salt intake, cured meat consumption, refrigerator use and stomach cancer incidence: a prospective cohort study (Netherlands). Cancer Causes Control 14:427–438
37. González CA, Jakszyn P, Pera G et al (2006) Meat intake and risk of stomach and esophageal adenocarcinoma within the European prospective investigation into cancer and nutrition (EPIC). J Natl Cancer Inst 98(5):345–354
38. McCullough ML, Robertson AS, Jacobs EJ et al (2001) A prospective study of diet and stomach cancer mortality in United States men and women. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 10(11):1201–1205
39. Kneller RW, McLaughlin JK, Bjelke E et al (1991) A cohort study of stomach cancer in a high-risk American population. Cancer 68(3):672–678
40. Sauvaget C, Lagarde F, Nagano J et al (2005) Lifestyle factors, radiation and gastric cancer in atomic-bomb survivors (Japan). Cancer Causes Control 16(7):773–780
41. Tokui N, Yoshimura T, Fujino Y et al (2005) Dietary habits and stomach cancer risk in the JACC study. J Epidemiol 15(Suppl. 2):S98–108
42. Dias-Neto M, Pintalhao M, Ferreira M et al (2010) Salt intake and risk of gastric intestinal metaplasia: systematic review and meta-analysis. Nutr Cancer 62:133–147
43. Kato S, Tsukamoto T, Mizoshita T et al (2006) High salt diets dose-dependently promote gastric chemical carcinogenesis in Helicobacter pylori-infected Mongolian gerbils associated with a shift in mucin production from glandular to surface mucous cells. Int J Cancer 119:1558–1566
44. Machida-Montani A, Sasazuki S, Inoue M et al (2004) Association of Helicobacter pylori infection and environmental factors in non-cardia gastric cancer in Japan. Gastric Cancer 7:46–53
45. Tsugane S, Tei Y, Takahashi T et al (1994) Salty food intake and risk of Helicobacter pylori infection. Jpn J Cancer Res 85:474–478
46. Beevers DG, Lip GY, Blann AD (2004) Salt intake and Helicobacter pylori infection. J Hypertens 22:1475–1477
47. Shimizu N, Kaminishi M, Tatematsu M et al (1998) Helicobacter pylori promotes development of pepsinogen-altered pyloric glands, a preneoplastic lesion of glandular stomach of BALB/c mice pretreated with N-methyl-N-nitrosourea. Cancer Lett 123:63–69
48. Toyoda T, Tsukamoto T, Hirano N et al (2008) Synergistic upregulation of inducible nitric oxide synthase and cyclooxygenase-2 in gastric mucosa of Mongolian gerbils by a high-salt diet and Helicobacter pylori infection. Histol Histopathol 23:593–599
49. Nozaki K, Shimizu N, Inada K et al (2002) Synergistic promoting effects of Helicobacter pylori infection and high-salt diet on gastric carcinogenesis in Mongolian gerbils. Jpn J Cancer Res 93:1083–1089

50 Loh JT, Torres VJ, Cover TL (2007) Regulation of Helicobacter pylori cagA expression in response to salt. Cancer Res 67:4709–4715
51. Wang TC, Dangler CA, Chen D et al (2000) Synergistic interaction between hypergastrinemia and Helicobacter infection in a mouse model of gastric cancer. Gastroenterology 118:36–47
52. Takahashi M, Nishikawa A, Furukawa F et al (1994) Dose-dependent promoting effects of sodium chloride (NaCl) on rat glandular stomach carcinogenesis initiated with N -methyl-N'-nitro- N -nitrosoguanidine. Carcinogenesis 15:1429–1432
53. Tricker AR, Preussmann R (1991) Carcinogenic N-nitrosamines in the diet: occurrence, formation, mechanisms and carcinogenic potential. Mutat Res 259:277–289
54. Takahashi M, Hasegawa R (1985) Enhancing effects of dietary salt on both initiation and promotion stages of rat gastric carcinogenesis. Princess Takamatsu Symp 16:169–182
55. Leung WK, Wu KC, Wong CY et al (2008) Transgenic cyclooxygenase-2 expression and high salt enhanced susceptibility to chemical-induced gastric cancer development in mice. Carcinogenesis 29:1648–1654
56. Ferlay J, Bray F, Parkin DM, Pisani P (eds) (2001) Gobocan 2000: cancer incidence and mortality worldwide (IARC cancer bases no. 5). IARC Press, Lyon
57. Lau M, Le A, El-Serag HB (2006) Noncardia gastric adenocarcinoma remains an important and deadly cancer in the United States: secular trends in incidence and survival. Am J Gastroenterol 101:2485–2492
58. Parkin DM (1998) Epidemiology of cancer: global patterns and trends. Toxicol Lett 102–103:227–234
59. Parkin DM, Pisani P, Ferlay J (1999) Global cancer statistics. CA Cancer J Clin 49:33–64
60. Jemal A, Siegel R, Ward E et al (2006) Cancer statistics. CA Cancer J Clin 56(2):106–130
61. Donfrancesco C, Ippolito R, Lo Noce C et al (2012) Excess dietary sodium and inadequate potassium intake in Italy: results of the MINISAL study. Nutr Metab Cardiovasc Dis. doi: 10.1016/j.numecd.2012.04.004
62. MRC, Human Nutrition Research, National Centre for Social Research (2008) An assessment of dietary sodium levels among adults (aged 19–64) in the UK general population in 2008, based on analysis of dietary sodium in 24 hour urine samples. 2008/0730 http://www.food.gov.uk/news/pressreleases/2008/jul/sodiumrep08. Accessed 22 July 2008
63. Brown IJ, Tzoulaki I, Candeias V et al (2009) Salt intakes around the world: implications for public health. Int J Epidemiol 38:791–813
64. World Health Organization (2003) Diet, nutrition and the prevention of chronic diseases: report of a joint WHO/FAO expert consultation
65. Campbell N, Correa-Rotter R, Neal B et al (2011) New evidence relating to the health impact of reducing salt intake. Nutr Metab Cardiovasc Dis 21(9):617–619
66. Cappuccio FP, Capewell S, Lincoln P et al (2011) Policy options to reduce population salt intake. BMJ 343:d4995
67. Geneau R, Stuckler D, Stachenko S et al (2010) Raising the priority of preventing chronic diseases: a political process. Lancet 376(9753):1689–1698
68. Strazzullo P, Cairella G, Campanozzi A et al (2012) Population based strategy for dietary salt intake reduction: Italian initiatives in the European framework. Nutr Metab Cardiovasc Dis 22(3):161–166
69. World Health Organization (2007) Reducing salt intake in populations. Report of a WHO Forum and Technical Meeting, Geneva
70. Capewell S, O'Flaherty M (2011) Rapid mortality falls after risk-factor changes in populations. Lancet. doi:10.1016/S0140-6736(10)62302-1

Alkollü İçkiler ve Gazlı İçecekler: Tüketim ve Gastrointestinal Kanser Riski

Rosario Cuomo, Paolo Andreozzi ve Francesco Paolo Zito

Özet

Alkollü içkiler (Aİ) ve gazlı içecekler (Gİ) Dünya çapında yaygın olarak tüketilmektedir. Bu içeceklerin yüksek tüketimi bilim camiasının dikkatini sağlık üzerindeki etkilerine çekmiştir. Alkollü içkilerin tüketimi ile sindirim sistemi kanserleri arasındaki nedensel ilişki ile ilgili epidemiyolojik veriler mevcuttur. Ancak alkolün kanserdeki rolü tam olarak belirlenmemiştir. Deneysel çalışmalarda karsinogenezde rol alan çeşitli mekanizmalar belirlenmiştir; etanol karsinojenik olmamasına rağmen her ikisi de etanol metabolizmasının ürünü olan asetaldehit (AA) ve reaktif oksijen türleri karsinogenezi indükleyen genotoksik etkiye sahiptir. Diğer karsinogenetik mekanizmalar arasında nutrisyonel defisitler, DNA metilasyonunda değişimler ve bozulmuş immun gözetim mevcuttur. Alkollü içkilerin sıklıkla belirli gastrointestinal bozuklara yol açtığından şüphelenildiği için bazı araştırıcılar gastrointestinal kanserlerde rol oynadıkları hipotezini ortaya atmıştır. Karbondioksit gastrointestinal fizyolojiyi direkt mukozal etki ile değiştirmesi ve gaz olmasının yarattığı mekanik basınç ile oluşan indirekt etkisi ile diğer tüm bileşenler arasında ön plana çıkmaktadır. Şeker ve yapay tatlandırıcıların da karsinojenik proseste rol oynayabileceği yönünde tartışmalar mevcuttur. Ancak yapılan çeşitli araştırmalarda gazlı içecekler ile özofagus, gastrik ve kolon kanserleri arasında herhangi bir ilişki gösterilememiştir. Diğer yandan gazlı içeceklerin tüketimi ile pankreas kanseri arasında hafif bir korelasyon bulunmuştur.

R. Cuomo (✉) · P. Andreozzi · F. P. Zito
Department of Clinical & Experimental Medicine, Hospital School of Medicine, Federico II University, Via S. Pansini 5, Building no. 6, 80131, Naples, Italy
e-mail: rcuomo@unina.it

P. Andreozzi
e-mail: paoloandre.85@gmail.com

V. Zappia et al. (eds.), *Advances in Nutrition and Cancer,*
Cancer Treatment and Research 159, DOI: 10.1007/978-3-642-38007-5_7,
© Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2014

Anahtar Kelimeler

Etanol • Gazlı içecekler • Gastrointestinal kanser

Kısaltmalar

AA	Asetaldehit
Aİ	Alkollü İçkiler
ADH	Alkol dehidrogenaz
ALDH	Aldehit dehidrogenaz
CI	Güven aralığı
Gİ	Gazlı içecekler
CYP2E1	Sitokrom P450 2E1
EGJAC	Özofagogastrik bileşimin adenokarsinomu
GCA	Gastrik kardiya adenokarsinomu
Gİ	Gastrointestinal
HCC	Hepatoselüler karsinom
MNNG	N-metil-N0-nitro-N-nitrozoguanidin
NCGA	Kardiya dışı gastrik adenokarsinom
NIH-AARP	Ulusal Sağlık Enstitüleri-Amerikan Emekliler Birliği
RR	Rölatif risk
SAMe	S-adenozil metionin

İçindekiler

1 Giriş 99
2 Alkollü İçkiler ve Gastrointestinal Kanser 100
2.1 İnsan Çalışmaları 101
2.2 Alkol Hasarı: Hayvan Deneyleri 103
2.3 Alkollü İçkiler ve Gastrointestinal Kanserler: Muhtemel Mekanizmalar 104
3 Gazlı içecekler ve Gastrointestinal Kanser 106
3.1 Gazlı içecekler ve Gastrointestinal Kanser: İnsan Çalışmaları 108
3.2 Gazlı içecekler ve Gastrointestinal Kanser: Hayvan Deneyleri 113
3.3 Muhtemel Mekanizmalar 113
4 Sonuçlar Referanslar 115
Referanslar 116

1 Giriş

Alkollü içkiler (Aİ) ve gazlı içecekler (Gİ) Dünya çapında yaygın olarak tüketilmektedir. Dünya Sağlık Örgütü'nün son raporunda 2005 yılındaki yetişkin başına yıllık alkol tüketimi 6.13 litredir. Bu rakam batı uygarlıklarında ve ekonomisi büyüyen ülkelerde daha yüksektir. Etanol tüketimi 1990 yılında beri sabit kalmış olsa da gençler arasında tüketim artışı görülmektedir [26]. Gazlı içecekler son birkaç dekadda hızla yaygınlaşarak Aİ tüketimini geçmiştir. Gazlı içecekler günümüzdeki en popüler meşrubat tipidir. Birçok insanın bunları günlük olarak tüketmeleri enerji alımının majör komponentlerinden birisi haline gelmelerini sağlamıştır [67]. 2006 yılındaki kişi başına yıllık Gİ tüketimi 30.2 litredir. Tüketimleri gelişmekte olan ülkelerde artarken Kuzey Amerika ve Avrupa'da sabit seyretmekte veya azalmaktadır [74]. Alkollü içkiler ve gazlı içeceklerin insan sağlığı üzerindeki etkilerini araştıran çeşitli çalışmalarda ortaya farklı sonuçlar çıkmıştır. Alkol nedeniyle oluşan sağlık yükü çok yüksektir: Önemli kronik hastalıklara yol açmakta ve dünyadaki ölüm nedenleri arasında üçüncü sırada yer almaktadır (global ölümlerin %3-8'i). Alkollü İçecekler nöropsikiyatrik, kardiyovasküler, gastrointestinal ve karaciğer hastalığı ile ilişkilidir. Aynı zamanda intihar, şiddet ve yaralanmalara da yol açarlar [58]. Ayrıca başta gastrointestinal kanal kanserleri olmak üzere çeşitli kanser tiplerinin etanol tüketimi ile ilişkisi alkol tüketimi ile ilişkili global ve spesifik kanser riskini araştıran çok sayıda insan çalışması ile konfirme edilmiştir.

Gazlı içeceklerin kompleks içerikleri nedeniyle insan sağlığı üzerindeki etkilerini tespit etmek çok zordur. Şeker veya yapay tatlandırıcılar içeren hem düşük hem yüksek kalorili gazlı içecekler mevcuttur. Gazlı içeceklerde farklı yapay tatlandırıcılar kullanılmaktadır: aspartam, sakarin, sukraloz, sorbitol, mannitol ve diğer birçok çeşit. Uluslararası bilim camiası bu içeceklerin metabolik etkileri ile ilgili olarak alarm halindedir. Ana endişe yüksek kalorili gazlı içeceklerin çocuk ve adolesanlar tarafından tüketilmesidir. Çünkü çeşitli çalışmalarda gazlı içeceklerin sıklıkla daha besleyici olan süt ve meyve suyunun yerini aldığını göstermektedir [39]. Gazlı içecekler ile obezite ve metabolik sendrom arasındaki ilişki olduğu hipotezi mevcuttur. Ayrıca dental, pulmoner ve kardiyovasküler hastalıklar da bu içeceklerin tüketimi ile ilişkilidir. Gazlı içeceklerin bazı bileşenlerinin direkt ve indirekt etkisi olduğu varsayılmış olsa da tüketimleri ile çeşitli kanser türleri arasındaki ilişki hala net değildir. Bu makalede etanol ve Gİ tüketiminin neoplastik hastalıklarla ilişkilerini incelerken esas olarak gastrointestinal kanserlere odaklanacağız. Bu ilişkinin doğru bir şekilde değerlendirilebilmesi için Aİ ve gazlı içecekleri ayrı ayrı değerlendireceğiz. Amacımız bu içeceklerin tüketimiyle ilişkili kanser riski ile ilgili epidemiyolojik verilere ve olası karsinojenik mekanizmalara odaklanmaktır. Gazlı içecekler çok sayıda bileşen içerdikleri için başlıca karbondioksit, şeker, tatlandırıcı ve katkı maddelerinin insan sağlığı üzerindeki etkilerini değerlendireceğiz.

2 Alkollü İçkiler ve Gastrointestinal Kanser

Alkol ve kanser ilişkisine ilginin giderek artması bu içeceklerin tüm dünyada yaygın olarak kullanılmasından kaynaklanmaktadır. Alkollü İçeceklerin çeşitli kanserler için risk faktörü olduğunu gösteren çok miktarda kanıt mevcuttur. Orta derecede tüketilse bile, alkolün sindirim sistemi, oral kavite, larenks ve meme kanseri ile ilişkisi vardır [10]. Bu korelasyon etanolün (veya metabolitlerinin) insanda karsinogenezise katkı yapan bir faktör olduğunu gösteren çok sayıda epidemiyolojik ve hayvan çalışmasıyla desteklenmektedir.

Güncel bir makalede tüm kanser vakalarının %3.6'sının alkol ile ilişkili olduğu tespit edilmiştir. Bu oran dünyanın farklı coğrafi bölgelerindeki tüketim farklılıkları nedeniyle büyük değişkenlikler göstermektedir [10]. Bu veriler alkol tüketimi ile ilişkili büyük sağlık yükünü konfirme etmektedir. Alkolün karsinojenik etkileri ilgili artan kanıtlar Uluslararası Kanser Araştırma Ajansının alkollü içkilerde bulunan etanol ve asetaldehiti (AA) insanlar için kesinlikle karsinojen olarak sınıflamasına neden olmuştur [79]. Ancak alkol karsinogenezinin mekanizması henüz kesin olarak belirlenememiştir. Bu süreçte rol oynayan mekanizmalar muhtemelen çeşitli hedef organlara göre farklılıklar göstermektedir [10].

Tablo 1 Alkollü içki tüketimi ile ilişkili rölatif gastrointestinal kanser riski

Organ	Alkol tüketimi	RR	CI	Sinerji
Özofagus				
Skuamoz hücreli karsinom	210-420 gr/hafta	1.93	1.08–3.45	Sigara
Pandeya ve ark.[71]	>420 gr/hafta	4.67	2.28–9.55	
Adenokarsinom	210-420 gr/hafta	0.67	0.37–1.21	
Pandeya ve ark.[71]	>420gr/hafta	0.89	0.42–1.89	
Mide	>25gr/gün	1.07	1.04–1.10	Sigara
Bagnardi ve ark.[3]	>100gr/gün	1.32	1.18–1.49	
	1-4 kez/14 gün	1.30	0.78–2.16	
Sjodahl ve ark.[81]	>4 kez/14 gün	1.49	0.78–2.83	
Kolon ve rektum	30-45 gr/gün	1.16	0.99–1.36	Folat eksikliği
Cho ve ark.[14]	>45gr/gün	1.41	1.16–1.72	
Karaciğer	>0 gr/gün	2.4	1.3–4.4	Viral hepatit
Hassan ve ark.[40]	>80 g/gün	4.5	1.4–14.8	
Pankreas	>60 g/gün	1.38	0.86–2.23	Sigara-alkol-kadın cinsiyet
Michaud ve ark.[62]				

2.1 İnsan Çalışmaları

Çeşitli epidemiyolojik çalışmalarda kanser ve alkol tüketimi arasındaki korelasyon incelenmiştir. Kanada'da yapılan popülasyon tabanlı, vaka kontrol çalışmasında alkol tüketenlerdeki çeşitli kanser türlerinin (özofagus, mide, kolon, karaciğer, pankreas, akciğer, prostat) rölatif riskinin (RR) alkol kullanmayanlara veya ara sıra kullananlara göre daha yüksek olduğu gösterilmiştir [7].

Ancak mevcut veriler, özellikle bazı kanser türleri için (mide, pankreas ve kolon) çelişkilidir. Bu farklılıklar kısmen güvenli alkol kullanımı ile ilgili kabul edilen bir eşik değer olmamasından kaynaklanmaktadır [97]. Bu eşik değerin yokluğu bireylerin kanser riskine maruz kalıp kalmadığını anlamamıza engel olmaktadır. Bir başka neden de bir bireyin alkol tüketiminin tahmin edilmesindeki güçlüktür. Diğer taraftan birçok çalışmada kanser gelişiminde etkili olma ihtimali olan çeşitli tiplerdeki içecekler (şarap, sert içkiler, bira vs.) ve sigara gibi diğer risk faktörleri göz önüne alınmamaktadır. Ayrıca çalışmalara kaydedilen denek sayılarının farklı olması alkol kullanımına bağlı kanser riski ile ilgili çelişkili sonuçların bir başka nedeni olabilir.

Bu makalede sadece alkollü içecekler ile gastrointestinal kanal kanserleri arasındaki ilişkiyi araştıran epidemiyolojik çalışmalara odaklanacağız (bkz. Tablo 1).

2.1.1 Özofagus Kanseri

Çeşitli epidemiyolojik çalışmalarda kronik alkol tüketimi ile skuamoz hücreli özofagus karsinomu (ESCC) arasında nedensel bir ilişki gösterilmiştir; tüketim dozuna bağlı olan bu ilişki sigara kullanımı ile de sinerjistik etkiye sahiptir. Büyük bir vaka kontrol çalışmasında özofagus kanseri ile alkol kullanımı arasındaki ilişki değerlendirilmiştir; veriler ESCC'nin rölatif riskinin 210-419.9 gr/hafta alkol tüketenlerde 1.93 (CI 1.08-3.45), 420 gr/hafta'dan daha fazla tüketenlerde de 4.67 (CI 2.28-9.55) seviyesine yükseldiğini göstermiştir. 420 gr/hafta'dan daha fazla alkol tüketen ve sigara kullananlardaki rölatif risk 21.87 (CI 3.90-122.49) bulunmuştur [71]. Çeşitli çalışmalar da bulunan bu ilişkiyi konfirme etmektedir: Boffetta ve ark. [9] günde 12 gr (RR=1.37) alkol tüketenlerde tespit ettikleri risk artışının günde 72 gr alkol tüketenlerde (RR=5.8) daha da arttığını tespit etmişlerdir.

Eski çalışmalarda da özofagus adenokarsinomu riskinin alkol tüketimi ile anlamlı olarak arttığı ortaya koyulmuştur [98]. Ancak popülasyon tabanlı çalışmalara alkol tüketimi ile Barrett özofagusu ve özofagus adenokarsinomu arasında bir ilişki gösterilememiştir [2, 47, 71].

2.1.2 Mide Kanseri

Alkol tüketiminin mide kanserini etkilediği yönünde tutarlı veriler mevcut değildir. Epidemiyolojik çalışmaların verileri alkolün mide kanseri gelişimindeki zararlı etkilerini kesin olarak desteklememektedir.

Vaka kontrol ve kohort çalışmalarının bir metaanalizinde 25 gr/gün ve 100 gr/gün alkol tüketimi ile rölatif riskin hafifçe arttığı bulunmuştur. 25 gr/gün tüketim için RR=1.07

(CI 1.04-1.10); 100 gr/gün tüketim için RR=1.32 (CI 1.18-1.49) [3]. Devamında yapılan büyük ölçekli kohort çalışmasında bira, şarap ve sert içki tüketimi ile gastrik kanser arasında bir ilişki gösterilememişken, orta-sert/sert bira tüketiminin rölatif riski 2.09 (CI 1.11-3.93) bulunmuştur [50]. Çalışmanın yazarları alkolden ziyade biranın içindeki bileşenlerin mide kanseri riskinde artış ile ilişkili olabileceğini bildirmişlerdir.

Ek olarak Norveç'te yapılan güncel bir kohort çalışmasında tek başına alkol tüketiminin kanser risk ile anlamlı ilişkisi olmadığı, ancak yüksek sigara (>20 adet/gün) ve alkol (>5 kez/ 14 gün) kullanımı ile görülen gastrik kanser riskinin sigara içmeyen veya alkol kullanmayan bireylere göre yükseldiği bildirilmiştir (RR = 4.38 CI 1.72–11.17) [81].

2.1.3 Kolorektal Kanser

Alkolün kolon ve rektum üzerindeki karsinojenik etkileri tartışmalıdır. Kronik alkoliklerde bozulan metabolizma ve diyetle yetersiz alım sonucu oluşan düşük folat seviyeleri kolorektal kanserde artışa yol açabilmektedir. Breslow ve Enstrom 1974 yılında bira tüketimi ile rektal kanser ilişkisini ilk kez araştıran bilim adamlarıdır [13]. Devamında gerçekleştirilen bazı çalışmalar ve metaanalizler alkol tüketiminin kolorektal kanser riskini hafifçe artırdığı hipotezini desteklemiştir [17, 27]. Kohort çalışmalarının güncel bir toplu analizi de alkol ve kolorektal kanser arasındaki ilişkiyi desteklemektedir. 30-45 gr/gün ve 45 gr/gün'den daha yüksek etanol tüketenlerdeki rölatif riskler içki içmeyenler ile kıyaslandığında sırasıyla 1.16 (CI 0.99-1.36) ve 1.41 (CI 1.16-1.72) şeklindedir. Farkı alkollü içeceklerin kolon ve rektum kanseri riskini etkileme dereceleri arasında bir fark gözlenmemiştir [14].

2.1.4 Hepatoselüler Karsinom

Alkol ve karaciğer kanseri arasındaki ilişki özellikle hepatoselüler kanser (HCC) bazında iyi bilinmektedir [72]. Alkol tüketiminin ABD ve Kuzey Avrupa gibi hepatit A ve B virüs enfeksiyonlarının prevalanslarının düşük olduğu popülasyonlarda HCC gelişimi için en önemli risk faktörü olduğu kabul edilmektedir. Alkole bağlı HCC gelişiminde rol oynayan ana karsinojenik mekanizmanın karaciğer sirozu gelişimine bağlı olması muhtemeldir. Ancak reaktif oksijen türleri veya AA ve karsinojenlerin hepatik metabolizmalarının artışı ile indüklenen DNA hasarının da bir rolü olabilir. Ayrıca tütün ve hepatit B veya C virüsü gibi eşlik eden diğer faktörler de HCC riskini artırabilir. Global alkol tüketimi için rölatif risk 2.4 (CI 1.3-4.4) seviyesinde iken, bu oran aşırı alkol tüketenlerde (>80 gr/gün) 4.5 (CI 1.4-14.8) bulunmuştur. Kronik viral hepatit ve ağır alkol tüketimi birlikteliğindeki rölatif risk ise 53.9 (CI 7.0-415.7) bulunmuştur [40].

2.1.5 Pankreas Kanseri

Alkol tüketimine bağlı olarak gelişen kronik pankreatit, alkollü içkilerin pankreatik karsinogenezde de rol oynayabileceği düşüncesini doğurmuştur. Bazı çalışmalarda alkol

tüketiminin pankreatik adenokarsinom için muhtemel bir risk faktörü olduğu belirlenmiştir. Ancak bu ilişkinin geçerliliği hala tartışılmaktadır.

14 kohort çalışmasını değerlendiren güncel bir metaanalizde >30 gr/gün alkol tüketen kadınlardaki pankreas kanseri riskinin alkol kullanmayanlara göre arttığı (RR 1.41, CI 1.07–1.85) bulunurken erkeklerde bir ilişki tespit edilememiştir ve çeşitli alkollü içkilerin kanser riski üzerinde farklı etkileri bulunmamıştır. Bu veriler maruz kalınan yıl sayısı, yaş, sigara, vücut kütle indeksi ve diyabete göre düzeltilmiştir [32]. İkinci bir metaanalizde de karıştırıcı faktörlere göre düzeltilen veriler alkol tüketimi ile kanser arasında anlamlı bir ilişki göstermemiştir (RR 1.38, CI 0.86–2.23). Ancak ciddi içki tüketen erkeklerdeki risk artmıştır (>45 gr/gün) (RR 2.23, CI 1.02–4.87) [62].

Pankreas kanseri ile alkol tüketimi arasındaki muhtemel ilişkinin netleştirilebilmesi için yeni çalışmalara ihtiyaç vardır.

2.2 Alkol Hasarı: Hayvan Deneyleri

Deneysel hayvan çalışmalarında alkol karsinogenezinde rol oynayan bazı mekanizmaların rolü gösterilebilmiştir. Alkolün hayvanlardaki karsinojenik etkisi kullanılan deney yöntemine bağlıdır. Alkolün lokal uygulanması ile oluşan tümör irritan etkiye bağlıdır. Ancak sistemik uygulamada kimyasal yolla indüklenen karsinogenezi stimüle edici etki göstermektedir [72]. Alkolün tek başına bir karsinojen olmadığı ile ilgili kanıtlar uzun süredir mevcuttur: Alkol farelere transplante edilen tümörlerdeki DNA mutasyonlarını, tümör büyümesini veya metastatik yayılımı stimüle edemez [46]. Alkol tek başına kanser gelişimine yol açamıyor da olsa direkt karsinojenlerin etkilerini artırdığı için kokarsinojen olarak değerlendirilir. Ayrıca deneysel çalışma verileri alkolün karsinojenik etkilerinin kendisinden değil, yol açtığı AA üretiminden kaynaklandığı görüşünü desteklemektedir [80].

Sıçanlara AA uygulanması ile üst gastrointestinal kanal epitelinde hiperplastik ve hiperproliferatif değişimlerin indüklenebildiği gösterilmiştir [42]. Çeşitli bakterilerin alkolü AA'ya metabolize edebilmesini değerlendiren bazı araştırmacılar alkolle ilişkili üst gastrointestinal sistem kanserlerinde oral bakterilerin olası rolü ile ilgili bir hipotez geliştirmişlerdir [80].

Alkolün gastrik kanserdeki rolü ile ilgili hayvan deneyi verileri çelişkilidir. Alkolün bilinen gastrik karsinojenlerin etkisini artırıcı özelliği ile ilgilenen bazı araştırmacılar birlikte uygulama yaparak olası sinerjistik etkileri araştırmışlardır. Ancak N-metil-N0-nitro-N-nitrozoguanidin (MNNG) uygulanan sıçanlara içme suyu içinde verilen %10'luk kronik etanol ile görülen gastrik tümör gelişimi kontrol grubundan bir farklılık göstermemiştir [94].

Ayrıca deney hayvanlarından elde edilen veriler alkolün karaciğer kanserini tek başına indükleyemediğini göstermektedir. Tümör indükleyici bileşik olarak nitrozamin uygulaması yapılan hayvan deneylerinde tek başına etanolün hepatokarsinogenezi inhibe edebildiği gösterilmiştir [72]. Sadece, alkol ile hepatektomi [86] veya düşük metil donör

diyeti [92] gibi diğer karsinojenik faktörlerin kombinasyonunun hayvan modellerindeki karaciğer tümörlerinin gelişimi ile ilişkili olduğu gösterilmiştir.

2.3 Alkollü İçkiler ve Gastrointestinal Kanserler: Muhtemel Mekanizmalar

Alkol karsinogenezisinin altında yatan faktörler tam olarak anlaşılamamıştır. Muhtemelen birçok farklı bölgede etki yapabilen diğer karsinojenlere bağlı olarak hedef organ bazında farklılıklar gösterebilir. Eldeki kanıtlar etanolün tek başına karsinojen olmadığını göstermektedir [46]. Ancak mukozanın karsinojenlere maruziyetini artıran lokal bir etkiye sahip olabilir. Ancak etanol metabolizması (AA üretimi veya sitokrom P450 2E1'in indüksiyonu), nutrisyonel defisitler ve bozulmuş gen ekspresyonu ya da immun gözetim sistemi, alkol ile ilişkili karsinogenezde rol oynadığı düşünülen ana mekanizmalardır [72] (bkz. Tablo 2).

Ayrıca alkol ve folat metabolizması ile ilişkili genlerdeki varyantlar alkol kullananlardaki kanser gelişimini etkileyebilmektedir. Etanole maruziyet sonucunda oluşan hücresel toksik etkiler ile kişisel duyarlılık derecesi arasındaki ilişkinin sonucunda kanser gelişiminin etkilendiğini gösteren kanıtlar mevcuttur [22].

2.3.1 Lokal Etkiler

Akut etanol uygulamasının solvent etkisi göstererek biyolojik membranların geçirgenliğini artırdığını ve karsinojenik moleküllerin hücre içine girişini kolaylaştırdığını gösteren güçlü kanıtlar mevcuttur [96].

Tablo 2 Alkollü içkilere bağlı karsinogenezin olası mekanizmaları

	Etanol etkisi	Karsinojenik mekanizma
Lokal etkiler	Etanolün solvent etkisi	Karsinojenlerin epitel hücrelerine girişlerinin kolaylaşması
	Tükürük bezlerinin morfolojik ve fonksiyonel değişimleri	
	Reaktif oksijen ve nitrojen türlerinin üretimi	Oksidatif stres, lipid peroksidasyonu ve DNA hasarı
Etanol metabolizması	Asetaldehit üretimi	Stabil katım ürünlerinin DNA ile üretimi
	Sitokrom CYP2E1 indüksiyonu	Prokarsinojen metabolizmanın bozulması
Gen ekspresyon değişimleri	Folat eksikliği, metioninsentetaz ve DNA metilaz inhibisyonu	Tümör yapıcı genlerin azalmış metilasyonu
İmmun gözetim	Doğal katil hücrelerin bazı aktivitelerinin inhibisyonu	Kanser büyümesinin kolaylaşması
Nutrisyonel bozukluklar	Folat, vitamin A ve beta karoten eksiklikleri	DNA metilasyonunun bozulması ve oksidatif stres artışı

Bu etkiler alkol ve sigaranın baş ve boyun kanserlerindeki sinerjistik etkisini açıklayabilir. Aynı etki sigara içmeyenlerde mevcut değildir. Diğer yandan oral kavitenin kronik alkole maruz kalması ile spesifik bir savunma mekanizmasında bir dizi morfolojik ve fonksiyonel değişimler oluşabilmektedir: Parotis ve submaksiller bezlerin alkole bağlı atrofileri sonucunda tükürük miktarının azalması ve vizkozitesinin artışı oral kavitedeki karsinojenlerin temizlenmelerinin azalmasına yol açar. Böylece epitel hücreleri daha yüksek konsantrasyonda karsinojene maruz kalmış olur [55].

2.3.2 Etanol Metabolizması

Etanol metabolizması alkol karsinogenezinde önemli bir rol oynar: Etanol primer olarak karaciğer hücrelerinde alkol dehidrogenaz (ADH) veya sitokrom P450 2E1 (CYP2E1) etkisiyle etanol metabolizmasının ana ürünü olan AA'ya okside olur. AA devamında aldehit dehidrogenaz (ALDH) tarafından asetata dönüştürülür. AA ve reaktif oksijen türleri DNA hasarı yaparak karsinogenezi indükleyebilirler.

Etanolün ana metaboliti olan AA'nın direkt mutajenik ve karsinojenik etkileri çok sayıda deney tarafından gösterilmiştir. AA özellikle DNA'ya bağlanarak ve stabil katım ürünleri üreterek replikasyon hatalarını ve onkojen veya onkolojik baskılayıcılardaki mutasyonları tetikleyebilir [24]. AA üretimi multipl genler tarafından kodlanan ADH ve ALDH aktivitesine bağlıdır. Bazı polimorfizmler, bu genlerin sahip oldukları çeşitli varyantlar nedeniyle AA düzeylerini artırarak alkolle ilişkili kanserlere karşı predispozisyonu indükleyebilirler. Giderek artan sayıda çalışmada insanlardaki genetik duyarlılık ile alkol tüketiminin kanser riski ile ilişkili olduğu bildirilmektedir. Mevcut verilerin çoğu alkol karsinogenezinde ADH1B ve ALDH2 polimorfizmlerinin güçlü, CYP2E1 polimorfizminin ise daha az güçlü rol oynadığını desteklemektedir [22].

Ayrıca reaktif oksijen ve nitrojen türlerinin üretimleri de alkol ile ilişkili karsinogenez de rol oynayan bir mekanizmayı harekete geçiriyor olabilir: Etanol metabolizması oksidatif stresi artırırken lipid peroksidasyonunu indükler. Lipid peroksidasyon ürünlerinin ekzosiklik DNA katım ürünleri oluşturmak amacıyla DNA ile etkileştiği bilinmektedir. Bu karaciğer karsinogenezinde özel rol oynayan mekanizmalardan birisidir [23, 41, 64].

Sonuç olarak alkollü içkilerin kronik tüketimi ile sitokrom CYP2E1 indüklenir. CYP2E1 nitrozaminler, aflatoksin ve vinil klorid gibi düşük alkol tüketimiyle (40 gr/gün) bile oluşabilen prokarsinojen özelliğe sahip çeşitli ksenobiyotiklerin metabolizmalarında rol oynamaktadır [70]. Etanol ve prokarsinojen metabolizma arasındaki ilişki karmaşık olup CYP2E1 indüksiyonunun derecesine, prokarsinojenin kimyasal yapısına ve prokarsinojen metabolizması sırasında vücutta alkol bulunup bulunmamasına bağlı olabilir [80].

2.3.3 Nütrisyonel Bozukluklar

Alkolizm dünyadaki malnütrisyonun ana nedenlerinden birini oluşturur. Kronik tüketime bağlı olarak oluşabilen çeşitli vitamin ve mikrobesin eksiklikleri kanser gelişimine katkı yapabilir. Ancak bu süreçteki rolleri henüz net olarak anlaşılamamıştır. Ağır alkol tüketiminin folat metabolizmasını hem az tüketim hem de AA tarafından parçalanması

nedeniyle etkilediği düşünülmektedir. Folat eksikliği transmetilasyonun inhibisyonunu etkileyerek karsinogenezde potansiyel rol oynayabilen gen ekspresyon değişimine yol açabilir [85]. Ayrıca kronik alkoliklerde görülen B12 ve B6 vitaminlerinin alım ve metabolizmalarındaki bozukluklar DNA metilasyonunun bozulmasına katkı yapabilir [10]. Çeşitli çalışmalarda A vitamini ve beta-karoten eksikliğinin alkol karsinogenezinde önemli olabileceği vurgulanmıştır [93]. Uzun süreli alkol kullanımının retinoid ve karotenoid alımında azalmaya neden olduğu ve reaktif oksijen türlerinin üretimi ile de retinolun yıkılmasına katkı yaptığı gösterilmiştir [53].

2.3.4 Gen Ekspresyon Değişimleri

DNA metilasyonu gen ekspresyonunu engeller. Metilasyon azaldığında ise gen ekspresyonu artar. Tümör indükleyici genlerin metilasyonlarının azalmasının alkol ile ilişkili kanser gelişiminde rol oynayan bir mekanizma olduğu hipotezi geliştirilmiştir. Bu mekanizmanin karaciğer kanseri gelişiminde kritik bir rol oynadığı düşünülmektedir. Bazı kanıtlar kronik alkol tüketiminin DNA metilasyon düzeyinde önemli değişiklikleri indüklediğini doğrulamaktadır [15].

Deneysel çalışmalarda alkol tüketiminin DNA metilasyonunu farklı şekillerde etkilediği gösterilmiştir: Folat eksikliği, metil gruplarını DNA'ya transfer eden metionin sentetazın (homosisteini metionine remetile eden ve DNA metilazı inhibe eden enzim) aktivitesinin azalması [72]. Kronik alkol kullananlarda DNA metiltransferaz enzimlerinin inhibisyonuyla ilgili homosistein artışı ve metiladenoziltransferaz aktivitesinin azalması sonucunda S-adenozil metioninin (SAMe: DNA metilasyon reaksiyonlarının metil donörü) azaldığını gösteren kanıtlar mevcuttur. SAMe eksikliği DNA hipometilasyonunu indükleyip, DNA instabilitesini artırdığı için kanser riskinde artış ile ilişkilidir [65].

2.3.5 Alkol ve İmmun Gözetim

Alkolün kötüye kullanımının immun yetmezlikle ilişkisi ve kronik alkoliklerin enfeksiyonlara karşı daha duyarlı oldukları iyi bilinmektedir. Alkol tüketiminin hem doğal hem de spesifik immun cevabı bozabildiğini ve kanser hücre gelişimini kolaylaştırabildiğini gösteren kanıtlar mevcuttur [16]. Hayvan deneylerinde tek bir etanol dozu sonrasında doğal katil hücrelerin sayı ve litik aktivitelerinin azalarak immun gözetimin bozulduğu gösterilmiştir [99]. Kronik alkol tüketiminde görülen malnütrisyon ve vitamin eksikliği gibi faktörlerin de immun gözetimi bozabildiği ve kanser gelişimini indükleyebildiği bilinmektedir.

3 Gazlı içecekler ve Gastrointestinal Kanser

Gazlı içecekler dünyadaki en popüler meşrubatlardır. Tüm gazlı içecekler arasında en sık tüketileni normal Cola'dır. 1886 yılında Atlanta'da yaşayan bir eczacı tarafından karbonatlı su, şeker şurubu, fosforik asit, kafein ve diğer doğal bazı aromaların tesadüf eseri karıştırılması ile dünyadaki en popüler alkolsüz içecek ortaya çıkmıştır. Gazlı içeceklerin

Tablo 3 Gazlı içecek tüketimi ile ilişkili gastrointestinal kanserlerin rölatif riskleri

Organ	Gazlı içecek tüketimi	RR	CI
Özofagus			
Skuamöz hücreli karsinom	1 kutu/hafta	0.70	0.41–1.18
	2-6 kutu/hafta	0.66	0.39–1.11
Ren ve ark.[75]	>6 kutu/hafta	0.85	0.46–1.56
	1-6 içecek/hafta	0.68	0.45–1.03
	7-20 içecek/hafta	0.67	0.45–1.01
Ibiebele ve ark.[44]	>20 içecek/hafta	0.40	0.20–0.78
Adenokarsinom	1 kutu/hafta	1.52	0.97–2.38
	2-6 kutu/hafta	1.36	0.88–2.12
Ren ve ark. [75]	>6 kutu/hafta	1.11	0.66–1.85
	1-6 içecek/hafta	1.12	0.74–1.70
	7-20 içecek/hafta	1.01	0.65–1.58
Ibiebele ve ark.[44]	>20 içecek/hafta	0.94	0.53–1.66
Mide			
Kardiya adenokarsinomu	12-103 içecek/yıl toplam gazlı içecek	0.86	0.52–0.40
	104-364 içecek/yıl toplam gazlı içecek	0.97	0.62–1.51
Mayne ve ark.[59]	>365 içecek/yıl toplam gazlı içecek	0.74	0.46–1.16
Kardiya dışı adenokarsinom	12-103 içecek/yıl toplam gazlı içecek	0.79	0.52–1.21
	104-364 içecek/yıl toplam gazlı içecek	0.78	0.52–1.16
Mayne ve ark.[59]	>365 içecek/yıl toplam gazlı içecek	0.65	0.43–0.98
Kolon ve rektum	0-250 gr/gün	0.96	0.90–1.02
	250-550 gr/gün	1.08	0.87–1.34
Zhang ve ark.[100]	>550 gr/gün	0.94	0.66–1.32
Pankreas	≤3/hafta	1.05	0.84–1.31
Schernhammer ve ark.[77]	>3/hafta	1.13	0.81–1.58
	≤2/hafta	0.73	0.40–1.33
Muelleretal.[66][a]	>2/hafta	1.87	1.10–3.15

[a] Çin populasyonu

bileşenleri çok çeşitli olduğu için sağlık üzerindeki etkilerini analiz etmek güçtür. Bu nedenle birçok çalışmada tek bir bileşenin değil içeceğin tamamının hastalık riski üzerindeki etkileri tanımlanmaktadır.

Gazlı içeceklerin gastrointestinal sistem üzerindeki etkisi ile ilişkili farklı görüşler mevcuttur. Bazı görüşler zararlı olduğunu savunurken bazıları da belirli bazı durumlarda tüketildiğinde faydalı olabileceklerini savunmaktadırlar. Bu eğilimin tüketimlerindeki artışa paralel olarak arttığı gözlenmektedir. Gazlı içeceklerin reflü veya özofagus adenokarsinomu riskini artırdıkları hipotezi mevcuttur. Ancak bazı vaka kontrol çalışmalarında larenks ve özofagus kanserleri ile gazlı içecek tüketimi ters orantılı ya da ilişkisiz bulunmuştur [44, 48, 59, 101].

Alkolsüz içecekler ABD halkının diyetindeki en önemli ilave şeker kaynağıdır [37]. Bu durum hiperglisemi ve hiperinsülinemiye büyük oranda katkı yapar [12]. Bazı çalışmalarda yüksek oranda alkolsüz meşrubat tüketenlerde obezite [33, 56, 78], tip 2 diyabet [20, 21] ve pankreas kanserine yol açabilme ihtimali olan bozuklukların [43, 51, 97] görülme riskinin artmış olduğu gösterilmiştir (bkz. Tablo 3).

3.1 Gazlı içecekler ve Gastrointestinal Kanser: İnsan Çalışmaları

3.1.1 Özofagus Kanseri

Gazlı içecekler özofagus adenokarsinomu gelişimi için bilinen bir risk faktörü olan gastroözofageal reflü ile ilişkilidir. ABD'nin üç coğrafi bölgesinde gerçekleştirilen çok merkezli, popülasyon tabanlı, vaka kontrol çalışmasında gazlı içecek tüketimi ile özofagus karsinomu arasındaki ilişki incelenmiştir [59]. Çalışmaya katılan hastalara teşhisten önceki 3-5 yıl içindeki "diyet meşrubat veya diyet kola" ve "normal meşrubat veya normal kola" tüketimlerinin sıklığı (her gün, hafta, ay, yıl) sorulmuştur. Aynı bilgi içecekler kontrol deneklerinden de alınmıştır. Bu içeceklerin sıklığı toplam tüketimi tahmin etmekte kullanılmıştır. Elde edilen sonuçlar dörtte birlik dilimlere bölünmüştür. Analizde 687 kontrol ile 282 özofagus adenokarsinom, 255 gastrik kardiya adenokarsinom, 352 de kardiya dışı gastrik adenokarsinom hastası yer almıştır. Öne sürülen hipoteze aykırı olarak gazlı içecek tüketiminin (primer olarak düşük kalorili gazlı içeceklerin) özofagus adenokarsinomu ile ters orantılı olduğu tespit edilmiştir. Yüksek gazlı içecek tüketimi kadın ve erkeklerdeki herhangi bir özofagus kanseri alt tipinin artışına neden olmamıştır. Bu bulgular gazlı içeceklerin (özellikle düşük kalorili olanların) özofagus kanseri riski ile ters orantılı oldukları için insidans oranlarının artmasına katkı yapmalarının küçük bir ihtimal olduğunu göstermiştir.

Mayne ve ark. tarafından bu çalışma için yapılan yorumda kontrol deneklerinin özofagus kanseri hastalarına göre daha genç oldukları ifade edilmiştir [57]. Ayrıca kontrol hastalarının özofagus adenokarsinomu olan hastalara göre anlamlı olarak daha yüksek gelire sahip oldukları da yorumda yer almıştır. Devam etmekte olan gıda tüketim araştırmasında gazlı içecek tüketiminin gelir düzeylerine göre önemli farklılıklar gösterdiği bildirilmiştir [89]. Mayne çalışmasını hedef alan bir başka eleştiri de gazlı içecek tüketim sürelerinin çalışmada yer almamasıdır. Gerçekten de çalışmadaki gazlı içecek tüketimi kanser teşhisinden 3-5 yıl öncesine kadar soruşturulmuş olmasına rağmen gazlı içecek-

lerin oluşturdukları gastroözofageal reflünün birkaç dekad sürerek özofagus adenokarsinomuna etki yaptığı hipotezi geliştirilmiştir.

Ulusal Sağlık Enstitüleri ve Amerikan Emekliler Birliği (NIH-AARP) Diyet ve Sağlık Çalışmasından alınan verileri inceleyen bazı araştırmacılar sıcak çay, buzlu çay, kahve ve gazlı içecek tüketimi ile üst gastrointestinal kanser riski arasındaki ilişkiyi incelemiştir [75]. Sekiz ABD eyaletinde oturan (Kaliforniya, Florida, Louisiana, New Jersey, Kuzey Carolina, Pennsylvania, Georgia ve Michigan) 50-71 yaşlarındaki AARP üyelerine diyet ve sağlıkla ilgili davranışları içeren anketler postalanmıştır. Veri tabanından elde edilen bilgiler araştırıcıların 428 kanser vakasındaki alkolsüz içecek tüketimi ile kanser gelişimi arasındaki ilişkiyi tanımlamalarına olanak vermiştir (özofagus skuamöz hücreli karsinomu ve özofagus adenokarsinomu). Çalışma kutu sayısına göre tespit edilen tüketim miktarları göz önüne alınarak yapılmıştır (hiç, >1 kutu/hafta, 2–6 kutu/hafta, ≥1 kutu/gün). ≤ 1 kutu/hafta tüketenlerde özofagus adenokarsinomu ile (sınırda) anlamlı olmayan bir ilişki bulunmuştur (RR 1.52, CI o.97-1.58). Ancak ≥ 1 kutu/gün (en yüksek grup) tüketenlerdeki RR 1.11'dir (CI 0.66-1.85).

Bir başka çalışmada gazlı içecekler ile özofagus adenokarsinomu (EA), özofagogastrik bileşimin adenokarsinomu (EGJAC) ve ESCC arasındaki ilişki AE insidansının hızla arttığı bir ülke olan Avustralya'da araştırılmıştır [44]. Bu çalışmada gazlı içeceklerin tüketimi ile ilgili veriler gıda sıklığı anketi ile toplanmıştır; demografik, sosyoekonomik ve hayat tarzını ilgilendiren faktörlerle ilgili anket 1484 kontrol, 294 EA, 325 EGJAC ve 238 ESCC hastası tarafından doldurulmuştur. Çalışmanın sonuçları yüksek gazlı içecek tüketiminin EA (RR 0.94, CI 0.53–1.66, trend için p = 0.85) veya EGJAC (RR 1.07, CI 0.67–1.73, trend için p = 0.89) riski ile bir ilişkisi olmadığını, ESCC (RR 0.40, CI 0.20–0.78, trend için p= 0.04) riski ile de ters orantılı bir ilişkisi olduğunu göstermiştir. Araştırıcılar çalışmaya katılan Avustralyalı popülasyondaki ESCC ve diğer özofagus kanseri vakalarının kontrollere göre daha az gazlı içecek tüketme eğiliminde olduklarını gözlemişlerdir. ESCC hastaları aynı zamanda daha yaşlı, daha az obez ve daha nadir reflü görülen grubu oluşturuyordu. Araştırıcılar bu faktörleri düzelterek analizlerinde kullanmış olmalarına rağmen bulgularda bir miktar yanıltıcı verinin kalmış olma ihtimali dışlanamamıştır. Her durumda, gazlı içecek tüketimi ile hiçbir özofagus kanseri tipi arasında bir ilişki bulunmamıştır.

ESCC riski ile gazlı içecek tüketimi arasındaki ters orantılı ilişkiyi gösteren bir başka çalışma da 1992-1997 yılları arasında Kuzey İtalya'daki hastane tabanlı vaka kontrol çalışması verilerini analiz eden Gallus ve ark [29] tarafından yapılmıştır. Çalışmaya histolojik olarak konfirme edilmiş ESCC tanısı olan 304 hasta alınmıştır. Kontrol hastaları ise aynı hastanelere neoplastik, sigara, alkol tüketimi ve uzun süreli diyet modifikasyonu dışındaki çeşitli akut rahatsızlıklarla başvuran 743 hastadan oluşuyordu. Kontrol hastaları ile kanser hastaları yaş, cinsiyet, görüşme yılı ve oturulan bölge yönünden eşleştirilmiştir. Bu çalışmada da gazlı içecek tüketiminin özofagus kanseri riskini artırmadığı ve ESCC riski ile gazlı içecek tüketimi arasında orta derecede ters orantı olduğu bulunmuştur.

İsveç'te yapılan popülasyon tabanlı, vaka kontrol çalışmasında gazlı içecek tüketimi ile EA veya gastrik kardiya adenokarsinomu (GCA) arasındaki ilişki analiz edilmiştir [48]. 1995-1997 yılları arasında EA olan 189, GCA olan 262 hasta ve 820 kontrol hastası ile kişisel görüşme yapılmıştır. Tüm kanserler histolojik olarak sınıflandırılmıştır. Bu çalışmada da gazlı içecek tüketimi ile EA riski ilişkili bulunmamıştır; yüksek oranda tüketenlerdeki (haftada altı kezden fazla) risk hiç gazlı içecek tüketmeyenlere göre anlamlı olmayan düzeyde daha düşük bulunmuştur (RR 0.89, CI 0.49–1.64; p = 0.77). Ayrıca gazlı düşük alkollü bira ve gazlı içeceklerin birlikte tüketiminin de EA ile ilişkili olmadığı ifade edilmiştir.

Farklı popülasyonlardan elde edilen bu tutarlı bulgular [29, 44, 48, 75] gazlı içecek tüketimi ile EA arasındaki riski dışlamaktadır. ESCC ile ilgili veriler, bu kanserin riskinin gazlı içecek tüketimi ile ters orantılı olduğu sonucunu doğrulamaktadır. Ancak bu ilişkinin mekanizmasının tanımlanması güçtür.

3.1.2 Gastrik Kanser

Gastrik kanser ile gazlı içecek tüketimi arasındaki ilişkinin analizi Ulusal Sağlık Enstitüleri ve Amerikan Emekliler Birliği (NIH-AARP) Diyet ve Sağlık Çalışmasından alınan verilerle yapılmıştır [75]. Çalışma kohortu 286.402'si erkek, 195.161'i kadın olan 481.563 katılımcıdan oluşuyordu. Araştırmacılar 455 gastrik kanser hastasında (231 gastrik kardiya; 224 gastrik kardiya dışı) gazlı içecek tüketimi ile gastrik kanser arasında doza bağlı bir ilişki gözlemlememişlerdir.

Mayne ve ark. 255 gastrik kardiya ve 352 kardiya dışı gastrik adenokarsinomu olan hasta ile görüşmüştür [59]. Hastalara diyet veya normal gazlı içecekleri teşhisten önceki (kanser hastaları) veya görüşmeden önceki (kontroller) 3-5 yıl içindeki rutin tüketme sıklıkları sorulmuştur. Bu çalışmada da gastrik kanser ile gazlı içecek tüketimi arasında bir ilişki bulunmamıştır.

Benzer veriler gastrik kardiya adenokarsinomu olan 262 hastayı inceleyen Lagergren ve ark. tarafından da bildirilmiştir [48]. Yüksek gazlı içecek tüketimi ile (haftada >6 kez) gastrik kanserin bu tipi arasında bir ilişki bulamamışlardır (RR 1.09, CI 0.64–1.85; p = 0.64).

3.1.3 Pankreas Kanseri

Şekerli meşrubatlar hızla absorbe edilen şekerlerin çok sık kullanılan bir kaynağıdır. Aynı zamanda yüksek obezite ve diyabet riski ile de ilişkileri vardır. Diabetes mellitus ve glisemik yükü yüksek diyetler pankreas kanseri gelişimi için risk faktörüdür. Bazı çalışmalarda gazlı içecek tüketimi ile pankreas kanseri arasındaki ilişki araştırılmıştır.

Hemşire Sağlık Çalışması ve Sağlık Profesyonelleri Takip Çalışmasının veri tabanının analizinde başlangıçta kanser olmayan 88.794 kadın ve 49.364 erkek arasından pankreas kanseri gelişen 392 hasta seçilmiştir [77]. Çalışma başlangıcında tespit edilen alkolsüz meşrubat tüketimi 1980-1988 yılları arasında periyodik olarak güncellenmiştir. Haftada

üç adetten fazla şekerli meşrubat tüketen hastalardaki pankreas kanserinde anlamlı olmayan bir rölatif risk artışı gözlenmiştir. En fazla şekerli meşrubat tüketen kadınlardaki (3 içecek/hafta) risk anlamlı olarak artmıştır (RR 1.57; CI 1.02–2.41; trend için p = 0.05); ancak şekerli meşrubat tüketen erkeklerdeki pankreas kanserinde bir artış olmamıştır. Yüksek oranda şekerli meşrubat tüketen kadınlarda gözlenen sınırda risk artışı vücut kütle endeksi yüksek olanlarla (>25 kg/m^2; RR 1.89, CI 0.96–3.72; p = 0.10) ve düşük fiziksel aktiviteye sahip (RR 2.02, CI 1.06–3.85; p = 0.05) olanlarla sınırlıydı. Buna karşın diyet meşrubatların tüketimi her iki kohorttaki pankreas kanserinde bir artış bulunmamıştır.

Başka bir ankette meşrubat tüketimi ile pankreas kanseri arasında sınırda pozitif ilişki bulunmuştur [49]. 131 pankreas kanseri vakasındaki en yüksek ile en düşük tüketim kategorilerinin karşılaştırılmasında elden edilen çok değişkenli RR 1.69'dur (CI 0.97–2.36, trend için p= 0.05).

Çinlilerde yapılan prospektif kohort çalışmasında 14 yıl süre ile takip edilen 60.254 bireyde pankreas kanseri riski takip edilmiştir. Pankreas kanseri vakaları kohort veritabanı kayıtlarının Singapur Kanser Kayıt ve Singapur Doğum ve Ölüm Kayıt veritabanları verileri ile karşılaştırılması ile tespit edilmiştir [66]. Analizde 142 pankreas kanseri vakası tespit edilmiştir. Tüketimi ≥2 içecek/hafta olan bireylerdeki pankreas kanseri kanseri riski meşrubat kullanmayanlara göre anlamlı olarak daha yüksek bulunmuştur (RR 1.87, CI 1.10–3.15; p = 0.02).

Ayrıca, güncel bir analizde de gazlı içecek tüketimi ile pankreas kanseri arasındaki risk incelenmiştir. Dünya'daki çeşitli ülkelerde büyük ölçekli uluslararası konsorsiyum tarafından gerçekleştirilen Diyet ve Kanserle İlgili Prospektif Çalışmaların Toplu Analizi Projesinde 14 kohort çalışmasının toplu analizi gerçekleştirilmiştir [31]. Çalışmada 7 ila 20 yıl süre ile takip edilen 853.894 bireyde gelişen 2185 kanser vakası tespit edilmiştir. Pankreas kanseri riski ile gazlı içecek tüketimi arasında anlamlı bir ilişki bulunmamıştır (RR 1.19, CI 0.98–1.46 vs. >250–0 gr/gün). Ancak gazlı içecek tüketimi sürekli bir değişken olarak modellendiğinde, ortaya pankreas kanseri riski ile pozitif bir ilişki çıkmıştır (RR 1.06, CI 1.02–1.12).

Gazlı içecek tüketimi ile pankreas kanseri riski arasındaki ilişki 1991-2008 yılları arasında 328 pankreas kanseri hastası ve 652 eşleştirilmiş kontrol hastası ile gerçekleştirilen İtalyan vaka kontrol çalışmasında da araştırılmıştır [30]. Çalışmada gazlı içecek tüketiminin pankreas kanseri riski ile ilişkili olmadığı sonucuna varılmıştır.

Farklı iki çalışmada da meşrubat tüketimi ile pankreas kanseri arasında herhangi bir ilişki bulunamamıştır [4, 68].

3.1.4 Kolon Kanseri

Şekerli meşrubat tüketiminin kolon kanseri riskini artırdığını gösteren tek çalışma mevcuttur [100]. Bu çalışma uluslararası kohort çalışmaları konsorsiyumu tarafından Diyet ve Kanserle İlgili Prospektif Çalışmaların Toplu Analizi Projesi kapsamında yapılmıştır. Bu toplu analizde yer alan 13 çalışmada 6-20 yıl süreyle takip edilen 239.193

erkek ve 492.248 kadın arasından 5604 invazif kolon kanseri (1858 erkek ve 3746 kadın) vakası tespit edilmiştir. Şekerli meşrubat tüketimi kolon kanseri riski ile ilişkili bulunmamıştır (toplu çok değişkenli RR 0.94, CI 0.66-1.32, >550 gr/gün tüketim ile meşrubat tüketmeyenler karşılaştırılmıştır) Diyet meşrubatların incelenmesinde her 375 gr/gün tüketim artışı için bulunan toplu çok değişkenli RR değeri 1.01'dir (CI = 0.94-1.08; dört çalışmada ölçülmüştür, n=1928 kanser hastası). Gazlı içecekler Cola ve Cola dışı olarak kategorize edildiklerinde de kolon kanseri riski ile herhangi bir ilişki tespit edilememiştir.

3.1.5 Diğer Gastrointestinal Kanserler

Gazlı içecekler ile gastrointestinal kanser riski hakkında yukarıda bahsedilenler dışında literatür verisi mevcut değildir.

3.1.6 Aspartam ve Gastrointestinal Kanser

Endüstri ülkelerinde kısmen fast food ve meşrubat tüketimine bağlı olarak artan obezite oranları düşük kalorili gıdalara talebin artmasına neden olmuştur. Diyet ya da hafif (light) olarak adlandırılan ürünlerin pazarındaki büyümeye paralel olarak aspartamı da içeren yeni jenerasyon tatlandırıcılar geliştirilmiştir. Aspartamın insanlardaki rolü ile ilgili epidemiyolojik veriler yetersizdir [95]. Aspartamın potansiyel karsinojen etkisi ile ilgili uyarılar, beyin kanseri insidansında görülen artışların yapay tatlandırıcıların piyasaya sürülmesi ile ilişkili olduğunu bildiren bir çalışmadan kaynaklanmaktadır [69]. Bu çalışma sonrasında, beyin kanseri trendlerindeki belirsizlikler yüzünden eleştirilmiştir [90]. Ayrıca bu çalışmadan sonra yapılan vaka kontrol çalışmalarında aspartamın beyin kanserinde artışa yol açtığını gösteren tutarlı kanıtlar bulunamamıştır [36].

İtalya'da entegre vaka kontrol çalışmaları ağını kullanarak gerçekleştirilen bir çalışmada sakarin ve diğer tatlandırıcılar ile oral kavite, farenks, özofagus, kolorektal ve vücudun diğer bölgelerinde görülen kanser riskleri arasında ilişki bulunmamıştır [28]. Bu çalışmanın temeli olan entegre vaka kontrol çalışmaları ağı 1991-2004 yılları arasında İtalya'da gerçekleştirilmiştir. Histolojik olarak konfirme edilen üst gastrointestinal kanser vakaları 598 oral kavite ve farenks, 304 özofagus, 1225 kolon, 728 rektum kanseri hastasından oluşuyordu. 7028 kontrol hastası (3301 erkek ve 3727 kadın) ise aynı hastaneye akut, kanser dışı rahatsızlıklarla kabul edilmişti. Aspartam tüketimine bağlı rölatif risk oral kavite ve farenks kanserleri için 0.77 (CI 0.39–1.53), özofagus kanseri için 0.77 (CI 0.34–1.75), kolon kanseri için 0.90 (CI 0.70–1.16), rektal kanser için de 0.71 (CI 0.50–1.02) bulunmuştur. Bu sonuçlar aspartam ile sık görülen gastrointestinal kanserler arasında bir ilişki olmadığını göstermiştir.

İki yıl sonra bu çalışmanın güncel versiyonu yayınlanmıştır [11]. Çalışmada histolojik olarak konfirme mide kanseri olan 230 hasta ve 547 eşleştirilmiş kontrol hastası ile 326 pankreas kanseri hastası ve 652 eşleştirilmiş kontrol hastası yer almıştır. Tüm kontroller aynı hastaneye akut, kanser dışı nedenlerden dolayı kabul edilen bireylerden

oluşmaktaydı. Tatlandırıcı kullananlarla hiç tatlandırıcı kullanmayanların karşılaştırılmasının rölatif riski, gastrik kanser için 0.80 (CI 0.45–1.43), pankreas kanseri için ise 0.62 (CI 0.37–1.04) bulunmuştur.

3.2 Gazlı içecekler ve Gastrointestinal Kanserler: Hayvan Deneyleri

Belpoggi ve ark. [6] en iyi bilinen gazlı içecek olan Coca Cola'nın uzun süreli etkilerini içme suyu yerine Coca Cola verilen Sprague Dawley sıçanları üzerinde test etmiştir. Projenin amacı Coca Cola'nın test hayvanlarındaki tümör gelişimini (tümorigram) etkileyip etkilemediğinin tespit edilmesiydi. Embriyonik hayattan veya 7 haftalıktan itibaren veya 30, 39, 55 haftalıktan itibaren içeceğe maruz kalan çeşitli yaşlardaki dişi ve erkek sıçanlara biyoanalizler uygulanmıştır Hayvanlar spontan ölüme kadar gözlenmiş, sonrasında da otopsiye alınmışlardır. Sonuçlara bakıldığında (a) tüm hayvanların vücut ağırlıklarında artış; (b) hem damızlık hem de yavru dişilerde malign meme tümörü insidansında istatistiksel olarak anlamlı artış, (c) hem damızlık hem de yavru erkek ve dişilerde pankreas ekzokrin adenomlarının insidanslarında istatistiksel olarak anlamlı artış görülürken, (d) gastrointestinal sistem de dahil olmak üzere tüm vücut bölgelerindeki diğer tümörlerde artış görülmemiştir. İnsanlar bu içeceği deneysel ortamdaki gibi son derece paradoksal şekilde tüketmemektedir. Ancak normal meşrubatlar gibi yüksek kalorili içeceklerin aşırı kullanımının kilo artımında anlamlı artışa yol açmasının, kanser riskini de artırabileceği çalışma tarafından konfirme edilmiştir.

Hayvan çalışmalarında aspartam ve diğer tatlandırıcılar ile ilgili karsinojenik aktivite gösterilememiştir [35, 95]. Sadece üç hayvan çalışmasında (Sprague Dawley sıçanları ve İsviçre fareleri) farklı aspartam dozları uygulanan hayvanların ölene kadar takiplerinde, dişi sıçanlarda başlıca lenfomalar ve lösemilerde, erkek farelerde ise hepatoselüler karsinomlarda artış görülmüştür [82–84]. Ancak bu bariz artışlar aspartam uygulanan hayvanların daha uzun süre yaşamaları ve çalışma hayvanlarında görülen daha yüksek enfeksiyon oranları ile açıklanabilir [87]. Hiçbir hayvan çalışmasında gastrointestinal kanser riskinde bir artış gösterilememiştir [54].

3.3 Muhtemel Mekanizmalar

Gazlı içeceklerin özellikleri incelenirken şu üç önemli nokta göz önünde bulundurulmalıdır: (a) içeceklerde bulunan karbondioksit; (b) şeker veya tatlandırıcı; (c) hazırlanmalarında kullanılan diğer maddeler. Bunlar arasında en ilginç ve muhtemelen de en değerli olanı karbondioksittir. Gazlı içeceklerin gastrointestinal sistem hasarına yol açarak potansiyel karsinojenik etki gösterebilmeleri ile ilgili çeşitli mekanizmalar önerilmiştir

Tablo 4 Gazlı içeceklerle ilgili karsinogenezin olası mekanizmaları

	Meşrubatların etkileri	Olası karsinojenik mekanizma
CO_2 içeriği	Gastrik basınç artışı	Özofageal reflünün kolaylaşması ve intestinal metaplazinin indüksiyonu (Barrett özofagusu)
	HCl sekresyonunda artış	
Şeker	Yüksek insülin düzeyleri insülin benzeri büyüme faktörünü artırır	Pankreatik kanser hücrelerinin proliferasyonu
Aspartam	Formaldehit gibi direkt karsinojenlerin üretimi	DNA hasarı (formaldehit katım ürünlerinin üretimi) ve kromozomal aberasyon artışı

[18] (bkz. Tablo 4). Gazlı içecekler ile gastrointestinal hasar arasındaki ilişki hakkındaki bilgilerin çoğu gastroözofageal reflü hastalığı (GERD) ile ilişkilidir. Reflünün ana semptomu özofagus gastrik içeriğe maruz kalınca oluşan mide yanmasıdır. Hekim tavsiyeleri kilo kaybı, gerektiğinde hayat tarzı değişiklikleri, vücut postürü, diyet alışkanlıkları ile ilgilidir. Gazlı içeceklerini tüketimlerinin genel olarak azaltılması önerilmektedir. Çok az sayıda çalışmada gazlı içeceklerin GERD nedeni olduğu kabul edilmektedir [25, 38, 61]. Fass ve ark. [25] çok değişkenli bir analizde gazlı içecek tüketiminin GERD semptomları ile ilişkili olduğunu tespit etmişlerdir. Sağlıklı bireylerde yapılan bir başka çalışmada ise gazlı (karbonatlı) su içilmesinden hemen sonra manometrik değerlendirme ile ölçülen alt özofagus sfinkter basıncı normal su içilmesi ile oluşandan daha düşük bulunmuştur [38]. Ancak sağlıklı bireylerde yapılan daha güncel bir çalışmada şekerli (sukroz %10) suya giderek artan konsantrasyonlarda karbondioksit eklenmesi ile yapılan ölçümlerde gazlı (karbonatlı) su ile normal su arasında gastroözofageal reflü yönünden bir fark olmadığı gösterilmiştir [19].

Gazlı içeceklerin mide fonksiyonunu hem mekanik hem de kimyasal yolla etkilediği düşünülmektedir. Farklı çalışmalardan alınan veriler gaz ve sıvı tarafından mide duvarına uygulanan basınç üzerine yoğunlaşmaktadır [19, 73]. Bu çalışmalarda gastrik distresin sadece 300 ml'nin üzerinde gazlı içecek alımı ile oluştuğu gösterilmiştir [1]. Diğer yandan karbondioksit kimyasal etki ile hidroklorik asitte hafif bir artışa yol açarak sindirim prosesini etkiler ve asitle ilişkili hastalıkları kötüleştirebilir [60]. Karbondioksitin hem mekanik hem de kimyasal etkiyle karsinojeniteyi etkilediğini gösteren herhangi bir çalışma mevcut değildir.

İnsülin ve glukoz seviyelerini artırarak obeziteye ve diyabete yol açabilen şekerli gazlı içecekler [78] gibi faktörler pankreas kanseri riski ile ilişkili olabilirler. Yüksek insülin konsantrasyonları IGF-bağlayıcı proteinleri azaltarak insülin benzeri büyüme faktörü (IGF) düzeylerini artırır [34]. Eldeki veriler IGF'ye maruz kalmanın pankreatik kanser hücre dizilerinin proliferasyonuna neden olduğunu göstermektedir [8]. Yüksek insülin konsantrasyonlarının IGF reseptörlerini aktive ederek kanser hücrelerinin proliferasyonuna yol açabileceği düşünülmektedir [52]. Yükleme sonrası ve açlık plazma glukozu-

nun [5, 45] ve tokluk plazma C-peptid düzeylerinin [63] artışı pankreas kanseri riskinde artış ile ilişkilidir. Bu mekanizma yüksek glisemik yüke sahip şekerli meşrubatların pankreas kanseri riskini artırabileceği hipotezini doğrulamaktadır [66].

İncelenecek son konu son yıllarda gazlı içeceklerde giderek daha fazla kullanılmaya başlanan aspartam gibi tatlandırıcılardır. Bunların güvenlikleri ile ilgili bazı uyarılar mevcuttur. Son yıllarda aspartamın hayvanlardaki neoplaziyi indükleyici etkisi hakkında aynı araştırıcılar tarafından üç farklı makale yayınlanmıştır [82–84]. Araştırmacıların aspartamın potansiyel karsinojen etkisi üzerindeki ilgisi genotoksisite ile ilgili in vitro testlerden doğmuştur. İn vitro kromozomal aberasyon testi ile değerlendirilen aspartam anormal (aberant) hücrelerin yüzdesinde veya hücre başına düşen kromozom anormalliklerinin sayısında test edilen tüm dozlarda anlamlı artışa yol açmış (kontrol değerlerine göre 2.5-4.2 kat), ancak mutajenik özellik göstermemiştir [76]. Yazarlar İsviçre farelerindeki karaciğer karsinojenitesi ile ilgili olarak aspartamın gastrointestinal kanalda fenilalanin, aspartik asit ve metanole tamamen metabolize olması nedeniyle, karsinojen etkinin aspartamdan değil daha ziyade metabolitlerinden kaynaklanabileceği hipotezini geliştirmiştir [83]. Özellikle metanolün karaciğerde formaldehite dönüşmesi ile formaldehit katım ürünleri oluşabilir [91]. Bu mekanizma erkek faredeki hepatokarsinojenik etkiyi açıklayan makul bir neden olabilir. Diğer yandan Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi bilimsel camiada ciddi kanıtlarla desteklenen genel bir konsensusa göre farelerde nongenotoksik bileşikler ile indüklenen hepatik tümörlerin, insandaki riskin değerlendirilmesinde kullanılamayacağını bildirmiştir [88].

4 Sonuçlar

Alkollü içkilerin ve gazlı içeceklerin yüksek oranda tüketilmeleri, son birkaç yıl içindeki dikkatlerin insan sağlığı ve gastrointestinal kanserler üzerindeki etkilerine odaklanmasına neden olmuştur. Ancak bu alandaki çalışmaların çoğu klinik, epidemiyolojik ve deneysel anlamda yeterli değildir. Mevcut veriler alkol tüketimi ile bazı kanser tipleri arasında pozitif korelasyon olduğunu göstermektedir. Doza bağımlı olan bu bağlantı sigaranın sinerjistik etkisi ile güçlenmektedir. Bu doğrultuda alkolle ilgili kanserlerin önlenmesindeki ana hedef ağır alkol ve sigara tüketiminin engellenmesidir.

Diğer yandan gazlı içeceklerin heterojen yapıları nedeniyle gastrointestinal karsinogenez üzerindeki etkilerini araştırmak oldukça zordur. Çeşitli çalışmalarda gazlı içecek tüketimi ile özofageal ve gastrik kanser arasında bir ilişki gösterilememişken, az sayıda bazı çalışmada da gazlı içecekler ile pankreas kanseri arasındaki pozitif ilişki vurgulanmıştır. Bu bulgular tek başına gazlı içecek tüketiminden ziyade muhtemelen kalori alımı ve glukoz metabolizmasındaki hasara bağlıdır. Ancak gazlı içeceklerin gastrointestinal karsinogenezisteki rolünü tamamen dışlamak için yeni çalışmalara ihtiyaç vardır.

Referanslar

1. Almiron-Roig E, Drewnowski A (2003) Hunger, thirst, and energy intakes following consumption of caloric beverages. Physiol Behav 79(4–5):767–773
2. Anderson LA, Cantwell MM, Watson RG et al (2009) The association between alcohol and reflux esophagitis, Barrett's esophagus, and esophageal adenocarcinoma. Gastroenterology 136(3):799–805
3. Bagnardi V, Blangiardo M, La Vecchia C et al (2001) Alcohol consumption and the risk of cancer: a meta-analysis. Alcohol Res Health 25:263–270
4. Bao Y, Stolzenberg-Solomon R, Jiao L et al (2008) Added sugar and sugar-sweetened foods and beverages and the risk of pancreatic cancer in the National Institutes of Health-AARP diet and health study. Am J Clin Nutr 88:431–440
5. Batty GD, Shipley MJ, Marmot M et al (2004) Diabetes status and post-load plasma glucose concentration in relation to site-specific cancer mortality: findings from the original Whitehall Study. Cancer Causes Control 15:873–881
6. Belpoggi F, Soffritti M, Tibaldi E et al (2006) Results of long-term carcinogenicity bioassays on Coca-Cola administered to Sprague-Dawley rats. Ann NY Acad Sci 1076:736–752
7. Benedetti A, Parent ME, Siemiatycki J (2009) Lifetime consumption of alcoholic beverages and risk of 13 types of cancer in men: results from a case-control study in Montreal. Cancer Detect Prev 32(5–6):352–362
8. Bergmann U, Funatomi H, Yokoyama M et al (1995) Insulin-like growth factor I overexpression in human pancreatic cancer: evidence for autocrine and paracrine roles. Cancer Res 55:2007–2011
9. Boffetta P, Garfinkel L (1990) Alcohol drinking and mortality among men enrolled in an American Cancer Society prospective study. Epidemiology 1:342–348
10. Boffetta P, Hashibe M (2006) Alcohol and cancer. Lancet Onco l7(2):149–156
11. Bosetti C, Gallus S, Talamini R et al (2009) Artificial sweeteners and the risk of gastric, pancreatic, and endometrial cancers in Italy. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 18(8):2235–2238
12. Bray GA, Nielsen SJ, Popkin BM (2004) Consumption of high-fructose corn syrup in beverages may play a role in the epidemic of obesity. Am J Clin Nutr 79:537–543
13. Breslow NE, Enstrom JE (1974) Geographic correlations between mortality rates and alcohol, tobacco consumption in the US. J Natl Cancer Inst 53:631–639
14. Cho E, Smith-Warner SA, Ritz J et al (2004) Alcohol intake and colorectal cancer: a pooled analysis of 8 cohort studies. Ann Intern Med 140:603–613
15. Choi SW, Stickel F, Baik HW et al (1999) Chronic alcohol consumption induces genomic but not p53-specific DNA hypomethylation in rat colon. J Nutr 129:1945–1950
16. Cook RT (1998) Alcohol abuse, alcoholism, and damage to the immune system—a review. Alcohol Clin Exp Res 22:1927–1942
17. Corrao G, Bagnardi V, Zambon A et al (1999) Exploring the dose-response relationship between alcohol consumption and the risk of several alcohol-related conditions: a meta-analysis. Addiction 94:551–573
18. Cuomo R, Sarnelli G, Savarese MF et al (2009) Carbonated beverages and gastrointestinal system: between myth and reality. Nutr Metab Cardiovasc Dis 19(10):683–689
19. Cuomo R, Savarese MF, Sarnelli G et al (2008) Sweetened carbonated drinks do not alter upper digestive tract physiology in healthy subjects. Neurogastroenterol Motil 20(7):780–789
20. Daly M (2003) Sugars, insulin sensitivity, and the postprandial state. Am J Clin Nutr 78:865S–872S
21. Dhingra R, Sullivan L, Jacques PF et al (2007) Soft drink consumption and risk of developing cardiometabolic risk factors and the metabolic syndrome in middle-aged adults in the community. Circulation 116:480–488

22. Druesne-Pecollo N, Tehard B, Mallet Y et al (2009) Alcohol and genetic polymorphisms: effect on risk of alcohol-related cancer. Lancet Oncol 10(2):173–180
23. el Ghissassi F, Barbin A, Nair J et al (1995) Formation of 1, N6- ethenoadenine and 3, N4-ethenocytosine by lipid peroxidation products and nucleic acid bases. Chem Res Toxicol 8:278–283
24. Fang JL, Vaca CE (1997) Detection of DNA adducts of acetaldehyde in peripheral white blood cells of alcohol abusers. Carcinogenesis 18:627–632
25. Fass R, Quan SF, O'Connor GT et al (2005) Predictors of heartburn during sleep in a large prospective cohort study. Chest 127:1658–1666
26. Fleischmann A, Fuhr D, Poznyak V et al (2011) Global status report on alcohol and health. WHO Press, Geneva (www.who.int)
27. Franceschi S, La Vecchia C (1994) Alcohol and the risk of cancers of the stomach and colon-rectum. Dig Dis 12:276–289
28. Gallus S, Scotti L, Negri E et al (2007) Artificial sweeteners and cancer risk in a network of case-control studies. Ann Oncol 18:40–244
29. Gallus S, Talamini R, Fernandez E Et al (2006) Re: carbonated soft drink consumption and risk of esophageal adenocarcinoma. J Natl Cancer Inst 98(9):645–646
30. Gallus S, Turati F, Tavani A et al(2011) Soft drinks, sweetened beverages and risk of pancreatic cancer. Cancer Causes Control 22(1):33–39
31. Genkinger JM, Li R, Spiegelman D, Anderson KE et al (2012) Coffee, tea, and sugar-sweetened carbonated soft drink intake and pancreatic cancer risk: a pooled analysis of 14 cohort studies. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 21(2):305–318
32. Genkinger JM, Spiegelman D, Anderson KE et al (2009) Alcohol intake and pancreatic cancer risk: a pooled analysis of fourteen cohort studies. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 18:765–776
33. Gibson S (2008) Sugar-sweetened soft drinks and obesity: a systematic review of the evidence from observational studies and interventions. Nutr Res Rev 21:134–147
34. Giovannucci E (2003) Nutrition, insulin, insulin-like growth factors and cancer. Horm Metab Res 35:694–704
35. Gunnels SR, Carver PH, Coker KK et al(2003) National toxicology program USDoHaHS. Toxicity studies of aspartame (CAS No. 22839-47-0) in FVB/N-TgN (v-Ha-ras) Led(Tg.AC) hemizygous mice and carcinogenicity studies of aspartame in B6.129-Trp53tm1Brd (N5) haploinsufficient mice. NTP Technical Report (NIH Publication No. 03-4459 http://ntp.niehs.nih.gov/ntp/htdocs/GMM_rpts/GMM1.pdf
36. Gurney JG, Pogoda JM, Holly EA et al (1997) Aspartame consumption in relation to childhood brain tumor risk: results from a case-control study. J Natl Cancer Inst 89:1072–1074
37. Guthrie JF, Morton JF (2000) Food sources of added sweeteners in the diets of Americans. J Am Diet Assoc 100:43–51
38. Hamoui N, Lord RV, Hagen JA et al (2006). Response of the lower esophageal sphincter to gastric distention by carbonated beverages. J Gastrointest Surg 10(6):870–877
39. Harnack L, Stang J, Story M (1999) Soft drink consumption among US children and adolescents: nutritional consequences. J Am Diet Assoc 99(4):436–441
40. Hassan MM, Hwang LY, Hatten CJ et al (2002) Risk factors for hepatocellular carcinoma: synergism of alcohol with viral hepatitis and diabetes mellitus. Hepatology 36(5):1206–1213
41. Hoek JB, Pastorino JG (2002) Ethanol, oxidative stress, and cytokine-induced liver cell injury. Alcohol 27:63–68
42. Homann N, Kärkkäinen P, Koivisto T, Nosova T, Jokelainen K, Salaspuro M (1997) Effects of acetaldehyde on cell regeneration and differentiation of the upper gastrointestinal tract mucosa. J Natl Cancer Inst 89(22):1692–1697
43. Huxley R, Ansary-Moghaddam A, Berrington de Gonzalez A et al (2005) Type-II diabetes and pancreatic cancer: a meta-analysis of 36 studies. Br J Cancer 92:2076–2083

44. Ibiebele TI, Hughes MC, O'Rourke P et al (2008) Australian cancer study. Cancers of the esophagus and carbonated beverage consumption: a population-based case-control study. Cancer Causes Control 19(6):577–584
45. Jee SH, Ohrr H, Sull JW et al (2005) Fasting serum glucose level and cancer risk in Korean men and women. JAMA 293:194–202
46. Ketcham AS, Wexler H, Mantel N (1963) Affects of alcohol in mouse neoplasia. Cancer Res 23:667–670
47. Kubo A, Levin TR, Block G et al (2009) Alcohol types and sociodemographic characteristics as risk factors for Barrett's esophagus. Gastroenterology 136(3):806–815
48. Lagergren J, Viklund P, Jansson C (2006). Carbonated soft drinks and risk of esophageal adenocarcinoma: a population-based case-control study. J Natl Cancer Inst 16 98(16):1158–1161
49. Larsson SC, Bergkvist L, Wolk A (2006) Consumption of sugar and sugar sweetened foods and the risk of pancreatic cancer in a prospective study. Am J Clin Nutr 84:1171–1176
50. Larsson SC, Giovannucci E, Wolk A et al (2007) Alcoholic beverage consumption and gastric cancer risk: a prospective population-based study in women. Int J Cancer 120:373–377
51. Larsson SC, Orsini N, Wolk A (2007) Body mass index and pancreatic cancer risk: a meta-analysis of prospective studies. Int J Cancer 120:1993–1998
52. Le Roith D (1997) Seminars in medicine of the Beth Israel Deaconess Medical Center: insulin-like growth factors. N Engl J Med 336:633–640
53. Leo MA, Lieber CS (1999) Alcohol, vitamin A, and beta-carotene: adverse interactions, including hepatotoxicity and carcinogenicity. Am J Clin Nutr 69:1071–1085
54. Magnuson BA, Burdock GA, Doull J et al (2007) Aspartame: a safety evaluation based on current use levels, regulations, and toxicological and epidemiological studies. Crit Rev Toxicol 37:629–727
55. Maier H, Born IA, Veith S, Adler D, Seitz HK (1986) The effect of chronic ethanol consumption on salivary gland morphology and function in the rat. Alcohol Clin Exp Res 10:425–427
56. Malik VS, Schulze MB, Hu FB (2006) Intake of sugar-sweetened beverages and weight gain: a systematic review. Am J Clin Nutr 84:274–288
57. Mallath MK (2006) Re: carbonated soft drink consumption and risk of esophageal adenocarcinoma. J Natl Cancer Inst 3 98(9):644–645
58. Mathers C, Stevens G, Mascarenhas M (2009) Global health risks: mortality and burden of disease attributable to selected major risks. WHO Press, Geneva (www.who.int)
59. Mayne ST, Risch HA, Dubrow R et al (2006) Carbonated soft drink consumption and risk of esophageal adenocarcinoma. J Natl Cancer Inst 4 98(1):72–75
60. McCloy RF, Greenberg GR, Baron JH (1984) Duodenal pH in health and duodenal ulcer disease: effect of a meal, Coca-Cola, smoking, and cimetidine. Gut 25(4):386–392
61. Meining A, Classen M (2000) The role of diet and lifestyle measures in the pathogenesis and treatment of gastroesophageal reflux disease. Am J Gastroenterol 95:2692–2697
62. Michaud DS, Vrieling A, Jiao L et al (2010) Alcohol intake and pancreatic cancer: a pooled analysis from the pancreatic cancer cohort consortium (PanScan). Cancer Causes Control 21:1213–1225
63. Michaud DS, Wolpin B, Giovannucci E et al (2007) Prediagnostic plasma C-peptide and pancreatic cancer risk in men and women. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 16:2101–2109
64. Molina PE, Hoek JB, Nelson S et al (2003) Mechanisms of alcohol induced tissue injury. Alcohol ClinExp Res 27:563–575
65. Morgan TR, Mandayam S, Jamal MM (2004) Alcohol and hepatocellular carcinoma. Gastroenterology 127:S87–S96

66. Mueller NT, Odegaard A, Anderson K et al (2010) Soft drink and juice consumption and risk of pancreatic cancer: the Singapore Chinese Health Study. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 19(2):447–455
67. Nielsen SJ, Siega-Riz AM, Popkin BM (2002) Trends in energy intake in U.S. between 1977 and 1996: similar shifts seen across age groups. Obes Res 10(5):370–378
68. Nothlings U, Murphy SP, Wilkens LR et al (2007) Dietary glycemic load, added sugars, and carbohydrates as risk factors for pancreatic cancer: the Multiethnic Cohort Study. Am J Clin Nutr 86:1495–1501
69. Olney JW, Farber NB, Spitznagel E et al (1996) In creasing brain tumor rates: is there a link to aspartame? J Neuropathol Exp Neurol 55:1115–1123
70. Oneta CM, Lieber CS, Li JJ et al (2002) Dynamics of cytochrome P4502E1 activity in man: induction by ethanol and disappearance during withdrawal phase. J Hepatol 36:47–52
71. Pandeya N, Williams G, Green AC et al (2009) Australian cancer study. Alcohol consumption and the risks of adenocarcinoma and squamous cell carcinoma of the esophagus. Gastroenterology 136(4):1215–1224
72. Pöschl G, Seitz HK (2004) Alcohol and cancer. Alcohol Alcohol 39:155–165
73. Pouderoux P, Friedman N, Shirazi P et al (1997) Effect of carbonated water on gastric emptying and intragastric meal distribution. Dig Dis Sci 42:34–39
74. Reda A, Pattison J (2007) The global carbonates report. Canadean Ltd, England (www.candean.com)
75. Ren JS, Freedman ND, Kamangar F et al (2010) Tea, coffee, carbonated soft drinks and upper gastrointestinal tract cancer risk in a large United States prospective cohort study. Eur J Cancer 46(10):1873–1881
76. Rencüzoğullari E, Tüylü BA, Topaktaş M et al (2004) Genotoxicity of aspartame. Drug Chem Toxicol 27(3):257–268
77. Schernhammer ES, Hu FB, Giovannucci E et al (2005) Sugar-sweetened soft drink consumption and risk of pancreatic cancer in two prospective cohorts. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 14(9):2098–2105
78. Schulze MB, Manson JE, Ludwig DS et al (2004) Sugar-sweetened beverages, weight gain, and incidence of type 2 diabetes in young and middle-aged women. JAMA 292:3455–3457
79. Secretan B, Straif K, Baan R et al (2009) A review of human carcinogens—part E: tobacco, areca nut, alcohol, coal smoke, and salted fish. Lancet Oncol 10(11):1033–1034
80. Seitz HK, Meier P (2007) The role of acetaldehyde in upper digestive tract cancer in alcoholics. Transl Res 149(6):293–297
81. Sjodahl K, Lu Y, Nilsen TI et al (2007) Smoking and alcohol drinking in relation to risk of gastric cancer: a population-based, prospective cohort study. Int J Cancer 120:128–132
82. Soffritti M, Belpoggi F, Degli Esposti D et al (2006) First experimental demonstration of the multipotential carcinogenic effects of aspartame administered in the feed to Sprague-Dawley rats. Envir Health Perspect 114:379–385
83. Soffritti M, Belpoggi F, Manservigi M et al (2010) Aspartame administered in feed, beginning prenatally through life span, induces cancers of the liver and lung in male Swiss mice. Am J Ind Med 53(12):1197–1206
84. Soffritti M, Belpoggi F, Tibaldi E et al (2007) Life-span exposure to low doses of aspartame beginning during prenatal life increases cancer effects in rats. Environ Health Perspect 115:1293–1297
85. Stickel F, Seitz HK (2004) Ethanol and methytransfer: its role in liver disease and hepatocarcinogenesis. In: Watson RR, Preedy VR (eds) Nutrition and alcohol: linking nutrient interactions and dietary intake. CRC Press, London
86. Takada A, Nei J, Takase S, Matsuda Y (1986) Effects of ethanol on experimental hepatocarcinogenesis. Hepatology 6:65–72
87. The European Food Safety Authority (2006) Opinion of the scientific panel AFC related to new long-term carcinogenicity study on aspartame. EFSA J 356:1–44

88. The European Food Safety Authority (2011) EFSA statement on the scientific evaluation of two studies related to the safety of artificial sweeteners. EFSA J 9(2):2089
89. Tippett KS, Cypel YS (1998) Food and nutrient intakes by income. In: Design and operation: the continuing survey of food intakes by individuals and the diet and health knowledge survey, 1994–1996. United States Department of Agriculture, Agricultural Research Service, Washington, D.C. Data Table available at: www.ars.usda.gov/SP2UserFiles/Place/12355000/pdf/Income.pdf
90. Trichopoulos D (1999) Response to Schwartz GR. Aspartame and breast and other cancers. West J Med 171:301
91. Trocho C, Pardo R, Rafecas I (1998) Formaldehyde derived from dietary aspartame binds to tissue components in vivo. Life Sci 63:337–349
92. Wainfan E, Dizik M, Stender M, Christman JK (1989) Rapid appearance of hypomethylated DNA in livers of rats fed cancerpromoting, methyl-deficient diets. Cancer Res 49(4094–4097):164
93. Wang XD (2003) Retinoids and alcohol-related carcinogenesis. J Nutr 133:287S–290S
94. Watanabe H, Takahashi T, Okamoto T, Ogundigie PO, Ito A (1992) Effects of sodium chloride and ethanol on stomach tumorigenesis in ACI rats treated with N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine: a quantitative morphometric approach. Jpn J Cancer Res 83:588–593
95. Weihrauch MR, Diehl V (2004) Artificial sweeteners—do they bear a carcinogenic risk? Ann Oncol 15:1460–1465
96. Wight AJ, Ogden GR (1998) Possible mechanisms by which alcohol may influence the development of oral cancer—a review. Oral Oncol 34:441–447
97. Wiseman M (2008) the second world cancer research fund/American Institute for Cancer Research expert report. Food, nutrition, physical activity, and the prevention of cancer: a global perspective. Proc Nutr Soc 67:270–271
98. Wu AH, Wan P, Bernstein L (2001) A multiethnic population-based study of smoking, alcohol and body size and risk of adenocarcinomas of the stomach and esophagus (United States). Cancer Causes Control 12(8):721–732
99. Wu WJ, Wolcott RM, Pruett SB (1994) Ethanol decreases the number and activity of splenic natural killer cells in a mouse model for binge drinking. J Pharmacol Exp Ther 271:722–729
100. Zhang X, Albanes D, Beeson WL et al (2010) Risk of colon cancer and coffee, tea, and sugar-sweetened soft drink intake: pooled analysis of prospective cohort studies. J Natl Cancer Inst 2 102(11):771–783
101. Zvrko E, Gledovic Z, Ljaljevic A (2008) Risk factors for laryngeal cancer in Montenegro. Arh Hig Rada Toksikol 59(11–8):9

Doğal Antienflamatuar ve Antikanser İlaçlar

Barbora Orlikova, Noémie Legrand, Jana Panning, Mario Dicato ve Marc Diederich

Özet

Bitki ekstreleri çeşitli hastalıkların tedavisinde yüzyıllar boyunca kullanılmıştır. Bugüne kadar toprak ve deniz bitkilerinden veya mikroorganizmalarından elde edilen ve antioksidan, antiproliferatif ve antianjiogenik özelliklere sahip oldukları için tümör büyümesini azaltabilen beşyüzden fazla bileşik kanser tedavisinde önemli bir rol oynamıştır. Günümüzde bitki, hayvan, deniz organizmaları ve mikroorganizmaların verimli ve hızlı bir biçimde incelenebilmesine olanak veren özgün teknolojiler ile yeni doğal ürünlerin keşif süreçleri hızlanmıştır. Bitkilerden elde edilen bileşikler olan vinkristin, irinotekan, etopozid ve paklitaksel kanser tedavisinde kullanılan örneklerdir. Aktinomisin D, mitomisin C, bleomisin, doksorubisin ve lasparaginaz da mikroorganizmalardan benzer şekilde elde edilen ilaçlardır. Bu incelemede antienflamatuar ve antikanser aktiviteye sahip doğal bileşiklerin moleküler mekanizmalarını tanımlayacağız.

Anahtar Kelimeler

Doğal bileşikler · Kanser · Enflamasyon · Siklooksijenaz · Nükleer faktör kappa B · Kemoterapi · Kemoprevensiyon

B. Orlikova · N. Legrand · J. Panning · M. Dicato · M. Diederich (✉)
Laboratoire de Biologie Moléculaire et Cellulaire du Cancer, Fondation de Recherche Cancer et Sang, Hôpital Kirchberg, 9, rue Edward Steichen, L-2540, Luxembourg, Luxembourg
e-mail: marc.diederich@lbmcc.lu

M. Diederich
College of Pharmacy, Seoul National University, Seoul, 151-742, South Korea

V. Zappia et al. (eds.), *Advances in Nutrition and Cancer,*
Cancer Treatment and Research 159, DOI: 10.1007/978-3-642-38007-5_8,
© Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2014

Kısaltmalar

VEGF	Vasküler endotelyal büyüme faktörü
ROS	Reaktif oksijen türleri
NF-κB	Transkripsiyon faktörü nükleer faktör κB
N-pirazinekarbonil-L-fenil-alanin-L-lösin boronik asit	Bortezomib
BAFF	B-hücresi aktive edici faktör
NIK	NF-κB-indükleyici kinaz
STAT	Sinyal dönüştürücü ve transkripsiyon aktivatörü
COX-2	Siklooksijenaz-2
CDK	Sikline bağımlı kinaz
EEF2	Ökaryotik uzama faktörü 2
PKC	Protein kinaz C
PI3K	Fosfoinositid 3-kinaz
MAPK	Mitojen aktive protein kinaz
MLCK	Miyozin hafif zincirli kinaz
ATM	Ataksi telanjiektazi mutasyonu
PAL	Fenilalanin amonyak-liyaz
EGCG	Epigallokateşin gallat
IKK	IκB kinazı inhibe eder
DHA	Dokosaheksaenoik asit
EPA	Eikosapentaenoik asit
ETA	11, 14, 17-eikosatrienoik asit

İçindekiler

1 Giriş 125
2 Kanser ve Lösemi 126
2.1 Giriş 126
2.2 Kanserin Özellikleri 127
3 Etkinleştirici Özellikler: Enflamasyon 129
3.1 Giriş 129
3.2 Nükleer Faktör Kappa B Hücresi Sinyal Yolakları 129
3.3 Siklooksijenaz-2: Enflamasyonun Önemli bir Medyatörü 132
4 Antikanser Ajanı Olarak Doğal Bileşikler 132
4.1 Kara Bitkilerinden Elde Edilen Antikanser Bileşikler 132
4.2 Deniz Organizmalarından Elde Edilen Bileşikler 133
4.3 Mikroorganizmalardan Elde Edilen Bileşikler 133
4.4 Diyet Bileşikleri 134

4.5 Kalkonlar 134
5 Siklooksijenaz-2'nin Doğal Ürünlerle Modülasyonu 135
5.1 Transkripsiyonel Düzeyde Regülasyon 135
5.2 Posttranskripsiyonel Düzeyde Regülasyon 136
5.3 Posttranslasyonel Regülasyon 137
6 Sonuçlar 138
Referanslar 138

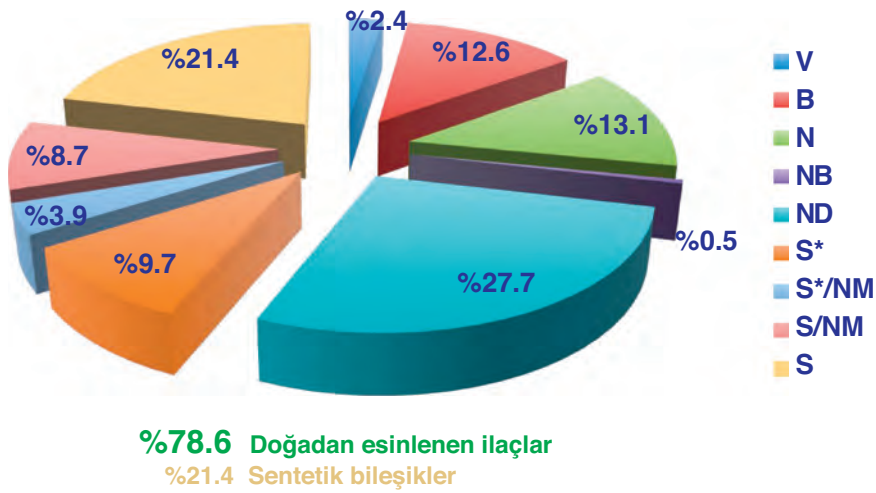
1 Giriş

Doğal bir bileşiğin tanımlanması çok karmaşıktır. Doğal ürünler geleneksel olarak yaşayan organizmalar tarafından üretilen ve biyolojik veya farmakolojik aktiviteye sahip kimyasal bileşikler olarak tanımlanırlar. Doğal bir ürün kimyasal olarak doğal ürünle özdeş olarak sentezlenebilir. Newman ve Cragg tarafından doğal ürünlerin kemoterapötik ilaç keşfi ve gelişimine katkılarını açıklamak amacıyla 1940-2010 yılları arasında onaylanan tüm antikanser ilaçların değerlendirilmesi sonucunda bir ilaç sınıflandırması geliştirilmiştir. Analizlerinde onaylı 206 antikanser ajanını net olarak tanımlayıp gruplara sınıflamışlardır [1].

İlk 8 kategorideki bileşikler doğal olarak üretilen veya doğadan esinlenen ürünlerden oluşurken, son kategorideki ürünler ise herhangi bir doğal yöntem kullanılmadığı için tamamen sentetik olan tek grubu oluşturmaktadırlar. Onaylı antikanser ajanlarının %78.6'sı ya doğal ya da doğal ürünlerden kaynaklanan ya da doğal ürünleri farklı şekillerde taklit eden ajanlardır (Şekil 1). Bu ajanların sadece %24.1'i doğada prototipi veya konsepti mevcut olmayan tamamen sentetik ürünlerdir. Bu veriler göz önüne alındığında Tabiat Ana'nın modern tedavilerdeki predominant rolü net olarak anlaşılmaktadır. Bu sınıflandırma doğal kaynaklar kullanılarak üretilen ilaçların önemini de vurgulamaktadır.

Ancak canlı organizmaların aslında dikkat çekici olan biyoaktif bileşikleri bazı durumlarda çok az miktarlarda sentezleyebilmeleri ve natürel ürünlerin sınırlı biyoaktiviteleri nedeniyle kullanımlarına yönelik kısıtlamalar mevcuttur. Molekülün polaritesi hücre içine alımını sıklıkla komplike hale getirerek aktivitesini azalmaktadır.

Buna karşın aktif ürün yapısına fonksiyonel grupların eklenmesi, çıkartılması veya modifiye edilmeleri ile natürel ürünlerin optimize edilebilmeleri mümkündür. Diğer taraftan, natürel ürünlerden esinlenen kombine sentezler kısa zamanda çok sayıda bileşiğin ortaya çıkmasına neden olmuştur. Gelecekte kuvvetli ilaç geliştirilebilmesi adına ümit vadeden stratejiler mevcuttur.



Şekil 1 Newman ve Cragg'e göre kanser ilaçlarının sınıflandırılması [1]. Bu sınıflandırma 9 kategori içermektedir. *N* modifiye edilmemiş doğal ürünler *ND* doğal bir üründen elde edilen (genellikle natürel bir ürünün yarı sentetik modifikasyonu ile) ürünler *NB* Amerikan Gıda ve İlaç idaresi (FDA) veya benzer bir organizasyon tarafından onaylı, tanımlı natürel-botanik karışım *V* Aşılar *B* Genel olarak büyük bir peptid veya proteinden oluşan biyolojik ajanlar *S** Doğal bir üründen esinlenen farmakora sahip, sentetik bileşikler *S*/NM* Doğal bir üründen esinlenen farmakora sahip, doğal ürün substratını yarışmalı olarak inhibe eden (doğal ürünü taklit eden) sentetik bileşikler *S/NM* Doğal ürün substratını yarışmalı olarak inhibe eden sentetik bileşikler *S* Doğal ürünler ile ilişkisi olmayan bileşikler.

2 Kanser ve Lösemi

2.1 Giriş

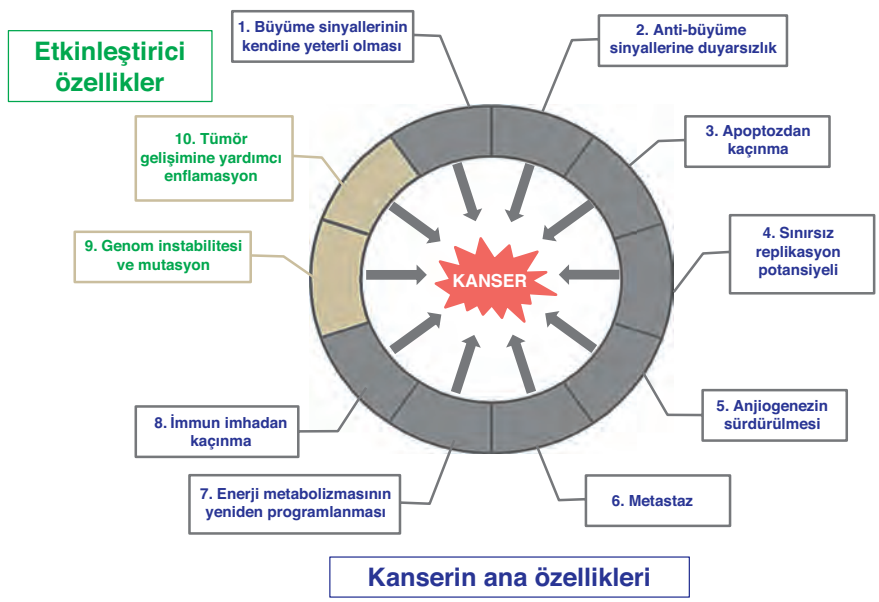
2008 yılında Avrupa'da yaşayan 2.46 milyon kişi kansere yakalanmıştır. Ortalama morbidite yaşı hem erkek hem de kadınlar için 69'dur. Kadınlarda en sık meme kanseri görülürken, erkeklerde prostat kanseri birinci sıradadır. Kanserle ilgili bilinen risk faktörleri sigara, obezite, diyet ve fiziksel inaktivitedir. Ayrıca UV ışınlarının ve viral enfeksiyonların da zararlı oldukları kabul edilir. Kanser yaşla artan ve kontrolsüz hücre üremesi ve yayılımı ile karakterize bir hastalıktır. Günümüzde genetik bir hastalık olarak kabul edilen kanserin gelişimi komplike ve çok aşamalı bir prosestir. Kanser gelişimine yol açan birkaç tane önemli neden vardır. Birincisi kanserin onkogenlerin aktivasyonu ile oluşabilmesidir. Sigara, iyonize radyasyon ve UV ışınları ile ortaya çıkabilen DNA mutasyonları onkogenlerin aktivasyonuna yol açarak büyüme faktörleri ve sekonder haberciler gibi anormal hücre büyümesinin promotörlerini kodlarlar. Onkogenlerin aktivasyonu kromozomal translokasyonlar ile de gerçekleşebilir. Bu durumda bir genin son kısmı diğer bir genin başlangıç kısmına transloke olarak bir onkogen olabilen füzyon geninin gelişimine yol açar. Son olarak viral RNA, revers trankriptazın etkisi ile insan hücre

DNA'sına entegre olabilen cDNA'ya kopyalanabilir. Bu entegrasyon bir onkogenin içinde gerçekleşirse onkogen aktive olabilir. Ayrıca hücre siklusunu, hücre farklılaşmasını ve apoptozisi kontrol eden tümör baskılayıcı genlerin deaktivasyonu da kanser başlangıcına neden olabilir. İnaktivasyonları kontrolsüz büyümeye yol açabilir. Tümör baskılayıcı genlerin fonksiyonlarının baskılanması sıklıkla kopyalanan proteinin deaktivasyonu ile gerçekleşir. Örneğin viral proteinlerin tümör baskılayıcı proteinlere bağlanmaları bu inhibisyonu aktive edebilir.

2.2 Kanserin Ana Özellikleri

Düzenleyici devrelerin etkisizleşmesi kanser hücrelerini karakterize eden özelliktir. Normal hücrelerden farklı olarak kanser hücrelerindeki proliferasyon ve homeostaz artık kontrol altında değildir [2]. Hanahan ve Weinberg yakın zamanda güncelledikleri kanserin özellikleri ile ilgili öncü makalelerinde sekiz ana özellik ve iki etkinleştirici özellikten oluşan on tane moleküler değişimin malign hücre büyümesine katkı yaptığını belirtmişlerdir (Şekil 2) [3].

Büyüme sinyallerinin kendine yeterli olması Kanser hücreleri kronik proliferasyonu sürdürebilirler. Diğer taraftan kanser hücreleri otokrin stimülasyona yol açan kendi büyüme faktörlerini de sentezlerler. Ayrıca büyüme faktörlerinden faydalanabilmek için çevrelerindeki normal hücreleri de stimüle edebilirler. Hücre yüzeyindeki reseptörlerin artan ekspresyonu veya mutasyonu ile kanser hücrelerinin büyüme faktörlerinin sinyallerine aşırı duyarlı hale gelmesine de neden olabilirler.



Şekil 2 Karsinogenez on farklı moleküler değişime dayanır; [3] nolu referanstan modifiye edilmiştir.

Tümör baskılayıcı genlerin büyümeyi inhibe edici sinyallerine duyarsızlık Hücre büyümesi ve proliferasyonun sınırlı olmasını sağlar. Yukarıda da anlatıldığı üzere kanser hücrelerindeki tümör baskılayıcı genlerin sıklıkla deaktive olmaları sürekli hücre proliferasyonuna yol açmaktadır.

Apoptozdan kaçınma Apoptoz kanser gelişiminin önünde doğal bir bariyerdir. Ancak kanser hücreleri tarafından inhibe edilebilir veya hücreler apoptozun etkisinden kaçınabilirler. Bu durum tümör baskılayıcı genlerdeki mutasyonlara, antiapoptotik Bcl-2 ve Bcl-xL genlerinin aşırı ekspresyonuna veya Bax gibi proapoptotik faktörlerin aşağı regülasyonuna bağlı olarak oluşur.

Sınırsız replikasyon potansiyeli Kromozom uçlarındaki tandem heksanükleotid kopyaları olan telomerler sınırlı sayıda hücre döngüsüne izin verirler. Proliferasyonun ilerlemesi ile kromozomların uçlarına kadar kısalan telomerler artık korunamazlar. Kromozomlar uçtan uca füzyonlar ile kararsız hale gelirler. Hücre apoptoz döngüsüne girer. Telomeraz ekspresyonu özelleşmiş bir DNA polimerazın telomer kopya segmentlerini telomerik DNA'ya eklemesini sağlar. Kanser hücreleri bu kısıtlamanın üstesinden gelerek ölümsüzlük özelliği kazanırlar.

Anjiogenezin korunması Vasküler endotelyal büyüme faktörü (VEGF) gibi proanjiogenik faktörlerin aşırı ekspresyonu veya trombospondin-1 gibi inhibitörlerin aşağı regülasyonu sonucu tümörün beslenmesi ve oksijen kullanımı düzelirken, metabolik atık ve karbondioksiti atması da kolaylaşır.

Metastaz Bu tehlikeli özellik E-kaderin gibi hücreler arası adezyon moleküllerinin kaybı ile ortaya çıkar. Metastaz, invazyon-metastaz kaskadı adı verilen bir dizi aşama ile ilerler. Birinci aşama invazyonu hücrelerin kan damarlarına intravazasyonunun takip etmesidir. Hücreler daha sonra lenfatik ve hematojen sistemler ile taşınmaya başlarlar. Kanser hücreleri bir sonraki ekstravazasyon aşamasında parenkime taşınarak mikrometastazları oluştururlar. Son olarak mikrometastazlar büyüyerek kolonizasyon adı verilen bir proses ile makroskopik tümörleri oluştururlar.

Son zamanlarda iki yeni özellik daha tanımlanmıştır:

Enerji metabolizmasının yeniden programlanması Kanser hücreleri kontrolsüz hücre proliferasyonunu sağlayabilmek için metabolizmalarını yeterli enerji kazanacak şekilde ayarlamak zorundadırlar. Onkogenlerin ve hipoksinin etkisi altındaki hücre metabolizmasının bazı durumlarda glikolitik ara ürünlerin akümülasyonuna yol açan anaerobik glikolize değiştiği bulunmuştur. Bu enerji yolağı için gereken glukoz ihtiyacı arttığı için, kanser hücreleri glukoz taşıyıcılarını sıklıkla aşırı miktarda eksprese ederek hücre içine glukoz girişini artırırlar.

İmmun imhadan kaçınma immun sistem tümör gelişimine karşı doğal bir bariyer oluşturur. Ancak kanser hücreleri tespit ve imha edilmekten immun hücreleri engelleyerek kaçınırlar. Örneğin immunosupresif faktörler salgılayarak veya immunosupresif enflamatuar hücrelerin başka yöne konsantre olmalarını sağlayarak bunu gerçekleştirirler.

Hanahan ve Weinberg'e göre bu özelliklerin kazanılmasını iki etkinleştirici özellik kolaylaştırmaktadır (Şekil 2).

Genomik instabilite ve mutasyon Kanser hücrelerinin mutasyon kapasiteleri, mutajenik bileşiklere daha yüksek duyarlı olmaları, doğal genomik tamir sisteminin ve genomun bütünlüğünü kontrol eden takip sistemlerinin bozulması nedeniyle artmıştır. Yukarıda açıklanan bu özelliklerin gelişimi büyük oranda genomdaki değişimlere bağlıdır [3].

Kronik enflamasyon Tümöre biyoaktif büyüme faktörleri, sağkalım faktörleri ve proanjiogenik faktörler gibi biyoaktif moleküller ile reaktif oksijen türleri sağlayan enflamasyon kanser, özelliklerinin gelişim sürecine katkı yapmaktadır [3].

Bu özellikler ve etkinleştirici karakteristikler modern antikanser tedavinin hedefi olarak değerlendirilebilir. Doğal bileşikler bu moleküler hedeflerin incelenmesinde kullanılabilecek mükemmel araçlardır. Biyomedikal uygulamalarda kullanılabilen özgün terapötik ve kemopreventif bileşikleri de sağlayabilirler [4–8].

3 Etkinleştirici Özellikler: Enflamasyon

3.1 Giriş

Kanserin özelliklerinden ve etkinleştirici karakteristiklerinden birisi olan enflamasyon ve ilgili hücre sinyal mekanizmaları son yıllarda ciddi anlamda ilgi çekmektedir. Enflamatuar bir ortamın kanser gelişimine yol açabileceği Mantovani ve ark. tarafından gayet iyi dökümante edilmiştir (Şekil 3) [9]. DNA hasarı nedeniyle etkinleşen proliferasyon özelliği ile prolifere olmaya devam eden hücrelerin büyümeleri, salgılanan sitokinler, kemokinler ile değişime uğrayan enflamatuar hücreler tarafından üretilen büyüme faktörleri tarafından desteklenir [9, 10]. Doğal bileşikler bu özelliği etkin bir şekilde inhibe edebilirler [11].

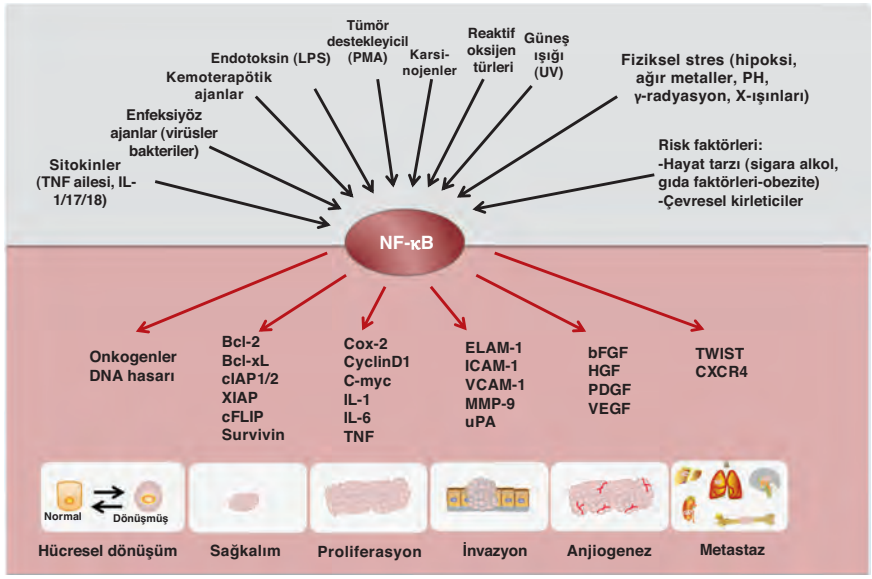
3.2 Nükleer Faktör Kappa B Hücresi Sinyal Yolakları

Enflamatuar ve yerleşik immun cevapta rol oynayan santral bir moleküler mekanizma transkripsiyon faktörü nükleer faktör κB'dir (NF-κB) [12]. NF-κB'nin yukarıda bahsedilen değişimlerin hepsini değilse bile çoğunu kontrol eden 550'den fazla geni transaktive ettiği gösterilmiştir [13, 14]. Bu nedenle bortezomib (N-pirazinkarbonil-L-alanin-L-lösin boronik asit) gibi proteazomu inhibe eden NF-κB inhibitörlerinin kanser tedavisinde ümit vadeden yeni bir yaklaşım getirdiği düşünülmektedir [14, 15].

NF-κB ailesi beş üyeden oluşur: relA (p65), relB, cRel, NF-κB1 (p50), ve NF-κB2 (p52) [14]. Bu proteinler homodimer ve heterodimerleri oluşturur [10, 14].

NF-κB aktivasyonuna yol açan dört yolak mevcuttur (Şekil 4).

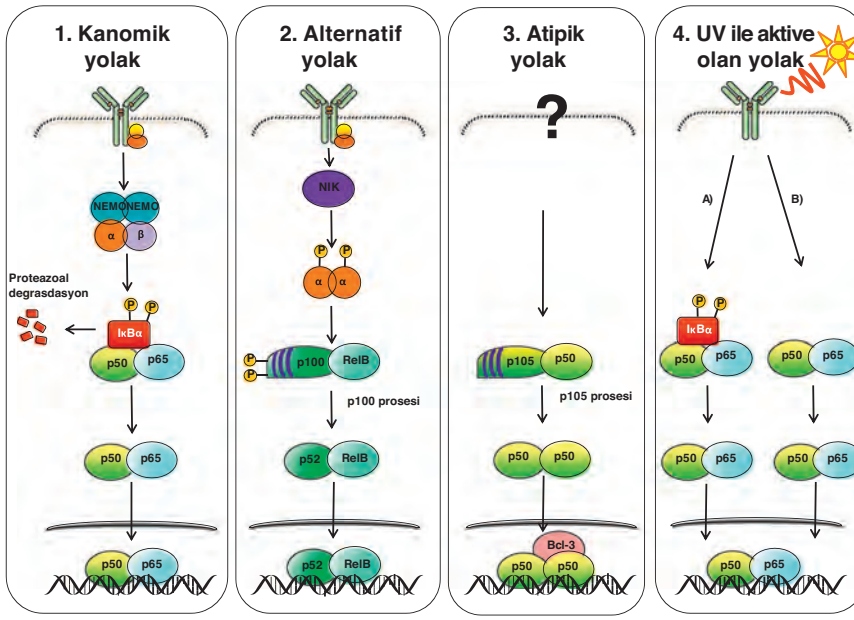
1. Birincisine kanonik NF-κB aktivasyon yolağı adı verilir. ReIA-p50 dimerleri nonstimüle şartlarda κB İnhbitörü (IκB) adı verilen inhibitör protein ile ilişkili oldukları için sitoplazmada inaktif formda kalırlar. Hücre yüzey reseptörlerinin TNF-α stres



Şekil 3 Enflamasyon, NF-κB ve kanser arasındaki ilişki; [10] nolu referanstan modifiye edilmiştir.

sinyalleri gibi proenflamatuar sitokinlerle veya lipopolisakaridler gibi patojenle ilişkili moleküler paternler (PAMP'ler) ile stimülasyonu sonrası IκB kinaz (IKK) aktive olarak IκB'yi fosforlar. Devamında IκB'ye ubikutin eklendikten sonra proteazom tarafından degrade edilir. Serbest bırakılan NF-κB transkripsiyon faktörü çekirdeği transloke ederek kanserin başlamasında, desteklenmesinde ve progresyonunda rol oynayan birçok hedef genin transkripsiyonunu aktive eder [14, 16, 17].

2. Nonkanonik ve alternatif NF-κB sinyal yolağı adı verilen ikinci yolak p100-ReIB kompleksini aktive eder. Bu durumda B-hücresi aktive edici faktör (BAFF) gibi TNF-üst ailesinin üyeleri veya CD40 ligandı, NF-κB indükleyici kinazı (NIK) reseptörlerine bağlanarak aktive eder. NIK devamında IKKα'yı aktive eder. IKKα p100'ün IκB benzeri bölgesinin iki serin kalıntısını fosforlar. Sonuçta p100 proteazom tarafından kısmen degrade edilir ve p52-ReIB kompleksi serbest kalır [10, 14, 17].
3. Üçüncü NF-κB aktivasyon yolağı (atipik yolak) IκB degradasyonunda bağımsızdır. Bu aktivasyonu regüle eden uyarıcılar hala net olarak bilinmemektedir. p105 stimülasyon sonrası p50 ile birlikte komplekste bulunur ve bir IκB benzeri bölgedeki serin kalıntılarındaki IKK'lar tarafından fosforillenir. Daha sonra ubikutin eklenen ve kısmen proteazom tarafından degrade edilen p105, p50 formasyonuna yol açar. Bcl-3 devamında p50 homodimere bağlanarak trimerik bir kompleks oluşturur. Kompleks daha sonra Bcl-3'ün CBP/p300 ile etkileşerek bir transkripsiyon aktivatörü görevi yaptığı ortamda çekirdeğe transloke olur [17, 18].



Şekil 4 NF-κB aktivasyonunun dört yolağı **a** Toll benzeri, TNF veya T hücre reseptörü tarafından aktive edilen klasik veya kanonik NF-κB aktivasyon yolağı. **b** BAFF reseptörü ve CD40 tarafından aktive edilen alternatif veya nonkanonik NF-κB sinyal yolağı. **c** Atipik yolak. **d** UV ile indüklenen yolak A erken faz yolağı ile B geç faz yolağı ile ([17] nolu referanstan uyarlanmıştır).

4. Dördüncü yolak UV tarafından indüklenen NF-κB aktivasyon yolağıdır. UV ışınları NF-κB'yi iki farklı mekanizma ile aktive eder: (a) erken faz IκB'ye bağımlı yolak, IκBa fosforilasyonuna ve proteazomal degradasyona yol açar (b) geç faz IκB'den bağımsız yolakta NF-κB bilinmeyen bir mekanizma ile serbest kalır [19, 20].

Sağlıklı hücrelerdeki NF-κB aktivasyonu regüle bir prosestir. Doğal NF-κB inhibitörü olan IκB de bu transkripsiyon faktörünün kontrolü altındadır [10]. Bu otoregüle döngüdeki NF-κB aktivasyonunun zaman ve yoğunluğu sınırlanmıştır [15]. Tümör hücrelerindeki moleküler değişimler NF-κB aktivasyonunun patolojik ve anlamlı yukarı regülasyonuna yol açarak kanser gelişiminde rol oynayan genlerin ekspresyonunu sağlar [10, 13]. Birçok tümörde NF-κB aktivasyonu tanımlanmıştır [10].

Ancak çeşitli kaynaklardan elde edilen doğal bileşikler NF-κB aktivasyonu ve ilgili hücre sinyal mekanizmaları ile etkili bir biçimde savaşabilir. Yakın zamanda, doğanın sunduğu mükemmel NF-κB inhibitörler ile ilişkili kanıtları sunmuş bulunuyoruz: kurkumin [21–23]; β-lapakon ve emodin, sanguinarin, ve kapsaisin [24]; kawainler [25]; naftopironlar [26]; kardenolidler [27, 28]; heteronemin [29]; poliketid türevleri [30]; kalkonlar [31, 32]; ve maun yaprağı ekstresinin [33] NF-κB hücre sinyal yolaklarını etkili olarak inhibe ettiklerini gösterdik. Güncel makalelerde bu konunun dünya çapında çok

aktif bir araştırma konusu olduğundan bahsedilmektedir [6, 22, 34–39]. Dikkate değer bir nokta da NF-κB'nın çok sık olarak sinyal dönüştürücü ve transkripsiyon aktivatörü (STAT) sinyal kaskadlarıyla ko-regüle olduğu ve doğal bileşiklerin bu yolakları etkili bir şekilde inhibe ettikleridir [40, 41].

3.3 Siklooksijenaz-2: Enflamasyonun Önemli bir Medyatörü

NF-κB yolağına ek olarak, siklooksijenaz ailesinin indüklenebilir bir formu olan siklooksijenaz-2'nin (COX-2) meme, kolon ve prostatı da içeren birçok kanser türünde ciddi oranda eksprese olduğu bulunmuştur [42]. Birçok çalışmada COX-2'nin erken preneoplastik evrelerden itibaren sabit bir şekilde eksprese olduğu gösterilmiştir. Bu bulgu birçok araştırıcının COX-2'yi kemoprevensiyon ve kanser tedavisinde potansiyel hedef olarak belirlemeye teşvik etmiştir. Enzimatik aktiviteyi hedefleyen sentetik COX-2 inhibitörleri COX-2'yi etkisizleştirebilen tek klinik stratejidir. Ancak bu bileşiklerin ciddi yan etkileri kemoprevensiyon veya kanser tedavisi için gerekli olan uzun süreli kullanımlarını kısıtlamaktadır. Doğal COX-2 inhibitörlerinin keşfi yan etkilerin önlenmesini sağlayabileceği için, günümüzde aktif araştırmalar yapılan bir alan haline gelmiştir [43].

4 Antikanser Ajanı Olarak Doğal Bileşikler

4.1 Kara Bitkilerinden Elde Edilen Antikanser Bileşikler

Bitkiler hayatta kalabilmek ve kendilerini savunabilmek için alkaloidler gibi bileşiklere dayanan ve diğer bitkilerin büyümelerine engel olan multipl mekanizmalar geliştirmişlerdir. Örnek olarak Catharantus roseus'dan (Cezayir Menekşesi) elde edilen bir Vinca alkaloidi olan vinkristin verilebilir. Serbest tubulin dimerlerini bağlayıp mikrotubul polimerizasyonuna engel olarak metafazı durdurur. Bir diğer iyi bilinen bileşik ise Mayıs Elmasının (Podophyllum peltatum) doğal bir podofilotoksini olan etopoziddir. Etopozid mitozdaki tümör hücrelerinin girişini topoizomeraz II aktivitesini inhibe edip çift sarmalı DNA'nın kırılmasını sağlayarak engeller. Ayrıca taksan ailesine ait moleküller olan paklitaksel ve dosetaksel de meme ve ovaryum kanserlerine karşı antitümör aktivite gösterirler. Paklitaksel Pasifik Okyanusu bölgesindeki Porsuk Ağacının (Taxus brevifolia) kabuğundan, dosetaksel ise aynı ağacın iğne yapraklarından elde edilir. Tubulin dimerlerindeki mikrotubullerin birleşimini stimüle ederek, mikrotubulleri depolimerizasyonu önleyerek stabilize ederler. Bu stabilite mikrotubuler ağın dinamik reorganizasyonunu engelleyrek mitozun durmasına yol açar. Flavopiridol ise ilk bulunan sikline bağımlı kinaz (CDK) inhibitörüdür [44]. Semisentetik bir flavono-

iddir. CDK'ların fosforilasyonuna müdahil olup G1 ve G2 fazlarındaki progresyonu engelleyerek hücre bölünmesini inhibe eder ve tümör hücrelerinin apoptozunu indükler. Flavopiridol ayrıca meme kanseri hücrelerinde aşırı eksprese olan siklin D1'in [45] ekspresyonunu azaltır. Bu bileşik diğer CDK'ların fosforilasyonunda rol oynayan kompleks cdk7/siklin H'nın da aktivitesini engeller. Bu bileşik ile yapılan klinik çalışmalar ve paklitaksel ve sisplatin gibi diğer doğal bileşiklerle yapılan kombinasyon testleri halen sürmektedir [46, 47].

4.2 Deniz Organizmalarından Elde Edilen Bileşikler

Deniz bitkileri büyük kimyasal çeşitlilik gösterirler. Deniz kaynaklarından elde edilen ürünler birçok kanser türüne karşı sitotoksik aktiviteye sahiptir [5, 29, 34, 35, 38, 48–51].

Didemnin B 1981'de Karayip Zarlısından (Tridemnum solidum) izole edilen ilk deniz kaynaklı bileşiktir. Ökaryotik uzama faktörü 2'nin (EEF2) translokasyonunu engelleyerek protein sentezini inhibe eder [52]. Didemnin B kaspazları aktive ederek hücre apoptozuna yol açar [53].

Dolastatinler Hint Okyanusu yumuşakçası Dollabella auriculariadan elde edilen peptidlerdir. Antineoplastik özellik taşırlar. Örneğin dolastatin 15 mikrotübül formasyonuna müdahil olup, metafazdaki hücre bölünmesini bloke ederek mitozu engeller [54].

Bryostatinler yosun türü olan Bugula neritinadan izole edilmiştir. Bu tür, aktif bir biyomolekül olan bryostatin salgılayan bir bakteri ile simbiyoz halinde yaşarlar. Bileşik bryozoaların larvalarını yırtıcı balıkları kaçırarak korur. Makrolid olan bryostatinler 15 farklı türevi olan bir ailedir. Bryostatin 1 en iyi bilinen antikanser ajandır. Bu bileşikler lenfoblastik lösemide Bcl-2'ye ubikutin eklenmesini ve proteazom degradasyonunu indükler ve kemik iliği hücrelerinde progenitör hücrelerin üremesine izin verir [55]. Bryostatinler protein kinaz C'nin (PKC) potent aktivatörleridir. Hücrelerin aktivasyon, büyüme ve farklılaşmalarını regüle ederler [46, 47].

4.3 Mikroorganizmalardan Elde Edilen Bileşikler

Mikroorganizmalar tehlikeli ortamlarda ve doku/organlarda sağ kalabilmek çok gelişmiş immun sistemlerini de içeren sofistike mekanizmalar geliştirmişlerdir. Bu nedenle bir dokuyu istila ederken farklı stratejiler kullanırlar. İmmun sistem hücrelerini yok eden toksinlerin salgılanması ve savunma sistemleri tarafından tanınmalarına engel olan kamuflaj özelliği örnek olarak verilebilir. Mikroorganizmalar elde edilen bileşikler bu multipl özellikleri nedeniyle kanser tedavisi için ilgi çekici bir konu oluşturmaktadır.

Streptomyces hygroscopicusdan izole edilen rapamisinin antifungal ve antiproliferatif özellikleri vardır. Rapamisin hücre büyüme ve proliferasyonunu kontrol eden mTOR

yolağını inhibe eder [56]. mTOR aktivasyonu hücrelerin hücre döngüsü içine girmelerine izin verir. Rapamisin transplantasyon sonrası allogreft reddini engeller. İn vivo ve in vitro ortamda çok sayıda tümör üzerinde antiproliferatif etki gösterir [56]. T ve B hücrelerindeki G1, osteosarkom ve diğer tümör hücrelerinin hücre döngüsündeki progresyonlarını bloke eder.

Wortmannin, Penicillium fumiculosumdan izole edilen fosfoinositid 3-kinaz (PI3K), mitojen aktive protein kinaz (MAPK) ve düz kas hücre kontraksiyonunda rol oynayan hafif miyozin zincirlerini fosforlayan bir serin treonin kinaz olan miyozin hafif zincirli kinazı (MLCK) inhibe eder [57]. Wortmannin DNA hasarı ile oluşan kinaz ataksi telenjiektazi mutasyonunu (ATM) bloke eder. Ayrıca sitokinlerin antiapoptotik etkilerini ve p53 stabilizasyonunu da inhibe eder [46, 47].

4.4 Diyet Bileşikleri

Sinnamik asit 1834 yılında Peligot ve Dumas tarafından keşfedilen ve saflaştırılan bir fenolik asittir. Cinnamomum cassiadan izole edilir ve antiseptik ve antifungal özellikleri ile tanınır. Sinnamik asit, şikimik asit ve tüm fenilpropanoidlerin biyosentetik yolağının aracısıdır. Fenilalanin amonyak-liyaz (PAL) enzimi ile fenilalaninden elde edildikten sonra sinnamat 4-hidroksilaz tarafından parakumarik aside dönüştürülür. Sinnamik asit, hidroksisinnamik asitler (kafeik asit, ferulik asit ve sinapik asit), dahili siklizasyon ile kumarinler (p-kumarik asit), flavonoidler (kuersetin) ve ligninler (koniferil alkol) gibi bileşiklere de dönüşebilir. Sinnamik asit ayrıca benzoik asit, salisilik asit ve gallik asitinde prekürsorudur. Sinnamik asitin melanom, glioblastom ile akciğer ve karaciğer adenokarsinomuna karşı antitümör etkisi olduğu gösterilmiştir [58]. Sinnamik asit kolorektal kanser hücreleri (Caco-2) üzerinde de antiproliferatif etki ve doza bağımlı DNA sentezi inhibisyonu yapar [59].

4.5 Kalkonlar

Polifenoller her molekülde birden fazla fenol içeren önemli besin bileşiklerindendir [60]. Bu aile bitki, meyve ve sebzelerde bulunan ve ultraviyole radyasyonuna ve patojen agresyonuna karşı koruyan mekanizmalarda rol alan binlerce molekülden oluşur. Hücreleri serbest radikallerin ve kanser, enflamasyon ve kardiyovasküler hastalık gibi patolojilerin hasarlarına karşı korurlar [61]. Kalkonlar antioksidan, antibakteryel, antienflamatuar, antikanser, sitotoksik ve immunosupresif potansiyeli olan önemli bir polifenolik alt gruptur. Kalkonlar özellike turunçgiller, elma gibi meyvelerde ve bitkisel tıpta geleneksel olarak kullanılan sebzelerde bol miktarda bulunurlar [62]. Kalkonların (spesifik olmamalarına rağmen) aşağı yönlü sinyal yolaklarını modüle eden belirgin regülatuar proteinleri hedefledikleri bildirilmiştir. Spesifik yapı gereksinimleri önemli rol

oynamakta olup, gözlenen biyoaktiviteleri ile korele olabilir [63-67]. Doğal kalkonların nütrasötik veya özgün terapötik ajanlar olarak tanımlanmaları ve karakterize edilmeleri enflamasyon ve kanser tedavisinde ümit verici bir yaklaşım olabilir [31, 32, 39].

5 Siklooksijenaz-2'nin Doğal Ürünlerle Modülasyonu

COX-2'yi transkripsiyon, posttranskripsiyon ve posttranslasyon düzeyinde modüle edebilen birçok doğal ürün mevcuttur (Şekil 5) [43].

5.1 Transkripsiyonel Düzeyde Regülasyon

Polifenoller kemoterapi ve kemoprevensiyonda kullanılan çok sayıda bileşiğin kaynağıdır. Bu bileşikler ilginç antienflamatuar ve antikanser özelliklere sahiptir. Bu bileşiklerin hedeflerinin bir tanesi faktör NFκB'dir. Birçok çalışmada bu bileşiklerin COX'un transkripsiyon düzeyindeki ekspresyonunu regüle ederek fonksiyonunu azaltma yetenekleri araştırılmıştır (Şekil 5).

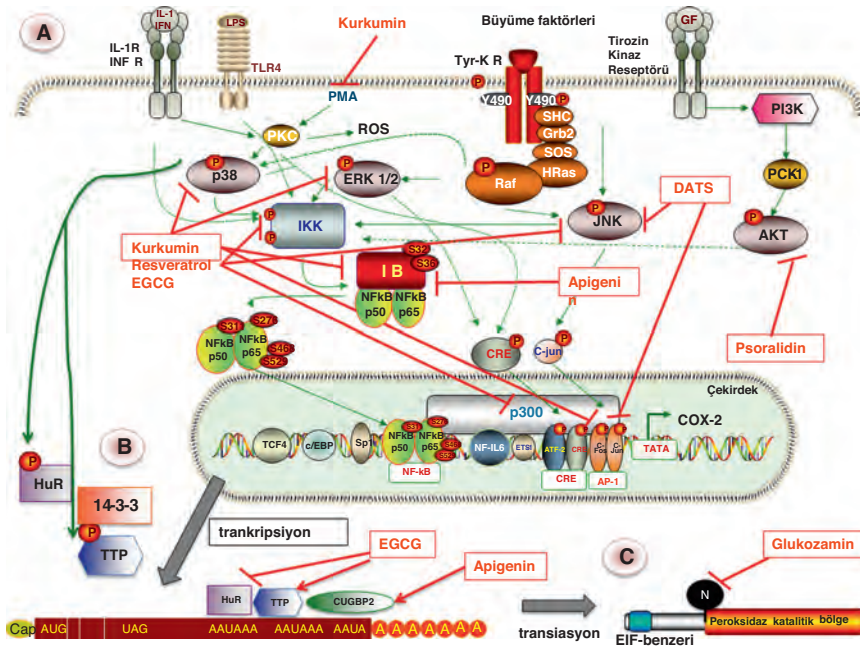
Birçok bileşik COX-2'nin ekspresyonunu MAPK sinyal yolaklarını etkileyerek modüle eder. Gerçekten de Curcuma longa kökünden ekstrakte edilen ve antienflamatuar ve antikanser etkileri olan kurkumin p38 ve ERK'nın fosforilasyonunu engelleyebilir [68]. Aynı etkiyi yapan resveratrol esas olarak kırmızı şarap ve üzümde bulunurken [69], epigallokateşin gallat (EGCC) ise yeşil çaydan elde edilen bir polifenoldür [70].

JNK'nın aktivasyonu ile transkripsiyon faktörü AP-1 aktive olur. Bu aktivasyon sarımsak ve soğandan elde edilen dialil polisülfidler tarafından inhibe edilir [71]. Ek olarak Psoralea corylifolia tohumlarından elde edilen bir bileşik olan psoralidin, PI3K/Akt yolağını inhibe eder [72].

MAPK'lerin aktivasyonlarının inhibe edilmesi COX-2 promotörünün spesifik bölgelerine bağlanan transkripsiyon faktörlerinin aktivasyon ve nükleer translokasyonlarını engelleyerek COX-2 ekspresyonunu inhibe eder.

Doğal ürünler transkripsiyon faktörlerinin direkt aktivasyonunda da rol oynayabilirler. Örneğin papatyada bulunan bir flavon olan apigenin, IκBa'yı fosforlayan ve inhibe eden IκB kinazı (IKK) inhibe eder. IκBa NF-κB'yi tecrit ederek çekirdeğe transportuna ve alt ünitelerinin (p65, p50) promotör ile iletişimine engel olur.

Diğer transkripsiyon faktörleri de doğal ürünlerin hedefleri arasındadır. c-jun ve c-FOS alt ünitelerinden oluşan AP-1 endometrium karsinomunda kurkumin tarafından inhibe edilir. Bu faktör nonkarsinojenik LDC'ler [73], dialil trisülfitleri [71] ve flavonoid kuersetin [74] ile stimüle edilen memeli epitel hücrelerindeki resveratrol ile inhibe edilir. AP-1 aktivasyonu enflamasyon, hücre transformasyonu ve immun cevaba yol açar. AP-1 metastaz formasyonunun erken bir evresi olan epitelyal mezenkimal transisyona izin



Şekil 5 COX-2 ekspresyonunun doğal bileşiklerle modülasyonu **a** Transkripsiyonal regülasyon: Kurkumin, resveratrol ve EGCG, p38, ERK ve JNK aktivasyonunu ve IκBa degradasyonunu ve IKK aktivasyonunu inhibe eder. Kurkumin, PMA ve ETS-1 nükleer translokasyonunun etkilerini inhibe eder. Dialil trisülfitler JNK aktivasyonunu ve c-Fos ve c-Jun'un nükleer translokasyonunu engellerler. Apigenin IκBa degradasyonunu engeller. Psoralidin AKT aktivasyonunu engeller. **b** Posttranskripsiyonel regülasyon: EGCG ARE'lere HuR bağlanmasını inhibe eder ve TTP ekspresyonunu destekler. Apigenin ARE'lere CUGBP2 bağlanmasına ve HuR ile iletişimine izin verir. **c** Posttranslasyonel regülasyon: Glukozamin COX-2 proteininin transformasyonunun N-glikozilasyonunu ve immün cevabı engeller.

verir [75]. Transkripsiyon faktörü Ets-1, anjiogenezde rol oynayan VEGF gibi faktörlerin ekspresyonlarını regüle eder. İnsandaki endometrium karsinomlarındaki ekspresyonu kurkumin ile inhibe edilebilir [68]. PMA COX-2 ekspresyonunun indükleyicisidir. PKC'nin diasilgliserol bölgesine (DAG) bağlanarak aktive olmasını sağlar. PKC reaktif oksijen türlerinin formasyonunu destekler. Kurkumin PMA etkinliğini bloke eden antioksidan özelliklere sahiptir [75].

5.2 Posttranskripsiyonel Düzeyde Regülasyon

mRNA stabilite ve translasyon etkinliğinin modülasyonu immun hastalıklar ve kanserde COX-2 stabilitesi için çok önemlidir. Kolorektal kanserdeki COX-2 mRNA yüksek oranda stabildir. Birkaç çalışmada doğal ürünlerin posttranskripsiyonel seviyedeki COX-2 ekspresyonu üzerindeki etkileri araştırılmıştır (Şekil 5).

HuR ve TTP'yi de içeren çeşitli moleküller COX-2'nin stabilitesini modüle eder. Ayrıca 30 translasyona uğramayan bölgede (UTR) miR-199 ve miR-16 gibi AUUUUA yönünden zengin elemanları (ARE) bağlayan mikro RNA'lar, mRNA kodlayan COX-2'yi regüle ederler. Bazı doğal ürünler mRNA'yı stabilize veya destabilize etmek amacıyla regüle ederler. Örneğin EGCG, mRNA stabilizasyonunda rol oynayan HuR proteinini inhibe ederken, mRNA COX-2'yi destabilize eden TTP proteinini indükler [70]. Kurkumin çeşitli miRNA'ların ekspresyonlarını aşağı veya yukarı regüle edebilir. Gerçekten de kurkumin miR-199'u aşağı regüle ederken miR-22'yi ise yukarı regüle eder [76].

P38 MAPK, mRNA stabilitesinin regülasyonunda önemlidir. p38, HuR ve TTP'yi fosforilleme yeteneğine sahiptir. HuR fosforilasyonunun aktivasyonu sitoplazmaya transportuna ve ARE sekanslarına bağlanmasına izin verir [77]. Buna karşın TTP fosforilasyonu proteine bağlanan 14-3-3 kompleksi tarafından tanınarak ARE'lere bağlanması engellenir [78]. Kurkumin [79] ve resveratrol [69], p38 aktivasyonunu engeller.

Diğer bileşikler, ARE'lerdeki TIA-1, TIAR gibi bazı proteinlerin bağlanmalarını modüle ederek COX-2'nin mRNA'sının translasyon etkinliğinde rol oynarlar. Örneğin apigenin COX-2 transkriptini stabilize ederken translasyonu inhibe eden HuR ve CUGBP2 ile etkileşimi nedeniyle de proteine translasyonunu engeller [80]. Tarçın, glukokortikoidler ve yeşil çayın TTP transkripsiyonunu desteklediği gösterilmiştir [81].

p38'in aktivasyonu COX-2'nin transkripsiyonel ve posttranskripsiyonel seviyelerdeki ekspresyonunun regülasyonunda önemlidir. Transkripsiyon düzeyinde NF-κB veya AP-1 gibi transkripsiyon faktörlerini aktive ederek COX-2'nin transkripsiyonunu sağlar. Posttranskripsiyonel seviyede HuR fosforilasyonunu destekleyerek ve nükleositoplazmik transportuna izin vererek COX-2 mRNA'yı stabilize eder.

Bazı bileşikler COX-2'yi sadece posttranskripsiyonel düzeyde etkilemektedir. Bu durum COX-2'nin mRNA stabilitesini, mikroglial hücrelerde liposakaridler ile stimüle edilen COX-2'nin transkripsiyon etkinliğini etkilemeden azaltan mango ağacından (Mangifera indica) elde edilen glukozilksanton ekstresi mangiferin için geçerlidir [82].

5.3 Posttranslasyonel Regülasyon

COX-2'nin posttranslasyonel modifikasyonları güncel bir araştırma alanının konusudur. İlk sonuçlar kemopreventif ajanların COX-2'nin bu seviyedeki ekspresyonunda rol oynadığını düşündürmektedir (Şekil 5).

Balıktan veya keten tohumundan elde edilen omega-3 gibi poliansatüre yağ asitlerinin kardiyovasküler hastalıklardan koruyucu ajanlar olduğu düşünülmektedir. Başlıca iki omega-3 yağ asidi türü olan dokosaheksaenoik asit (DHA) ve eikosapentaenoik asit (EPA) kolon kanseri [83], prostat kanseri [84] ve hepatoselüler karsinomda [85] antiproliferatif etki gösterirler. Prostat kanserinin agresif formlarının gelişme olasılığı ile düzenli omega-3 yağ asidi tüketimi arasında ters bir korelasyon olduğu gösterilmiştir [84]. Ek olarak DHA, EPA veya 11, 14, 17-eikostrienoik asit (ETA) ve diğer omega-3 yağ asitlerinin uygulaması in vivo cilt kanseri modellerinde proenflamatuar medyatörlerin eks-

presyonunu engellemektedir [86]. Omega 3, COX-2 ekspresyonunu azatır ve aktivitesini inhibe eder [87]. Kabukluların iskeletlerinde doğal olarak bulunan bir diğer omega-3 yağ asidi olan glukozamin çoğunlukla osteoartrit tedavisinde kullanılmaktadır. Güncel veriler glukozaminin akciğer kanseri hücrelerindeki COX-2'nin N-glikolizasyonunu azaltarak [88] COX-2 aktivitesini azalttığını göstermektedir. Bu molekülün COX-2'nin aktivitesini ve stabilitesini bloke etme özelliği kanser tedavisindeki ilginç bir antienflamatuar etkiyi ortaya koymaktadır.

6 Sonuçlar

En büyük medikal tedavi kaynağı olan doğa, sofistike geleneksel tedavilerin temeli haline gelmiştir. Mısır Tıbbı, Çin İlaç Bilimi, Hindistan Ayurveda Tıbbı ile birlikte antik Batı dünyasındaki Yunan ve Roma Tıpları genel olarak bitki kaynaklı tedavilere dayanmaktadır. Modern kanser ilaç keşfinde doğal ürünlerin önemi günümüzde de sürmektedir. Organizmalar tarafından üretilen sekonder metabolitler başlıca koruma, predasyon ve komünikasyon işlevine sahip aktif bileşikler içermektedirler. Bu nedenle, biyolojik olarak yüksek oranda aktif olan bu bileşikler modern tıp tarafından doğal olarak adapte edilmektedir. Bu bileşiklerin enflamasyon ve kanserde rol oynayan moleküler mekanizmalara karşı olan aktiviteleri günümüzde aktif bir araştırma alanı haline gelmiştir. Bu nedenle doğal kaynaklardan elde edilen bileşiklerin, hem koruma hem de tedavide kullanılabilen değerli ajanlar olduğunu düşünüyoruz.

Teşekkürler: BO and NL Télévie-Luxembourg doktora bursunu kullanmıştır. Laboratoire de Biologie Moléculaire et Cellulaire du Cancer'de yapılan araştırma "Recherche Cancer et Sang" vakfı, "Recherches Scientifiques Luxembourg" birliği, "Een Haerz fir kriibskrank Kanner" birliği, the Action Lions "Vaincre le Cancer" birliği and Télévie Luxembourg tarafından desteklenmiştir. Diğer destekler Avrupa Birliği'nden alınmıştır (ITN "RedCat" 215009, Interreg IVa project "Corena").

Referanslar

1. Newman DJ, Cragg GM (2012) Natural products as sources of new drugs over the 30 years from 1981 to 2010. J Nat Prod 75(3):311–335
2. Hanahan D, Weinberg RA (2000) The hallmarks of cancer. Cell 100:57–70
3. Hanahan D, Weinberg RA (2011) Hallmarks of cancer: the next generation. Cell 144:646–674
4. Trecul A, Morceau F, Dicato M, Diederich M (2012) Dietary compounds as potent inhibitors of the signal transducers and activators of transcription (STAT) 3 regulatory network. Genes Nutr 7:111–125

5. Schumacher M, Kelkel M, Dicato M, Diederich M (2011) Gold from the sea: marine compounds as inhibitors of the hallmarks of cancer. Biotechnol Adv 29:531–547
6. Schumacher M, Juncker T, Schnekenburger M, Gaascht F, Diederich M (2011) Natural compounds as inflammation inhibitors. Genes Nutr 6:89–92
7. Orlikova B, Diederich M (2012) Power from the garden: plant compounds as inhibitors of the hallmarks of cancer. Curr Med Chem 19:2061–2087
8. Kelkel M, Jacob C, Dicato M, Diederich M (2010) Potential of the dietary antioxidants resveratrol and curcumin in prevention and treatment of hematologic malignancies. Molecules 15:7035–7074
9. Balkwill F, Mantovani A (2001) Inflammation and cancer: back to Virchow? Lancet 357:539–545
10. Prasad S, Ravindran J, Aggarwal BB (2010) NF-kappaB and cancer: how intimate is this relationship. Mol Cell Biochem 336:25–37
11. Folmer F, Dicato M, Diederich M (2012) From the deepest sea shelf to the uppermost kitchen cabinet shelf: the quest for novel TNF-alpha inhibitors. Curr Top Med Chem 12(3):1392–1407
12. Delhalle S, Blasius R, Dicato M, Diederich M (2004) A beginner's guide to NF-kappaB signaling pathways. Ann NY Acad Sci 1030:1–13
13. Meteoglu I, Erdogdu IH, Meydan N, Erkus M, Barutca S (2008) NF-KappaB expression correlates with apoptosis and angiogenesis in clear cell renal cell carcinoma tissues. J Exp Clin Cancer Res 27:53
14. Baud V, Karin M (2009) Is NF-kappaB a good target for cancer therapy? Hopes and pitfalls. Nat Rev Drug Discov 8:33–40
15. Nishikori M (2005) Classical and alternative NF-kB activation pathways and their roles in lymphoid malignancies. J Clin Exp Hematopathol 45:15–24
16. Li Q, Verma IM (2002) NF-kappaB regulation in the immune system. Nat Rev Immunol 2:725–734
17. Gilmore TD (2006) Introduction to NF-kappaB: players, pathways, perspectives. Oncogene 25:6680–6684
18. Heissmeyer V, Krappmann D, Wulczyn FG, Scheidereit C (1999) NF-kappaB p105 is a target of IkappaB kinases and controls signal induction of Bcl-3-p50 complexes. EMBO J 18:4766–4778
19. Wu S, Tong L (2010) Differential signaling circuits in regulation of ultraviolet C light-induced early- and late-phase activation of NF-kappaB. Photochem Photobiol 86:995–999
20. Muthusamy V, Piva TJ (2010) The UV response of the skin: a review of the MAPK, NFkappaB and TNFalpha signal transduction pathways. Arch Dermatol Res 302:5–17
21. Duvoix A, Blasius R, Delhalle S, Schnekenburger M, Morceau F, Henry E, Dicato M, Diederich M (2005) Chemopreventive and therapeutic effects of curcumin. Cancer Lett 223:181–190
22. Duvoix A, Morceau F, Delhalle S, Schmitz M, Schnekenburger M, Galteau MM, Dicato M, Diederich M (2003) Induction of apoptosis by curcumin: mediation by glutathione S-transferase P1–1 inhibition. Biochem Pharmacol 66:1475–1483
23. Reuter S, Schnekenburger M, Cristofanon S, Buck I, Teiten MH, Daubeuf S, Eifes S, Dicato M, Aggarwal BB, Visvikis A, Diederich M (2009) Tumor necrosis factor alpha induces gamma-glutamyltransferase expression via nuclear factor-kappaB in cooperation with Sp1. Biochem Pharmacol 77:397–411
24. Duvoix A, Delhalle S, Blasius R, Schnekenburger M, Morceau F, Fougere M, Henry E, Galteau MM, Dicato M, Diederich M (2004) Effect of chemopreventive agents on glutathione S-transferase P1–1 gene expression mechanisms via activating protein 1 and nuclear factor kappaB inhibition. Biochem Pharmacol 68:1101–1111
25. Folmer F, Blasius R, Morceau F, Tabudravu J, Dicato M, Jaspars M, Diederich M (2006) Inhibition of TNFalpha-induced activation of nuclear factor kappaB by kava (Piper methysticum) derivatives. Biochem Pharmacol 71:1206–1218

26. Folmer F, Harrison WT, Tabudravu JN, Jaspars M, Aalbersberg W, Feussner K, Wright AD, Dicato M, Diederich M (2008) NF-kappaB-inhibiting naphthopyrones from the Fijian echinoderm Comanthus parvicirrus. J Nat Prod 71:106–111
27. Juncker T, Schumacher M, Dicato M, Diederich M (2009) UNBS1450 from Calotropis procera as a regulator of signaling pathways involved in proliferation and cell death. Biochem Pharmacol 78:1–10
28. Juncker T, Cerella C, Teiten MH, Morceau F, Schumacher M, Ghelfi J, Gaascht F, Schnekenburger M, Henry E, Dicato M, Diederich M (2011) UNBS1450, a steroid cardiac glycoside inducing apoptotic cell death in human leukemia cells. Biochem Pharmacol 81:13–23
29. Schumacher M, Cerella C, Eifes S, Chateauvieux S, Morceau F, Jaspars M, Dicato M, Diederich M (2010) Heteronemin, a spongean sesterterpene, inhibits TNF alpha-induced NF-kappa B activation through proteasome inhibition and induces apoptotic cell death. Biochem Pharmacol 79:610–622
30. Aly AH, Debbab A, Clements C, Edrada-Ebel R, Orlikova B, Diederich M, Wray V, Lin W, Proksch P (2011) NF kappa B inhibitors and antitrypanosomal metabolites from endophytic fungus Penicillium sp. isolated from Limonium tubiflorum. Bioorg Med Chem 19:414–421
31. Orlikova B, Tasdemir D, Golais F, Dicato M, Diederich M (2011) The aromatic ketone 4′-hydroxychalcone inhibits TNFalpha-induced NF-kappaB activation via proteasome inhibition. Biochem Pharmacol 82:620–631
32. Orlikova B, Schnekenburger M, Zloh M, Golais F, Diederich M, Tasdemir D (2012) Natural chalcones as dual inhibitors of HDACs and NF-kappaB. Oncol Rep 28(3):797
33. Schumacher M, Cerella C, Reuter S, Dicato M, Diederich M (2011) Anti-inflammatory, pro-apoptotic, and anti-proliferative effects of a methanolic neem (Azadirachta indica) leaf extract are mediated via modulation of the nuclear factor-kappaB pathway. Genes Nutr 6:149–160
34. Folmer F, Jaspars M, Dicato M, Diederich M (2008) Marine natural products as targeted modulators of the transcription factor NF-kappaB. Biochem Pharmacol 75:603–617
35. Folmer F, Jaspars M, Solano G, Cristofanon S, Henry E, Tabudravu J, Black K, Green DH, Kupper FC, Aalbersberg W, Feussner K, Dicato M, Diederich M (2009) The inhibition of TNF-alpha-induced NF-kappaB activation by marine natural products. Biochem Pharmacol 78:592–606
36. Teiten MH, Eifes S, Dicato M, Diederich M (2010) Curcumin-the paradigm of a multi-target natural compound with applications in cancer prevention and treatment. Toxins (Basel) 2:128–162
37. Teiten MH, Gaascht F, Eifes S, Dicato M, Diederich M (2010) Chemopreventive potential of curcumin in prostate cancer. Genes Nutr 5:61–74
38. Schumacher M, Kelkel M, Dicato M, Diederich M (2011) A survey of marine natural compounds and their derivatives with anti-cancer activity reported in 2010. Molecules 16:5629–5646
39. Orlikova B, Tasdemir D, Golais F, Dicato M, Diederich M (2011) Dietary chalcones with chemopreventive and chemotherapeutic potential. Genes Nutr 6:125–147
40. Blasius R, Reuter S, Henry E, Dicato M, Diederich M (2006) Curcumin regulates signal transducer and activator of transcription (STAT) expression in K562 cells. Biochem Pharmacol 72:1547–1554
41. Aggarwal BB, Kunnumakkara AB, Harikumar KB, Gupta SR, Tharakan ST, Koca C, Dey S, Sung B (2009) Signal transducer and activator of transcription-3, inflammation, and cancer: how intimate is the relationship? Ann NY Acad Sci 1171:59–76
42. Sobolewski C, Cerella C, Dicato M, Ghibelli L, Diederich M (2010) The role of cyclooxygenase-2 in cell proliferation and cell death in human malignancies. Int J Cell Biol 2010:215158

43. Cerella C, Sobolewski C, Dicato M, Diederich M (2010) Targeting COX-2 expression by natural compounds: a promising alternative strategy to synthetic COX-2 inhibitors for cancer chemoprevention and therapy. Biochem Pharmacol 80:1801–1815
44. Zhai S, Senderowicz AM, Sausville EA, Figg WD (2002) Flavopiridol, a novel cyclin-dependent kinase inhibitor, in clinical development. Ann Pharmacother 36:905–911
45. Carlson BA, Dubay MM, Sausville EA, Brizuela L, Worland PJ (1996) Flavopiridol induces G1 arrest with inhibition of cyclin-dependent kinase (CDK) 2 and CDK4 in human breast carcinoma cells. Cancer Res 56:2973–2978
46. da Rocha AB, Lopes RM, Schwartsmann G (2001) Natural products in anticancer therapy. Curr Opin Pharmacol 1:364–369
47. Nobili S, Lippi D, Witort E, Donnini M, Bausi L, Mini E, Capaccioli S (2009) Natural compounds for cancer treatment and prevention. Pharmacol Res 59:365–378
48. Abdel-Mageed WM, Milne BF, Wagner M, Schumacher M, Sandor P, Pathom-aree W, Goodfellow M, Bull AT, Horikoshi K, Ebel R, Diederich M, Fiedler HP, Jaspars M (2010) Dermacozines, a new phenazine family from deep-sea dermacocci isolated from a Mariana trench sediment. Org Biomol Chem 8:2352–2362
49. Folmer F, Jaspars M, Schumacher M, Dicato M, Diederich M (2010) Marine natural products targeting phospholipases A2. Biochem Pharmacol 80:1793–1800
50. Rateb ME, Houssen WE, Schumacher M, Harrison WT, Diederich M, Ebel R, Jaspars M (2009) Bioactive diterpene derivatives from the marine sponge Spongionella sp. J Nat Prod 72:1471–1476
51. Teiten MH, Gaascht F, Dicato M, Diederich M (2012) Targeting the wingless signaling pathway with natural compounds as chemopreventive or chemotherapeutic agents. Curr Pharm Biotechnol 13:245–254
52. Ahuja D, Vera MD, SirDeshpande BV, Morimoto H, Williams PG, Joullie MM, Toogood PL (2000) Inhibition of protein synthesis by didemnin B: how EF-1 alpha mediates inhibition of translocation. Biochemistry 39:4339–4346
53. Grubb DR, Wolvetang EJ, Lawen A (1995) Didemnin B induces cell death by apoptosis: the fastest induction of apoptosis ever described. Biochem Biophys Res Commun 215:1130–1136
54. Bai R, Friedman SJ, Pettit GR, Hamel E (1992) Dolastatin 15, a potent antimitotic depsipeptide derived from Dolabella auricularia. Interaction with tubulin and effects of cellular microtubules. Biochem Pharmacol 43:2637–2645
55. Wall NR, Mohammad RM, Reddy KB, Al-Katib AM (2000) Bryostatin 1 induces ubiquitination and proteasome degradation of Bcl-2 in the human acute lymphoblastic leukemia cell line, Reh. Int J Mol Med 5:165–171
56. Geerts AM, Vanheule E, Van Vlierberghe H, Leybaert L, Van Steenkiste C, De Vos M, Colle I (2008) Rapamycin prevents mesenteric neo-angiogenesis and reduces splanchnic blood flow in portal hypertensive mice. Hepatology Res Official J Jpn Soc Hepatology 38:1130–1139
57. Nakanishi S, Kakita S, Takahashi I, Kawahara K, Tsukuda E, Sano T, Yamada K, Yoshida M, Kase H, Matsuda Y et al (1992) Wortmannin, a microbial product inhibitor of myosin light chain kinase. J Biol Chem 267:2157–2163
58. Liu L, Hudgins WR, Shack S, Yin MQ, Samid D (1995) Cinnamic acid: a natural product with potential use in cancer intervention. Int J Cancer 62:345–350
59. Ekmekcioglu C, Feyertag J, Marktl W (1998) Cinnamic acid inhibits proliferation and modulates brush border membrane enzyme activities in Caco-2 cells. Cancer Lett 128:137–144
60. Ullah MF, Khan MW (2008) Food as medicine: potential therapeutic tendencies of plant derived polyphenolic compounds. Asian Pac J Cancer Prev 9:187–195
61. Tapiero H, Tew KD, Ba GN, Mathe G (2002) Polyphenols: do they play a role in the prevention of human pathologies? Biomed Pharmacother 56:200–207
62. Di Carlo G, Mascolo N, Izzo AA, Capasso F (1999) Flavonoids: old and new aspects of a class of natural therapeutic drugs. Life Sci 65:337–353

63. Cabrera M, Simoens M, Falchi G, Lavaggi ML, Piro OE, Castellano EE, Vidal A, Azqueta A, Monge A, de Cerain AL, Sagrera G, Seoane G, Cerecetto H, Gonzalez M (2007) Synthetic chalcones, flavanones, and flavones as antitumoral agents: biological evaluation and structure-activity relationships. Bioorg Med Chem 15:3356–3367
64. De Vincenzo R, Scambia G, Benedetti Panici P, Ranelletti FO, Bonanno G, Ercoli A, Delle Monache F, Ferrari F, Piantelli M, Mancuso S (1995) Effect of synthetic and naturally occurring chalcones on ovarian cancer cell growth: structure-activity relationships. Anticancer Drug Des 10:481–490
65. Jin YL, Jin XY, Jin F, Sohn DH, Kim HS (2008) Structure activity relationship studies of anti-inflammatory TMMC derivatives: 4-dimethylamino group on the B ring responsible for lowering the potency. Arch Pharm Res 31:1145–1152
66. Loa J, Chow P, Zhang K (2009) Studies of structure-activity relationship on plant polyphenol-induced suppression of human liver cancer cells. Cancer Chemother Pharmacol 63:1007–1016
67. Srinivasan B, Johnson TE, Lad R, Xing C (2009) Structure-activity relationship studies of chalcone leading to 3-hydroxy-4,3′,4′,5′-tetramethoxychalcone and its analogues as potent nuclear factor kappaB inhibitors and their anticancer activities. J Med Chem 52:7228–7235
68. Yu Z, Shah DM (2007) Curcumin down-regulates Ets-1 and Bcl-2 expression in human endometrial carcinoma HEC-1-A cells. Gynecol Oncol 106:541–548
69. Kundu JK, Chun KS, Kim SO, Surh YJ (2004) Resveratrol inhibits phorbol ester-induced cyclooxygenase-2 expression in mouse skin: MAPKs and AP-1 as potential molecular targets. BioFactors 21:33–39
70. Peng G, Dixon DA, Muga SJ, Smith TJ, Wargovich MJ (2006) Green tea polyphenol (-)-epigallocatechin-3-gallate inhibits cyclooxygenase-2 expression in colon carcinogenesis. Mol Carcinog 45:309–319
71. Shrotriya S, Kundu JK, Na HK, Surh YJ (2010) Diallyl trisulfide inhibits phorbol ester-induced tumor promotion, activation of AP-1, and expression of COX-2 in mouse skin by blocking JNK and Akt signaling. Cancer Res 70:1932–1940
72. Chiou WF, Don MJ, Liao JF, Wei BL (2011) Psoralidin inhibits LPS-induced iNOS expression via repressing Syk-mediated activation of PI3K-IKK-IκB signaling pathways. Eur J Pharmacol 650(1):102–109
73. Kundu JK, Shin YK, Surh YJ (2006) Resveratrol modulates phorbol ester-induced pro-inflammatory signal transduction pathways in mouse skin in vivo: NF-kappaB and AP-1 as prime targets. Biochem Pharmacol 72:1506–1515
74. Crespo I, Garcia-Mediavilla MV, Gutierrez B, Sanchez-Campos S, Tunon MJ, Gonzalez-Gallego J (2008) A comparison of the effects of kaempferol and quercetin on cytokine-induced pro-inflammatory status of cultured human endothelial cells. Br J Nutr 100:968–976
75. Aggarwal BB, Shishodia S (2006) Molecular targets of dietary agents for prevention and therapy of cancer. Biochem Pharmacol 71:1397–1421
76. Sun M, Estrov Z, Ji Y, Coombes KR, Harris DH, Kurzrock R (2008) Curcumin (diferuloylmethane) alters the expression profiles of microRNAs in human pancreatic cancer cells. Mol Cancer Ther 7:464–473
77. Fernau NS, Fugmann D, Leyendecker M, Reimann K, Grether-Beck S, Galban S, Ale-Agha N, Krutmann J, Klotz LO (2010) Role of HuR and p38MAPK in ultraviolet B-induced post-transcriptional regulation of COX-2 expression in the human keratinocyte cell line HaCaT. J Biol Chem 285:3896–3904
78. Sandler H, Stoecklin G (2008) Control of mRNA decay by phosphorylation of tristetraprolin. Biochem Soc Trans 36:491–496
79. Cho JW, Park K, Kweon GR, Jang BC, Baek WK, Suh MH, et al. (2005) Curcumin inhibits the expression of COX-2 in UVB-irradiated human keratinocyte (HaCaT) by inhibiting activation of AP-1: p38 MAP kinase and JNK a potential upstream targets. Exp Mol Med 37:186–192

80. Tong X, Van Dross RT, Abu-Yousif A, Morrison AR, Pelling JC (2007) Apigenin prevents UVB-induced cyclooxygenase 2 expression: coupled mRNA stabilization and translational inhibition. Mol Cell Biol 27:283–296
81. Sanduja S, Blanco FF, Dixon DA (2011) The roles of TTP and BRF proteins in regulated mRNA decay. Wiley Interdisciplinary Rev RNA 2:42–57
82. Bhatia HS, Candelario-Jalil E, de Oliveira AC, Olajide OA, Martinez-Sanchez G, Fiebich BL (2008) Mangiferin inhibits cyclooxygenase-2 expression and prostaglandin E2 production in activated rat microglial cells. Arch Biochem Biophys 477:253–258
83. Bommareddy A, Zhang X, Schrader D, Kaushik RS, Zeman D, Matthees DP, Dwivedi C (2009) Effects of dietary flaxseed on intestinal tumorigenesis in Apc(Min) mouse. Nutr Cancer 61:276–283
84. Fradet V, Cheng I, Casey G, Witte JS (2009) Dietary omega-3 fatty acids, cyclooxygenase-2 genetic variation, and aggressive prostate cancer risk. Clin Cancer Res Official J Am Assoc Cancer Res 15:2559–2566
85. Lee CY, Sit WH, Fan ST, Man K, Jor IW,Wong LL, et al. (2010) The cell cycle effects of docosahexaenoic acid on human metastatic hepatocellular carcinoma proliferation. Int J Oncol 36:991–998
86. Jin XJ, Kim EJ, Oh IK, Kim YK, Park CH, Chung JH (2010) Prevention of UV-induced skin damages by 11,14,17-eicosatrienoic acid in hairless mice in vivo. J Korean Med Sci 25:930–937
87. Gluszko P, Bielinska A (2009) Non-steroidal anti-inflammatory drugs and the risk of cardiovascular diseases: are we going to see the revival of cyclooxygenase-2 selective inhibitors? Pol Arch Med Wewn 119:231–235
88. Jang BC, Sung SH, Park JG, Park JW, Bae JH, Shin DH, Park GY, Han SB, Suh SI (2007) Glucosamine hydrochloride specifically inhibits COX-2 by preventing COX-2 N-glycosylation and by increasing COX-2 protein turnover in a proteasome-dependent manner. J Biol Chem 282:27622–27632

Selenyum ve Kanser: Unutulmaması Gereken Bir Hikaye-Genom Biliminden Örnekler

Catherine Méplan ve John Hesketh

Özet

Selenyum (Se) selenoproteinlerde bulunan önemli bir mikrobesindir. Epidemiyolojik çalışmalarda düşük Se tüketiminin çeşitli kanser türleri ile ilişkili olduğu gösterilmiş olsa da, Se takviyesi uygulanan çalışmaların sonuçları kafa karıştırıcıdır. Bu çelişkili sonuçlar başlangıçtaki Se düzeyine ve/veya genetik faktörlere bağlı olabilir. Ayrıca Se alımı, selenoproteinler ve karsinogenez arasındaki mekanik bağlantılar da net değildir. Bu bölümde selenoprotein genlerindeki tek nükleotid polimorfizmlerinin (SNP) fonksiyonel önemini ve kolorektal, prostat, akciğer ve meme kanseri riskini etkileyip etkilemediklerini tartışacağız. Hem in vitro hem de in vivo çalışmalarda glutatyon peroksidaz 1 ve 4, selenoprotein S ve 15-kDa selenoprotein kodlayan genlerdeki SNP sayısının az olmasının fonksiyonel sonuçları olduğu bildirilmiştir. Vaka kontrol çalışmalarında elde edilen veriler glutatyon peroksidaz 1'de bulun kodon 198'deki bir varyantın selenyumun kanser riski üzerindeki statüsünü değiştirdiğini göstermiştir. Bu varyant ayrıca meme ve akciğer kanseri riski ile de ilişkilidir. Glutatyon peroksidaz 4, selenoprotein P ve selenoprotein S de kolorektal kanseri riskini etkileyebilir. Ayrıca mikrodizi (transkriptomik) çalışmalarının sonuçlarında Se statüsünü gösteren özgün biyomarkerler ve özgün aşağı yönlü Se hedefli yolaklar tanımlanmıştır. Bu çalışma gelecekteki girişim çalışmalarında başlangıç Se statüsünün ve genetik faktörlerin göz önüne alınması gerektiğini vurgulamaktadır.

C. Méplan · J. Hesketh (✉)
Institute for Cell and Molecular Biosciences and Human Nutrition Research Centre,
Newcastle University, Newcastle-upon-Tyne, NE2 4HH, UK
e-mail: j.e.hesketh@ncl.ac.uk

C. Méplan
e-mail: Catherine.Meplan@newcastle.ac.uk

V. Zappia et al. (eds.), *Advances in Nutrition and Cancer,*
Cancer Treatment and Research 159, DOI: 10.1007/978-3-642-38007-5_9,
© Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2014

Anahtar Kelimeler

SNP • Transkriptomikler • Selenoproteinler • Mikrobesin • Kolorektal Kanser • Prostat Kanseri

Kısaltmalar

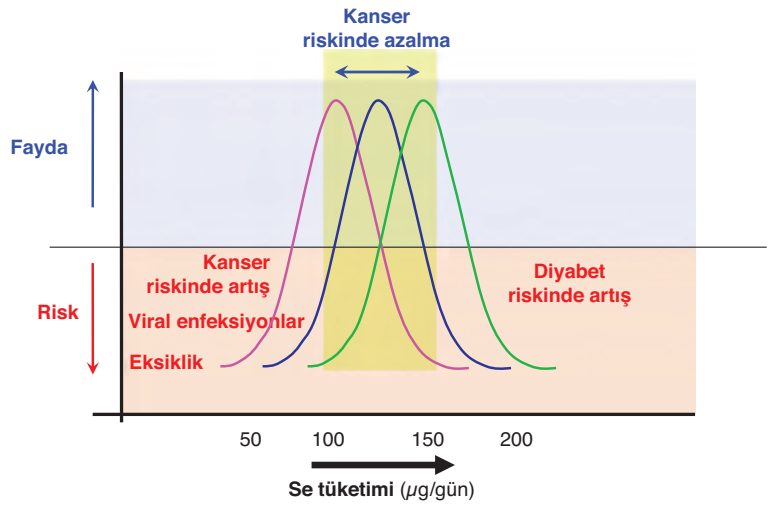
SNP	Tek nükleotid polimorfizmleri
GPX	Glutatyon peroksidaz
TR	Tioredoksin redüktaz
Sec	Selenosistein
SECIS	Selenosistein eklenme sekansı
Sel	Selenoprotein
SePP	Selenoprotein P
CRC	Kolorektal kanser
GWAS	Genomun tamamında ilişkilendirme çalışmaları
mTOR	Memeli rapamisin hedefi

İçindekiler

1 Giriş ... 146
2 Selenoproteinler ... 149
2.1 Selenoprotein Hiyerarşisi ve Etkileri ... 151
3 Selenoprotein Gen Varyantları ... 151
4 Selenoproteinlerin ve Kanserin Genetik Epidemiyolojisi ... 153
4.1 Kolon Kanseri ... 153
4.2 Prostat Kanseri ... 155
4.3 Meme Kanseri ... 155
4.4 Akciğer Kanseri ... 156
4.5 Etkileri ... 156
5 Genom Çalışmaları ... 158
5.1 Diyetle Alınan Selenyumun Transkriptom Üzerindeki Etkisi ... 158
5.2 Kolonda Selenoprotein Fonksiyonu ... 160
6 Sonuç ve Gelecekteki Çalışmalar ... 161
Referanslar ... 162

1 Giriş

Selenyum (Se) insan ve hayvan sağlığı için gerekli önemli bir mikrobesindir [1, 2]. Diyet Se alımı ekinlerin büyüdükleri topraktaki Se konsantrasyonuna ve hayvanların beslenme şekli ile yüksek oranda ilişkilidir. Sonuç olarak diyetle Se tüketimi sonucu oluşan Se



Şekil 1 Selenyum tüketimi ile ilişkili fayda ve riskler. Bu grafik Se alımı ile kanser riskinin artması veya azalması arasında bir ilişkinin varlığını önermektedir. Sarı renk ile vurgulanan pencere daha düşük kanser riski ile ilişkili Se alım düzeylerini göstermektedir. Se alımı ile kanser riski arasındaki potansiyel varyasyonlar üç eğri ile gösterilmektedir. Risk genetik faktörler, yaş ve risk faktörlerinden (örn. alkol alımını da içeren çevresel strese maruziyet) etkilenir.

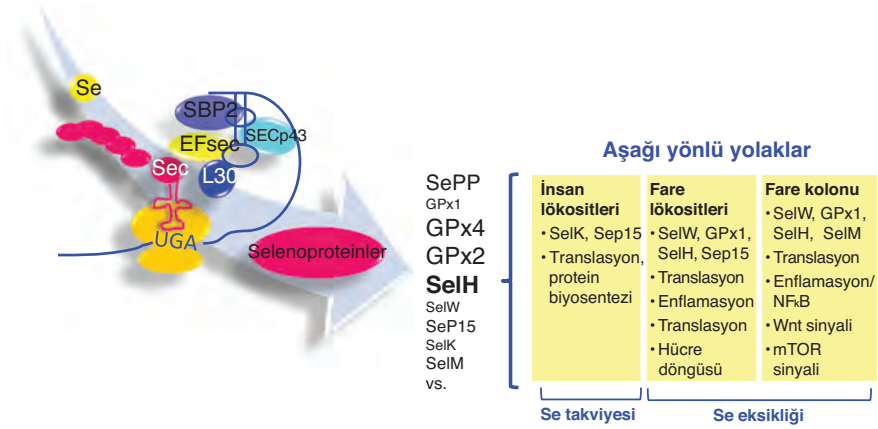
statüsü dünya genelinde büyük farklılıklar göstermektedir. Selenyum eksikliği toprak Se içeriğinin düşük olduğu bölgelerde lokal gıdalarla beslenen toplumlarda görülebilir. Örneğin Çin'in bazı bölgelerinde görülen çok düşük Se alımı (<10 μg/gün) Keshan hastalığı adı verilen viral miyokarditin oluşumuna katkı yapan ana faktörlerdendir. Ancak bu tür ağır eksiklikler nadir görülür. Ancak suboptimal Se alımı daha sık görülür. Örneğin Avrupa'nın bazı bölgelerindeki Se alımının 30-50 μg/gün olduğu tahmin edilmektedir. Kadın ve erkeklerdeki günlük alımın referans değeri ise sırasıyla 75 ve 60 μg/gün'dür. Yeni Zelanda ve Avustralya'nın bazı bölgelerinde de benzer suboptimal alımlar söz konusudur. Bu nedenle Se alımı insanların çoğunda bir hastalığa neden olacak kadar düşük düzeyde olmasa da optimal sağlık için gereken düzeyde olmayabilir [1–3].

Se statüsünün bazı kanser riskleri ile ilişkili olabileceğini ve ABD'deki kanser mortalitesinin ekinlerdeki Se düzeyi yüksek olan yerlerde düşük, düşük olan yerlerde yüksek olduğunu gösteren ilk epidemiyolojik çalışmanın üzerinden yaklaşık 40 yıldan fazla süre geçmiştir [4]. Çin'de ve dünya genelinde de benzer sonuçlar bildirilmiş olmasına ve düşük serum Se düzeylerinin artan kanser riskinin (özellikle gastrointestinal ve prostat kanserleri için) teşhis öncesi göstergesi olduğu bildirilmiş olmasına rağmen (bkz. [3]), daha sonra yapılan çalışmalarda Se statüsü ile kanser riski arasındaki ilişki hakkında çelişkili ve tutarsız bulgulara ulaşılmıştır (incelemeler için bkz. [2, 3]). Bu tutarsızlıklara rağmen düşük ve suboptimal Se alımının kansere karşı olan duyarlılığı artırıp artırmadığı hala büyük ilgi çeken bir konudur. Se ve kanser riski ile ilgili yapılan çeşitli Se takviye çalışmalarının ilk sonuçları bu konudaki araştırmalara ciddi anlamda hız kazandırmıştır. ABD'de yapılan

bir Se takviye çalışmasında 200 µg/gün dozunda selenize maya şeklinde Se kullanımının, çalışma öncesindeki plazma Se düzeyleri en düşük üçte birlik dilimde olanlardaki prostat ve kolorektal kanserleri azalttığı bulunmuştur [5]. Çin'de yapılan bir başka çalışmada 50 µg/gün selenize maya ilavesinin özofagus kanserinin mortalitesini azalttığı bulunmuştur [6]. Se tüketim artışının kanser riski üzerindeki bu belirgin faydalarına rağmen bir dizi vaka kontrol çalışmasında Se statüsü ile kanser riski arasında farklı ilişkiler tespit edilmesi yeniden değerlendirme ihtiyacı doğurmuştur [3]. Güncel SELECT [7, 8] çalışmasında Se ilavesi ile prostat kanserinde azalma görülmemesi ve rölatif olarak yüksek Se tüketimi ile diyabet riskinde artış ihtimali bu sonuçlardan bazılarıdır [9]. Şekil 1'de görüldüğü üzere faydalı olabilen plazma Se düzeyleri ile hastalık riskini artıran daha yüksek veya düşük Se düzeyleri arasında dar bir pencere olduğu aşikardır. Bu nedenle Se tüketimindeki artışın kanser riskini azaltmada etkili olup olmadığı halen tartışılmaktadır.

Artan Se alımının antikanser etkileri ile ilave Se uygulanan çalışmalardan elde edilen çelişkili sonuçların doğurduğu tartışmada üç faktör önemlidir. Birincisi farklı çalışmaların sonuçlarının başlangıçtaki Se düzeylerine göre farklılıklar gösterebilmesidir; bu bağlamda dikkat çekici olan ABD'de gerçekleştirilen iki çalışmanın farklı sonuçlarıdır. SELECT çalışmasındaki başlangıç Se düzeyleri popülasyondaki en düşük üçte birlik dilimdeki Se düzeylerinden daha yüksekti. Daha önce yapılan bir çalışmada ise Se kullanımının kanser riskini azalttığı bulunmuştu [5, 7, 8]. Bu nedenle SELECT çalışmasında (NPC çalışmasının aksine) başlangıç Se düzeylerinin prostat kanserinden korunmak için gereken düzeylere zaten yakın olması da mümkündür. İkinci nokta da insan genetik varyasyonları hakkındaki bilgilerin artışının bireysel arasındaki farklılıkların nasıl oluştuğunun anlaşılmasına yol açmasıdır. Bireylerin besin öğelerini metabolize etmelerinde rol oynayan genetik varyasyonlar diyet-hastalık riski arasındaki ilişkiyi birçok durumda etkileyerek hastalıklara karşı duyarlılıkların farklı olmasına yol açmaktadır; Se metabolizması ile ilişkili genlerde tek nükleotid polimorfizmleri (SNP) mevcuttur [10, 11]. Şekil 1'de bu tür varyasyonların diyetle alınan Se'ye verilen cevabı ve Se alımının faydalı olduğu düzeyleri etkileyebileceği şematik olarak görülmektedir. Üçüncüsü de prostat ve kolon gibi hedef dokularda farklı selenoproteinlerin mekanik etkilerinin bilinmemesidir. Bu nedenle düşük diyet Se alımının fizyolojik etkileri ile ilgili bilgiler kısıtlıdır. Şekil 1 kişisel risk-fayda pencelerinin tanımlanmasının önemini vurgulamaktadır [12]. Se alımı, Se metabolizmasını değiştiren genetik faktörler, selenoprotein fonksiyonu/ekspresyonu, hastalık riskinin derecesi (örn. çevresel karsinojenlere maruziyetin göstergesidir) ve yaşlanan popülasyondaki Se ihtiyacında gözlenen değişimlerin [13] bir popülasyonda Se alımının risk-fayda penceresi tanımlanmadan önce dikkate alınmalıdır.

Genom bilimindeki ilerlemeler yukarıdaki üç maddeden son ikisinin hedeflenmesini sağlayan yöntemler ve yaklaşımlar sunmaktadır: Genotipleme teknikleri genetik faktörlerin Se metabolizması üzerindeki etkilerini ve hastalık riski ile ilişkisini inceleme fırsatı verirken, mikrodizi ve proteomik yaklaşımlar da selenoprotein fonksiyonunun detaylı olarak araştırılmasına olanak tanımaktadır. Bu bölümde bu tür genomik yaklaşımların Se, selenoproteinler ve kanser riski arasındaki ilişkinin tanımlanmasına nasıl katkı yaptığını tartışacağız.



Şekil 2 Selenoproteinlerin sentezi ve hiyerarşisi ile Se tüketimindeki değişimlerin aşağı yönlü yolaklar üzerindeki etkilerini illüstre eden şematik diyagram. Şema Se'nin bazı selenoproteinlere, spesifik proteinlerin selenoproteinlerin 3′ translasyona uğramamış selenoprotein mRNA'sına bağlanmasını sağlayan bir mekanizma ile nasıl entegre olduğunun illüstrasyonudur. Listelenen selenoproteinlerin boyut be fontları selenoprotein sentez hiyerarşisindeki pozisyonlarını illüstre etmektedir (font büyüdükçe veya koyulaştıkça hiyerarşideki yeri yükselir). Selenoprotein aktivitesindeki değişimler aşağı yönlü yolakları etkiler. Deneysel olarak etkilendiği bulunan yolakları gölgeli kutucuklar sembolize etmektedir.

2 Selenoproteinler

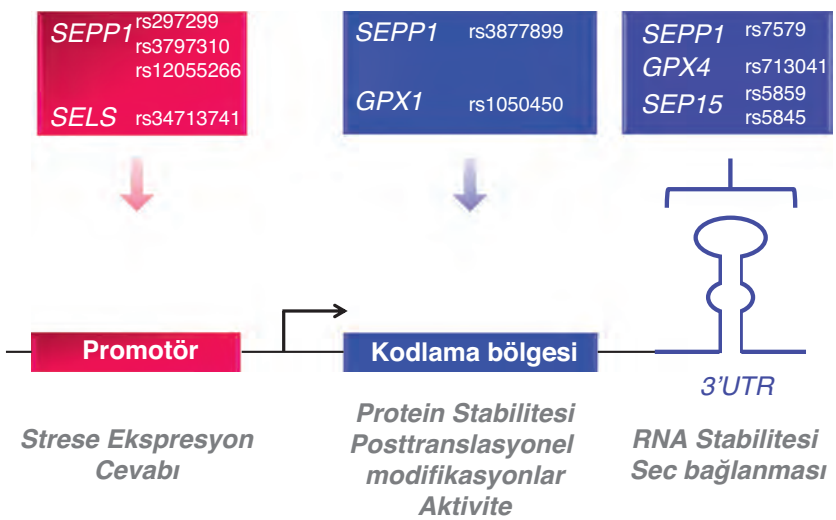
İnsandan bakterilere kadar birçok organizmaların gıdalar ile aldığı Se, selenoproteinler adı verilen bir dizi Se içeren proteinler ile birleşir. Se'nin fizyolojik fonksiyonlarının bu selenoproteinler yoluyla gerçekleştiği düşünülmektedir [1, 14, 15]. SE insanlardaki 25 selenoproteinin tümünün içinde amino asit selenosistein (SEC) halinde bulunur [14]. SEC uygun mRNA'ların translasyonu sırasında bu proteinlerin UGA kodonlarına bağlanır. Bu süreç UGA kodonlarının normal fonksiyonları olan translasyonu sona erdirici STOP kodon sinyali üretmeleri yerine, SEC bağlantısını sağlamak amacıyla yeniden kodlamalarını içerir. Şekil 2 yeniden kodlamaya izin veren özgün biyomekanik mekanizmanın şematik illüstrasyonudur: İçerdiği selenosisteil-tRNA (tRNA-Sec), 3′ translasyona uğramamış bölgedeki (3′ UTR) kök-sap yapısı (SEC eklenme sekansı: SECIS) ve SECIS yapısına bağlanan spesifik proteinler, UGA kodonunun tRNA-Sec'i tanımasına izin verirler. tRNA selenid, ATP ve seril-tRNA'dan sentezlenir.

Sec 5.47'lik bir pKa değerine sahiptir (sisteinden daha düşüktür). Aktif bölgede bulunan Selenoproteinlerin bir çoğunun oksiredüktaz aktivitesine katkı yaptığı düşünülmektedir. Birçok selenoproteinin antioksidan veya redoks fonksiyonları vardır. Glutation peroksidazlar (GPx), GPx1 ve GPx2'nin hücreleri reaktif oksijen türlerin koruduğu gösterilmiştir. GPx3'ün ekstraselüler antioksidan etkiye, GPx4'ün de hücreleri lipid peroksidin etkilerinden korumayı da içeren kompleks bir dizi fonksiyona sahip olduğu öne sürülmüştür. Üç farklı tioredoksin redüktazın (TR1-3) oksidoredüktaz etkileri vardır.

Ancak bu konudaki fonksiyonları sadece redoks durumunun sürdürülmesini değil, aynı zamanda ribonükleotidlerin deoksiribonükleotidlere de dönüştürülmesini kapsamaktadır. İodotironin deiodinazlar tiroid hormon metabolizmasındaki oksiredüktaz reaksiyonlarını gerçekleştirir.

Daha az tanımlanmış selenoproteinlerin aktivitelerinin oksidoredüktaz özelliğe sahip oldukları son zamanlarda anlaşılmıştır. Örneğin selenoproteinler H,L ve W'nun (SelH, SelL, SelT ve SelW) ve 15-kDa selenoproteinin tioredoksin benzeri redoks kıvrımı içerdikleri yapısal çalışmalarda gösterilmiştir [16, 17]. Ek olarak endoplazmik retikulum komponentleri olan SelS, SelN, 15-kDa selenoprotein, SelK ve SelM'nin redoks balansı ve katlanmamış protein cevabında rol oynadıkları düşünülmektedir [13, 16–18]. Selenoproteinlerin fonksiyonları ile ilgili bu ipuçlarına rağmen biyokimyasal rolleri hakkındaki detaylar hala sınırlıdır.

Selenoprotein P (SePP) çok sayıda Sec (insanda 10 adet) içeren özgün bir selenoproteindir. Salgılanan bir proteindir ve total plazma Se içeriğinin %50'ye kadar olan kısmını oluşturur. İki tanesi yaklaşık 50 ve 60 kDa moleküler ağırlığı olan multipl izoformlara sahiptir [19, 20]. SePP faredeki beyin ve testis gibi ekstrahepatik dokulardaki Se içeriğinin korunabilmesi için çok önemlidir [21, 22]. Bu özellik SePP'nin majör fonksiyonunun karaciğerden diğer dokulara Se sağlanması olduğunun öne sürülmesine neden olmuştur. Ancak, SePP'nin aynı zamanda antioksidan olduğu da gösterilmiştir. Bu özellik SePP'nin karaciğerden yüksek oranda salgılanıyor olmasına rağmen aynı zamanda kolonu de içeren farklı hücre tiplerinden de salgılanmasının göstergesi olabilir [19, 23].



Şekil 3 Selenoprotein genlerindeki fonksiyonel SNP'ler Çeşitli selenoprotein genlerinde fonksiyonel tek nükleotid polimorfizmleri bulunmuştur. Şekilde rs numaraları ve gen adları ile tanımlanmışlardır. SNP'lerin farklı bölgelerdeki ilgili mRNA ve selenoprotein ekspresyonu üzerindeki potansiyel etkileri gösterilmiştir.

2.1 Selenoprotein Hiyerarşisi ve Etkileri

Selenoprotein biyosentezi için diyetle Se alımı şarttır ve selenoproteine bağlı olarak sentezlerini farklı bir boyuta regüle eder. Gerçekten de farklı selenoproteinlerin sentezlerinin düşük Se alımından farklı derecede etkilendiğini gösteren çok güçlü kanıtlar mevcuttur [14, 24, 25]. Bu bulgu "selenoprotein hiyerarşisi" konseptini doğurmuştur. Se alımının bazı selenoproteinlerin sentezini diğerlerinden daha fazla etkilediğini öneren bir konsepttir: Örneğin GPx1 proteini ve mRNA seviyeleri birçok dokudaki Se eksikliğine GPx4'den daha fazla duyarlıdır. Ayrıca bu hiyerarşideki selenoproteinlerin rölatif pozisyonları dokular arasında farklılık gösterir. Bu durum Se tedarikine cevap veren selenoproteinlerin çeşitli dokulardaki cevap paternlerlerinde farklılıklara yol açar. Örneğin sıçandaki GPx4 karaciğerdeki Se azalmasına kalpteki azalmadan daha fazla duyarlıdır. Tiroiddeki deiodinaz aktivitesi de Se eksikliğine karaciğerdekine göre daha az duyarlıdır [24]. mRNA düzeylerine göre GPx1, SelW, SelH ve SelM kolon hücrelerindeki Se tedarik miktarına, GPx1 ve SeIK'nın da lenfositlerdeki Se miktarına en fazla duyarlı olduğu görülmektedir [26, 27]. Se proteinlerinin bağlanma mekaniği ile farklı selenoprotein 3′ UTR'si arasındaki iletişimlerin hiyerarşide önemli olduğunu gösteren kanıtlar mevcuttur (örn. [28, 29]). Doku spesifik selenoprotein hiyerarşisine göre düşük Se tedarik miktarının etkileri dokular arasında farklılıklar göstermektedir. Bu durumun farklı selenoproteinlerin tümörijenik proses ve çeşitli dokulardaki koruma mekanizmaları ile ilgisi olabilir.

Her selenoproteinin aktivitelerindeki değişimlerin her protein için spesifik olan aşağı yönlü metabolik etkilere yol açması beklenebilir. Düşük Se alımının çeşitli selenoproteinlerin alımını etkilemesi nedeniyle Se azalmasının bir dizi aşağı yönlü hedefi etkilemesi beklenebilir. Bu mekanizma şekil 2'de şematize edilmiştir. Genomik teknolojilerin ilerlemesi (özellikle mikrodizi) Se alımının aşağı yönlü moleküler yolakların paternleri üzerinde yol açtığı değişimlerin sonuçlarının entegrasyonuna izin vermektedir. Bu selenoprotein sentez paterninin (devamında ilgili proteinin net aktivitesini etkiler) Se tedarik miktarına göre dokuya spesifik hiyerarşik değişim göstermesi nedeniyle Se ile özel olarak ilişkilidir. Bu nedenle aşağı yönlü metabolik etkilerin dokulara göre farklılık göstermesine de yol açar.

3 Selenoprotein Gen Varyantları

SNP gen ekspresyonunda ve devamında proteindeki amino asitleri değiştirerek veya ekspresyonun regülasyonunu etkileyerek protein aktivitesinde fonksiyonel etkilere yol açabilir Ekspresyonun regülasyonunun etkilenmesi SNP gen promotör bölgelerinde meydana gelir. Selenoprotein genlerindeki 3′ UTR bölgelerindeki gen varyantlarının SECIS ve 3′UTR protein etkileşimlerinin Sec bağlanmasındaki anahtar rolleri nedeniyle ekspresyonu etkileme potansiyeli vardır. Gerçekten de selenoprotein genlerindeki, 3'UTR, promotör ve protein kodlayan bölgelerdeki gen alanlarında bulunan SNP'lerin

Se metabolizmasını etkiledikleri bildirilmiştir [10, 13]. Bu mekanizma Şekil 3'de illüstre edilmektedir.

TNF-α, interlökinler, SELS geninin (rs34713741) promotöründeki -105 pozisyonundaki SNP'nin enflamatuar markerler düzeyindeki etkilerinden kaynaklanan fonksiyonel sonuçları olduğu gösterilmiştir [30]. Ayrıca plazma glutatyon peroksidaz (GPX3) aktivitesinin de çeşitli varyantlardan etkilendiği bildirilmiştir [31]. SEPP1 geninin promotöründe, bir varyantında 3 TC tekrarı, diğerinde de 5 TC tekrarı içeren kompleks tekrarlanan sekans (TC)n-T17 bölgesinde bir polimorfizm (SNP değil) belirlenmiştir [23]. Bu motif aktive transkripsiyon faktörünün farzedilen bağlanma bölgesi olan aktive T hücrelerinin nükleer faktörünü (NFAT) değiştirebilir. Ancak bu gözlem henüz konfirme edilmemiş olup bir hastalık riski ile bağlantısı da tespit edilmemiştir.

Selenoprotein genlerinin protein kodlama bölgelerindeki varyantların amino asit değişimlerine ve protein fonksiyonunda potansiyel değişimlere yol açtığı bulunmuştur. Örneğin GPx1 genindeki (rs1050450) kodon 198'in tek nükleotidindeki değişimin prolinden lösine kadar değişime yol açarak Leu varyant proteinindeki enzim aktivitesini azalttığı bulunmuştur [32]. Bu varyantın plazma Se ve eritrosit GPx1 aktivitesi arasındaki ilişkiyi etkilediği [33] ve beyaz kan hücrelerindeki GPx1 aktivitesi ile de ilişkili olduğu bildirilmiştir [34]. Bu SNP farklı etnik gruplarda sıklıkla mevcuttur. Ancak lösin varyanti rölatif olarak daha nadirdir (%7-15). Ayrıca bir G/A SNP'nin (rs3877899) kodon 234'de alaninden treoinine kadar amino asit değişimine yol açarak farklı kan hücrelerinin ve plazma selenoprotein aktivitelerinin Se takviyesine verdikleri cevabı etkilediği bildirilmiştir [35]. Ayrıca plazmadaki SePP izoformlarının oranlarını ve GPx4 düzeyinde lenfositle ilişkilerini etkiler [20].

3′ utr'deki selenoprotein gen bölgelerinde fonksiyonel olarak anlamlı çeşitli SNP'ler tanımlanmıştır. GPx4'teki rs713041 C/T alelik varyantlara sahiptir. Her iki varyantta farklı etnik gruplarda rölatif olarak sık miktarda bulunur [29, 36, 37]. Bu SNP ile yapılan ilk çalışmada iki varyantı taşıyan bireylerin lenfosit lökotrin düzeylerinde farklılıklar gözlenmiştir [36]. Sonrasında, SNP'nin fonksiyonel aktivitesi olduğunu göstermeyi amaçlayan in vitro ve in vivo deneyler ile güçlü kanıtlardan oluşan bir veri tabanı oluşmuştur. Örneğin Caco-2 hücre ekstreleri kullanılan RNA-protein bağlama deneylerinde, C varyantı T varyantından daha güçlü bağlanmıştır [29]. Ayrıca iki varyantlı 3'UTR sekanslarının haberci gene bağlanarak Caco-2 hücrelerine transfekte edilmesi sonrasında T ve C-varyantlarının haberci genin ekspresyonunu yönlendirme oranlarında farklılıklar tespit edilmiştir [37]. Bu transfekte hücrelerin klonları T- ve C-varyant transgenlerindeki ekspresyon düzeylerinin benzer olması amacıyla seçildiğinde, GPx1 ve SeIH gibi diğer selenoproteinlerin ekspresyonunu etkileyebilecek iki 3′ utr varyantının aşırı ekspresyonu tespit edilmiştir [38]. SNP'nin insan gönüllülerdeki kan selenoprotein konsantrasyonlarının Se takviyesine olan cevabını etkilediği gösterilmiştir. Bu etki özellikle lenfosit GPx1 protein düzeylerinde ve çalışmanın arınma dönemindeki GPx1:GPx4 protein konsantrasyon oranlarında farklılıklar gösteren T ve C taşıyıcılarında gözlenmiştir [29]. Bu veriler rs713041'nin selenoprotein sentezini, Se bağlanmasında rolü olan bir veya daha fazla protein için T varyantından daha güçlü

yarışan GPX4'teki C-varyant 3′ utr ile birlikte etkilediğini göstermektedir. Mfold kullanılarak yapılan bilgisayar tahminleri SNP'nin SECIS civarındaki 3'UTR'nin sekonder yapısını etkilediğini göstermiştir. Bu nedenle rs713041'nin Sec'in GPx4 3′ utr'deki 3′ utr'ye bağlanma mekanizmasını değiştirerek selenoprotein sentezinin paternini etkilediği hipotezini geliştirdik [29, 37].

Ayrıca SEPP1 genindeki 3′ utr'deki bir SNP'nin (rs7579) anlamlı fonksiyonu olduğu da gösterilmiştir. Bu G/A varyantının insan lenfosit GPx4 ve GPx1, plazma GPx3, tioredoksin redüktaz 1 (TR1) ve eritrosit TR1'in Se takviyesine verdikleri cevabı etkilediği bulunmuştur [35]. SNP, plazma SePP protein düzeylerinin ve izoform paternlerinin Se takviyesine verdiği yanıtı değiştirir [20, 35]. Ayrıca SEP15'de bulunan ve 3'UTR kodlayan gen bölgesinde, pozisyon 811'de (rs5845) bir C/T yedeği ve pozisyon 1125'de (rs5859) bir G/A olmak üzere iki varyantı mevcuttur. Haberci gen deneylerine dayanılarak bu SNP'lerin fonksiyonel olduğu düşünülmektedir [39].

4 Selenoproteinlerin ve Kanserin Genetik Epidemiyolojisi

Bazı selenoproteinlerin meme, prostat, kolorektal ve akciğer kanserlerindeki azalan aktivite/ekspresyonlarını ve bazı selenoprotein lokuslarındaki heterozigositenin sıklıkla kaybını da içeren (LOH) çeşitli kanıtlar selenoproteinlerin kanserin başlangıcı ve progresyonunda bir rolü olduğunu düşündürmektedir.(örn. [40–43]). Bu çalışmalarda selenoprotein aktivite veya konsantrasyonunu azaltan faktörlerin kanser gelişim ve progresyonuna katkı yapabileceği vurgulanmaktadır. Yukarıda da tanımlandığı gibi fonksiyonel polimorfizmlerin, selenoproteinlerin ekspresyon düzeylerini, stabilite ve aktivitelerini modüle ettikleri gösterilmiştir. Bu polimorfizmler ile kanser arasında ilişkiler gözlenmiştir.

4.1 Kolon Kanseri

Bazı rölatif olarak küçük ölçekli çalışmalarda seçilmiş selenoprotein SNP'ler ile kolorektal kanser arasındaki ilişki araştırılmıştır. İskoç popülasyonunda yapılan bir araştırmada (~300 vaka, 189 kontrol) GPx4 genindeki rs713041'in C varyantının taşıyıcısının kolorektal kanser riski ile ilişkili olduğu ancak adenomatöz poliplerde artışa yol açmadığı bulunmuştur [37]. Ancak daha yakın zamanda, bu ilişkinin Kore popülasyonunda replike olmadığı tespit edilmiştir [44]. Buna karşın Çek popülasyonundaki (832 vaka, 705 kontrol) T varyantının kolorektal kanser riskinde artış ile ilişkili olduğu bulunmuştur [45]. Çek ve Kore popülasyonlarında Se statüsü ölçülemediği için Se düzeylerinin bu SNP'nin hastalık riskindeki etkisini değiştirip değiştirmediği değerlendirilememiştir. Ancak kolorektal kanseri olan hastalarda yapılan bir İngiltere çalışmasının [37] ön verilerinde plazma Se düzeyleri ve eritrosit GPx1 aktivitesi ile değerlendirilen Se statüsünün

CC genotipli bireylerde CT veya TT genotipli bireylerden anlamlı olarak daha düşük olduğu bulunmuştur.

Ek olarak yukarıda bahsedilen çalışmalardaki Çek ve Kore'li hastalarda (827 vaka, 727 kontrol) selenoprotein genlerindeki fonksiyonel SNP'lerin genotiplenmesi sonucunda diğer genetik varyantların da kolorektal kanser riskini etkileyebileceği sonucuna varılmıştır [44, 45]. Her iki popülasyondaki SELS'lerin promotör bölgelerindeki SNP'lerin hastalık riskini modüle edebileceği bulgusu kritiktir. rs34713741'in T aleli Çeklerde kolorektal kanser riskinde artış ile (olasılık oranı 1.68) ilişkili bulunurken Koreli kadınlarda ise çok yakındaki ikinci bir varyantın risk artışına yol açtığı tespit edilmiştir (olasılık oranı 2.25). Bu ilişkinin iki farklı popülasyonda replike olması SELS promotöründeki SNP'nin genetik, hayat tarzı ve diyet faktörlerinden bağımsız olarak kolorektal kanser riskini etkilediğini göstermektedir. rs34713741 ilginç biçimde gastrik kanser riski ile de ilişkilidir [46]. Ayrıca Çek popülasyonunda rs4880 (SOD2), rs713041 (GPX4) ve rs960531 (TXNRD2) arasında ve SEPP1 ile SEP15 veya GPx4 [45] arasında gözlenen anlamlı genetik etkileşimler kolon kanserinde multipl selenoproteinlerin rol oynadığını düşündürmektedir. Bu etkileşimler biyolojik olarak GPx4, TR2 ve MnSOD'nin oksidatif strese ve SePP'nin selenoprotein sentezine Se sağlamasına cevap olarak oluşan kombine metabolik etkileşimlerin yansımasıdır. SEPP1 varyantlarının potansiyel önemi Prostat, Akciğer, Kolorektal ve Ovaryum Kanseri Taraması Çalışmasına [47] alınan bireylerin genotiplemeleri ile elde edilen sonuçlarda vurgulanmaktadır. Çalışmada GPx1, GPx2, GPx4;SEPP1 ve tioredoksin redüktaz 1'de (TXNRD1) bulunan 44 işaretli SNP incelenmiştir. SEPP1'deki 4 varyant ve TXNRD1'deki 1 varyantın ileri distal kolorektal karsinom ile anlamlı olarak ilişkili olduğu bulunmuştur: SEPP1'nin -4166 pozisyonundaki 50 gen bölgesindeki bir C/G varyantı; SEPP1'in 3′ gen bölgesindeki üç varyant; TXNRD'nin -181 pozisyonundaki bir varyant. Çalışmada ayrıca SEPP1 ve TXNRD1'in tüm varyantları ile adenom riski arasında genel olarak anlamlı ilişki tespit edilmiştir.

İşaretli SNP yaklaşımı kullanılarak incelenen GPX1-4 varyantlarının kolorektal kanser riski ile ilişkisi üç tane ABD merkezli kolorektal adenom, rektal veya kolon kanseri çalışmasının kombinasyonu ile değerlendirilmiştir [48]. Veriler yaş ve boya göre düzeltildikten sonra, GPX3 (rs8177447, rs3828599 ve rs736775) ve bir GPX2'deki (rs4902347) SNP'lerin rektal kanser ile anlamlı olarak ilişkili olduğu tespit edilmiştir. Ancak kolon kanseri ve adenom riskleri ile ilgili anlamlı ilişki tespit edilmemiştir. Benzer bir yaklaşım kullanılarak GPX1-4 ve SEPP1'deki varyasyonları içeren SNP'ler ve işaretli SNP'ler Kadın Sağlık İnisiyatif Çalışmasına alınan 804 vaka ve 805 benzer özelliklere sahip kontrolde analiz edilmiştir [49]. Analizde sadece bir SNP'nin (GPX4'deki rs8178974) kolorektal kanser riski ile ilişkili olduğu bulunmuştur. Ancak GPx4'deki genel genetik varyasyon ile bir ilişki tespit edilmemiştir. Ancak çalışmaya katılan bireylerdeki ortalama Se statüsünün yüksek olması (serum Se 135.6 μg/l) genotipin hastalık riskindeki olası etkilerinin tespitini engellemiş olabilir. Gerçekten de selenoprotein sentezinin yüksek Se alımına yüksek oranda bağımlı olması nedeniyle burada tanımlanan SNP'lerin etkilerinin Se alımı ile modifiye olması beklenebilir. Bu nedenle gelecekteki çalışmalarda selenoprotein SNP'lerinin genotiplemelerinin Se statü ölçütleri ile kombine edilerek, Se statüsünün rölatif olarak düşük olduğu popülasyonlarda gerçekleştirilmesi çok önemlidir.

4.2 Prostat Kanseri

Son zamanlarda prostat kanseri riskinde genotip etkisini inceleyen çalışmalarda SEPP1 GPx1 ve SEP15'deki SNP'lerin prostat kanserine karşı olan duyarlılığı modifiye ettiğini bildirilmiştir [50–52]. SEPP1'deki rs7579'un bir Avrupa popülasyonundaki prostat kanseri riskini etkilediği, rs1050450'nin de hastalık riski ile serum Se konsantrasyonu arasındaki ilişkiyi etkilediği gösterilmiştir. Buna karşın Avrupalı popülasyonda yapılan ikinci bir çalışmada ise prostat kanseri riskinin düşük Se statüsü ile birlikte SOD2 genindeki rs4880 ve SEPP1 genindeki rs3877899 genotipleri tarafından modüle edildiği bildirilmiştir [52]. ABD'de yapılan bir çalışmada hem prostat kanseri riskinin hem de sağkalımın SEP15 genindeki genetik bir varyasyonun ve düşük Se statüsünün kombinasyonu ile modifiye edildiğini göstermiştir. Ancak hastalık riski üzerinde bir etki bulunmamıştır [51]. Son zamanlarda tüm selenoprotein genlerindeki SNP'lerin yolakları boyunca analizi prostat kanseri hastalarından oluşan yuvalandırılmış (nested) vaka kontrol kohortunda ve kontrol hastalarında yapılmıştır. Başlangıç taramasından sonra, ikinci faz genotiplemede ileri kanser riskinin Se statüsü ile SELK, TR1 ve TR2'deki SNP'ler tarafından anlamlı olarak modifiye edildiği gösterilmiştir [53].

4.3 Meme Kanseri

Epidemiyolojik çalışmalarda çelişkili sonuçlar alınmış olmasına ve Se alımı/statüsü ile meme kanseri arasındaki ilişki hakkında çok az kanıt bulunmuş olmasına rağmen, seçilmiş selenoprotein SNP'lerinin genotipleri ve hastalık riskini araştıran bazı genotipleme çalışmaları yapılmıştır. Analiz edilen meme tümörlerinin %36'sında GPx1 lokusunda LOH [41] tespit edilirken, GPx1'deki rs1050450 ile meme kanseri riski arasında da ilişki olduğu gözlenmiştir. Devamında bir Danimarka kohortundaki meme kanseri ile bu SNP arasında bir ilişki konfirme edilmiş ve T alelinin kanser riskinde artış ile ilişkili olduğu gösterilmiştir [54]. Buna karşın ABD ve Kanada'da yapılan çalışmalarda [55-57] herhangi bir ilişki tespit edilmemiştir. Bir metaanalizde de Afrikalı kadınlarda görülen risk artışına rağmen, genel bir ilişki bulunamadığı bildirilmiştir [58]. Ancak ilişki bulunamamış olması Se statüsü ile rs1050450 genotipi arasındaki kompleks etkileşimin bir yansıması olabilir. Avrupalı (örn. Danimarka) popülasyonlardaki meme kanseri riski ile rs1050450 genotipi arasında bir ilişki olabileceği görülmektedir. Ancak bu ilişki yüksek Se tüketimi olan kadınlarda mevcut değildir (örn. ABD ve Kanada popülasyonları).

GPX1 genindeki değişken GCG tekrarlarına denk gelen bir başka polimorfizm de değişken sayıda alanin içeren bir protein oluşumuna yol açar. Bir başka çalışmada da ilginç şekilde bu varyantın genotipinin premenopozal kadınlardaki meme kanseri riskinde anlamlı artış ile ilişkili olduğu bildirilmiştir [57].

Hu ve ark [39] Afrikalı kadınlardaki SEP15'deki rs5859 ve meme kanseri arasında bir ilişki bulurken aynı ilişkiyi beyaz ırk için tespit edememiştir. Ayrıca tümör dokusundaki SEP15 lokusunda da LOH gözlemişlerdir. İkinci bir çalışmada da SEP15 alel kaybının

Afrikalı kadınlardaki meme kanseri tümörü ile ilişkili olduğu gösterilmiştir [59]. GPX1 ve SEP15 lokuslarındaki LOH varlığı iki selenoproteinin meme kanseri etyolojisindeki potansiyel tümör baskılayıcı rolü olabileceğini önermektedir.

4.4 Akciğer Kanseri

GPX1'deki rs1050450 de akciğer kanseri riski ile ilişkili bulunmuştur [60-65]. Meme kanseri hakkında yukarıda tanımlananlara ek olarak, akciğer kanserinde de GPX1 lokusunda LOH tespit edilmiştir [66]. Polonyalılardaki akciğer kanseri ile rs5859 genotipi ve selenyum statüsü arasında ilginç ve kompleks bir ilişki gözlenmiştir [33]. Se statüsüne bağlı olarak, sigara içenler arasındaki akciğer kanseri riskinin rs5859 genotipinde farklılıklar gösterdiği bulunmuştur. AA genotipli bireylerdeki plazma Se konsantrasyonunun artması akciğer kanseri riskinde azalmaya yol açmaktadır. Ancak GG ve GA genotiplerinin sadece daha düşük Se statüsü olanlardaki akciğer kanserinde azalma ile ilişkili bulunmuş olması, Se takviyesinin sadece AA genotiplerinde faydalı olduğunu, GG ve GA genotiplerindeki akciğer kanseri riskini ise artırabileceğini önermektedir.

4.5 Etkileri

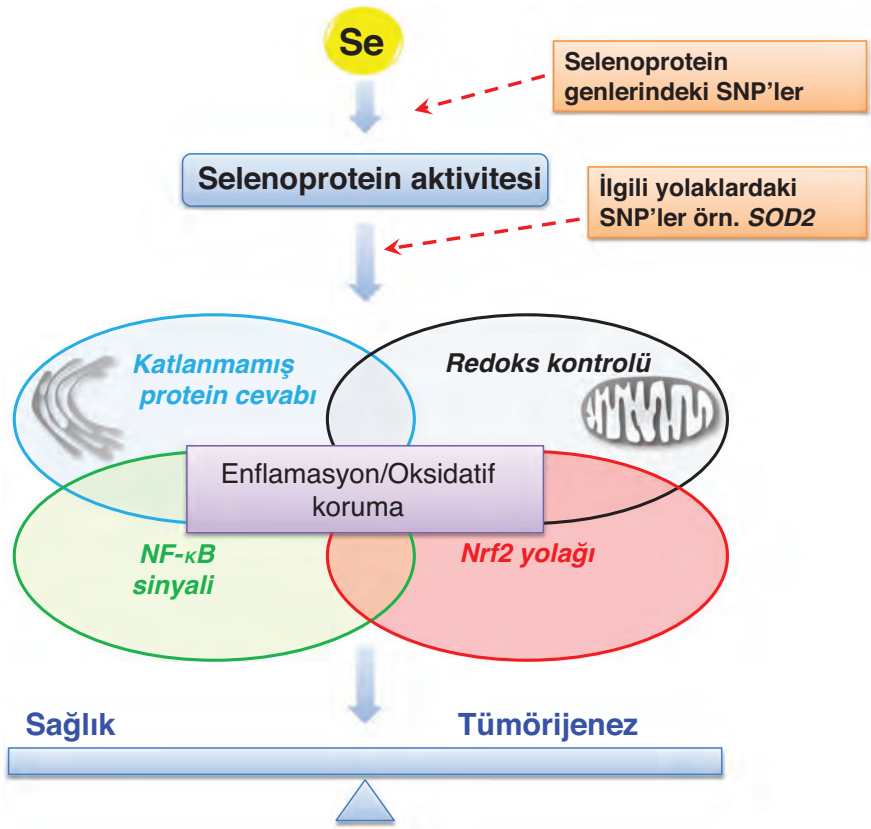
Önceki bölümlerden de anlaşılacağı üzere selenoprotein SNP'leri ve kanser riski ile ilgili çalışmaların görece küçük boyutlara sahip olmaları ve sonuçlarının çoğunlukla replike edilememeleri, üç konuyu karşımıza çıkarmıştır. Birincisi SELS'in promotör bölgesindeki SNP'lerin iki farklı özelliklere sahip kohortta kolorektal veya rektal kanser riskini etkilemesi [67] ve GPX1'deki rs1050450'nin akciğer kanseri riskini etkilemesidir (bkz. Bölüm 4.4).

İkincisi farklı çalışmalarda selenoprotein SNP'lerinin diğer genetik faktörlerle (ikinci bir SNP) veya hayat tarzı faktörleri ile kombinasyon halinde kanser riskini etkilemesidir. Bu nedenle prostat kanseri riski ve serum Se arasındaki ilişki SEP15 [51], GPX1'deki rs1050450 veya SEPP1'deki rs7579 varyantları için modifiye edildiği bildirilmiştir [50]. Farklı bir prostat kanseri çalışmasında SEPP1 (rs3877899) ve SOD2 (rs4880) varyantlarının hastalık riskini etkilediği bildirilmiştir [52]. Benzer şekilde SELS promotörü SNPS'in bir Çek kohortundaki kolorektal kanser riskindeki etkisine ek olarak, rs713041 (GPX4) ve rs4880 (SOD2) veya SEPP1'deki rs7579 arasında kolorektal kanser riskini etkileyen SNP-SNP etkileşimleri tespit edilmiştir [45]. Bir başka örnek te GPX1'deki rs1050450 ve SOD2'deki rs4880 kombinasyonunun meme kanseri riskini modüle ettiğinin gözlenmiş olmasıdır.

Üçüncüsü de farklı selenoprotein genlerindeki SNP'lerin farklı kanser risklerini etkileme trendidir. Örnekler yukarıdaki 4.1-4.4 nolu bölümlerde tartışıldığı üzere,. GPX1'deki rs1050450 meme, mesane, akciğer ve prostat kanserlerinin risklerini etkilerken, kolorektal kanser riskini etkilemediği bildirilmemiştir. GPX4'deki rs713041 kolorektal kanser riski ile ilişkilendirilmiş olsa da farklı çalışmalarda kafa karıştırıcı

sonuçlar bildirilmiştir. Bir çalışmada meme kanseri reküransını etkilediği bildirilirken, prostat kanseri ile ilgili bir ilişki bildirilmemiştir. Ek olarak SELS'lerin promotör bölgelerindeki SNP'ler gastrointestinal kanser riskini etkilemektedir. Ancak bu varyantların diğer kanser risklerini etkilediğini gösteren kanıt yoktur. Bunun aksine SEP15 ve SeIS'in ER stres yolağında fonksiyonları olduğu düşünülürken, SEP15'deki SNP'lerin birçok kanser türünün (prostat, meme, akciğer ve rektum) riski ile ilgili olması şaşırtıcıdır. SEPP'nin Se metabolizmasındaki önemli rolü nedeniyle SEPP1'deki SNP'lerin prostat, kolorektal [45] ve meme kanseri riskleri ile ilgili bulunması şaşırtıcı değildir (Méplan, Hesketh, Vogel yayınlanmamış veriler). Ancak SEPP1 SNP'lerinin etkileri başka varyantlar tarafından modüle edilirler. Bu modülasyonun prostat ve kolorektal kanserler için farklı olduklarının bildirilmiş olması ([44, 49,52] nolu referansları karşılaştırınız), tümörijenezde mekanik farklılıklar olduğunu düşündürmektedir.

SNP'lerin farklı selenoprotein genlerinde gözlenmiş olması farklı dokulardaki kanser riskini etkilediklerini düşündürmektedir. Bu durum selenoproteinlerin farklı dokulardaki spesifik rollerinin ya da farklı tipte karsinojenlere yanıtlarının veya selenoproteinlerin dokuya özgü hiyerarşilerinin bir göstergesi olabilir. Ek olarak selenoprotein SNP'leri arasındaki kanser riskinin genetik etkileşimlerle modülasyonu muhtemelen Se metabolizmasının iki özelliğinin yansımasıdır. Birincisi kısıtlı sayıda selenoproteinlere benzer bir mekanizma ile bağlanmaları, ikincisi ise bir selenoproteinin ekspresyonundaki değişimin bir başkasının ekspresyonunu değiştirebilmesi sonucu ortaya çıkan selenoprotein hiyerarşisidir. Bununla ilgili bir örnek vaka/kontrollü kolorektal kanser çalışmasında illüstre edilen ve ilgili proteinlerin bilinen fonksiyonları ile örtüşen farklı selenoproteinlerdeki SNP'ler arasında gözlediğimiz genetik interaksiyonlardır [44]. Özellikle Se'ye, SePP plazma izoformlarını ve potansiyel olarak Se dağıtımına [19, 34] verilen cevabı modüle eden SEPP1 SNP'leri, SEP15 ve GPX4'teki 3′ utr'de bulunan iki SNP ile etkileşime girmektedir. Bu genetik etkileşimler suboptimal Se düzeyleri ve "zayıf" Se dağıtımı varyantı (SEPP'de) için kombine genotipi ve "zayıf" selenosistein eklenme varyantı olan bir bireydeki GPX4 veya SEP15 sentezi azalarak kolonik hücreleri oksidatif hasara daha duyarlı hale getirerek bireyi kolorektal kansere daha yatkın hale getirebilir. Bu nedenle Se alımı ve Se metabolizmasını etkileyen muhtemel faktörler ve ilgili aşağı yönlü yolaklar göz önüne alındığında ortaya kompleks bir resim çıkmaktadır (Şekil 4'de illüstre edildiği gibi). Bu yüzden gelecekteki epidemiyolojik çalışmalarda fonksiyonel SNP'lerin tüm Se yolaklarının kombinasyon halinde incelenmesi gerekmektedir. Bu inceleme varyantların yolaklar boyunca, Se statü ölçütleri ile kombine halde değerlendirilmelerini kapsar. Gen-diyet etkileşiminin önemi ve sigara gibi potansiyel hayat tarzı ve çevresel etkilerin rolü ve SNP'ler arasındaki kompleks ilişkiler, genom boyunca ilişkilendirme çalışmalarının (GWAS) selenoprotein SNP'lerinin kanser riskindeki rolünü niçin tanımlayamadıklarının muhtemel nedenidir.



Şekil 4 Se alımı ve SNP'ler arasındaki multipl entegre metabolik cevapları etkileyen etkileşimler. Şema hem Se alımını hem de SNP'lerin selenoprotein aktivitelerindeki etkisi ile, devamındaki selenoprotein aktivitesinin metabolik olarak ilişkili aşağı yönlü yolaklar üzerindeki etkilerini illüstre etmektedir. Bu yolakların entegre cevabı Se'nin tümörijenezdeki rolünün altında yatan potansiyel nedendir.

5 Genom Çalışmaları

5.1 Diyetle Alınan Selenyumun Transkriptom Üzerindeki Etkisi

Se kanser ilişkisi hakkındaki tartışmada, selenoproteinlerin biyokimyasal fonksiyonları ve hücresel biyokimyasal fonksiyonun değişen Se alımı ile nasıl değiştiği hakkındaki bilgilerimizin artması hayati rol oynamaktadır. Bölüm 2.1'de anlatıldığı üzere, Se mevcudiyeti tüm selenoproteinlerin seviye ve aktivitelerini aynı düzeyde değiştirmez. Her selenoproteinin aktivitesindeki değişimler devamında aşağı yönlü hedeflerin aktivitesini etkilediği için, selenoprotein ekspresyon paterninde rol oynayan bir başka kompleks mekanizma mevcuttur. Genomik tekniklerin ilerlemesi ile, mikrodizi yöntemi kullanıla-

rak sadece selenoprotein mRNA ekspresyon paternlerindeki değişimler aydınlatılmakla kalmamış, aynı zamanda bu paternin aşağı yönlü hedefler ve yolaklarla olan kompleks ilişkisi de anlaşılmıştır. Bu nedenle değişen Se alımına ve biyokimyasal fonksiyonuna verilen doku ve hücre cevaplarının anlaşılması ile selenoproteinleri entegre bir sistemin bakış açısıyla inceleme fırsatı doğmuştur. Gen mikrodizi kullanarak yaptığımız bu çalışmada Se tedarikindeki değişimlerin fare kolonundaki ve hem insan, hem fare lökositlerindeki global transkriptom paterninin ekspresyonunu nasıl etkilediğini araştırdık. Ana bulgular Şekil 2'de şematik olarak illüstre edilmiştir.

6 hafta boyunca 100 μg/gün sodyum selenit [68] uygulanan bireylerden çalışmanın başında ve sonunda izole edilen insan lenfosit RNA mikrodizi analizleri yapılmıştır. SEP15 ve SELK mRNA ekspresyonlarının Se takviyesinden anlamlı olarak etkilenmeleri nedeniyle insan lenfositlerindeki Se tedarikine en duyarlı selenoproteinler oldukları tespit edilmiştir. Sonrasında yapılan bir çalışmada suboptimal ve marjinal düzeyde Se eksikliği olan diyetle beslenen farelerin transkriptomik kolon analizlerinde, marjinal Se eksikliğinin GPX1, SeIH, SeIW ve SeIM'nin daha düşük ekspresyonuna neden olduğu bulunmuştur. Fare kolonundaki bu selenoproteinlerin en azından mRNA düzeyindeki ekspresyonlarının diyette Se azalmasına duyarlı olduğu gösterilmiştir [27]. GPX1 ve SeIW'nin Se azalmasına duyarlı olduğunun bulunması daha önce kolon epitel hücrelerinde gözlenen selenoprotein hiyerarşisi hakkındaki bulgularla uyumludur [68]. Ancak SeIH ve SeIM'nin kolondaki duyarlılığı daha önce tanımlanmamıştır. İlginç biçimde, aynı farelerde yapılan splenik lökosit RNA çalışmasında da SelW, GPx1, SelH ve SEP15'in Se azalmasına duyarlı olduğunun gösterilmiş olması [69], SeIH ve SeIW ekspresyonunun çeşitli dokudaki Se azalmasına özellikle duyarlı olduğunu düşündürmektedir. İnsan ve hayvan çalışması verilerinin karşılaştırmasında lenfositlerdeki değişimlerin spesifik olabileceği ve insan kolon biyopsilerinden elde edilen RNA'yı kullanarak sürdürmekte olduğumuz deneylerde Se statüsü ile selenoprotein arasındaki ilişkiyi tanımlamada önemli olabileceği ortaya çıkmıştır.

Se alımına duyarlı aşağı yönlü hedeflerin özelliklerini incelemek amacıyla, bu çalışmalardan elde edilen mikrodizi verilerinin yolak analizleri yapılmıştır. Se takviyesi sonrası insan lenfosit ekspresyonunu inceleyen çalışmanın verileri, Se takviyesine en duyarlı bölgenin protein biyosentetik yolakları olduğu tespit edilmiştir [68]. Fare kolonunun benzer bir analizinde de marjinal Se eksikliği ile en fazla değişen yolağın protein translasyonu olduğu gösterilmiştir. Ek olarak protein sentezi ile ilgili yolakların (eiF4e ve p70S6 kinaz, ribozomal proteinler ve mTOR sinyal yolağı), enflamatuar sinyallerin (TNF-α-NF-κB), hücre siklus regülasyonunun (WNT sinyali) ve proteazom degradasyonunun da Se alımı ile modüle edildiği bulunmuştur. Üç NF-κB bağlama bölgesi tarafından yönlendirilen lusiferaz habercisinin Caco-2 bağırsak epitel hücrelerine transfekte edilmesi ile yapılan deneyde, Se tedariğinin NF-κB'nin TNF-α'ya olan cevabını modüle ettiğinin bulunmuş olması [70], Se tedarikinin kolon epitelindeki enflamatuar yolakları modifiye ettiği hipotezine ilave destek sağlamıştır. İlginç biçimde fare splenik lökositlerindeki enflamasyon ile ilişkili yolakların da Se azalmasından etkilendiği bulunmuştur. Gerçek zamanlı PCR analizi ile orta düzeyde Se eksikliğinin 30'dan fazla NF-κB hedefin-

de aşağı regülasyona yol açtığının bulunması, Se azalmasının NF-κB sinyalini etkilediğini konfirme etmiştir [69].

Tüm bu transkriptomik analizler Se tedariğinin kolon ve muhtemelen diğer dokulardaki protein sentezini, katlanmamış protein cevabını, Wnt, Nrf2 ve enflamatuar yolakları modüle ettiğini önermektedir [27, 68, 69]. Bu yolakların çoğu eksternal ve internal sorunlara karşı ortaya çıkan hücresel cevapların regülasyonunda rol oynamaktadır: Örneğin ksenobiyotik ve antioksidanlara verilen cevaplarda Nrf2, viral ve enflamatuar problemlere karşı oluşan cevaplarda katlanmamış cevap yolakları rol oynar. Ek olarak glutatyon peroksidazlar ve tioredoksin redüktazlar gibi çeşitli selenoproteinler de antioksidan koruyucu mekanizmalarda anahtar role sahiptir. Bu nedenle selenoproteinlerin hücrelerin bu proseslerde rol oynayan aşağı yönlü yolakları etkileyen bir dizi probleme cevap verilmesi ve problemin çözülmesinde önemli rol oynadığı hipotezini geliştirdik.

5.2 Kolonda Selenoprotein Fonksiyonu

Kolon ile ilgili mikrodizi ve genotipleme deneylerinde özel öneme sahip çeşitli selenoproteinler vurgulanmıştır; SeIH, SeIM ve SeIW, Se alımına karşı özellikle hassastır. SeIS'in genetik varyasyonlarının da hem kolon sağlığı hem de enflamatuar cevapları etkilediği düşünülmektedir.

Mevcut bilgilerimiz: (1) Bu selenoproteinler endoplazmik retikulumun (ER) katlanmamış protein cevabında, antioksidan korumada ve enflamatuar sinyallerde rol oynar. (2) Endoplazmik retikulum stresi, Nrf2 sinyali, memeli rapamisin hedefi (mTOR) sinyali ve enflamatuar sinyaller arasında biyokimyasal etkileşim (cross talk) mevcuttur. Örneğin mTOR sinyali hücre büyümesi ve protein sentezini kontrol eden yolakları regüle eder; anahtar uzatma ve başlatma faktörleri ve bunların kinazları gibi translasyonda rol oynayan çeşitli faktörleri modüle eder. Ayrıca c-myc'nin (Wnt yolağındaki hedef bir gen) transkripsiyonel regülasyonu ve mTOR besin öğesi algılama özelliği de mTOR'un translasyon, başlatma ve uzatmayı regüle etmesi ile bağlantılıdır. Selenyumun protein sentezi ve translasyon yolaklarında gözlenen etkilerinin Wnt ve/veya mTOR sinyalindeki değişimlerle ilişkili olduğunu düşünüyoruz. Bu da Se alımı ve SNP'ler tarafından değiştirilen bağlantılı biyokimyasal ağın bir yönünü temsil etmektedir.

Selenoprotein sentezinde rol oynayan ikinci bir nodal yolak da ER stres yolağıdır. Bu yolak besin öğesi yoksunluğu ve oksidatif stress gibi problemler ile ER'nin protein katlama kapasitesini bozarak yanlış katlanmış protein birikimine yol açabilir. Bölüm 2.1'de tanımlandığı üzere ER'de bulunan SEP15, SeIM ve SeIS selenoproteinlerin yanlış katlanmış proteinlerin uzaklaştırılmasında ve enflamatuar sinyallerde rol oynadıkları kabul edilmektedir. Ayrıca SeIS ekspresyonu da ER stresi [71] ve enflamatuar yolaklar [72] gibi bir dizi metabolik olaylarla modüle edilmektedir. Bu yolaklar kolorektal karsinogenezde disregüle olduğu için, SeIH, SeIS ve SeIM'nin ekspresyon/aktivitelerinin, Se alımı ve/veya genetik faktörler ile değişime uğraması ER stresini modüle edebilir [13]. Bu da birbiriyle ilişkili bir dizi biyokimyasal yolağı ve devamında tümörijenezi etkileyebilir. Hipotezimiz (bakınız Şekil 4) diyetle Se alımı ve selenoprotein genlerindeki SNP'lerin

oksidatif, endoplazmik retikulum ve enflamatuar streslere verilen hücre cevabında rol alan bir dizi birbiriyle bağlantılı yolağı modüle ettiğini önermektedir [11]. Selenoproteinlerin hücre koruma mekanizmalarındaki rolü ve Se statüsündeki değişimlerden etkilenen aşağı yönlü hedefli metabolik yolaklarla ilgili bilinen ve varsayılan bilgilerin ışığında, kolonik selenoproteinlerin ekspresyonlarındaki değişimlerin kolon epitel hücrelerini hasar verici metabolik problemlerle mücadele edecek şekilde modüle etmesi mümkündür. Bu da bir bireyde kanser gelişme riskini etkileyen bir faktördür. Kolondaki bu selenoproteinlerin rollerinin tanımlanması öncelikli olmalıdır.

siRNA'nın gen ekspresyonunun baskılanması (knock down) için kullanımının selenoproteinlerin fonksiyonlarının incelenmesinde kullanışlı olduğu gösterilmiştir. Kolonik epitel hücre dizisindeki GPX4'in baskılanmasını takip eden transkriptomik analizde, gerçek zamanlı PCR ve Westernblot analizinde mitokondrial respiratuar komplekslerin (I, IV ve V) kodlayıcı komponentlerini kontrol eden genlerde majör etkiler gözlenmiştir [73]. GPX4 baskılanması aynı zamanda mitokondrial reaktif oksijen türlerinin ve okside lipidlerin seviyelerini artırıp, apoptoz indükleyici faktörün (AIF) ekspresyonunu değiştirir. Düşük GPX4 ekspresyonunun lipooksijenaz kaynaklı lipid hidroksiperoksitleri ve AIF tarafından indüklenen apoptozi artırması geçmiş çalışmaların bulguları ile uyumludur. GPX4 ekspresyonu farklılaşmış enterositlerde [75] arttığı için, GPX4'ün AIF ile ilişkili koruyucu rolü farklılaşmış enterositler için özel öneme sahip olabilir. Ayrıca değişen GPX4 aktivitesinin bir sonucu olarak ortaya çıkan mitokondriyal oksidatif fonksiyon ve apoptoz, kolonik hücre proliferasyonunu etkileyebilir [72]. Bu etkiler ile kolorektal kanser riski arasındaki ilişki bilinmemektedir. Ancak mitokondrial fonksiyonun, düşük Se alımı ve selenoprotein genetik varyasyonlarına karşı oluşan hücre cevaplarını belirleyen biyokimyasal ağlarda önemli bir rol oynadığı speküle edilebilir. Bu bağlamda hem baskılama hem de aşırı ekspresyon deneylerinde GPX1'in mitokondri fonksiyonu üzerindeki etkilerinin redoks ile regüle edilen yolakların kontrolünde önemli rol oynadığının [76] ve ER stresinin mitokondrial redoks reaksiyonları ve enflamatuar yolaklarla ilgili olduğunun belirtilmiş olması ilginçtir [77, 78].

6 Sonuçlar ve Gelecekteki Çalışmalar

Se insanda 25 selenoproteinde bulunur. Se düzeylerindeki değişimler selenoprotein sentezini, protein ve dokuya bağlı olarak farklı şekillerde etkiler. Farklı dokulardaki çeşitli selenoproteinlerin rolleri tam olarak anlaşılamamıştır. Bu durum özellikle daha az tanınan proteinler için geçerlidir. Se alımı ve kanser arasındaki ilişkinin daha iyi anlaşılabilmesi için, gelecekteki çalışmalar kanser görülen çeşitli dokulardaki farklı selenoproteinlerin rollerinin tanımlanmasına odaklanmalıdır. Ancak bu entegre bir yaklaşım gerektirir. Se tedariğinin multipl selenoproteinler üzerindeki etkilerinin aşağı yönlü yolaklar ve çevresel stresin göze alınarak incelenmesi ile mümkün olabilir. Böylece Se'nin genel hücre cevapları üzerindeki etkilerini ve kardiyojenik prosesi önleme mekanizmasını anlamamız mümkün olabilir (Şekil 4'de şematik olarak illüstre edilmiştir). Genetik epidemiyolojik çalışmalardan elde edilen veriler farklı varyantların farklı dokulardaki

kanser riskini etkileme ihtimalinin yüksek olduğunu göstermektedir. Bu selenoproteinlerin farklı rollerinin teorik göstergesi olup bu dokularda Se fonksiyonlarını araştıracak mekanik çalışmaların önemini vurgulamayan bir durumdur. Selenyumun hedef dokulardaki rolü ile Se ve selenoproteinlerin hücre büyümesinin kontrolündeki olası etkilerinin anlaşılmasında fonksiyonel genomik yaklaşım esastır.

Günümüzde selenoproteinler içindeki bazı SNP'lerin proteinlerin ekspresyonunda fonksiyonel etkileri olduğunu gösteren güçlü kanıtlar mevcuttur. Ancak bu varyantların veya diğer selenoprotein SNP'lerinin kanser riskini etkileyip etkilemediğinin kesin olarak gösterilmesi gerekmektedir. Bu eksiğe rağmen, hastalıklarla ilişkileri araştıran çalışmalardan elde edilen ön bilgiler selenoprotein genlerindeki SNP'lerin kanser riski ile ilişkili olduğunu düşündürmektedir. Örneğin mevcut bilgilerimiz akciğer kanseri riskinin GPX1'deki rs1050450 genotipi, kolorektal kanser riskinin SELS'deki fonksiyonel bir varyantın genotipi ve muhtemelen GPX4 ile SEPP1 varyantları ile ilişkili olduğunu ancak GPX1'deki rs1050450 ile ilişkisi bulunmadığını göstermektedir. Buna karşın meme kanseri riski ise GPX1'deki rs1050450 ve sigara gibi hayat tarzı faktörlerinin kombinasyonundan etkilenmektedir. Ayrıca GPX1 ve SEPP1'deki SNP'lerin de prostat kanseri riskini etkilediği bildirilmiştir. Çeşitli çalışmalarda kanser riskinin SNP'ler ve/veya SNP'ler ile Se statüsü arasındaki etkileşimlerle modüle edebildiğinin gösterilmiş olması önemlidir. Kanser riskiyle ilişkili selenoprotein genotipleme verileri ümit verici ve motive edicidir. Ancak genotiplemenin selenoprotein yolağında rol oynayan (mümkün olabildiği kadar çok sayıda) SNP'ler ile konfirmasyonu ve replikasyonunun Se statü ölçütleri ile kombinasyon halinde gösterilmesi gerekmektedir. Bu amaç selenoprotein yolağındaki farklı SNP'lerin tek başlarına ve kombine haldeki etkilerinin, etkileşimlerinin ve Se statüsün kanser riskindeki etkisinin sayısal olarak tanımlanmasını gerektirmektedir.

Genotipleme ve mekanik çalışmalarda, Se ve selenoproteinlerin kanser biyolojisi ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. SELECT takviye çalışmasındaki negatif sonuca rağmen "Se ve kanser" çalışmalarının devam etmesi önemlidir. SELECT Çalışmasının sonuçlarında da Se-gen etkileşiminin, potansiyel kanser riski ile ilişkisinin altı çizilmektedir. Rölatif olarak düşük Se statüsü olan bir popülasyonlarda (örn. Avrupa) yapılacak Se takviye çalışmasına ihtiyaç vardır. Yanıltıcı faktörlerin elimine edilmesi adına selenoprotein SNP'lerinin genotiplemelerinin de entegre edilmesi uygun olacaktır.

CM Biotechnology and Biological Sciences Research Council tarafından desteklenmiştir (burs BB/H011471/1). JEH'in laboratuar çalışmaları Biotechnology and Biological Sciences Research Council, Food Standards Agency, Wellcome Trust, European Union, World Cancer Research Fund and Newcastle Healthcare Charity tarafından desteklenmiştir.

Referanslar

1. Fairweather-Tait SJ, BaoY Broadley MR et al (2011) Selenium in human health and disease. Antiox Red Sig 14:1337–1383
2. Rayman MP (2012) Selenium and human health. Lancet 379:1256–1268

3. Whanger PD (2004) Selenium and its relationship to cancer: an update dagger. Br J Nutr 91:11–28
4. Shamberger RJ, Frost DV (1969) Possible protective effect of selenium against human cancer. Can Med Assoc J 104:82–84
5. Duffield-Lillico AJ, Reid ME, Turnbull BW et al (2002) Baseline characteristics and the effect of selenium supplementation on cancer incidence in a randomized clinical trial: a summary report of the nutritional prevention of cancer trial. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 11:630–639
6. Qiao YL, Dawsey SM, Kamangar F et al (2009) Total and cancer mortality after supplementation with vitamins and minerals: follow-up of the Linxian general population nutrition intervention trial. J Natl Cancer Inst 101:507–518
7. Lippman SM, Klein EA, Goodman PJ et al (2009) Effect of selenium and vitamin E on risk of prostate cancer and other cancers: the selenium and vitamin E cancer prevention trial (SELECT). JAMA 301:39–51
8. Dunn BK, Taylor PR (2012) Prostate cancer prevention and the selenium and vitamin E cancer prevention trial (SELECT): a selenium perspective. In: Hatfield D, Berry MJ, Gladyshev VN (eds) Selenium: its molecular biology and role in human health, 3rd edn. Springer, New York
9. Laclaustra M, Navas-Acien A, Stranges S et al (2009) Serum selenium concentrations and diabetes in U.S. adults: national health and nutrition examination survey (NHANES) 2003–2004. Environ Health Perspect 117:1409–1413
10. Hesketh J (2008) Nutrigenomics and selenium: gene expression patterns, physiological targets, and genetics. Annu Rev Nutr 28:157–177
11. Hesketh J, Méplan C (2011) Transcriptomics and functional genetic polymorphisms as biomarkers of micronutrient function: focus on selenium as an exemplar. Proc Nutr Soc epub ahead of print
12. Hesketh J, Wybranska I, Dommels Y, King M, Elliott R, Pico C, Keijer J (2006) Nutrient-gene interactions in benefit-risk analysis. Br J Nutr 95(6):1232–1236
13. Méplan C (2011) Trace elements and ageing, a genomic perspective using selenium as an example. J Trace Elem Med Biol 25:S11–S16
14. Bellinger FP, Raman AV, Reeves MA et al (2009) Regulation and function of selenoproteins in human disease. Biochem J 422:11–22
15. Papp LV, Holmgren A, Khanna KK (2010) Selenium and selenoproteins in health and disease. Antioxid Redox Signal 12:793–795
16. Aachmann FL, Fomenko DE, Soragni A et al (2007) Solution structure of selenoprotein W and NMR analysis of its interaction with 14–3-3 proteins. J Biol Chem 282:37036–37044
17. Dikiy A, Novoselov SV, Fomenko DE et al (2007) SelT, SelW, SelH, and Rdx12: genomics and molecular insights into the functions of selenoproteins of a novel thioredoxin-like family. Biochemistry 46:6871–6882
18. Reeves MA, Bellinger FP, Berry MJ (2010) The neuroprotective functions of selenoprotein M and its role in cytosolic calcium regulation. Antioxid Redox Signal 12:809–818
19. Burk RF, Hill KE (2009) Selenoprotein P-expression, functions, and roles in mammals. Biochim Biophys Acta 1790:1441–1447
20. Méplan C, Nicol F, Burtle BT et al (2009) Relative abundance of selenoprotein P isoforms in human plasma depends on genotype, se intake, and cancer status. Antioxid Redox Signal 11:2631–2640
21. Hill KE, Zhou J, McMahan WJ et al (2003) Deletion of selenoprotein P alters distribution of selenium in the mouse. J Biol Chem 278:13640–13646
22. Schomburg L, Schweizer U, Holtmann B et al (2003) Gene disruption discloses role of selenoprotein P in selenium delivery to target tissues. Biochem J 370:397–402
23. Al-Taie OH, Seufert J, Mork H et al (2002) A complex DNA-repeat structure within the Selenoprotein P promoter contains a functionally relevant polymorphism and is genetically unstable under conditions of mismatch repair deficiency. Eur J Hum Genet 10:499–504

24. Bermano G, Nicol F, Dyer JA et al (1995) Tissue-specific regulation of selenoenzyme gene expression during selenium deficiency in rats. Biochem J 311:425–430
25. Wingler K, Bocher M, Flohe L et al (1999) mRNA stability and selenocysteine insertion sequence efficiency rank gastrointestinal glutathione peroxidase high in the hierarchy of selenoproteins. Eur J Biochem 259:149–157
26. Pagmantidis V, Bermano G, Villette S et al (2005) Effects of Se-depletion on glutathione peroxidase and selenoprotein W gene expression in the colon. FEBS Lett 579:792–796
27. Kipp A, Banning A, van Schothorst EM et al (2009) Four selenoproteins, protein biosynthesis, and Wnt signalling are particularly sensitive to limited selenium intake in mouse colon. Mol Nutr Food Res 53:1561–1572
28. Bermano G, Arthur JR, Hesketh JE (1996) Role of the 3′ untranslated region in the regulation of cytosolic glutathione peroxidase and phospholipid-hydroperoxide glutathione peroxidase gene expression by selenium supply. Biochem J 320:891–895
29. Méplan C, Crosley LK, Nicol F et al (2008) Functional effects of a common single-nucleotide polymorphism (GPX4c718t) in the glutathione peroxidase 4 gene: interaction with sex. Am J Clin Nut 87:1019–1027
30. Curran JE, Jowett JB, Elliott KS et al (2005) Genetic variation in selenoprotein S influences inflammatory response. Nat Genet 37:1234–1241
31. Voetsch B, Jin RC, Bierl C et al (2007) Promoter polymorphisms in the plasma glutathione peroxidase (GPx-3) gene: a novel risk factor for arterial ischemic stroke among young adults and children. Stroke 38:41–49
32. Forsberg L, de Faire U, Marklund SL et al (2000) Phenotype determination of a common Pro-Leu polymorphism in human glutathione peroxidase 1. Blood Cells Mol Dis 26:423–426
33. Jablonska E, Gromadzinska J, Reszka E et al (2009) Association between GPx1 Pro198Leu polymorphism, GPx1 activity and plasma selenium concentration in humans. Eur J Nut 48:383–386
34. Takata Y, King IB, Lampe JW et al (2012) Genetic variation in GPX1 is associated with GPX1 activity in a comprehensive analysis of genetic variations in selenoenzyme genes and their activity and oxidative stress in humans. J Nutr 142:419–426
35. Méplan C, Crosley LK, Nicol F et al (2007) Genetic polymorphisms in the human selenoprotein P gene determine the response of selenoprotein markers to selenium supplementation in a gender-specific manner (the SELGEN study). FASEB J 21:3063–3074
36. Villette S, Kyle JA, Brown KM et al (2002) A novel single nucleotide polymorphism in the 3' untranslated region of human glutathione peroxidase 4 influences lipoxygenase metabolism. Blood Cells Mol Dis 29:174–178
37. Bermano G, Pagmantidis V, Holloway N et al (2007) Evidence that a polymorphism within the 3′ UTR of glutathione peroxidase 4 is functional and is associated with susceptibility to colorectal cancer. Genes Nutr 2:225–232
38. Gautrey H, Nicol F, Sneddon AA et al (2011) A T/C polymorphism in the GPX4 3′ UTR affects the selenoprotein expression pattern and cell viability in transfected Caco-2 cells. Biochim Biophys Acta 1810:584–591
39. Hu YJ, Korotkov KV, Mehta R et al (2001) Distribution and functional consequences of nucleotide polymorphisms in the 3′-untranslated region of the human Sep 15 gene. Cancer Res 61:2307–2310
40. Pawlowicz Z, Zachara BA, Trafikowska U et al (1991) Blood selenium concentrations and glutathione peroxidase activities in patients with breast cancer and with advanced gastrointestinal cancer. J Trace Elem Electrolytes Health Dis 5:275–277
41. Hu YJ, Diamond AM (2003) Role of glutathione peroxidase 1 in breast cancer: loss of heterozygosity and allelic differences in the response to selenium. Cancer Res 63:3347–3351
42. Gresner P, Gromadzinska J, Jablonska E et al (2009) Expression of selenoprotein-coding genes SEPP1, SEP15 and hGPX1 in non-small cell lung cancer. Lung Cancer 65:34–40

43. Reszka E, Gromadzinska J, Jablonska E et al (2009) Level of selenoprotein transcripts in peripheral leukocytes of patients with bladder cancer and healthy individuals. Clin Chem Lab Med 47:1125–1132
44. Sutherland A, Kim DH, Relton C et al (2010) Polymorphisms in the selenoprotein S and 15-kDa selenoprotein genes are associated with altered susceptibility to colorectal cancer. Genes Nutr 5:215–223
45. Méplan C, Hughes DJ, Pardini B et al (2010) Genetic variants in selenoprotein genes increase risk of colorectal cancer. Carcinogenesis 31:1074–1079
46. Shibata T, Arisawa T, Tahara T et al (2009) Selenoprotein S (SEPS1) gene -105G>A promoter polymorphism influences the susceptibility to gastric cancer in the Japanese population. BMC Gastroenterol 9:2
47. Peters U, Chatterjee N, Hayes RB et al (2008) Variation in the selenoenzyme genes and risk of advanced distal colorectal adenoma. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 17:1144–1154
48. Haug U, Poole EM, Xiao L et al (2012) Glutathione peroxidase tagSNPs: associations with rectal cancer but not with colon cancer. Genes Chromosomes Cancer 51:598–605
49. Takata Y, Kristal AR, King IB et al (2011) Serum selenium, genetic variation in selenoenzymes, and risk of colorectal cancer: primary analysis from the women's health initiative observational study and meta-analysis. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 20:1822–1830
50. Steinbrecher A, Méplan C, Hesketh J et al (2010) Effects of selenium status and polymorphisms in selenoprotein genes on prostate cancer risk in a prospective study of European men. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 19:2958–2968
51. Penney KL, Schumacher FR, Li H et al (2010) A large prospective study of SEP15 genetic variation, interaction with plasma selenium levels, and prostate cancer risk and survival. Cancer Prev Res 3:604–610
52. Cooper ML, Adami HO, Grönberg H et al (2008) Interaction between single nucleotide polymorphisms in selenoprotein P and mitochondrial superoxide dismutase determines prostate cancer risk. Cancer Res 68:10171–10177
53. Méplan C, Rohrmann S, Steinbrecker A et al (2012) Polymorphisms in thioredoxin reductase and selenoprotein K genes and selenium status moderate risk of prostate cancer. PLOS One 7:e48709
54. Ravn-Haren G, Olsen A, Tjønneland A et al (2006) Associations between GPX1 Pro198Leu polymorphism, erythrocyte GPX activity, alcohol consumption and breast cancer risk in a prospective cohort study. Carcinogenesis 27:820–825
55. Cox DG, Hankinson SE, Kraft P et al (2004) No association between GPX1 Pro198Leu and breast cancer risk. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 13:1821–1822
56. Ahn J, Gammon MD, Santella RM et al (2005) No association between glutathione peroxidase Pro198Leu polymorphism and breast cancer risk. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 14:2459–2461
57. Knight JA, Onay UV, Wells S et al (2004) Genetic variants of GPX1 and SOD2 and breast cancer risk at the ontario site of the breast cancer family registry. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 13:146–149
58. Hu J, Zhou GW, Wang N et al (2010) GPX1 Pro198Leu polymorphism and breast cancer risk: a meta-analysis. Breast Cancer Res Treat 124:425–431
59. Nasr MA, Jun Y, Hu J et al (2003) Allelic loss at the SEP15 locus in breast cancer. Cancer Ther 1:293–298
60. Ratnasinghe D, Tangrea JA, Andersen MR et al (2000) Glutathione peroxidase codon 198 polymorphism variant increases lung cancer risk. Cancer Res 60:6381–6383
61. Yang P, Bamlet WR, Ebbert JO et al (2004) Glutathione pathway genes and lung cancer risk in young and old populations. Carcinogenesis 25:1935–1944
62. Skuladottir H, Autrup H, Autrup J et al (2005) Polymorphisms in genes involved in xenobiotic metabolism and lung cancer risk under the age of 60 years. A pooled study of lung cancer patients in Denmark and Norway. Lung Cancer 48:187–199

63. Lee CH, Lee KY, Choe KH et al (2006) Effects of oxidative DNA damage and genetic polymorphism of the glutathione peroxidase 1 (GPX1) and 8-oxoguanine glycosylase 1 (hOGG1) on lung cancer. J Prev Med Public Health 39:130–134
64. Raaschou-Nielsen O, Sørensen M, Hansen RD et al (2007) GPX1 Pro198Leu polymorphism, interactions with smoking and alcohol consumption, and risk for lung cancer. Cancer Lett 247:293–300
65. Rosenberger A, Illig T, Korb K et al (2008) Do genetic factors protect for early onset lung cancer? A case control study before the age of 50 years. BMC 8:60
66. Moscow JA, Schmidt L, Ingram DT et al (1994) Loss of heterozygosity of the human cytosolic glutathione peroxidase I gene in lung cancer. Carcinogenesis 15:2769–2773
67. Méplan C, Hesketh J (2012) The influence of selenium and selenoprotein gene variants on colorectal cancer risk. Mutagenesis 27:177–186
68. Pagmantidis V, Méplan C, Van Schothorst EM et al (2008) Supplementation of healthy volunteers with nutritionally-relevant levels of selenium increases expression of lymphocyte protein biosynthesis genes. Amer J Clin Nutr 87:181–189
69. Kipp AP, Banning A, van Schothorst EM et al (2011) Marginal selenium deficiency down-regulates inflammation-related genes in splenic leukocytes of the mouse. J Nutr Biochem [Epub ahead of print]
70. Gong G, Méplan C, Gautrey H et al (2012) Differential effects of selenium and knock-down of glutathione peroxidases on TNFα and flagellin inflammatory responses in gut epithelial cells. Genes Nutr 7:167–178
71. Gao Y, Feng HC, Walder K et al (2004) Regulation of the selenoprotein SelS by glucose deprivation and endoplasmic reticulum stress—SelS is a novel glucose-regulated protein. FEBS Lett 563:185–190
72. Zhang K, Kaufman RJ (2008) From endoplasmic-reticulum stress to the inflammatory response. Nature 454:455–462
73. Cole-Ezea P, Swan D, Shanley D et al (2012) Glutathione Peroxidase 4 has a major role in protecting mitochondria from oxidative damage and maintaining oxidative phosphorylation complexes in gut epithelial cells. Free Rad Biol Med 53:488–497
74. Seiler A, Schneider M, Forster H et al (2008) Glutathione peroxidase 4 senses and translates oxidative stress into 12/15-lipoxygenase dependent- and AIF-mediated cell death. Cell Metab 8:237–248
75. Speckmann B, Bidmon HJ, Pinto A et al (2011) Induction of glutathione peroxidase 4 expression during enterocytic cell differentiation. J Biol Chem 286:10764–10772
76. Handy DE, Lubos E, Yang Y et al (2009) Glutathione peroxidase-1 regulates mitochondrial function to modulate redox-dependent cellular responses. J Biol Chem 284:11913–11921
77. Malhotra JD, Kaufman RJ (2007) Endoplasmic reticulum stress and oxidative stress: a vicious cycle or a double-edged sword? Antioxid Redox Signal 9:2277–2293
78. Kitamura M (2011) Control of NF-κB and inflammation by the unfolded protein response. Int Rev Immunol 30:4–15

Resveratrol: Temel Çalışmalardan Yatak Başına

Adriana Borriello, Debora Bencivenga, Ilaria Caldarelli, Annunziata Tramontano, Alessia Borgia, Vincenzo Zappia ve Fulvio Della Ragione

Özet

Bitkilerden elde edilen çok sayıda düşük molekül ağırlıklı doğal ürünlerin birçok önemli biyolojik aktivitesi vardır. Bu moleküller arasında bulunan ve hücre fenotipinin önemli bir modülatörü olan resveratrol (3,5,4'-trihidroksistilben) kompleks ve pleiotropik bir etki mekanizmasına sahiptir. Aktivitesi ile ilgili olarak genel olarak hücresel modellere yapılan birçok çalışmada, bu polifenolün hücre proliferasyonunu kontrol ettiği, farklılaşmayı indüklediği, apoptoz ve otofajiyi aktive ettiği belirtilmektedir. Bileşik aynı zamanda anjiogenez ve enflamasyonu da kontrol eder. Benzer şekilde, implante kanserler ve kimyasal yolla indüklenen tümörlerde yapılan çalışmalarda da bileşiğin potansiyel kemoterapötik etkisi konfirme edilmiştir. Bileşiğin hayvan modellerindeki tip 2 diyabet, obezite, koroner kalp hastalığı, metabolik sendrom ve nörodejeneratif patolojileri de kapsayan birçok kronik hastalığın gelişim ve evrimini pozitif etkileyebileceği de farklı makalelerde net olarak gösterilmiştir. Ayrıca molekülün toksisitesinin de son derece düşük olduğu farklı incelemelerde bildirilmiştir. Bu ümit vadeden gözlemlere karşın, molekülün insanlardaki kronik hastalıkların önlenme ve tedavisindeki etkinliğini inceleyen az sayıda klinik çalışma mevcuttur. Öncül veriler daha geniş kapsamlı klinik araştırmalara ihtiyaç olduğu göstermektedir.

Anahtar Kelimeler

Resveratrol • AMPK • PGC-1α • Sirtuin • Kanser tedavisi

A. Borriello · D. Bencivenga · I. Caldarelli · A. Tramontano · A. Borgia · V. Zappia · F. Della Ragione (✉)
Department of Biochemistry, Biophysics and General Pathology, Second University of Naples, Via De Crecchio 7, 80138, Naples, Italy
e-mail: fulvio.dellaragione@unina2.it

V. Zappia et al. (eds.), *Advances in Nutrition and Cancer,* Cancer Treatment and Research 159, DOI: 10.1007/978-3-642-38007-5_10,
© Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2014

Kısaltmalar

AKT	Transforme olan v-Akt proteininin hücresel homoloğu
AMP	Adenozin monofosfat
AMPK	AMP-aktive protein kinaz
VYA	Vücut yüzey alanı
CD95	Farklılaşma kümesi 95
cdc2 kinaz	Hücre büyümesini kontrol eden protein 2 kinaz
Egr-1	Erken büyüme cevap proteini 1
FOXO	Forkhead box class O
HIF	Hipoksi ile indüklenebilir faktör
IGF-1	İnsülin benzeri büyüme faktörü 1
MAP kinaz	Mitojen aktive protein kinaz
NAD	Nikotinamid adenin dinükleotid
NF-κB	Aktive B hücrelerinin, nükleer faktör kappa hafif zincir güçlendiricisi
$p21^{Cip1}$	21 kDA protein sikline bağımlı kinaz inhibitörü protein 1
PDE	Fosfodiesteraz
PGC-1α	Peroksizom proliferatör-aktive reseptör gamma koaktivatör 1 alfa
PI3K	Fosfatidilinositol 3-kinazlar
PKC	Protein kinaz C
Sirt-1	Sirtuin 1
TRAIL	TNF-ile ilişkili apoptoz indükleyici ligand

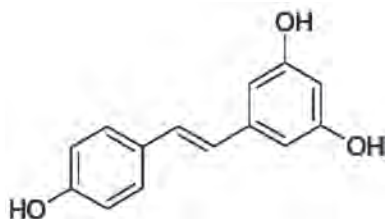
İçindekiler

1 Giriş 168
2 Yerleşik Hücre Dizilerinde Resveratrol Etkisi 170
3 Resveratrol Aktivitesinin Moleküler Temeli 171
4 Resveratrolun Farmakokinetiği 173
5 Resveratrol ile İlgili Klinik Çalışmalar 175
6 Sonuçlar ve Perspektifler 177
Referanslar 178

1 Giriş

Resveratroldan (Şekil 1) ilk kez 1939 yılında molekülü *Veratram album'dan* izole eden Takaoka bahsetmiştir [89]. Bu polifenolün adı muhtemelen Veratrum türlerinin reçinesinde bulunmasından kaynaklanmaktadır. Pezzuto ve çalışma arkadaşları1997 yılında

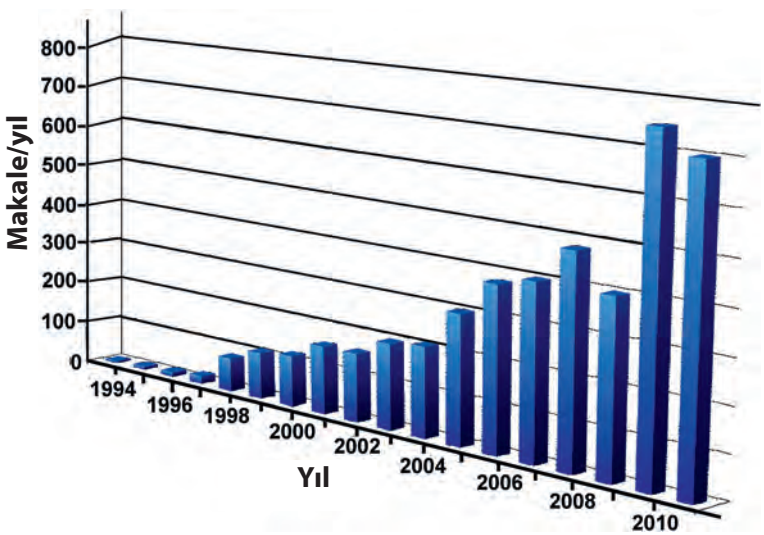
Resveratrol (3, 5, 4´-trihidroksi-
trans-stilben)



Şekil 1 Trans-resveratrolun kimyasal yapıları Resveratrol (3,5,40-trihidroksistilben) bir stilben (stilbenoid) türevidir. İki diastereomer şeklinde bulunur: cis- (Z) ve trans- (E). Trans formu tercih edilen doğal sterik formudur ve rölatif olarak stabildir. Ultraviyole radyasyonuna maruz kaldığında cis- formuna izomerize olabilir.

Peru baklasının (*"Cassia quinquangulata Rich"*; Baklagiller ailesinden yenilmeyen bir tür) potent siklooksijenaz 2 inhibitör aktivitesi olduğunu bildiren bir çalışma yayınlanmıştır [45]. Ekstrenin aktif maddesinin resveratrol olduğunu da tespit etmişlerdir [45].

Pezzuto'nun yayınladığı makalede adeta gelecekte olacakların bir müjdecisi olarak, resveratrolun karsinogenezin her aşamasını kapsayan (başlangıç, gelişim ve progresyon) çok sayıda antikanser aktivitesine sahip olduğu bildirilmiştir. Sonrasında resveratrol hakkında çok sayıda çalışma yapılmıştır. Şu ana kadar yayınlanan çalışmaların sayısı 5000'den fazladır (Şekil 2). Resveratrolun bir insan promiyelositik hücre dizisi olan HL-



Şekil 2 Yıllara göre resveratrolu konu alan yayınların sayıları Grafik 1994-2011 yılları arasında yayınlanan çalışmaların sayılarını göstermektedir. Veriler www.Pub.Med.gov adresinden elde edilmiştir.

60 hücre dizisinin büyüme ve farklılaşması üzerindeki etkileri 1998 yılında yayınlanmıştır. Bu çalışmada molekülün G2'den M'ye spesifik hücre döngüsü geçişini engelleyerek myeloid etki yaptığı ilk kez gösterilmiştir29] Biyokimyasal analizlerde siklin A'nın akümülasyonu ve cdc2 kinazın hiperfosforilasyonundan oluşan hücre bölünme mekanizmasındaki kesin değişimlerin gösterilmiş olması önemlidir [29].

Resveratrol doğada çok yaygın olmasına rağmen, yenilebilen kısıtlı sayıda gıdada mevcuttur. Bunlardan en önemlisi üzümdür. Resveratrol sıradışı işleme tekniği nedeniyle en sık olarak kırmızı şarapta bulunur. Resveratrol bu nedenle yoğun ilgiye maruz kalmıştır. Çok çekici bir kavram olan kırmızı şarabın kanseri önleyebilme ihtimali ile, Fransız Paradoksu adı verilen kavram arasında net bir korelasyon vardır. Bu korelasyon günümüzde fazlasıyla sorgulanmaktadır. En ilginç tarafı da Fransız Paradoksunun gerçekten var olup olmadığı tartışmasıdır.

Özetle, resveratrol 1997 yılından beri kanser, kalp hastalığı, nörodejeneratif patolojiler, yaşlanma, enflamasyon, obezite ve diyabeti de kapsayan birçok hastalıkla ilgili olarak sağlığa faydalı etkileri nedeniyle tavsiye edilen bir moleküldür. Bu hastalıkların birbirleri ile kesin olarak ilişkili oldukları nettir. Bu nedenle obezite, enflamasyon ve yaşlanma üzerindeki pozitif etkileri malign transformasyonu önlemekte de etkili olabilir. Bu bölümde resveratrol ve kanser arasındaki ilişkiyi, tedavide kullanılabilme ihtimalini de göz önünde tutarak değerlendireceğiz.

2 Yerleşik Hücre Dizilerinde Resveratrol Etkisi

Resveratrolun hücrelerdeki aktiviteleri yoğun olarak araştırılmış ve konuyla ilgili yüzlerce çalışma yayınlanmıştır. Çalışmalarda kullanılan hücresel modellerin çoğu malign dokulardan elde edilmiştir. Bu nedenle yapılan bu araştırmaların başlıca eksikleri hem yapay in vitro büyüme ortamlarında gerçekleştirilmeleri hem de kanserin türüne bağlı olarak görülen genetik ve moleküler değişimler nedeniyle spesifik güçlü fenotipik farklılıklar görülmesidir. Buna karşın normal dokulardan elde edilen hücrelerle yapılmış az sayıda analiz mevcuttur.

Majör fenotipik etkileri arasında büyümenin durdurulması (hücre siklusunun farklı fazlarında) [12, 13, 23, 29, 33, 52, 69]; farklılaşmanın indüksiyonu [5, 14, 27, 29, 46, 47, 53, 104]; apoptoz, nekroz ve otofajinin indüksiyonu [1, 35, 55–57, 61, 63, 72, 73, 76, 92, 102]; antienflamatuar aktivite [54, 107]; tümör anjiogeneziyle etkileşim [2, 16, 19, 85] mevcuttur. Bu aktiviteler insandaki malign transformasyonun majör özelliklerini etkiledikleri için kanser tedavisi alanında özel olarak ilgi çekmektedirler [40]. Bazı çalışmalarda resveratrolun etkisini artıran veya engelleyen bazı diğer bileşiklerle (sıklıkla kemoterapötikler) ilişkili olduğu bulunmuştur. Mükemmel bazı incelemelerde resveratrol hakkındaki çok sayıda ex vivo literatür eksikleri nedeniyle eleştirilmiştir. Bu bölümdeki incelemenin amacı bu değildir (96 nolu referans ve aynı makalenin içindeki referanslar). İlginç biçimde molekülün farklı konsantrasyonlardaki etkinliğinin farklı olduğu bazı ça-

lışmalarda bildirilmiştir. Düşük konsantrasyonlarda proliferasyonu indüklerken, daha yüksek konsantrasyonlarda ise antikanser etki göstermiştir [18].

Hücre dizileri ile yapılan çalışmalardan bazı genel sonuçlar çıkarılabilmektedir. Birincisi resveratrolun sahip olduğu çok çeşitli biyolojik aktivitelerin, antioksidan etkileri ile genel olarak bir ilişkisi olmadığıdır. İkincisi etkili konsantrasyonları genel olarak 10-50 μM arasında değişir. Üçüncüsü ise molekülün bu etkileri mevcut konsantrasyonuna göre sıklıkla değişimler gösterir. Resveratrol bundan dolayı, aktivitesinde kullanılan miktarının kritik önem arzettiği hormetik bir bileşik olarak değerlendirilebilir [18]. Bu değişkenlikler in vitro deneyler, klinik ortama uyarlanırken dikkate alınmalıdır.

3 Resveratrol Aktivitesinin Moleküler Temeli

Antikanser bir ajanın etkili dozlarının değerlendirilebilmesi için etki mekanizması hakkındaki bilgimiz tam olmalıdır. Resveratrolun moleküler aktivitesi, son iki dekadda çok fazla sayıda araştırmanın konusu olmuştur.

Resveratrolun pleiotropik doğasına bağlı olarak birçok karmaşık yolakta rol oynadığını belirten çok sayıda veri mevcuttur.

Molekül şunları da içeren çok sayıda transdüksiyon yolağını modüle eder: MAP kinaz [8, 12, 31, 105]; JNK [73, 79, 100], NF-κB [13, 14, 33, 42, 48, 55], AKT/PI3K [38, 39, 69, 98], PKC [7, 60, 75, 80, 86], CD95/TRAIL [26, 35, 56, 77, 78], ve FOXO [23, 85].

Resveratrol, p53 [36, 90, 108]; kaspazlar [3, 21, 64]; sürvivin [6, 41]; Bax, Bcl-2, ve Bcl-xL [68, 70, 92] düzeylerini değiştirerek apoptozu kontrol eder. Bileşik siklooksijenaz [87, 88, 110] ve sitokrom p450'yi [22] inhibe eder; faz II ilaç metabolize edici enzimleri indükler [24, 25, 51]; glutatyon peroksidaz [84], katalaz [34] ve kuinon redüktazı [74] yukarı regüle eder; ornitin dekarboksilazı inhibe eder [95]. Resveratrolun ilginç biçimde katepsin D'yi regüle ettiği [94] ve HIF-α'nın (hipoksi ile indüklenebilir faktör) fonksiyonunu inhibe ettiği de gösterilmiştir [20, 101]. Hif-α faktörleri üzerindeki etkisi (Hif-1α ve Hif-2α) üzerindeki etkisi, bu proteinlerin glukozun internalizasyonunu ve glikolitik metabolizmayı artırarak glukoz metabolizmasını kontrol ediyor olmaları nedeniyle özel olarak önemlidir [81].

Resveratrol ile yaptığımız çalışmalarda, molekülün K562 hücrelerindeki (eritrolökemik hücre dizisi) Egr-1 (erken büyüme cevabı) transkripsiyon faktörünün hücresel miktarını MAP kinaz yolağını aktive edere yukarı regüle ettiğini göstermiştik [30]. Bu da Egr-1'in, sikline bağımlı kinazların bir inhibitörü olan $p21^{Cip1}$'in gen transkripsiyonunu artırmasına neden olmuştur. $p21^{Cip1}$ akümülasyonu resveratrolun antiproliferatif etkisinden ve en azından kısmen de eritroid farklılaşmasının indüksiyonundan sorumludur [30]. Resveratrolun indüklediği $p21^{Cip1}$ akümülasyonu hem bizim tarafımızdan hem de farklı hücre dizisi modellerinde çalışan araştırma grupları tarafından gözlenmiştir. Bu bulgu resveratrolun gen ekspresyonunu ve hücre bölünme döngüsü mekanizmasını spesifik olarak etkilediğini göstermektedir.

Resveratrolun bir diğer mekanizması olan sirtuin üzerindeki etkisi de özel ilgi ve tartışma gerektiren bir konudur. Sirtuinler, proteinleri deasetile eden (NAD'i feda etme pahasına) bir enzim ailesidir. Bu nedenle ya protein deasetilaz ya da mono-riboziltransferaz aktivitesine sahiptirler [37, 109] Sirtuinler bazı türlerdeki yaşam uzamasının desteklenmesinde ve gen transkripsiyonunun, apoptozun, stres rezistansının ve düşük kalori şartlarında enerji harcama kontrolünün modülasyonunda etki gösterirler [58, 103, 109].

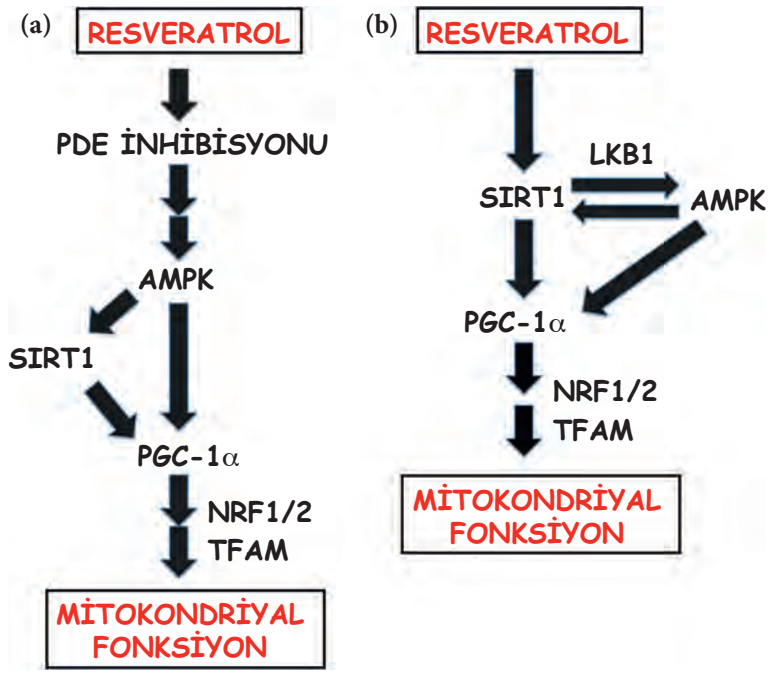
Howitz ve ark. 2003 yılında Sir2 mayasının (memelilerdeki Sirt-1'in homoloğu) doğal ve güçlü bir aktivatörü olan resveratrolun *Saccaromyces cerevisiae*'nin ömrünü uzatabildiğini gösterilmiştir [44]. Resveratrolun yaşam süresini uzatabilme özelliği bir kurtçuk (*Caenorhabditis elegans*) ve meyve sineği (*Drosophila melanogaster*) üzerinde de gösterilmiştir [9].

Sonrasında bu sonuçlardan bazıları sorgulanmış ve resveratrolun yaşlanmayı geciktirici etkisinin muhtemelen var olmadığı sonucuna varılmıştır [59, 67]. Benzer şekilde resveratrolun Sirt-1 üzerindeki in vitro etkisinin, in vivo ortamda mevcut olup olmadığı da bir tartışma konusu olmuştur. [11, 28]. Bu konuda kesin bir sonuca varılamamıştır.

Nütrisyondaki değişimin insan fizyoloji ve patolojisindeki etkilerini ilgilendiren bakış açısıyla bakıldığında, resveratrolun yüksek yağlı diyetle beslenen farelerin performansını kuvvetle düzelttiği bildirilmiştir. Resveratrolun pozitif etkileri Sirt1'e bağımlı deasetilasyon ve PGC-1α'nın aktivasyonu (respiratuar zincir komponentlerini ve mitokondrilerin sayı ve aktivitelerini artırarak oksidatif mekanizmayı aktive eden bir master gen) ile korelasyon göstermektedir [50, 67]. Bu konuyla ilgili çok yakın zamanda yapılan çalışmalar da mevcuttur. Birincisi, resveratrolun primer moleküler aktivitesinin siklik AMP artışına yol açan fosfodiesteraz inhibisyonundan kaynaklandığının gösterilmesidir [65]. Siklik mononükleotidin yukarı regülasyonu, kalori sınırlamasının kontrolünde önemli yeri olan AMP kinazın (AMPK) aktive olmasına yol açan bir dizi reaksiyonu tetiklemektedir. AMPK sonrasında Sirt1 ve PGC-1α'yı regüle eder (Şekil 3a). Bir başka çalışmada da resveratrolun birincil hedeflerinin, (mevcut resveratrol miktarına göre) Sirt1 veya AMPK olduğu bildirilmiştir [71]. Her iki durumda da sonuç olarak PGC-1α aktive olmaktadır (Şekil 3b).

İki çalışmada farklı primer resveratrol hedefleri önerilmiş olmasına rağmen nihai efektörler AMPK ve PGC-1α'dır [65, 71]. Knockout farelerle yapılan çalışmalar mekanizmalarda gözlenen farklılıkların ortamdaki resveratrol miktarına bağlı olup olmadığını netleştirmekte faydalı olabilir. Her iki durumda da, resveratrolun "in vivo" enerji metabolizmasını etkilediğini net olarak gösteren iki çalışma mevcuttur.

2011 yılı sonuna kadar yapılan 50'den fazla çalışmada resveratrolun hayvan modellerinde antikanser bir bileşik olarak farklı kanser türlerindeki etkinliği araştırılmıştır: Cilt kanseri (nonmelanom ve melanom); meme, gastrik, kolorektal, özofagus, prostat ve pankreatik kanserler; hepatom, nöroblastom, fibrosarkom ve lösemi (96 nolu referansta incelenmektedir). Bu preklinik çalışmalarda molekülün kanserin progresyonunu azaltmada, boyutunu küçültmede ve metastazların sayısını azaltmada genel bir pozitif etkiye sahip olduğu bildirilmiştir.



Şekil 3 Resveratrolun enerji metabolizmasındaki etkisi ile ilgili olarak önerilen moleküler mekanizmalar: *Panel a.* Resveratrolun primer hedefi siklik AMP artışına yol açan fosfodiesteraz aktivitesidir. cAMP'nin yukarı regülasyonu AMPK aktivitesini stimüle eder. Bu kinaz SIRT-1 ve PGC-1α'yı bağımsız olarak aktive eder. Ayrıca SIRT-1, PGC-1α'yı da aktive eder. Sonuçta, PGC-1α ilave transkripsiyon faktörleriyle beraber (NRF1/2 ve TFAM) mitokondrial aktiviteyi pozitif yönde modüle eder. *Panel b.* Resveratrolun bu mekanizmadaki primer hedefi SIRT-1'dir. Bu enzimin yukarı regülasyonu hem AMPK hem de PGC-1α'nın aktive olmasına yol açar. AMPK ayrıca PGA-1a'yı da aktive eder. Sonuç olarak PGC-1α ve NRF1/2 ve TFAM mitokondrial aktiviteyi artırırlar.

Preklinik çalışmalarda elde edilen bulgular, resveratrolun kanser tedavisinde kullanımı ile ilgili klinik çalışma ihtiyacı doğurmuştur. Ancak hayvan modellerinde çok sayıda doğal bileşiğin antikanser aktivitesi olmasına rağmen, klinik çalışmalarda elde edilen veriler etkinlik ve toksisite yönünde sıklıkla tatmin edici olmamaktadır.

4 Resveratrolun Farmakokinetiği

Resveratrolun hem in vivo hem de in vitro ortamdaki çok sayıda intraselüler moleküler mekanizmayı ve kompleks biyolojik olayı modüle ettiği tartışmasızdır. Bu doğal polifenolun çok sayıda deneysel kanser modelinde pozitif etkileri görülmüştür. Ancak resveratrolun in vitro ortamdaki konsantrasyonlarına eşdeğer serum seviyelerine ulaşmak

için gereken dozları molekülün potansiyel kullanım alanlarından özellikle diyetle koruma amacıyla alımı hakkında şüpheler doğurmuştur.

Resveratrol insanlarda yapılan deneylerde, en azında kısa süreli ve akut maruziyetlerde iyi tolere edilmiştir. Sekiz gün boyunca günde iki kez 2 gram resveratrol uygulanan sekiz deneğin altısında hafif epizodik diyare/dışkı yumuşaması görülmüştür. Bu semptomlar tipik olarak tedavi periyodunun başlangıcında görülmektedir. Deneklerden birinde döküntü ve baş ağrısı oluşmuştur [49].

Çift kör, randomize, plasebo kontrollü bir çalışmada sağlıklı gönüllülere 975 mg/gün'e kadar resveratrol uygulanmıştır. Her iki gruptan ikişer erişkin deneğe (erkek ve kadın) günde 6 kez 25, 50, 100 ve 150mg resveratrol iki gün süreyle uygulanmıştır. Her iki gruptaki advers olaylar hafif ve benzer düzeyde bulunmuştur [4]. Başka bir çalışmada 19 gönüllüye bir hafta süreyle 270mg resveratrol uygulanması ile herhangi bir rahatsızlık tespit edilmemiştir [99]. Bir başka yayında da sağlık gönüllüler bir hafta süreyle uygulanan resveratrolu iyi tolere etmişlerdir. Ancak deneyin detayları verilmediği için sonuçların analizini yapmak güçtür [32]. Aynı makalede 28 gün süreyle 2.5-5mg arası resveratrol uygulanan bir çalışma daha tanımlanmıştır. Yazarlar advers olayların genel olarak hafif ve reversibl olduğunu belirtmişlerdir. Ancak deneyin detayları yetersizdir [32].

Diğer yandan malignitelerin (ve diğer kronik hastalıkların) önlenmeleri ve/veya tedavileri aylar veya yıllar boyu sürebildiği için resveratrolun uzun süreli tedavisindeki toksisitesi ile ilgili veriler hayati önem taşımaktadır. Maalesef bu tür bir veri şu an için mevcut değildir. Bu nedenle resveratrol gıda takviyesi olarak kullanıldığında rölatif olarak güvenli olan doğal bir ürün olmasına rağmen, uzun süreli etkilerinin belirlenmesi için kesinlikle yeni araştırmalara ihtiyaç vardır.

Açıklığa kavuşturulması gereken önemli konulardan bir tanesi biyoyararlanımı ile terapötik etkinliği arasındaki orandır. Bu kompleks konuya farklı yaklaşımlar getirilebilir. Bir önceki bölümde de anlatıldığı üzere, resveratrolun in vitro etkileri (örn. kök hücreleri üzerindeki) genel olarak 10-50 μM konsantrasyonlarında gözlenmektedir. Ancak bu değerler resveratrolun kültür ortamındaki komponentlerle (örn. proteinler, lipoproteinler ve diğerleri) olan etkileşimini dikkate almadığı için gerçek serbest resveratrolun etkili konsantrasyonları anlamlı olarak az olabilir. Resveratrol insanlara tek doz olarak yaklaşık 25 mg dozunda uygulandığında [4, 82, 83, 97], elde edilen serbest molekül konsantrasyonları 1-5 ng/ml (4-20 nM) bulunmuştur. Daha yüksek doz (5 gr) ile serum resveratrol konsantrasyonları 2.3 μM bulunmuştur [4, 82, 83, 97]. Maksimum plasma tepe konsantrasyonlarına uygulamadan sonraki 30-90 dakika içinde ulaşılmıştır. Bu şartlar altındaki üç ana resveratrol metabolitinin (resveratrol-3-O-sülfat, resveratrol-3-O-glukuronid ve resveratrol-4-O-glukuronid) konsantrasyonları serbest bileşiğin yaklaşık 20 katı seviyesine ulaşmıştır [4, 82, 83, 97]. Resveratrol ve majör metabolitlerinin plazma yarı ömürleri benzer bulunmuştur (2.9-11.5 saat). Doz sonrası 24 saat içinde, idrardaki en yüksek ekskresyon oranları ilk 4 saatlik numunelerde tespit edilmiştir. Resveratrol enterohepatik sirkülasyon ile uyumlu olarak feçeste de eser miktarda tespit edilmiştir [4, 82, 83, 97]. Biyoyararlanım çalışmalarında yüksek doz resveratrol uygulamasından

sonra bile plazmada küçük miktarda serbest moleküle rastlanmıştır. Bu nedenle in vitro biyolojik aktivitelere denk gelen serum değerlerine ulaşabilmek için yüksek resveratrol miktarları gerekmektedir.

Ancak bu metodolojik yaklaşım tedavi stratejisi ve serum seviyelerinin biyolojik etkileri ile direkt olarak korele olmadığı için doğal olarak yetersizdir.

Alternatif bir metodoloji net in vivo etkilerin elde edildiği çalışmalardaki resveratrol dozunun dikkate alınmasıdır. Bu bağlamda Baur ve arkadaşlarının yaptıkları çalışma faydalı olabilir [10]. Araştırmacılar farelere uyguladıkları 22.4 ± 0.4 mg kg^{-1} $gün^{-1}$ dozundaki resveratrol tedavisi ile yaklaşık 110 hafta sonunda anlamlı fenotipik etkiler elde etmişlerdir. Bu değer 70kg'lık bir erkek için yaklaşık 1568 mg'a karşılık gelmektedir. Baur ve Sinclair [9] bazı kırmızı şarapların litresindeki resveratrol konsantrasyonunun 5 mg olduğunu bildirmişlerdir. Bu da yukarıdaki değeri yakalamak için hergün 300 litre şarap tüketimini gerektiren bir konsantrasyondur.

Ancak bu yaklaşım dozun farelerden insanlara uyarlanması sırasında gerekli olan bir parametre olan vücut yüzey alanını (VYA) göz önüne almamıştır. Bu parametrenin eklenmesi ile farelerdeki 22.4 mg kg^{-1} dozu insanlarda 1.82 mg kg^{-1} dozuna denk gelmektedir. Bu da 1568mg'ın 128mg'a düşmesi anlamına gelmektedir. Ancak farelerdeki 5.9 mg kg^{-1} $gün^{-1}$dozunun [50], 70 kg'lık bir erkekteki eşdeğeri olan 33 mg'lık daha düşük dozlar (VYA kullanılarak hesaplanmıştır) ile de koruyucu etkiler gözlenmiştir. 33 mg resveratrolun 6 litre şarapta bulunuyor olması diyette bulunan fitoaleksinin öneminin hala sorgulanmasına neden olmaktadır.

Ancak resveratrolun etkilerinin (en azından bir kısmının) normal diyet şartlarında bile (yaklaşık 0.4 litre şarap $gün^{-1}$, yaklaşık 1.5mg $gün^{-1}$) görülebildiğini düşündüren iki özelliğin daha göz önünde bulundurulması gerekmektedir.

Birincisi diyetteki resveratrolun etkinliğinin saflaştırılmış preparat içeren tablet formuna göre tablet formuna göre daha yüksek olma ihtimali vardır. Gerçekten de gıdalarda bulunan ve resveratrolun ayrıştırılması sürecinde etkileşime giren diğer bileşiklerin (örn. diğer polifenoller) fitoaleksinin katabolizmasını azaltarak serum düzeylerini yükseltebileceği önerilmiştir (gösterilmemiştir) [50]. İkincisi, uzun süreli resveratrol tedavisi (biyoyararlanım özelliklerinden dolayı) serum resveratrol içeriğinde artışa yol açtığı gibi, aynı zamanda molekülün lipofilik olması nedeniyle spesifik bazı hücre kompartmanlarında (örn. hücresel membranlar) veya dokularda birikmesini sağlayabilir.

5 Resveratrol İle Yapılan Klinik Çalışmalar

İnsanlarda yapılan az sayıda çalışmada resveratrolun klinik etkileri değerlendirilmiş olmasına rağmen, mevcut veriler daha ileri çalışmaların planlanabilmesi adına ümit vericidir.

Bin kişilik bir kohort ile yapılan çok güncel bir çalışmada diyetle resveratrol tüketimi ile çeşitli kardiyak risk parametrelerde düzelme arasında direkt bir korelasyon

gösterilmiştir. Resveratrol alımı resveratrolun kendisinin ve metabolitlerinin idrardaki düzeylerinin tespit edilmesi ile değerlendirilmiştir [106]. 75 kişi ile yapılan bir başka çalışmada da denekler plasebo, üzüm ekstresi ve düşük miktarda resveratrol ile zenginleştirilmiş üzüm ekstresi uygulanan 3 gruba ayrılmıştır. Yazarlar 1 yıllık tedavi sonucunda, sadece resveratrol kullanan gruptaki birçok kardiyak risk faktörlerinin (C-reaktif protein, tümör nekroz faktörü-α, gök plazminojen aktivatör inhibitörü tip 1, interlökin-6 / interlökin-10 oranı) anlamlı olarak azaldığını öne sürmüşlerdir [93]. Cell Metabolism'de (Hücre Metabolizması) yayınlanan pivot çalışmada 30 gün süre ile 150 mg/gün resveratrol ile tedavi edilen 11 obez hastadaki çeşitli parametrelerin (örn. intramiyoselüler lipid düzeylerinde artma, intrahepatik lipid, dolaşımdaki glukoz, trigliserid, alaninaminotransferaz ve enflamasyon markerlerinde azalma) pozitif anlamda güçlü bir şekilde etkilendiği ve kaslardaki AMPK, SIRT-1 ve PGC-1alfa'nın biyokimyasal yukarı regülasyonlarını indüklendiği belirtilmiştir. Bulgular hayvan modellerinde bildirilen gözlemler ile benzer bulunmuştur [91]. Yazarlar insanlardaki tedavide kullanılan resveratrol konsantrasyonunun farelerde kullanılandan 400 kat daha az olduğunu vurgulamışlardır.

Bu üç çalışmada [91, 93, 106] resveratrolun karsinogenez için de önemli olan metabolik parametreleri etkilediği önerilmiştir (kesinlikle ispat edilememiştir).

Diğer iki ilginç çalışmada Cancer Research'de (Kanser Araştırmaları) 2010 yılında yayınlanmıştır. Bu araştırmalarda resveratrolun toksisite ve metabolizması ile hem normal hem de malign kolon dokusundaki akümülasyonu değerlendirilmiştir [17, 66]. Çalışmalarda yüksek resveratrol dozları kısa süreler ile uygulanmıştır. Çalışmalardan birinin sonuçlarında resveratrolun çok düşük toksisiteye sahip olduğu ve IGF-1 düzeylerini negatif etkileyebilen konsantrasyonlara ulaşabileceği gösterilmiştir [17]. IGF-1 düzeylerinin azaltılmasının antikanser aktivitenin önemli bir parametresi olduğu düşünülmektedir. İkinci araştırmada ise kolon kanseri olan hastalara, tümörün çıkarılmasından 7 gün önce resveratrol uygulanmıştır. Sonuçlarda malign hücrelerin proliferasyonlarında kısıtlı da olsa net bir azalma görülmüştür. Ayrıca resveratrol kolon dokusunda 20-200 μM arasındaki konsantrasyonlarda akümüle olmuştur [66].

Yukarıda belirtilen çalışmalara ek olarak, diyet veya takviye olarak uygulanan resveratrolun değerlendirildiği çeşitli klinik araştırmalar henüz (farklı aşamalarda) sürmektedir. www.clinicaltrials.gov adresinde anahtar kelime olarak "resveratrol" kullanılarak yapılan bir aramada farklı aşamalarda 53 çalışma bulunmuştur (4 Ekim 2012). Daha spesifik olmak gerekirse, aktif olan ancak henüz hasta kaydetmeyen 7 çalışma, aktif olan ve hasta kaydeden 18 çalışma, tamamlanan 21 çalışma, erken sonlandırılan 2 çalışma, statüsü bilinmeyen 2 çalışma (örn. bilgilerin son zamanlarda güncellenmediği çalışmalar) ve geri çekilen 1 çalışma mevcuttur. Bu araştırmaların çoğunda, molekülün tip 2 diyabet, obezite ve kardiyovasküler hastalıklar üzerindeki etkileri incelenmektedir.

Resveratrolun kanser gelişimi üzerindeki etkisini direkt olarak araştıran 8 çalışma mevcuttur. Tamamlanan altı çalışmadan, dört tanesinin sonuçları yayınlanmıştır [15, 43, 62, 66]. Bir çalışmaya hala hasta kaydı yapılmaktadır. Sonuncusunun statüsü ise bilinmemektedir.

Çalışmaların çoğu (dört) resveratrolun kolon kanserindeki etkisini araştırmaya odaklanmıştır. Bir tanesi de molekülün kanserlerin gelişimindeki aktivitesini analiz etmektedir. Kalan 3 çalışma resveratrolun gastrointestinal kanser, foliküler lenfoma ve multipl myelom (resveratrol ile bortezomib arasında bir ilişkiyi kullanarak) üzerindeki etkilerini araştırmaya odaklanmıştır. Ancak bu çalışmaların sonuçları henüz açıklanmamıştır. Yayınlanmış çalışmalara [15, 43, 62, 66] bakılarak yapılabilecek genel çıkarım resveratrolun kanserin önlenmesindeki pozitif özelliklerinin netleşebilmesi için daha ileri çalışmalara ihtiyaç olduğudur. Bu çalışmaların dizaynlarında büyük farklılıklar mevcuttur (örn. resveratrolun dozaj ve formülasyonu, çalışmanın uzunluğu gibi). Çalışmalarda sağlıklı erişkinlerde 5 grama varan dozlar kullanılmıştır.

Resveratrol ile yapılan araştırmalar ile ilgili başlıca kısıtlama ve eleştiri konusu olan nokta resveratrolun sağlık üzerindeki uzun süreli etkilerini araştıran çalışmaların mevcut olmamasıdır. Danimarka Stratejik Araştırma Konseyinin metabolik sendrom, osteoporoz ve kronik enflamasyon tedavisinde resveratrolun etkilerini araştıracak dört yıllık bir çalışma için 3.4 milyon $ sağlayacak olması son zamanlarda açıklanan önemli bir gelişmedir. Dönüm noktası olacak bu çalışmanın ana amacı aşırı vücut ağırlığının (özellikle obezitenin) sağlığa zararlı etkilerinin, resveratrolun diyet takviyesi olarak kullanımı ile nötralize edilebileceğinin gösterilmesidir. Test edilecek etkiler arasında sıklıkla tip 2 diyabet, nonalkolik yağlı karaciğer hastalığı, osteoporoz ve kanser ile sıklıkla ilişkili olan düşük dereceli enflamasyon vardır.

Özet olarak resveratrolun diyetin bir parçası veya diyet takviyesi olarak kullanımı ile ortaya çıkan önleyici ve terapötik etkilerinin ispat edilebilmesi için yeni kontrollü klinik çalışmalara ihtiyaç vardır.

6 Sonuçlar ve Perspektifler

Resveratrol ile insanlarda yapılan klinik çalışmalardan elde edilmeye başlanan veriler, in vitro ve hayvan modellerinde tespit edilen pozitif etkilerin, potansiyel koruyucu veya tedavi edici etkiler yönünden ciddiyetle ele alınmasını gerektirmektedir. Aslında molekülün hücre büyüme ortamında fenotipik etkiler gösterebilmesi için gereken miktarlarının, gerçekte ulaşılabilen serum düzeyleri ile karşılaştırılması oldukça basit görünmektedir.

Gerçekten de son zamanlarda elde edilen veriler, bir yıl süre ile kullanılan çok düşük resveratrol dozlarının (günde iki kez 8 mg) bile birçok kardiyak risk faktörünü azalttığını göstermektedir [93]. 8 mg resveratrol sadece şarap tüketimi (kullanılan şaraba göre 1-3 litreye denk gelmektedir) ile ulaşmak için hala çok yüksek bir doz olabilir. Ancak resveratrolun çeşitli gıdalarda da mevcut olduğu göz önüne alındığında aşırı yüksek bir değer olmadığı görülecektir. Diğer taraftan molekülün çok düşük toksisitesi, kronik hastalıkların önlenmesinde veya tedavisinde kullanılması konusunun ciddi olarak değerlendirilmesi gereksinimini doğurmaktadır.

Ancak resveratrol takviyesi ile elde edilen faydaların uzun süreli kullanımda da devam ederek kronik hastalıkların ortaya çıkmasını engelleyip engelleyemeyeceği bilinmemektedir. Ayrıca az sayıda klinik araştırma var olan binlerce basit bilimsel deneyle karşılaştırıldığında çok yetersiz kalmaktadır.

Sonuç olarak resveratrolun insanlardaki geniş kullanım potansiyelini değerlendirebilmek için insanlarda her tür olası yanıtı araştıran çalışmaların devam etmesi gerektiği aşikardır. Gelecekte yapılacak çalışmalar şunları hedeflemelidir:

1. Hem biyoyararlanım hem de etkinlik yönünden farklı resveratrol dozlarının ve/veya formülasyonlarının araştırılması.
2. Resveratrolun olası bir tedavi alternatifi olarak etkinliğinin belirli tedaviler ve sonuçları ile karşılaştırılması. Resveratrol bazı kronik hastalıkların (tip 2 diyabet, obezite, metabolik sendrom, kardiyovasküler hastalıklar ve nörodejeneratif patolojiler) önlenmesi ve tedavisinde ciddi bir alternatif olarak değerlendirilebilir. Bu amaçla sadece çok sayıdaki bağımsız çalışmaların sonuçlar dikkate alınmalıdır.
3. Uzun süreli resveratrol takviyesinin etkilerinin araştırılması.
4. Resveratrolun metabolitlerinin aktivitelerinin tespit edilmesi.
5. Resveratrolun diğer terapilerle aditif veya sinerjistik etkisi olup olmadığının belirlenmesi.
6. Genetik faktörlerin, biyoyararlanım ve bireylerin resveratrola verdikleri farklı yanıtlar ile ilişkisinin tespit edilmesi.
7. Resveratrol takviyesi için yeni stratejilerin geliştirilmesi.

Referanslar

1. Ahmad KA, Clement MV, Hanif IM et al (2004) Resveratrol inhibits drug-induced apoptosis in human leukemia cells by creating an intracellular milieu nonpermissive for death execution. Cancer Res 64:1452–1459
2. Alex D, Leong EC, Zhang ZJ et al (2010) Resveratrol derivative, trans-3,5,49-trimethoxystilbene, exerts antiangiogenic and vascular disrupting effects in zebrafish through the downregulation of VEGFR2 and cell cycle modulation. J Cell Biochem 109:339–346
3. Alkhalaf M, El-Mowafy A, Renno W et al (2008) Resveratrol-induced apoptosis in human breast cancer cells is mediated primarily through the caspase-3-dependent pathway. Arch Med Res 39:162–168
4. Almeida L, Vaz-da-Silva M, Falcao A et al (2009) Pharmacokinetic and safety profile of trans-resveratrol in a rising multiple-dose study in healthy volunteers. Mol Nutr Food Res 53:7–15
5. Asou H, Koshizuka K, Kyo T et al (2002) Resveratrol a natural product derived from grapes, is a new inducer of differentiation in human myeloid leukemias. Int J Hematol 75:528–533
6. Aziz MH, Afaq F, Ahmad N (2005) Prevention of ultraviolet-B radiation damage by resveratrol in mouse skin is mediated via modulation in survivin. Photochem Photobiol 81:25–31
7. Aziz MH, Nihal M, Fu VX et al (2006) Resveratrol-caused apoptosis of human prostate carcinoma LNCaP cells is mediated via modulation of phosphatidylinositol 3'-kinase/Akt pathway and Bcl-2 family proteins. Mol Cancer Ther 5:1335–1341
8. Banerjee Mustafi S, Chakraborty PK, Raha S (2010) Modulation of Akt and ERK1/2 pathways by resveratrol in chronic myelogenous leukemia (CML) cells results in the downregulation of Hsp70. PLoS ONE 5:e8719
9. Baur JA, Sinclair DA (2006) Therapeutic potential of resveratrol: the in vivo evidence. Nat Rev Drug Discov 5:493–506

10. Baur JA, Pearson KJ, Price NL et al (2006) Resveratrol improves health and survival of mice on a high-calorie diet. Nature 444:337–342
11. Beher D, Wu J, Cumine S et al (2009) Resveratrol is not a direct activator of SIRT1 enzyme activity. Chem Biol Drug Des 74:619–624
12. Bhardwaj A, Sethi G, Vadhan-Raj S et al (2004) Isorhapontigenin and resveratrol suppress oxLDL-induced proliferation and activation of ERK1/2 mitogen-activated protein kinases of bovine aortic smooth muscle cells. Biochem Pharmacol 67:777–785
13. Bhardwaj A, Sethi G, Vadhan-Raj S et al (2007) Resveratrol inhibits proliferation, induces apoptosis, and overcomes chemoresistance through down-regulation of STAT3 and nuclear factor-kappaB regulated antiapoptotic and cell survival gene products in human multiple myeloma cells. Blood 109:2293–2302
14. Boissy P, Andersen TL, Abdallah BM et al (2005) Resveratrol inhibits myeloma cell growth, prevents osteoclast formation, and promotes osteoblast differentiation. Cancer Res 65:9943–9952
15. Boocock DJ, Faust GE, Patel KR (2007) Phase I dose escalation pharmacokinetic study in healthy volunteers of resveratrol, a potential cancer chemopreventive agent. Canc Epidemiol Biomarkers Prev 16:1246–1252
16. Bråkenhielm E, Cao R, Cao Y (2001) Suppression of angiogenesis, tumor growth, and wound healing by resveratrol, a natural compound in red wine and grapes. FASEB J 15:1798–1800
17. Brown VA, Patel KR, Viskaduraki M et al (2010) Repeat dose study of the cancer chemopreventive agent resveratrol in healthy volunteers: safety, pharmacokinetics, and effect on the insulin-like growth factor axis. Cancer Res 70:9003–9011
18. Calabrese EJ, Mattson MP, Calabrese V (2010) Resveratrol commonly displays hormesis: occurrence and biomedical significance. Hum Exp Toxicol 29:980–1015
19. Cao Y, Fu ZD, Wang F et al (2005) Anti-angiogenic activity of resveratrol, a natural compound from medicinal plants. J Asian Nat Prod Res 7:205–213
20. Cao Z, Fang J, Xia C et al (2004) trans-3,4,5'-Trihydroxystilbene inhibits hypoxia-inducible factor 1alpha and vascular endothelial growth factor expression in human ovarian cancer cells. Clin Cancer Res 10:5253–5263
21. Chan JY, Phoo MS, Clement MV et al (2008) Resveratrol displays converse dose-related effects on 5-fluorouracil-evoked colon cancer cell apoptosis: the roles of caspase-6 and p53. Cancer Biol Ther 7:1305–1312
22. Chan WK, Delucchi AB (2000) Resveratrol, a red wine constituent, is a mechanism-based inactivator of cytochrome P450 3A4. Life Sci 67:3103–3012
23. Chen Q, Ganapathy S, Singh KP et al (2010) Resveratrol induces growth arrest and apoptosis through activation of FOXO transcription factors in prostate cancer cells. PLoS ONE 5:e15288
24. Chen ZH, Hurh YJ, Na HK et al (2004) Resveratrol inhibits TCDD-induced expression of CYP1A1 and CYP1B1 and catechol estrogen-mediated oxidative DNA damage in cultured human mammary epithelial cells. Carcinogenesis 25:2005–2013
25. Ciolino HP, Daschner PJ, Yeh GC (1998) Resveratrol inhibits transcription of CYP1A1 in vitro by preventing activation of the aryl hydrocarbon receptor. Cancer Res 58:5707–5712
26. Clément MV, Hirpara JL, Chawdhury SH et al (1998) Chemopreventive agent resveratrol, a natural product derived from grapes, triggers CD95 signaling-dependent apoptosis in human tumor cells. Blood 92:996–1002
27. Cucciolla V, Borriello A, Oliva A et al (2007) Resveratrol: from basic science to the clinic. Cell Cycle 6:2495–2510
28. Dai H, Kustigian L, Carney D et al (2010) SIRT1 activation by small molecules: kinetic and biophysical evidence for direct interaction of enzyme and activator. J Biol Chem 285:32695–32703

29. Della Ragione F, Cucciolla V, Borriello A et al (1998) Resveratrol arrests the cell division cycle at S/G2 phase transition. Biochem Biophys Res Commun 250:53–58
30. Della Ragione F, Cucciolla V, Criniti V et al (2003) p21Cip1 gene expression is modulated by Egr1: a novel regulatory mechanism involved in the resveratrol antiproliferative effect. J Biol Chem 278:23360–23368
31. El-Mowafy AM, White RE (1999) Resveratrol inhibits MAPK activity and nuclear translocation in coronary artery smooth muscle: reversal of endothelin-1 stimulatory effects. FEBS Lett 451:63–67
32. Elliott PJ, Walpole S, Morelli L et al (2009) Resveratrol/SRT501. Sirtuin SIRT1 activator, Treatment of type 2 diabetes. Drugs Fut 34:291–295
33. Estrov Z, Shishodia S, Faderl S et al (2003) Resveratrol blocks interleukin-1beta-induced activation of the nuclear transcription factor NF-kappaB, inhibits proliferation, causes S-phase arrest, and induces apoptosis of acute myeloid leukemia cells. Blood 102:987–995
34. Floreani M, Napoli E, Quintieri L et al (2003) Oral administration of trans-resveratrol to guinea pigs increases cardiac DT-diaphorase and catalase activities, and protects isolated atria from menadione toxicity. Life Sci 72:2741–2750
35. Fulda S, Debatin KM (2005) Resveratrol-mediated sensitisation to TRAIL-induced apoptosis depends on death receptor and mitochondrial signalling. Eur J Cancer 41:786–798
36. George J, Singh M, Srivastava AK et al (2011) Resveratrol and black tea polyphenol combination synergistically suppress mouse skin tumors growth by inhibition of activated MAPKs and p53. PLoS ONE 6:e23395
37. Guarente L (1999) Diverse and dynamic functions of the Sir silencing complex. Nat Genet 23:281–285
38. Haider UG, Roos TU, Kontaridis MI et al (2005) Resveratrol inhibits angiotensin II- and epidermal growth factor-mediated Akt activation: role of Gab1 and Shp2. Mol Pharmacol 68:41–48
39. Haider UG, Sorescu D, Griendling KK et al (2002) Resveratrol suppresses angiotensin II-induced Akt/protein kinase B and p70 S6 kinase phosphorylation and subsequent hypertrophy in rat aortic smooth muscle cells. Mol Pharmacol 62:772–777
40. Hanahan D, Weinberg RA (2011) Hallmarks of cancer: the next generation. Cell 144:646–674
41. Hayashibara T, Yamada Y, Nakayama S et al (2002) Resveratrol induces downregulation in survivin expression and apoptosis in HTLV-1-infected cell lines: a prospective agent for adult T cell leukemia chemotherapy. Nutr Cancer 44:193–201
42. Holmes-McNary M, Baldwin AS Jr (2000) Chemopreventive properties of trans-resveratrol are associated with inhibition of activation of the IkappaB kinase. Cancer Res 60:3477–3483
43. Howells LM, Berry DP, Elliott PJ et al (2011) Phase I randomised double-blind pilot study of micronized resveratrol (SRT501) in patients with hepatic metastases—safety, pharmacokinetics and pharmacodynamics. Cancer Prev Res (Phila) 4:1419–1425
44. Howitz KT, Bitterman KJ, Cohen HY et al (2003) Small molecule activators of sirtuins extend Saccharomyces cerevisiae lifespan. Nature 425:191–196
45. Jang M, Cai L, Udeani GO et al (1997) Cancer chemopreventive activity of resveratrol, a natural product derived from grapes. Science 275:218–222
46. Kaminski J, Lançon A, Aires V et al (2012) Resveratrol initiates differentiation of mouse skeletal muscle-derived C2C12 myoblasts. Biochem Pharmacol pii S0006–2952(12):00579–5. doi:10.1016/j.bcp.2012.08.023
47. Ko YC, Chang CL, Chien HF et al (2011) Resveratrol enhances the expression of death receptor Fas/CD95 and induces differentiation and apoptosis in anaplastic large-cell lymphoma cells. Cancer Lett 309:46–53
48. Kundu JK, Shin YK, Kim SH et al (2006) Resveratrol inhibits phorbol ester-induced expression of COX-2 and activation of NF-kappaB in mouse skin by blocking IkappaB kinase activity. Carcinogenesis 27:1465–1474

49. la Porte C, Voduc N, Zhang G et al (2010) Steady-State pharmacokinetics and tolerability of trans-resveratrol 2000 mg twice daily with food, quercetin and alcohol (ethanol) in healthy human subjects. Clin Pharmacokinet 49:449–454
50. Lagouge M, Argmann C, Gerhart-Hines Z et al (2006) Resveratrol improves mitochondrial function and protects against metabolic disease by activating SIRT1 and PGC-1alpha. Cell 127:1109–1122
51. Lee JE, Safe S (2001) Involvement of a post-transcriptional mechanism in the inhibition of CYP1A1 expression by resveratrol in breast cancer cells. Biochem Pharmacol 62:1113–1124
52. Lee MH, Choi BY, Kundu JK et al (2009) Resveratrol suppresses growth of human ovarian cancer cells in culture and in a murine xenograft model: eukaryotic elongation factor 1A2 as a potential target. Cancer Res 69:7449–7458
53. Leong CW, Wong CH, Lao SC et al (2007) Effect of resveratrol on proliferation and differentiation of embryonic cardiomyoblasts. Biochem Biophys Res Commun 360:173–180
54. Li F, Gong Q, Dong H et al (2012) Resveratrol, a neuroprotective supplement for Alzheimer's disease. Curr Pharm Des 18:27–33
55. Lin HY, Tang HY, Keating T et al (2008) Resveratrol is pro-apoptotic and thyroid hormone is anti-apoptotic in glioma cells: both actions are integrin and ERK mediated. Carcinogenesis 29:62–69
56. Mader I, Wabitsch M, Debatin KM et al (2010) Identification of a novel proapoptotic function of resveratrol in fat cells: SIRT1—independent sensitization to TRAIL-induced apoptosis. FASEB J 24:1997–2009
57. Manna SK, Mukhopadhyay A, Aggarwal BB (2000) Resveratrol suppresses TNF-induced activation of nuclear transcription factors NF-kappa B, activator protein-1, and apoptosis: potential role of reactive oxygen intermediates and lipid peroxidation. J Immunol 164:6509–6519
58. Michan S, Sinclair D (2007) Sirtuins in mammals: insights into their biological function. Biochem J 404:1–13
59. Miller RA, Harrison DE, Astle CM et al (2011) Rapamycin, but not resveratrol or simvastatin, extends life span of genetically heterogeneous mice. J Gerontol A Biol Sci Med Sci 66:191–201
60. Mohan J, Gandhi AA, Bhavya BC et al (2006) Caspase-2 triggers Bax-Bak-dependent and -independent cell death in colon cancer cells treated with resveratrol. J Biol Chem 281:17599–17611
61. Morselli E, Mariño G, Bennetzen MV et al (2011) Spermidine and resveratrol induce autophagy by distinct pathways converging on the acetylproteome. J Cell Biol 192:615–629
62. Nguyen AV, Martinez M, Stamos MJ et al (2009) Results of a phase I pilot clinical trial examining the effect of plant-derived resveratrol and grape powder on Wnt pathway target gene expression in colonic mucosa and colon cancer. Canc Manag Res 1:25–37
63. Opipari AW Jr, Tan L, Boitano AE et al (2004) Resveratrol-induced autophagocytosis in ovarian cancer cells. Cancer Res 64:696–703
64. Park JW, Choi YJ, Suh SI et al (2001) Bcl-2 overexpression attenuates resveratrol-induced apoptosis in U937 cells by inhibition of caspase-3 activity. Carcinogenesis 22:1633–1639
65. Park SJ, Ahmad F, Philp A et al (2012) Resveratrol ameliorates aging-related metabolic phenotypes by inhibiting cAMP Phosphodiesterases. Cell 148:421–433
66. Patel KR, Brown VA, Jones DJ et al (2010) Clinical pharmacology of resveratrol and its metabolites in colorectal cancer patients. Cancer Res 70:7392–7399
67. Pearson KJ, Baur JA, Lewis KN et al (2008) Resveratrol delays age-related deterioration and mimics transcriptional aspects of dietary restriction without extending life span. Cell Metab 8:157–168
68. Pöhland T, Wagner S, Mahyar-Roemer M et al (2006) Bax and Bak are the critical complementary effectors of colorectal cancer cell apoptosis by chemopreventive resveratrol. Anticancer Drugs 17:471–478

69. Pozo-Guisado E, Lorenzo-Benayas MJ, Fernández-Salguero PM (2004) Resveratrol modulates the phosphoinositide 3-kinase pathway through an estrogen receptor alpha-dependent mechanism: relevance in cell proliferation. Int J Cancer 109:167–173
70. Pozo-Guisado E, Merino JM, Mulero-Navarro S et al (2005) Resveratrol-induced apoptosis in MCF-7 human breast cancer cells involves a caspase-independent mechanism with downregulation of Bcl-2 and NF-kappaB. Int J Cancer 115:74–84
71. Price NL, Gomes AP, Ling AJ et al (2012) SIRT1 is required for AMPK activation and the beneficial effects of resveratrol on mitochondrial function. Cell Metab 15:675–690
72. Puissant A, Auberger P (2010) AMPK- and p62/SQSTM1-dependent autophagy mediate Resveratrol-induced cell death in chronic myelogenous leukemia. Autophagy 6:655–657
73. Puissant A, Robert G, Fenouille N et al (2010) Resveratrol promotes autophagic cell death in chronic myelogenous leukemia cells via JNK-mediated p62/SQSTM1 expression and AMPK activation. Cancer Res 70:1042–1052
74. Reybier K, Perio P, Ferry G et al (2011) Insights into the redox cycle of human quinone reductase 2. Free Radic Res 45:1184–1195
75. Roy P, Kalra N, Prasad S et al (2009) Chemopreventive potential of resveratrol in mouse skin tumors through regulation of mitochondrial and PI3 K/AKT signaling pathways. Pharm Res 26:211–217
76. Scarlatti F, Maffei R, Beau I et al (2008) Role of non-canonical Beclin 1-independent autophagy in cell death induced by resveratrol in human breast cancer cells. Cell Death Differ 8:1318–1329
77. Shankar S, Chen Q, Siddiqui I et al (2007) Sensitization of TRAIL-resistant LNCaP cells by resveratrol (3, 49, 5 tri-hydroxystilbene): molecular mechanisms and therapeutic potential. J Mol Signal 2:7
78. Shankar S, Siddiqui I, Srivastava RK (2007) Molecular mechanisms of resveratrol (3,4,5-trihydroxy-trans-stilbene) and its interaction with TNF-related apoptosis inducing ligand (TRAIL) in androgen-insensitive prostate cancer cells. Mol Cell Biochem 304:273–285
79. She QB, Huang C, Zhang Y et al (2002) Involvement of c-jun NH(2)-terminal kinases in resveratrol-induced activation of p53 and apoptosis. Mol Carcinog 33:244–250
80. Shih A, Zhang S, Cao HJ et al (2004) Inhibitory effect of epidermal growth factor on resveratrol-induced apoptosis in prostate cancer cells is mediated by protein kinase C-alpha. Mol Cancer Ther 3:1355–1364
81. Smith TG, Robbins PA, Ratcliffe PJ (2008) The human side of hypoxia-inducible factor. Br J Haematol 141:325–334
82. Soleas GJ, Yan J, Goldberg DM (2001) Measurement of trans-resveratrol, (1)-catechin, and quercetin in rat and human blood and urine by gas chromatography with mass selective detection. Methods Enzymol 335:130–145
83. Soleas GJ, Yan J, Goldberg DM (2001) Ultrasensitive assay for three polyphenols (catechin, quercetin and resveratrol) and their conjugates in biological fluids utilizing gas chromatography with mass selective detection. J Chromatogr B Biomed Sci Appl 757:161–172
84. Spanier G, Xu H, Xia N et al (2009) Resveratrol reduces endothelial oxidative stress by modulating the gene expression of superoxide dismutase 1 (SOD1), glutathione peroxidase 1 (GPx1) and NADPH oxidase subunit (Nox4). J Physiol Pharmacol 60:111–116
85. Srivastava RK, Unterman TG, Shankar S (2010) FOXO transcription factors and VEGF neutralizing antibody enhance antiangiogenic effects of resveratrol. Mol Cell Biochem 337:201–212
86. Stewart JR, Christman KL, O'Brian CA (2000) Effects of resveratrol on the autophosphorylation of phorbol ester-responsive protein kinases: inhibition of protein kinase D but not protein kinase C isozyme autophosphorylation. Biochem Pharmacol 60:1355–1359

87. Subbaramaiah K, Chung WJ, Michaluart P et al (1998) Resveratrol inhibits cyclooxygenase-2 transcription and activity in phorbol ester-treated human mammary epithelial cells. J Biol Chem 273:21875–21882
88. Szewczuk LM, Forti L, Stivala LA et al (2004) Resveratrol is a peroxidase-mediated inactivator of COX-1 but not COX-2: a mechanistic approach to the design of COX-1 selective agents. J Biol Chem 279:22727–22737
89. Takaoka M (1939) Resveratrol, a new phenolic compound, from Veratrum grandiflorum. Nippon Kagaku Kaishi 60:1090–1100
90. Tang HY, Shih A, Cao HJ et al (2006) Resveratrol-induced cyclooxygenase-2 facilitates p53-dependent apoptosis in human breast cancer cells. Mol Cancer Ther 5:2034–2042
91. Timmers S, Konings E, Bilet L et al (2011) Calorie restriction-like effects of 30 days of resveratrol supplementation on energy metabolism and metabolic profile in obese humans. Cell Metab 14:612–622
92. Tinhofer I, Bernhard D, Senfter M et al (2001) Resveratrol, a tumor-suppressive compound from grapes, induces apoptosis via a novel mitochondrial pathway controlled by Bcl-2. FASEB J 15:1613–1615
93. Tomé-Carneiro J, Gonzálvez M, Larrosa M et al (2012) One-year consumption of a grape nutraceutical containing resveratrol improves the inflammatory and fibrinolytic status of patients in primary prevention of cardiovascular disease. Am J Cardiol 110:356–363
94. Trincheri NF, Nicotra G, Follo C et al (2007) Resveratrol induces cell death in colorectal cancer cells by a novel pathway involving lysosomal cathepsin D. Carcinogenesis 28:922–931
95. Ulrich S, Huwiler A, Loitsch S et al (2007) De novo ceramide biosynthesis is associated with resveratrol-induced inhibition of ornithine decarboxylase activity. Biochem Pharmacol 74:281–289
96. Vang O, Ahmad N, Baile CA et al (2011) What is new for an old molecule? Systematic review and recommendations on the use of resveratrol. PLoS ONE 6:e19881
97. Walle T, Hsieh F, DeLegge MH et al (2004) High absorption but very low bioavailability of oral resveratrol in humans. Drug Metab Dispos 32:1377–1382
98. Wang Y, Romigh T, He X et al (2010) Resveratrol regulates the PTEN/AKT pathway through androgen receptor dependent and -independent mechanisms in prostate cancer cell lines. Hum Mol Genet 19:4319–4329
99. Wong RH, Howe PR, Buckley JD et al (2011) Acute resveratrol supplementation improves flow-mediated dilatation in overweight/obese individuals with mildly elevated blood pressure. Nutr Metab Cardiovasc Dis 21:851–856
100. Woo JH, Lim JH, Kim YH et al (2004) Resveratrol inhibits phorbol myristate acetate-induced matrix metalloproteinase-9 expression by inhibiting JNK and PKC delta signal transduction. Oncogene 23:1845–1853
101. Wu H, Liang X, Fang Y et al (2008) Resveratrol inhibits hypoxia-induced metastasis potential enhancement by restricting hypoxia-induced factor-1 alpha expression in colon carcinoma cells. Biomed Pharmacother 62:613–621
102. Wu Y, Li X, Zhu JX et al (2011) Resveratrol-activated AMPK/SIRT1/autophagy in cellular models of Parkinson's disease. Neurosignals 19:163–174
103. Yamamoto H, Schoonjans K, Auwerx J (2007) Sirtuin functions in health and disease. Mol Endocrinol 21:1745–1755
104. Yu LJ, Wu ML, Li H et al (2008) Inhibition of STAT3 expression and signaling in resveratrol-differentiated medulloblastoma cells. Neoplasia 10:736–744
105. Yu R, Hebbar V, Kim DW et al (2001) Resveratrol inhibits phorbol ester and UV-induced activator protein 1 activation by interfering with mitogen-activated protein kinase pathways. Mol Pharmacol 60:217–224
106. Zamora-Ros R, Urpi-Sarda M, Lamuela-Raventós RM et al (2012) High urinary levels of resveratrol metabolites are associated with a reduction in the prevalence of cardiovascular risk factors in high-risk patients. Pharmacol Res 65:615–620

107. Zhang F, Liu J, Shi JS (2010) Anti-inflammatory activities of resveratrol in the brain: role of resveratrol in microglial activation. Eur J Pharmacol 636:1–7
108. Zhang S, Cao HJ, Davis FB et al (2004) Oestrogen inhibits resveratrol-induced post-translational modification of p53 and apoptosis in breast cancer cells. Br J Cancer 91:178–185
109. Zhao K, Harshaw R, Chai X et al (2004) Structural basis for nicotinamide cleavage and ADP-ribose transfer by NAD + -dependent Sir2 histone/protein deacetylases. Proc Natl Acad Sci USA 101:8563–8568
110. Zykova TA, Zhu F, Zhai X et al (2008) Resveratrol directly targets COX-2 to inhibit carcinogenesis. Mol Carcinog 47:797–805

Kuersetin: Kansere Karşı Pleiotropik Kinaz İnhibitörü

Gian Luigi Russo, Maria Russo, Carmela Spagnuolo, Idolo Tedesco, Stefania Bilotto, Roberta Iannitti ve Rosanna Palumbo

Özet

Kanser riskinin anlamlı olarak azaltılması için meyve ve sebze tüketiminin artırılması kolay bir strateji olabilir. Çoğunlukla epidemiyolojik verilerden kaynaklanan bu gözlemden yola çıkan yeni kemoprevensiyon alanı kansere karşı primer ve sekonder korumayı amaçlamaktadır. Kemoprevensiyon tümörijenezi erken evrelerinde durdurabilen, geriye çevirebilen veya geciktirebilen doğal veya sentetik bileşiklerin kullanılması olarak tanımlanmaktadır. Çok sayıda fitokimyasalın kanser hücrelerinin proliferasyonunu regüle eden birçok önemli faktörü eş zamanlı olarak inhibe veya modüle etme potansiyelleri vardır. Kuersetin potansiyel kemopreventif özelliği olan bir flavonoiddir. Multipl intraselüler hedefleri olan fonksiyonel pleiotropik bir moleküldür. Kanser hücrelerinde genel olarak değişmiş olan farklı hücre sinyal proseslerini (normal hücreler üzerinde minimum toksik etki ile) etkiler. Multipl yolakların aynı anda hedeflenmesi malign hücrelerin öldürülmesine ve ilaç rezistansının başlamasının geciktirilmesine yardımcı olabilir. Kuersetinin tetikleyebildiği farklı substratlar mevcuttur. Biz molekülün kanser hücrelerinde denetimsiz hücre büyümesinde rol oynayan protein kinazları inhibe edebilme yeteneğini inceleyeceğiz.

G. L. Russo (✉) · M. Russo · C. Spagnuolo · I. Tedesco · S. Bilotto · R. Iannitti
Istituto Scienzedell'Alimentazione, Consiglio Nazionale delle Ricerche,
83100, Avellino, Italy
e-mail: glrusso@isa.cnr.it

R. Iannitti · R. Palumbo
Istituto Biostrutture e Bioimmagini, Consiglio Nazionale delle Ricerche, 83100, Naples,
Italy

V. Zappia et al. (eds.), *Advances in Nutrition and Cancer,*
Cancer Treatment and Research 159, DOI: 10.1007/978-3-642-38007-5_11,
© Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2014

Anahtar Kelimeler

Kuersetin · Kinaz inhibitörü · Antioksidanlar · Kemoprevensiyon · Flavonoidler · Polifenoller

Kısaltmalar

Akt/PKB	v-akt mürin timoma viral onkogen homoloğu 1/protein kinaz B
PI_3K	Fosfatidilinositol-4,5-bisfosfonat 3-kinaz
Hck	Hematopoetik hücre kinaz
GSK-3β	Glikojen sentaz kinaz-3β
Nrf2	Nükleer faktör (eritroid-kaynaklı 2)-benzeri 2
NF-κB	B hücrelerinde nükleer faktör kappa hafif polipeptid gen güçlendirici
HO-1	Heme oksijenaz-1
ROS	Reaktif oksijen türleri
CK2	Kazein kinaz 2
Raf-1	V-raf-1 mürin lösemi viral onkogen homolog 1
ERK1/2	Ekstraselüler sinyal-regüle kinaz 1/2
MEK-1 veya MAP2K1	Mitojen-aktive protein kinaz kinaz 1
PTEN	Kromozomda tespit edilen fosfataz ve tensin homoloğu 10
IKKα/β	B hücrelerinde kappa hafif polipeptid gen güçlendirici inhibitörü, kinaz α/β
IκBα	B hücre inhibitöründe nükleer faktör kappa hafif polipeptid gen güçlendirici, α/β
S6K1	Ribozomal protein S6 kinaz
$p90^{RSK}$	90kDA polipeptid
AMPK	AMP-aktive protein kinaz

İçindekiler

1 Giriş 187
2 Kuersetinin Antioksidan Özellikleri 187
3 Kuersetinin Biyoyararlanımı ve Metabolizması 189
4 Kuersetinin Güvenliği 192
5 Kuersetin ve Kanser 193
5.1 Kuersetinin Protein Kinaz İnhibitör Etkisi 194
6 Sonuçlar: Pleiotropi ile Sinerji Karşılaştırması 196
Referanslar 200

1 Giriş

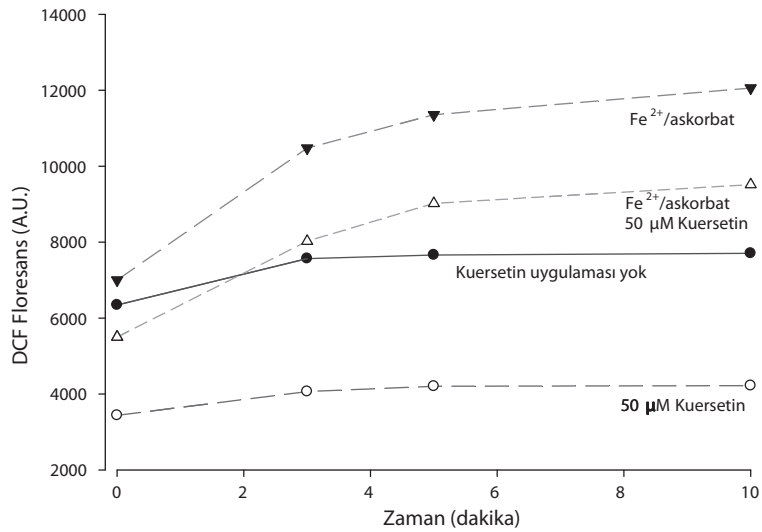
Yüzlerce bilimsel çalışmada insan diyetinde mevcut olan non-nütrisyonel bileşiklerin kanser gibi dejeneratif hastalıkları önleyebildikleri gösterilmiştir [82, 98, 100]. Genel olarak fitokimyasallar olarak bilinen bu heterojen molekül sınıfı, flavonlar, kalkonlar, flavonollar, flavononlar, flavan-3-ollar, izoflavonlar, antosinidinler, flavanonollar alt gruplarına ayrılan 6000'den fazla flavonoid sınıfına ait polifenolu içermektedir [38]. Bunlar, bitkisel kaynaklı gıdalar olan meyve ve sebzeler ile çay, bira, meyve suları gibi içeceklerde ve birçok gıda takviyesinde veya bitkisel kaynaklı tedavilerin içinde bulunurlar. Bitkisel dokulardaki hücre metabolizmasında rol oynayan enzimlerin regüle edilmesinde ve yabancı ajanlara (radyasyon, virüsler, parazitler) karşı kullanılan defans mekanizmalarında çok çeşitli görevleri olan fitokimyasallar hayvan hücrelerinde de pleiotropik etkilerle ilişkilidir.

Bilim adamlarının fitokimyasallara ilgilerinin artması, memeli hücrelerindeki biyolojik hedeflerinin, hücre döngüsü kontrolü, apoptozdan sakınma, anjiogenez ve metastazlar gibi enflamatuar prosesler ve onkojenik transformasyonlar olduğunun gösterilmesi ile başlamıştır. Bu sonuçlar çok sayıda epidemiyolojik kanıtla desteklenen ve fitokimyasalların günlük tüketimlerinin çeşitli kanser tiplerini azaltabileceğini gösteren preklinik çalışmalardan elde edilmiştir [18, 86, 98, 100]. Bu konu tespit edilen pozitif ilişkiye rağmen hala tartışma ve eleştirilere hedef olmaktadır. Bu durum meyve ve sebzelerden zengin bir diyetin dejeneratif hastalıklardan koruma mekanizmaları ile ilgili açıklamaların yetersiz kalmaları ve fitokimyasaların etki mekanizmalarının tanımlanabilmesini sağlayacak hücre ve hayvan modellerinde yapılması gereken daha ileri biyokimyasal ve genetik çalışmalara ihtiyaç olmasından kaynaklanmaktadır [5, 16].

Biz son dekad içindeki konsantrasyonumuzu çok çeşitli meyve, sebze ve içeceklerde bulunabilen (örn. çay ve şarapta bulunan kuersetin diyet alışkanlıklarına bağlı olarak günde 10-100 mg tüketilir) majör bir diyet flavonoid kaynağı olan kuersetinin (3, 30, 40,5, 7-pentahidroksiflavon) aktivitesine yönlendirmiş bulunuyoruz [4, 43]. Molekülün antioksidan, antienflamatuar, antianjiogenik, antiproliferatif ve proapoptotik özelliklerini göstermeyi amaçlayan farklı çalışmalar yapılmıştır [55, 85]. Bu bölümde molekülün denetimsiz olarak büyüyen kanser hücrelerindeki protein kinazları inhibe edebilme yeteneği üzerine odaklanacağız.

2 Kuersetinin Antioksidan Özellikleri

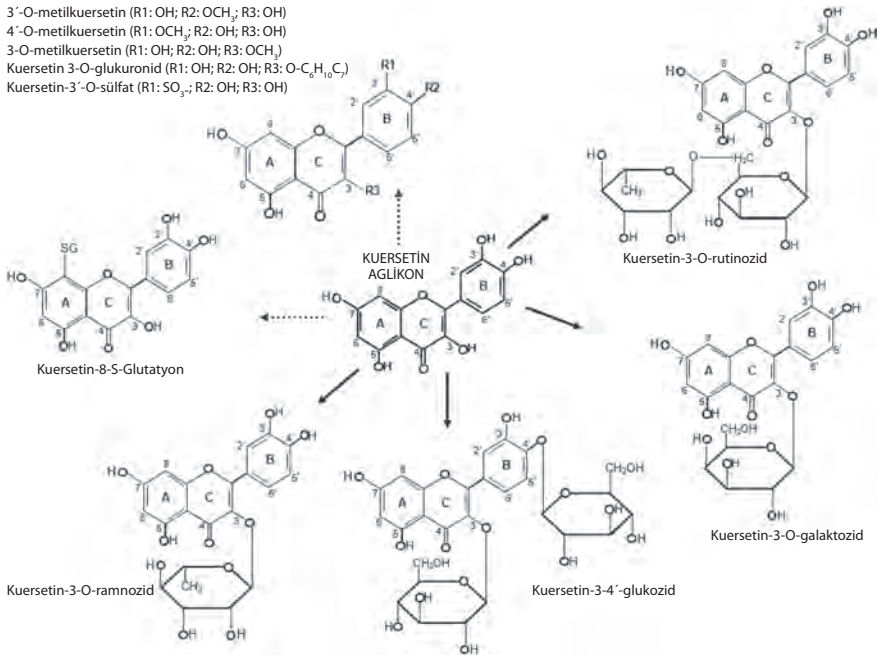
Çeşitli in vitro [10] ve in vivo [79] çalışmalarda da gösterildiği üzere polifenoller arasındaki en güçlü antioksidanlardan bir tanesi kuersetindir. Flavonoidler genel olarak reaktif oksijen türlerinin temizlenmesi ile oluşan radikalleri stabilize edebildikleri için güçlü antioksidanlardır. Bu özelliklerini flavonoidlerin aroksil radikal türlerinde bulunan multipl mezomerik yapıların geniş kapsamlı elektron delokalizasyonuna borçludurlar [10]. Kuersetin ve kaemferol yüksek oranda etkili radikal temizleyicilerdir. Ancak sadece ku-



Şekil 1 Kuersetinin U2OS hücre dizisindeki antioksidan etkinliği DMSO (%0.1, vehikül) veya %10 FBS'li DMEM ortamında 50 μg kuersetin uygulanan U2OS hücrelerinde bazal ve Fe^{2+} askorbat ile indüklenen reaktif oksijen türlerinin (ROS) üretiminin zaman içindeki değişimi. 0'dan 10. dakikaya kadar olan ROS üretimi oksidasyona duyarlı 5,6-karboksi-2′7′-diklorofluoresein diasetat DCHF-DA (10 μM) probu kullanılarak DCF floresan olarak ölçülmüştür [88].

ersetin aroksil radikal bu flavonolu potent bir antioksidan yapmaya yetecek kadar yavaş bozulmaktadır [10]. Kuersetin farklı hücre dizilerindeki intraselüler radikal oksijen türlerini etkili bir biçimde temizleyebilme özelliğine sahiptir. Kuersetin şekil 1'de bahsi geçen örnekte oksidatif etkinin olup olmamasından bağımsız olarak ve hücre sağkalımına etki yapmaksızın (burada gösterilmemiştir) radikal oksijen türlerini temizleyebilme özelliğini korumuştur. Ancak diğer bölümlerde de tartışıldığı üzere molekülün biyolojik özellikleri ile antioksidan kapasitesi her zaman örtüşmemektedir [82]. Bu nedenle kuersetinin sadece antioksidan etkisine dayanan antikanser ve proapoptotik fonksiyonlarının dikkatle yorumlanması gerekmektedir. Antioksidan kapasitesi ile biyolojik etkileri arasındaki fonksiyonel linkin varlığının önemli bir göstergesi kuersetine yapısal ve fonksiyonel özellikleri benzer bileşiklerin paralel kullanımında (örn. mirisetin ve/veya (+) kateşin) kuersetin gibi radikal oksijen türlerini azalttıkları ancak aynı antikanser etkilere sahip olmadıklarının bulunmuş olması olabilir [82, 83].

Kuersetinin antioksidan potansiyelinin diğer polifenoller ile karşılaştırılması bir paradoksa neden olmaktadır: Molekülün radikal oksijen türlerini temizleme aktivitesi, hızlıca tiyollere karşı yüksek reaktivitesi olan ve protein fonksiyonlarının bozulmasına yol açabilen oksidatif ürünlere dönüşmesine neden olmaktadır. Bu nedenle kuersetinin sahip olduğu koruma gücünün net sonucu, toksik ürünlerinin neden olduğu hasar lehine paradoksik olarak bozulabilir. Kuersetin akciğer hücrelerin-



Şekil 2 İnsanda kuersetinin ve en önemli glikozidlerinin ve metabolitlerinin yapısı.

deki H_20_2 ile indüklenen DNA hasarına karşı etkili koruma sağlamaktadır. Ancak bu pozitif etki GSH düzeyinde azalma, LDH sızıntısında artma ve sistosolik içermeyen kalsiyum konsantrasyonları nedeniyle dengelenmektedir [9]. İlginç olan bir başka nokta da kuersetinin in vivo ortamda pratik olarak ulaşılması imkansız olan 100 μM konsantrasyonunda kullanımının birçok hücre dizisinde toksik etki göstermesidir. Aynı grup molekülün antioksidan olarak kullanımında kuersetin-kuinon (QQ) türlerinin oluştuğu da gösterilmiştir. QQ diğer semikuinon radikallere ve kuinonlara benzer şekilde akril protein tiyollerin oluşumuna yol açtığı için toksiktir. QQ'ya karşı korunma uygun konsantrasyonlarda bulunduğunda QQ'yu hızlıca tecrit eden GSH ile sağlanabilir [8]. Ancak QQ türlerinin potansiyel toksik etkileri henüz in vivo ortamda ispatlanmamıştır.

3 Kuersetinin Biyoyararlanımı ve Metabolizması

Kuersetinin in vivo antioksidan özellikleri absorpsiyon, metabolizma ve biyoyararlanımından etkilenir. Kuersetin gıdalarda farklı şekilde glikolize olmuş formlarda bulunur. Aglikon olarak bulunmaz (örn. şeker grupları yoktur; Şekil 2). Bu nedenle biyoyararlanımı çeşitli gıdalardaki glikozidlerin tipine bağlı olarak değişmektedir. Kuersetin absorpsiyondan sonra ince bağırsak, kolon, karaciğer ve böbrek gibi farklı organlarda metabolize olur. Molekül bu ortamda metil ve sulfat grupları ve glukuronik asit ile konjuge olarak

insanlardaki majör konjugatları oluşturur: 3O-metilkuersetin (izohamnetin), kuersetin-3-O-glukuronid, 3-O-metilkuersetin-3-O-glukronid, kuersetin-30-O-sulfat ve kuersetin glutatyon konjugat [42, 57, 104] (Şekil 2). Burada dikkate değer olan nokta farklı kuersetin glikozidlerinde bulunan şeker moleküllerinin antioksidan aktivitesini ciddi anlamda azaltabilmesidir. Bu nedenle gıdalarda hemen hiç bulunmayan aglikon genel olarak şeker molekülünün bağlandığı noktaya bağlı olarak glikozid formundan daha yüksek antioksidan etkiye sahiptir [68]. Ancak en azından sıçanlarda kuersetin uygulanmasından sonra alınan plazmanın bakır sulfat tarafından indüklenen lipid peroksidasyonuna daha dayanıklı olması, kuersetinin bazı konjuge metabolitlerinin plazma, metal iyon ile indüklenen lipid peroksidasyonuna maruz kaldığında efektif antioksidan etki gösterdiğinin güçlü bir göstergesidir [19]. Konjuge metabolitlerin antioksidan aktiviteleri in vitro ortamda da gözlenmiştir [79, 92]. Bunlardan bazıları tüm aglikona benzer şekilde ancak daha düşük seviyede proapoptotik fonksiyona sahiptir ([85] nolu referansta incelenmiştir). Kuersetinin absorpsiyonu insanlardaki kuersetin-3-rutinozidin muhtemelen yarısını fenil-C2-asitlerine metabolize eden bağırsak mikroflorasından da etkilenmektedir [75]. Örnek vermek gerekirse kuersetin-3-O-ramnoglukozid ve kuersetin-3-O-ramnozid insan enzimleri tarafından tanınmazlar. Bunlar farklı bakteri suşları tarafından kuersetine hidrolize edilirler [6, 90]. Ku-3-O-glukozidi metabolize edebilme gücüne sahip bakterilerin sayısının 10-109/g kuru kütle olduğu tahmin edilmektedir [91].

Diyetle alınan kuersetinin absorpsiyonunun ve metabolizmasının net sonucu olarak ulaşılan plazma konsantrasyonları nanomolar aralıktadır (<100 nM). Bu düzey takviye ile mikromolar konsantrasyonlara yükseltilebilir. Örnek olarak 1 g/gün kuersetin takviyesinin 28 gün boyunca kullanımı ile plazma konsantrasyonlarının 1.5 μM düzeyine yükselmesi verilebilir [15, 65]. Ancak serum total LDL düzeyleri, platelet agregasyonu, platelet tromboksan B2 üretimi, kan basıncı ve istirahat kalp atım sayısını da içeren trombojenik risk faktörleri üzerinde bir etki görülmemiştir [15]. Sağlıklı gönüllülerde yapılan daha güncel uluslararası bir çalışmada da benzer sonuçlar elde edilmiştir [26]. Bu bulgular, kuersetinin güçlü antioksidan etkisini tespit edildiği in vitro deneylerde ve hayvan çalışmalarında bulunan sonuçlar ile kontrast teşkil etmektedir [24, 29, 30, 64]. Bu da gıdalarda bulunan kuersetinin koruyucu etkilerinin molekülün sahip olduğu özelliklerin dışındaki faktörler ile kontrol edildiğini ya da yukarıda da bahsedildiği üzere kuersetinin antioksidan etkileri dışında farklı etkilere de sahip olabileceğini düşündürmektedir.

İki mükemmel analizde insanlarda kuersetin, kuersetin glikozidleri veya kuersetin ile zenginleştirilmiş gıda takviyeleri yapılan çalışmaların sonuçları incelenmiştir [65, 90]. 0.008-4 gr arası kuersetin alımı ile 0.14-7 μM maksimum plazma konsantrasyonları elde edilmiştir (Tablo 1). Basit bir şekilde izah etmek gerekirse, kızarmış soğanla birlikte verilen kuersetin takviyesi (64 mg aglikona eşit kuersetin glikozidleri) ile 0.8 μM tepe plazma konsantrasyonları elde edilir [46, 47]. Ayrıca 1500 mg günlük doz ile de 10 μM civarında konsantrasyonların elde edilebilir (molekülün in vitro ortamda görülen biyolojik etkilerinin ortaya çıkması için gereken konsantrasyon) [55]. Ancak Tablo 1'deki veriler maalesef bunun doğru olmadığını düşündürmektedir. Bireyler arasındaki farklılıklar sağlıklı gönüllülere uygulanan kuersetin takviyesi hakkındaki yayınlardaki tespit edilen sonuçların

Tablo 1 Kuersetin, kuersetin glikozidleri ve kuersetin içeren gıdaların insandaki biyoyararlanımları

Flavonol	Kaynak	Doz	Plazma konsantrasyonu (μM)	Referans
Kuersetin	Saf bileşik	4g	<0.33	[36]
Kuersetin	Saf bileşik	0.14 mg/kg (vücut ağırlığına göre)	0.15–0.42	[32]
Kuersetin	Saf bileşik	8–20–50mg	0.14–0.22–0.29	[27]
Kuersetin	Saf bileşik	50-100-150 mg günde iki kez	0.189–0.295–0.431	[26]
Kuersetin	Tam öğün	87 mg kuersetin eşdeğeri	0.37	[64]
Kuersetin	Soğan	186 mg kuersetin eşdeğeri	2.18	[3]
Kuersetin	Soğan	50 mg kuersetin eşdeğeri	0.83	[66]
Kuersetin	Soğan	64 mg kuersetin eşdeğeri	0.65	[48]
Kuersetin	Soğan	68 mg kuersetin eşdeğeri	0.74	[46,47]
Kuersetin	Soğan	100 mg kuersetin eşdeğeri	7.6	[33]
Kuersetin	Elma	107 mg kuersetin eşdeğeri	0.3	[46,47]
Kuersetin	Elma suyu	1.6 mg kuersetin eşdeğeri	0.14	[25]
Kuersetin	Karışık üzüm ve elma suyu	6.4mg	1.1	[108]
Kuersetin	Kara buğday çayı	200 mg kuersetin eşdeğeri	2.1	[33]
Kuersetin	Soğan, elma, karışık	100 mg kuersetin eşdeğeri	0.8–0.18–0.4	[57]
Kuersetin 3′ glukozid	Saf bileşik	156mg	5	[76]
Kuersetin 4′ glukozid	Saf bileşik	150mg	3.5	[45]
Kuersetin 4′ glukozid	Saf bileşik	160mg	4.5	[76]
Kuersetin 4′ glukozid	Saf bileşik	100 mg kuersetin eşdeğeri	7.0	[33]
Rutin	Saf bileşik	100 mg kuersetin eşdeğeri	0.3	[46,47]
Rutin	Saf bileşik	190mg	0.18	[45]
Rutin	Saf bileşik	500mg	0.13–0.73	[11]
Rutin	Saf bileşik	8-20-50 mg kuersetin eşdeğeri	6.5–7.4–7.5	[27]
Rutin	Saf bileşik	200 mg kuersetin eşdeğeri	1.1	[33]

[65,90] nolu referanslardan modifiye edilmiştir.

geniş bir aralığa yayılmış olmasının nedeni olabilir. Bu varyasyonlar kuersetin glikozidlerinin çeşitli gıdalardaki farklı biyoyararlanımlarından ve insan ve hayvan modellerindeki intestinal enzimlerdeki polimorfizmlerden kaynaklanıyor olabilir [65,90].

Kuersetin biyoyararlanımının artırılabilmesi amacıyla, nanopartikül alanındaki gelişmelerden yararlanarak hücre ve hayvan modellerindeki alımı artıran özgün stratejiler tanımlanmıştır. Nanotaşıyıcılar modern ilaçları, etkinlik, stabilite ve çözünürlüklerini artıracak şekilde modifiye ederken salınım düzeylerini de korumaktadır. Lipozomlara ve biyolojik olarak ayrışabilen polimerler kullanılarak geliştirilen nanoteknolojik ilaç salınım sistemleri, son yıllarda bilim adamlarının dikkatlerini giderek daha fazla çekmektedir. Kuersetinin sıçanlara solid lipid nanopartiküller halinde uygulanması ile kontrollere göre 5.71 kez artmış gastrointestinal absorpsiyon tespit edilmiştir [61]. Kuersetinin nanopartikül formunun etkinliğini "nanokemoprevensiyon" ve "nanokemoterapi" düzeyinde değerlendiren farklı yaklaşımlar son zamanlarda incelemelere konu olmuştur [59, 70, 85].

Sonuç olarak 150 mg/gün düzeyindeki düşük dozların plazma kuersetin konsantrasyonlarını anlamlı düzeyde artırdığı tespit edilmiştir. Çalışmalarda en sık kullanılan doz genel olarak ikiye bölünmüş 1000 mg/gün'dür [53, 104].

4 Kuersetinin Güvenliği

Son yıllarda kuersetinin güvenliği ile ilgili birkaç tane mükemmel inceleme yayınlanmıştır [42, 74]. Çalışmalar molekülün muhtemel in vivo toksisitesinin mevcut olmadığı veya belirsiz olduğu yönünde fikir birliği içindedir. Kuersetinin güvenli kullanımı ile ilgili uyarılar, molekülün Ames testinde çeşitli bakteri suşlarının in vitro mutajenezine pozitif reaksiyon verdiğinin gözlenmesi ile ortaya çıkmıştır. Ancak farklı hidroksil gruplarındaki metilasyon mutajenik aktiviteyi anlamlı olarak azaltmış veya sonlandırmıştır ([42] nolu referansta incelenmiştir). İn vivo genotoksisite çalışmalarında in vitro çalışmalarda gösterilen mutajenisite konfirme edilmemiştir. Fare veya sıçanlara oral uygulama ile mikroçekirdek formasyonu, kromozomal anormallikler, kardeş kromatid değişimleri veya DNA hasarında anlamlı değişimler oluşmamıştır ([42] nolu referansta incelenmiştir). Akut toksisite testlerinde intravenoz olarak 100-150 mg/kg uygulama yapılan tavşanlarda toksisite semptomlarına rastlanmamıştır [2]. Kuersetin ile yapılan subkronik ve kronik toksisite çalışmaları daha tartışmalıdır. Uluslararası Kanser Araştırma Ajansı (IARC) kuersetinin insanlarda karsinojenik olarak sınıflanamayacağı kararına 1999 yılında varmıştır [74]. Ulusal Toksikoloji Programı (NTP) tarafından gerçekleştirilen 2 yıl süreli çalışmada 2 g/kg ile beslenen erkek F344/N sıçanlarında (70 kg'lik bir insanın 728 gün boyunca 140 gr kuersetin kullanmasına eşdeğer) ciddi kronik nefropati, hiperplazi ve renal tübüler epitelde neoplazi tespit edilmiştir [73]. Bu çalışma metodolojik eleştirilere maruz kalmış ve bulgularının anlamlılık düzeyi netliğini kaybetmiştir [44, 51]. Aynı sıçan modelinde yapılan paralel çalışmalarda ise kuersetinin renal histopatolojik etkisi bulunamamıştır ([42] nolu referanstaki tablo 2). Ancak daha sonra yapılan bir çalışmada NTP çalışmasının orijinal bulguları konfirme edilmiştir [41]. 50 ila 500 mg/kg/gün dozlarında anlamlı advers olaylar bildirilmemiştir.

Çeşitli 2 evre (başlama-gelişme) karsinojenite çalışmalarında kuersetinin kimyasal yoldan indüklenen karsinojenez üzerindeki potansiyel etkisinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Geniş bir inceleme sonucunda elde edilen kanıtlar Harwood ve ark. tarafından yayınlanmıştır [42]. Kuersetinin kimyasal yoldan indüklenen organ spesifik karsinogenezi destekleyici etkisi ile ilgili verilerin kısmen istikrarlı olmadığı bildirilmiştir. Kuersetin birkaç vakada tümör büyütücü etki göstermiştir. Ancak çalışmaların büyük çoğunluğunda ise molekülün antikarsinogenik ve kemoprotektif etkileri desteklenmiştir.

Kuersetinin memeli üreme hücreleri ile ilişkili herhangi bir toksisitesinin bulunmamış olması molekülün üreme ve gelişme üzerinde herhangi bir negatif etkisi olma ihtimalini dışlamıştır. Bu bulgu çeşitli çalışmalar tarafından konfirme edilmiştir [42]. Molekülün erkek üreme ve doğurganlığında potansiyel antioksidan olarak kullanılıp kullanılamayacağı güncel bir tartışmanın konusudur. Yukarıda da tartışıldığı üzere, kuersetin testis bölgesinde kromozom aberasyonlarına yol açan serbest radikallerin temizlenmesinde gerçekten etkilidir. Diğer taraftan, kuersetin bu proses esnasında okside olmasını takip eden glutatyon tüketimi, sistosolik kalsiyum konsantrasyonlarında artış ve laktat dehidrogenaz (LDH) sızıntısı ile sperm mortalitesinde azalmaya yol açmaktadır. Güncel bir incelemede reproprodüktif disfonksiyonun oksidatif stres artışı ile birlikte mevcut olduğu vakalarda kuersetinin dikkatle kullanılması (kuersetinin hücresel toksisitesi uygun hücre ve hayvan modellerinde daha iyi araştırılana kadar) önerilmektedir [80].

İnsanlarda yapılan özgün faz I çalışması, 70 kg'lık bir bireyde yaklaşık 2.5 gr'a eşdeğer olan 1400 mg/m^2 dozunu (3 haftada veya haftada bir uygulanan intravenöz infüzyonlar) önermektedir [28]. 50 mg/kg'a kadar olan daha yüksek dozlarda (70 kg için yaklaşık 3.5 gr) nefrit veya obstrüktif üropati semptomları bulunmayan nefropati tespit edilmiştir. İnsanlarda advers olay görülen vakaların yokluğu, güvenlik sınırları içinde kalmak ve meyve, sebzeden zengin diyetlerdeki tüketim miktarı (200-500 mg/gün) ile benzer olmak kaydıyla kuersetinin gıdalara takviye olarak eklenmesini teşvik etmektedir.

5 Kuersetin ve Kanser

PubMed (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed) taraması ile kuersetinin kanser tedavisinde etkili olabileceğini destekleyen oldukça çok sayıda güncel incelemeye ulaşmak mümkündür. İncelemelerde kuersetinin belirli onkogenlerin aşağı regülasyonu veya tümör baskılayıcı genlerin yukarı regülasyonu ile kanser hücrelerinin eliminasyonunu sağlayan belirli yolakların güçlenmesini sağlayarak kanser hücrelerinin ölümünü veya tecridini indüklediği (normal hücrelerde böyle bir etki görülmez) tanımlanmaktadır. Güncel bir çalışmada kuersetinin farklı biyolojik aktivitelerinin (antioksidan, antienflamatuar, antiproliferatif, proapoptotik ve antianjiogenik) karsinogenezin başlangıcından, invazyon ve metastaza kadar olan tüm evrelerinde nasıl etki gösterdiğini inceledik. Molekülün Hanahan ve Weinberg tarafından yayınlanan "kanserin ana özellikleri" [39, 40] adlı önemli

çalışmada tanımlanan farklı hedefler ile etkileşime girebilme yeteneği, kanser hücrelerine karşı sinerjistik etki sağlayan hücre büyümesindeki pleiotropik etkisini desteklemektedir. Kuersetinin antiproliferatif ve büyüme baskılayıcı etkileri, senesans ve telomeraz inhibisyonunu indüklemesi, hücre ölümü ve otofajiyi indüklemesi, antianjiogenik aktivitesi, immun imhayı aktive etmesi ve kanserin diğer önemli özellikleri üzerindeki etkileri ile ilgili literatürler farklı çalışmalarda incelenmiştir [85]. Biz bu bölümde molekülün, kanser hücrelerinde regülasyonu ve ekspresyonu sıklıkla değişime uğrayan hücre büyüme kontrolünde rol oynayan çeşitli kinazları bağlama ve inhibe etme yeteneğin odaklanacağız.

5.1 Kuersetinin Protein Kinaz İnhibitör Etkisi

1980'lerin ilk yıllarında kuersetinin hem tirozin [17, 31] hem de serin-tireonin [14] kinazı inhibe ettiğinin gösterilmesinden sonra, molekül nonspesifik protein kinaz inhibitörü olarak kabul edilmektedir. Zaman içinde biriken veriler molekülün inhibe ettiği hedeflerin çoğunun hücre büyümesinde rol oynayan kinazlar olduğunu göstermiştir. Bu bulgu kuersetinin multipl hedefler üzerinde pleiotropik etki göstererek kanser hücrelerinin proliferasyonunu inhibe ettiği konseptini doğurmuştur. Ancak kuersetinin inhibe ettiği kinazlara direkt olarak bağlandığı, sadece büyüme supresyonundan sorumlu mekanizma üzerindeki neden-sonuç ilişkisi ile bağlantılı birkaç çalışma tarafından gösterilebilmiştir. Kuersetinin Akt/PKB'yi direkt olarak hedeflemeden, çeşitli kanser dizilerindeki proliferasyonu inhibe ederek ve apoptozu indükleyerek Akt/PKB'ye bağımlı yolakları etkilemesi örnek olarak verilebilir [34, 37, 54, 96, 97, 99]. PI_3K-Akt/ PKB yolaklarının memelilerdeki hücre sağkalım sinyallerinde kritik rol oynadığı ve çeşitli kanserlerde aktive oldukları gösterilmiştir [1, 21]. Bu bağlamda kuersetinin moleküler hedefi Akt/PKB'nin yukarı yönünde lokalize olmuştur. PI_3Kγ'nın X-ışını kristalografik yapısının kuersetine bağlı olması, molekülün 0.28 μM'lik bir Kd değeri ile ATP-bağlanma bölgesine bağlandığını göstermektedir. Bu değer mirisetinden hafifçe yüksektir (0.17 μM) [49, 105]. Bu yapısal bulgunun biyolojik verilerle konfirme edilmiş olması, kuersetinin PI3K'ye direkt bağlanmasının tüm PI3K-Akt yolak sinyallerini, AP-1 ve NF-κB aktivasyonunu da içerecek şekilde inhibe ettiğinin göstergesidir [37, 49, 50]. Kuersetin ilginç biçimde protein kinaz CK2'nin de direkt inhibitörüdür. Yüksek oranda korunan bir serin/treonin kinaz olan bu enzim araştırılan tüm ökaryotlara yaygın olarak dağılmış olup, hücre siklusu, proliferasyon, apoptoz ve transformasyonu kontrol eden çeşitli intraselüler yolaklarda rol oynamaktadır [67, 87]. Güncel bulgular CK2'nin antiapoptotik etkisinin kısmen, Akt/PKB yolağına direkt bağlanan CK2 alt üniteleri ile Akt/PKB'nin yukarı regüle olması ve/veya Akt/PKB'deki Ser129'u hiperfosforile etmesinden kaynaklandığını göstermektedir [22, 78]. Ayrıca CK2, Akt/PKB'yi fosforilasyon ve tümör baskılayıcı PTEN'in, PTEN C terminalinde bulunan Ser/Thr kalıntıları tarafından inaktivasyonu ile indirekt olarak aktive eder [103]. Kuersetin tarafından inhibe edilen doğal ve rekombine CK2'nin IC_{50} aralığı 0.50 ila 1 μM arasındadır [60, 61, 63, 89]. İki bağımsız kinaz olan ve Akt/PKB aracılığı ile yönlendirilen proliferatif sinyal ile birleşen CK2 ve PI3K'nın, kuersetin tarafından molekülün büyüme kontrolündeki pleiotropik aktivitesini destekler biçimde inhibe edilmesi de dikkat çekicidir.

Yapısal çalışmalarda kuersetinin Raf-1 ve MEK-1'e direkt olarak bağlanabildiği gösterilmiştir. MEK-1 kinaz aktivitesini Raf-1'e göre daha güçlü inhibe eder [56, 58]. Kuersetinin MEK-1'in ATP-bağlanma bölgesine bitişik farklı bir cebe bağlandığı düşünülmektedir [49]. Bu etkileşim TPA ile indüklenen ERK ve $p90^{RSK}$ fosforilasyonunun inhibisyonuna ve AP-1 ve NF-κB aktivasyonuna yol açar. Kuersetinin iyi bilinen farmakolojik MEK-1 inhibitörü olan PD098059 göre daha güçlü inhibitör etki göstermesi ilginçtir. Resveratrol ne MEK-1 ne de Raf-1 kinaz aktivitesini etkilemez [49, 56, 58].

Kuersetin Hck tirozin kinazın yüksek kaliteli kırılma spektrumlarının elde edilmesinde kullanılmaktadır. Bu enzim büyük Src tirozin kinaz ailesine aittir. Bu nonreseptör tirozin kinazlar tümör hücre proliferasyonu, sağkalım ve metastazında rol oynamaktadırlar [109]. Src ailesinin hücresel ekspresyon, lokalizasyon ve fonksiyonlarında farklılıklar olan dokuz üyesi vardır. Hck stimüle olmamış B hücre reseptörüne bağlanır. Miyeloid lösemi hücre dizilerindeki preklinik çalışmalarda BCR-ABL ile etkileşimi transformasyon sinyali için önemli bulunmuştur [62]. Hem BCR-ABL hem de Src ailesinin kinazları, imatinibe dirençli veya imatinibi tolere edemeyen kronik myeloid löseminin tedavisinde onaylı tek ilaç olan dasatinib tarafından hedeflenirler [56, 58]. Kuersetin Hck aktive bölgesine bağlanır [93]. Ancak bu bağlantının biyolojik sonuçları bilinmemektedir.

IKKβ ve IKKβb NF-κB aktivasyonunda rol oynayan iki kinazdır. Proliferatif stimülasyonu takiben N-terminal bölgesindeki serin kalıntılarında bulunan IκB proteinlerini (IκBα ve IκBβ) fosforillerler. Fosforile IκBα ve IκBβ devamında NF-κB'nin salınımı ile ubikutin eklenerek degrade olurlar. NF-κB daha sonra çekirdeğe transloke olarak hedef genlerin transkripsiyonlarını regüle eder [23]. NF-κB kanser gelişiminde rol oynadığı için IKKα ve IKKβ gibi pozitif regülatörlerinin inhibisyonu antikanser aktiviteye yol açabilir. Kuersetinin TNF ile indüklenen NF-κB aktivasyonunu baskıladığı bildirilmiştir; ancak sinyal kaskadındaki moleküler hedefi tanımlanamamıştır [71]. Kuersetinin IKKα ve IKKβ'yi sırasıyla 11 ve 4 μM'lik belirgin IC_{50} değerleri ile inhibe ettiği daha sonra bildirilmiştir [77]. Kuersetinin ATP'nin yarışmali inhibitörü gibi davrandığı kesindir. Ancak molekülün, hem IKKα hem de IKKβ'nin Vmax değerlerini anlamlı olarak azaltıp, belirgin K_m'yi de azaltması karma bir mekanizmanın varlığına işarettir. Aslında IKKα ve IKKβ'nin kuersetin tarafından inhibe edilmesi IκBα substratının miktarının artması ile korunur. Bu durum kuersetinin bağlanma yerlerinin hem ATP hem de IκBα bağlanma bölgeleri ile çakışabileceğini düşündürmektedir [77].

Daha yakın zamanda, kuersetinin ve luteolin ve apigenin gibi flavonoidlerin GSK-3β'yi inhibe ettiği bildirilmiştir. Metabolizma, hücre siklusu, gen ekspresyonu, gelişim, onkojenez, nöroproteksiyon gibi farklı fizyolojik yolaklarda önemli rol oynayan bu enzim multifonksiyonel bir serin treonin kinazdır [81]. GSK-3β pankreas kanseri hücrelerinin çekirdeklerinde aşırı eksprese olarak NF-κB aktivitesini stimüle eder ve enflamatuar cevap kaskadını aktive eder. Rekombinan enzim kullanılarak yapılan in vitro deneylerde kuersetin için yaklaşık 2 μM'lik IC_{50} değeri tespit edilmiş ve molekülün GSK-3β'nin ATP bağlanma bölgesine bağlandığı (moleküler bağdaştırma bilgisayar programı ile) tahmin edilmiştir [52].

Güncel ve ilginç bir taramada kuersetinin çeşitli kinaz gruplarında spesifik inhibitör etkileri olduğu tespit edilmiştir [7]. Geniş bir insan kinomu içeren 256 farklı rekombinan kinaz panelinin kullanıldığı bu çalışmada kuersetinin bu enzimlerin aktivitesini in vitro deneylerde direkt olarak inhibe edebilme yeteneği test edilmiştir. Kuersetin yaklaşık 100 kinazın aktivitesini 30 μM konsantrasyonunda %95 azaltmıştır. Bu birçok hücre dizisi için hesaplanan ortalama IC_{50} değerine çok yakındır [7, 55]. Kuersetinin 2 μM'de ~15 kinazın aktivitesini %95'den fazla, setteki diğer ~ 50 kinazın aktivitesini de %80-95 arasında azaltığının bulunmuş olması, bu kinazların kuersetinin spesifik hedefleri olabileceğini göstermiştir. 2 μM kuersetine maruz bırakıldıktan sonra hemen hiç aktivitesi kalmayan kinazlar Cdc2-benzeri kinaz 1 (CLK1), insülin reseptörleri (INSR-R) ve kas spesifik kinazdır (MUSK) [7]. İnsanda dendrogram ile ilişkili kinomda kuersetin tarafından hedeflenen kinazlar arasında şunların bulunması dikkate değer bir konudur: Tirozin kinaz (TK), tirozin kinaz benzeri kinazlar (TKL), serin/treonin tirozin kinazlar (STE), kazein kinazlar (CK1), cAMP'a bağımlı protein kinazlar (AGC), kalsiyum/kalmodulin protein kinaz II kinazlar (CAMK), ile sikline bağımlı kinaz (CDK), mitojen aktive protein kinaz (MAPK), glikojen sentaz kinaz (GSK), ve CDK benzeri kinaz gruplarını da içeren CMGC alt sınıfı [7]. Bu ilginç sonuçlara rağmen, güncel araştırmalar bazı soruları hala cevaplayamamıştır: (1) Test edilen kinaz paneli içinde yer aldıkları halde, kuersetinin düşük konsantrasyonları ile (2 μM) inhibe edilen 15 protein kinaz arasında PI_3K, Hck, CK2 ve MEK-1 olmaması düşük bir ihtimaldir; (2) Ölçülen inhibitör etkiler doğal kinazlarla yapılan hücresel modeller ile konfirme edilmeli ve hücre büyümesinin denetiminin bozulması veya diğer biyolojik etkilerle olan ilişkileri tespit edilmelidir.

Cohen grubu da 2000 yılında benzer bir yaklaşımı kullanmıştır [20]. Çalışmalarında doku saflaştırılması ile elde edilen veya prokaryotik ya da ökaryotik sistemlerde eksprese edilen 34 kinazdan oluşan bir paneli kullanarak yaptıkları çalışmada, in vitro 20 μM konsantrasyondaki kuersetinin şu kinazların enzimatik aktivitesini %30'dan daha az inhibe ettiklerini tespit etmişlerdir: MAPKAP-K1b ($p90^{RSK}$ olarak da bilinir < %20); S6K1 (< %25); GSK-3β (< %30); AMPK (< %16); CK2 (< %19); PI_3K (< %18).

Cohen grubu tarafından gösterilen kuersetinin GSK-3β, CK2 ve PI_3K'yı inhibe edici aktivitesi daha sonra yukarıda bahsedilen bağımsız çalışmaların sonuçları ile de konfirme edilmiştir.

6 Sonuçlar: Pleiotropi ile Sinerji Karşılaştırması

"Pleiotropik" ve "sinerjistik" sözcükleri biyolojik olarak aktif moleküllerle ilgili kullanıldığında çelişkili yorumlara yol açabilir. Bu bölümde optimal intraselüler konsantrasyonlardaki kuersetinin, kanser hücrelerinin büyümelerini transkripsiyonel ve/veya posttranslasyonel olaylar sonucunda hiperaktive olarak desteklediği bilinen multipl kinazları tetikleyebilmesi ile ilgili kanıtları inceledik. Pleiotropinin anlamı kuersetinin hedef hücrelere ulaştıktan sonra bir veya daha fazla yolakta rol oynayan faktörlere bağlanabilme ve etkileşime girebilme yeteneği ile aynı hücresel proseslerde (örn. apoptoz,

Tablo 2 Kuersetin tarafından direkt olarak hedeflenen hücresel kinazlar

Hedefler	Bağlanma Bölgesi	Konsantrasyon	Hücresel etkiler	Referans
MEK-1	Aktivasyon döngüsü	1–2 μM	Apoptoz	[49,56,58]
			Hücre döngüsü	
			Büyüme durması	
PI_3Ky	ATP-bağlanma bölgesi	3.8 μM	Apoptoz	[105]
			Hücre döngüsü	
			Büyüme durması	
IKK α/β	ATP- ve İκBα-bağlanma bölgeleri	IC_{50} 11 μM (α) IC_{50} 11 μM (β)	Apoptoz	[77]
Hck (Src tyr kinaz ailesi)	ATP-bağlanma bölgesi	2 μM	Apoptoz	[93]
			Hücre döngösü	
			Büyüme durması	
CK2	ATP-bağlanma bölgesi	IC_{50} = 0.92 μM	Apoptoz	[89]
	Yarışmalı inhibitör	Ki = 1.18 μM		
GSK-3β	ATP-bağlanma bölgesi	IC_{50} = 0.92 μM		

[85] nolu referanstan uyarlanmıştır.

hücre döngüsü durması, otofaji) rol oynamasıdır. Kuersetinin etkileri için güzel bir örnek olarak PI_3K-Akt/PKB-NF-κB sinyal dönüştürücü yolağı ile olan etkileşimi verilebilir. Her ikisi de Akt/PKB ile birleşen CK2 ve PI_3K'nın paralel ve eş zamanlı inhibisyonu, Akt/PKB'nin CK2/PI_3K fosforilasyonu ile hiperaktivasyonu inhibe olduğu için yolağın devre dışı kalmasına neden olabilir. IKKα/IKKβ kinazlarının eş zamanlı olarak kuersetin tarafından inhibe edilmesi, NF-κB'nin nükleer translokasyonu ve aktivasyonu bloke olduğu için yolağın inhibisyonunu güçlendirir. Bu durum pleiotropik ve sinerjistik etkilerin eşleşerek kuersetinin antiproliferatif etkilerini güçlendirmelerine bir örnektir. Ancak pozitif etkinin oluşabilmesi için belirli şartlar gerekmektedir; (1) Kuersetinin intraselüler konsantrasyonu hedef yolaklarda rol oynayan tüm kinazları inhibe etmeye yetecek kadar yüksek olmalıdır. Çünkü Tablo 2'de gösterildiği üzere farklı enzimlerin Ki ve IC_{50} değerleri birbirinden anlamlı düzeyde farklıdır; (2) Kanser hücrelerindeki hedef yolaklar aşırı aktive olmalı, ancak normal hücrelerdeki yolaklar da normal kalmalıdır; (3) Hedef kinaz hücre proliferasyonu veya hücre ölümü gibi antagonist süreçleri regüle etmemelidir. Birinci şartı yerine getirebilmek için aglikon kuersetinin belirli intraselüler mikromolar konsantrasyonlarda olması gerekmektedir. Bu hedefe flavonoidin diyetle alımı ile ulaşmak iki nedenden dolayı neredeyse imkansızdır: Aglikonun serumdaki biyoyararlanımının sınırlı olması ya da hiç olmaması. Gerçekten de oral uygulamadan sonra kanda ölçülen "total" kuersetinin hemen hemen tamamı metabolitlerinden oluşmaktadır [57, 65, 90]. Ancak fibroblastları inceleyen bir çalışmada kuersetinin O-metile

konjugatlarının hücrelerde serbest aglikona dönüşebileceğinin bulunmuş olması ilginçtir [96, 97, 102]. Bundan dolayı düşük biyoyararlanım engelinin doz artırımı ile aşılabileceği aşikardır. Gerçekten de hayvan modellerinde 2 hafta süre ile 45-47 mg/gün kuersetin uygulanması ile 60 μM düzeyinde plazma konsantrasyonları elde edilmiştir [94]. Ancak hayvan modellerindeki kuersetin takviyesi insanlardaki takviye ile kıyaslanırken dikkatli olunmalıdır. Farklı doku ekspresyonları ve genetik polimorfizmler nedeniyle metabolize edici enzimlerin aktiviteleri memeli türleri arasında büyük farklılıklar gösterebilir [90]. Alternatif olarak, dolaşımdaki serbest kuersetin konsantrasyonları (kanser hastalarının 200-400 μM gibi akut serum düzeylerini iyi tolere ettikleri göz önüne alındığında) intravenöz uygulama ile de yükseltilebilir [28]. Bu ihtimal, diğer kemopreventif uygulamalardan farklı olarak molekülün terapötik kullanımını sağlayabilir.

Kuersetinin kanser hücrelerinin büyümelerinin inhibisyonunda rol oynayan pleiotropik inhibitör olarak kullanılabilmesi için gereken diğer şart molekülün malign fenotipe spesifik (normal hücrelerin aksine) olması gerekliliğidir (yukarıda listelenen B maddesi). Bu konuyla ilgili olarak farklı yazarların ilginç yorumları olmuştur. Kuersetini hormetik doğasından dolayı molekülü iki ucu keskin kılıç olarak tanımlamışlardır. Bu durum normal hücre ve dokularda düşük konsantrasyonlarda bulunduğunda hücreleri reaktif oksijen türlerinden koruyan bir antioksidan etkisi yaparken, 30-50 μM'den daha yüksek konsantrasyonlarda ise bir prooksidan haline dönüşüp apoptoz ve diğer savunma süreçlerini aktive ederek kanser hücrelerini öldüren reaktif oksijen türlerinin üretimine yol açmasından kaynaklanmaktadır [9, 104]. Kulağa hoş gelen bu hipotezin geniş çaplı deneysel değerlendirmelere ihtiyacı vardır ve çeşitli eleştirilere açık bir konudur. Kuersetinin intraselüler konsantrasyonlarını artırmanın belirgin bir dezavantajı sadece kanser hücrelerindeki değil, normal dokulardaki prooksidan reaksiyonunda da artışa yol açma ve yan etkiler oluşturma ihtimalidir. Bu yan etkiler dikkatle takip edilmeli ve kemoprevensiyon uygulamalarından farklı olarak molekülün faydaları ile toksik yan etkilerinin dengelendiği terapötik protokoller oluşturulmalıdır Molekülün hormetik özelliği ile ilgili olarak da toksikolojiden alınan ve kullanıldığı bilimsel platforma göre farklı anlamlar taşıyabilen bu terimin dikkatle kullanılmasını öneriyoruz [12, 13, 101]. Kısa süre önce kuersetinin HeLa hücrelerindeki hormetik klasik U şekilli eğrisini yayınladık. Eğride molekül düşük konsantrasyonlarda (0.5 μM) uygulandığında hücre büyümesinde görülen anlamlı artış, in vivo ortamda kuersetin ile zenginleştirilmiş gıdaların verilmesi ile görülen artış ile benzer düzeydedir [95]. Bu nedenlerden dolayı kuersetinin takviye veya fonksiyonel gıda olarak kullanımının, potansiyel faydalarının zarara dönüşebilme ihtimali (prekanseröz hücrelerin molekülün hormetik etkilerine duyarlı olması durumunda) nedeniyle dikkatle değerlendirilmesi gerekir. Ayrıca bizim ve diğer bazı yazarların da bildirildiği üzere (Şekil 1 ve [83, 84]) mikromolar kuersetin konsantrasyonları (hücre sağkalımı etkilenmeden) reaktif oksijen türlerinin düzeylerini azaltarak antioksidan etkiyi devam ettirmektedir. Bu bulgu molekülün kanser hücrelerinde spesifik prooksidan etki gösterebileceği hipotezi ile çelişiyor görünmektedir.

Son olarak da kuersetin tarafından hedeflenen kinazların, sinerjistik etkilerini destekleyen antagonist prosesleri regüle etmemeleri gerekmektedir (yukarıda listelenen

madde 3). MAP kinaz bu konu ile ilişkili iyi bir örnektir. RAS-RAFMEK-MAPK yolağı insanlarda görülen kanserlerde sıklıkla deregüle olur. Bunun nedeni yolağın komponentlerindeki genetik değişimler ya da hücre yüzey reseptörlerinin yukarı yönlü aktivasyonudur. Bu da bu sinyal kaskadlarının komponentlerini terapötik girişimler için ilginç hedefler haline getirmektedir [1, 21]. Yukarıda da bahsedildiği üzere, kuersetin MEK-1 ile etkileşime girerek bağlanır. Bu bağlantı her ikisi de MEK/ERK sinyalinin aktivasyonunda rol oynayan epidermal büyüme faktörü veya H-Ras ile indüklenen JB66 P+ hücre transformasyonunun doza bağlı supresyonuna yol açar [56, 58]. Lösemik hücre dizilerinde ve kronik lenfositik lösemi hastalarından izole edilen B hücrelerindeki antiapoptotik faktör Mcl-1'in kuersetin tarafından Mcl-1 instabilitesine yol açan MEK/MAPK sinyal yolaklarının inhibisyonu ile aşağı regüle edildiğini de göstermiştik. Bu veriler kuersetinin apoptopik etkisinin beklendiği üzere MEK/MAPK yolağının inaktivasyonuna bağlı olduğunu göstermektedir. Diğer bazı araştırmacılar karşıt etkiler bildirmişlerdir: (1) A549 akciğer kanseri hücrelerinde kuersetin ile indüklenen apoptoz için MEK/MAPK aktivasyonu gereklidir ;(2) Kuersetin sıcak şoku uygulanan hepatom H4 hücrelerinde MAPK'yı anlamlı olarak stimüle ederek hücre sağkalımını azaltmış ve DNA fragmantasyonunu indüklemiştir; (3) Kuersetinin oksidatif strese karşı hepatoprotektif etkisi için gereken metalotionein ekspresyonunu indüklemesi, MAPK'nin aktivite edilmesi ve Nrf2 DNA bağlayıcı aktivitenin güçlendirilmesi ile ortaya çıkmaktadır; (4) İnsan hepatositlerinin etanole bağlı oksidatif strese karşı korunması MAPK/Nrf2 yolaklarına bağlı olarak HO-1 indüksiyonu ile gerçekleşmektedir [107]. Özet olarak kuersetinin MEK/MAPK yolağını aktive edip etmediği konusu bir paradoks haline dönüşmüştür. Bu olayların yanlış hücre dizisinde veya hücre fizyolojisinin uygun olmayan zaman-mekan penceresinde gerçekleşmesi ile elde edilen sonuçlar beklenen sonuçlardan farklı olabilir. Örnek olarak kuersetinin prekanseröz bir hücredeki MAPK aktivitesini stress hasarına karşı korumak amacıyla artırması proliferatif stimülasyonun güçlenmesine neden olması verilebilir. Kuersetinin etkileri ile ilişkili bir başka kompleks problem de kuersetinin tek başına veya diğer ilaçlarla veya ölüm ligandları (DL; anti-CD95; rekombinan TRAIL) ile birlikte uygulanması ile kanser kinazlarının spesifik izoformları üzerinde ortaya çıkabilecek etkileri ile ilgilidir. Aslında kuersetinin PKCα aktivitesini hafifçe azalttığını demonstre etmiştik. Ancak anti-CD95 ile birlikte uygulamada tespit edilen PKCα aktivitesi kuersetinin tek başına uygulanmasına göre 12 kat artmıştır [83]. Bu örnek kuersetinin aynı hücre dizisindeki aynı kinazı hem aktive hem de inhibe edebileceğini (direkt ve/veya indirekt olarak) göstermektedir. Etkinin türü uygulanan stimülasyona ve/veya malign hücrenin fizyolojik durumuna bağlıdır.

Bu bölümde kanser gibi dejeneratif hastalıklarla ilgili patolojileri düzeltebilme ile ilgili multipl özelliklere sahip olan kuersetinin avantaj ve dezavantajlarını inceledik. Bu bölümde tartışılan kuersetin ile ilgili birçok paradoksun kolaylıkla potansiyel antikanser aktivitesi olan birçok doğal bileşik için de geçerli olabileceği söylenebilir. Molekülün antioksidan veya kinaz inhibitörü olarak in vivo ortamdaki etkisi ile ilgili hala çok fazla bilinmeyen mevcuttur. Bu durum kuersetinin (ve diğer fitokimyasalların) fonksiyonel olarak pleiotropik olabileceği ihtimalini kabul etmenin önünde bir engeldir. Çünkü bu

ihtimal klinik veriler ile korelasyon içinde olmalıdır. Maalesef kanser tedavisinde kuersetinin monoterapide veya diğer kemoterapötik ajanlar ile kombinasyon halinde kullanıldığı klinik çalışmalar henüz mevcut değildir ([85] nolu referanstaki Tablo 3). Bu tür bilgilerin olmaması birçok biyoaktif fitokimyasalın klinikteki potansiyel kullanımlarının önünde bir engel olarak durmaktadır. Bu nedenle kuersetinin adjuvan kanser tedavisindeki olası kullanımı ile ilgili çalışmalara acil olarak ihtiyaç vardır.

Referanslar

1. Aksamitiene E, Kiyatkin A, Kholodenko BN (2012) Cross-talk between mitogenic Ras/MAPK and survival PI3K/Akt pathways: a fine balance. Biochem Soc Trans 40:139–146
2. Ambrose AM, Robbins DJ, Deeds F (1952) Comparative toxicities of quercetin and quercitrin. J Am Pharm Assoc 41:119–122
3. Aziz AA, Edwards CA, Lean ME, Crozier A (1998) Absorption and excretion of conjugated flavonols, including quercetin-4′-O-beta-glucoside and isorhamnetin-4′-O-beta-glucoside by human volunteers after the consumption of onions. Free Radic Res 29:257–269
4. Bischoff SC (2008) Quercetin: potentials in the prevention and therapy of disease. Curr Opin Clin Nutr Metab Care 11:733–740
5. Boffetta P, Couto E, Wichmann J, Ferrari P, Trichopoulos D, Bueno-de-Mesquita HB, van Duijnhoven FJ, Buchner FL, Key T, Boeing H, Nothlings U, Linseisen J, Gonzalez CA, Overvad K, Nielsen MR, Tjonneland A, Olsen A, Clavel-Chapelon F, Boutron-Ruault MC, Morois S, Lagiou P, Naska A, Benetou V, Kaaks R, Rohrmann S, Panico S, Sieri S, Vineis P, Palli D, van Gils CH, Peeters PH, Lund E, Brustad M, Engeset D, Huerta JM, Rodriguez L, Sanchez MJ, Dorronsoro M, Barricarte A, Hallmans G, Johansson I, Manjer J, Sonestedt E, Allen NE, Bingham S, Khaw KT, Slimani N, Jenab M, Mouw T, Norat T, Riboli E, Trichopoulou A (2010) Fruit and vegetable intake and overall cancer risk in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC). J Natl Cancer Inst 102:529–537
6. Bokkenheuser VD, Shackleton CH, Winter J (1987) Hydrolysis of dietary flavonoid glycosides by strains of intestinal Bacteroides from humans. Biochem J 248:953–956
7. Boly R, Gras T, Lamkami T, Guissou P, Serteyn D, Kiss R, Dubois J (2011) Quercetin inhibits a large panel of kinases implicated in cancer cell biology. Int J Oncol 38:833–842
8. Boots AW, Haenen GR, Bast A (2008) Health effects of quercetin: from antioxidant to nutraceutical. Eur J Pharmacol 585:325–337
9. Boots AW, Li H, Schins RP, Duffin R, Heemskerk JW, Bast A, Haenen GR (2007) The quercetin paradox. Toxicol Appl Pharmacol 222:89–96
10. Bors W, Heller W, Michel C, Saran M (1990) Flavonoids as antioxidants: determination of radical-scavenging efficiencies. Methods Enzymol 186:343–355
11. Boyle SP, Dobson VL, Duthie SJ, Hinselwood DC, Kyle JA, Collins AR (2000) Bioavailability and efficiency of rutin as an antioxidant: a human supplementation study. Eur J Clin Nutr 54:774–782
12. Calabrese EJ (2010) Hormesis is central to toxicology, pharmacology and risk assessment. Hum Exp Toxicol 29:249–261
13. Calabrese EJ, Blain RB (2011) The hormesis database: the occurrence of hormetic dose responses in the toxicological literature. Regul Toxicol Pharmacol 61:73–81
14. Cochet C, Feige JJ, Pirollet F, Keramidas M, Chambaz EM (1982) Selective inhibition of a cyclic nucleotide independent protein kinase (G type casein kinase) by quercetin and related polyphenols. Biochem Pharmacol 31:1357–1361
15. Conquer JA, Maiani G, Azzini E, Raguzzini A, Holub BJ (1998) Supplementation with quercetin markedly increases plasma quercetin concentration without effect on selected risk factors for heart disease in healthy subjects. J Nutr 128:593–597

16. Crowe FL, Roddam AW, Key TJ, Appleby PN, Overvad K, Jakobsen MU, Tjonneland A, Hansen L, Boeing H, Weikert C, Linseisen J, Kaaks R, Trichopoulou A, Misirli G, Lagiou P, Sacerdote C, Pala V, Palli D, Tumino R, Panico S, Bueno-de-Mesquita HB, Boer J, van Gils CH, Beulens JW, Barricarte A, Rodriguez L, Larranaga N, Sanchez MJ, Tormo MJ, Buckland G, Lund E, Hedblad B, Melander O, Jansson JH, Wennberg P, Wareham NJ, Slimani N, Romieu I, Jenab M, Danesh J, Gallo V, Norat T, Riboli E (2011) Fruit and vegetable intake and mortality from ischaemic heart disease: results from the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC)-Heart study. Eur Heart J 32:1235–1243
17. Cunningham BD, Threadgill MD, Groundwater PW, Dale IL, Hickman JA (1992) Synthesis and biological evaluation of a series of flavones designed as inhibitors of protein tyrosine kinases. Anticancer Drug Des 7:365–384
18. D'Incalci M, Steward WP, Gescher AJ (2005) Use of cancer chemopreventive phytochemicals as antineoplastic agents. Lancet Oncol 6:899–904
19. da Silva EL, Piskula MK, Yamamoto N, Moon JH, Terao J (1998) Quercetin metabolites inhibit copper ion-induced lipid peroxidation in rat plasma. FEBS Lett 430:405–408
20. Davies SP, Reddy H, Caivano M, Cohen P (2000) Specificity and mechanism of action of some commonly used protein kinase inhibitors. Biochem J 351:95–105
21. De Luca A, Maiello MR, D'Alessio A, Pergameno M, Normanno N (2012) The RAS/RAF/MEK/ERK and the PI3K/AKT signalling pathways: role in cancer pathogenesis and implications for therapeutic approaches. Expert Opin Ther Targets 16(Suppl 2):S17–S27
22. Di Maira G, Salvi M, Arrigoni G, Marin O, Sarno S, Brustolon F, Pinna LA, Ruzzene M (2005) Protein kinase CK2 phosphorylates and upregulates Akt/PKB. Cell Death Differ 12:668–677
23. DiDonato JA, Mercurio F, Karin M (2012) NF-kappaB and the link between inflammation and cancer. Immunol Rev 246:379–400
24. Duarte J, Perez-Palencia R, Vargas F, Ocete MA, Perez-Vizcaino F, Zarzuelo A, Tamargo J (2001) Antihypertensive effects of the flavonoid quercetin in spontaneously hypertensive rats. Br J Pharmacol 133:117–124
25. DuPont MS, Bennett RN, Mellon FA, Williamson G (2002) Polyphenols from alcoholic apple cider are absorbed, metabolized and excreted by humans. J Nutr 132:172–175
26. Egert S, Wolffram S, Bosy-Westphal A, Boesch-Saadatmandi C, Wagner AE, Frank J, Rimbach G, Mueller MJ (2008) Daily quercetin supplementation dose-dependently increases plasma quercetin concentrations in healthy humans. J Nutr 138:1615–1621
27. Erlund I, Kosonen T, Alfthan G, Maenpaa J, Perttunen K, Kenraali J, Parantainen J, Aro A (2000) Pharmacokinetics of quercetin from quercetin aglycone and rutin in healthy volunteers. Eur J Clin Pharmacol 56:545–553
28. Ferry DR, Smith A, Malkhandi J, Fyfe DW, deTakats PG, Anderson D, Baker J, Kerr DJ (1996) Phase I clinical trial of the flavonoid quercetin: pharmacokinetics and evidence for in vivo tyrosine kinase inhibition. Clin Cancer Res 2:659–668
29. Filipe P, Haigle J, Silva JN, Freitas J, Fernandes A, Maziere JC, Maziere C, Santus R, Morliere P (2004) Anti- and pro-oxidant effects of quercetin in copper-induced low density lipoprotein oxidation. Quercetin as an effective antioxidant against pro-oxidant effects of urate. Eur J Biochem 271:1991–1999
30. Garcia-Saura MF, Galisteo M, Villar IC, Bermejo A, Zarzuelo A, Vargas F, Duarte J (2005) Effects of chronic quercetin treatment in experimental renovascular hypertension. Mol Cell Biochem 270:147–155
31. Glossmann H, Presek P, Eigenbrodt E (1981) Quercetin inhibits tyrosine phosphorylation by the cyclic nucleotide-independent, transforming protein kinase, pp60src. Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol 317:100–102
32. Goldberg DM, Yan J, Soleas GJ (2003) Absorption of three wine-related polyphenols in three different matrices by healthy subjects. Clin Biochem 36:79–87

33. Graefe EU, Wittig J, Mueller S, Riethling AK, Uehleke B, Drewelow B, Pforte H, Jacobasch G, Derendorf H, Veit M (2001) Pharmacokinetics and bioavailability of quercetin glycosides in humans. J Clin Pharmacol 41:492–499
34. Granado-Serrano AB, Martin MA, Bravo L, Goya L, Ramos S (2006) Quercetin induces apoptosis via caspase activation, regulation of Bcl-2, and inhibition of PI-3-kinase/Akt and ERK pathways in a human hepatoma cell line (HepG2). J Nutr 136:2715–2721
35. Guerra B (2006) Protein kinase CK2 subunits are positive regulators of AKT kinase. Int J Oncol 28:685–693
36. Gugler R, Leschik M, Dengler HJ (1975) Disposition of quercetin in man after single oral and intravenous doses. Eur J Clin Pharmacol 9:229–234
37. Gulati N, Laudet B, Zohrabian VM, Murali R, Jhanwar-Uniyal M (2006) The antiproliferative effect of quercetin in cancer cells is mediated via inhibition of the PI3 K-Akt/PKB pathway. Anticancer Res 26:1177–1181
38. Hairborne JB (1993) The flavonoids advances in research since 1986. Chapman & Hall, London
39. Hanahan D, Weinberg RA (2000) The hallmarks of cancer. Cell 100:57–70
40. Hanahan D, Weinberg RA (2011) Hallmarks of cancer: the next generation. Cell 144:646–674
41. Hard GC, Seely JC, Betz LJ, Hayashi SM (2007) Re-evaluation of the kidney tumors and renal histopathology occurring in a 2-year rat carcinogenicity bioassay of quercetin. Food Chem Toxicol 45:600–608
42. Harwood M, Danielewska-Nikiel B, Borzelleca JF, Flamm GW, Williams GM, Lines TC (2007) A critical review of the data related to the safety of quercetin and lack of evidence of in vivo toxicity, including lack of genotoxic/carcinogenic properties. Food Chem Toxicol 45:2179–2205
43. Hertog MG, Feskens EJ, Hollman PC, Katan MB, Kromhout D (1993) Dietary antioxidant flavonoids and risk of coronary heart disease: the Zutphen Elderly Study. Lancet 342:1007–1011
44. Hirono I (1992) Is quercetin carcinogenic? Jpn J Cancer Res 83:313–314
45. Hollman PC, Katan MB (1999) Dietary flavonoids: intake, health effects and bioavailability. Food Chem Toxicol 37:937–942
46. Hollman PC, van Trijp JM, Buysman MN, van der Gaag MS, Mengelers MJ, de Vries JH, Katan MB (1997) Relative bioavailability of the antioxidant flavonoid quercetin from various foods in man. FEBS Lett 418:152–156
47. Hollman PC, van Trijp JM, Mengelers MJ, de Vries JH, Katan MB (1997) Bioavailability of the dietary antioxidant flavonol quercetin in man. Cancer Lett 114:139–140
48. Hollman PC, vd Gaag M, Mengelers MJ, van Trijp JM, de Vries JH, Katan MB (1996) Absorption and disposition kinetics of the dietary antioxidant quercetin in man. Free Radic Biol Med 21:703–707
49. Hou DX, Kumamoto T (2010) Flavonoids as protein kinase inhibitors for cancer chemoprevention: direct binding and molecular modeling. Antioxid Redox Signal 13:691–719
50. Hwang MK, Song NR, Kang NJ, Lee KW, Lee HJ (2009) Activation of phosphatidylinositol 3-kinase is required for tumor necrosis factor-alpha-induced upregulation of matrix metalloproteinase-9: its direct inhibition by quercetin. Int J Biochem Cell Biol 41:1592–1600
51. Ito N (1992) Is quercetin carcinogenic? Jpn J Cancer Res 83:312–313
52. Johnson JL, Rupasinghe SG, Stefani F, Schuler MA, Gonzalez de Mejia E (2011) Citrus flavonoids luteolin, apigenin, and quercetin inhibit glycogen synthase kinase-3beta enzymatic activity by lowering the interaction energy within the binding cavity. J Med Food 14:325–333
53. Kelly GS (2011) Quercetin. Monograph. Altern Med Rev 16:172–194

54. Kim YH, Lee YJ (2007) TRAIL apoptosis is enhanced by quercetin through Akt dephosphorylation. J Cell Biochem 100:998–1009
55. Lamson DW, Brignall MS (2000) Antioxidants and cancer, part 3: quercetin. Altern Med Rev 5:196–208
56. Lee F, Fandi A, Voi M (2008) Overcoming kinase resistance in chronic myeloid leukemia. Int J Biochem Cell Biol 40:334–343
57. Lee J, Ebeler SE, Zweigenbaum JA, Mitchell AE (2012) UHPLC-(ESI)QTOF MS/MS profiling of quercetin metabolites in human plasma postconsumption of applesauce enriched with apple peel and onion. J Agric Food Chem 60:8510–8520
58. Lee KW, Kang NJ, Heo YS, Rogozin EA, Pugliese A, Hwang MK, Bowden GT, Bode AM, Lee HJ, Dong Z (2008) Raf and MEK protein kinases are direct molecular targets for the chemopreventive effect of quercetin, a major flavonol in red wine. Cancer Res 68:946–955
59. Leonarduzzi G, Testa G, Sottero B, Gamba P, Poli G (2010) Design and development of nanovehicle-based delivery systems for preventive or therapeutic supplementation with flavonoids. Curr Med Chem 17:74–95
60. Li C, Liu X, Lin X, Chen X (2009) Structure-activity relationship of 7 flavonoids on recombinant human protein kinase CK2 holoenzyme. Zhong Nan Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban 34:20–26
61. Li H, Zhao X, Ma Y, Zhai G, Li L, Lou H (2009) Enhancement of gastrointestinal absorption of quercetin by solid lipid nanoparticles. J Control Release 133:238–244
62. Lionberger JM, Wilson MB, Smithgall TE (2000) Transformation of myeloid leukemia cells to cytokine independence by Bcr-Abl is suppressed by kinase-defective Hck. J Biol Chem 275:18581–18585
63. Lolli G, Cozza G, Mazzorana M, Tibaldi E, Cesaro L, Donella-Deana A, Meggio F, Venerando A, Franchin C, Sarno S, Battistutta R, Pinna LA (2012) Inhibition of protein kinase CK2 by flavonoids and tyrphostins. A structural insight. Biochemistry 51:6097–6107
64. Manach C, Morand C, Crespy V, Demigne C, Texier O, Regerat F, Remesy C (1998) Quercetin is recovered in human plasma as conjugated derivatives which retain antioxidant properties. FEBS Lett 426:331–336
65. Manach C, Williamson G, Morand C, Scalbert A, Remesy C (2005) Bioavailability and bioefficacy of polyphenols in humans. I. Review of 97 bioavailability studies. Am J Clin Nutr 81:230S–242S
66. McAnlis GT, McEneny J, Pearce J, Young IS (1999) Absorption and antioxidant effects of quercetin from onions, in man. Eur J Clin Nutr 53:92–96
67. Meggio F, Pinna LA (2003) One-thousand-and-one substrates of protein kinase CK2? FASEB J 17:349–368
68. Murota K, Terao J (2003) Antioxidative flavonoid quercetin: implication of its intestinal absorption and metabolism. Arch Biochem Biophys 417:12–17
69. Nagasaka Y, Nakamura K (1998) Modulation of the heat-induced activation of mitogen-activated protein (MAP) kinase by quercetin. Biochem Pharmacol 56:1151–1155
70. Nair HB, Sung B, Yadav VR, Kannappan R, Chaturvedi MM, Aggarwal BB (2010) Delivery of antiinflammatory nutraceuticals by nanoparticles for the prevention and treatment of cancer. Biochem Pharmacol 80:1833–1843
71. Natarajan K, Manna SK, Chaturvedi MM, Aggarwal BB (1998) Protein tyrosine kinase inhibitors block tumor necrosis factor-induced activation of nuclear factor-kappaB, degradation of IkappaBalpha, nuclear translocation of p65, and subsequent gene expression. Arch Biochem Biophys 352:59–70
72. Nguyen TT, Tran E, Nguyen TH, Do PT, Huynh TH, Huynh H (2004) The role of activated MEK-ERK pathway in quercetin-induced growth inhibition and apoptosis in A549 lung cancer cells. Carcinogenesis 25:647–659
73. NTP (1992) Toxicology and carcinogenesis studies of quercetin (CAS No., 117-39-5) in F344/N rats (feed study). NTP technical report. National Toxicology Program (NTP), Research Triangle Park, North Carolina

74. Okamoto T (2005) Safety of quercetin for clinical application (review). Int J Mol Med 16:275–278
75. Olthof MR, Hollman PC, Buijsman MN, van Amelsvoort JM, Katan MB (2003) Chlorogenic acid, quercetin-3-rutinoside and black tea phenols are extensively metabolized in humans. J Nutr 133:1806–1814
76. Olthof MR, Hollman PC, Vree TB, Katan MB (2000) Bioavailabilities of quercetin-3-glucoside and quercetin-4′-glucoside do not differ in humans. J Nutr 130:1200–1203
77. Peet GW, Li J (1999) IkappaB kinases alpha and beta show a random sequential kinetic mechanism and are inhibited by staurosporine and quercetin. J Biol Chem 274:32655–32661
78. Ponce DP, Maturana JL, Cabello P, Yefi R, Niechi I, Silva E, Armisen R, Galindo M, Antonelli M, Tapia JC (2011) Phosphorylation of AKT/PKB by CK2 is necessary for the AKT-dependent up-regulation of beta-catenin transcriptional activity. J Cell Physiol 226:1953–1959
79. Prior RL (2003) Fruits and vegetables in the prevention of cellular oxidative damage. Am J Clin Nutr 78:570S–578S
80. Ranawat P, Pathak CM, Khanduja KL (2012) A new perspective on the quercetin paradox in male reproductive dysfunction. Phytother Res
81. Rayasam GV, Tulasi VK, Sodhi R, Davis JA, Ray A (2009) Glycogen synthase kinase 3: more than a namesake. Br J Pharmacol 156:885–898
82. Russo GL (2007) Ins and outs of dietary phytochemicals in cancer chemoprevention. Biochem Pharmacol 74:533–544
83. Russo M, Palumbo R, Mupo A, Tosto M, Iacomino G, Scognamiglio A, Tedesco I, Galano G, Russo GL (2003) Flavonoid quercetin sensitizes a CD95-resistant cell line to apoptosis by activating protein kinase Calpha. Oncogene 22:3330–3342
84. Russo M, Palumbo R, Tedesco I, Mazzarella G, Russo P, Iacomino G, Russo GL (1999) Quercetin and anti-CD95(Fas/Apo1) enhance apoptosis in HPB-ALL cell line. FEBS Lett 462:322–328
85. Russo M, Spagnuolo C, Tedesco I, Bilotto S, Russo GL (2012) The flavonoid quercetin in disease prevention and therapy: facts and fancies. Biochem Pharmacol 83:6–15
86. Russo M, Spagnuolo C, Tedesco I, Russo GL (2010) Phytochemicals in cancer prevention and therapy: truth or dare? Toxins (Basel) 2:517–551
87. Ruzzene M, Pinna LA (2010) Addiction to protein kinase CK2: a common denominator of diverse cancer cells? Biochim Biophys Acta 1804:499–504
88. Santillo M, Mondola P, Seru R, Annella T, Cassano S, Ciullo I, Tecce MF, Iacomino G, Damiano S, Cuda G, Paterno R, Martignetti V, Mele E, Feliciello A, Avvedimento EV (2001) Opposing functions of Ki- and Ha-Ras genes in the regulation of redox signals. Curr Biol 11:614–619
89. Sarno S, de Moliner E, Ruzzene M, Pagano MA, Battistutta R, Bain J, Fabbro D, Schoepfer J, Elliott M, Furet P, Meggio F, Zanotti G, Pinna LA (2003) Biochemical and three-dimensional-structural study of the specific inhibition of protein kinase CK2 by [5-oxo-5,6-dihydroindolo-(1,2-a)quinazolin-7-yl]acetic acid (IQA). Biochem J 374:639–646
90. Scalbert A, Williamson G (2000) Dietary intake and bioavailability of polyphenols. J Nutr 130:2073S–2085S
91. Schneider H, Schwiertz A, Collins MD, Blaut M (1999) Anaerobic transformation of quercetin-3-glucoside by bacteria from the human intestinal tract. Arch Microbiol 171:81–91
92. Shirai M, Moon JH, Tsushida T, Terao J (2001) Inhibitory effect of a quercetin metabolite, quercetin 3-O-beta-D-glucuronide, on lipid peroxidation in liposomal membranes. J Agric Food Chem 49:5602–5608
93. Sicheri F, Moarefi I, Kuriyan J (1997) Crystal structure of the Src family tyrosine kinase Hck. Nature 385:602–609

94. Silberberg M, Morand C, Manach C, Scalbert A, Remesy C (2005) Co-administration of quercetin and catechin in rats alters their absorption but not their metabolism. Life Sci 77:3156–3167
95. Spagnuolo C, Russo M, Bilotto S, Tedesco I, Laratta B, Russo GL (2012) Dietary polyphenols in cancer prevention: the example of the flavonoid quercetin in leukemia. Ann N Y Acad Sci 1259:95–103
96. Spencer JP, Kuhnle GG, Williams RJ, Rice-Evans C (2003) Intracellular metabolism and bioactivity of quercetin and its in vivo metabolites. Biochem J 372:173–181
97. Spencer JP, Rice-Evans C, Williams RJ (2003) Modulation of pro-survival Akt/protein kinase B and ERK1/2 signaling cascades by quercetin and its in vivo metabolites underlie their action on neuronal viability. J Biol Chem 278:34783–34793
98. Sporn MB, Suh N (2002) Chemoprevention: an essential approach to controlling cancer. Nat Rev Cancer 2:537–543
99. Sun ZJ, Chen G, Hu X, Zhang W, Liu Y, Zhu LX, Zhou Q, Zhao YF (2010) Activation of PI3K/Akt/IKK-alpha/NF-kappaB signaling pathway is required for the apoptosis-evasion in human salivary adenoid cystic carcinoma: its inhibition by quercetin. Apoptosis 15:850–863
100. Surh YJ (2003) Cancer chemoprevention with dietary phytochemicals. Nat Rev Cancer 3:768–780
101. Tedesco I, Russo M, Russo GL (2010) Commentary on 'resveratrol commonly displays hormesis: occurrence and biomedical significance'. Hum Exp Toxicol 29:1029–1031
102. Terao J, Murota K, Kawai Y (2011) Conjugated quercetin glucuronides as bioactive metabolites and precursors of aglycone in vivo. Food Funct 2:11–17
103. Torres J, Pulido R (2001) The tumor suppressor PTEN is phosphorylated by the protein kinase CK2 at its C terminus. Implications for PTEN stability to proteasome-mediated degradation. J Biol Chem 276:993–998
104. Vargas AJ, Burd R (2010) Hormesis and synergy: pathways and mechanisms of quercetin in cancer prevention and management. Nutr Rev 68:418–428
105. Walker EH, Pacold ME, Perisic O, Stephens L, Hawkins PT, Wymann MP, Williams RL (2000) Structural determinants of phosphoinositide 3-kinase inhibition by wortmannin, LY294002, quercetin, myricetin, and staurosporine. Mol Cell 6:909–919
106. Weng CJ, Chen MJ, Yeh CT, Yen GC (2011) Hepatoprotection of quercetin against oxidative stress by induction of metallothionein expression through activating MAPK and PI3K pathways and enhancing Nrf2 DNA-binding activity. N Biotechnol 28:767–777
107. Yao P, Nussler A, Liu L, Hao L, Song F, Schirmeier A, Nussler N (2007) Quercetin protects human hepatocytes from ethanol-derived oxidative stress by inducing heme oxygenase-1 via the MAPK/Nrf2 pathways. J Hepatol 47:253–261
108. Young JF, Nielsen SE, Haraldsdottir J, Daneshvar B, Lauridsen ST, Knuthsen P, Crozier A, Sandstrom B, Dragsted LO (1999) Effect of fruit juice intake on urinary quercetin excretion and biomarkers of antioxidative status. Am J Clin Nutr 69:87–94
109. Zhang S, Yu D (2012) Targeting Src family kinases in anti-cancer therapies: turning promise into triumph. Trends Pharmacol Sci 33:122–128

Sulforafan: Kanserle Savaşta Ümit Vadeden Bir Molekül

Monia Lenzi, Carmela Fimognari ve Patrizia Hrelia

Özet

Kanser apoptoz, proliferasyon, invazyon, anjiogenez ve metastazın transforme ve deregüle olduğu genetik ve moleküler değişimlerle seyreden kompleks bir hastalıktır. Tümör büyümek ve metastaz yapabilmek için konağa ihtiyaç duyar. Hücre disfonksiyonuna ilave olarak, tümör mikroçevresinin primer disfonksiyonu da karsinogenez için hayati önem taşıyabilir. Çok sayıda fitokimyasalın birçok önemli hedefi (nonspesifik olarak) eş zamanlı olarak inhibe ve modüle etme potansiyelleri vardır. Kanserde çok büyük biyolojik farklılıklar görülmesi nedeniyle pleiotropizm avantajlı hale getirebilir. Bu nedenle özellikle diyet kaynaklı bileşiklerde bulunan fitokimyasallar klinik çalışmalarda kemopreventif ve ya kemoterapötik ajanlar olarak önerilmekte ve araştırılmaktadır. Sulforafan (SFN) turpgiller ailesine ait sebzelerde bulunan bir izotiyosiyanattır. Hücre kültüründe, karsinojenle indüklenen genetik hayvan kanser modellerinde ve ksenogreft kanser modellerinde kullanılan SFN'nin etkili bir kemoprotektif ajan olduğu ispatlanmıştır. SFN farklı moleküler hedeflerin modülasyonu ile yönetilen potent sitostatik ve sitotoksik etkileri güçlendirmektedir. Hücrelerin SFN medyatörlüğündeki apoptoza duyarlılığı hücre döngüsüne bağımlı mekanizmaların regülasyonuna bağlıdır. Ancak p53 statüsünün mutasyonundan bağımsızdır. Ayrıca SFN'nin in vitro ortamda sitotoksik tedavi ile kombinasyonunun

C. Fimognari
Dipartimento di Scienze per la Qualità della Vita, University of Bologna, Via Corso dAugusto 237, 47921, Rimini, Italy

M. Lenzi · P. Hrelia (✉)
Dipartimento di Farmacia e Biotecnologie, University of Bologna, Via Belmeloro 6, 40126, Bologna, Italy
e-mail: patrizia.hrelia@unibo.it

V. Zappia et al. (eds.), *Advances in Nutrition and Cancer,*
Cancer Treatment and Research 159, DOI: 10.1007/978-3-642-38007-5_12,
© Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2014

kemoterapi medyatörlüğündeki sitotoksik etkiyi de güçlendirmesi, klinikteki potansiyel terapötik faydalarının göstergesidir. Güvenli ve etkili bir molekül olan SFN kanserle savaşta ümit vadeden bir kemopreventif araç olabilir.

Anahtar Kelimeler

Sulforafan • İzotiyosiyanatlar • Faz I ve II enzimleri • Anjiogenez • Metastatik süreç

Kısaltmalar

SFN	Sulforafan
ITC'ler	İzotiyosiyanatlar
CYP	Sitokrom P450
GST	Glutatyon-S-transferaz
UGT	UDP-glukuronoziltransferaz
NQO1	NAD(P)H: kuinon oksiredüktaz 1
Keap 1	Kelch benzeri ECH ile ilişkili protein 1
GSH	Glutatyon
HCA	Heterosiklik aminler
PhIP	2-amino-1-metil-6-fenilimidazol [4, 5-b] piridin
CDK	Sikline bağımlı kinaz
HDAC	Histon deasetilaz
VEGF	Vasküler endotelyal büyüme faktörü
MMP	Metaloproteaz
Nrf2	Nükleer faktör (eritroid-kaynaklı 2)-benzeri 2
Hif-1 α	Hipoksi ile indüklenebilir faktör-1 α
HO-1	Heme oksijenaz-1
ARE	Antioksidan cevap elementi

İçindekiler

1 Giriş 209
2 Karsinogenetik Prosesin Modülasyonu 210
2.1 Başlangıç Fazının Modülasyonu 210
2.2 Gelişim Fazının Modülasyonu 213
2.3 Progresyon Fazının Modülasyonu 216
3 Sonuçlar 217
Referanslar 218

1 Giriş

Geleneksel olarak çoğunlukla Batı ülkelerini etkilediği düşünülen bir hastalık olan kanser, günümüzde gelişmekte olan ülkelerde yaşayan toplumlarda da yayılmaktadır. Daha yüksek refah seviyesine sahip Batı ülkelerinin çoğunlukla daha fazla kanserojen maruziyetine yol açan diyet ve hayat tarzları ile tarihsel geçmişe dayanan yaygın sigara kullanımı bu ülkelerdeki kanserin yüksek insidansının altında yatan nedendir. Ancak artan endüstrileşme ve zenginleşmenin gelişmekte olan ülkelerdeki sosyal alışkanlıkların hızla değişmeye başlamasını sağlayarak kanser insidans oranlarının endüstrileşmiş ülkelerdeki oranlara ulaşmasına neden olması kanseri dünya çapında bir problem haline getirmiştir [72].

Genetik veya epigenetik birçok nedenden kaynaklanan hücresel bir hastalık olan kanser, hücre homeostazında değişimlere yol açarak hücre büyüme ve proliferasyonunun kontrolünün kaybına yol açar.

Son derece kompleks bir proses olan tümör gelişiminin ilk aşaması normal hücrelerdeki kritik genlerdeki mutasyonların akümülasyonudur. Deneysel olarak çok basamaklı proses olarak tanımlanan birçok olaydan oluşur. Bunlardan en az üç fazın tanımlanması mümkündür: Başlangıç, gelişim ve progresyon.

Başlangıç fazı hücresel genomun hasarı ile karakterize akut bir olaya işaret eder. Hasar uygun bir biçimde tamir edilmez ise hücre replikasyonu sonrası stabil ve irreversibl bir mutasyon haline dönüşür. Kanseri başlatan hücre organizmanın kontrol sistemlerinden bağımsızlaşarak kendi başına büyüme potansiyeline sahip olur.

Gelişim fazındaki hücreler epigenetik mekanizmalardan kaynaklanan yoğun bir proliferatif stimulus ile karakterizedir. Kimyasalların tümör gelişimini destekleyen aktivitelerinin oksidatif stresin indüksiyonu, hücre proliferasyonunun stimulasyonu, preneoplastik lezyonların gelişimi ve spontan hücre ölümünün inhibisyonu yoluyla gerçekleştiği varsayılmaktadır. Bu evrede prolifere olan hücre klonları benign bir tümör görünümündedirler. Hücre kütlesi grup halinde bulunur ve düzenlidir.

Progresyon, malign fenotipin ortaya çıkması ile karakterize olan üçüncü evredir. Bu evrede bazı hücreler tümör kütlesinden ayrılabilir, yakındaki dokuları istila edebilir, kan dolaşımına veya lenf damarlarına infiltre olabilir ve kanserin başlangıç yerinin uzağında sekonder kanserlerin gelişimine neden olabilirler [87].

Kansere karşı savaşı kazanmanın tek yolu tüm evreleri ile mücadele etmektir. Bu nedenle iyi bir kemopreventif ajanın başlangıç, gelişim ve progresyonu kapsayacak şekilde, karsinogenezin tüm evrelerini modüle edebilme yeteneğine sahip olması gerekmektedir. Bu bağlamda, izotiyosiyanatlar (ITC) gibi turpgillerden elde edilen (Brüksel lahanası, brokoli, karnıbahar ve lahana) gibi doğal ürünler karsinogenetik süreçte rol oynayan birçok hedefi modüle edebilme yetenekleri nedeniyle büyük ilgi çekmektedirler. ITC'ler gıdalardaki glukozinolatların prosesleri ve çiğnenmeleri ile oluşur. Bu bitki ailesinin sekonder metabolitlerinin herhangi bir biyolojik aktivitesi yoktur. Glukorafaninin hidrolizi ile elde edilen bir ITC olan SFN brokolide bol miktarda bulunur. SFN karsinogenetik prosesin farklı düzeylerinde etkili olabilme yeteneğinden dolayı özel ilgi çekmektedir [62].

2 Karsinogenetik Prosesin Modülasyonu

SFN'nin günümüzde ispat edilmiş olan kemopreventif aktivitesi karsinogenezin tüm farklı evrelerini inhibe edebilme, geriye çevirebilme veya geciktirebilme yeteneğinden kaynaklanmaktadır: Başlangıç, gelişim ve progresyon (Şekil 1). SFN başlangıç fazını, hem prokarsinojenlerin karsinojenlere metabolik aktivasyonunu faz I metabolizmasını engelleyerek hem de faz II metabolizmasını indükleyerek karsinojenlerin detoksifikasyonunu destekleyerek modüle etmektedir. Böylece DNA'yı mutajenik bileşiklerin saldırılarından korur. SFN ayrıca hücre döngüsünü geciktirerek ve/veya durdurarak veya apoptozu indükleyerek ortaya çıkan sitostatik ve sitotoksik etkileri ile transforme olan hücrelerin klonal yayılımını engelleyerek gelişim fazını modüle edebilir.

SFN son olarak, anjiogenezi, benign tümörün malign hale dönüşümünü ve metastatik prosesi de inhibe ederek progresyon fazını modüle edebilir.

2.1 Başlangıç Fazının Modülasyonu

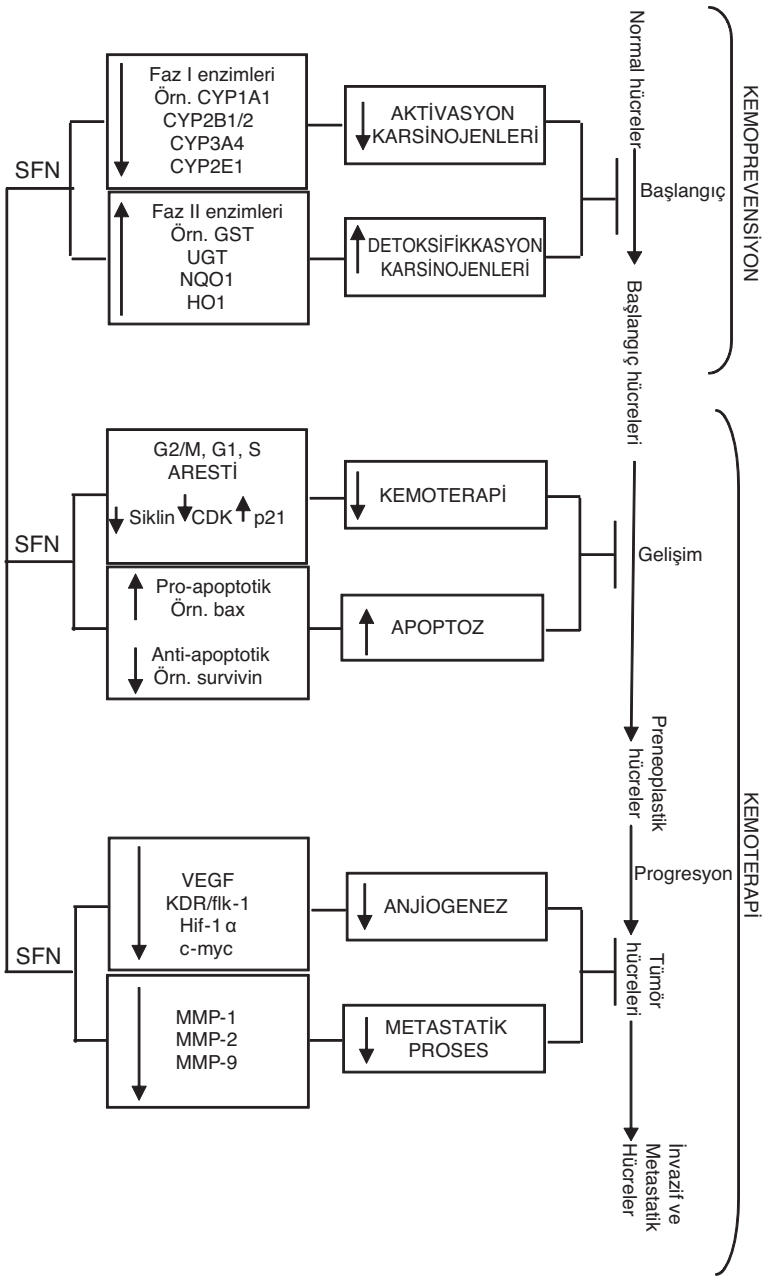
2.1.1 Faz I Enzimlerinin İnhibisyonu

Kimyasal yoldan indüklenen karsinogenezi bloke etmenin temel basamaklarından birisi faz I enzimlerinin inhibe edilmesidir. Bu enzimlerin rol oynadığı kimyasal reaksiyonlar (oksidasyon, redüksiyon ve hidroliz) genel olarak detoksifikasyona yol açsalar da, karsinojenlerin biyoaktivasyonunda da rol oynarlar. Diyette bulunan ve çevresel karsinojenlerin hemen hepsi gerçekte prokarsinojenlerdir. Bunlar ilaçları metabolize eden enzimler tarafından yüksek oranda aktif olan ve makromolekülleri (DNA, RNA ve protein) bağlayabilen aracılara biyoaktive olabilirler. Bu olaylar primer olarak sitokrom P450 (CYP) enzimleri tarafından katalize edilir. Bu nedenle ekspresyonlarını ve fonksiyonlarını modüle edebilen bileşikler, karsinogenetik prosesin engellenmesinde önemli olabilir. Faz I metabolizması SFN tarafından modüle edilebilir. Birçok çalışmada CYP aktivitesini direkt etkileşim ya da mRNA düzeylerinin regülasyonu ile regüle edebildiği gösterilmiştir. Örneğin, SFN sıçan hepatositlerindeki CYP'ler olan 1A1 ve 2b1/2'yi doza bağlı olarak inhibe eder. İnsan hepatositlerindeki CYP3A4 aktivitesini de CYP3A4 mRNA düzeylerini regüle ederek belirgin biçimde azaltır [59]. SFN aseton uygulanan sıçan karaciğerinin mikrozomlarındaki CYP2E1'in de yarışmalı inhibitörüdür. SFN heterosiklik aminlerin metabolik aktivasyonunda rol oynayan CYP1A2'yi etkilemez [4, 19].

Genel olarak, SFN'nin çeşitli CYP'leri inhibe edebilen ve buna bağlı olarak prokarsinojenlerin aktivasyonunu azaltabilen bir ajan olduğu söylenebilir.

2.1.2 Faz II Enzimlerinin İndüksiyonu

SFN, çok sayıda literatürde de bildirildiği üzere, epoksit hidrolaz, ferritin, glutatyon peroksidaz, glutatyon redüktaz, glutamat-sistein sentetaz [94], glutatyon-S-transferaz (GST) [93], heme oksijenaz-1 (HO-1) [18], tieordoksin redüktaz [3], ve UDP-glukuronoziltransferaz (UGT) 1A [6] gibi faz II enzimlerinin hem in vivo hem de in



Şekil 1 SFN karsinogenetik sürecin üç farklı fazını farklı moleküler hedefleri modüle ederek hem kemopreventif hem de kemoterapötik ajan olarak etki göstererek etkiler.

vitro ortamdaki en güçlü indükleyicilerinden biridir. Örneğin, SFN insan hepatom hücrelerindeki HepG2'deki NAD(P)H:kuinon oksidoredüktaz 1'in (NQO1) [46] aktivitesini ve bilirübin glukuronidasyonunu artırır [6]. SFN ayrıca mürin Hepa1c1c7'deki GST ve NQO1 aktivitesini artırıp [46, 60], sıçan hepatositlerindeki GSTA1/2 ve GSTP1 mRNA düzeylerini yukarı regüle ederken, insan primer hepatositlerindeki GSTA1/2 ve GSTM1'in mRNA düzeylerini indükler [59]. SFN ayrıca kolon ve prostat kanser hücre dizilerindeki faz II metabolizmasını da artırma yeteneğine sahiptir. Özellikle, hem farklılaşmış HT29'da [6] hem de farklılaşmamış CaCo-2 hücrelerindeki [88] GSTA1 ve UGT1A1 aktivitesini doz ve zamana bağlı olarak artırır. SFN insan prostat hücrelerindeki GSTA1 ve NQO1 mRNA düzeylerini ve GST ve NQO1 aktivitesini artırmaktadır [9]. SFN insan hepatom hücrelerindeki ve hepatositlerindeki HepG2'deki 2-amino-1-metil-6-fenilimidazol[4,5-b]piridin (PhIP)-DNA eklentilerini doza bağlı olarak ve muhtemelen UGT1A1 ve GSTA1 mRNA ekspresyonunun indüksiyonu ile anlamlı olarak azaltır [2].

İn vivo çalışmalarda SFN'nin faz II enzimlerinin potent bir indükleyicisi olduğu konfirme edilmiştir. Oral SFN uygulanan sıçan dokularındaki GST ve NQO1 aktiviteleri artmaktadır. SFN uygulanan sıçanların mide, duodenum, mesane [64], karaciğer, kolon ve pankreasındaki [60] NQO1 ve GST aktiviteleri de artar.

SFN NQO1'in enzimatik aktivitesinde ve prostat, karaciğer ve en fazla da mesanedeki total GST düzeylerinde anlamlı artışa yol açar [47]. Faz II enzimlerinin indüksiyonu, SFN uygulanan ve deneysel olarak akciğer karsinogenezi indüklenen dişi İsviçre albino farelerinde pre- ve post- başlangıç fazı çalışmalarında yakın zamanda gösterilmiştir [48].

SFN'nin faz II enzimlerinin indüksiyonunu, antioksidan cevap elementleri (ARE) adı verilen spesifik DNA sekansları içeren genlerinin transkripsiyonunun stimüle ederek sağladığı düşünülmektedir [20, 63]. Bu güçlendirici sekansı içeren genler, sitoskeletal protein Kelch-benzeri ECH-ilişkili protein 1'e (Keap 1) bağlı sitoplazmada bulunan nükleer faktör (eritroid-kaynaklı 2)-benzeri 2'nin (Nrf2)transkripsiyonu ile regüle olurlar. Sitosolik redoks durumundaki değişime cevap olarak Keap 1 ve Nrf2 arasındaki bağı kırar. Buna bağlı olarak Nrf2 aktive olur ve protein ile bağlanır. Nrf2 çekirdeğe translokе olarak, ARE içeren genlerin transkripsiyonunu indükleyebilir. Nrf2 inaktif iken SFN tarafından indüklenen herhangi bir gen ekspresyonu gözlenmemiştir [21, 37, 38, 51, 68, 92].

Birçok çalışmada bu yolağın oksidatif strese karşı korunmada rol oynadığı ve kanser ve nörodejeneratif hastalıklar gibi kronik durumlar için etkili bir terapötik hedef olabileceği bildirilmiştir [55]. SFN indirekt bir antioksidan olarak kabul edilir. Çünkü hücreleri aşırı serbest radikal üretiminden donör veya elektron akseptörü olarak değil, faz II enzimlerinin ekspresyonunu ve glutatyonun (GSH) intraselüler düzeylerini modüle ederek korur. SFN'nin glutamilsistein sentetazın hafif zincirinin sentezini artırabilme yeteneği olduğu da ispatlanmıştır. Bu etki enzimin ağır zinciri için geçerli değildir. Bu enzim GSH sentezinin sınırlandırıcı bir basamağını katalizlemektedir [94].

Tüm kanıtlar bir arada değerlendirildiğinde SFN'nin karsinojen detoksifikasyonunu ve mutajenik olaylara karşı hücre savunmasını artırdığı görülmektedir.

2.1.3 DNA'nın Mutajenik Bileşiklerin Saldırısından Korunması

SFN farklı etki mekanizmaları kullanarak birçok karsinojenik bileşikle savaşabilme gücüne sahiptir. Örneğin, heterosiklik aminlere (HCA) maruziyet meme, kolon ve prostat kanseri gibi kanser türlerinin gelişimi ile ilişkilidir. İn vivo çalışmalarda SFN'nin HCA tarafından indüklenen mutajenezin potent bir inhibitörü olduğu gösterilmiştir [80].

İnsan hepatom hücrelerindeki HepG2'deki PhIP-DNA eklentileri, tedavide SFN ve PhIP'nin eş zamanlı kullanımı ile anlamlı olarak azalmıştır. Ancak önce PhIP uygulanan hücrelere sonrasında SFN uygulanması ile PhIP-DNA eklentilerinde bir azalma tespit edilmemiştir. Bu bulgu SFN'nin DNA tamirindeki enzimleri indüklemek yerine koruyucu etki yaptığını göstermektedir [46].

İnsan meme epitel hücrelerindeki MCD-10F'de, benzo(a)piren ve 1.6-dinitropiren maruziyeti sonrası oluşan DNA eklentilerinin oluşumu SNF tarafından inhibe edilmektedir [84]. SFN insan kolorektal hücrelerini benzo(a)piren tarafından indüklenen tek zincir DNA kırıklarına karşı korumaktadır [8]. SFN CYP2E1 ve CYP1A2 salgılayan insan karaciğer hücrelerini ise N-nitrozodimetilamin ve 2-amino-3-metilimidazo [4,5-f] kinolon tarafından indüklenen çift zincir kırıklarına karşı korur [5].

İnsan lenfositleri ile yapılan bir çalışmada SFN'nin dört farklı bileşiğin genotoksisitesini engellediği gösterilmiştir: Alkilleyici etil metanesulfonat, aneugen vinkristin, oksitleyici H_2O_2, alkilleyici ve oksitleyici mitomisin C. Etil metanesulfonat ve mitomisin C üzerindeki antigenotoksik aktivitesi apoptoz indükleyici etkisinden kaynaklanmaktadır. Kontrast olarak, vinkristin ve H_2O_2 uygulanan kültürlere SFN eklenmesi apoptotik hücre fraksiyonlarında bir artışa yol açmamıştır. Bu sonuç SFN'nin koruyucu etkisinin hücre proliferasyonunun inhibisyonu veya spesifik enzimlerin indüksiyonu gibi farklı bir mekanizmadan kaynaklanabileceğini düşündürmektedir [26].

İn vivo çalışmaların sonuçları net değildir. Gills ve ark. [34] klasik bir iki basamaklı karsinogenez protokolünde (başlangıç ve gelişim aşamalarındaki etkilerin birbirinden ayrıldığı) 7,12-dimetilbenz(a)antrasen'in öncesinde ve sonrasında topikal olarak SFN uygulanması ile tümör taşıyan farelerin yüzdesinin azalmadığını bildirmiştir. Ancak, Kuroiwa ve ark. [54] ise SFN'nin pankreatik kanallardaki atipik hiperplazinin insidansını ve hamster pankreatik karsinogenez modelindeki adenokarsinomların insidansını azalttığını bildirmişlerdir.

Bu sonuçlar SFN'nin ilginç bir antigenotoksik etkiye sahip olduğunu önermektedir. Ancak bu aktivite henüz tam olarak aydınlatılamamıştır.

2.2 Gelişim Fazının Modülasyonu

2.2.1 Sitostatik Etkiler

SFN çeşitli hücresel modellerindeki (prostat, kolon, meme, mesane ve T hücreleri) hücre döngüsü progresyonunu modüle edebilme ve çalışılan hücre dizisine, kullanılan teda-

vinin dozuna, maruziyetin süresine bağlı olarak hücreleri G1 [14, 77, 91], S [89] veya G2/M [40, 73, 74] fazında durdurabilme yeteneğine sahiptir. Bu etkiler siklinler, sikline bağımlı kinaz (CDK) ve CDK inhibitörlerinin modülasyonu ile ilişkilidir.

Özellikle, G2/M fazındaki hücre döngüsünün durdurulması (arrest), PC-3 ve DU-145 insan prostat kanseri hücrelerinde, HCT-116, HT29 ve Caco-2 insan kolon kanseri hücrelerinde [82], F311 mürin meme kanseri hücrelerinde [39], MCF-7 insan meme kanseri hücrelerinde [40], Jurkat insan T lösemi hücrelerinde [23, 25], U2-OS insan osteosarkom hücrelerinde [53], insan miyelom hücre dizilerinden oluşan panelde ve primer miyelom tümör hücrelerinde gözlenmiştir [43].

SFN'nin G2/M faz arrestini indükleyebilmesinde çeşitli mekanizmalar rol oynamaktadır. PC-3 prostat kanseri hücrelerinde siklin B1, Cdc25B ve Cdc25c seviyelerinde anlamlı azalma ile ilişkili iken, Tyr15-fosforile CDK1'de ise artış ile ilişkilidir. Bu olaylar SER-16'daki Cdc25c'nin hızlı ve sürekli fosforilasyonunu indükleyen ChK2 aktivasyonuna yol açarlar. Aynı Chk2'ye bağımlı G2/M arresti HCT-116 insan kolon kanseri hücrelerinde de görülmüştür [82]. SFN bunlara ek olarak, MCF-7 meme kanseri hücrelerinin mitotik fazda tubulin polimerizasyonunun inhibisyonuna bağlı olarak arrestine neden olurken [40], F311 meme kanseri hücrelerinin arresti ise anormal ve eksik mitotik mikrotubul formasyonuna bağlıdır [39].

G2/M faz arresti SFN tarafından indüklenen ana hücre döngü arresti olmasına rağmen, prostat ve kolon kanseri hücrelerinde diğer fazlarda da arrest görülmektedir. LnCap ve DU-145 insan prostat kanser hücrelerinde SFN uygulanması ile CDK4 aktivitesinin inhibisyonu sonucu G1 fazında total arrest, p21 ekspresyonunda artış ve siklin D1 ekspresyonunda azalma olmuştur [91]. Benzer şekilde HT29 kolon kanseri hücrelerinde de p21 düzeylerinde artma ve D1, siklin A ve c-myc düzeylerinde azalma sonrası G1 faz arresti meydana gelir [79].

Ayrıca UMUC insan mesane hücrelerinde SFN uygulaması ile S fazında arrest bildirilmiştir [89].

İn vivo bir çalışmada SFN'nin gelişim fazını hücre proliferasyonunu inhibe ederek durdurduğu net olarak gösterilmiştir. SFN topikal uygulamada 7, 12 dimetilbenz(a) antrasen/12-O-tetradekanolforbol 13-asetatın indüklediği fare deri tümörijenezini anlamlı düzeyde inhibe etmiştir [34].

Bu kanıtların ışığında SNP'nin hücre döngüsünü farklı moleküler mekanizmalarla modüle edebilen efektif bir sitostatik ajan olduğu gösterilmiştir.

2.2.2 Sitotoksik Etkiler

SFN'nin proapoptotik etkileri hücre spesifik değildir ve farklı hücre dizilerinde tanımlanmıştır.

İlk kanıt kolon kanseri hücrelerinde bildirilmiştir [32, 33, 42]. Daha sonra prostat kanseri hücrelerinde [14, 15, 81], medullablastom [35], meme [39, 75], over [12], pankreas [74], kan [23, 24], mesane [77, 89], cilt [61] hücreleri ile insan miyelom hücre dizilerinden oluşan bir panel ve primer miyelom tümör hücrelerinde [43] ve yüksek oranda metastatik B16F-10 melanom hücrelerinde bu etkinin varlığı bildirilmiştir [36].

Bu in vitro modellerde SFN'nin apoptozun özellikleri olan kromatin kondensasyonu, fosfatidilserinin plazma membranı boyunca translokasyonu ve DNA fragmantasyonunu indükleyebildiği gösterilmiştir. SFN hem intrinsik (mitokondri aracılığı ile) ve ekstrinsik (ölüm reseptörü aracılığı ile) yolaklardaki multipl hedefleri de aktive edebilmektedir. En sık görülen ve tedavisi en zor beyin tümörlerinden biri olan glioblastom hücrelerinin, SFN'ye kaspaza bağımlı ve kaspazdan bağımsız mekanizmalar ile indüklenen apoptotik hücre fraksiyonunda artış ile cevap vermeleri ilginçtir [52].

SFN'nin proapoptotik etkisi ile ilgili birçok çok moleküler mekanizma önerilmiştir: Cdc2 kinazın aktif formda korunması [39, 73], kaspaz gibi proapoptotik genlerin aktivasyonu [74], tubulin polimerizasyonunun blokajı [39], oksidatif stresin artışı [83], intraselüler antioksidanların azalması [74] ve nükleer faktör sinyal yolakları [45]. Lösemi hücreleri ile yapılan diğer çalışmalarda SFN tarafından indüklenen apoptozun bax seviyelerinde bir artış ile ilişkili olduğu bulunmuştur [23, 25]. SFN, PC-3 prostat kanser hücrelerindeki apoptozu PARP ayrışması ile destekler. Bu sonuç çıplak faredeki PC-3 ksenogreft çalışmasında apoptozisin bax ve bid gibi proapoptotik proteinlerde artış ile ilişkili bulunması ile konfirme edilmiştir [81].

HT29 kolon kanseri hücrelerindeki bax ekspresyonu, sitokrom c salınımı ve PARP ayrılması SFN ile artmıştır [33]. Miyelom hücrelerinde SFN uygulaması ile mitokondrial membran potansiyelinin azalması, kaspaz 3 ve 9 artışı ve Mcl-1, X-IAP, c-IAP ve survivin gibi antiapoptotik proteinlerin aşağı regülasyonu apoptozu indüklemiştir [43].

SFN, HeLa insan servikal karsinom ve HepG2 hepatokarsinom hücrelerindeki apoptozu kaspaz 3 aktivasyonu ile indüklemiştir [71]. SFN, T98G ve U87MG glioblastom hücrelerindeki apoptozu ise Ca^{2+} artışı, kalpain indüksiyonu ve Smac/Diablo'nun sitosolik yukarı regülasyonu ile indüklemiştir [52]. Primer kanser hücre dizileri kullanılarak SFN'nin kolorektal kanserdeki antikanser etkilerini inceleyen güncel bir çalışmada kaspaz 3 artışı, mitokondri membran potansiyelinin kaybı, pro-kaspaz 3 ayrışması ve kaspaz 2, 3, 8, 9 aktivitesinde artış gösterilmiştir [13].

Ayrıca PC-3 hücrelerindeki SFN'ye bağlı apoptozu indükleyen aktivatör protein 1'in regülasyonunda ERK ve JNK sinyal yolakları da rol oynamaktadır [92]. Jurkat T lösemi hücrelerinde yapılan çalışmalarda bu hücrelerin SFN tarafından indüklenen apoptoza en fazla G1 fazında duyarlı olduğu gösterilmiştir. G2/M fazındaki duyarlılık daha azken, en düşük duyarlılık S fazında gözlenmiştir [29]. SFN ayrıca sitodiferensiyasyona ve HL-60 insan promiyelositik hücrelerindeki hem granülositik, hem de makrofajik türler yönünde apoptotik hücre fraksiyonunda artışa yol açabilir. Bu etki fosfatidilinositol 3-kinaz/protein kinaz C aracılığında gerçekleşir [31]. Ayrıca HEK293 embriyonik böbrek hücreleri, HCT-116 insan kolon kanseri hücreleri [65], BPH-1, LnCaP ve PC-3 prostat epitel hücreleri ile yapılan çalışmalarda da SFN'nin histon deasetilazın (HDAC) aktivitesini inhibe edebilme özelliği tanımlanmıştır. BU SNF'nin proapoptotik etkisinin altında yatan yeni bir mekanizmadır [16, 67]. Bu bulgular oral SFN ile beslenen farelerde de, HDAC aktivitesinin anlamlı inhibisyonu ile birlikte eş zamanlı olarak asetile histonlar H3 ve H4'ün de arttığının tespit edilmesi ile konfirme edilmiştir [66].

SFN tarafından indüklenen apoptoz ilginç biçimde kanser hücrelerinden sıklıkla mutasyona uğrayan ve en önemli tümör baskılayıcı genlerden birisi olan p53'den bağımsız görünmektedir. HT29 kolon kanseri hücrelerinde SFN uygulanması ile p53 düzeyleri değişmemektedir [33]. Farklı p53 statülerine sahip (doğal, knock-out ve mutasyonlu) üç tip fibroblast ile yapılan çalışmalarda mutasyonlu p53'ün SFN'nin indüklediği apoptozu engellemediği gösterilmiştir. Bu da p53'ün farklı bir yolağı olduğunu düşündürmektedir [27, 28]. HCT-116 kolon kanser hücrelerinde SFN'ye bağlı apoptoz kaspaz 7 ve 9 ile hem doğal hem de knock-out hücrelerde artış ile ilişkilidir [70, 76].

Sonuç olarak SFN'nin kanser hücrelerindeki apoptozu farklı yolakların modülasyonu ile indükleyen efektif bir sitotoksik ajan olduğu gösterilmiştir.

2.3 Progresyon Fazının Modülasyonu

2.3.1 Anjiogenezin İnhibisyonu

Güncel çalışmalarda SFN'nin anjiogenezi etkilediği gösterilmiştir. Anjiogenez yeni kan damarı formasyonunun fizyolojik sürecidir. Normal doku büyümesi için hayati olan bu süreç tümör dokusunun da beslenme, yayılma ve metastaz yapmakta kullandığı mekanizmadır [10]. Bir kapiler ağı oluşturarak oksijen ve besin maddelerinin intratümöral kullanımını sağlayan bu damar formasyonu olmadan tümörün büyümesi sınırlı kalır ve kritik boyut olan 1-2 mm^2'ye ulaşamaz.

Anjiogenezin progresyonu tümör hücrelerinden vasküler endotelyal büyüme faktörü (VEGF) gibi belirli proanjiogenik moleküllerin salgılanmasını gerektirir.

SFN, in vitro HMC-1 insan mikrovasküler endotel hücrelerinde mikrokapilerlerin, kapiler benzeri tüplerin oluşumunu ve hücre migrasyonunu, VEGF ve reseptörü olan KDR/flk-1'i (transkripsiyon düzeyinde), hipoksi ile indüklenebilir faktör-1 α'yı (Hif-1 α), ve c-Myc'yı inhibe ederek azaltır [7]. Anjiogenez modeli olarak HUVEC insan umblikal ven endotelyal hücrelerinin kullanıldığı çalışmada SFN'nin kan damar gelişimini engellediği ve endotel hücrelerinin proliferasyonunda doza bağlı azalmayı indüklediği gösterilmiştir [1]. Anjiogenezin proliferasyon supresyonu ile engellenmesi de sığır aort endotel hücrelerinde gözlenmiştir [41].

Bu bulguların bir arada değerlendirilmesi ile SFN'nin anjiogenezin tüm önemli basamaklarını modüle edebilme yeteneği olduğu görülmektedir.

2.3.2 Benign Tümörlerin Malign Tümörlere Dönüşümünün Engellenmesi

Çeşitli hayvan modellerinde SFN'in in vivo antitümör özellikleri değerlendirilmiştir. SFN akciğer [17], pankreas [54], cilt [34, 82] ve mide [21] gibi organlarda farklı karsinojenik bileşiklerle indüklenen tümörlerin gelişimini özellikle erken evrelerdeki tümör gelişimini modüle ederek inhibe edebilme yeteneğine sahiptir.

Ayrıca bazı farklı çalışmalarda da SFN'nin tütün karsinojenleri tarafından indüklenen akciğer adenomunun malign progresyonunu önlediği gösterilmiştir. Ayrıca 4-(metilnitrozoamino)-1-(3-piridil)-1-butanon ve benzo(a)piren uygulanan A/J farelerinde yapılan histopatolojik incelemede akciğer kanserinin malign progresyonunda anlamlı bir azalma tespit edilmiştir. SFN'nin inhibitör aktivitesi hücre proliferasyonunda azalma, apoptozda artma ve muhtemelen de kaspaz 3 modülasyonu ile ilgilidir [17].

2.3.3 Metastatik Prosesin İnhibisyonu

Metastaz yapabilme malign tümörlerin sahip olduğu özelliklerden birisidir. Metastatik proses kanser hücrelerinin kan veya lenf sistemi ile geliştikleri organdan diğer organlara ardışık olaylar serisi ile sıçramalarını sağlar.

Hastanın kişisel özelliklerine (genel durum ve immun cevap yeteneği) ve tümör hücrelerinin spesifik özelliklerine (lokasyon, boyut ve histopatolojik karakteristikler) bağlı olarak gerçekleşen biyolojik bir olaydır [22, 57, 69].

Tümörün lokal olarak yayılması, adipoz doku ve kıkırdak gibi çevre dokulardaki hücreleri parçalayan enzimlerin salınımı ile başlar. Tümör hücreleri kan ve lenf damarları ile karşılaşınca, bunların duvarlarını delerek kan veya lenf dolaşımına geçip vücut boyunca yayılabilme yeteneğine sahiptir [56, 58].

SFN, C57BL/6 faresinde B16F-10 ile indüklenen yüksek oranda metastatik melanom hücrelerinin akciğere metastaz yapmasını inhibe edici etki göstermektedir. Ayrıca pulmoner fibroz markerlerinde ve hücresel proliferasyon markerlerinde anlamlı azalmaya ve metastaz görülen hayvanlardaki sağkalımın da uzamasına neden olmuştur [90]. Bu etkileri sağlayan mekanizma, ekstraselüler matriksin komponentlerinin çoğunu imha ederek hücre invazyonuna ve metastaz formasyonuna yol açan endoproteinaz ailesinden metaloproteaz (MMP) 2 ve 9'un aktivasyonunun inhibisyonudur [11, 85]. Metaloproteazlar ayrıca neoplastik progresyonu destekleyen sitokinler ve büyüme faktörleri gibi belirli unsurları da modüle edebilirler [95]. SFN, oral karsinom hücrelerinin migrasyonunu ve invazyonunu MMP-1 ve MMP-2'yi [44] aşağı regüle ederek engeller. Ayrıca dişi atimik farelerdeki KPL-1 insan meme kanseri hücrelerinin aksiller lenf nodu metastazını da azalttığı gösterilmiştir [50].

3 Sonuçlar

Kanser birçok genetik ve moleküler değişimlerle karakterize aşırı derecede kompleks bir hastalıktır. Bu moleküler değişimler yeni farmakolojik stratejilerin geliştirilebilmesindeki potansiyel hedefleri oluşturmaktadır. Bir tümörü karakterize eden aşırı kompleks biyolojik özellikler göz önüne alındığında kullanılabilecek ümit vadeden stratejilerden bir tanesi kritik hedefleri eş zamanlı olarak inhibe veya modüle edebilen nonspesifik ajanların kullanımına dayanmaktadır. Bitkisel ürünler bu bağlamda kullanılabilecek çok hedefli bileşikler sunan ilginç bir kaynaktır. Ümit vadeden bir kemopreventif ajan olan

SFN, 1992 yılında faz II enzimlerinin önemli bir indükleyicisi olarak lanse edilmiştir. Bu ITC ile yapılan geniş kapsamlı çalışmalarda, SFN'in önemli kemoterapötik yaklaşımlara temel oluşturabilecek farklı özelliklere de sahip olduğu tespit edilmiştir. SFN gerçekten de farklı in vitro ve in vivo modellerde proliferasyonu inhibe edip apoptozu ve sitodiferensiyasyonu indükleyebilme özelliği göstermiştir. Birçok tümör hücresinin prolifere olamayan erişkin hücre geliştirebilme yeteneklerinde değişimler mevcuttur. SFN'nin terminal farklılaşmayı indükleyebilme özelliği replikasyon kapasitesi olmayan veya çok az olan hücrelerin oluşumuna neden olur. Bu hücreler sonrasında apoptoz sürecine girmek zorunda kalırlar [86]. Farklılaşma bu nedenle geleneksel antikanser ajanlara karşı bir alternatif teşkil etmektedir. SFN ayrıca ümit vadeden bir antianjiogenik ajan olup kanser hücrelerinin metastaz yapmasını inhibe edebilme yeteneğine sahiptir. Günümüzde mevcut ajanlar arasında kanser hücrelerinin metastazını engelleyebilen bir ilaç mevcut değildir [90]. Bu durum çok sayıda veya tek bir metastazdaki kanser hücrelerinin kemoterapiye farklı cevaplar vermesinden kaynaklanmaktadır.

Yeni veriler SFN'in p53'ün mutasyona uğradığı veya knockout olduğu hücrelerdeki apoptozisi indükleme yeteneği olduğunu göstermektedir. Klasik kemoterapötik ajanların çoğunun etki gösterebilmek için normal p53 varlığına ihtiyaç duydukları göz önüne alındığında, karşımıza ilginç ve önemli bir klinik uygulama alanı çıkmaktadır. Buna paralel olarak SFN'nin diğer kemoterapötik ajanların etkinliğini artırma ve gelişen rezistansı önleme yeteneğinin vurgulanması da önemlidir [28, 30, 49].

Ayrıca yeni moleküllerin geliştirilmesinde aranan tek özellik etkinlik değildir. Daha büyük ölçekli çalışmalara ihtiyaç olmasına rağmen, SFN'nin insanlarda genotoksisiteye yol açmadığı göz önüne alındığında [26], olumlu bir toksikolojik profile, tolerabilitiye ve güvenliğe sahip olduğu aşikardir [78].

Yukarıda da bahsedildiği üzere SFN'nin etkili ve güvenli bir kemopreventif molekül ve kanserle mücadelede ümit vadeden bir alternatif olduğu güncel literatürde net olarak ortaya koyulmaktadır.

Referanslar

1. Asakage M, Tsuno NH, Kitayama J et al (2006) Sulforaphane induces inhibition of human umbilical vein endothelial cells proliferation by apoptosis. Angiogenesis 9:83–91
2. Bacon JR, Williamson G, Garner RC et al (2003) Sulforaphane and quercetin modulate PhIP-DNA adduct formation in human HepG2 cells and hepatocytes. Carcinogenesis 24:1903–1911
3. Bacon JR, Plumb GW, Howie AF et al (2007) Dual action of sulforaphane in the regulation of thioredoxin reductase and thioredoxin in human HepG2 and Caco-2 cells. J Agric Food Chem 55:1170–1176
4. Barcelo S, Gardiner JM, Gescher A et al (1996) CYP2E1-mediated mechanism of antigenotoxicity of the broccoli constituent sulforaphane. Carcinogenesis 17:277–282
5. Barcelo S, Mace K, Pfeifer AM et al (1998) Production of DNA strand breaks by N-nitrosodimethylamine and 2-amino-3-methylimidazo[4,5-f]quinoline in THLE cells expressing human CYP isoenzymes and inhibition by sulforaphane. Mutat Res 402:111–120
6. Basten GP, Bao Y, Williamson G (2002) Sulforaphane and its glutathione conjugate but not sulforaphane nitrile induce UDP-glucuronosyl transferase (UGT1A1) and glutathione transferase (GSTA1) in cultured cells. Carcinogenesis 23:1399–1404

7. Bertl E, Bartsch H, Gerhauser C (2006) Inhibition of angiogenesis and endothelial cell functions are novel sulforaphane-mediated mechanisms in chemoprevention. Mol Cancer Ther 5:575–585
8. Bonnesen C, Eggleston IM, Hayes JD (2001) Dietary indoles and isothiocyanates that are generated from cruciferous vegetables can both stimulate apoptosis and confer protection against DNA damage in human colon cell lines. Cancer Res 61:6120–6130
9. Brooks JD, Paton VG, Vidanes G (2001) Potent induction of phase 2 enzymes in human prostate cells by sulforaphane. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 10:949–954
10. Carmeliet P, Jain RK (2000) Angiogenesis in cancer and other diseases. Nature 407:249–257
11. Chambers AF, Matrisian LM (1997) Changing views of the role of matrix metalloproteinases in metastasis. J Natl Cancer Inst 89:1260–1270
12. Chaudhuri D, Orsulic S, Ashok BT (2007) Antiproliferative activity of sulforaphane in Akt-overexpressing ovarian cancer cells. Mol Cancer Ther 6:334–345
13. Chen MJ, Tang WY, Hsu CW et al (2012) Apoptosis induction in primary human colorectal cancer cell lines and retarded tumor growth in SCID mice by sulforaphane. Evid Based Complement Alternat Med 2012:415231
14. Chiao JW, Chung FL, Kancherla R et al (2002) Sulforaphane and its metabolite mediate growth arrest and apoptosis in human prostate cancer cells. Int J Oncol 20:631–636
15. Choi S, Lew KL, Xiao H et al (2007) D, L-Sulforaphane-induced cell death in human prostate cancer cells is regulated by inhibitor of apoptosis family proteins and Apaf-1. Carcinogenesis 28:151–162
16. Clarke JD, Hsu A, Yu Z et al (2011) Differential effects of sulforaphane on histone deacetylases, cell cycle arrest and apoptosis in normal prostate cells versus hyperplastic and cancerous prostate cells. Mol Nutr Food Res 55:999–1009
17. Conaway CC, Wang CX, Pittman B et al (2005) Phenethyl isothiocyanate and sulforaphane and their N-acetylcysteine conjugates inhibit malignant progression of lung adenomas induced by tobacco carcinogens in A/J mice. Cancer Res 65:8548–8557
18. Cornblatt BS, Ye L, Dinkova-Kostova AT et al (2007) Preclinical and clinical evaluation of sulforaphane for chemoprevention in the breast. Carcinogenesis 28:1485–1490
19. Dashwood RH (2002) Modulation of heterocyclic amine-induced mutagenicity and carcinogenicity: an 'A-to-Z' guide to chemopreventive agents, promoters, and transgenic models. Mutat Res 511:89–112
20. Dinkova-Kostova AT, Holtzclaw WD, Cole RN et al (2002) Direct evidence that sulfhydryl groups of Keap1 are the sensors regulating induction of phase 2 enzymes that protect against carcinogens and oxidants. Proc Natl Acad Sci USA 99:11908–11913
21. Fahey JW, Haristoy X, Dolan PM et al (2002) Sulforaphane inhibits extracellular, intracellular, and antibiotic-resistant strains of Helicobacter pylori and prevents benzo[a]pyrene-induced stomach tumors. Proc Natl Acad Sci USA 99:7610–7615
22. Fidler IJ (1978) Tumor heterogeneity and the biology of cancer invasion and metastasis. Cancer Res 38:2651–2660
23. Fimognari C, Nusse M, Cesari R et al (2002) Growth inhibition, cell-cycle arrest and apoptosis in human T-cell leukemia by the isothiocyanate sulforaphane. Carcinogenesis 23:581–586
24. Fimognari C, Nusse M, Berti F et al (2003) Sulforaphane modulates cell cycle and apoptosis in transformed and non-transformed human T lymphocytes. Ann NY Acad Sci 1010:393–398
25. Fimognari C, Nusse M, Berti F et al (2004) Isothiocyanates as novel cytotoxic and cytostatic agents: molecular pathway on human transformed and non-transformed cells. Biochem Pharmacol 68:1133–1138
26. Fimognari C, Berti F, Cantelli-Forti G et al (2005) Effect of sulforaphane on micronucleus induction in cultured human lymphocytes by four different mutagens. Environ Mol Mutagen 46:260–267

27. Fimognari C, Sangiorgi L, Capponcelli S et al (2005) A mutated p53 status did not prevent the induction of apoptosis by sulforaphane, a promising anti-cancer drug. Invest New Drugs 23:195–203
28. Fimognari C, Nusse M, Lenzi M et al (2006) Sulforaphane increases the efficacy of doxorubicin in mouse fibroblasts characterized by p53 mutations. Mutat Res 601:92–101
29. Fimognari C, Lenzi M, Sciuscio D et al (2007) Cell-cycle specificity of sulforaphane-mediated apoptosis in Jurkat T-leukemia cells. In Vivo 21:377–380
30. Fimognari C, Lenzi M, Sciuscio D et al (2007) Combination of doxorubicin and sulforaphane for reversing doxorubicin-resistant phenotype in mouse fibroblasts with p53Ser220 mutation. Ann NY Acad Sci 1095:62–69
31. Fimognari C, Lenzi M, Cantelli-Forti G et al (2008) Induction of differentiation in human promyelocytic cells by the isothiocyanate sulforaphane. In Vivo 22:317–320
32. Gamet-Payrastre L, Lumeau S, Gasc N et al (1998) Selective cytostatic and cytotoxic effects of glucosinolates hydrolysis products on human colon cancer cells in vitro. Anticancer Drugs 9:141–148
33. Gamet-Payrastre L, Li P, Lumeau S et al (2000) Sulforaphane, a naturally occurring isothiocyanate, induces cell cycle arrest and apoptosis in HT29 human colon cancer cells. Cancer Res 60:1426–1433
34. Gills JJ, Jeffery EH, Matusheski NV et al (2006) Sulforaphane prevents mouse skin tumorigenesis during the stage of promotion. Cancer Lett 236:72–79
35. Gingras D, Gendron M, Boivin D et al (2004) Induction of medulloblastoma cell apoptosis by sulforaphane, a dietary anticarcinogen from Brassica vegetables. Cancer Lett 203:35–43
36. Hamsa TP, Thejass P, Kuttan G (2011) Induction of apoptosis by sulforaphane in highly metastatic B16F–10 melanoma cells. Drug Chem Toxicol 34:332–340
37. Hu C, Nikolic D, Eggler AL et al (2012) Screening for natural chemoprevention agents that modify human Keap1. Anal Biochem 421:108–114
38. Itoh K, Wakabayashi N, Katoh Y et al (2003) Keap1 regulates both cytoplasmic-nuclear shuttling and degradation of Nrf2 in response to electrophiles. Genes Cells 8:379–391
39. Jackson SJ, Singletary KW (2004) Sulforaphane: a naturally occurring mammary carcinoma mitotic inhibitor, which disrupts tubulin polymerization. Carcinogenesis 25:219–227
40. Jackson SJ, Singletary KW (2004) Sulforaphane inhibits human MCF-7 mammary cancer cell mitotic progression and tubulin polymerization. J Nutr 134:2229–2236
41. Jackson SJ, Singletary KW, Venema RC (2007) Sulforaphane suppresses angiogenesis and disrupts endothelial mitotic progression and microtubule polymerization. Vascul Pharmacol 46:77–84
42. Jakubikova J, Sedlak J, Mithen R et al (2005) Role of PI3 K/Akt and MEK/ERK signaling pathways in sulforaphane- and erucin-induced phase II enzymes and MRP2 transcription, G2/M arrest and cell death in Caco-2 cells. Biochem Pharmacol 69:1543–1552
43. Jakubikova J, Cervi D, Ooi M et al (2011) Anti-tumor activity and signaling events triggered by the isothiocyanates, sulforaphane and phenethyl isothiocyanate, in multiple myeloma. Haematologica 96:1170–1179
44. Jee HG, Lee KE, Kim JB et al (2011) Sulforaphane inhibits oral carcinoma cell migration and invasion in vitro. Phytother Res 25:1623–1628
45. Jeong WS, Kim IW, Hu R et al (2004) Modulatory properties of various natural chemopreventive agents on the activation of NF-kappaB signaling pathway. Pharm Res 21:661–670
46. Jiang ZQ, Chen C, Yang B et al (2003) Differential responses from seven mammalian cell lines to the treatments of detoxifying enzyme inducers. Life Sci 72:2243–2253
47. Jones SB, Brooks JD (2006) Modest induction of phase 2 enzyme activity in the F-344 rat prostate. BMC Cancer 6:62
48. Kalpana Deepa Priya D, Gayathri R, Sakthisekaran D (2011) Role of sulforaphane in the anti-initiating mechanism of lung carcinogenesis in vivo by modulating the metabolic activation and detoxification of benzo(a)pyrene. Biomed Pharmacother 65:9–16

49. Kaminski BM, Steinhilber D, Stein JM et al (2012) Phytochemicals resveratrol and sulforaphane as potential agents for enhancing the anti-tumor activities of conventional cancer therapies. Curr Pharm Biotechnol 13:137–146
50. Kanematsu S, Yoshizawa K, Uehara N et al (2011) Sulforaphane inhibits the growth of KPL-1 human breast cancer cells in vitro and suppresses the growth and metastasis of orthotopically transplanted KPL-1 cells in female athymic mice. Oncol Rep 26:603–608
51. Kang HJ, Hong YB, Kim HJ et al (2012) Bioactive food components prevent carcinogenic stress via Nrf2 activation in BRCA1 deficient breast epithelial cells. Toxicol Lett 209:154–160
52. Karmakar S, Weinberg MS, Banik NL et al (2006) Activation of multiple molecular mechanisms for apoptosis in human malignant glioblastoma T98G and U87MG cells treated with sulforaphane. Neuroscience 141:1265–1280
53. Kim MR, Zhou L, Park BH et al (2011) Induction of G/M arrest and apoptosis by sulforaphane in human osteosarcoma U2-OS cells. Mol Med Report 4:929–934
54. Kuroiwa Y, Nishikawa A, Kitamura Y et al (2006) Protective effects of benzyl isothiocyanate and sulforaphane but not resveratrol against initiation of pancreatic carcinogenesis in hamsters. Cancer Lett 241:275–280
55. Lee JM, Johnson JA (2004) An important role of Nrf2-ARE pathway in the cellular defense mechanism. J Biochem Mol Biol 37:139–143
56. Liotta LA, Tryggvason K, Garbisa S et al (1980) Metastatic potential correlates with enzymatic degradation of basement membrane collagen. Nature 284:67–68
57. Liotta LA (1984) Tumor invasion and metastases: role of the basement membrane. Warner-Lambert Parke-Davis award lecture. Am J Pathol 117:339–348
58. Liotta LA (1986) Tumor invasion and metastases–role of the extracellular matrix: Rhoads memorial award lecture. Cancer Res 46:1–7
59. Maheo K, Morel F, Langouet S et al (1997) Inhibition of cytochromes P-450 and induction of glutathione S-transferases by sulforaphane in primary human and rat hepatocytes. Cancer Res 57:3649–3652
60. Matusheski NV, Jeffery EH (2001) Comparison of the bioactivity of two glucoraphanin hydrolysis products found in broccoli, sulforaphane and sulforaphane nitrile. J Agric Food Chem 49:5743–5749
61. Misiewicz I, Skupinska K, Kasprzycka-Guttman T (2003) Sulforaphane and 2-oxohexyl isothiocyanate induce cell growth arrest and apoptosis in L-1210 leukemia and ME-18 melanoma cells. Oncol Rep 10:2045–2050
62. Mithen R, Faulkner K, Magrath R et al (2003) Development of isothiocyanate-enriched broccoli, and its enhanced ability to induce phase 2 detoxification enzymes in mammalian cells. Theor Appl Genet 106:727–734
63. Morimitsu Y, Nakagawa Y, Hayashi K et al (2002) A sulforaphane analogue that potently activates the Nrf2-dependent detoxification pathway. J Biol Chem 277:3456–3463
64. Munday R, Munday CM (2004) Induction of phase II detoxification enzymes in rats by plant-derived isothiocyanates: comparison of allyl isothiocyanate with sulforaphane and related compounds. J Agric Food Chem 52:1867–1871
65. Myzak MC, Karplus PA, Chung FL et al (2004) A novel mechanism of chemoprotection by sulforaphane: inhibition of histone deacetylase. Cancer Res 64:5767–5774
66. Myzak MC, Dashwood WM, Orner GA et al (2006) Sulforaphane inhibits histone deacetylase in vivo and suppresses tumorigenesis in Apc-minus mice. FASEB J 20:506–508
67. Myzak MC, Hardin K, Wang R et al (2006) Sulforaphane inhibits histone deacetylase activity in BPH-1, LnCaP and PC-3 prostate epithelial cells. Carcinogenesis 27:811–819
68. Nguyen T, Nioi P, Pickett CB (2009) The Nrf2-antioxidant response element signaling pathway and its activation by oxidative stress. J Biol Chem 284:13291–13295
69. Nicolson GL (1982) Cancer metastasis. Organ colonization and the cell-surface properties of malignant cells. Biochim Biophys Acta 695:113–176

70. Pappa G, Lichtenberg M, Iori R et al (2006) Comparison of growth inhibition profiles and mechanisms of apoptosis induction in human colon cancer cell lines by isothiocyanates and indoles from Brassicaceae. Mutat Res 599:76–87
71. Park SY, Kim GY, Bae SJ et al (2007) Induction of apoptosis by isothiocyanate sulforaphane in human cervical carcinoma HeLa and hepatocarcinoma HepG2 cells through activation of caspase-3. Oncol Rep 18:181–187
72. Parkin DM, Bray F, Ferlay J et al (2001) Estimating the world cancer burden: Globocan 2000. Int J Cancer 94:153–156
73. Parnaud G, Li P, Cassar G et al (2004) Mechanism of sulforaphane-induced cell cycle arrest and apoptosis in human colon cancer cells. Nutr Cancer 48:198–206
74. Pham NA, Jacobberger JW, Schimmer AD et al (2004) The dietary isothiocyanate sulforaphane targets pathways of apoptosis, cell cycle arrest, and oxidative stress in human pancreatic cancer cells and inhibits tumor growth in severe combined immunodeficient mice. Mol Cancer Ther 3:1239–1248
75. Pledgie-Tracy A, Sobolewski MD, Davidson NE (2007) Sulforaphane induces cell type-specific apoptosis in human breast cancer cell lines. Mol Cancer Ther 6:1013–1021
76. Rudolf E, Cervinka M (2011) Sulforaphane induces cytotoxicity and lysosome- and mitochondria-dependent cell death in colon cancer cells with deleted p53. Toxicol In Vitro 25:1302–1309
77. Shan Y, Sun C, Zhao X et al (2006) Effect of sulforaphane on cell growth, G(0)/G(1) phase cell progression and apoptosis in human bladder cancer T24 cells. Int J Oncol 29:883–888
78. Shapiro TA, Fahey JW, Dinkova-Kostova AT et al (2006) Safety, tolerance, and metabolism of broccoli sprout glucosinolates and isothiocyanates: a clinical phase I study. Nutr Cancer 55:53–62
79. Shen G, Xu C, Chen C et al (2006) p53-independent G1 cell cycle arrest of human colon carcinoma cells HT-29 by sulforaphane is associated with induction of p21CIP1 and inhibition of expression of cyclin D1. Cancer Chemother Pharmacol 57:317–327
80. Shishu, Kaur IP (2003) Inhibition of mutagenicity of food-derived heterocyclic amines by sulforaphane–a constituent of broccoli. Indian J Exp Biol 41:216–219
81. Singh AV, Xiao D, Lew KL et al (2004) Sulforaphane induces caspase-mediated apoptosis in cultured PC-3 human prostate cancer cells and retards growth of PC-3 xenografts in vivo. Carcinogenesis 25:83–90
82. Singh SV, Herman-Antosiewicz A, Singh AV et al (2004) Sulforaphane-induced G2/M phase cell cycle arrest involves checkpoint kinase 2-mediated phosphorylation of cell division cycle 25C. J Biol Chem 279:25813–25822
83. Singh SV, Srivastava SK, Choi S et al (2005) Sulforaphane-induced cell death in human prostate cancer cells is initiated by reactive oxygen species. J Biol Chem 280:19911–19924
84. Singletary K, MacDonald C (2000) Inhibition of benzo[a]pyrene- and 1,6-dinitropyrene-DNA adduct formation in human mammary epithelial cells by dibenzoylmethane and sulforaphane. Cancer Lett 155:47–54
85. Stetler-Stevenson WG, Hewitt R, Corcoran M (1996) Matrix metalloproteinases and tumor invasion: from correlation and causality to the clinic. Semin Cancer Biol 7:147–154
86. Suh N, Luyengi L, Fong HH et al (1995) Discovery of natural product chemopreventive agents utilizing HL-60 cell differentiation as a model. Anticancer Res 15:233–239
87. Surh YJ (2003) Cancer chemoprevention with dietary phytochemicals. Nat Rev Cancer 3:768–780
88. Svehlikova V, Wang S, Jakubikova J et al (2004) Interactions between sulforaphane and apigenin in the induction of UGT1A1 and GSTA1 in CaCo-2 cells. Carcinogenesis 25:1629–1637
89. Tang L, Zhang Y (2004) Dietary isothiocyanates inhibit the growth of human bladder carcinoma cells. J Nutr 134:2004–2010
90. Thejass P, Kuttan G (2006) Antimetastatic activity of sulforaphane. Life Sci 78:3043–3050

91. Wang L, Liu D, Ahmed T et al (2004) Targeting cell cycle machinery as a molecular mechanism of sulforaphane in prostate cancer prevention. Int J Oncol 24:187–192
92. Xu C, Shen G, Yuan X et al (2006) ERK and JNK signaling pathways are involved in the regulation of activator protein 1 and cell death elicited by three isothiocyanates in human prostate cancer PC-3 cells. Carcinogenesis 27:437–445
93. Zhang Y, Talalay P, Cho CG et al (1992) A major inducer of anticarcinogenic protective enzymes from broccoli: isolation and elucidation of structure. Proc Natl Acad Sci USA 89:2399–2403
94. Zhang Y, Callaway EC (2002) High cellular accumulation of sulphoraphane, a dietary anticarcinogen, is followed by rapid transporter-mediated export as a glutathione conjugate. Biochem J 364:301–307
95. Zhong H, Bowen JP (2006) Antiangiogenesis drug design: multiple pathways targeting tumor vasculature. Curr Med Chem 13:849–862

Kanserde Kromatin Modülasyonunun Fonksiyonları, Anormallikleri ve Gelişmeler

Mariarosaria Conte ve Lucia Altucci

Özet

Kanserin başlangıcı ve progresyonu genel olarak genom ve epigenom deregülasyonları ile ilişkilidir. Tümörijenezde görülen epigenetik deregülasyonlar (örn. DNA metilasyonu, histon modifikasyonları ve miRNA'ya bağlı modülasyon) giderek daha fazla bildirilmektedir. Farklı kromatin modüle edici enzimler ve kanser ile ilişkili anormallikler de keşfedilmekte ve sınıflandırılmaktadır. Kromatin enzimlerindeki değişimlerin ve kanserdeki rollerinin daha iyi anlaşılması kanserin önlenmesi ve tedavisinde epigenetik hedeflemenin kullanılabilmesinde önemli bir basamaktır.

Anahtar Kelimeler

Kanser • Epi-modifikasyonlar • Yazarlar • Okuyucular • Siliciler • Tedavi

Kısaltmalar

AML	Akut myeloid lösemi
AR	Androjen reseptörü
CARM1	Koaktivatör ile ilişkili arginin metiltransferaz1
CBP	CREB-bağlayıcı protein
CLL	Kronik lenfositik lösemi

M. Conte · L. Altucci (✉)
Dipartimento di Biochimica, Biofisica e Patologia generale, Seconda Università di Napoli,
Vico L. De Crecchio 7, 80138, Naples, Italy
e-mail: lucia.altucci@unina2.it

L. Altucci
Istitutodi Genetica e Biofisica, Adriano Buzzati Traverso, CNR-IGB,
Via P. Castellino 111, 80131, Naples, Italy

V. Zappia et al. (eds.), *Advances in Nutrition and Cancer,*
Cancer Treatment and Research 159, DOI: 10.1007/978-3-642-38007-5_13,
© Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2014

DNMT	DNA metiltransferaz
DZNep	Deazaneplanosin A
EHMT2	Histon-lisin N-metiltransferaz
ER	Östrojen reseptörü
Eu-HMtaz1	Ökromatik Histon-lisin N-metiltransferaz 1
FBXL11	F-box ve lösinden zengin tekrar proteini 1
HAT	Histon asetiltransferaz
HDAC	Histon deasetilaz
HMT	Histon metiltransferaz
JHDM1B	JmjC-domain-içeren histon demetilaz 1B
JMJD5	Jumonji domain içeren 5
KDM	Lisin (K) demetilaz
KDM2B	Histon demetilaz 2B
KDM5	Histon demetilaz 5
KDM8	Histon demetilaz 8
KMT	Lisin metiltransferaz
LSD1	Lisin-spesifik demetilaz 1
MLL	Karışık soy lösemi
MOZ	Monositik lösemi çinko parmak protein
PCAF	P300/CBP-ile ilgili faktör
PRC2	Polikomb baskılayıcı kompleks 2
PRMT	Protein arginin metiltransferazlar
RBP2	Retinol-bağlayıcı protein 2
SIRT	Sirtuin

İçindekiler

1 Arkaplan 229
2 Kanserde Epi-enzimler 229
2.1 HAT'lar 229
2.2 Kanserde (de)asetilasyon ve HDAC'lar 230
2.3 HMT'ler ve KDM'ler 232
2.4 DNMT'ler 232
3 Epi-kanser Tedavi 233
3.1 HDAC ve HATM Modülatörleri 233
3.2 PRMT, KMT ve KDM İnhibitörleri 234
3.3 DNA Metiltransferaz İnhibitörleri 234
4 Sonuçlar 235
Referanslar 236

1 Arkaplan

Epi-modifikasyonlar ve etkileri ile ilgili çalışmalar bu konudaki bilgilerimiz arttıkça gelişmektedir. Histon kodunun ve biyolojideki kritik rolünün anlaşılması bu modifikasyonları "yazan" enzimler olan *yazıcılar*, modifiye kromatini "okuyan" enzimler *okuyucular* ve spesifik bir modifikasyonu ortadan kaldıran *siliciler* ile ilgili çalışmaları doğurdu [1]. Bu nedenle kanserdeki epigenetik işaretler ve bu işaretlerin yansımaları yeni terapötik stratejiler için önemli bir basamak teşkil etmektedir [2]. Belirli bir hücredeki epigenetik ve genetik değişimler proliferasyon, migrasyon, büyüme, farklılaşma, transkripsiyon ve ölüm sinyal yolaklarının deregülasyonuna yol açar Kanserin başlamasını sağlayan tüm bu değişiklikler, çevreleyen stromada değişikliklere ve immun sistem bozukluklarına yol açarlar.

2 Kanserde Epi-enzimler

Kromatin yapısı histonlar ve DNA'nın kovalent modifikasyonlarını içeren spesifik mekanizmalar ile tekrar modellenebilmektedir. DNA, CpG adacıklarında sitozinin metilasyonunu tetiklerken, histonların hem N-terminal hem de C-terminal uçlarını hatta globüler bölgelerini de kapsayan çok sayıda modifikasyona oluşur. Histon modifikasyonları kromatin yapısını dinamik olarak değiştirerek (epigenetik plastisite) hücredeki bu değişimlerle ilgili biyolojik sonuçların oluşmasına yol açar. Ancak, modülasyonun non-histon substratları da içermesinin bazı komplikasyonları mevcuttur [3]. Bundan dolayı, dikkatler kromatin modifiye edici enzimlerin kanserdeki deregülasyonlarının tanımlanmasına ve terapötik hedef olabilme potansiyellerine odaklanmıştır.

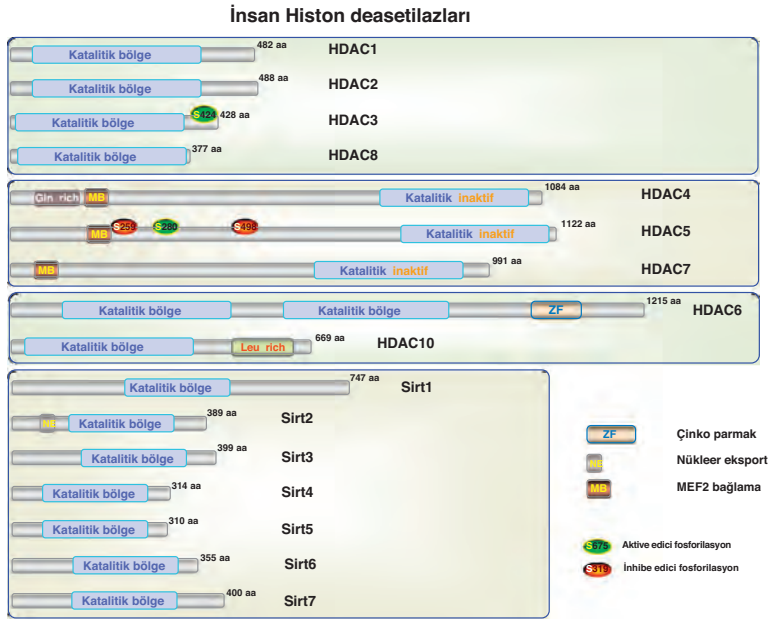
2.1 HAT'lar

İki ana HAT kategorisi vardır. A tipi HAT'lar histonların çekirdeklerindeki kromatini asetillerken, B tipi HAT'lar ise hücrede daha geniş bir rol oynarlar. A tipi HAT'lar, HAT bölgesindeki sekans homolojisine göre dört aileye ayrılır: Gcn5/PCAF [4], MYST [5], p300/CBP [6] ve Rtt109. Rtt109'un mikotik-spesifik olduğu bildirilmiştir [7]. p300 ve CBP prostat kanserinde aşırı eksprese olarak androjen reseptörüne (AR) cevap veren gen modülasyonunu değişime uğratır. CBP de t(8; 16)'da transloke olmuştur. Bunun içinde 8p11'de bulunan MOZ, CBP ile kaynaşmıştır [8] p300'ün mutasyonları da (sıklıkla C-terminal kısalması) birçok tümörde mevcuttur [9–11]. PCAF'nin aşağı regülasyonu gastrik kanser progresyonu ve kötü prognozla ilişkilidir. Tip60 mutasyonları prostat kanserinde DNA tamir deregülasyonu ve apoptoza rezistans ile ilişkilidir. PCAF ve Gcn5 pediatrik hastalardaki merkezi sinir sistemi hastalıklarında ve Wilms tümörlerinde aşırı eksprese olurlar [12].

2.2 Kanserde (de)asetilasyon ve HDAC'lar

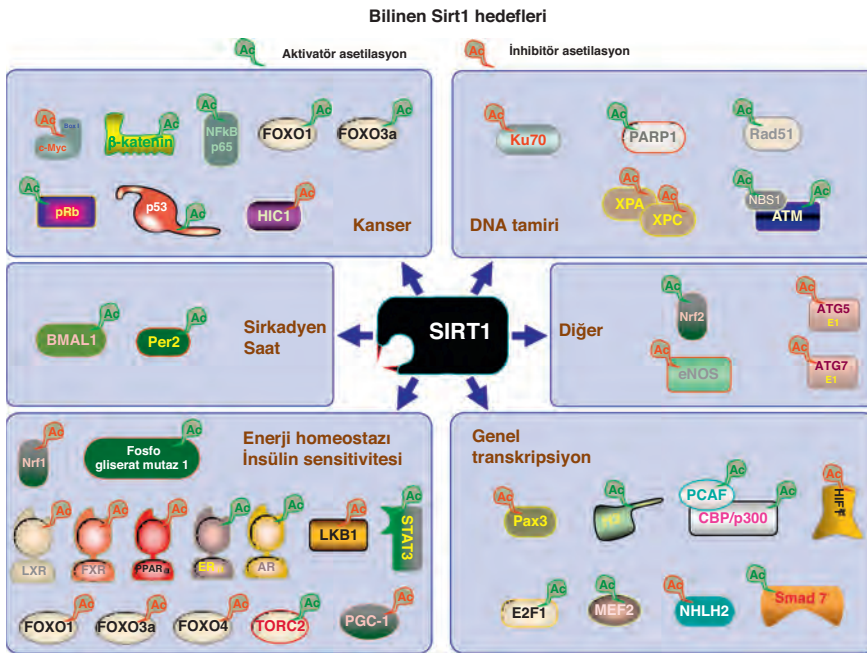
HDAC ve HAT aktiviteleri arasındaki denge gen ekspresyonunun regülasyonunda önemli rol oynamaktadır. Gelecekte yapılacak çalışmalar asetilasyonun modülasyonunun kanserle nedensel ilişkisi olup olmadığını veya kompleks epi-deregülasyonlarla oluşup oluşmadığını aydınlığa kavuşturacaktır. Sonuç olarak, asetilasyon düzeyindeki genel değişimlerden kaynaklanan kanserlerin epi-terapötik yaklaşımdan fayda görüp görmeyeceği (görürse de ne boyutta göreceği) hala araştırılması gereken bir konudur.

HDAC lösemi gibi insan kanserlerindeki gen regülasyonunda önemli bir rol oynar [13]. HDAC'lar dört sınıfa ayrılmıştır: Sınıf I HDAC'lar (HDAC1, HDAC2, HDAC3, ve HDAC8), Saccharomyces cerevisae Rpd3 homoloğu; Sınıf II (sınıf IIa ve sınıf IIb'ye ayrılır) HDAC'lar (HDAC4, HDAC5, HDAC6, HDAC7, HDAC9, HDAC10), maya HDA1 homoloğu; sınıf III HDAC'lar (sirtuinler), maya Sir2 homoloğu enzimler içerir; sınıf IV'de sadece HDAC11 vardır (Şema için bkz. Şekil 1). HDAC1 gastrik, kolorektal, hepatik, meme ve pankreas kanserini de içeren bazı kanserlerde özellikle yüksek düzeyde eksprese olur [14–16]. HDAC2 mutasyonu kolon kanserinde tespit edilmiştir. Ayrıca özofagus, prostat ve gastrointestinal karsinomlarda aşırı eksprese olur [17–19]. HDAC3 aşırı ekspresyonu tespit edilen prostat, mide, kolorektum ve kronik lenfositik lösemi [16, 18, 20, 21] gibi birçok kanser tipi kötü prognoz ile ilişkilidir. HDAC4 do-



Şekil 1 İnsan histon deasetilazlarının şematik gösterimi.

kuya spesifik olarak eksprese olarak kolon kanseri hücrelerini hücre siklüs regülatörü p21'in represyonu yoluyla destekler [22]. HDAC5'nin aşağı regülasyonu akciğer kanserinde [23], aşırı ekspresyonu ise kolon kanserinde tespit edilmiştir [24]. HDAC6'nın aşağı yönlü ekspresyon düzeyleri lenfomalarda gözlenmiştir [25]. Ancak oral skuamoz hücreli kanserde daha yüksek ekspresyon düzeyleri bulunmuştur [26]. HDAC8'in rolü kronik lenfositik lösemili çocuklarda araştırılmıştır [27]. III HDAC sınıfından SIRT1 sıklıkla yaşa bağlı neoplazmlarla ilgili karsinogenezde rol oynar (kanser ve diğer hastalıklarda SIRT1 hedefleri için bkz. Şekil 2). Sirtuinler özellikle yaşlanma, kanser ve stres cevabı ile ilgilidirler. SIRT1 aşırı ekspresyonu prostat, kolon, cilt kanserleri ve akut myeloid lösemide (AML)görülür [28]. SIRT1 dışındaki diğer sirtuinler de (örn. SIRT4 ve 7) kanser gelişimi ile ilişkilidir [29]. Buna karşın gastrik karsinom ve gliomalarda ise düşük SIRT2 seviyeleri gözlenmiştir. SIRT3 gibi bazı sirtuinlerin meme kanserinin bazı farklı formlarında hem yukarı hem de aşağı regüle oldukları bildirildiği için, komplike bir senaryo mevcuttur. SIRT4 kaybı kanser için majör bir risk faktörü olan diyabete yol açabilir. ADP riboziltransferaz aktivitesi de gösteren SIRT6 beyin ve iskelet kasında yaygın olarak aşırı eksprese olur. Ayrıca rRNA genlerinin aktif transkripsiyonunu destekleyen SIRT7 kalp, beyin ve iskelet kası gibi prolifere olmayan dokularda düşük miktarlarda bulunmaktadır.



Şekil 2 SIRT1 hedeflerinin şematik görünümü.

2.3 HMT'ler ve KDM'ler

Histonlar arginin metiltransferazlar (PRMT'ler) ve lisin metiltransferazlar (KMT'ler) gibi enzimler (HMT) ile metile olurlar. PRMT1 karışık soy löseminin (MLL) onkojenik füzyon proteinlerindeki önemli bir komponentidir [30]. PRMT6, H3R2'yi metile eder; bu metilasyon H3K4me3 aktivasyonunu etkisizleştirebilir. PRMT1 düzeylerinin meme ve kolon kanserlerinde yükseldiği bulunmuştur [31]. PRMT2 östrojen reseptörü (ER) ile etkileşime girebilir ve AR'nin güçlü koaktivatörü olarak etki gösterir. PRMT3 protein sentezinin regülasyonunda rol oynarken, CARM1 (koaktivatörle ilişkili arginin metiltransferaz1) olarak da bilinen PRMT4'ün arginin ile regüle edilen transkripsiyon mekanizmasını kontrol ettiği bilinmektedir. CARM1, histon H3'ü metile eder ve mutasyonu metiltransferaz ve p160 koaktivatör regülasyonunu azaltır [32]. CARM1 meme kanserinde aşırı eksprese olur [33]. PRMT5 lenfoma ve lösemi hücreleri ile gastrik karsinomda güçlü bir şekilde eksprese olur. Bir H3K27 KMT olan EZH2 polikomb baskılayıcı kompleks 2 (PRC2) ile etkileşir ve prostat kanseri gibi solid tümörlerde [35] ve pro-B hücrelerinde yüksek oranda eksprese olur [36]. SUV39H1/2 (KMT1A/B) aşırı ekspresyonu diyetle indüklenen tümörlerde bildirilmiştir [37]. Kolon kanseri hücrelerinde ise mRNA düzeylerinde artış görülür. Lisin metiltransferaz G9a, supresor gen sessizleştirmesinde regüle olan H3K9 dimetilasyonuna katkı yapar. G9a lösemi, prostat, akciğer kanseri ve hepatoselüler karsinom gibi çeşitli kanserlerde aşırı eksprese olur [38]. KMT1D (veya Eu-HMTaz1) salgı bezi tümörlerinde aşırı eksprese olurken [39], SETDB1/ESET tümörlerdeki promotör bölgelerinin sessizleştirilmesinde K9'daki histon H3'ün trimetilasyonu yoluyla DNA metiltransferaz (DNMT) ile koopere olur. Lökemojenezde MLL1'in (KMT2A'da denir) çok sayıda mutasyonları ve yeniden düzenlenmeleri gözlenmiştir. MLL4 (KMT2D'de denir) karaciğer karsinogenezinde rol oynar. Ayrıca histon demetilazların (KDM) değişimi de kansere yol açabilir veya kanser oluşumuna katkıda bulunabilir. Meme kanserinde KDM1 (LSD1) aşağı regülasyonu metastaz ile koreledir. Jumonji alanındaki demetilazların anormal regülasyonu çeşitli kanser hücre dizilerinde gözlenmiştir. KDM2B (JHDM1B/ FBXL11), H3K35me2 ve H3K4me3'ün dimetilasyonunu hücre döngüsünde rol oynayan T-hücreli lenfomalardaki p14, p15 ve p16 gibi proteinleri aşağı regüle ederek engeller. RBP2 (KDM5A), PLU1 (KDM5B), ve SMCX'yi de (KDM5C) içeren KDM5 ailesi gastrik, servikal, akciğer, meme, prostat, böbrek ve lösemiler gibi birçok kanser cinsinde sıklıkla aşırı eksprese olur. Lisin demetilazların bir başka ailesi olan KDM8 ve JMJD5, H3K36me2'yi hedefler. Bu enzim meme, tiroid, adrenal, mesane ve karaciğer kanserlerinde [40] aşırı eksprese olarak hücre proliferasyonunda önemli rol oynar.

2.4 DNMT'ler

DNA metilasyonu sıklıkla epigenetik sessizleştirme olayı olarak tanımlanır Metilasyon DNMT ailesine ait enzimler tarafından katalizlenir. Bir çok kanser türü DNA metilasyon düzeyleri ile ilişkilidir. DNA hipermetilasyondan daha sık olarak hipometilasyona

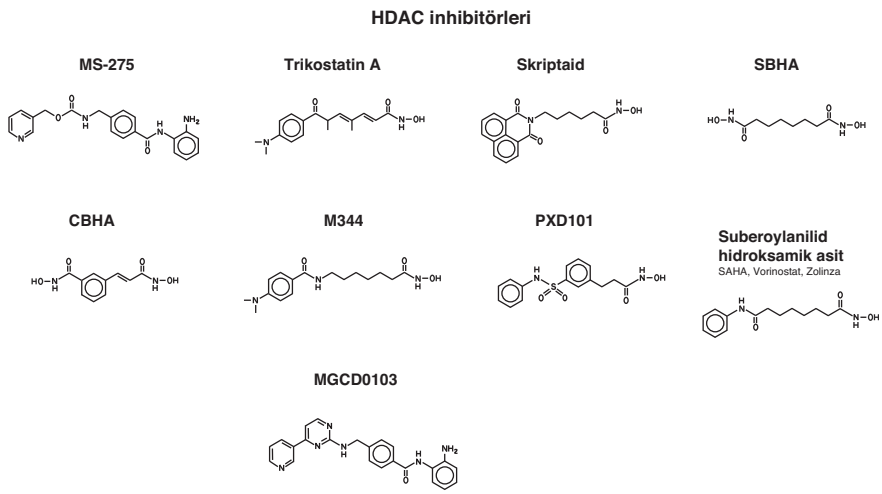
uğramaktadır. Genomik DNA normal hücrelerin prokanseröz hücrelere dönüşümünde rol oynayan faktörlerin daha iyi anlaşılması için yapılmakta olan birçok çalışmanın konusudur [41, 42].

3 Epi-Kanser Tedavisi

3.1 HDAC ve HAT Modülatörleri

HDACi kanser ile ilgili anormalliklerin geriye çevrilmesinde potansiyel bir strateji teşkil etmekte olup birçoğu klinik çalışmalarla test edilmektedir [43]. HDACi'nin kanserdeki rolünün ayrıntılı tanımı için (bilinen bazı HDACi için bkz. Şekil 3) [44–46] nolu referanslara başvurulmasını öneririz. Selektif HDACi'lerin geniş etkili HDACi'lere göre (pan HDACi) avantajlı olup olmadığı (veya yan etkileri azaltıp azaltmadığı) konusu hala cevap bekleyen bir sorudur.

HDACi'lerin tersine, HAT'ları zayıf derecede modüle eden az sayıda valide molekül bilinmektedir (bkz. Şekil 4). Son dekadda peptid-CoA konjugatlarının iki analog substratı olan Lys-CoA ve H3-CoA-20'nin güçlü p300 ve PCAF inhibitörleri olduğu bildirilmiştir. Ancak metabolik instabiliteleri ilaç olarak kullanımlarını engellemektedir. İzotiazolonlar ve analoglarından oluşan diğer PCAF inhibitörleri doz ve zamana bağlı olarak asetilasyon inhibitörü etkisi gösterirler. B tipi bir PBD olan garsinol virüs, bakteri, gastrik ülserler ve kolon adenokarsinomu gibi kanserlere karşı aktiftir [47]. Garsinolun türevleri de (LTK-13, LTK-14 ve disulfonil yedekli derive LTK-19) sentezlenmiştir. Bir diğer ümit vadeden HATi de kaşu cevizinin kabuk sıvısının ana komponenti olan



Şekil 3 Bilinen bazı HDAC inhibitörlerinin yapısı.

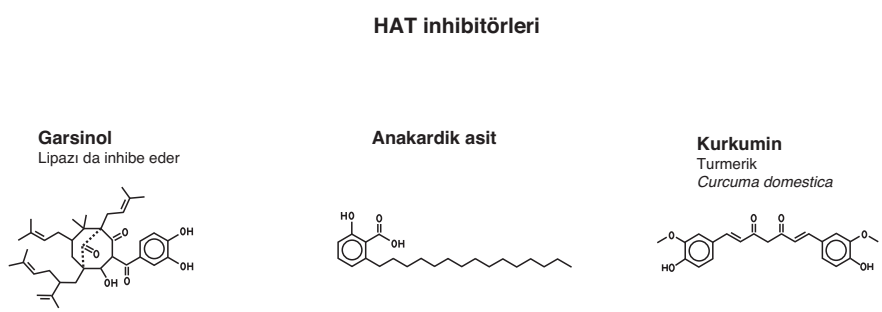
anakardik asittir (AA). Bu bileşik meme kanseri hücrelerinin yayılımını ER-alfa DNA bağlanmasını inhibe ederek azaltır [48]. Gcn5 inhibitörleri, T-butirolaktonlar da sentezlenmiş ve yararlı etkileri olduğu önerilmiştir [49]. p300 inhibitörü olan kurkuminin birçok kanser türünün önlenmesinde ve tedavisinde aktif olduğu bildirilmiştir. HATi, HDACi gelişiminden daha az gelişmiştir. Bu durum muhtemelen HAT'ların HDAC'lara kıyasla aşırı ekspresyondan ziyade daha fazla mutasyona uğramasından kaynaklanabilir. Bu durum inhibitörlerin gelişimini muhtemelen geciktirmesine rağmen, mutasyona uğramış HAT'lar için selektif HATi'ler kanserde tahmin edilebilir spesifitesi olan geçerli bir alternatif strateji olabilir.

3.2 PRMT, KMT ve KDM İnhibitörleri

PRMT değişimleri birçok kanser ile korele olabilir. Bundan dolayı metiltransferazları modüle edebilen moleküller tedavide tercih edilmektedir. Bir mikotoksin olan kaetosin, miyelom hücrelerinde ve in vivo antimiyelom aktivitesi gösteren bir SUV39H1 inhibitörüdür [50]. BIX01294 ilk G9a ve GLP inhibitörüdür. Spesifik transkripsiyon faktörleri için korepresör işlevi olan ve mesane karsinomlarında güçlü bir şekilde eksprese olan histon metiltransferaz EHMT2'yi inhibe eder [51]. Ayrıca p-aminosulfonamidlerin ve dapsonun asil türevleri de tanımlanmıştır. Özellikle dapson glioblastom tedavisi için önerilmiştir [52]. Tranilsipromin (trans-2-fenilsiklopropilamin) ve analogları en iyi bilinen LSD1 inhibitörleridir. Tranilsipromin sarkoma, periferik sinir kılıfı tümörleri ve promiyelositik lösemilerin tedavisi için önerilmiştir [53, 54]. Deazaneplanosin A (DZNep) PRC2 ile etkileşime girer ve kanser hücrelerindeki apoptozu indükler. EZH2'nin DZNep ile inhibisyonu meme kanseri hücrelerindeki proliferasyonu azaltır [55]. AML tedavisinde DNZep ve bir HDACi olan Panobinostatın birlikte kullanımı primer lösemi hücrelerinde apoptotik etki gösterir [56].

3.3 DNA Metiltransferaz İnhibitörleri

Gıda ve İlaç İdaresi (FDA) DNMT inhibitörleri 5-azasitidin (azasitidin) ve 5-aza-2-deoksisitidin (desitabin) miyelodisplastik sendromlar (MDS) için onaylamıştır [57]. De-



Şekil 4 Bilinen bazı HAT inhibitörlerinin yapıları.

sitabin triple negatif meme kanserindeki sessizleştirilmiş ER'nin reekspresyonu için de kullanılmıştır. Bir diğer önemli DNA Metiltransferaz İnhibitörü (DNMTi) olan zebularin, normal hücrelerin aksine malign hücrelere selektif olarak bağlanır. Ovaryum ve serviks karsinomları gibi kanserler DNMTi hidralazin ile tedavi edilebilir [58]. DNMT'lerin direkt inhibisyonu için nonnükleozid hedefli moleküller de önerilmiştir. Fosforotioat antisens oligonükleotid MG98 faz I bir çalışmada miyelodisplazi ve AML olan hastalarda test edilmiştir [59]. RG108 lenfoid, miyeloid ve kolorektal kanserlerde zebularine benzer düzeyde demetile edici etki göstermiştir. SGI-1027 DNMT1, DNMT3a, ve DNMT3b'yi inhibe eder ve hepatoselüler, servikal, prostat ve meme kanserinde test edilmiştir [60].

4 Sonuçlar

DNA metilasyon bozuklukları ve histon modifikasyonları kanserin gelişimini ve progresyonunu indükleyebilir. Kromatin değişimleri *yazıcılar* ve *siliciler* tarafından regüle edilirken, *okuyucular* tarafından "mayınlanabilir". Bu kompleks epi-regüle senaryoda tekil modifikasyonlar (ve tekil enzimler) ile diğer histon işaretleri ve enzimatik komplekslerle olan bağlantılar malignitelerdeki epigenetik deregülasyonu anlayabilmek için göz önünde bulundurulmalıdır. Kromatin modifikasyonlarının muhtemelen birbirine karşıt veya aditif özelliklere sahip olması birbirlerinin salınımlarını etkileyerek gen ekspresyonundaki kromatin modülasyonunu kompleks bir hale getirir. Kanserle ilgili çok sayıda büyük kapsamlı tarama çalışmasında bazı histon işaretlerinin ve epi-enzimlerin kanserdeki önemi vurgulanmıştır. Laboratuar bilgilerimizin kliniğe uygulanması için epigenetik statüsünün modifikasyonunun indüklenmesi ile deregüle olan kanserdeki geniş kromatin alanlarını "hedefleyen" yeni tedavilerin tanımlanması gerekir. Bu nedenle mevcut epi-kanser tedavi şemalarının dikkatli hasta sınıflandırması ile yeniden değerlendirilmesi gerekebilir. Epi-modülatörlerin antikanser aktivitelerinin sadece "temiz" epi-etkilerden mi kaynaklandığı yoksa non-epigenetik etkilerin de değerlendirilmesinin gerekip gerekmediği (gerekirse hangi düzeyde) net değildir. Non-histon hedeflerin epimoleküller ile net bir şekilde modüle edilmeleri ve az sayıda epi-tedavinin klinikte kullanılıyor olması (başlıca HDACi ve DNA demetile edici ajanlar) konunun komplekslik derecesini artırmaktadır. HDACi'lerin kanser tedavisinde kullanılması, (örneğin) histonların asetilasyonunun orijinal olarak önerildiği gibi tedaviye verilen cevap olarak değil tedavinin etkileri ile ilgili bilgi olarak değerlendirilmesinin önerilmesine yol açmıştır. Bu nedenle yapılabilecek bir seçim *yazıcı, okuyucu* ve *silicilerin* (aşırı ekspresyon veya sessizleştirme) dengeli olmayan bir kombinasyonu veya bu enzimlerin mutasyonu olabilir. Kanserde mutasyona uğrayan epi-enzimler sadece mutasyonlu enzimi modüle edebilecek selektif moleküllerin sentezlenebilmeleri adına açık bir fırsat sunmaktadır. Böylece tümör selektif etki elde edilecektir. İlginç biçimde HDAC'lar kanserde sayısal olarak daha sık değişime uğrarken (HDAC2 mutasyonu hariç) HAT'lar daha sık mutasyona uğramaktadır. Bu açık farklılığın etkileri hala araştırılması gereken bir konudur. Ayrıca bu alanda yeni tanımlanan kromatin işaretlerini kapsayan buluşlar progresif olarak devam etmekte olup bulunmaları için sarfedilen eforlar şu andaki bakış açımızı hızla

değiştirebilir. Kanserin epi-tedavisinde selektif ya da daha geniş etkili kromatin modülatörlerinin seçimi konusundaki tartışmalar hala sürmekte olup, ortaya muhtemelen birden fazla opsiyon çıkacaktır. Farklı modifiye edicilerin ve işaretlerin multipl değişimlere yol açmaları durumunda daha geniş etkili bir modülatör tabii ki daha avantajlıdır. Bu nedenle multipl epi-modülatörler (birden fazla enzim sınıfını hedeflerler) kanser tedavisinde ümit verici bir yaklaşım olabilir. Hala kapsamlı olarak valide edilmeye ihtiyaç gösteren bu son yaklaşım kromatin "re-modülasyonunun" daha hedefe yönelik olarak kullanılmasını sağlayabilir.

Teşekkürler: Bu çalışma Avrupa Birliği tarafından desteklenmiştir: Blueprint (contract no 282510); Italian IHEC (Flag Project: EPIGEN); İtalyan Kanser Araştırma Birliği (AIRC no 11812); İtalyan Üniversite ve Araştırma Bakanlığı (PRIN_2009PX2T2E_004); PON002782; PON0101227. C. Fisher'e metnin redaksiyonu için teşekkür ederiz.

Referanslar

1. Janzen WP, Wigle TJ, Jin J, Frye SV (2010) Epigenetics: tools and technologies. Drug Discov Today Technol 7:e59–e65
2. Wilting RH, Dannenberg JH (2012) Epigenetic mechanisms in tumorigenesis, tumor cell heterogeneity and drug resistance. Drug resistance updates: reviews and commentaries in antimicrobial and anticancer chemotherapy
3. Kouzarides T (2007) Chromatin modifications and their function. Cell 128:693–705
4. Liu X, Wang L, Zhao K, Thompson PR, Hwang Y, Marmorstein R et al (2008) The structural basis of protein acetylation by the p300/CBP transcriptional coactivator. Nature 451:846–850
5. Sapountzi V, Cote J (2011) MYST-family histone acetyltransferases: beyond chromatin. Cell Mol Life Sci CMLS 68:1147–1156
6. Bowers EM, Yan G, Mukherjee C, Orry A, Wang L, Holbert MA et al (2010) Virtual ligand screening of the p300/CBP histone acetyltransferase: identification of a selective small molecule inhibitor. Chem Biol 17:471–482
7. Stavropoulos P, Nagy V, Blobel G, Hoelz A (2008) Molecular basis for the autoregulation of the protein acetyl transferase Rtt109. In: Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, vol 105, pp 12236–12241
8. Sobulo OM, Borrow J, Tomek R, Reshmi S, Harden A, Schlegelberger B et al (1997) MLL is fused to CBP, a histone acetyltransferase, in therapy-related acute myeloid leukemia with a t(11;16)(q23;p13.3). In: Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, vol 94, pp 8732–8737
9. Iyer NG, Ozdag H, Caldas C (2004) p300/CBP and cancer. Oncogene 23:4225–4231
10. Muraoka M, Konishi M, Kikuchi-Yanoshita R, Tanaka K, Shitara N, Chong JM et al (1996) p300 gene alterations in colorectal and gastric carcinomas. Oncogene 12:1565–1569
11. Bryan EJ, Jokubaitis VJ, Chamberlain NL, Baxter SW, Dawson E, Choong DY et al (2002) Mutation analysis of EP300 in colon, breast and ovarian carcinomas. Int J Cancer J Int du Cancer. 102:137–141
12. Armas-Pineda C, Arenas-Huertero F, Perezpenia-Diazconti M, de Leon FC, Sosa-Sainz G, Lezama P et al (2007) Expression of PCAF, p300 and Gcn5 and more highly acetylated histone H4 in pediatric tumors. J Exp Clin Cancer Res: CR 26:269–276
13. Timmermann S, Lehrmann H, Polesskaya A, Harel-Bellan A (2001) Histone acetylation and disease. Cell Mol Life Sci: CMLS 58:728–736
14. Choi JH, Kwon HJ, Yoon BI, Kim JH, Han SU, Joo HJ et al (2001) Expression profile of histone deacetylase 1 in gastric cancer tissues. Japan J Cancer Res: Gann 92:1300–1304

15. Rikimaru T, Taketomi A, Yamashita Y, Shirabe K, Hamatsu T, Shimada M et al (2007) Clinical significance of histone deacetylase 1 expression in patients with hepatocellular carcinoma. Oncology 72:69–74
16. Weichert W, Roske A, Gekeler V, Beckers T, Stephan C, Jung K et al (2008) Histone deacetylases 1, 2 and 3 are highly expressed in prostate cancer and HDAC2 expression is associated with shorter PSA relapse time after radical prostatectomy. Br J Cancer 98:604–610
17. Ropero S, Fraga MF, Ballestar E, Hamelin R, Yamamoto H, Boix-Chornet M et al (2006) A truncating mutation of HDAC2 in human cancers confers resistance to histone deacetylase inhibition. Nat Genet 38:566–569
18. Fritzsche FR, Weichert W, Roske A, Gekeler V, Beckers T, Stephan C et al (2008) Class I histone deacetylases 1, 2 and 3 are highly expressed in renal cell cancer. BMC Cancer 8:381
19. Chang HH, Chiang CP, Hung HC, Lin CY, Deng YT, Kuo MY (2009) Histone deacetylase 2 expression predicts poorer prognosis in oral cancer patients. Oral Oncol 45:610–614
20. Krusche CA, Wulfing P, Kersting C, Vloet A, Bocker W, Kiesel L et al (2005) Histone deacetylase-1 and -3 protein expression in human breast cancer: a tissue microarray analysis. Breast Cancer Res Treat 90:15–23
21. Moreno DA, Scrideli CA, Cortez MA, de Paula Queiroz R, Valera ET, da Silva Silveira V et al (2010) Differential expression of HDAC3, HDAC7 and HDAC9 is associated with prognosis and survival in childhood acute lymphoblastic leukaemia. Br J Haematol 150:665–673
22. Wilson AJ, Byun DS, Nasser S, Murray LB, Ayyanar K, Arango D et al (2008) HDAC4 promotes growth of colon cancer cells via repression of p21. Mol Biol Cell 19:4062–4075
23. Osada H, Tatematsu Y, Saito H, Yatabe Y, Mitsudomi T, Takahashi T (2004) Reduced expression of class II histone deacetylase genes is associated with poor prognosis in lung cancer patients. Int J Cancer J Int du Cancer 112:26–32
24. Ozdag H, Teschendorff AE, Ahmed AA, Hyland SJ, Blenkiron C, Bobrow L et al (2006) Differential expression of selected histone modifier genes in human solid cancers. BMC Genomics 7:90
25. Gloghini A, Buglio D, Khaskhely NM, Georgakis G, Orlowski RZ, Neelapu SS et al (2009) Expression of histone deacetylases in lymphoma: implication for the development of selective inhibitors. Br J Haematol 147:515–525
26. Sakuma T, Uzawa K, Onda T, Shiiba M, Yokoe H, Shibahara T et al (2006) Aberrant expression of histone deacetylase 6 in oral squamous cell carcinoma. Int J Oncol 29:117–124
27. Amann JM, Nip J, Strom DK, Lutterbach B, Harada H, Lenny N et al (2001) ETO, a target of t(8, 21) in acute leukemia, makes distinct contacts with multiple histone deacetylases and binds mSin3A through its oligomerization domain. Mol Cell Biol 21:6470–6483
28. Carafa V, Nebbioso A, Altucci L (2012) Sirtuins and disease: the road ahead. Front Pharmacol 3:4
29. Ashraf N, Zino S, Macintyre A, Kingsmore D, Payne AP, George WD et al (2006) Altered sirtuin expression is associated with node-positive breast cancer. Br J Cancer 95:1056–1061
30. Cheung N, Chan LC, Thompson A, Cleary ML, So CW (2007) Protein arginine-methyltransferase-dependent oncogenesis. Nat Cell Biol 9:1208–1215
31. Papadokostopoulou A, Mathioudaki K, Scorilas A, Xynopoulos D, Ardavanis A, Kouroumalis E et al (2009) Colon cancer and protein arginine methyltransferase 1 gene expression. Anticancer Res 29:1361–1366
32. Chen D, Ma H, Hong H, Koh SS, Huang SM, Schurter BT et al (1999) Regulation of transcription by a protein methyltransferase. Science 284:2174–2177
33. Frietze S, Lupien M, Silver PA, Brown M (2008) CARM1 regulates estrogen-stimulated breast cancer growth through up-regulation of E2F1. Cancer Res 68:301–306
34. Pal S, Vishwanath SN, Erdjument-Bromage H, Tempst P, Sif S (2004) Human SWI/SNF-associated PRMT5 methylates histone H3 arginine 8 and negatively regulates expression of ST7 and NM23 tumor suppressor genes. Mol Cell Biol 24:9630–9645

35. Yu J, Yu J, Rhodes DR, Tomlins SA, Cao X, Chen G et al (2007) A polycomb repression signature in metastatic prostate cancer predicts cancer outcome. Cancer Res 67:10657–10663
36. Su IH, Basavaraj A, Krutchinsky AN, Hobert O, Ullrich A, Chait BT et al (2003) Ezh2 controls B cell development through histone H3 methylation and Igh rearrangement. Nat Immunol 4:124–131
37. Pogribny IP, Tryndyak VP, Muskhelishvili L, Rusyn I, Ross SA (2007) Methyl deficiency, alterations in global histone modifications, and carcinogenesis. J Nutr 137:216S–222S
38. Watanabe H, Soejima K, Yasuda H, Kawada I, Nakachi I, Yoda S et al (2008) Deregulation of histone lysine methyltransferases contributes to oncogenic transformation of human bronchoepithelial cells. Cancer Cell Int 8:15
39. Aniello F, Colella G, Muscariello G, Lanza A, Ferrara D, Branno M et al (2006) Expression of four histone lysine-methyltransferases in parotid gland tumors. Anticancer Res 26:2063–2067
40. Hsia DA, Tepper CG, Pochampalli MR, Hsia EY, Izumiya C, Huerta SB et al (2010) KDM8, a H3K36me2 histone demethylase that acts in the cyclin A1 coding region to regulate cancer cell proliferation. In: Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, vol 107, pp 9671–9676
41. Schausberger E, Hufnagl K, Parzefall W, Gerner C, Kandioler-Eckersberger D, Wrba F et al (2004) Inherent growth advantage of (pre)malignant hepatocytes associated with nuclear translocation of pro-transforming growth factor alpha. Br J Cancer 91:1955–1963
42. Toyota M, Yamamoto E (2011) DNA methylation changes in cancer. Prog Mol Biol Transl Sci 101:447–457
43. Bolden JE, Peart MJ, Johnstone RW (2006) Anticancer activities of histone deacetylase inhibitors. Nat Rev Drug Discov 5:769–784
44. Dell'aversana C, Lepore I, Altucci L (2012) HDAC modulation and cell death in the clinic. Exp Cell Res 318:1229–1244
45. Venugopal B, Evans TR (2011) Developing histone deacetylase inhibitors as anti-cancer therapeutics. Curr Med Chem 18:1658–1671
46. Dickinson M, Johnstone RW, Prince HM (2010) Histone deacetylase inhibitors: potential targets responsible for their anti-cancer effect. Invest New Drugs 28(Suppl 1):S3–S20
47. Hong J, Kwon SJ, Sang S, Ju J, Zhou JN, Ho CT et al (2007) Effects of garcinol and its derivatives on intestinal cell growth: Inhibitory effects and autoxidation-dependent growth-stimulatory effects. Free Radical Biol Med 42:1211–1221
48. Schultz DJ, Wickramasinghe NS, Ivanova MM, Isaacs SM, Dougherty SM, Imbert-Fernandez Y et al (2010) Anacardic acid inhibits estrogen receptor alpha-DNA binding and reduces target gene transcription and breast cancer cell proliferation. Mol Cancer Ther 9:594–605
49. Selvi BR, Mohankrishna DV, Ostwal YB, Kundu TK (2010) Small molecule modulators of histone acetylation and methylation: a disease perspective. Biochim Biophys Acta 1799:810–828
50. Isham CR, Tibodeau JD, Jin W, Xu R, Timm MM, Bible KC (2007) Chaetocin: a promising new antimyeloma agent with in vitro and in vivo activity mediated via imposition of oxidative stress. Blood 109:2579–2588
51. Cho HS, Kelly JD, Hayami S, Toyokawa G, Takawa M, Yoshimatsu M et al (2011) Enhanced expression of EHMT2 is involved in the proliferation of cancer cells through negative regulation of SIAH1. Neoplasia 13:676–684
52. Kast RE, Scheuerle A, Wirtz CR, Karpel-Massler G, Halatsch ME (2011) The rationale of targeting neutrophils with dapsone during glioblastoma treatment. Anti-Cancer Agents Med Chem 11:756–761
53. Schildhaus HU, Riegel R, Hartmann W, Steiner S, Wardelmann E, Merkelbach-Bruse S et al (2011) Lysine-specific demethylase 1 is highly expressed in solitary fibrous tumors, synovial sarcomas, rhabdomyosarcomas, desmoplastic small round cell tumors, and malignant peripheral nerve sheath tumors. Hum Pathol 42:1667–1675

54. Binda C, Valente S, Romanenghi M, Pilotto S, Cirilli R, Karytinos A et al (2010) Biochemical, structural, and biological evaluation of tranylcypromine derivatives as inhibitors of histone demethylases LSD1 and LSD2. J Am Chem Soc 132:6827–6833
55. Tan J, Yang X, Zhuang L, Jiang X, Chen W, Lee PL et al (2007) Pharmacologic disruption of Polycomb-repressive complex 2-mediated gene repression selectively induces apoptosis in cancer cells. Genes Dev 21:1050–1063
56. Fiskus W, Wang Y, Sreekumar A, Buckley KM, Shi H, Jillella A et al (2009) Combined epigenetic therapy with the histone methyltransferase EZH2 inhibitor 3-deazaneplanocin A and the histone deacetylase inhibitor panobinostat against human AML cells. Blood 114:2733–2743
57. Kuendgen A, Lubbert M (2008) Current status of epigenetic treatment in myelodysplastic syndromes. Ann Hematol 87:601–611
58. Yildirim E, Zhang Z, Uz T, Chen CQ, Manev R, Manev H (2003) Valproate administration to mice increases histone acetylation and 5-lipoxygenase content in the hippocampus. Neurosci Lett 345:141–143
59. Klisovic RB, Stock W, Cataland S, Klisovic MI, Liu S, Blum W et al (2008) A phase I biological study of MG98, an oligodeoxynucleotide antisense to DNA methyltransferase 1, in patients with high-risk myelodysplasia and acute myeloid leukemia. Clin Cancer Res: Official J Am Assoc Cancer Res 14:2444–2449
60. Datta J, Ghoshal K, Denny WA, Gamage SA, Brooke DG, Phiasivongsa P et al (2009) A new class of quinoline-based DNA hypomethylating agents reactivates tumor suppressor genes by blocking DNA methyltransferase 1 activity and inducing its degradation. Cancer Res 69:4277–4285

Epigenetik ve Epidemiyoloji: Çalışma Modelleri ve Örnekler

Karin van Veldhoven, Shati Rahman ve Paolo Vineis

Özet

Epidemiyolojik çalışmalarda hastalıklara yol açan çeşitli çevresel nedenler başarıyla tanımlanmıştır. Ancak metodolojik problemler bu çalışmaların sıklıkla kısıtlanmalarına neden olur (örn. maruziyetin değerlendirilmesinde sensitivite ve spesifite eksikliği; karışıklığa yol açan faktörler). Çevresel ilişkiler ile ilgili gözlemsel çalışmaların geliştirilmesinde Mendel randomizasyonu ve "orta noktada buluşma" (ONB) yaklaşımı önerilmiştir. Orta noktada buluşma yaklaşımı maruziyet ile hastalıkları ilişkilendiren patojenik proseste farzedilen aracı biyomarkerler olarak, gelişmekte olan omik alanındaki sinyallerden faydalanmaktadır. Bu yaklaşımın ilk basamağı maruziyet ile hastalık arasındaki ilişkiden oluşmaktadır. İkinci basamak maruziyet biyomarkerleri ile erken etki gösteren aracı -omik biyomarkerler arasındaki ilişkinin araştırılmasıdır; üçüncüsü de hastalık sonuçları ile aracı -omik biyomarkerler arasındaki ilişkinin değerlendirilmesidir. Her üç basamakta bulunabilecek ilişkiler arasında nedensel bir bağlantının varlığının mümkün olduğunu düşünüyoruz. Son yıllarda en kapsamlı araştırılan konulardan biri olsa da henüz tam olarak anlaşılamamış olan ilişkilerden bir tanesi, endokrin sistemini bozan çevresel etkenler ile meme kanseri arasındaki ilişkidir. Bu bölümde "orta noktada buluşma" yaklaşımı ile ilgili literatürleri inceleyerek, bu yaklaşımın endokrin bozucuları analiz etmekte nasıl kullanılabileceğini anlatacağız.

K. van Veldhoven · P. Vineis (✉)
HuGeF Foundation, Turin, Italy
e-mail: p.vineis@imperial.ac.uk

K. van Veldhoven · S. Rahman · P. Vineis
School of Public Health, Imperial College London, London, UK

V. Zappia et al. (eds.), *Advances in Nutrition and Cancer,*
Cancer Treatment and Research 159, DOI: 10.1007/978-3-642-38007-5_14,
© Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2014

Anahtar Kelimeler

Epigenetik · Epidemiyoloji · Meme kanseri · Endokrin bozucular · Omik biyomarkerlar · Orta noktada buluşma yaklaşımı

İçindekiler

1 Giriş 242
2 Meme Kanseri, Endokrin Bozucular, -Omik Biyomarkerler: *Orta Noktada Buluşma* Yaklaşımının Uygulandığı Bir Örnek 243
2.1 Biyomarkerler ve -Omik Teknolojisi 244
2.2 "Orta noktada buluşmak" yaklaşımı 245
2.3 1. Basamak: Endokrin Bozucu Kimyasallar ve Meme Kanseri 245
2.4 2. Basamak: Endokrin Sistemi Negatif Etkileyen Kimyasallar ve Epigenomik 246
2.5 3. Basamak: Epigenomik ve Meme Kanseri 251
3 Tartışma 252
Referanslar 253

1 Giriş

Yaşayan organizmaların evrimi farklı ve bazen de karşıt güçlerin etkisi ile gerçekleşir. Ana gerilim stabilite gereksinimi ile değişim gereksinimi arasında yaşanır. DNA'nın hemen tüm türlerde değişmeden korunan mükemmel yapısal stabilitesi birinci gereksinime örnek olarak verilebilir. Diğer yandan değişim olmaksızın organizmaların değişen ortamlara ve bu ortamlardaki sürekli tehditlere adapte olması mümkün olamaz. Transpozonlar (değiştirilebilir elemanlar) mayoz esnasında önemli role sahiptir. Epigenetik değişimler genetik konfigürasyonların çeşitliliğini sağlayan bazı mekanizmalar olup varyasyon, adaptasyon ve evrimde rol oynarlar.

Çok genel bir kural olarak çevresel streslerin (epi)genomik instabiliteyi artırma eğiliminde olduğu söylenebilir. Bu mekanizma hem çeşitliliği destekler hem de tehditlere ve hastalıklara yol açabilen potansiyel olarak zararlı mekanizmalara cevap verilebilmesini sağlar.

Son iki dekadda yapılan araştırmalar çoğunlukla kanser gelişiminde epigenetik değişimlerin rolü üzerine odaklanmaktadır [10, 38]. En sık araştırılan ve çalışma konusu olan epigenetik mekanizma DNA metilasyonudur [6]. İlk kez 1980'li yıllarda yapılan karsinogenez çalışmalarında gözlendiği üzere [10], DNA metilasyonu başlıca, tüm insan genlerinin yaklaşık %50'sinde bulunan promotör bölgelerde gruplanmış olarak bulunan CpG dinükleotidlerinde oluşmaktadır. Bu bölgelere CpG adacıkları adı da verilir. DNA metilasyonlu bir CpG dinükleotide metil grup eklenmesini içerir [6]. CpG adacıklarının metilasyonu genetik sessizleştirmeye yol açabilir. Bu durumun tümör baskılayıcı genleri etkilemesi kansere yol açabilir. Kanser hücrelerinin tümör baskılayıcı genlerin hipermetilasyonu ve proto-onkogenlerin veya dönüştürülebilir elemanların hipermetilasyonu gibi olağandışı metilasyon paternleri içerdiği gözlenmiştir [42].

Bir başka epigenetik mekanizma da histon kuyruklarının fosforilasyon, metilasyon veya asetilasyon ile modifiye olarak disregülasyona yol açmasıdır [10]. Bu histon kuyrukları başlıca nükleozom yapılarının korunmasından sorumludur [28, 36]. Normal histon modifikasyon mekanizmalarının bozulması gen ekspresyonunda bozukluklara yol açabilir. Bu etkinin bazı kanserlerin gelişiminde rol oynadığı gözlenmiştir [20, 28, 36]. Örneğin Jensen ve ark. [18] tarafından yapılan in vitro çalışmalarda histon H3 asetilasyon değişimlerinin ve histonlar ile ilişkili genlerin ekspresyon değişimlerinin arsenikli ajanlar olan AsIII ve MMA'ya maruziyetten kaynaklandığı tespit edilmiştir. Benzer şekilde 2009 yılında yapılan bir çalışmada da [55] insan akciğer kanseri hücrelerinin arseniğe maruz kalmalarının H3K4'ün metilasyonunda artışa yol açarak hücresel transkripsiyonun represyonuna yol açtığı tespit edilmiştir (arsenik epigenetik bakış açısıyla en iyi araştırılan çevresel maruziyet faktörlerinden biridir) [36].

Epigenetik değişimlerin meydana geldiği üçüncü ana mekanizma (mi)RNA ekspresyonu yoluyla gerçekleşir. (mi)RNA yaklaşık 22 nükleotidden oluşan protein kodlamayan küçük RNA molekülleri olarak tanımlanır. (mi)RNA'lar genomik ve hücresel regülasyonda rol oynarlar. Genel olarak gen aktivasyonunu suprese ettikleri düşünülmektedir. İnsanlarda 800'den fazla (mi)RNA mevcuttur. Memeli genlerinin %30'a kadar olan kısmının (mi)RNA'lardan etkilendiği düşünülmektedir [36]. (mi)RNA ekspresyonunun disregüle olmasının arsenikle ilişkili böbrek ve mesane kanserleri gibi çeşitli hastalıklarda [1] rol oynadığı düşünülmektedir [13].

Çevresel karsinojenlere maruziyetin ve buna bağlı olarak ortaya çıkan epigenetik değişimlerin yukarıda da bahsedilenler gibi in utero ortamda da oluşabileceğine inanılmaktadır; epigenetik programlama uzun dönemde, bir bireyin embriyonik gelişiminde ve sağlığı üzerinde önemli bir rol oynayabilir [6]. Martinez ve ark. tarafından 2011 yılında yapılan bir çalışmada hamilelikte arseniğe maruz kalmanın sıçanlardaki beyin hücrelerinin DNA metilasyon paternlerinin değişimine yol açarak hafızayı etkilediği bulunmuştur. Bu da in utero maruziyetin büyüme ve gelişme üzerinde uzun süreli etkileri olduğunu düşündüren bir bulgudur [31].

2 Meme Kanseri, Endokrin Bozucular, -Omik Biyomarkerler: *Orta Noktada Buluşma* Yaklaşımına Bir Örnek

Hastalıklara neden olan çevresel faktörlerin tanımlanması özellikle maruziyetin değerlendirilebilmesindeki güçlükleri de kapsayan metodolojik sorunlardan dolayı oldukça kısıtlıdır. Gözlemsel çalışmalarda çevresel faktörlere ilişkilerin daha iyi tespit edilebilmesi için sıklıkla kullanılan yaklaşım Mendel randomizasyonudur [7]. Potansiyel karışıkların önüne geçebilmek için bir jenerasyondan diğerine geçen çeşitli genlerin randomize olarak seçilip incelenmesine dayanır. Gen varyantı hem maruziyet hem de hastalık ile ilişkili ise, maruziyet ile hastalık arasında nedensel ilişki olduğu düşünülür. Çünkü gen varyantları karıştırıcı faktörleri de kapsayan çevresel faktörlerden etkilenmeden nesilden nesile geçer. Bu arada son yıllarda vücut sıvılarındaki veya dokuların biyolojik

Tablo 1 -Omik teknolojileri

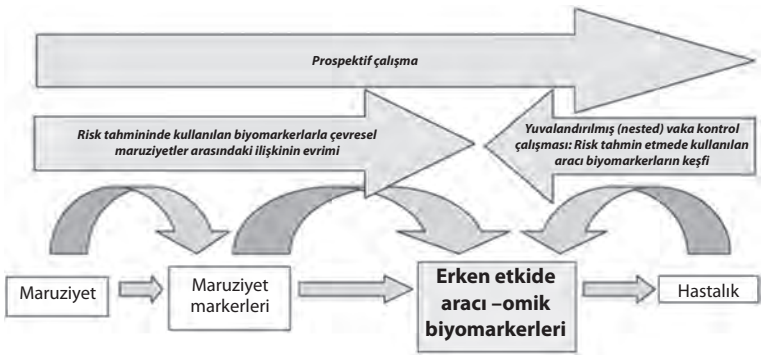
-Omik	Örnek platform	Özellikler
Transkriptomik	İnsan 4x44k DNA mikroarrayları	Bir hücre popülasyonunda mRNA moleküllerinin ekspresyon düzeylerinin analizi (gen ekspresyon profilinin çıkarılması). Hücre tipleri arasında zaman içinde büyük değişimler gösteren transkriptom çevresel değişimlere cevap olarak değişime uğrar
Proteomik [11]	Lumineks multianalit profil çıkarma sistemi	Genom tarafından kodlanan total proteini üretiminin analizi. Sıklıkla kompleks proteomik profildeki normal, benign veya hastalık statüsüne sahip proteinlerin tespitini sağlar [8,46]
Epigenomik [31]	Yüksek yoğunluklu DNA mikroarrayları	Geniş kapsamlı epigenetik proseslerin analizi (çoğunlukla DNA metilasyonu, histon modifikasyonları ile ilgili de olsa, mikro-RNA ve siRNA gibi protein kodlamayan RNA'ların gen ekspresyonundaki etkilerini de kapsar)
Metabolomik [13]	NMR spektroskopi veya LC- kütle spektrometresi	Herhangi bir zamanda bir hücre veya organizmada mevcut olan ve bireysel metabolik profilleri (ve cevapları) belirleyen düşük molekül ağırlıklı komple set analizi. Sık görülen hastalıkların başlangıçlarını tahmin etmekte kullanılabilir.

moleküllerin incelenmesinde kullanılan yüksek miktarda veri işleyebilen güçlü teknolojiler de gelişmeye başlamıştır. Bu teknolojiler genel olarak sonlarına gelen -omik eki ile tanınırlar. "Orta noktada buluşma" yaklaşımı çevresel etkilerin nedensel özelliklerini incelemeye olanak tanıyan bir yöntemdir. Patogenetik süreçlerde varsayılan aracı markerler olan -omik sinyallerinin özelliklerinin araştırılarak maruziyet ile hastalık arasındaki ilişkilerin ortaya çıkarılmasına dayanır.

2.1 Biyomarkerler ve -Omik Teknolojisi

Transkriptomik veya gene ekspresyonunun profilinin çıkarılması, proteomik, epigenetik ve metabolomik gibi yeni aracı biyomarkerler -omik teknolojileri ile tanımlanabilirler (Tablo 1). Bu aracı biyomarkerler maruziyet ile hastalık arasındaki süreçte etkili olan olaylarda direkt veya indirekt olarak rol oynayabilirler.

Aracı biyomarkerler çevresel hastalıkların patojenezi ile ilgili önemli mekanik bulgular sağlayabilirler. "-omik" teknolojileri klasik moleküler biyolojinin aksine, farklı kimyasallara ve toksisite tiplerine verilen hücresel cevabın tespit edilmesinde yararlanılan teknolojilerin kullanımına izin verirler. Böylece son derece büyük ölçekli mekanik bilgi sağlayabilirler. Daha önce yapılan çalışmaların sonuçları, -omik tabanlı biyomarkerlerin önerilen "orta noktada buluşma" yaklaşımı ile kullanılmasının, çevresel faktörlere maruziyet ile hastalıkların başlangıcı ve progresyonu arasındaki bağlantıların anlaşılmasını kolaylaştırabileceği hipotezini desteklemektedir.



Şekil 1 *"Orta Noktada Buluşma" yaklaşımı.*

2.2 "Orta Noktada Buluşma" Yaklaşımı

Yakın zamanda nedensel ilişkilerin tespit edilmesindeki zorluklarla baş edebilecek "orta noktada buluşma" (ONB) yaklaşımı olarak bilinen yaratıcı bir yaklaşım geliştirdik [13, 15]. Prospektif bir çalışmanın kapsamındaki bir kombinasyona dayanan bu yaklaşım şunları içerir: (a) Aracı biyomarker düzeyleri yüksek olan ve devamında hastalık gelişecek olan deneklerin prospektif taraması. (b) Bu biyomarkerlerin geçmişteki çevresel maruziyetler ile bağlantısını araştıran retrospektif araştırma (Şekil 1).

Bu yaklaşımın birinci basamağı maruziyet ve hastalık arasındaki ilişkiyi araştırır. İkinci basamak maruziyet biyomarkerleri ile erken etki gösteren aracı -omik biyomarkerleri arasındaki ilişkinin araştırılmasıdır; üçüncüsü de hastalık sonuçları ile aracı -omik biyomarkerleri arasındaki ilişkinin değerlendirilmesidir. Her üç basamakta da bulunabilecek ilişkiler arasında nedensel bir bağlantının varlığının mümkün olduğunu düşünüyoruz. (nedensel ilişkiyi araştırmakta kullanılan meşhur Hill kılavuzların kullanımı ile birlikte). Mendel randomizasyonu ile ONB yaklaşımı arasındaki benzerliklere rağmen, ONB yaklaşımında genetik enstrümanların kullanılmıyor olması nedeniyle, karışıklık ihtimali hala mümkündür.

Son yıllarda en kapsamlı araştırılan konulardan biri olsa da henüz tam olarak anlaşılamamış olan ilişkilerden bir tanesi, endokrin sistemi bozan çevresel faktörler ile meme kanseri arasındaki ilişkidir. Bu bölümde ONB yaklaşımı ile ilgili literatürleri inceleyerek, bu yaklaşımın endokrin bozucuları analiz etmekte nasıl kullanılabileceğini anlatacağız.

2.3 1. Basamak: Endokrin Bozucu Kimyasallar ve Meme Kanseri

Bir çok çalışma endokrin bozucu kimyasallara (EBK) maruziyet ile meme kanseri arasındaki riske odaklanmıştır. EBK'ler, endojen hormonlar ile etkileşerek (örn. taklit ve/

veya antagonize ederek) sentezlerini, sekresyonlarını, transportlarını, bağlanmalarını, etkilerini veya eliminasyonlarını değiştirerek endokrin sistemin fonksiyonlarını bozarak etki eden doğal veya sentetik bileşiklerdir. EBK maruziyeti çok çeşitli yollarla gerçekleşebilir. Tıbbi kullanım gibi bazı durumlarda kullanımları bilinçlidir. Ancak çoğunlukla istenmediği halde maruz kalınırlar. EBK'lerin çoğu BPA (bisfenol-A) örneğinde olduğu gibi ana maruziyet kaynağı olan gıdalarda bulunur.

2.4 2. Basamak: Endokrin Bozucu Kimyasallar ve Epigenomik

Bu örnekte odaklanacağımız -omik teknolojisi epigenomiktir. Ağustos 2012'ye kadar yayınlanan çalışmaları taradığımız PubMed aramasında ekteki arama terimlerini kullandık: "Endokrin bozucular" veya "Bisfenol-A" veya "Dietilstilbesterol (DES)" veya "Kadmiyum" veya "epigenomik" veya "epigenetik" veya "DNA metilasyonu" veya "histon modifikasyonu" veya "mikro-RNA".

Sonuçları eledikten sonra kullandığımız 26 makalede 11 tanesi birden fazla makalede geçen 1798 gen bildirilmiştir. Aşağıda bu makalelerdeki bulguların bir tanımı mevcuttur (genel bakış için bkz. Tablo 2). Görece olarak az sayıda miRNA bildirilmiş ve birden fazla çalışmada bahsedilen miRNA'ya rastlanmamıştır.

2.4.1 BPA

Bisfenol-A'ya maruziyeti araştıran hayvan modellerinde sağlığa tehdit oluşturabilecek epigenetik değişimler bulunmuştur. Farelerin perinatal ortamda yüksek ve düşük BPA dozlarına maruz kalmaları yavrularda hipometilasyona yol açmıştır [8, 52]; bir başka çalışmada da BPA maruziyeti ile oluşan epigenetik değişimlerin prostat kanseri riskini artırdığı bulunmuştur [12, 34]. İnsan hücre dizilerinde daha yakın zamanlarda yapılan çalışmalarda bisfenol-A maruziyeti ile DNA metilasyonu arasındaki ilişki araştırılmıştır. Weng ve ark. 3 mikroarray veri setini karşılaştırmıştır. BPA maruziyeti ile her üç setteki 170 genin farklı düzeylerde eksprese olduğunu tespit etmişlerdir (57 yukarı regülasyon, 113 aşağı regülasyon). Ayrıca hiyerarşik kümeleme çalışmalarında da yukarı regüle olan genlerin en çok ERa-negatif meme kanseri hücre dizilerinde, aşağı regüle olan genlerin ise en çok ERα-pozitif meme kanseri hücrelerinde bulunduğu tespit edilmiştir. Yine lizozom ile ilişkili membran protein 3'ün (LAMP3) aday geninde yapılan DNA metilasyon analizinde, özellikle ERa-pozitif meme kanseri hücre dizilerinde kontrollere göre artmış DNA metilasyon düzeyleri de tespit edilmiştir [50]. Başka bir çalışmada da BPA'ya maruz bırakılan insan meme epitel hücrelerdeki DNA metilasyonunun 6 gende arttığı tespit edilmiştir [35].

Avissar-Whiting ve ark. 6 gün boyunca BPA'ya maruz bırakılan üç farklı plasenta hücre dizisinde mikro-RNA'ların ekspresyonunu araştırmışlardır. Denetimsiz hiyerarşik kümeleme ile farklı hücre dizilerinde farklı ekspresyon paternleri tespit etmiştir. Ayrıca kullanılan hücre dizilerinin iki tanesinde vakalar ile kontroller arasında anlamlı fark bulunmuştur. Her iki hücre dizisinde farklı düzeyde eksprese olan 21 mi-RNA çakışması mevcuttu. Açıklama

Tablo 2 EDC maruziyeti sonrası farklı düzeyde metile olan meme kanseri ile ilişkili genler

Maruziyet	Çalışma, Yıl	Bulunan anlamlı ilişkilerin sayısı (n)	DYNC1LI2	ERLIN2	FGFR1	HN1L	IFNGR1	MOCS1	P16	PIM1	RUNX1T1	TAP2	VPS29
Maruziyet ile Epigenetik Karşılaştırması													
BPA	Dolinoy, 2007	1											
	Prins, 2008	8											
	Ho, 2008	8											
	Yaoi, 2008	13											
	Weng, 2010	170	X	X	X	X	X	X		X	X	X	
	Qin, 2012	6							X				
DES	Li, 1997, 2001, 2003	2											
	Sato, 2006	3											X
	Tang, 2008	14											X
	Sato, 2009	1											
	Bromer, 2009	1											
Cadmium	Benbrahim-Tallaa, 2007	2							X				
	Wang, 2011	1,574	X	X	X	X	X	X		X	X	X	
	Hossain, 2012	2											
Epigenetik ile Meme Kanseri Karşılaştırması													

(Devam ediyor)

Tablo 2 (devamı)

Maruziyet	Çalışma, Yıl	Bulunan anlamlı ilişkilerin sayısı (n)	DYNC1LI2	ERLIN2	FGFR1	HN1L	IFNGR1	MOCS1	P16	PIM1	RUNX1T1	TAP2	VPS29
	Lo, 2008	40							X				
	Jovanovic, 2010	43							X				
	Huang, 2010	186							X				
	Wang, 2010	14							X				
	Süijkerbuijk 2010	19											

Tablonun üst kısmında EBK (BPA, DES, kadmiyum) maruziyeti sonrası farklı düzeylerde metile olan genler mevcuttur. Alt bölümde epigenetik çalışmalarda meme kanseri ile ilişkili olduğu bildirilen genler görülmektedir. Bu tablonun amacı ONB yaklaşımının 2. ve 3. basamaklarında bahsedilen genleri karşılaştırmaktır.

eklenen 4 mi-RNA'nın sadece bir tanesi olan miR-146a (her iki hücre dizisinde de yukarı regüle olmuştur) RT-PCR kullanılarak valide edilmiştir [2]. Marsit ve ark.'nın aynı miRNA'nın folat eksikliği sonrası yukarı regüle olduğunu bildirmeleri de ilginçtir [30].

2.4.2 Dietilstilbestrol

İyi bilinen ve kapsamlı şekilde çalışılan bir diğer EBK de dietilstilbestroldur (DES). Epidemiyolojik çalışmalarda DES maruziyeti ile gözlenen etkinin kuşaklar arasında geçiş yapmasının gösterilmiş olması epigenetik faktörlerin rol oynadığının güçlü bir göstergesidir. Li ve ark. 1997 yılında yeni doğmuş farelerin DES'e maruz kalmaları ile laktoferin genindeki CpG bölgesindeki metilasyonda azalma olduğunu göstermiştir. Bu hipometilasyon uterin tümörlerde de gözlenmiştir [26]. Aynı yazarlar birkaç yıl sonra yeni doğan farelerin DES'e maruz kalmalarının c-fos genindeki exon-4 bölgesinde hipometilasyona neden olduğunu bildirmiştir. Ancak aynı azalmayı HOXA-10 ve HOXA-11 genlerinde tespit edememişlerdir [24, 25]. Çalıştıkları tüm fare genlerinin DES maruziyetinden sonra farklı düzeylerde eksprese oldukları ve üreme organlarını gelişiminde rol oynadıkları daha önce yapılan çalışmalarda bildirilmiştir [4, 29, 33, 51]. Bromer ve ark. da [5] DES'e maruz kalmış farelerin dişi yavrularındaki HOXA-10 genini araştırmış ve in utero maruziyet ile DNA metilasyonunda artış tespit etmişlerdir. Ancak aynı artış in vitro ve in vivo ortamda tespit edilememiştir. Tang ve ark. [44] DES'e maruziyet sonrası metilasyonları farklılaşan 14 gen (bu genlerin biri hariç hiçbiri daha önceki çalışmalarda yer almamıştır) bildirmişlerdir. DES maruziyeti sonrası fare uterus ve epididiminde genom boyunca farklı düzeylerde DNA metilasyonları (Restriction landmark genomic scanning [RLGS] tekniği ile araştırılmıştır) Sato ve ark. tarafından bildirilmiştir [39, 40].

DNA metilasyon çalışmalarına ek olarak mi-RNA'ları da araştıran birkaç çalışma mevcuttur. Hsu ve ark. MDEC hücrelerini (mamosfer kaynaklı epitel hücreleri) DES'e maruz bırakmış ve kontrollere kıyasla 82 mikro-RNA'nın ekspresyonunun değişime uğradığını (37 tanesi yukarı, 45 tanesi aşağı regüle olmuştur) tespit etmişlerdir. Bunlardan birini (miR-9-3) detaylı olarak incelediklerinde buldukları promotör hipermetilasyonunun meme kanseri riskinde artış ile ilişkili olabileceğini tespit etmişlerdir [15].

Lee ve ark. DES'e maruz bıraktıkları MCF-7 hücrelerinde miR-34b ekspresyonunda azalma bulmuştur [23]. Bu mikro-RNA'nın ekspresyonunun azalması daha önceki çalışmalarda DNA metilasyonunda artış ile ilişkili bulunmuştur [45].

Son olarak Warita ve ark. DES maruziyeti ile histon modifikasyonu arasındaki ilişkiyi araştırmıştır. TTE1 Leydig hücrelerinde bu ilişkiyi araştırmak için immunopresipitasyon (ChiP) ve PCR kullanmışlar ve P450scc geninin promotöründeki histon H3'de asetilasyonun azaldığını tespit etmişlerdir [49].

2.4.3 Kadmiyum

Kadmiyum EBK'lerin epigenetik değişimler ile ilişkisini araştıran birçok farklı araştırmanın odağındadır. Kadmiyum maruziyeti ile ilişkili farklı hayvan çalışmaları ile birlikte çeşitli hayvan hücre dizilerinin kullanıldığı çalışmalar da yapılmıştır. Takiguchi ve ark. bir hafta

süreye 2.5 μM kadmiyum uygulamasının TRL1215 (sıçan karaciğeri) hücrelerinde hipometilasyona yol açtığını bulmuştur. Ancak 10 haftalık maruziyet hipermetilasyona yol açmıştır (sonrasında hücreler muhtemelen değişime uğramıştır) [43]. Başka bir çalışmada da hem düşük (140 mg/kg CdC12) hem de yüksek (210 mg/kg CdC12) kadmiyum dozlarının 60 gün boyunca uygulanması ile tavuk karaciğer ve böbreğindeki metilasyonunun genel olarak arttığı tespit edilmiştir Zhu ve ark. sıçanların karaciğer ve testislerindeki LINE-1 metilasyonunu incelemek için COBRA kullanmıştır. Ancak hem postnatal 8. günde hem de 70. günde maruz kalan ve kalmayan fareler arasında bir fark bulamamışlardır. Ayrıca kadmiyum maruziyeti sonrası testisteki p53 promotör bölgesindeki metilasyon düzeylerinde de bir fark bulunmamıştır. Ancak kadmiyum maruziyetinin testisteki c-fos geninin bir bölümünde doğal olarak oluşan hipometilasyonu yavaşlattığı da tespit edilmemiştir [56].

Wang ve ark. tarafından sıçan karaciğerindeki epigenom boyunca MeDIP-chip testi kullanılarak yapılan çalışmada düşük doz, kronik kadmiyum maruziyetinin (maruz kalmayanlara göre) 385.000 probun metilasyon düzeylerindeki etkisi incelenmiştir [56]. Sonuçlarda 675 genin promotör bölgesinde hipermetilasyon, 899 genin promotör bölgesinde de hipometilasyon bildirmişlerdir. Apoptotik süreci regüle eden genlerin spesifik metilasyonlarının değerlendirilesinde de CASP8'in (ekspresyon azalmasına yol açar) hipermetile olduğunu TNF'in de (aynı şekilde ekspresyon azalmasına yol açar) hipometile olduğunu tespit etmişlerdir [47].

Benbrahim Tallaa ve ark. tarafından yayınlanan çalışmayı da kapsayan insan hücrelerinde veya hücre dizilerinde yapılan çalışmalarda insan prostat epitel hücrelerinin kadmiyuma maruz bırakılmaları sonrası genel bir DNA hipermetilasyonu meydan geldiği bildirilmiştir. Özellikle 2 tümör baskılayıcı genin (RASSF1A ve p16) promotör bölgesindeki CpG adacıklarındaki metilasyon düzeylerini araştırdıklarında, (maruz kalmayan hücrelere göre) ekspresyon azalmasına yol açan hipermetilasyon tespit etmişlerdir [3]. İnsan embriyo akciğer fibroblastlarının (HLF) kadmiyuma uzun süreli maruziyetinde genel hipermetilasyon olduğu bulunmuştur. Maruziyet artışı ile (sadece 1.2 ve 1.5 Imol/L konsantrasyonlarında) maruz kalmayan hücrelere göre doza bağlı anlamlı düzeyde metilasyon artışı olduğunu gözlemlemişlerdir [19]. Huang ve ark. [16] 2.0 IM kadmiyum maruziyetinin 24. ve 48. saatlerde K562 (kronik miyelojenöz lösemi hücre dizisi) hücrelerindeki DNA metilasyonunu genel olarak azalttığını tespit etmiştir.

İnsanlarda diyette mevcut olan kadmiyumun epigenetik etkilerini araştıran tek çalışma Hossain ve ark. tarafından yapılmıştır. Kan (kısa süreli maruziyetin göstergesi) ve idrar (uzun süreli maruziyetin göstergesi) örneklerinde kadmiyum seviyeleri ölçülmüştür. LINE-1 metilasyon düzeylerini ve p16 ve MLH1 promotörlerinin metilasyon seviyelerini ölçmek amacıyla periferik kan örnekleri alınmıştır. İdrarda yüksek kadmiyum seviyelerinin LINE-1'in hipometilasyonu ile ilgili olduğu bulunmuş ancak kandaki kadmiyum düzeyleri ile LINE-1 metilasyonu arasında bir ilişki tespit edilmemiştir. Ayrıca kan ve idrardaki kadmiyum düzeylerinin p16 ve MLH1 metilasyonları ile de bir ilişkisi bulunmamıştır [14].

Fabbri ve ark. tarafından yapılan çalışmada insan hepatoblastom hücrelerinde (HepG2) 10 μM kadmiyum ekspresyonu sonrasındaki mikro-RNA değişimleri ölçülmüştür. Çalışmalarında listeledikleri 12 miRNA'nın bazılarının tümör supresyonunda rol oynadıklarına inanılmaktadır [9].

2.4.4 Replike Olan Bağlantılar

Yukarıda bahsedilen çalışmalarda bulunan genlerin karşılaştırmasında, iki bağımsız çalışmada 11 genin bildirildiğini gözledik. Bu genler, epigenomik ile meme kanseri arasındaki ilişkileri inceleyen çalışmalarda bulunan genlerle aşağıdaki bölümde ONB yaklaşımına uygun olarak karşılaştırılmıştır.

2.5 3. Basamak: Epigenomik ve Meme Kanseri

ONB yaklaşımının son basamağı -omik teknolojisi ile meme kanseri arasındaki ilişkiyi tanımlamaktadır. Yeni biyomarkerlerin bulunması sadece meme kanserinin tespitinde değil, aynı zamanda tiplerine ayrılabilmesi ve tedavisinde de hayati rol oynamaktadır. Meme kanseri epigenetik ve diğer -omik teknolojilerinin en erken ve yoğun olarak kullanıldığı hastalıklar arasındadır. Bu tekniklerin meme kanseri ile ilişkisi hakkında çok sayıda makale yayınlandığı için, burada kullandıklarımızı epigenetik ile ilgili güncel bakış açıları sunanlarla kısıtlamak durumunda kaldık.

Lo ve ark. 2008 yılında meme kanserindeki DNA metilasyonunu da içeren epigenetik değişimleri içeren literatür taraması yapmıştır [27]. Bu hastalığı taşıyan bireylerde hipermetile olan 40 gen tanımlamışlardır. Bu genlerden bir tanesinin EBK'lara maruziyet sonrası farklı düzeyde metile olduğu bulunmuştur. Hem Jovanovic [21] ve ark. hem de Huang ve ark. [17] yakın zamanda meme kanserinin epigenetiği hakkında geniş kapsamlı incelemeler yayınlamışlardır. İki yazar da insan meme kanseri hücrelerinde hipermetile ve hipometile olan genlerin listesini yapmıştır. Jovanovic ve ark. [21] meme kanserinde en sık olarak farklı düzeylerde metile olan genlerin listesini yapmıştır. Bu genlerden 6 tanesi hipometile, 37 tanesi ise hipermetile olmaktadır. Bunlardan bir tanesinden yukarıda anlatılan maruziyet ve -omik çalışmalarında bahsedilmiştir. Huang ve ark. meme kanserinde çok sayıda genin (toplam 186) genel olarak hipermetile veya hipometile olduğunu bildirmiştir. Bu uzun listede bulunan bir genin EBK maruziyeti ile farklı düzeyde eksprese olduğu en az iki çalışma tarafından da bildirilmiştir Son olarak Wang ve ark. ile Suijkerbuijk ve ark. belirli genlerin metilasyon düzeylerinin meme kanserinde biyomarker olarak kullanılma ihtimalini incelemişlerdir. Bu yazarların bildirdikleri 14 ve 19 genden, EBK maruziyeti sonrası epigenetik değişime uğrayan 1 ve 0 genleri de iki çalışmada tanımlanmıştır [41, 48]. Tablo 2'de bu konu ile ilgili genel bir değerlendirme mevcuttur. Epigenetik ile meme kanseri karşılaştırma çalışmalarında bulunan genlerin, iki bağımsız maruziyet ile -omik karşılaştırma çalışmasında bildirilen 11 "valide" edilmiş gen ile karşılaştırmasında öne çıkan bir adet genin fonksiyonu aşağıda tanımlanmıştır.

2.5.1 P16

P16 sikline bağımlı kinaz inhibitörü 2A (melanom, P16, CDK4'ü inhibe eder) adı verilen genin prototipidir. Farklı isimleri arasına p16INK4a ve CDKN2A en sık kullanılanlarıdır. İnsan genomunda 9p21 bölgesinde bulunur. Diğer fonksiyonlarına ek olarak hücre döngüsünün durdurulması ve apoptozda önemli rol oynar. Farklı kanser tiplerinde

mutasyona uğradığı ve silindiği için tümör baskılayıcı bir gen olarak tanınır. Kanserde, promotör bölgesinin sıklıkla hipermetile olarak bu genin ekspresyonunda azalmaya ve sessizleştirilmesine yol açtığı gösterilmiştir [37].

3 Tartışma

Meme kanseri ve çevresel maruziyetleri araştıran güncel çalışmaların çoğunun hedefi -omik teknolojilerine dayanan aracı biyomarkerlerin tanımlanmasıdır. Bu biyomarkerlerin tanımlanabilmesi amacıyla üç olası ilişki araştırılmıştır: (1) Maruziyet ve hastalık arasındaki ilişkiler. (2) Maruziyet ile erken etki gösteren aracı -omik biyomarkerler arasındaki ilişkiler. (3) Hastalık sonuçları ile aracı -omik biyomarkerler arasındaki ilişkiler. Her üç basamakta bulunabilecek ilişkiler arasında nedensel bir bağlantının ve devamında yeni bir biyomarkerin bulunması mümkündür. Ancak arada bir ilişki olmama ihtimali de hala mümkündür.

Biyomarker validasyonunun ana amacı biyomarker değişkenliğinin tanımlanmasıdır. Epidemiyolojik çalışmaların dizaynlarını ve yorumlanmalarını etkileyen başlıca biyomarker değişkenlik komponentleri şunlardır: (1) Denekle ilgili biyomarker değişimleri (denekler arası ve deneğin kendi içindeki değişimleri de kapsar). (2) Ölçüm hatalarına bağlı değişkenlikler (laboratuarlar arası ve laboratuarın kendi içindeki değişkenlikleri de kapsar). (3) Randomize hatalar. Bu nedenle, biyomarkerler kullanılarak yapılan çalışmalarda mümkün olan yerlerde şu bilgilerin toplanması gerekmektedir: (1) Örnek alımının tekrarı (markera bağlı olarak günlük, aylık veya yıllık değişkenlikler önem taşıyabilir). (2) Potansiyel karıştırıcılar ile ilgili bilgiler (denekler arası değişkenlikleri etkileyen faktörler). (3) Örneklerin alınmasının ve laboratuar analizlerinin hangi koşullar altında gerçekleştiği hakkında bilgi (toplu örnek alımı, testler ve spesifik prosedürler) [46].

Güncel literatürde, p16 geninin EBK'ya maruziyet sonrası farklı düzeylerde metile olduğu bildirilmektedir. Ayrıca meme kanseri hücre ve dokularında da farklı düzeylerde metile olmaktadır. EBK maruziyeti büyük oranda diyet yoluyla gerçekleşir. Bu geni inceleyen birçok çalışma olmasına rağmen, hiçbir çalışmanın ONB yaklaşımının her üç basamağını da incelememiş olması problem teşkil etmektedir. Bu nedenle biyomarker değişkenliğinin tanımlanması güçtür. Yine de bu genin her üç basamakta da tespit edilmiş olması, EDC maruziyeti ile meme kanseri riski arasındaki nedensel bağlantının varlığının inandırıcılığını artırmaktadır.

Potansiyel aracı biyomarkerler ile ilgili önemli zorluklardan bir tanesi maruziyet ile hastalık arasındaki nedensel bağlantıya ait olup olmadıklarının ya da sadece bir maruziyetin veya hastalığın yan etkisi olup olmadıklarının ve diğer maruziyetler nedeniyle ölçüm doğruluklarının bozulup bozulmadığının anlaşılmasıdır. EBK'lerin kandaki düzeylerinin ölçülmesini sağlayabilecek bir yöntem meme kanseri riskinin tespitinin diğer karıştırıcı risk faktörlerinden bağımsız olarak belirlenmesine katkı yapabilir. Bu tür bir yöntem EBK düzeylerinin farklı genotipler veya polimorfizmler ile ilişkisini gösterebilir.

Ayrıca farklı genotip ve polimorfizmlere göre hastalık riski tahmin edilebilir (Mendel randomizasyonu konsepti). Örnek olarak CYP1A1 geninde polimorfizm olan postmenopozal beyaz kadınlarda yüksek PCB (poliklorlu feniller) maruziyetinin daha yüksek meme kanseri ile ilişkili olduğunu gösteren üç çalışma verilebilir [22, 32, 54]. CYP1A1 geninin farklı alelleri karıştırıcı faktörlerden bağımsız oldukları ve randomize bir şekilde nesilden nesile aktarıldıkları için bu gendeki polimorfizmin meme kanseri ile ilişkili olduğu bulgusu, EBK'lerin hastalığın etyolojisinde oynadığı rolün indirekt ispatı olabilir. Ancak diğer birçok kimyasal da CYP1A1 tarafından metabolize edilmektedir.

Hem Mendel randomizasyon konseptinin hem de ONB yaklaşımının aracı biyomarkerlerin tanımlanmasında büyük potansiyele sahip olduğu netleşmiştir. Ancak bu modellerin pratikte uygulanmaları ile ilgili zorluklar hala karşımızda durmaktadır.

Teşekkürler Bu çalışma Compagnia di San Paolo tarafından PV ve KVV'ye sağlanan destek ile gerçekleşmiştir.

Referanslar

1. Abdellatif M (2012) Differential expression of microRNAs in different disease states. Circ Res 110:638–650
2. Avissar-Whiting M, Veiga KR, Uhl KM et al (2010) Bisphenol A exposure leads to specific microRNA alterations in placental cells. Reprod Toxicol 29:401–406
3. Benbrahim-Tallaa L, Waterland RA, Dill AL et al (2007) Tumor suppressor gene inactivation during cadmium-induced malignant transformation of human prostate cells correlates with overexpression of de novo DNA methyltransferase. Environ Health Perspect 115:1454–1459
4. Block K, Kardana A, Igarashi P et al (2000) In utero diethylstilbestrol (DES) exposure alters Hox gene expression in the developing mullerian system. FASEB J 14:1101–1108
5. Bromer JG, Wu J, Zhou Y et al (2009) Hypermethylation of homeobox A10 by in utero diethylstilbestrol exposure: an epigenetic mechanism for altered developmental programming. Endocrinology 150:3376–3382
6. Christensen BC, Marsit CJ (2011) Epigenomics in environmental health. Front Genet 2:84
7. Davey SG, Ebrahim S (2003) 'Mendelian randomization': can genetic epidemiology contribute to understanding environmental determinants of disease? Int J Epidemiol 32:1–22
8. Dolinoy DC, Huang D, Jirtle RL (2007) Maternal nutrient supplementation counteracts bisphenol A-induced DNA hypomethylation in early development. Proc Natl Acad Sci USA 104:13056–13061
9. Fabbri M, Urani C, Sacco MG et al (2012) Whole genome analysis and microRNAs regulation in HepG2 cells exposed to cadmium. ALTEX 29:173–182
10. Feinberg AP, Tycko B (2004) The history of cancer epigenetics. Nat Rev Cancer 4:143–153
11. Fliser D, Novak J, Thongboonkerd V et al (2007) Advances in urinary proteome analysis and biomarker discovery. J Am Soc Nephrol 18:1057–1071
12. Ho SM, Tang WY, de Belmonte FJ et al (2006) Developmental exposure to estradiol and bisphenol A increases susceptibility to prostate carcinogenesis and epigenetically regulates phosphodiesterase type 4 variant 4. Cancer Res 66:5624–5632
13. Davey SG, Ebrahim S (2003) Mendelian randomization: can genetic epidemiology contribute to understanding environmental determinants of disease? Int J Epidemiol 32:1–22
14. Hossain MB, Vahter M, Concha G et al (2012) Low-level environmental cadmium exposure is associated with DNA hypomethylation in Argentinean women. Environ Health Perspect 120:879–884

15. Vineis P, Perera F (2007) Molecular epidemiology and biomarkers in etiologic cancer research: the new in light of the old. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 16:1954–1965
16. Huang D, Zhang Y, Qi Y et al (2008) Global DNA hypomethylation, rather than reactive oxygen species (ROS), a potential facilitator of cadmium-stimulated K562 cell proliferation. Toxicol Lett 179:43–47
17. Huang TH, Esteller M (2010) Chromatin remodeling in mammary gland differentiation and breast tumorigenesis. Cold Spring Harb Perspect Biol 2:a004515
18. Jensen TJ, Novak P, Eblin KE et al (2008) Epigenetic remodeling during arsenical-induced malignant transformation. Carcinogenesis 29:1500–1508
19. Jiang G, Xu L, Song S et al (2008) Effects of long-term low-dose cadmium exposure on genomic DNA methylation in human embryo lung fibroblast cells. Toxicology 244:49–55
20. Jo WJ, Ren X, Chu F et al (2009) Acetylated H4K16 by MYST1 protects UROtsa cells from arsenic toxicity and is decreased following chronic arsenic exposure. Toxicol Appl Pharmacol 241:294–302
21. Jovanovic J, Ronneberg JA, Tost J et al (2010) The epigenetics of breast cancer. Mol Oncol 4:242–254
22. Laden F, Ishibe N, Hankinson SE et al (2002) Polychlorinated biphenyls, cytochrome P450 1A1, and breast cancer risk in the Nurses' Health Study. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 11:1560–1565
23. Lee YM, Lee JY, Ho CC et al (2011) miRNA-34b as a tumor suppressor in estrogen-dependent growth of breast cancer cells. Breast Cancer Res 13:R116
24. Li S, Hansman R, Newbold R et al (2003) Neonatal diethylstilbestrol exposure induces persistent elevation of c-fos expression and hypomethylation in its exon-4 in mouse uterus. Mol Carcinog 38:78–84
25. Li S, Ma L, Chiang T et al (2001) Promoter CpG methylation of Hox-a10 and Hox-a11 in mouse uterus not altered upon neonatal diethylstilbestrol exposure. Mol Carcinog 32:213–219
26. Li S, Washburn KA, Moore R et al (1997) Developmental exposure to diethylstilbestrol elicits demethylation of estrogen-responsive lactoferrin gene in mouse uterus. Cancer Res 57:4356–4359
27. Lo PK, Sukumar S (2008) Epigenomics and breast cancer. Pharmacogenomics 9:1879–1902
28. Luger K, Mader AW, Richmond RK et al (1997) Crystal structure of the nucleosome core particle at 2.8 Å resolution. Nature 389:251–260
29. Ma L, Benson GV, Lim H et al (1998) Abdominal B (AbdB) Hoxa genes: regulation in adult uterus by estrogen and progesterone and repression in mullerian duct by the synthetic estrogen diethylstilbestrol (DES). Dev Biol 197:141–154
30. Marsit CJ, Eddy K, Kelsey KT (2006) MicroRNA responses to cellular stress. Cancer Res 66:10843–10848
31. Martínez L, Jiménez V, García-Sepúlveda C et al (2011) Impact of early developmental arsenic exposure on promotor CpG-island methylation of genes involved in neuronal plasticity. Neurochem Int 58:574–581
32. Moysich KB, Shields PG, Freudenheim JL et al (1999) Polychlorinated biphenyls, cytochrome P4501A1 polymorphism, and postmenopausal breast cancer risk. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 8:41–44
33. Newbold RR, Hanson RB, Jefferson WN (1997) Ontogeny of lactoferrin in the developing mouse uterus: a marker of early hormone response. Biol Reprod 56:1147–1157
34. Prins GS, Tang WY, Belmonte J et al (2008) Perinatal exposure to oestradiol and bisphenol A alters the prostate epigenome and increases susceptibility to carcinogenesis. Basic Clin Pharmacol Toxicol 102:134–138
35. Qin XY, Fukuda T, Yang L et al (2012) Effects of bisphenol A exposure on the proliferation and senescence of normal human mammary epithelial cells. Cancer Biol Ther 13:296–306
36. Ren X, McHale CM, Skibola CF et al (2011) An emerging role for epigenetic dysregulation in arsenic toxicity and carcinogenesis. Environ Health Perspect 119:11–19

37. Rocco JW, Sidransky D (2001) p16(MTS-1/CDKN2/INK4a) in cancer progression. Exp Cell Res 264:42–55
38. Salnikow K, Zhitkovich A (2008) Genetic and epigenetic mechanisms in metal carcinogenesis and cocarcinogenesis: nickel, arsenic, and chromium. Chem Res Toxicol 21:28–44
39. Sato K, Fukata H, Kogo Y et al (2006) Neonatal exposure to diethylstilbestrol alters the expression of DNA methyltransferases and methylation of genomic DNA in the epididymis of mice. Endocr J 53:331–337
40. Sato K, Fukata H, Kogo Y et al (2009) Neonatal exposure to diethylstilbestrol alters expression of DNA methyltransferases and methylation of genomic DNA in the mouse uterus. Endocr J 56:131–139
41. Suijkerbuijk KP, van Diest PJ, van der Wall E (2011) Improving early breast cancer detection: focus on methylation. Ann Oncol 22:24–29
42. Tabish AM, Poels K, Hoet P et al (2012) Epigenetic factors in cancer risk: effect of chemical carcinogens on global DNA methylation pattern in human TK6 cells. PLoS ONE 7:e34674
43. Takiguchi M, Achanzar WE, Qu W et al (2003) Effects of cadmium on DNA-(Cytosine-5) methyltransferase activity and DNA methylation status during cadmium-induced cellular transformation. Exp Cell Res 286:355–365
44. Tang WY, Newbold R, Mardilovich K et al (2008) Persistent hypomethylation in the promoter of nucleosomal binding protein 1 (Nsbp1) correlates with overexpression of Nsbp1 in mouse uteri neonatally exposed to diethylstilbestrol or genistein. Endocrinology 149:5922–5931
45. Toyota M, Suzuki H, Sasaki Y et al (2008) Epigenetic silencing of microRNA-34b/c and B-cell translocation gene 4 is associated with CpG island methylation in colorectal cancer. Cancer Res 68:4123–4132
46. Vineis P, Perera F (2007) Molecular epidemiology and biomarkers in etiologic cancer research: the new in light of the old. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 16:1954–1965
47. Wang B, Li Y, Tan Y et al (2012) Low-dose Cd induces hepatic gene hypermethylation, along with the persistent reduction of cell death and increase of cell proliferation in rats and mice. PLoS ONE 7:e33853
48. Wang W, Srivastava S (2010) Strategic approach to validating methylated genes as biomarkers for breast cancer. Cancer Prev Res (Phila) 3:16–24
49. Warita K, Mitsuhashi T, Sugawara T et al (2010) Direct effects of diethylstilbestrol on the gene expression of the cholesterol side-chain cleavage enzyme (P450scc) in testicular Leydig cells. Life Sci 87:281–285
50. Weng YI, Hsu PY, Liyanarachchi S et al (2010) Epigenetic influences of low-dose bisphenol A in primary human breast epithelial cells. Toxicol Appl Pharmacol 248:111–121
51. Yamashita S, Takayanagi A, Shimizu N (2001) Effects of neonatal diethylstilbestrol exposure on c-fos and c-jun protooncogene expression in the mouse uterus. Histol Histopathol 16:131–140
52. Yaoi T, Itoh K, Nakamura K et al (2008) Genome-wide analysis of epigenomic alterations in fetal mouse forebrain after exposure to low doses of bisphenol A. Biochem Biophys Res Commun 376:563–567
53. Zhang J, Fu Y, Li J et al (2009) Effects of subchronic cadmium poisoning on DNA methylation in hens. Environ Toxicol Pharmacol 27:345–349
54. Zhang Y, Wise JP, Holford TR et al (2004) Serum polychlorinated biphenyls, cytochrome P-450 1A1 polymorphisms, and risk of breast cancer in Connecticut women. Am J Epidemiol 160:1177–1183
55. Zhou X, Li Q, Arita A et al (2009) Effects of nickel, chromate, and arsenite on histone 3 lysine methylation. Toxicol Appl Pharmacol 236:78–84
56. Zhu H, Li K, Liang J et al (2011) Changes in the levels of DNA methylation in testis and liver of SD rats neonatally exposed to 5-aza-2′-deoxycytidine and cadmium. J Appl Toxicol 31:484–495

Kanser ve Yaşlanmada Diyet Epigenetiği

Trygve O. Tollefsbol

Özet

Kanserde ve yaşlılıkta sıklıkla görülen epigenetik anormallikler, bu süreçlerin önemli bir komponentini oluştururlar. Ancak epigenetik proseslerin belki de en önemli özelliği reversibl olmalarıdır. Kanser ve yaşlanmada rol oynayan genetik etkenlerin aksine, epigenetik anormallikler görece olarak daha kolay düzeltilebilirler. Kanser ve yaşlanmadaki epigenetik değişimleri hedef alan en yaygın yaklaşımlardan birisi diyetin kontrolüdür. Amaçlanan hedefe ulaşabilmek sadece diyetin kalitesini değil tüketilen kalori miktarını da hedeflemekle mümkün olabilir. Turpgiller ve yeşil çayda bulunan sulforafan gibi birçok fitokimyasalın antikanser epigenetik etkileri vardır. Ayrıca kansere ilave olarak yaşla ilişkili diğer hastalıklara bağlı olarak ortaya çıkan epigenetik anormalliklerin önlenmesinde veya tedavisinde etkilidirler. Benzer şekilde tüketilen kalori miktarının da kanserin önlenmesinde ve yaşamın uzatılmasında epigenetik aracıların kontrolü yoluyla fayda sağladığı ispatlanmıştır. Bu bölümün amacı kanser ve yaşlanma epigenetiğindeki en güncel gelişmeleri değerlendirmek ve bu biyolojik prosesleri hedefleyen ve sağlık üzerinde önemli etkileri ve dönüştürebilme potansiyeli olan diyet girişimleriyle ilişkili gelişmelere ışık tutmaktır.

T. O. Tollefsbol
Department of Biology, Centerfor Aging, Comprehensive Cancer Center, Nutrition Obesity Research Center, Comprehensive Diabetes Center, University of Alabama, Birmingham, AL, USA

T. O. Tollefsbol (✉)
University Boulevard, CH175, 1300, Birmingham, AL 35294-1170, USA
e-mail: trygve@uab.edu

V. Zappia et al. (eds.), *Advances in Nutrition and Cancer,*
Cancer Treatment and Research 159, DOI: 10.1007/978-3-642-38007-5_15,
© Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2014

Anahtar Kelimeler

Nütrisyon • Kanser • Epigenetik • Diyet • Yaşlanma

Kısaltmalar

CR	Kalori kısıtlaması
DNMT	DNA metiltransferaz
EGCG	(-)-epigallokateçin-3-gallat
HAT	Histon metiltransferaz
HDAC	Histon deasetilaz
hTERT	İnsan telomeraz revers transkriptaz
miRNA	mikro RNA
SAM	S-adenozilmetionin
SFN	Sulforafan
siRNA	Kısa düzenleyici RNA
SIRT1	Sirtuin 1

İçindekiler

1 Giriş 258
2 Kanser Epigenetiği ve Diyet Girişimleri 259
2.1 Kanserin Önlenmesi ve Tedavisinde Epigenetik Diyet 260
3 Yaşlanma Epigenetiği: Diyet Faktörlerinin Etkisi 261
3.1 Besin Öğeleri Miktarları, Epigenetik ve Yaşlanma 262
3.2 Diyet ve Yaşlanma Epigenetiği 262
3.3 Glukoz Kısıtlaması ve Hayflick Limitinin Artırılması 263
4 Sonuçlar 263
Referanslar 264

1 Giriş

Epigenetiğin birçok farklı tanımı mevcut olsa da muhtemelen en yaygın kabul göreni epigenetik proseslerin kalıtsal olan ancak DNA sekansı ile kodlanmayan değişimlerle ilişkili olduğudur. Çok sayıda epigenetik mekanizma mevcuttur. Memelilerdeki en önemli üç mekanizma DNA metilasyonu, histon modifikasyonu ve protein kodlamayan RNA'lardır.

DNA metilasyonu en fazla araştırılmış olan epigenetik prosestir. Primer olarak CpG dinükleotidlerinde, S-adenozilmetioninden (SAM) enzimatik yolla alınan metil ekinin (CH3) sitozinin 5. pozisyonuna eklenmesine dayanır. Bu proses memeli sistemlerinde bulunan üç majör metiltransferaz (DNMT1, DNMT3A ve DNMT3B) tarafından yü-

rütülür. DNMT1 büyük oranda her mitotik bölümde korunan metilasyon paterninin sürdürülmesinden sorumludur. DNMT3A ve DNMT3B ise ağırlıkla yeni metilasyondan sorumludur. Daha önce metile olmayan sitozindeki yeni metile sitozinlerin (5-metilsitozinler) oluşumunda rol oynarlar. Genel olarak bir genin regüle edici bölgesindeki genlerin metilasyon oranı arttıkça promotörden o oranda az transkripsiyon oluşur. Ancak telomerazın ana regüle edici geni olan insan telomeraz revers transkriptazı (hTERT) kodlayan gen bu dogmaya önemli bir istisna oluşturur [11, 44].

Epigenetik değişimlere histon modifikasyonları da aracılık eder. Histon asetilasyon ve metilasyonları bu modifikasyonlar arasında en fazla araştırılmış olanlarıdır. Ancak fosforilasyon, ubikutin eklenmesi, biyotinlenme, sumolasyon ve ADP ribozilasyonu da mevcuttur. Histon modifikasyonlarını gerçekleştiren enzimlerin sayısı, DNA metilasyonunu yürütenlere göre daha fazladır. Bunlardan kanser ve yaşlanma ile ilgili olan histon asetiltransferazlar (HAT) ve histon deaktilazlar (HDAC) en fazla ilgi çekenleridir [26]. Genel olarak histon amino kuyrukları ne kadar fazla asetillenirse histonları içeren gen promotör bölgelerinin transkripsiyonel aktiviteleri de o oranda artar [7].

Memeli sistemlerindeki üçüncü majör epigenetik kontrol tipi olan protein kodlamayan RNA'lar da gen ekspresyonunda önemli rol oynarlar. Örneğin tek zincirli protein kodlamayan RNA'lardan oluşan mikroRNA (miRNA) genel olarak 21-23 nükleotid uzunluğundadır. Bu sekanslar gen ekspresyonunu gen transkriptlerinin stabilitesini değiştirerek ve degradasyon transkriptlerini hedefleyerek baskılarlar. Ancak miRNA gen transkripsiyonunda artışa da neden olabilir [36]. Günümüzde memelilerdeki genlerin büyük yüzdesini regüle edebilen birçok miRNA tanımlanmıştır [14].

2 Kanser Epigenetiği ve Diyet Girişimleri

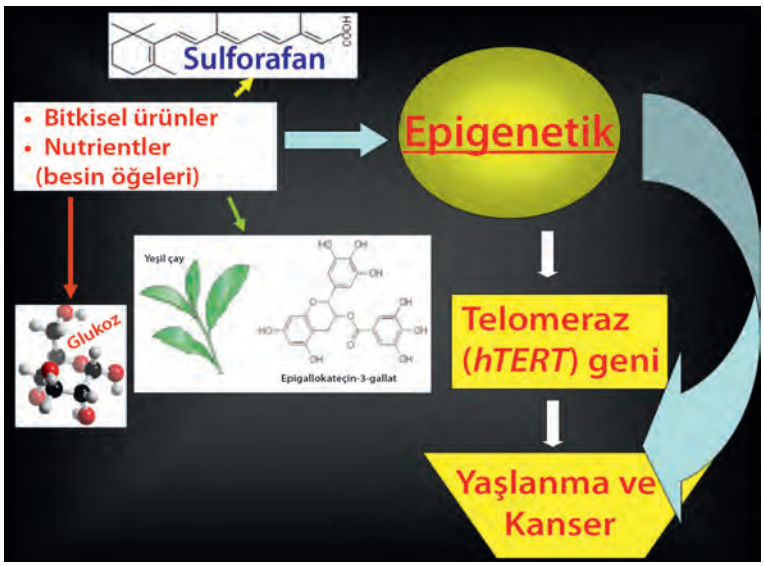
Diyet gibi çevresel faktörlerin gen ekspresyonunu etkilediği ve kanser gelişimine epigenetik mekanizmalar ile katkı yaptıkları iyi bilinmektedir [20]. Kanserde oluşan gen defektlerinin yarısından fazlasının epigenetik değişimlerle oluşması konunun önemini (genetik mutasyonlara göre) göstermektedir [23]. DNA hipometilasyonu kanser hücrelerinde nadir görülen bir durum olmayıp, sıklıkla tümör baskılayıcıları gibi önemli genlerin inaktivasyonuna yol açar [3]. DNA metilasyonundaki bu değişimler, kanserin oluşumunun erken dönemlerinde rol oynayarak, hücresel proliferasyon anormalliklerine yol açarlar. Ayrıca daha önce normal olan hücrelerin ölümsüzleşmesine neden olurlar. Histon modifikasyonlarında değişimler de kanser hücrelerinde sıklıkla görülür. Örneğin, kanser hücrelerinde çok sık görülen HDAC aktivite artışı epigenetik gen ekspresyonu üzerindeki etkileri ile tümörijeneze yol açabilir [13]. miRNA değişimleri kanserde sık görülür. Bu değişimler sıklıkla kanserin başlangıcı ve progresyonunda rol oynayan genlerin ekspresyonlarındaki defektler ile oluştur [14]. Belki de en önemlisi olan kanserdeki gen regülasyon anormalliklerinin kontrolündeki epigenetik proseslerin kollektif

etkileşimlerinin giderek daha fazla ilgi çekmesidir. Örnek vermek gerekirse epigenetik mekanizmaların kanser hücrelerindeki gen ekspresyonlarında değişime yol açmaları nadir görülen bir durum değildir [15].

2.1 Kanserin Önlenmesi ve Tedavisinde Epigenetik Diyet

Biyoaktif bileşiklerden oluşan birçok doğal diyet ajanının kanserin önlenmesi ve tedavisinde etkili oldukları gösterilmiştir. Bu nutrasötikler sıklıkla faydalı epigenetik değişimlere aracılık yaparlar [38, 50]. Bu nedenle epigenomu etkileyen ve kanserin önlenmesinde ve kemoterapötik stratejiler ile birlikte kullanılabilen "epigenetik diyet" kavramını geliştirdik [18].

Antikanser özelliklere sahip olduğu çok sayıda çalışmada gösterilen en önemli bileşiklerden biri yeşil çaydan elde edilen (-)-epigallokateçin-3-gallatdır (EGCG). Birçok çalışmada yeşil çay (EGCG) tüketimi ile çeşitli kanser türlerinin inhibisyonu arasında pozitif bir bağlantı olduğu gösterilmiştir [6, 25, 48]. EGCG'nin kanser hücreleri üzerinde (antioksidan etkisi gibi) farklı etkilere sahip olmasının yanında, DNMT'leri direkt



Şekil 1 Epigenetik diyetin komponentlerinin epigenetik, telomeraz (hTERT) ile yaşlanma ve kanserdeki etkileri. Turpgillerden elde edilen sulforafan ve (-)-epigallokateçin-3-gallat (EGCG) gibi (yapıları şekilde mevcuttur) bitkisel ürünler epigenetik prosesleri modifiye ederek yaşlanma ve kanser üzerinde direkt olarak etki gösterebilirler. Hem yaşlanma hem de kanserde önemli rol oynayan hTERT'in aşağı regülasyonuna da yol açabilirler. Fitokimyasalların epigenetik modifikasyonlara yol açma mekanizmaları bileşiğe göre farklılıklar gösterebilir. Glukoz kısıtlaması da epigenetik prosesleri etkileyerek yaşlanma ve kanser süreçlerini direkt olarak DNMT'ler ile etkileşime girerek etkileyebilir [16].

etkileşim yoluyla inhibe edebildiği de gösterilmiştir [16]. Bu şekilde kanser hücrelerindeki tümör baskılayıcı epigenetik sessizleştirmeyi etkili bir şekilde geriye çevirebilir ve bu hücrelerdeki apoptoz indüklenebilir. Ayrıca DNMT'nin EGCG tarafından inhibe edilmesinin hTERT'i aşağı regüle ederek kanser hücrelerindeki telomerazların supresyonuna yol açtıklarını da tespit ettik [4, 41]. Kanser hücrelerindeki hTERT aktivitesi promotörüne bağlanan represörler nedeniyle gen düzenleyici bölgesindeki DNA metilasyonundaki artış ile ilişkilidir [4]. Telomerazlar tümör progresyonunda çok önemli oldukları için, telomeraz aktivitesinin EGCG medyatörlüğündeki aşağı regülasyonunun kanserin önlenmesi ve tedavisinde önemli etkileri vardır (Şekil 1).

Epigenetik etkileri olan bir diğer önemli diyet komponenti de brokoli, karnabahar, Brüksel lahanası ve lahana gibi turpgillerde bulunan sulforafandır (SFN). Ancak SFN'nin DNMT1 ve DNMT3A'yı inhibe ettiğini göstermiş olsak ta [39], en güçlü etkilerini HDAC aktivitesinin inhibisyonu yoluyla göstermektedir [12, 42, 43, 47]. HDAC'lar yukarıda da bahsedildiği üzere kanser hücrelerinde sıklıkla artarlar. HDAC aktivitesinin SFN tarafından inhibisyonu kanser hücrelerindeki HDAC artışının önlenmesinde önemli bir potansiyele sahiptir. hTERT histon asetilasyon/deasetilasyonu ile de kontrol edildiği için [11], SFN'nin hTERT'in meme kanseri hücrelerinin gen regülasyonunu etkileme düzeylerini değiştirip değiştirmediğini test ettik. MCF-7 ve MDA-MB-231 hücrelerine SFN uygulanmasının hTERT'i doz ve zamana bağlı olarak aşağı regüle ettiğini tespit ettik (Şekil 1). SFN ile indüklenen hiperasetilasyon hTERT'in gen regüle edici bölgesine MAD1 ve CTCF gibi birçok hTERT represör proteinin bağlanmasını kolaylaştırır [39]. Ayrıca siRNA kullanan CTCF azalmasının meme kanseri hücrelerindeki SFN ile indüklenen hTERT aşağı regülasyonunu da zayıflattığını tespit ettik [39].

Yeşil çaydaki EGCG ve turpgillere ailesine ait sebzelerdeki SFN gibi diyet bileşiklerinin birçok farklı etkileri de mevcuttur. Bu bileşiklerin kanserin başlangıç ve progresyonunda rol oynayan ana genlerin epigenetik kontrolünü büyük oranda etkiledikleri kesindir [38]. Ayrıca EGCG ve SFN'ye ek olarak kanserin önlenmesinde oldukça etkili olan birçok diyet bileşiği de mevcuttur. Örneğin kurkumin (zerdeçal), resveratrol (üzüm ve şarap) ve genistein (soya fasulyesi) ve daha birçok fitokimyasal epigenetik potansiyelleri nedeniyle ciddi anlamda ilgi çekmektedir [38]. Epigenetiği modifiye eden gıdalar ve içeceklerin dünyada kanser insidansının azaltılmasında önemli rol oynayacağına inanıyoruz. Bu nedenle epigenetik diyet kullanımını sadece kanserlerin önlenmesinde değil, belki de erken evrelerdeki kanserlerin tedavisindeki muhtemel etkileri nedeniyle de önerilmektedir [18]. Bu fitokimyasalların diyette kombine halde kullanımları da kanser insidansını azaltmada oldukça makul bir yaklaşımdır [40].

3 Yaşlanma Epigenetiği: Diyet Faktörlerinin Etkisi

Kanser gelişimi ile ilgili en önemli risk faktörü yaştır. Kanser ile yaşlanma arasında bağlantılar olabileceğini öngören birçok çalışmada bu iki önemli biyolojik proseste epigenetiğin rolü araştırılmıştır. Gerçekten de, yaşlanma süreci aynen kanser gibi genel genomik

hipometilasyon ve bölgesel veya belirli genlere spesifik hipermetilasyon ile ilişkilidir [22, 37]. Bu durum DNMT'lerin ekspresyonlarındaki değişimlerden kaynaklanabilir [5, 34]. Yaşlanma esnasında DNA metilasyonunda görülen bu değişimlerin, yaşlanma sürecine katkı yapan epigenetik olarak kontrol edilen hTERT gibi genlerin regülasyonunda bir dizi değişime neden olması mümkündür [33]. Ayrıca histon modifikasyonlarının da yaşlanmada rol oynadıkları düşünülmektedir. Gerçekten de, sınıf III NAD^+ bağımlı bir HDAC olan sirtuin 1'in (SIRT1) farklı hayvan modellerindeki yaşam sürelerini dikkat çekici düzeyde uzatıcı etki yaptığı gösterilmiştir [8, 24]. SIRT1 enziminin metabolik oran ile ilişkili önemli bir nütrient sensörü olabileceği düşünülmektedir. NAD/NADH oranı şeklinde basitçe ifade edilen redoks potansiyeli oksijen tüketimi ve respiratuar zincirde önemli bir gösterge olan SIRT1 aktivitesini regüle etmede önemli rol oynuyor olabilir. Yaşlanma sırasında diğer birçok epigenetik değişim meydana geliyor olsa da, DNA metilasyonunun ve histon modifikasyonlarının regülasyonu, hTERT'in epigenetik kontrolü ve SIRT1'in yaşlanma ile ilgili biyolojik prosesleri modüle etmekteki rolü ciddi anlamda ilgi çeken konulardır.

3.1 Besin Öğeleri Miktarları, Epigenetik ve Yaşlanma

Yukarıda da bahsettiğimiz gibi kanser ve yaşlanmada sadece diyetin kalitesi değil, tüketilen besin öğelerinin miktarı da önemli bir rol oynamaktadır. Kalori kısıtlaması yaşlanma süreci ve maksimum hayat süresine ulaşabilme ile ilgili en önemli girişim olup kısmen epigenetik mekanizmaların aracılığında gerçekleşir [49, 53]. Total kalori miktarının hayati besin öğeleri sağlanmak kaydıyla %25-60 arasında kısıtlanması (normal beslenen kontrollere göre) yaşam süresinin %50 uzamasını sağlayabilmektedir [9, 10, 21, 31, 45, 52]. Kalori kısıtlamasının spesifik gen lokuslarındaki etkileri ile DNA metilasyonu değişime uğratılarak yaşam süresi uzatılabilir [19]. Ayrıca yaşlanma sürecinde önemli bir HDAC olan SIRT1'in kalori kısıtlaması ile güçlü bağlantısı vardır. Örneğin, kalori kısıtlaması ile SIRT1 aktivitesinin değişime uğradığı birçok in vitro ve in vivo çalışmada gösterilmiştir [8, 17, 27, 32]. Sirtuinin yaşam süresini uzatıcı etkisi orijinal olarak maya da keşfedilmiştir [17]. Kalori kısıtlamasına maruz kalan çeşitli hayvan dokularında sıklıkla SIRT1 aktivasyonu görülürken, SIRT1 inaktivasyonunun kalori kısıtlamasının yaşam süresini uzatıcı etkilerini ortadan kaldırdığı gözlenmiştir. Bu nedenle epigenetik proseslerin sadece yaşlanma sürecinde değil, DNA metilasyonu ve SIRT1 gibi yaşlanma ile ilgili ana medyatörler ile de önemli ilişkileri olduğu açıktır.

3.2 Diyet ve Yaşlanma Epigenetiği

Fitokimyasal bir diyet polifenolü olan resveratrol kalori kısıtlamasının önemli bir aracısıdır. SIRT1'i taklit ederek hem in vitro hem de in vivo ortamda yaşam süresinin uzamasını sağlar [1, 2, 51, 54]. Resveratrole ek olarak EGCG gibi diğer birçok polifenolün de yaşlanma süreci üzerinde faydalı etkileri olduğu gösterilmiştir [46]. Turpgiller ailesinde-

ki sebzelerin ve soya fasulyesi gibi diğer epigenetik diyet komponentlerinin kanseri önleyici etkileri yoluyla yaşam süresinin uzamasına katkıları vardır [28, 31, 38]. Örneğin, epigenetik diyet komponentlerinin belirli bir periyod süresince kullanılmaları ile kanser ve kardiyovasküler hastalık gibi yaşla ilgili hastalıklarda azalma görülebilmektedir [35].

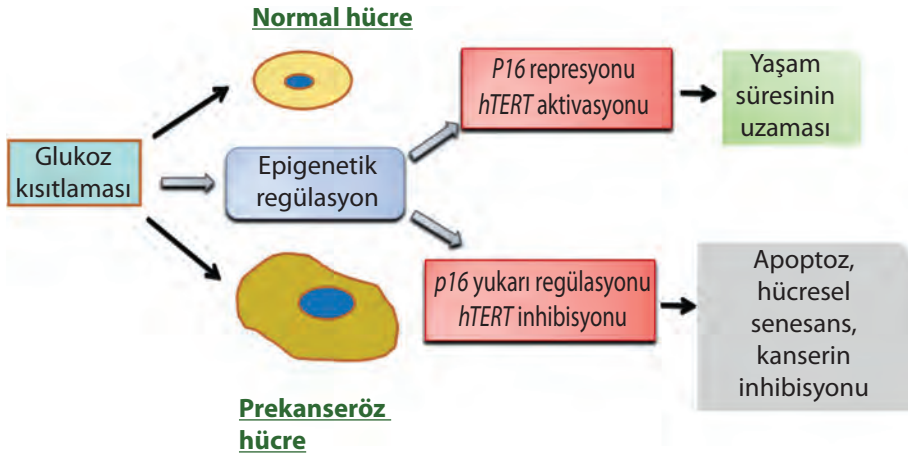
3.3 Glukoz Kısıtlaması ve Hayflick Limitinin Artırılması

Hayflick limiti biyolojik yaşlanma için hayati olan hücresel senesans ile ilişkilidir. Kalori kısıtlaması ile ilişkili çalışmalar organizma (tek hücreli mayalar gibi) yaşam sürelerinin analizi ile kısıtlı olduğu için, bu kısıtlamanın memelilerdeki Hayflick limitini etkileyip etkilemediğini test etmeyi amaçladık. Ayrıca kalori kısıtlamasının insan yaşlanması üzerindeki etkileri, bu çalışmaların görece olarak uzun yaşam süresi olan insan popülasyonlarında yapılması pratik olmadığı için henüz büyük oranda anlaşılamamıştır. Hücresel senesans yaşlanmanın önemli temellerinden kabul edildiği için, insan fibroblast hücre kültürlerindeki glukoz miktarının kısıtlanmasının Hayflick limiti üzerindeki etkilerini gözlemledik [29]. 15 mg/L glukoz uygulanan kültürdeki insan hücrelerinin yaşam sürelerinin 4.5 g/L glukoz uygulanan kontrol insan hücrelerine göre anlamlı olarak azaldığını tespit ettik. Ayrıca glukoz kısıtlaması uygulanan hücrelerde hTERT düzeylerinde görece olarak hafif düzeyde artışa (kanser hücrelerine göre) ve p16 düzeylerinde azalmaya yol açan epigenetik değişimler gözlemledik. Kalori kısıtlamasına cevap olarak oluşan epigenetik değişimlerin bu hücrelerdeki DNA metilasyon ve histon modifikasyonlarına bağlı olduğunu (en azından kısmen) tespit ettik (Şekil 2). Ayrıca prekanseröz hücrelerdeki hTERT ve p16'nın kalori kısıtlamasına ters yönde cevap vererek epigenetik olarak indüklenen hücre apoptozunun oluşumuna yol açtığı bulunmuştur [29] (Şekil 2).

Farklı çalışmalarımızdaki ilave analizlerde glukoz kısıtlaması uygulanan insan hücrelerindeki SIRT1 düzeylerinin arttığı tespit edilmiştir. Bu artış SIRT'in p16 üzerindeki epigenetik etkileri ile SIRT1'in p16 üzerindeki Akt/p70S6K1 yolağı vasıtasıyla gerçekleşen genetik etkileri ile insan hücrelerinin yaşam sürelerinin uzamasına neden olmuştur [30]. Kalori kısıtlaması bu nedenle sadece hayvanların değil, hücrelerinin de yaşam sürelerini artırmıştır. Hayflick limiti yaşlanmanın önemli bir özelliği olduğu ve bahsettiğimiz çalışmalarda metabolik sistemik faktörler rol oynamadığı için, kalori kısıtlamasının primer olarak senesans düzeyinde etki gösterdiği ve hücresel senesansın önemli bir aracısı olduğu ve yaşlanmanın kalori kısıtlamasına cevap olarak epigenetik mekanizmalarda oluşan değişimler ile meydana geldiği bulunmuştur.

4 Sonuçlar

Epigenetik mekanizmalar yaşlanma ve kanser ile ilgili birçok özellik önem taşımaktadır. Diyet faktörleri bu biyolojik süreçlerin advers etkilerini azaltabilen önemli yardımcılardır. Diyetin hem kalitesi hem de miktarı sağlıklı yaşlanma ve özellikle kanserde hayati



Şekil 2 Glukoz kısıtlamasının epigenetik regülasyon yoluyla yaşam süresi ve kanser üzerindeki etkisi. Glukoz kısıtlaması hem normal hem de kanser hücrelerindeki epigenetik regülasyonunu etkileyebilir. Glukoz kısıtlaması ile normal hücrelerde *p16* represyonu ve *hTERT* aktivasyonu gerçekleşerek Hayflick limitinin artmasına neden olur. Prekanseröz hücrelerde ise glukoz kısıtlaması ile *p16* ve *hTERT* üzerinde bu etkinin tersinin görülmesi apoptoz, hücresel senesans ve kanser inhibisyonuna yol açar.

önem taşımaktadır. Diyetin kalitesini, fitokimyasalların tüketiminden oluşan ve DNA metilasyon, histon modifikasyonu ve protein kodlamayan RNA gibi prosesleri modüle eden epigenetik diyet belirler. Epigenetik diyetin sadece kanseri önlemekte değil, yaşa bağlı hastalıkların ortaya çıkmasındaki önemli potansiyeli ile ilgili dünya çapında çok önemli bir veri tabanı oluşmaktadır. Diyet miktarının da epigenetik etkileri vardır. Kalori azaltımından, birçok hücresel prosesin aracısı olan SIRT1 aktivitesi gibi birçok epigenetik mekanizma etkilenmektedir. Kalori kısıtlamasının hücresel düzeyde insan hücrelerinin yaşam süresini uzattığını gösterdik. Bu bulgu kalori kısıtlamasının epigenetik etkileri ile yaşam süresinin uzatılması prosesinin muhtemel temelini oluşturmaktadır. Epigenetiğin kanser ve yaşlanmadaki rolü ile ilgili hala cevaplanmamış birçok soru mevcuttur. Ancak epigenetik mekanizmaların hem kanser hem de yaşlanmada görülen ana anormallikler olduğu netleşmiştir. Epigenetik diyet çok sayıda insanın hayatına mal olan biyolojik prosesler olan kanser ve yaşlanmada görülen morbidite ve mortaliteyi azaltmanın güvenli ve etkili bir yolu olarak giderek daha fazla öne çıkan bir araştırma konusu haline gelmektedir.

Teşekkürler Bu çalışmaya kısmi maddi destek sağlayanlar: Ulusal Kanser Enstitüsü (RO1 CA129415), Amerikan Kanser Enstitüsü, Norma Livingston Vakfı.

Referanslar

1. Barger JL, Kayo T, Vann JM et al (2008) A low dose of dietary resveratrol partially mimics caloric restriction and retards aging parameters in mice. PLoS ONE 3(6):e2264

2. Bass TM, Weinkove D, Houthoofd K et al (2007) Effects of resveratrol on lifespan in Drosophila melanogaster and Caenorhabditis elegans. Mech Ageing Dev 128:546–552
3. Baylin SB, Herman JG, Graff JR et al (1998) Alterations in DNA methylation: a fundamental aspect of neoplasia. Adv Cancer Res 72:141–196
4. Berletch JB, Liu C, Love WK et al (2008) Epigenetic and genetic mechanisms contribute to telomerase inhibition by EGCG. J Cell Biochem 103:509–519
5. Casillas MA Jr, Lopatina N, Andrews LG et al (2003) Transcriptional control of the DNA methyltransferases is altered in aging and neoplastically-transformed human fibroblasts. Mol Cell Biochem 252:33–43
6. Chen PN, Chu SC, Kuo WH et al (2011) Epigallocatechin-3 gallate inhibits invasion, epithelial-mesenchymal transition, and tumor growth in oral cancer cells. J Agric Food Chem 59:3836–3844
7. Clayton AL, Hazzalin CA, Mahadevan LC (2006) Enhanced histone acetylation and transcription: a dynamic perspective. Mol Cell 23:289–296
8. Cohen HY, Miller C, Bitterman KJ et al (2004) Calorie restriction promotes mammalian cell survival by inducing the SIRT1 deacetylase. Science 305:390–392
9. Colman RJ, Anderson RM, Johnson SC et al (2009) Caloric restriction delays disease onset and mortality in rhesus monkeys. Science 325:201–204
10. Cruzen C, Colman RJ (2009) Effects of caloric restriction on cardiovascular aging in non-human primates and humans. Clin Geriatr Med 25:733–743
11. Daniel M, Peek GW, Tollefsbol TO (2012) Regulation of the human catalytic subunit of telomerase (hTERT). Gene 498:135–146
12. Dashwood RH, Ho E (2008) Dietary agents as histone deacetylase inhibitors: sulforaphane and structurally related isothiocyanates. Nutr Rev 66(Suppl 1):S36–S38
13. Dokmanovic M, Marks PA (2005) Prospects: histone deacetylase inhibitors. J Cell Biochem 96:293–304
14. Esquela-Kerscher A, Slack FJ (2006) Oncomirs—microRNAs with a role in cancer. Nat Rev Cancer 6:259–269
15. Esteller M (2008) Epigenetics in cancer. N Engl J Med 358:1148–1159
16. Fang MZ, Wang Y, Ai N et al (2003) Tea polyphenol (-)-epigallocatechin-3-gallate inhibits DNA methyltransferase and reactivates methylation-silenced genes in cancer cell lines. Cancer Res 63:7563–7570
17. Guarente L, Picard F (2005) Calorie restriction–the SIR2 connection. Cell 120:473–482
18. Hardy TM, Tollefsbol TO (2011) Epigenetic diet: impact on the epigenome and cancer. Epigenomics 3:503–518
19. Hass BS, Hart RW, Lu MH et al (1993) Effects of caloric restriction in animals on cellular function, oncogene expression, and DNA methylation in vitro. Mutat Res 295:281–289
20. Herceg Z (2007) Epigenetics and cancer: towards an evaluation of the impact of environmental and dietary factors. Mutagenesis 22:91–103
21. Holloszy JO, Fontana L (2007) Caloric restriction in humans. Exp Gerontol 42:709–712
22. Issa JP (1999) Aging, DNA methylation and cancer. Crit Rev Oncol Hematol 32:31–43
23. Issa JP (2008) Cancer prevention: epigenetics steps up to the plate. Cancer Prev Res (Phila) 1:219–222
24. Kanfi Y, Peshti V, Gozlan YM et al (2008) Regulation of SIRT1 protein levels by nutrient availability. FEBS Lett 582:2417–2423
25. Kim JW, Amin AR, Shin DM (2010) Chemoprevention of head and neck cancer with green tea polyphenols. Cancer Prev Res (Phila) 3:900–909
26. Kouzarides T (2007) Chromatin modifications and their function. Cell 128:693–705
27. Leibiger IB, Berggren PO (2006) Sirt1: a metabolic master switch that modulates lifespan. Nat Med 12:34–36
29. Li Y, Liu L, Andrews LG et al (2009) Genistein depletes telomerase activity through cross-talk between genetic and epigenetic mechanisms. Int J Cancer 125:286–296

30. Li Y, Liu L, Tollefsbol TO (2010) Glucose restriction can extend normal cell lifespan and impair precancerous cell growth through epigenetic control of hTERT and p16 expression. FASEB J 24:1442–1453
28. Li Y, Tollefsbol TO (2011) p16(INK4a) suppression by glucose restriction contributes to human cellular lifespan extension through SIRT1-mediated epigenetic and genetic mechanisms. PLoS ONE 6:e17421
31. Li Y, Daniel M, Tollefsbol TO (2011) Epigenetic regulation of caloric restriction in aging. BMC Med 9:98
32. Lin SJ, Defossez PA, Guarente L (2000) Requirement of NAD and SIR2 for life-span extension by calorie restriction in Saccharomyces cerevisiae. Science 289:2126–2128
33. Liu L, Wylie RC, Andrews LG et al (2003) Aging, cancer and nutrition: the DNA methylation connection. Mech Ageing Dev 124:989–998
34. Lopatina N, Haskell JF, Andrews LG et al (2002) Differential maintenance and de novo methylating activity by three DNA methyltransferases in aging and immortalized fibroblasts. J Cell Biochem 84:324–334
35. Mathers JC (2006) Nutritional modulation of ageing: genomic and epigenetic approaches. Mech Ageing Dev 127:584–589
36. Mathers JC, Strathdee G, Relton CL (2010) Induction of epigenetic alterations by dietary and other environmental factors. Adv Genet 71:3–39
37. Mays-Hoopes LL (1989) DNA methylation in aging and cancer. J Gerontol 44:35–36
38. Meeran SM, Ahmed A, Tollefsbol TO (2010a) Epigenetic targets of bioactive dietary components for cancer prevention and therapy. Clin Epigenetics 1:101–116
39. Meeran SM, Patel SN, Tollefsbol TO (2010b) Sulforaphane causes epigenetic repression of hTERT expression in human breast cancer cell lines. PLoS ONE 5(7):e11457
40. Meeran SM, Patel SN, Li Y et al (2012) Bioactive dietary supplements reactivate ER expression in ER-negative breast cancer cells by active chromatin modifications. PLoS ONE 7(5):e37748
41. Mittal A, Pate MS, Wylie RC et al (2004) EGCG down-regulates telomerase in human breast carcinoma MCF-7 cells, leading to suppression of cell viability and induction of apoptosis. Int J Oncol 24:703–710
42. Myzak MC, Tong P, Dashwood WM et al (2007) Sulforaphane retards the growth of human PC-3 xenografts and inhibits HDAC activity in human subjects. Exp Biol Med (Maywood) 232:227–234
43. Nian H, Delage B, Ho E et al (2009) Modulation of histone deacetylase activity by dietary isothiocyanates and allyl sulfides: studies with sulforaphane and garlic organosulfur compounds. Environ Mol Mutagen 50:213–221
44. Poole JC, Andrews LG, Tollefsbol TO (2001) Activity, function, and gene regulation of the catalytic subunit of telomerase (hTERT). Gene 269:1–12
45. Pugh TD, Oberley TD, Weindruch R (1999) Dietary intervention at middle age: caloric restriction but not dehydroepiandrosterone sulfate increases lifespan and lifetime cancer incidence in mice. Cancer Res 59:1642–1648
46. Queen BL, Tollefsbol TO (2010) Polyphenols and aging. Curr Aging Sci 3:34–42
47. Schwab M, Reynders V, Loitsch S et al (2008) The dietary histone deacetylase inhibitor sulforaphane induces human beta-defensin-2 in intestinal epithelial cells. Immunology 125(2):241–251
48. Shanmugam MK, Kannaiyan R, Sethi G (2011) Targeting cell signaling and apoptotic pathways by dietary agents: role in the prevention and treatment of cancer. Nutr Cancer 63:161–173
49. Sinclair DA (2005) Toward a unified theory of caloric restriction and longevity regulation. Mech Ageing Dev 126:987–1002
50. Su LJ, Mahabir S, Ellison GL et al (2011) Epigenetic contributions to the relationship between cancer and dietary intake of nutrients, bioactive food components, and environmental toxicants. Front Genet 2:91

51. Subramanian L, Youssef S, Bhattacharya S et al (2010) Resveratrol: challenges in translation to the clinic–a critical discussion. Clin Cancer Res 16:5942–5948
52. Sun D, Krishnan A, Su J, Lawrence R et al (2004) Regulation of immune function by calorie restriction and cyclophosphamide treatment in lupus-prone NZB/NZW F1 mice. Cell Immunol 228:54–65
53. Weindruch R, Walford RL, Fligiel S et al (1986) The retardation of aging in mice by dietary restriction: longevity, cancer, immunity and lifetime energy intake. J Nutr 116:641–654
54. Wood JG, Rogina B, Lavu S et al (2004) Sirtuin activators mimic caloric restriction and delay ageing in metazoans. Nature 430:686–689

Meme Kanseri ve Erken Yaşlardaki Beslenmenin Önemi

Karen A. Lillycrop ve Graham C. Burdge

Özet

Epigenetik prosesler dokuya özgü gen ekspresyonunun regülasyonunda önemli rol oynamaktadır. Bu süreçlerin değişime uğraması fenotipte önemli değişikliklere yol açarak kanseri de içeren birçok insan hastalığının patojenezinde önemli rol oynar. Çevresel etkiler (özellikle diyetteki varyasyonlar) spesifik gelişim aşamalarında epigenom değişimlerine yol açabilmektedir. Bu değişimler hayat boyu korunarak, yaşamın ilerleyen döneminde kansere karşı duyarlılık derecesini etkileyebilir. Bu bölümde yaşamın erken yıllarındaki beslenme değişimlerinin meme kanseri riskini genlerin epigenetik regülasyonu ile etkileyebileceğini inceleyeceğiz. Yaşamın erken yıllarında oluşan bu tür epigenetik işaretlerin tespit edilmesinin, yüksek hastalık riski altındaki bireylerin tespitinde biyomarker olarak kullanımlarını tartışacağız.

Anahtar Kelimeler

Epigenetik • Nütrisyon • Transkripsiyon • Erken yaşam

Kısaltmalar

A^{vy}	Agouti viable yellow
AOX	Asetil-CoA karboksilaz

K. A. Lillycrop (✉)
Centre for Biological Sciences, Institute of Developmental Sciences, Faculty of Natural and Environmental Sciences, University of Southampton, Southampton, SO16 6YD, UK
e-mail: kal@soton.ac.uk

G. C. Burdge
Institute of Developmental Sciences, Faculty of Medicine, University of Southampton, Southampton, SO16 6YD, UK

V. Zappia et al. (eds.), *Advances in Nutrition and Cancer,*
Cancer Treatment and Research 159, DOI: 10.1007/978-3-642-38007-5_16,
© Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2014

Kısaltmalar

ATM	Ataksi telanjiektazi mutasyonu
VKİ	Vücut kütle indeksi
BRCA1	Meme kanseri 1, erken başlayan
DA	Doğum ağırlığı
KVH	Kardiyovasküler hastalık
CpG	Fosfatla bağlı sitozin ve guanin nükleotidleri
DES	Dietilstilbesterol
DHA	Dokosaheksaenoik asit
DNMT	DNA metiltransferaz
ER	Östrojen reseptörü
EWAS	Epigenom boyunca ilişkilendirme çalışmaları
GR	Glukokortikoid reseptörü
HDAC	Histon deasetilaz
HMT	Histon metiltransferaz
IAP	İntrasisternal A-partikülü
IGF1	İnsülin büyüme faktörü 1
MeCP	Metil CpG bağlayıcı protein
MeDIP	Metile DNA immunopresipitasyon
miRNA	Mikro RNA
MUFA	Monoansatüre yağ asidi
ncRNA	Protein kodlamayan RNA
NCD	Bulaşıcı olmayan hastalıklar
NMU	N-nitrozo-N-metilüre
POMC	Pro-opiomelanokortin
PR	Protein kısıtlaması
PPAR	Peroksizomal proliferatör-aktive reseptör
PUFA	Poliansatüre yağ asidi
RXRα	Retinoid X reseptör-α
TEB	Terminal uç tomurcukları

İçindekiler

1 Giriş 271
1.1 Erken Yaşamda Maruz Kalınan Çevre ve Gelecekteki Hastalık Riski 271
2 Epigenetik 272
2.1 DNA Metilasyonu 273
2.2 Histon Modifikasyonu 273
2.3 Protein Kodlamayan RNA'lar 274
2.4 Epigenetik, Yaşlanma ve Kanser 274
2.5 Erken Yaşamda Beslenme ve Epigenom 275
3 Prenatal Çevre ve Kanser Riski 276
3.1 Kanser Riskinin Nütrisyonel Programlamasında Hayvan Modelleri 277

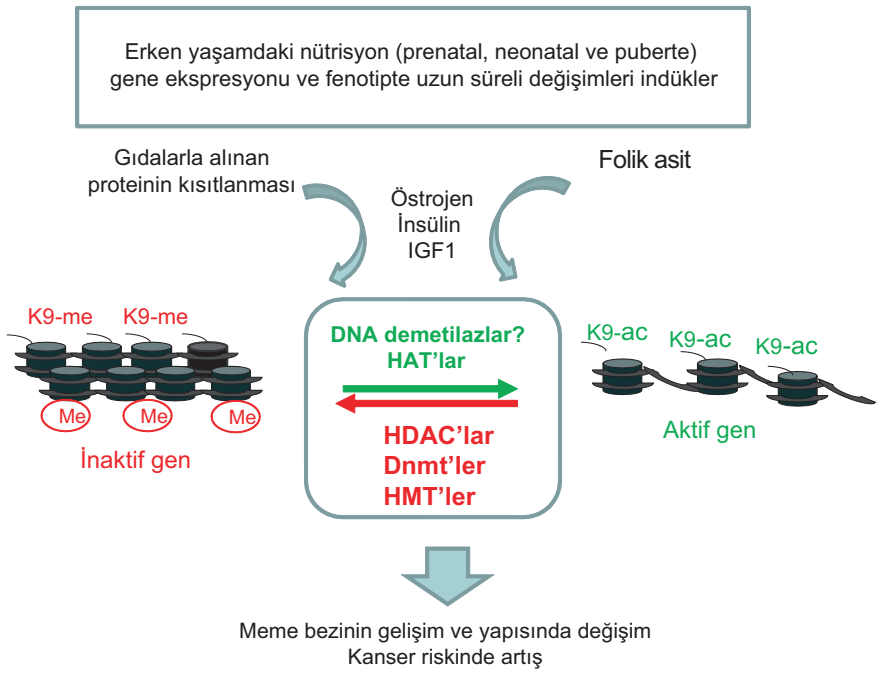
3.2 Mikrobesin Tüketimi 278
3.3 Epigenetik Biyomarkerlerin Tanımlanması 281
4 Sonuçlar 281
Referanslar 281

1 Giriş

Kanserin DNA mutasyonları veya silinmeleri gibi genetik değişimlerden kaynaklandığı geleneksel olarak kabul edilmektedir. Ancak meme kanserini de içeren bazı kanserlerin embriyonik hayattan kaynaklanabileceğini gösteren kanıtlar artmaktadır. Meme kanseri gelişiminde yaşamın erken yıllarında maruz kalınan çevrenin önemli rol oynadığı insan epidemiyoloji çalışmalarında gösterilmektedir. Hem fazla hem de az beslenen hayvan modellerinde de tespit edilen bu bulgular, yavruların kansere karşı duyarlılıklarının etkilendiğini göstermiştir. Yaşamın ilk evrelerinde maruz kalınan çevrenin farklı ve stabil bir fenotipi indükleme mekanizması anlaşılmaya başlamıştır. Bu mekanizmada epigenetik süreçlerin de rolü olabilir. Güncel çalışmalarda yaşamın ilk yıllarındaki çevresel faktörlerin indüklediği epigenom değişimleri yaşam boyu korunmaktadır. Bu durum erken yaşlardaki beslenmenin meme bezlerinin gelişimini veya yapısını hastalığın başlamasından onyıllar önce değiştirip kalıcı epigenetik değişimlere yol açarak meme kanseri riskini modüle ettiğini düşündürmektedir. Bu makalede yaşamın erken yıllarındaki beslenme değişimlerinin meme kanseri riskini genlerin epigenetik regülasyonu ile etkileyebileceğini inceleceğiz. Yaşamın erken yıllarındaki bu tür epigenetik işaretlerin tespit edilmesinin, yüksek hastalık riski altındaki bireylerin tespitinde biyomarker olarak kullanımlarını tartışacağız.

1.1 Erken Yaşamda Maruz Kalınan Çevre ve Gelecekteki Hastalık Riski

Erken yaşamdaki çevre kalitesi ile erişkin yaşamda görülen kronik hastalıklar arasındaki ilişki ilk kez David Barker ve çalışma arkadaşları tarafından tanımlanmıştır. İngiltere'deki infant mortalitesi ile 50-60 yıl sonra görülen KVH riski arasında güçlü bir coğrafi ilişki tespit etmişlerdir [1]. Çok sayıda retrospektif çalışmada da düşük doğum ağırlığının, erişkinlerde görülen KVH, tip 2 diyabet, obezite ve hipertansiyonu da içeren birçok bulaşıcı olmayan hastalığın riskinde artışla ilişkili olduğu gösterilmiştir [2]. Bu bulgular gebe ve/veya emzirme dönemindeki sıçan veya farelere genel olarak kısıtlanmış düşük proteinli diyet veya yüksek yağlı diyet uygulanan birçok hayvan çalışmasında tekrarlanmıştır. İlginç şekilde bu hayvanların yavruları da çok benzer özelliklerle doğmakta ve yaşamlarının ilerleyen dönemlerinde dislipidemi, obezite, hipertansiyon, hiperinsülinemi ve hiperleptinemi gelişmektedir [3]. Erken yaşamdaki nütrisyon anormalliklerine bağlı olarak farklı fenotiplerin indüklenmesinin, normal bir adaptasyon mekanizmasına bağlı olduğu düşünülmektedir. Organizma bu mekanizma sayesinde sahip olduğu gelişimsel esnekliği kullanarak (çevresel etkilere



Şekil 1 Erken yaşamdaki beslenmenin epigenom üzerindeki etkileri Yaşamın erken dönemlerindeki beslenme gen metilasyonu ile demetilasyon arasındaki dengeyi belirler. Histon deasetilazlar (HDAC), histon metiltransferazlar (HMT) ve DNA metiltransferazlar (DNMT) histon deasetilasyonunu, histon H3'teki K9 metilasyonunu ve kromatin konfigürasyonunun kapanmasına ve gen sessizleştirmesine yol açan DNA metilasyonunu indüklerler. Buna karşın histon asetil transferazlar (HAT) ise (H3K9'un asetilasyonunu da içerecek şekilde) lisin kalıntılarının asetilasyonunu indükleyerek açık kromatin konfigürasyonuna ve gen transkripsiyonuna yol açarlar.

cevap olarak) hayatın ilerleyen dönemlerindeki formunu ve sağkalımı koruyabilmek amacıyla gelişim programını değiştirebilir [4]. Organizmanın çevresel etkilere cevap olarak genlerin epigenetik regülasyonu yoluyla tek bir genomdan farklı fenotipler üretebildiğini gösteren kanıtlar günümüzde mevcuttur.

2 Epigenetik

Epigenetik prosesler spesifik genlerin ne zaman ve nerede eksprese olacaklarının belirlenmesinde rol oynarlar. Bu nedenle genlerin epigenetik regülasyonlarının değişime uğraması fenotipte önemli değişimlere yol açabilir [5, 6]. Majör epigenetik prosesler DNA metilasyonu, histon modifikasyonu ve protein kodlamayan RNA'lardır (Şekil 1).

2.1 DNA Metilasyonu

CpG dinükleotidindeki (p ilgili fosfat grubunu gösterir) DNA'daki sitozinin 5. pozisyonunda gerçekleşen metilasyon, memeli genomlarında sık görülür. Bu metilasyon DNA replikasyonu ve hücre bölünmesi ile iletilen stabil bir epigenetik izi oluşturur [7]. CpG dinükleotidleri genom boyunca randomize olarak dağılmamıştır. Genlerin/promotörlerin CpG adacıkları olarak bilinen 5′ uçlarında kümelenmişlerdir. Bu CpG adacıklarının hipermetilasyonu transkripsiyonal represyon ile ilişkili iken, aynı adacıkların hipometilasyonu ise transkripsiyonal aktivasyon ile ilişkilidir [8, 9].

DNA metilasyonu damgalanmış (imprinted) genlerin asimetrik sessizleştirilmesinde [10], X kromozomunun inaktivasyonunda [11, 12] ve hücre spesifikasyonu ile dokuya özgü gen ekspresyonunda önemlidir [7]. CpG'lerin metilasyonu büyük oran embriyogenez veya erken postnatal hayatta gerçekleşir. Maternal ve paternal genomlar fertilizasyon sonrası kapsamlı demetilasyona uğrarlar. Bunu blastosit implantasyonunun hemen öncesinde gerçekleşen yeni global metilasyon takip eder [13, 14]. Bu metilasyon sırasında CpG'lerin büyük bölümü represe heterokromatin bölgelerinde veya geriye çevrilebilir faktörler gibi repetitif sekanslar düzeyinde metile olurlar [15]. Dokuya spesifik genlerin kökene spesifik metilasyonları da prenatal gelişim ve erken postanal hayat sırasında oluşarak farklılaşan hücrelerin gelişimsel geleceklerini belirlerler. CpG dinükleotidlerinin yeni metilasyonu DNA metiltransferazlar (DNMT) 3a ve 3b tarafından katalizlenir ve hemi-metile DNA'nın DNTM1 ile gen spesifik metilasyonu ile gerçekleşen mitoz ile korunur [16].

2.2 Histon Modifikasyonu

Hücrelerimizdeki DNA kromatin olarak paketlenmiştir. Bir kromatinin temel ünitesi 147 DNA asit-baz çiftinden oluşan ve histon proteinlerinden (histon H2A, H2B, H3 ve H4'ün ikişer kopyası) oluşan bir çekirdeğin etrafına sarılmış nükleozomdur. Histon proteinlerinin iki bölgesi vardır: Globüler bölge ve N-terminal kuyruk bölgesi. Histonların N-terminal kuyrukları asetilasyon, metilasyon, ubikutin eklenmesi, sumolasyon ve fosforilazyon gibi modifikasyonlara açıktır [17]. Histon modifikasyonu spesifik hücresel proseslere yol açabilen efektör proteinlerin yerleşimine yol açar. Histon kuyruklarındaki bu işaretlere sıklıkla histon kodu adı verilir. Histon asetilasyonu aktif kromatin durumu ile özel olarak ilişkili iken lisinin metilasyonu ise rol oynayan spesifik lisine bağlı olarak aktif veya represif bir işaret olabilir [17]. Histon modifiye edici enzimlerinden oluşan ve kod yazarları olarak bilinen birçok aile tanımlanmıştır. Bunlar arasında asetil transferazlar ve metiltransferazlar mevcuttur. Deasetilazlar ve demetilazlar ise siliciler arasında sayılabilir [18, 19].

DNA metilasyonu ile histon modifikasyonu arasında net bir etkileşim (cross talk) oluşmaktadır. Metile DNA, metil CpG bağlayıcı protein-2 (MeCP2) tarafından bağlanır. Bu proteinler histonlardaki transkripsiyonel olarak aktif kromatin sinyalleri olan

asetil gruplarını uzaklaştıran histon deasetilazları (HDAC) ve kromatin yapısının kapanmasına ve transkripsiyonel sessizleştirmeye yol açan ve H3'teki lisin 9'u metile eden SUV39H1 [20] gibi metiltransferazlar (HMT) da içerirler. Ancak güncel çalışmalarında DNMT1'in, HDAC1 ve HDAC2 gibi bazı histon modifiye edici enzimler ve SUV39H1 ve EZH2 [21, 22] gibi metiltransferazlar tarafından kullanılıyor olması kromatin yapısının DNA metilasyon statüsünü de belirleyebileceğini ve bu iki proses arasında iki taraflı bir ilişki olduğunu düşündürmektedir.

2.3 Protein kodlamayan RNA'lar

Protein kodlamayan RNA'lar (ncRNA'lar) gen ekspresyonunun epigenetik regülasyonunda da rol oynamaktadır. ncRNA'lar etkilerini cis veya transda gösterirler. Cis-etkili (cis-acting) ncRNA'lar uzun/makro-ncRNA'lardır (100.000 nt'ye kadar). Trans-etkili (trans-acting) mcRNA'lar ise çoğunlukla degradasyon mRNA'larının 3′ translasyona uğramamış bölgesini hedef alan mikro RNA'lar (miRNA'lar) içerirler [23]. Ancak güncel çalışmalarda insan miRNA'sının aynı zamanda kromatinlerin yeniden biçimlenmesini de indükleyebileceğinin gösterilmiş olması [24, 25], DNA metilasyonu, histon modifikasyonu ve miRNA'ların gen ekspresyonunun regülasyonunda uyum içinde çalıştıklarını düşündürmektedir.

2.4 Epigenetik, Yaşlanma ve Kanser

Gelişim sırasında oluşan epigenetik izler erişkinlik çağında da büyük oranda korunurlar. Ancak yaşlanma dokuya özgü epigenetik kayma, DNMT1 aktivitesinde azalma ve c-Myc ve cN-ras gibi proto-onkogenlerin aktivasyonuna yol açan global genom hipometilasyonu ile ilişkilidir [26]. Ancak yaşlanma ile tümör baskılayıcı gen promotörlerinde hipermetilasyon da görülür [27]. Değişime uğramış epigenetik regülasyon meme, akciğer, prostat ve hematopoetik dokuları da içeren birçok çok kanser türünün gelişimi ile ilişkilidir [28–32]. Örneğin normalde sadece kök hücrelerinde eksprese olan ve pluripotent özelliğin korunmasında önemli rol oynayan Oct-4 ve Sox2, spontan meme kanserinde hipometile olur ve yüksek oranda eksprese edilir [33]. Buna karşın DNA tamirinde hayati rol oynayan ve meme kanserinin kalıtsal formlarında mutasyona uğrayan tümör supresor gen BRCA1 sıklıkla hipermetile olur. Bu durum kötü prognoz ve östrojen reseptörü negatif tümörler ile ilişkilidir [34, 35]. Bu bulgular yaşlanmanın sadece DNA metilasyon kapasitesinin korunmasında progresif bir azalma ile değil aynı zamanda epigenetik proseslerin selektif disregülasyonu ile de ilişkili olduğunu göstermektedir. Bu hedefli hipermetilasyonun altında yatan mekanizma net olarak bilinmemektedir. Metilasyonun heterokromatinden genomun transkripsiyonel olarak aktif bölgelerine atlaması olası mekanizma olarak önerilmiştir. Ancak bu mekanizma, niçin DNA'nın sadece bazı belirli sekanslarının etkilendiğini açıklamamaktadır. Yaşla birlikte oluşan değişimler, erken yaşlarda indüklenen metilasyon düzeylerinin oluşturduğu epi-

genetik altyapı üzerinde etki gösterirler. Böylece gelişim esnasında indüklenen epigenom varyasyonları hayatın ilerleyen dönemlerinde hastalıklara duyarlılık derecelerini etkileyebilir [36].

2.5 Erken Yaşamda Beslenme ve Epigenom

DNA metilasyonu en stabil epigenetik işarettir. Ancak epigenomun hayat sürecinin prenatal, neonatal ve pubertal dönemler gibi spesifik periyotlarındaki birçok çevresel faktörlere duyarlı olduğunu gösteren kanıtlar giderek artmaktadır. Erken yaşamdaki beslenmenin fenotipi nasıl değiştirebileceğini gösteren en iyi örneklerden bir tanesi bal arıları ile yapılan çalışmalardır. Genetik yapıları aynı olmasına rağmen farklı şekillerde beslenen dişi larvalardan ya steril işçi arılar ya da fertil kraliçe arılar gelişir [37]. Ancak DNA metiltransferaz 3 (DNMT3) ekspresyonu sessizleştirilen larvalardan gelişen kraliçe arıların sayısı işçi arı sayısına göre anlamlı olarak artar. Bu bulgu beslenmenin DNA metilasyonunu değiştirmek suretiyle fenotipi anlamlı olarak değiştirebileceğini göstermektedir [37].

Fare yavrularında diyetin DNA metilasyonunu değiştirebileceği gösterilmiştir. Agouti faresindeki tek-karbon metabolizması için metil donör ve kofaktörlerin alımındaki farklılıklar, yavrunun renginde değişimlere yol açmaktadır. Mürin A^{vy} mutasyonu agouti genine yukarı yönlü intrasisternal A-partikülü (IAP) retrotranspozonu eklenmesi ile oluşarak sarı renkli tüy pigmenti üretimini indükler. Gebe farelere betain, kolin, folik asit ve vitamin B12 takviyesi yapılması, agouti geninin metilasyonunda artışa ve yavrunun tüy renginin sarıdan (agouti) kahverengiye (psödo-agouti) dönmesine neden olur [38].

Bazı hayvan modellerinde erken yaşamdaki nütrisyonel programlama anormalliklerinin lipid ve glukoz metabolizmasının birçok önemli regülatörünün epigenetik kontrolünü değişime uğrattığını gösteren kanıtlar da mevcuttur. Örneğin gebe sıçanların proteini kısıtlı diyetle beslenmesinin juvenil ve erişkin yavruların karaciğerindeki GR ve PPARα promotörlerinin hipometilasyonunu indükleyerek, bu genlerin mRNA ekspresyonunda artışa yol açtığı tespit edilmiştir [39, 40]. Ekspresyon artışı aynı zamanda histon H3 ve H4'ün metilasyonları ile lisin K4'deki histon H3'ün asetilasyonlarında da artma ile ilişkilidir [41]. PPARα promotörünün sıralama analizleri dört spesifik CpGs'nin hipometile olduğunu göstermiştir. Ayrıca transkripsiyon faktör cevap elementlerinde bulunan iki CpGs'nin de transkripsiyon düzeyini belirlediği tespit edilmiştir [42]. Bu nedenle kısıtlı protein içeren maternal diyetin etkileri yavrudaki spesifik CpGs'leri hedeflemektedir. Sıçan yavrularının neonatal dönemde aşırı beslenmesinin pro-opiomelanokortin (POMC) promotöründeki iki Cpg dinükleotidinin hipermetilasyonunu indüklediği gösterilmiştir. Bu dinükleotidler leptin ve insüline bağlı POMC indüksiyonu için hayati öneme sahiptir [43]. Bu bulgu hipotalamustaki iştah merkezinin hala gelişmekte olduğu erken postnatal hayatta uygulanan aşırı beslemenin vücut ağırlığı regülasyonunda kritik rol oynayan genlerin metilasyonunu değişime uğratabi-

leceğini göstermektedir. Tüm bulgular bir arada değerlendirildiğinde erken yaşamdaki beslenmenin metabolizma ve iştah kontrolü ile ilişkili genlerin metilasyonundaki uzun süreli değişimleri indükleyerek metabolik hastalıkların gelişim süreçlerinde rol oynayabileceğini göstermektedir.

3 Prenatal Çevre ve Kanser Riski

Erken yaşamdaki etkilerin metabolik hastalıklar ile ilişkilerini araştıran çalışmaların aksine, prenatal ortamın ilerleyen yaşlardaki kanser riski ile ilişkisini araştıran çok daha az sayıda çalışma mevcuttur. Endokrin bozucu ajan dietilstilbesterole (DES) gebelik döneminde maruz kalan annelerin kızlarındaki vajina, serviks ve meme kanseri riski artmaktadır [44]. Prenatal dönemde veya erken çocuklukta iyonize radyasyona maruziyet ile de hayatın ilerleyen dönemlerinde sindirim sistemi ve reprodüktif sistem kanserlerinde artış olmaktadır [45]. Ancak günümüze kadar yapılan çalışmaların çoğu doğum ağırlığı ile sonrasındaki kanser riskine odaklanmıştır. Bu çalışmaların önemli bir bölümünde doğum ağırlığı ile kanser riski arasında doğru orantılı ilişki bulunmuştur; ancak hepatoblastom ve endometrium kanseri ile doğum ağırlığı arasında ise ters orantı tespit edilmiştir [46].

Doğum ağırlığı ile sonrasındaki meme kanseri riskini inceleyen birçok çalışmanın dizaynları birbirinden oldukça farklıdır. Özellikle premenopozal ve postmenopazal çalışmaların birlikte veya ayrı ayrı incelenmesi gibi farklılıklar yanında çalışmalarda yer alan diğer değişkenler, karşılaştırma ve çıkarım yapmayı zorlaştırmaktadır. Ancak 26 yayınlanmış çalışmayı inceleyen güncel bir metaanalizde premenopozal meme kanseri riskinin yüksek doğum ağırlığı ile doğan bireylerde tutarlı şekilde arttığı gösterilmiştir. Aynı ilişki postmenopozal meme kanseri riski için geçerli değildir [47]. Premenopozal meme kanseri riski yönünden yüksek doğum ağırlığı kadınlarla düşük doğum ağırlığı kadınların karşılaştırılması ile ortaya çıkan rölatif risk kohort çalışmaları için 1.20 (CI 0.91-1.19), vaka kontrol çalışmaları için ise 1.36 (CI 0.66-1.64) bulunmuştur. İlginç biçimde doğum ağırlığı ile premenopozal meme kanseri riski arasında J- veya U- şeklinde ilişkili gösteren birkaç çalışma mevcuttur [48– 50]. Bu çalışmalarda 2500 gr'ın altında ve 4000 gr'ın üstünde doğan bebeklerdeki kanser riskinin normal aralıkta doğanlara göre artmış olduğu tespit edilmiştir. Ancak bu çalışmalardaki doğum ağırlığı, çok çeşitli maternal, çevresel ve plasental faktörlerden etkilenebilen intrauterin ortamın çok kaba bir göstergesi olarak kabul edilmelidir [51].

İlerideki kanser riskini önemli bir göstergesi de maternal diyettir. Norveç'te İkinci Dünya Savaşı sırasında gıdaların karne ile dağıtılmasına bağlı kalori alımındaki düşmenin o dönemde doğan veya peripubertal dönemde olan kadınlardaki meme kanseri riskinde azalma ile ilişkili olduğu tespit edilmiştir [52, 53]. Buna karşın, 1944 yılında Hollanda'da görülen kıtlığa (Dutch Hunger Winter) hamilelikleri döneminde maruz kalan annelerin çocuklarında meme kanseri riskinde artış görülmüştür [54, 55]. Çocukluk

çağında kıtlık yaşayan kadınlarda da meme kanseri riskinin arttığı görülmüştür. Norveç ve Hollanda çalışmamalarının sonuçları arasındaki farklar Hollanda'daki kıtlığın ciddiyetinin ya da birden sona ermiş olmasının göstergesi olabilir [54]. Kıtlığın aniden sona ermiş olması ile hızlıca artan gıda tüketimi kanser riskini artıran büyüme faktörlerinin ve hormonların artışına yol açmış olabilir.

Meme kanseri riskini değişime uğratan tek faktör prenatal beslenme değildir. Çalışmalarda emzirilen bebeklerde menopoz öncesi görülen meme kanseri riskinin azalabileceği gösterilmiştir [56]. Anne sütünde bulunan uzun zincirli PUFA olan DHA nöron gelişimi için önemlidir. Ancak hayatın erken dönemlerinde alınan DHA meme bezlerinin gelişimini etkileyerek gelecekteki kanser riskini modifiye edebilir. Hayvanlarda yapılan bazı çalışmalarda n-3 PUFA'nın koruyucu etkiye sahip olduğu ve kanser riskini azalttığının gösterilmiş olması ilginçtir [57]. Erken yaşamdaki büyüme hızı da devamındaki meme kanseri riskinin önemli bir belirleyicisidir. 8-14 yaşları arasındaki hızlı büyüme meme kanseri riskinde artış ile ilişkilidir. Ancak 8,10, 12, 14. yaşlar arasındaki VKİ ise meme kanseri riski ile ters orantılı bulunmuştur [58].

3.1 Kanser Riskinin Nütrisyonel Programlamasında Hayvan Modelleri

Hayvan çalışmaları da erken yaşamdaki beslenmenin ilerleyen yıllardaki meme kanseri riskini etkilediği hipotezini desteklemektedir. Laktasyon sırasında proteini kısıtlı diyet uygulaması ile düşük VKİ olan yavrular doğar. Bu yavrularda erken başlayan N-nitrozo-Nmetilüre (NMU) tarafından indüklenen meme tümörlerinin insidansı kontrol grubundaki anne sıçanlardan elde edilen yavrulara göre iki kat daha yüksektir [59]. Bu yavrularda 3. haftadaki postnatal duktal dallanmanın ve epitelyal invazyonun da azaldığı bulunmuştur. Bunu hızlı kompensatuar meme büyümesi ve insülin reseptörü, ER ve IGF1 ekspresyonların artışının kontrollere kıyasla daha fazla olması takip eder.

Erken yaşamda aşırı beslenmenin de kanser riskinde artış ile ilişkili olduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur. De Assis ve ark. gestasyon esnasında yüksek yağlı (satüre PUFA ve MUFA karışımı) diyetle beslenen dişi sıçanların yavrularının VKİ düzeyleri artmış ve 7,12-dimetilbenz[a]antrasen (DMBA) maruziyetine cevap olarak kontrollere göre anlamlı olarak daha erken meme tümörü gelişimi olmuştur [60]. Yüksek yağlı diyetle beslenen anne sıçanların yavrularının meme bezleri meme tümörlerine yol açabilen daha fazla sayıda terminal uç tomurcuğu (TEB) içermekte olup [61] epitel dansitesi de artmıştır. Bu yavruların meme bezlerinde daha yüksek sayıda prolifere olan hücre, daha yüksek olan pro-sağkalım faktörü AKT ve daha düşük düzeyde ER-α mevcuttur. Yağın tipi ve maruziyetin zamanı da önemlidir. n-6 PUFA yönünden zengin diyetle beslenen gebe sıçanların dişi yavrularında anlamlı olarak daha yüksek meme tümörü insidansı görülmektedir [62, 63]. Tümör insidansındaki artış burada da meme bez yapısındaki değişimler ile ilişkilidir. Daha yüksek miktarda TEB tespit edilmiştir; bu TEB'ler daha uzun süre korunmuş ve alveolar tomurcukların farklılaşma düzeylerini azaltmıştır. Sı-

çanların peripubertal dönemde yüksek n-6 PUFA içeren diyetlerle beslenmesi ile de, sadece postpubertal dönemde yüksek n-6-PUFA içeren diyetlerle beslenenlere göre daha yüksek meme tümörü insidansı görülmüştür [64, 57]. Buna karşın peripubertal dönemde düşük n-6 PUFA içeren diyetlerle beslenen sıçanlarda meme karsinogenezine karşı koruyucu etki tespit edilmiştir. [57]. Düşük n-6 PUFA içeren diyet meme hücrelerini proliferasyonunu azaltıp, apoptozisi artmıştır (özellikle TEB'lerde). DNA hasarının bir markeri olan 8-hidroksi-20 deoksiguanozin düşük n-6 PUFA içeren diyetle beslenen sıçanlarda anlamlı olarak azalmıştır. Ayrıca yüksek yağlı n-6 PUFA içeren diyetlerin balık yağından elde edilen n-3 PUFA ile takviye edildiği gebe sıçanların yavrularındaki meme kanseri riskinin azaldığı gösterilmiştir [65].

Yüksek doğum ağırlığının intrauterin hayattaki östrojen maruziyetinde ve insülinin maternal ve/veya kordon kanı konsantrasyonlarındaki artış ile insülin benzeri büyüme faktörü 1 (IGF1), leptin ve adionektin düzeylerinde yükselme ile ilişkili olduğu tespit edilmiştir. [66–69]. Düşük doğum ağırlığı bireylerde ve yetersiz besleme modellerinde de bu hormonların düzeyinde artış gözlenmiştir [70]. Bu tür hormonların ve büyüme faktörlerinin epigenomun çevresel faktörlere en duyarlı olduğu erken yaşamda artmalarının meme bezlerinin gelişiminde uzun süreli etkileri olması muhtemeldir. Meme bezlerindeki hücre proliferasyon ve apoptoz oranları ile kök hücrelerin sayıları ve farklılaşmalarındaki değişimiler hayatın ilerleyen dönemlerindeki meme kanseri riskini etkiler. Şu ana kadar gebelikte kısıtlı protein veya yüksek yağlı diyetin yol açtığı birçok epigenetik değişim bildirilmiştir. Zheng ve ark. hücre siklüs inhibitörleri olan p16 ve p21'in proteini kısıtlanmış diyet uygulanan sıçanların yavrularının meme bezlerinde sürekli bir biçimde azaldığını tespit etmiştir [71, 72]. p16 ve p21 ekspresyonunda azalma histon 3'teki K4'ün asetilasyon ve demetilasyonunda azalma ile birlikte seyrediyordu. p21 için maternal diyetin DNA metilasyonu üzerindeki etkisi bisülfit sıralaması kullanılarak incelenmiş ancak metilasyonda herhangi bir değişim gözlenmemiştir [72]. Gebelikte yüksek yağlı beslemenin p16'daki epigenetik değişimleri indüklediği gösterilmiştir. Zheng ve ark. histon H4 asetilasyonunda ve HDAC3 bağlanmasında azalma bildirmiştir. Ancak CpGS'lerdeki metilasyonun tek tek ölçümü yerine bir bölge boyunca ölçüm yapan MeDIP yaklaşımı kullanılmış olmasına rağmen DNA metilasyon düzeylerinde bir değişim tespit edilmiştir. [73].

3.2 Mikrobesin Tüketimi

Tek-karbon metabolizmasında rol alan folat, B6 vitamini, B2 vitamini, B12 vitamini ve kolin gibi besin öğelerinin birçok kanser türüne karşı koruma sağladığı çok sayıda insan epidemiyolojik ve hayvan çalışmasında gösterilmiştir. Ancak erişkinlikteki folat tüketimi ile meme kanseri riski arasındaki ilişki karmaşıktır. Hepsinde olmasa bile, çalışmaların bir çoğunda diyetle folat alımı ile meme kanseri riski arasında ters orantılı bir ilişki gösterilmiştir [74]. Ancak ≥400 μg/d dozunda uygulanan folik asit takviyesinin meme kanseri riskinde artışa yol açtığını gösteren çalışmalar da mevcuttur [75]. Son 10 yılda

bazı ülkelerdeki folik asit tüketimi gıdaların folik asit ile zengileştirilmesi, folik asit takviyelerinin tüketimi, nörol tüp defektlerinin önlenmesi amacıyla perikonsepsiyonel folik asit takviyesi kullanımı nedeniyle dramatik olarak artmıştır [76–78]. Bazı çalışmalarda erken yaşamdaki folik asit ve diğer mikrobesinlerin takviyesinin sonrasındaki kanser riski ile ilişkisi araştırılmıştır. Cinsel birleşme öncesi 3. haftadan itibaren ve gebelik ve emzirme boyunca kullanılan folik asit takviyesi uygulanan sıçanların yavrularında, kontrol diyeti uygulananların yavrularına göre anlamlı olarak daha az sayıda TEB oluşmuştur (p=0.014) [79]. TEB'ler meme tümörlerini destekleyen oluşumlar oldukları için, daha az TEB'in tümör eğiliminde azalmaya yol açabileceği düşünülebilir. Ancak çalışmada bu teori test edilmemiştir. Buna karşın Ly ve ark. hem maternal hem de sütten kesme sonrası uygulanan folik asit takviyesinin yavrulardaki meme adenokarsinomlarını, DMBA uygulanması sonrası anlamlı olarak artırdığını bildirmiştir (sırasıyla OR 1/4 2.1, %95 CI 1.2–3.8, P 1/4 0.008 ve OR 1/4 1.9, %95 CI 1.1–3.3, P 1/4 0.03) [80]. Aynı çalışmada uygulanan maternal folik asit takviyesi de yavrulardaki meme adenokarsinomlarının görülmesini anlamlı düzeyde hızlandırmış (p 1/4 0.002) hücrelerin katlanarak büyüme hızlarını artırmıştır (p 1/4 0.008). Bu iki çalışmada folik asit takviyesine verilen cevapların farklı olması, çalışmalardan birinde karsinojenik ajanlara maruz kalınmayan uzun latent periyodlar mevcutken, diğer çalışmada DMBA gibi ajanlara maruziyetin meme tümörlerini indüklemesinden kaynaklanıyor olabilir. Mikrobesinler, nükleotid ve/veya S-adenozil metionin (SAM - DNA'yı da içeren hemen tüm metilasyon reaksiyonlarının üniversal donörü) sentezi için gereken tek-karbonlu segmentleri sağlayarak karsinogenez üzerinde etki gösteriyor olabilirler. Ly ve ark. maternal (sütten kesme sonrasını içermeyen) folik asit takviyesinin yavruların non-neoplastik meme bezlerindeki global DNA metilasyonunu anlamlı olarak azalttığını bildirmiştir (p=0.03). Ancak sütten kesme sonrası folik asit uygulanmasının DNA metiltransferaz aktivitesini anlamlı olarak azalttığını tespit etmişlerdir (p=0.05) [81, 80]. Bu bulgular epigenetik prosesin kanseri riskini belirlemede önemli bir rol oynayabileceğini önermektedir.

3.3 Epigenetik Biyomarkerlerin Tanımlanması

Kanser riski hayat boyunca maruz kalınan olayların bir göstergesi ise, hücre transformasyonu ile ilişkili epigenetik değişimler klinik hastalığın başlamasından yıllar önce mevcut olabilirler [82]. Bu nedenle hastalığın belirgin semptomları ortaya çıkmadan önce epigenetik değişimlerin tespit edilmesi ile yüksek risk altındaki bireylerin belirlenmesi mümkün olabilir. İnsanlarda kolayca test etmeye müsait olan dokular kan, bukkal, göbek bağı ya da plasentadır. Gen metilasyonlarındaki dokuya özel farklılıklar gayet net olarak dokümante edilmiştir. Ancak Talens ve ark. kanda ölçülen metilasyon düzeylerinin, bukkal hücrelerinde ölçülen aday lokusların yarısındaki metilasyon düzeylerine eşit olduğunu, bu hücrelerin farklı germ tabakalarından (sırasıyla mezoderm ve ektoderm) kaynaklandığı gerçeğine rağmen yakın zamanda bildirmiştir [83]. Godrey ve ark. da güncel bir yayınlarında iki farklı kohortta göbek bağındaki transkripsiyon faktörü olan

RXRα'nın promotör alanındaki tek bir CpG bölgesindeki metilasyon düzeylerinin, hem erkek hem de kızlarda çocukluk çağındaki adipozite derecesiyle güçlü bir ilişkisi olduğunu bildirmişlerdir [84]; RXRα promotör metilasyonunun çocukluk çağındaki yağ kütlesi varyasyonunun beşte birinden fazlasını açıklayabiliyor olması, epigenetik değişimlerin bir bireyin bulaşıcı olmayan hastalıklara yakalanma riskinde daha önce tahmin edilenden çok daha büyük rol oynadığını düşündürmektedir. Bu gözlem göbek bağındaki veya diğer hemen test edilebilen dokulardaki metilasyon düzeylerinin metabolik olarak daha ilişkili dokulardaki metilasyonu temsil eden markerler olarak kullanılabilme ihtimalini ortaya koymaktadır. Bunun mümkün olması çevresel problemin ne zaman ortaya çıktığına bağlı olsa da, erken gelişim basamaklarındaki bu tür bir problemin muhtemelen tüm germ tabakalarını etkileyerek değiştirdiği epigenetik işaretlerin izinin dokularda tespit edilmesi mümkün olabilir. Gestasyonun ileri evrelerinde oluşan maruziyetlerin ise sadece dokuya özgü etkilerinin olması muhtemeldir.

Brennan ve ark. prediagnostik kan örneklerindeki periferik kan DNA'sındaki ATM geni içindeki intragenik bir bölgenin metilasyonunun meme kanseri riskinde artış ile ilişkili olduğunu güncel bir makalelerinde bildirmişlerdir [85]. Kan alımından teşhise kadar geçen 1 ila 11 aylık süre ile ATM metilasyon düzeyi arasında bir ilişki tespit edilememiş olması, bu ilişkinin preklinik hastalık varlığı ile açıklanamayacağını göstermektedir. ATM metilasyon bölgesinin zaman içinde stabilitesini korumuş olması, periferik kandaki ATM hipermetilasyonunun predispozisyonun stabil bir markeri olduğunu düşündürmektedir. Wong ve ark. periferik kandaki BRAC1 metilasyonunun, BRCA1 mutasyonu ile ilişkili patolojiye sahip erken başlangıçlı meme kanseri riskini 3.5 kat (%95 CI, 1.4-10.5) artırdığını bildirmiştir [86]. Periferik kanda tespit edilebilen BRCA1 metilasyonunun da tümör içindeki BRCA1 promotörünün yüksek metilasyonu ile ilişkili olduğunun bulunmuş olması, yapısal BRCA1 metilasyonunun BRCA1 hipermetile tümörlerin gelişime karşı olan duyarlılığı artırdığını bildirmiştir [86]. Ancak ATM veya BRCA1'de görülen metilasyon değişimlerinin epigenomun değişime en duyarlı olduğu erken yaşamda meydana gelip gelmediği konusu açıklığa kavuşturulmayı beklemektedir. Buna rağmen, elimizdeki bulgular periferik kandaki epigenetik işaretlerin yaşamın ilerleyen dönemlerindeki hastalık riskini tahmin etmede kullanışlı biyomarkerler olabileceğini düşündürmektedir. Ayrıca, yeni geliştirilen yüksek kapasiteli tüm genomu kapsayan metilasyon analizleri ile kanda yüksek meme kanseri duyarlılığı ile ilgili epigenetik işaretlerin tanımlanmasını sağlayacak tüm epigenomu kapsayan ilişkilendirme çalışmaları (EWAS) yapabilmek artık mümkün olacaktır. Bu tür değişimlerin altında yatan mekanizmalar ile ilgili hala cevaplanmayı bekleyen birçok soru mevcuttur. Örneğin bu tür değişimleri indükleyebilen nütrisyonel faktörlerin veya bu tür değişimlere duyarlılık veya stabilite periodlarının zamanları gibi sorular mevcuttur. Bu proseslerin anlaşılması hem hastalık riski ile ilişkili efektif markerlerin geliştirilmesini hem de meme kanseri riskinin azaltılabilmesinde kullanılacak girişimsel hedeflerin belirlenebilmesini sağlayacaktır.

4 Sonuçlar

Geleneksel olarak genetik değişimlerin kansere neden olduğu kabul edilmektedir. Ancak, günümüzde erken yaşamda maruz kalınan çevrenin kalitesindeki varyasyonların genlerin epigenetik regülasyonunu değiştirerek gelecekteki kanser riskini etkilemesi hakkında hatırı sayılır kanıtlar mevcuttur. Erken yaşamdaki meme kanseri gelişiminin indüklenmesinde genlerin epigenetik regülasyonlarındaki değişimlerin rolünün ve potansiyel biyomarkerlerin tanımlanması, uzun süreli meme kanseri riskini modifiye edebilecek nütrisyonel veya farmakolojik girişimlerin geliştirilebilme ihtimalini ortaya koymaktadır.

Referanslar

1. Barker DJ, Osmond C (1986) Infant mortality, childhood nutrition, and ischaemic heart disease in England and Wales. Lancet 1:1077–1081
2. Godfrey KM, Barker DJ (2001) Fetal programming and adult health. Public Health Nutr 4:611–624
3. Bertram CE, Hanson MA (2001) Animal models and programming of the metabolic syndrome. Br Med Bull 60:103–121
4. Gluckman PD, Hanson MA, Spencer HG (2005) Predictive adaptive responses and human evolution. Trends Ecol Evol 20:527–533
5. Cox GF, Burger J, Lip V, Mau UA, Sperling K, Wu BL, Horsthemke B (2002) Intracytoplasmic sperm injection may increase the risk of imprinting defects. Am J Hum Genet 71:162–164
6. DeBaun MR, Niemitz EL, Feinberg AP (2003) Association of in vitro fertilization with Beckwith-Wiedemann syndrome and epigenetic alterations of LIT1 and H19. Am J Hum Genet 72:156–160
7. Bird A (2002) DNA methylation patterns and epigenetic memory. Genes Dev 16:6–21
8. Bird AP (1986) CpG-rich islands and the function of DNA methylation. Nature 321:209–213
9. Reik W, Dean W (2001) DNA methylation and mammalian epigenetics. Electrophoresis 22:2838–2843
10. Li E, Beard C, Jaenisch R (1993) Role for DNA methylation in genomic imprinting. Nature 366:362–365
11. Walsh CP, Chaillet JR, Bestor TH (1998) Transcription of IAP endogenous retroviruses is constrained by cytosine methylation. Nat Genet 20:116–117
12. Waterland RA, Jirtle RL (2003) Transposable elements: targets for early nutritional effects on epigenetic gene regulation. Mol Cell Biol 23:5293–5300
13. Bird A (2001) Molecular biology. Methylation talk between histones and DNA. Science 294:2113–2115
14. Reik W, Walter J (2001) Genomic imprinting: parental influence on the genome. Nat Rev Genet 2:21–32
15. Yoder JA, Soman NS, Verdine GL, Bestor TH (1997) DNA (cytosine-5)-methyltransferases in mouse cells and tissues. Studies with a mechanism-based probe. J Mol Biol 270:385–395
16. Reik W, Dean W, Walter J (2001) Epigenetic reprogramming in mammalian development. Science 293:1089–1093
17. Turner BM (2000) Histone acetylation and an epigenetic code. BioEssays 22:836–845
18. Brenner C, Fuks F (2007) A methylation rendezvous: reader meets writers. Dev Cell 12:843–844

19. Yun M, Wu J, Workman JL, Li B (2011) Readers of histone modifications. Cell Res 21:564–578
20. Nakayama J, Rice JC, Strahl BD, Allis CD, Grewal SI (2001) Role of histone H3 lysine 9 methylation in epigenetic control of heterochromatin assembly. Science 292:110–113
21. Rountree MR, Bachman KE, Baylin SB (2000) DNMT1 binds HDAC2 and a new co-repressor, DMAP1, to form a complex at replication foci. Nat Genet 25:269–277
22. Vire E, Brenner C, Deplus R, Blanchon L, Fraga M, Didelot C, Morey L, Van EA, Bernard D, Vanderwinden JM, Bollen M, Esteller M, Di CL, de LY, Fuks F (2006) The polycomb group protein EZH2 directly controls DNA methylation. Nature 439:871–874
23. Siomi H, Siomi MC (2009) On the road to reading the RNA-interference code. Nature 457:396–404
24. Kim DH, Saetrom P, Snove O Jr, Rossi JJ (2008) MicroRNA-directed transcriptional gene silencing in mammalian cells. Proc Natl Acad Sci USA 105:16230–16235
25. Bayne EH, Allshire RC (2005) RNA-directed transcriptional gene silencing in mammals. Trends Genet 21:370–373
26. Lopatina N, Haskell JF, Andrews LG, Poole JC, Saldanha S, Tollefsbol T (2002) Differential maintenance and de novo methylating activity by three DNA methyltransferases in aging and immortalized fibroblasts. J Cell Biochem 84:324–334
27. Richardson B (2003) Impact of aging on DNA methylation. Ageing Res Rev 2:245–261
28. Liu L, Wylie RC, Andrews LG, Tollefsbol TO (2003) Aging, cancer and nutrition: the DNA methylation connection. Mech Ageing Dev 124:989–998
29. Zhu J (2006) DNA methylation and hepatocellular carcinoma. J Hepatobiliary Pancreat Surg 13:265–273
30. Galm O, Herman JG, Baylin SB (2006) The fundamental role of epigenetics in hematopoietic malignancies. Blood Rev 20:1–13
31. Szyf M (2006) Targeting DNA methylation in cancer. Bull Cancer 93:961–972
32. Szyf M, Pakneshan P, Rabbani SA (2004) DNA methylation and breast cancer. Biochem Pharmacol 68:1187–1197
33. Bloushtain-Qimron N, Yao J, Shipitsin M, Maruyama R, Polyak K (2009) Epigenetic patterns of embryonic and adult stem cells. Cell Cycle 8:809–817
34. Xu X, Gammon MD, Zhang Y, Bestor TH, Zeisel SH, Wetmur JG, Wallenstein S, Bradshaw PT, Garbowski G, Teitelbaum SL, Neugut AI, Santella RM, Chen J (2009) BRCA1 promoter methylation is associated with increased mortality among women with breast cancer. Breast Cancer Res Treat 115:397–404
35. Xu X, Gammon MD, Zhang Y, Cho YH, Wetmur JG, Bradshaw PT, Garbowski G, Hibshoosh H, Teitelbaum SL, Neugut AI, Santella RM, Chen J (2010) Gene promoter methylation is associated with increased mortality among women with breast cancer. Breast Cancer Res Treat 121:685–692
36. Waterland RA, Jirtle RL (2004) Early nutrition, epigenetic changes at transposons and imprinted genes, and enhanced susceptibility to adult chronic diseases. Nutrition 20:63–68
37. Kucharski R, Maleszka J, Foret S, Maleszka R (2008) Nutritional control of reproductive status in honeybees via DNA methylation. Science 319:1827–1830
38. Wolff GL, Kodell RL, Moore SR, Cooney CA (1998) Maternal epigenetics and methyl supplements affect agouti gene expression in Avy/a mice. FASEB J 12:949–957
39. Burdge GC, Slater-Jefferies J, Torrens C, Phillips ES, Hanson MA, Lillycrop KA (2007) Dietary protein restriction of pregnant rats in the F0 generation induces altered methylation of hepatic gene promoters in the adult male offspring in the F1 and F2 generations. Br J Nutr 97:435–439
40. Lillycrop KA, Phillips ES, Jackson AA, Hanson MA, Burdge GC (2006) Dietary protein restriction in the pregnant rat induces altered epigenetic regulation of the glucocorticoid receptor and peroxisomal proliferator-activated receptor alpha in the heart of the offspring which is prevented by folic acid. Proc Nutr Soc 65:65A

41. Lillycrop KA, Slater-Jefferies JL, Hanson MA, Godfrey KM, Jackson AA, Burdge GC (2007) Induction of altered epigenetic regulation of the hepatic glucocorticoid receptor in the offspring of rats fed a protein-restricted diet during pregnancy suggests that reduced DNA methyltransferase-1 expression is involved in impaired DNA methylation and changes in histone modifications. Br J Nutr 97:1064–1073
42. Lillycrop KA, Phillips ES, Torrens C, Hanson MA, Jackson AA, Burdge GC (2008) Feeding pregnant rats a protein-restricted diet persistently alters the methylation of specific cytosines in the hepatic PPARalpha promoter of the offspring. Br J Nutr 100:278–282
43. Plagemann A, Harder T, Brunn M, Harder A, Roepke K, Wittrock-Staar M, Ziska T, Schellong K, Rodekamp E, Melchior K, Dudenhausen JW (2009) Hypothalamic proopiomelanocortin promoter methylation becomes altered by early overfeeding: an epigenetic model of obesity and the metabolic syndrome. J Physiol 587:4963–4976
44. Herbst AL, Ulfelder H, Poskanzer DC (1971) Adenocarcinoma of the vagina. Association of maternal stilbestrol therapy with tumor appearance in young women. N Engl J Med 284:878–881
45. Preston DL, Cullings H, Suyama A, Funamoto S, Nishi N, Soda M, Mabuchi K, Kodama K, Kasagi F, Shore RE (2008) Solid cancer incidence in atomic bomb survivors exposed in utero or as young children. J Natl Cancer Inst 100:428–436
46. McCormack VA, dos Santos Silva I, Koupil I, Leon DA, Lithell HO (2005) Birth characteristics and adult cancer incidence: Swedish cohort of over 11,000 men and women. Int J Cancer 115:611–617
47. Michels KB, Xue F (2006) Role of birthweight in the etiology of breast cancer. Int J Cancer 119:2007–2025
48. Innes K, Byers T, Schymura M (2000) Birth characteristics and subsequent risk for breast cancer in very young women. Am J Epidemiol 152:1121–1128
49. Mellemkjaer L, Olsen ML, Sorensen HT, Thulstrup AM, Olsen J, Olsen JH (2003) Birth weight and risk of early-onset breast cancer (Denmark). Cancer Causes Control 14:61–64
50. Sanderson M, Shu XO, Jin F, Dai Q, Ruan Z, Gao YT, Zheng W (2002) Weight at birth and adolescence and premenopausal breast cancer risk in a low-risk population. Br J Cancer 86:84–88
51. Gluckman PD, Hanson MA, Cooper C, Thornburg KL (2008) Effect of in utero and early-life conditions on adult health and disease. N Engl J Med 359:61–73
52. Tretli S, Gaard M (1996) Lifestyle changes during adolescence and risk of breast cancer: an ecologic study of the effect of World War II in Norway. Cancer Causes Control 7:507–512
53. Robsahm TE, Tretli S (2002) Breast cancer incidence in food- vs non-food-producing areas in Norway: possible beneficial effects of World War II. Br J Cancer 86:362–366
54. Elias SG, Peeters PH, Grobbee DE, van Noord PA (2004) Breast cancer risk after caloric restriction during the 1944–1945 Dutch famine. J Natl Cancer Inst 96:539–546
55. Painter RC, De Rooij SR, Bossuyt PM, Osmond C, Barker DJ, Bleker OP, Roseboom TJ (2006) A possible link between prenatal exposure to famine and breast cancer: a preliminary study. Am J Hum Biol 18:853–856
56. Potischman N, Troisi R (1999) In-utero and early life exposures in relation to risk of breast cancer. Cancer Causes Control 10:561–573
57. Olivo SE, Hilakivi-Clarke L (2005) Opposing effects of prepubertal low- and high-fat n-3 polyunsaturated fatty acid diets on rat mammary tumorigenesis. Carcinogenesis 26:1563–1572
58. Huang Z, Hankinson SE, Colditz GA, Stampfer MJ, Hunter DJ, Manson JE, Hennekens CH, Rosner B, Speizer FE, Willett WC (1997) Dual effects of weight and weight gain on breast cancer risk. JAMA 278:1407–1411
59. Fernandez-Twinn DS, Ozanne SE (2010) Early life nutrition and metabolic programming. Ann NY Acad Sci 1212:78–96
60. De AS, Khan G, Hilakivi-Clarke L (2006) High birth weight increases mammary tumorigenesis in rats. Int J Cancer 119:1537–1546

61. Hilakivi-Clarke L, Shajahan A, Yu B, De AS (2006) Differentiation of mammary gland as a mechanism to reduce breast cancer risk. J Nutr 136:2697S–2699S
62. Hilakivi-Clarke L, Clarke R, Onojafe I, Raygada M, Cho E, Lippman M (1997) A maternal diet high in n–6 polyunsaturated fats alters mammary gland development, puberty onset, and breast cancer risk among female rat offspring. Proc Natl Acad Sci USA 94:9372–9377
63. Hilakivi-Clarke L, Clarke R, Lippman M (1999) The influence of maternal diet on breast cancer risk among female offspring. Nutrition 15:392–401
64. Lo CY, Hsieh PH, Chen HF, Su HM (2009) A maternal high-fat diet during pregnancy in rats results in a greater risk of carcinogen-induced mammary tumors in the female offspring than exposure to a high-fat diet in postnatal life. Int J Cancer 125:767–773
65. Su HM, Hsieh PH, Chen HF (2010) A maternal high n-6 fat diet with fish oil supplementation during pregnancy and lactation in rats decreases breast cancer risk in the female offspring. J Nutr Biochem 21:1033–1037
66. Delvaux T, Buekens P, Thoumsin H, Dramaix M, Collette J (2003) Cord C-peptide and insulin-like growth factor-I, birth weight, and placenta weight among North African and Belgian neonates. Am J Obstet Gynecol 189:1779–1784
67. Sivan E, Mazaki-Tovi S, Pariente C, Efraty Y, Schiff E, Hemi R, Kanety H (2003) Adiponectin in human cord blood: relation to fetal birth weight and gender. J Clin Endocrinol Metab 88:5656–5660
68. Troisi R, Potischman N, Roberts J, Siiteri P, Daftary A, Sims C, Hoover RN (2003) Associations of maternal and umbilical cord hormone concentrations with maternal, gestational and neonatal factors (United States). Cancer Causes Control 14:347–355
69. Vatten LJ, Nilsen TI, Tretli S, Trichopoulos D, Romundstad PR (2005) Size at birth and risk of breast cancer: prospective population-based study. Int J Cancer 114:461–464
70. Park CS (2005) Role of compensatory mammary growth in epigenetic control of gene expression. FASEB J 19:1586–1591
71. Zheng S, Pan YX (2011) Histone modifications, not DNA methylation, cause transcriptional repression of p16 (CDKN2A) in the mammary glands of offspring of protein-restricted rats. J Nutr Biochem 22:567–573
72. Zheng S, Rollet M, Yang K, Pan YX (2011) A gestational low-protein diet represses p21WAF1/Cip1 expression in the mammary gland of offspring rats through promoter histone modifications. Br J Nutr 1–10
73. Zheng S, Li Q, Zhang Y, Balluff Z, Pan YX (2012) Histone deacetylase 3 (HDAC3) participates in the transcriptional repression of the p16 (INK4a) gene in mammary gland of the female rat offspring exposed to an early-life high-fat diet. Epigenetics 7:183–190
74. Larsson SC, Giovannucci E, Wolk A (2007) Folate and risk of breast cancer: a meta-analysis. J Natl Cancer Inst 99:64–76
75. Stolzenberg-Solomon RZ, Chang SC, Leitzmann MF, Johnson KA, Johnson C, Buys SS, Hoover RN, Ziegler RG (2006) Folate intake, alcohol use, and postmenopausal breast cancer risk in the prostate, lung, colorectal, and ovarian cancer screening trial. Am J Clin Nutr 83:895–904
76. Pfeiffer CM, Johnson CL, Jain RB, Yetley EA, Picciano MF, Rader JI, Fisher KD, Mulinare J, Osterloh JD (2007) Trends in blood folate and vitamin B-12 concentrations in the United States, 1988 2004. Am J Clin Nutr 86:718–727
77. Radimer K, Bindewald B, Hughes J, Ervin B, Swanson C, Picciano MF (2004) Dietary supplement use by US adults: data from the National health and nutrition examination survey, 1999–2000. Am J Epidemiol 160:339–349
78. Wilson RD, Johnson JA, Wyatt P, Allen V, Gagnon A, Langlois S, Blight C, Audibert F, Desilets V, Brock JA, Koren G, Goh YI, Nguyen P, Kapur B (2007) Pre-conceptional vitamin/folic acid supplementation 2007: the use of folic acid in combination with a multivitamin supplement for the prevention of neural tube defects and other congenital anomalies. J Obstet Gynaecol Can 29:1003–1026

79. Sie KK, Chen J, Sohn KJ, Croxford R, Thompson LU, Kim YI (2009) Folic acid supplementation provided in utero and during lactation reduces the number of terminal end buds of the developing mammary glands in the offspring. Cancer Lett 280:72–77
80. Ly A, Lee H, Chen J, Sie KK, Renlund R, Medline A, Sohn KJ, Croxford R, Thompson LU, Kim YI (2011) Effect of maternal and postweaning folic acid supplementation on mammary tumor risk in the offspring. Cancer Res 71:988–997
81. Korotkova M, Gabrielsson BG, Holmang A, Larsson BM, Hanson LA, Strandvik B (2005) Gender-related long-term effects in adult rats by perinatal dietary ratio of n-6/n-3 fatty acids. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol 288:R575–R579
82. Burdge GC, Lillycrop KA, Jackson AA (2009) Nutrition in early life, and risk of cancer and metabolic disease: alternative endings in an epigenetic tale? Br J Nutr 101:619–630
83. Talens RP, Boomsma DI, Tobi EW, Kremer D, Jukema JW, Willemsen G, Putter H, Slagboom PE, Heijmans BT (2010) Variation, patterns, and temporal stability of DNA methylation: considerations for epigenetic epidemiology. FASEB J 24:3135–3144
84. Godfrey KM, Sheppard A, Gluckman PD, Lillycrop KA, Burdge GC, McLean C, Rodford J, Slater-Jefferies JL, Garratt E, Crozier SR, Emerald BS, Gale CR, Inskip HM, Cooper C, Hanson MA (2011) Epigenetic gene promoter methylation at birth is associated with child's later adiposity. Diabetes 60:1528–1534
85. Brennan K, Garcia-Closas M, Orr N, Fletcher O, Jones M, Ashworth A, Swerdlow A, Thorne H, Riboli E, Vineis P, Dorronsoro M, Clavel-Chapelon F, Panico S, Onland-Moret NC, Trichopoulos D, Kaaks R, Khaw KT, Brown R, Flanagan JM (2012) Intragenic ATM methylation in peripheral blood DNA as a biomarker of breast cancer risk. Cancer Res 72:2304–2313
86. Wong EM, Southey MC, Fox SB, Brown MA, Dowty JG, Jenkins MA, Giles GG, Hopper JL, Dobrovic A (2011) Constitutional methylation of the BRCA1 promoter is specifically associated with BRCA1 mutation-associated pathology in early-onset breast cancer. Cancer Prev Res (Phila) 4:23–33

Meme Kanserinde Zeytinyağı ve Diğer Diyet Lipidleri

Eduard Escrich, Montserrat Solanas ve Raquel Moral

Özet

Meme kanseri dünyada kadınlar arasında en sık görülen malign neoplazidir. Genetik ve endokrin faktörlere ek olarak, çevre ve özellikle de nütrisyonel faktörler etyolojisinde önemli rol oynamaktadır. Epidemiyolojik ve özellikle de deneysel çalışmalarda diyet yağı ve meme kanseri arasındaki bağlantı gösterilmiştir. Akdeniz diyetindeki ana yağ kaynağı olan ve meme kanseri gibi kronik hastalıklardaki düşü mortalite insidansı ile ilişkili olan natürel sızma zeytinyağının (NSZY) potansiyel kemopreventif etkisi ile ilgili bol miktarda veri mevcuttur. Başlıca deneysel modellerde gerçekleştirdiğimiz çalışmalarda, diyet lipidlerinin meme karsinogenezi üzerindeki farklı modüle edici etkilerini gösterdik. n-6 poliansatüre yağ asitleri (PUFA) yönünden zengin diyetler meme kanseri gelişimini net bir şekilde stimüle ederken, NSZY yönünden zengin diyetler ise negatif modüle edici etki gösterirler. Burada rol oynayan spesifik mekanizmalar tam olarak anlaşılmamıştır. Ancak günümüzde çok sayıda ve kompleks mekanizmanın rol oynadığı kabul edilmektedir. Çalışma grubumuz bu alandaki bilgi düzeyinin artmasına diyet lipidlerinin hücre membranlarının yapı ve fonksiyonlarındaki etkilerini, hücre sinyal dönüştürme yolaklarının modülasyonunu, gen ekspresyonu, büyüme ve cinsel olgunluğun regülasyonunu göstererek katkı yapmıştır.

Anahtar Kelimeler

Meme kanseri • Diyet lipidleri • NSZY • Deneysel meme kanseri • n-6 PUFA Zeytinyağı • Mısır yağı

E. Escrich (✉) · M. Solanas · R. Moral
Department of Cell Biology, Physiology and Immunology, Physiology Unit, Medicine School, Universitat Autnoma de Barcelona, Bellaterra, 08193, Barcelona, Spain
e-mail: Eduard.Escrich@uab.es

V. Zappia et al. (eds.), *Advances in Nutrition and Cancer,*
Cancer Treatment and Research 159, DOI: 10.1007/978-3-642-38007-5_17,
© Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2014

Kısaltmalar

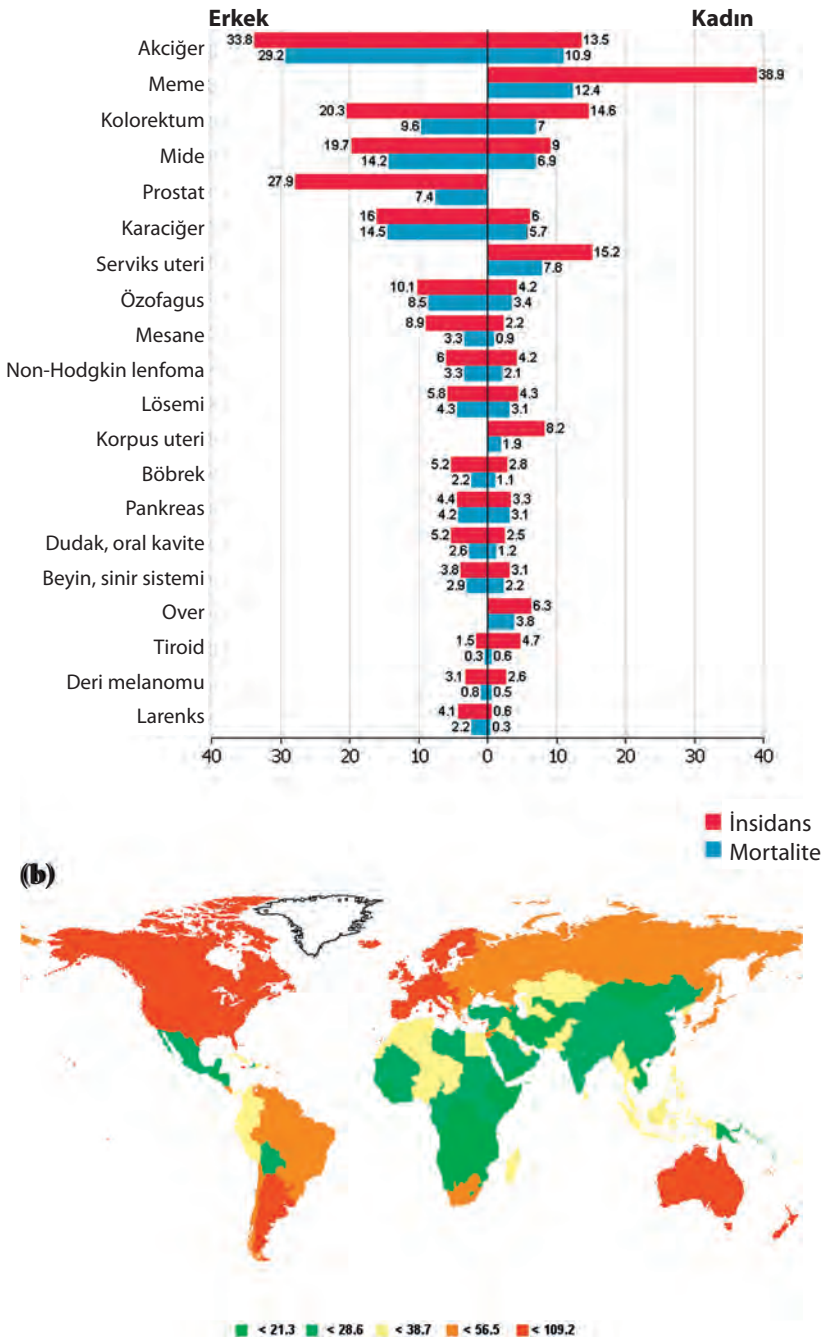
PUFA	Poliansatüre yağ asitleri
MUFA	Monoansatüre yağ asitleri
OA	Oleik asit
NSZY	Natürel sızma zeytinyağı
DMBA	Dimetil-benz(α)antrasen
HCO	Yüksek mısır yağı
LA	Linoleik asit
FFA	Serbest yağ asitleri
PCNA	Prolifere hücre nükleer antijeni
CPT I	Karnitin palmitoltransferaz I
PPAR	Peroksizom proliferatör reseptörü
VDUP1	Vitamin D3-yukarı regüle protein 1
IGF	İnsülin benzeri büyüme faktörü

İçindekiler

1 Giriş 290
2 Meme Karsinogenezinde Diyet Lipidlerinin Etkisi ile İlgili Deneysel Kanıtlar 293
3 Diyet Lipidlerinin Meme Adenokarsinomlarının Morfolojik Malignitesi Üzerindeki Etkileri 295
4 Meme Kanserinde Diyet Lipidlerinin Etki Mekanizması 297
4.1 Hormonal Statünün Değişimi 297
4.2 Hücre Membranının Yapı ve Fonksiyonunun Modifikasyonu 299
4.3 Sinyal Dönüştürücü Yolaklar Üzerindeki Etki 299
4.4 Gen Ekspresyonu Üzerindeki Etki 301
4.5 Büyüme ve Cinsel Olgunluk Üzerindeki Etki 302
5 Sonuçlar 304
Referanslar 305

1 Giriş

Meme kanseri dünyada kadınlar arasında büyük farkla en sık görülen kanser türüdür (tüm kanserlerin %22.9'u). Daha sonra kolorektal kanser (%9.4) ile serviks ve uterus kanserleri (%8.8) gelmektedir. Hem gelişmiş hem de gelişmemekte olan ülkelerde kansere bağlı en sık ölüm nedenini oluşturur (Şekil 1a) [1]. Meme kanserinin etyolojisi multifaktöryeldir. Başlıca genetik, epigenetik ve endokrin faktörler rol oynar [2, 3]. Ancak neoplazilerin insidans oranları coğrafi bölgelere göre farklılıklar gösterir. En sık olarak

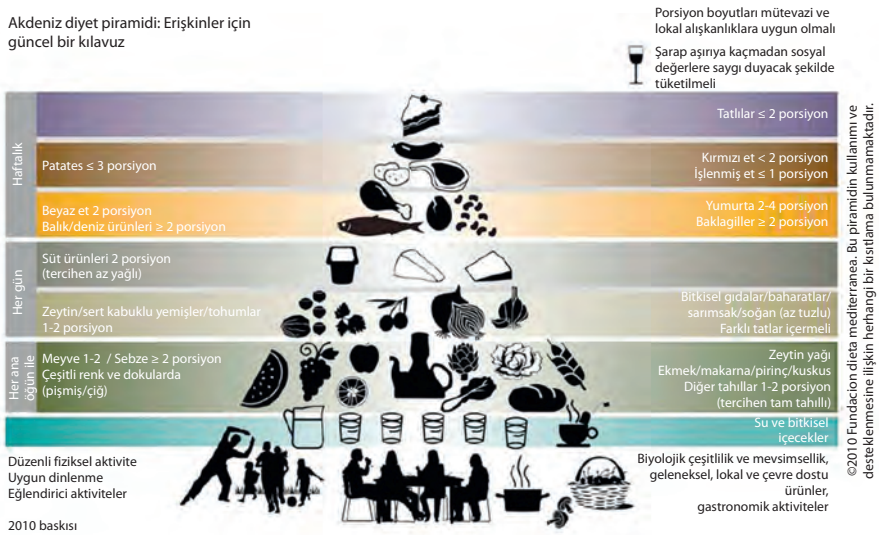


Şekil 1 **a** Dünyada cinsiyete ve kanser tipine göre (yaşa göre standardize edilmiş) insidans ve mortalite oranları (1/100.000). **b** Meme kanserinin yaşa göre standardize edilmiş insidans oranları (1/100.000) [4].

dünyanın gelişmiş bölgelerinde (Japonya hariç) görülür. En düşük insidanslara da çoğunlukla gelişmekte olan bölgelerde rastlanmaktadır (Şekil 1b) [1, 4]. Bu bulgu meme kanseri gelişiminde çevresel faktörlerin de rol oynadığını göstermektedir. Aralarında en önemlisinin nütrisyonel faktörler olmasının ilk nedeni bir toplumun diyet alışkanlıkları nedeniyle sürekli olarak maruz kaldığı veya eksikliğini çektiği gıdaların varlığıdır. İkinci neden ise bu faktörleri baz alarak koruyucu önlemlerin alınabilme ihtimalidir [5].

Meme kanseri ile ilişkili çok sayıda diyet faktörü arasında bulunan lipidler, en önemlilerinden biri olarak kabul edilmektedir. Diyet lipidleri ile meme, kolorektum ve prostat kanseri gibi belirli kanser tipleri arasındaki ilişki epidemiyoloji ve özellikle de deneysel çalışmalarda tespit edilmiştir Diyetle alınan yağ ile meme kanseri riski arasındaki ilişkiyi destekleyen ile epidemiyolojik destek ekolojik çalışmalardan (korelasyonel ve göçmenlerle ilgili) gelmiştir. Buna karşın analitik epidemiyoloji çalışmalarında (vaka kontrol ve prospektif çalışmalar) elde edilen bazı veriler tutarsızdır. Bu çalışmaların tamamı anlamlı bir ilişki varlığını desteklememektedir. Total ve satüre yağ tüketimi ile meme kanseri arasında pozitif bir ilişki olduğu tespit edilmiş görünmektedir. Ancak spesifik yağ alt tipleri ile ilgili ilişkiler daha az tutarlıdır [9–13]. Bizim çalışma grubumuzun yaptıklarını da kapsayan deneysel çalışmalar diyet lipidleri ile meme kanseri arasındaki ilişki hakkında önemli bilimsel kanıtlara imza atmıştır. Bu nedenle yağdan zengin diyetlerin stimülan etkilerine ek olarak, özel lipid tiplerinin meme kanseri üzerinde farklı modüle edici etkileri mevcuttur: Stimüle edici satüre yağlar başlıca hayvansal kaynaklıdır. Ancak n-6 pan yağ asitleri (PUFA) ise bitkisel kaynaklı olup sıklıkla yağlı tohumlardan elde edilen yağlarda mevcuttur. n-3 PUFA inhibitörleri ise sebzelerde ve özellikle deniz kaynaklı gıdalarda mevcuttur. Monoansatüre yağ asitlerinden (MUFA) olan oleik asit (OA) zeytinyağında yüksek miktarda mevcuttur. Kemopreventif etkisi ile ilişkili kanıtlar artmakta olsa da çelişkili sonuçlar da mevcuttur. Tümör büyümesi üzerindeki etkileri ile ilgili çelişkili sonuçlar stimüle etmeyici, hafif stimüle edici veya stimüle edici olabileceğini bildirmektedir [7, 14–17].

Akdeniz ülkelerindeki kardiyovasküler hastalıklar ve meme kanserini de içeren bazı kanser türleri gibi kronik hastalıkların insidans ve mortalitelerinin diğer Batı ülkeleri ile kıyaslandığında daha düşük olduğunu gösteren çok miktarda veri nedeniyle, Akdeniz diyetinin majör yağ kaynağı olan zeytinyağı ciddi bir ilgi kaynağı olmuştur. Akdeniz diyeti, Akdeniz'in farklı bölgelerinde çeşitli beslenme paternlerine sahiptir ve bitkisel (meyve, sebze, tahıllar, tohumlar ve sert kabuklu yemişler), süt ürünleri, balık ve zeytinyağı gibi besinlerin çok miktarda tüketimi ile karakterizedir [18] (Şekil 2). NSZY (natürel sızma sızan zeytinyağı) OA (%72-74) yönünden zengin olmasına ek olarak, skualen, fenolik antioksidanlar (hidroksitirozol, tirozol ve oleuropein), sekoiridoidler (oleuropein ve aglikonu), flavonoidler ve lignanlar gibi minör biyoaktif bileşikleri de içerir [19– 21]. Günümüzde NSZY'nin potansiyel sağlıklı etkilerinin hem yağ asidi kompozisyonuna (özellikle yükse OA içeriği, uygun miktarda esansiyel PUFA ve görece düşük n-6 PUFA / n-3 PUFA oranı) hem de içerdiği minör biyoaktif bileşiklere dayandığı net olarak anlaşılmıştır [22–25].

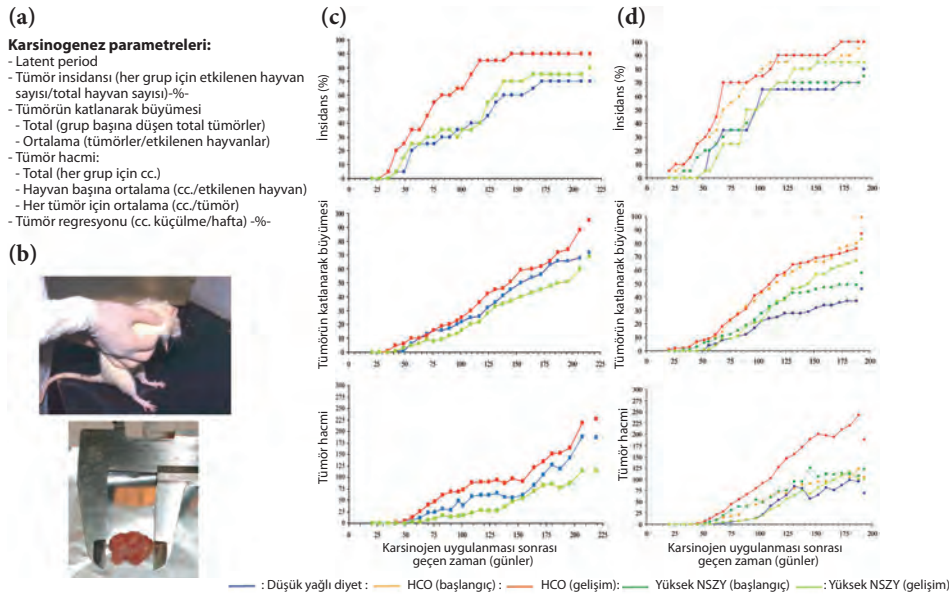


Şekil 2 Güncellenmiş Akdeniz Diyet Piramidi (Akdeniz Diyet Vakfı) [89].

Grubumuz diyet lipidlerinin meme kanseri üzerindeki etkisini 25 yıldan uzun süredir başlıca iki ana konu üzerinde araştırmaktadır: Birincisi iki tip yağ kullanılarak (n-6 PUFA yönünden zengin bir yağlı tohum yağı olan mısır yağı ve NSZY) kimyasal olarak indüklenen meme kanseri üzerinde yaptığımız çalışmalardır. İkincisi insan meme tümörleridir. Bu bölümün amacı deneysel modellerden elde edilen başlıca sonuçların paylaşılmasıdır. Bu modellerdeki araştırmalarımızda klinik karsinogenez, tümör morfolojisi ve özellikle bu iki yağ türünün meme karsinogenezindeki farklı modüle edici etkilerinin moleküler mekanizmalarını araştırmaya odaklandık. Deneysel verilerin insanlara uyarlanmasında dikkatli olunması gerekmektedir. Ancak kontrollü değişkenler kullanılarak insan verisi toplamak oldukça güç olduğu için, deneysel çalışmalar nütrisyonel faktörlerin sağlık üzerindeki etkilerinin anlaşılmasında önemli rol oynamaktadır.

2 Meme Karsinogenezinde Diyet Lipidlerinin Etkisi ile İlgili Deneysel Kanıtlar

Meme kanseri modelleri kullanılarak geliştirilen deneysel çalışmalarda dişi Sprague-Dawley sıçanlarında polisiklik aromatik bir hidrokarbon olan dimetil-benz(α)antrasen (DMBA) tek doz uygulanarak kanser indüklenmiştir [26]. Bu modelin sonuçları insan meme kanserine uyarlanabilmesi için daha önce valide edilmiştir ve meme kanseri çalışmalarında yoğun olarak kullanılmaktadır [27, 28]. Zeytinyağı ve n-6 PUFA'nın meme adenokarsinomlarının başlangıcı ve gelişimindeki olası farklı etkilerinin araştırılması için şu diyetler dizayn



Şekil 3 Yüksek tohum yağı ve yüksek NSZY diyetlerinin DMBA ile indüklenen sıçan karsinogenezi üzerindeki etkisi. Deneyin dizaynına bağlı olarak, hayvanlar yüksek-mısır yağı (HCO) diyeti veya yüksek-NSZY diyeti ile sütten kesilmelerinden itibaren (başlangıç grupları) veya karsinojen uygulanmasında itibaren (gelişim grubu) beslenmiştir. Düşük yağlı diyet grubu da tüm çalışma boyunca kontrol grubu olarak kullanılmıştır. Hayvanlar karsinojen uygulanmasından sonra 21. günden itibaren (53 günlükken) her hafta muayene edilmiş ve kiloları ölçülmüştür. **a.** Uygun istatistiksel analize ek olarak sekiz farklı klinik parametre belirlenmiştir. **b.** Hayvanların incelenmesi ve eksprerimental meme adenokarsinomunu gösteren resimler **c.** Deneysel serilerde karsinogenez gelişimini araştırmayı amaçlayan 3 örnek parametre. HCO diyetinin yaptığı belirgin stimulan etki ile tümörler daha erken gelişmiştir. Kontrol grubuna göre daha fazla hayvan etkilenmiş, daha çok ve daha büyük tümörler gelişmiştir. Buna karşın yüksek-NSZY diyeti ile genel olarak koruyucu etki görülmüştür. Latent period, insidans, tümör hacmi ve içerikleri kontrol grubu ile benzer veya daha düşük bulunmuştur. **d.** Aynı örnek parametrelerin kullanıldığı diğer deneysel serilerde diyet lipidlerinin başlama ve gelişme üzerindeki etkileri görülmektedir. HCO diyeti tutarlı olarak tümör geliştirici etki gösterirken, yüksek-NSZY diyeti de zayıf stimülan etki göstermiştir. NSZY yüksek yağ içeren bir diyet olmasına rağmen stimüle edici etkisi HCO diyetine göre çok daha zayıftır.

edilmiştir: Kontroller için düşük yağlı diyet (%3 mısır yağı), yüksek yağlı n-6 PUFA diyeti (%20 mısır yağı) ve yüksek yağlı n-9 MUFA diyeti (%17 NSZY ve %3 mısır yağı) [29–31].

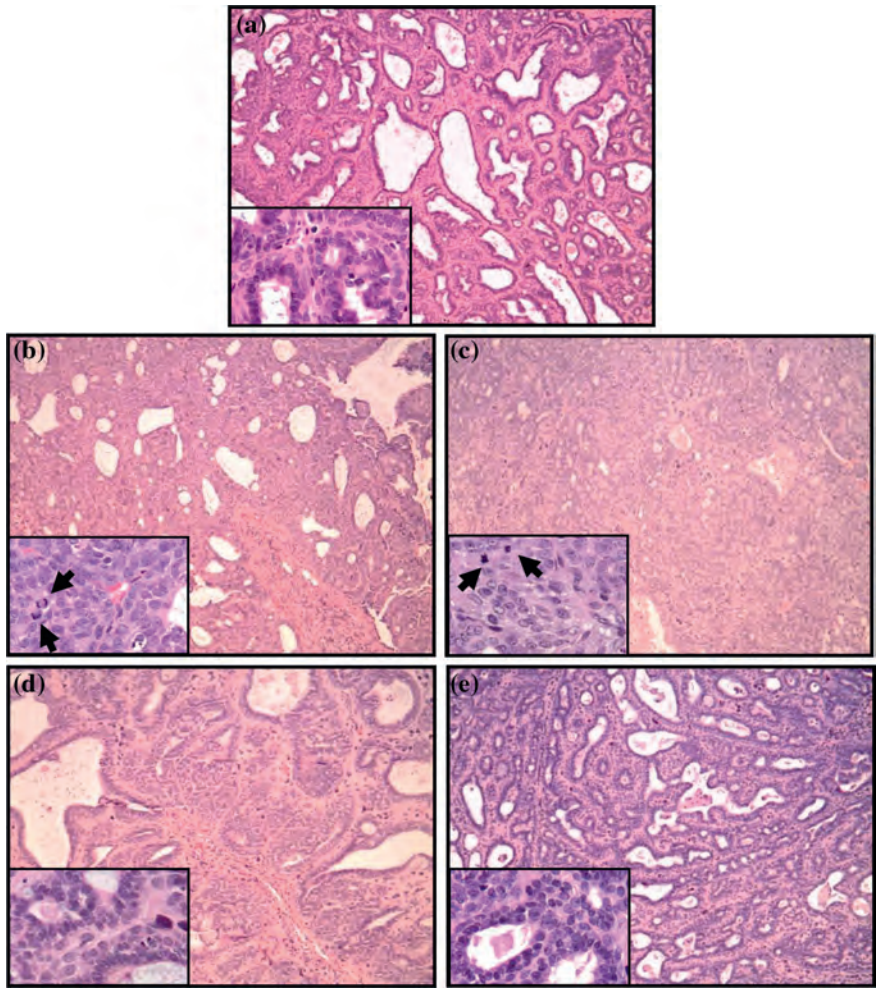
Uygun istatistiksel analizlere ek olarak, deneysel meme kanserindeki bu etkilerin araştırılmasında çeşitli klinik parametreler de tanımlanmıştır (latent period, tümör insidansı, katlanarak büyüme, hacim ve tümör regresyonu) (Şekil 3a, b) [32–35]. Laboratuarımızda geliştirilen 16 deneysel seride, yağ yönünden zengin diyetlerin meme karsinogenezindeki stimulan etkilerini tutarlı olarak gösterdik. Bu etkiler tümörlerin

kontrol grubuna göre daha erken oluşması, daha fazla hayvanın etkilenmesi ve daha büyük olmalarını kapsamaktadır. Buna karşın zengin NSZY diyetleri HCO diyeti ile aynı miktarda yağ içermesine rağmen genel olarak koruyucu etki göstermiştir. Latent period, insidans, tümör hacmi ve içerikleri kontrol grubu ile benzer veya daha düşük bulunmuştur. Tümör regresyonu ile ilgili çalışmada, bu diyetle tümör progresyonunun yavaşladığının bulunmuş olması önemlidir. Ancak parsiyel veya total tümör regresyonu gerçekleşmemektedir. Bu sonuçlar NSZY diyetlerinin terapötik ajan olarak kullanılacak kadar güçlü etkiye sahip olmadığını göstermektedir (Şekil 3c, d) [6–8, 31, 36–38]. Ayrıca deneysel serilerde hafif bir stimülan etki de gözlenmiştir. Ancak bu diyet yağdan zengin olmasına rağmen stimülan etkisi her zaman tohum yağına göre çok daha düşük seviyede bulunmuştur (Şekil 3d) [39]. Bu farklılıklar diyet girişiminin uygulanma zamanlaması veya kullanılan farklı zeytinyağı çeşitleri ile ilişkili olabilir. Zeytinyağının karsinogenez üzerindeki etkisinin satüre/ansatüre yağ asitlerinin oranına ve OA/lineolik asit oranına ve yağdaki minör bileşiklerin rölatif kompozisyonuna bağlı olduğu bildirilmiştir [40]. Bu tür bulgular tüm yüksek yağlı diyetlerin karsinogenez üzerinde spesifik olmayan stimülan etkileri olabildiği ve deneysel diyette yüksek oranda zeytinyağı kullanıldığı göz önüne alındığında ilgi çekici hale gelmektedir [41]. Bu bağlamda alınan enerji miktarı ile kanser mortalite oranları arasında doğru orantı olduğu gösterilmiş olup, enerji kısıtlaması ile karsinogenez üzerinde genel bir inhibitör etki meydana gelmektedir [42].

Bu sonuçlar yüksek n-6 PUFA diyetlerinin, meme tümörlerinin klinik davranışlarını biyolojik olarak daha agresif hale getirdiğini göstermektedir. NSZY diyetleri ise tümörlerin malignite derecelerini daha az etkilemektedir. Diyet lipidlerinin meme kanserindeki modüle edici etkisinin çoğunlukla karsinogenezin gelişim aşamasında ortaya çıktığı vurgulanmalıdır. Ancak başlangıç aşamasındaki etki de dışlanmamalıdır [6, 8].

3 Diyet Lipidlerinin Meme Adenokarsinomlarının Morfolojik Malignitesi Üzerindeki Etkileri

Çalışma grubumuz, diyet lipidlerini meme kanseri üzerindeki farklı morfolojik etkilerini, meme adenokarsinomlarının kapsamlı histopatolojik incelemelerini kullanarak ilk kez gösteren gruptur. Analizlerde onbir farklı parametre kullanılmıştır. Bu parametrelerden bazıları insan meme kanseri patolojisinde ve deneysel tümörlerin diğer karakteristiklerinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Grubumuz ayrıca sıçan meme karsinomlarına adapte edilen yeni bir histolojik sınıflama sistemi geliştirmiştir. İlk olarak, bu çalışmalarda her tümörün histolojik paterni ile klinik karakteristikleri arasında bir ilişki gösterilmiştir. Biyolojik olarak daha agresif olan tümörlerin daha yüksek histopatolojik evre, desmoplastik reaksiyon, limfoplazmositik infiltrasyon ve tümör nekrozu ile karakterize olduğu ve sıklıkla kribriform yapıya sahip olduğu bulunmuştur [43, 44]. İkinci olarak da farklı diyetlerinin etkileri analiz edildiğinde tohum yağlarının adenokarsinomları, kontrol grubu ve NSZY diyetlerine göre daha yüksek malignite derecesi ile indüklediği



Şekil 4 DMBA ile indüklenen meme adenokarsinomlarının farklı diyet gruplarındaki histopatolojik özellikleri. Hematoksilin ve eozin ile boyanmış farklı deney gruplarındaki tümör kesitlerinin histopatolojik analizinde tohum yağı yönünden zengin diyetlerin adenokarsinomların gelişimini kontrollere (**a**) ve NSZY gruplarına (**d** ve **e**) göre daha yüksek malignite derecesi ile destekledikleri bulunmuştur (**b** ve **c**). Buna karşın yüksek NSZY diyeti ile beslenen hayvanların tümörleri ise, HCO diyeti uygulanan hayvanların tümörlerine göre daha düşük malignite derecesine sahip ve kontrol tümörlerine daha benzer histopatolojik özellikler göstermiştir. Büyük resimlere orijinale göre x100 büyütme, küçük resimlere orijinale göre x400 büyütme uygulanmıştır. Mitotik figürler oklarla gösterilmiştir (**b** ve **c**) [45].

görülmüştür. Tohum yağları daha yüksek histolojik evreye, stroma invazyonuna, daha yoğun tümör nekrozuna ve daha sık kribriform paterne yol açmıştır. Buna karşın NSZY diyeti ile beslenen hayvanların tümörleri ise, HCO diyeti uygulanan hayvanların tümörlerine göre daha düşük malignite derecesine sahip olup kontrol tümörlerine daha benzer

histopatolojik özellikler göstermiştir. Bu nedenle daha düşük bir histopatolojik dereceye sahip olan bu tümörler, daha az invazif, nekrotik ve papiller bölgeye sahiptir (Şekil 4). Dolayısı ile diyet lipidlerinin farklı modüle edici etkileri, sadece tümörün klinik davranışında değişikliğe neden olmayıp aynı zamanda farklı histopatolojik özelliklere de yol açmaktadır.

4 Meme Kanserinde Diyet Lipidlerinin Etki Mekanizması

Genel olarak diyet yağlarının ve spesifik olarak da NSZY diyetlerinin meme kanserinde etkilerini göstermelerini sağlayan spesifik mekanizmalar henüz aydınlatılamamıştır. Ancak günümüzde diyet lipidlerinin muhtemelen entegre, simultane ve/veya sıralı şekilde etki göstermesini sağlayan çeşitli, kompleks mekanizmalar hakkındaki anlayış giderek daha fazla artmaktadır. Grubumuz bu mekanizmalar ile ilgili bilgilerin artmasına, hormonal statüdeki muhtemel değişimleri, hücre membranlarının yapı ve fonksiyonlarını, hücre sinyallerini dönüştürücü yolakları, gen ekspresyonunu, büyüme ve cinsel olgunlaşmayı araştırarak katkı yapmıştır (Tablo 1) [46–48].

4.1 Hormonal Statünün Değişimi

Meme kanseri hormona bağımlı bir neoplazi olduğu için ilk olarak normal meme bezlerini ve tümörleri regüle eden ana hormonların statülerinin diyet lipidleri tarafından modifiye edilip edilmediğini araştırdık. Luteinizan hormon, folikül stimüle edici hormon, östradiol, progesteron, insülin ve kortikosteronun serum konsantrasyonlarının yüksek n-6 PUFA veya yüksek NSZY diyetleri ile değişmediğini tespit ettik [49], (E. Escrich, yayınlanmamış sonuçlar). Diyet lipidlerinin dolaşımdaki hormon düzeylerine etkileri ile ilgili literatür verileri net bir sonuca sahip değildir [50]. Yüksek n-6 PUFA diyeti ile beslenen gebe sıçanlardaki serum östradiol seviyelerinin arttığını [51] ya da değişmediğini [52] gösteren çalışmalar mevcuttur. Diğer yazarlar emziren sıçanlardaki östradiol konsantrasyonlarının %7 zeytinyağı içeren diyet ile beslenenlerde %7 mısır yağı ile beslenenlere göre daha düşük olduğunu tespit edilmiştir [53]. Sonuçlar arasındaki çelişkiler hormonların siklik özelliklerine bağlı olabilir. Çünkü bu hormonların serum konsantrasyonları sirkadian ritm ve östrus siklusunun fazı ile yüksek oranda ilişkilidir [54]. Ayrıca meme bezlerindeki ve deneysel tümörlerdeki seks hormon reseptörlerinin analizinde de diyet lipidlerinin etkisi ile sadece küçük farklılıklar tespit edebildik. Sonuç olarak östrojen reseptörlerinin ekspresyonlarında anlamlı farklılıklar bulunmamıştır (ERα, ERβ1 ve ERβ2). Puberte esnasında NSZY diyeti ile beslenen sıçanların meme bezlerinde HCO diyeti ile beslenenlere göre daha yüksek östrojen reseptör seviyeleri tespit ettik. Bu bulgu lobulo-alveolar yapıların gelişimi ile ilişkili olabilir [39]. Bu sonuçlar diyet lipidlerinin meme kanserini modüle edici etkilerinin normal ve kanserli meme için çok

Tablo 1 Yüksek NSZY ve yüksek tohum yağı diyetlerinin deneysel meme kanserindeki ana moleküler etki mekanizmalar üzerindeki etkisi

		NSZY diyetleri	Tohum yağı diyetleri
Klinik davranış		Yavaş seyirli tümör büyümesi	Hızlanmış tümör büyümesi
		Koruyucu veya zayıf gelişim destekleyici etki	Stimüle edici etki
Histopatolojik özellikler		Düşük dereceli histolojik malignite	Yüksek dereceli histolojik malignite
Etki mekanizması	Proliferasyon	Azalma ve aynı kalma	Artma
		↔ *mitotik aktivite*	←↑ *mitotik aktivite*
		↔ *PCNA düzeyleri*	↔ *PCNA düzeyleri*
		↔ *Siklin D1 ekspresyonu*	↔ *Siklin D1 ekspresyonu*
		↓ *p21Ras aktivitesi*	↔ *p21Ras aktivitesi*
		↑ *non-aktive p21Ras düzeyleri*	↔ *non-aktive p21Ras düzeyleri*
		↑ *MAPK aktivitesi (↓Akt aktivitesi ile birlikte)*	↑ *MAPK aktivitesi (↓ Akt aktivitesi yok)*
	Sağkalım	Azalma	Artma
		↓ *Akt aktivitesi (↓ fosfo-Akt düzeyleri)*	↑ *fosfo-Akt/total Akt oranı*
	Apoptoz	Artma	Değişim yok
		↓*Akt aktivitesi ve* ↑*MAPK aktivitesi*	↑*Akt aktivitesi ve* ↑*MAPK aktivitesi*
		↑*aktif Kaspaz-3 düzeyleri*	↔ *aktif Kaspaz-3 düzeyleri*
		↑ *apoptotik hücreler*	↔ *apoptotik hücreler*
	Tümör regresyonu	Yok	Yok
	DNA hasarı	Muhtemel azalma	Muhtemel artma
		↓ *Ubi-PCNA düzeyleri*	↑ *Ubi-PCNA düzeyleri*
		↔ *8-okso-dG düzeyleri*	↔ *8-okso-dG düzeyleri*
	Farklılaşma	Benzer	Azalma
		↔ *PCPH ekspresyonu*	↓ *PCPH ekspresyonu*
		↔ *H19 ve VDUP1 ekspresyonu*	↓ *H19 ve VDUP1 ekspresyonu*

[a]Etkiler düşük yağlı diyet uygulanan kontrollerle karşılaştırılmıştır. ↑: artma, ↓: azalma, ↔: değişim yok.

önemli bir parametre olan, hormonal durumu değiştirmek yoluyla ortaya çıkmadığını düşündürmektedir. Benzer şekilde incelediğimiz çeşitli biyokimyasal plazma parametrelerinden, yüksek n-6 PUFA ve yüksek NSZY diyetlerinin etkisi ile sadece total kolesterol düzeylerinde bir azalma olduğunu tespit ettik (E. Escrich, yayınlanmamış sonuçlar).

4.2 Hücre Membranının Yapı ve Fonksiyonunun Modifikasyonu

Membran lipid kompozisyonu membran fonksiyonunu etkiler ve hücreler tarafından yüksek oranda regüle edilir. Ayrıca alınan lipidlerin türüne (başlıca n-3 PUFA ve n-3 PUFA / n-6 PUFA oranı) bağlı olarak değişimler gösterir. Membran lipid kompozisyonunda diyet tarafından indüklenen modifikasyonlar membran akışkanlığı, lipidlerle modifiye edilen yolaklar ve hücre membranlarının lipid peroksidasyon düzeyleri ile ilişkilidir [55]. Bu nedenle laboratuarımızda altı lipid fraksiyonu içindeki 14 yağ asidinin analizini yaparak diyet lipidlerinin tümör yağ asidi kompozisyonundaki etkisini inceledik. Yüksek tohum yağlı diyetle beslenen sıçanların meme adenokarsinomları klinik ve histopatolojik olarak kontrol diyet tümörlerine göre daha agresif olup rölatif LA içeriğinde anlamlı artma, OA içeriğinde azalma ile fosfatidilkolin, fostatidiletanolamin ve serbest yağ asitlerinde de anlamlı azalma görülür. Bu fosfolipidlerin hidroliz ürünlerinin ve serbest yağ asitlerinin tümör hücre proliferasyonu ile ilişkili olduğu göz önüne alındığında, bu sonuçların meme karsinogenezi ile ilgili deneysel ve epidemiyolojik çalışmalarda bulunan LA yönünden zengin diyetlerin zararlı etkilerini ve NSZY diyetlerinin faydalı etkilerini onaylar nitelikte olduğu söylenebilir [36]. Akdeniz diyetinin hipertansiyon üzerindeki faydalı etkileri ile uyumlu olarak, hipertansif hastalardaki eritrosit hücre membranının yapısal özelliklerini etkilediklerini gösteren kanıtlar da mevcuttur [56].

4.3 Sinyal Dönüştürücü Yolaklar Üzerindeki Etki

Araştırmalarımızın bir sonraki konusu gen fonksiyonunda ve hücre sinyal yolaklarında rol oynayan proteinlerdeki değişimlere odaklanmıştır. Özellikle meme gelişiminde ve insan meme kanserinde rol oynadığı gösterilen Ras-aracılığındaki sinyal yolağını araştırdık [57]. Sonuçlarda zengin NSZY diyetinin p21Ras aktivitesini anlamlı düzeyde azaltırken protein düzeylerini artırmış olması bu diyetin non-aktive proteinlerde artışa yol açtığını düşündürmektedir. p21Ras aktivitesinde azalma daha düşük Ras mutasyon oranına ya da HMG-CoA redüktaz ve skualen sentaz gibi Ras'ın postranslasyonel modifikasyonunda rol oynayan gen kodlayan proteinlerin azalmış ekspresyonuna bağlı değildir [58]. Diğer deneysel çalışmalarda zeytinyağı diyetinin, bileşimindeki minör bileşik skualenin etkisiyle HMG-CoA redüktazı inhibe etmek yoluyla kolon kanserine karşı

koruyucu etki sağlayabileceği gösterilmiştir. Ancak bu tür etkiler çok yüksek skualen konsantrasyonlarında ortaya çıkmıştır (diyetin %1'i) [59].

Azalmış p21Ras aktivitesi beklenmedik şekilde, insan meme kanserinde önemli rolü olan tirozin kinaz membran reseptörleri ErbB1, ErbB2 ve ErbB3'ün ekspresyon veya aktiviteleri ile ilişkili bulunmamıştır [60]. Buna karşın yüksek NSZY diyetine bağlı olarak 80-kDa ErbB4-bağlı proteinin düzeylerinde anlamlı azalma gözlemledik. ErbB4-kesik formunun meme kanserindeki biyolojik önemi net olarak bilinmemekle birlikte ErbB4 aktivasyonu ile ilişkilidir [61]. NSZY diyeti (kontrollere kıyasla) pro-sağkalım Ras/PI3 K/Akt yolağını aşağı, Raf/Erk yolağını da yukarı regüle etmektedir. Buna karşın yüksek n-6 PUFA diyeti ise Ras aktivitesini ve ErbB reseptörlerini modifiye etmezken, RAf/Erk yolağını güçlendiriyor olması her iki yüksek yağlı diyetin de ERK1/2 yolağını yukarı regüle eden non-spesifik etkileri olduğunu düşündürmektedir. Ayrıca yüksek n-6 PUFA diyeti tümör büyümesini stimüle edici etkisi ile uyumlu olarak, en yüksek fosfo-Akt:total Akt oranının ortaya çıkmasına yol açmıştır. Her iki diyet tipi de RaIA/B-aracılığındaki yolakta bir değişime yol açmamıştır.

Ras ve ana efektörlerinin analizinden elde edilen sonuçlar NSZY diyeti ile ilgili pro-apoptotik hipotez geliştirmemize neden oldu. Bu nedenle farklı deney gruplarındaki meme tümörlerinin apoptotik durumlarını inceledik. Kaspaz kaskadının hem ekstrinsik hem de intrinsik apoptozda rol oynayan ana unsuru olan kaspaz-3'ün [62] rölatif seviyeleri zeytinyağı diyeti ile beslenen hayvanlardaki tümörlerde anlamlı olarak yükselmiştir. Bu sonuç bu diyete bağlı olarak apoptozun arttığı düşüncesi ile uyumludur. Bu sonuç TUNEL deneyleri ile konfirme edilmiştir [58]. Bu sonuçlar zeytinyağının, oleik asidin ve zeytinyağındaki bazı minör bileşiklerin apoptozu modüle ettiğini bildiren bazı çalışmaların sonuçları ile uyumludur [53, 63–65].

Sonuçlarımız mitotik aktivite ve prolifere olan hücre nükleer antijen (PCNA) düzeylerinin analizinde görüldüğü üzere, yüksek NSZY diyetinin tümör hücre proliferasyonunda önemli bir etki yapmadığını da göstermiştir. Bu nedenle NSZY diyeti meme kanserini modüle edici etkisini, proliferasyon/apoptoz balansını apoptoz lehine değiştirip (diyetin tümör büyümesini negatif regüle edici etkisine katkı yaparak) gösteriyor olabilir. Ancak yüksek tohum yağlı diyet ise sağkalım/proliferasyon sinyallerini dönüştürücü etkisi ile uyumlu olarak mitotik aktiviteyi artırıp, tümör gelişimine destek olmaktadır [58]. Zeytinyağının tümör proliferasyonu üzerindeki olası etkisi henüz net olarak anlaşılamamıştır. İn vitro deneylerde zeytinyağındaki hidroksitirozol ve oleuroprotein gibi bazı minör bileşiklerin meme kanseri proliferasyonunu inhibe ettiği yönünde kanıt bulunmuştur [63]. Oleatın ise hücre proliferasyonunda stimülan etkisi olduğu bildirilmiştir [64].

Mono-ubikutin ekli PCNA düzeyleri NSZY diyeti ile ilginç biçimde anlamlı olarak azalırken yüksek mısır yağlı diyetle anlamlı olmayan düzeyde yükselmiştir. PCNA'YA ubikutin eklenmesinin özellikle DNA hasarında veya replikasyon çatalları bozulduğunda meydana gelmesi, NSZY diyetinin daha az DNA hasarına yol açtığını ve yüksek tohum yağlı diyetin de daha yüksek genotoksik strese yol açtığını düşündürmektedir. Ancak pre-mutajenik 8-okso-dG bazında değişime rastlanmamış olması muhtemelen

diyet lipidlerinin diğer DNA lezyonları üzerindeki etkilerinden kaynaklanmaktadır. Meme tümörlerinin gelişiminin modülasyonunda lipid peroksidasyonunun rolü tam olarak anlaşılmamış olan çelişkili bir konudur. Kanserin başlangıcında rol oynayan santral mekanizmalardan birisi olduğu kabul edilmiş olsa da [14], uzun zincirli n-3 PUFA'nın kanser önleyici etkisinin (en azından kısmen) peroksidasyon ürünlerinin oluşumundan kaynaklandığı düşünülmektedir [66–68]. Ayrıca oksidatif stres ile indüklenen apoptozun, bazı polifenolleri de içeren çeşitli kemopreventif ajanların antikarsinojenik etkilerinde önemli rol oynadığını gösteren kanıtlar artmaktadır [69, 70]. Yüksek NSZY diyetlerinin oksidatif stres üzerindeki etkisi şu anda grubumuz tarafından araştırılmaktadır.

4.4 Gen Ekspresyonu Üzerindeki Etki

Farklı diyet komponentlerinin spesifik genlerin ekspresyonunu modüle edebildiği gayet iyi bilinmektedir. Yağ asitlerinin gen ekspresyonu üzerindeki en iyi bilinen etkisi lipid, karbonhidrat ve protein metabolizması üzerinde rol oynayan genleri modüle etmektir [71]. Ayrıca diyet lipidlerinin etkileri hastalık tarafından da etkilenebilir. Bunu doğrular şekilde tümör taşıyıcı sıçanların karaciğerlerinde yüksek n-6 PUFA diyetinin etkisi ile karnitin palmitoltransferaz I (CPT I), mitokondrial HMG-CoA sentaz ve peroksizom proliferatör reseptör α (PPARα) ekspresyonlarının normal regülasyonlarında değişimler gözlemledik [72]. Diyet lipidlerinin kanserle ilişkili genler üzerindeki etkilerine yönelik veriler az olmasına rağmen, hücre büyümesi, sağkalım ve farklılaşmada görev yapan genlerin regülasyonunda rol oynadıklarını gösteren veriler giderek artmaktadır [71]. Deneysel meme tümörlerinde yüksek NSZY ve HCO diyetlerinin, ErbB membran reseptör ailesinin (özellikle c-erbB1) ekspresyonunun modülasyonunda farklı etkiler gösterdiğini tespit ettik. HCO diyeti meme adenokarsinomundaki c-erbB1/EGFR'deki 9.5-kb mRNA (tam boy fonksiyonel reseptörü kodlar) ile 2.7-kb mRNA (inaktif kesik reseptörü kodlar) arasındaki oranı yükseltirken, yüksek NSZY diyeti ise bu oranı azaltmıştır. Bu diyet ayrıca c-erbB2/neu mRNA ve p185ErbB2/Neu protein düzeylerini azaltma eğilimi gösterirken, HCO diyeti bu reseptörün ekspresyonunu modüle etmemiştir [37]. Diğer taraftan ErbB proliferatif sinyalinin önemli dönüştürücülerinde birisi olan c-Haras1'in ekspresyon düzeyleri bu diyetler tarafından modifiye edilmemiştir [73, 74]. Yüksek yağlı diyetler p21RAS'ın post-translasyonel modifikasyonu ve devamındaki aktivasyonu için gereken prenil gruplarının kaynağı olan mevalonat yolağını kodlayan HMGCoA redüktaz veya skualen sentazın [58] ekspresyon düzeylerini de modifiye etmezler [75].

Dediferensiyasyon kanserle ilgili bir proses olduğu için, grubumuz diyet lipidlerinin DMBA ile indüklenen meme tümörlerindeki hücre farklılaşması ile ilişkili genleri de araştırmıştır. Bilinen meme diferensiyasyon markerları olan a- ve b-kazein ve transferine ek olarak tümörün invazyon kapasitesi ile ilişkili olan β-aktinin de ekspresyonlarını analiz ettik. Bu sonuçların düşük kazein ekspresyon düzeylerinin tümörün morfolojik farklılaşmasının derecesi veya klinik davranışı ile ilişkili olmadığını göstermiş olması,

bu genlerin diyet lipidlerinin meme adenokarsinomundaki modifikasyonları için iyi bir biyomarker olmadığının göstergesidir. Buna karşın yüksek zeytinyağı diyeti uygulanan gruplardaki transferin ekspresyonunun artma eğilimi göstermiş olması, bu diyetin sonucu olarak tümörün daha az agresif fenotipe sahip olmasının göstergesidir. Ayrıca NSZY diyetinin aksine yüksek tohum yağlı diyet β-aktin mRNA ekspresyonunu artırırken protein düzeylerinde bir değişime yol açmamıştır. Bu son sonuç, çekirdekten hücre periferine β-aktin transporterinin taşıyıcısı olan ZBP1'de gözlenen artışa ek olarak, bu mRNA'nın transportunun ve translasyonunun deregüle olmasının yüksek tohum yağlı diyetle beslenenlerde daha yüksek malignite dereceli tümörlerle ilişkili olduğunu düşündürmektedir [76]. Ayrıca, ürünleri Ras ile sinerjistik etki yapan PCPH geninin ekspresyonunda diyet lipidlerinin etkisini de araştırdık. Sonuçlar meme bezindeki farklılaşma derecesinin PCPH düzeylerindeki anlamlı artış ile ilişkili olduğunu göstermektedir. Adenokarsinomlardaki PCPH ekspresyonu, normal dokuya kıyasla sadece azalmakla kalmaz aynı zamanda deregüle de olur. Ayrıca yüksek tohum yağlı diyet gruplarındaki en malign tümörler en düşük PCPH ekspresyon düzeylerine sahiptir [77].

Gen ekspresyonlarının incelenmesinde kullanılan yeni yüksek veri işleme kapasiteli teknikler diyet lipidlerinin kanserdeki etkisinin farklı bir deneysel yaklaşımla incelenebilmesine olanak tanımaktadır. cDNA mikroarray analizleri kullanarak yüksek tohum yağlı diyetle anlamlı olarak aşağı regüle olan 4 gen tanımladık. Bu genler NSZY diyeti ile aşağı regüle olmazlar. Bunlar a2u-globülin, Vitamin D3 yukarı regüle protein 1 (VDUP1), damgalanmış (imprinted) H19 geni ve bilinmeyen bir gendir. Tüm bu genler (özellikle H19 ve VDUP1) hücre farklılaşması ve proliferasyonu ile potansiyel olarak ilişkilidir. Yüksek tohum yağlı diyette aşağı regüle olmaları bu diyetin meme kanserindeki tümör stimüle edici etkisinde rol oynayabileceğini düşündürmektedir [78]. Ayrıca gen proliferasyonu ile ilişkili olan ve H19'un karşıtında damgalanan insülin benzeri büyüme faktörü (IGF) II geni HCO diyeti ile yukarı, NSZY diyeti ile de aşağı regüle olmaktadır. Her iki yüksek yağ diyeti, hücre büyümesini destekleyen ve antiapoptotik eksi olan ve VDUP1 tarafından inhibe edilen bir oksiredüktaz olan tioredoksinin etkisinin karşıtı etkiye sahiptir [79]. Bu sonuç HCO ve NSZY diyetlerinin meme kanserindeki karşıt etkileri ile uyum içindedir.

4.5 Büyüme ve Cinsel Olgunluk Üzerindeki Etki

Diyet lipidlerinin kanserin başlangıcında meme bezlerinin neoplastik transformasyona olan duyarlılığını veya direncini modüle ederek nasıl rol oynadıklarına da odaklandık. Gıda ve nütrisyonu da içeren erken yaşam olaylarının hayatın ilerleyen dönemlerindeki meme kanseri riskini modifiye ettiğini gösteren çok çarpıcı kanıtlar mevcuttur [80]. Şu anda araştırmakta olduğumuz mekanizmalardan bazıları meme bezinin farklılaşmasını da içeren büyüme ve cinsel olgunlaşma, ksenobiyotik detoksifikasyonu ve oksidatif strestir.

Meme bezinin diğer organlara benzemeyen bir özelliği doğumdan puberteye kadar büyük oranda değişmeden kalmasıdır. Örneğin erken menarş gibi menstrüel siklusları-

nın sayısını ve hayat boyunca maruz kalınan östrojen miktarını artıran reprodüktif olaylar, meme kanseri riskini artıran faktörler olarak kabul edilmektedir [5]. Bu nedenle pubertenin zamanını etkileyen modifiye edilebilir nütrisyonel faktörler, meme dokusunun transformasyona karşı olan duyarlılığını değiştirerek, bu duyarlılığı hızlandırabilir, geriletebilir veya genişletebilir. Bizim elde ettiğimiz sonuçlar yüksek yağlı diyetlerin etkisi ile büyüme ve cinsel olgunlaşmanın hızlandığını göstermektedir. Bu etki yüksek tohum yağlı diyetlerde, yüksek NSZD diyetlere göre daha güçlüdür [39]. Bu bulgu DMBA ile indüklenen meme kanseri olan sıçanlarda klinik, morfolojik ve moleküler olarak gösterilmiştir. Klinikte cinsel olgunlaşmaya eşlik eden vajinal değişimleri tespit edip, evre 0 ile evre 3 arasında puanlar vererek skorladık. Puberte başlangıcının yüksek yağlı diyet grubunda (özellikle HCO diyet grubu) anlamlı oranda olarak erken gerçekleştiğini tespit ettik. Bu nedenle, örneğin yüksek tohum yağlı diyet ile beslenen sıçanların, tamamen olgun durumu gösteren 3. evreye kontrol grubundaki sıçanlardan anlamlı olarak daha erken ulaştığını tespit ettik. Ancak evreler arasındaki günler karşılaştırıldığında (1-2, 2-3 ve 1-3) gruplar arasında bir fark bulunmamıştır. Bu nedenle puberte başlangıç gününden bağımsız olarak, olgunlaşma prosesinin gelişimi diyet lipidleri ile değişmemiştir. Ayrıca sıçanlarda puberte başlangıcı ve birinci östroz arasında geçen zamanda ve sikluslarda diyete bağlı olarak bir değişiklik olmamıştır. Ek olarak belirli bir evrede bulunan sıçanlardaki vücut ağırlıkları grupla arasında farklılık göstermemiştir. Ancak yukarıda da bahsedildiği üzere, yüksek tohum yağlı diyet grubu spesifik bir evreye düşük yağ diyeti uygulanan gruptaki sıçanlardan daha erken ulaşmıştır. Diğer taraftan, yüksek tohum yağlı diyet grubunda belirli bir gün için tahmin edilen vücut ağırlıkları, düşük yağlı grupta tespit edilenden daha yüksek bulunmuştur. Her evreye ulaşılması sırasında vücut ağırlıklarında bir fark bulunamamış olması, cinsel olgunlaşmanın belirli bir vücut kütlesine ulaşmayı gerektirmesinden kaynaklanaktadır. Bu durum insanlar için de geçerlidir [81]. Puberte başlangıcının HCO diyetine bağlı olarak erken gerçekleşmesi morfolojik olarak konfirme edilmiştir. Post-pubertal dönemde (postnatal 51. gün) overlerin histolojik analizinde, yüksek tohum yağlı diyet grubundaki sıçanlarda kontrol grubuna göre daha fazla sayıda corpus luteuma rastlanmış olması (ovulasyon göstergesi) bu hayvanların daha yüksek fertilite düzeyine sahip olduğunu gösterir. Cinsel olgunluk üzerindeki etki, puberte kisspeptin-1 (KiSS1) markerinin hipotalamik ekspresyonunun analizi ile de moleküler düzeyde tanımlanmıştır [82]. Postnatal 36. gündeki KiSS1 düzeylerinin yüksek tohum yağlı diyet grubunda düşük yağlı diyet grubuna göre daha yüksek bulunmuş olması bu gruptaki erken puberte başlangıcı ile uyumludur. KiSS1 düzeyleri östral faza yüksek oranda bağımlı olduğu için diğer yaşlarda yapılan ölçümlerde bir fark bulunmamıştır.

Meme bezinin bir başka cinsel olgunluk göstergesi olması nedeniyle, gelişimin farklı günlerinde meme bezlerindeki normal epitelyal yapıları analiz ettik (terminal uç tomurcukları (TEB), terminal kanallar (TD), alveolar kanallar (AB); Tip1 lobüller (Lob1), Tip 2 lobüller (Lob2), Tip 3 lobüller (Lob 3)). Ancak yüksek yağlı diyetlerin etkisine bağlı çok az sayıda farklılık tespit edilebilmiştir. 51. günde Lob2'de daha yüksek sayıda farklılaşmış hücre mevcudiyeti gibi hafif postpubertal modifikasyonlar görülmüştür. Bu modifikasyonlar malign transformasyonun hedefi olan farklılaşmamış yapılarda bir azalma

olmaksızın gerçekleşmiştir (TEB ve TD) [39]. Meme bezlerinin morfolojisinde transformasyona en yüksek duyarlılığın olduğu dönemde gözlenen modifikasyonlar, diyet lipidlerinin meme kanseri riskini moleküler düzeyde farklı değişimlere yol açarak modifiye edebileceğini düşündürmektedir. Çalışmanın sonunda, en yüksek meme bezi dansitesi yüksek tohum yağlı diyet grubunda bulunurken, bu grubu düşük yağlı ve yüksek zeytin yağlı diyet grupları takip etmiştir. Ancak bulunan farklar anlamlı değildir [39].

Bu sonuçlar diyet lipidlerinin meme karsinogenezini başlangıç evresinde farklı düzeyde modüle etme mekanizmalarından birinin, reprodüktif durum üzerindeki etkileri olduğunu kesin olarak göstermektedir. Bir başka ilginç olasılık da, diyet lipidlerinin vücut yağ depolarının düzeylerini farklı düzeylerde etkileme ihtimalidir. Şimdi bu olasılığı araştırmaya başlamış bulunuyoruz. İlk olarak vücut ağırlığı gelişimini ve farklı vücut kütle indekslerini analiz etmeye başladık. Sonuçlarda çalışma boyunca yüksek tohum yağlı diyetle beslenen sıçanların vücut ağırlıklarının, kontrol diyetiyle beslenen sıçanlara göre daha fazla arttığı tespit edilmiştir. HCO diyetiyle benzer oranda yağ içeren NSZY diyeti uygulanan sıçanlardaki vücut ağırlığı ve kütlesi kontroller ile benzer bulunmuştur. Çalışmanın sonunda tohum yağlı diyet grubundaki vücut ağırlığı ve vücut kütle indekslerinin düşük yağlı diyet grubuna daha yüksek olduğu tespit edilmiştir [39]. Birçok farklı çalışmada yüksek n-6 PUFA diyetlerinin vücut ağırlığı üzerindeki etkileri bildirilmiştir. Ancak zeytin yağlı diyetlerle ilgili çok az miktarda deneysel veri mevcuttur. Bir çalışmada %30'luk NSZY diyetinin sıçanlardaki vücut ağırlığını %30'luk mısır yağı diyetine göre daha az artırdığı tespit edilmiştir [83]. Diğer yandan Akdeniz diyetinin obeziteye karşı koruyucu etkisi olabileceğini gösteren insan epidemiyoloji çalışmaları da mevcuttur [84–86]. n-6 PUFA ve NSZY diyetlerinin vücut enerji dengesini hangi mekanizma ile farklı düzeylerde değiştirerek cinsel olgunluğu ve meme kanseri riskini etkilediklerini hala laboratuarımızda araştırıyoruz. Sonuçlar bağımsız bir yayının parçası olarak yayınlanacaktır.

5 Sonuçlar

Akdeniz diyetinin majör yağ kaynağı olan zeytinyağının (özellikle NSZY'nin) meme kanseri ve diğer hastalıklarla ilgili yararlı etkilerini destekleyen epidemiyolojik ve deneysel kanıtlar giderek artmaktadır [87, 88]. NSZY'nin düzenli kullanımı MUFA oleik asit ve fenolik antioksidanlar gibi biyolojik olarak aktif bileşiklerin yüksek miktarda alınmasını sağlar. Zeytinyağının meme kanserine karşı koruyucu etkilerinden farklı spesifik mekanizmalarla etki gösteren bu iki komponent sınıfının sorumlu olduğu gözlenmiştir.

Deneysel bir meme kanseri modelinde, diyet lipidlerinin deneysel meme adenokarsinomlarının klinik davranış ve histopatolojik özelliklerini farklı düzeyde modüle ettikleri gösterilmiştir. n-6 poliansatüre yağ asitleri (PUFA) yönünden zengin diyetler meme kanseri gelişimini net bir şekilde stimüle eder ve tümör fenotipinin malignite derecesini artırırlar. NSZY yönünden zengin diyetler ise negatif ile zayıf pozitif arasında modüle

edici etki gösterirler ve her durumda daha düşük tümör malignitesine yol açarlar. Bu nedenle enerji içeriğinden bağımsız olarak, diyetle tüketilen lipidlerin türü meme kanserinin gelişimi ve progresyonu üzerindeki etkisini belirlediği için hayatidir. NSZY ve diğer diyet lipidlerinin etki gösterme mekanizmaları birbirinden farklı olup, hücre membran kompozisyonundaki değişimler, hücre proliferasyonunda ve farklılaşmasında rol oynayan hücre sinyal yolaklarının modülasyonu, hücre sağkalımı ve apoptoz ile büyüme ve cinsel olgunluk üzerindeki etkilerin farklı olmasına yol açar. Düşük zeytinyağı oranları ile yapılan deneysel çalışmaların sonuçlarına paralel olarak, bizim de araştırdığımız parametrelerden bazılarında NSZY'nin orta derecede tüketiminin meme kanseri riski üzerinde faydalı etkiye sahip olabileceği görülmektedir. NSZY'nin potansiyel kemopreventif etkisi, çocukluktan başlayıp hayat boyu süren sağlıklı ve dengeli bir seçim olan Akdeniz gıda paterni ve hayat tarzı ile birlikte değerlendirilmelidir.

Teşekkürler. Bu çalışmaya maddi katkıda bulunanlar: "Plan Nacional de I+D+I (AGL2006-0769 and AGL2011-24778)"; "Fundación Patrimonio Comunal Olivarero 2008-2012" (FPCO2008-165.396); "Agencia para el Aceite de Oliva del Ministerio de Medio Ambiente y de Medio Rural y Marino 2008-2012" (AAO2008-165.471); "Organización Interprofesional del Aceite de Oliva Español 2009-2013" (OIP2009-165.646); and the "Departaments d'Agricultura, Alimentació i Acció Rural, i de Salut de la Generalitat de Catalunya" (GC2010-165.000). Sponsorların çalışmanın dizaynı, veri toplanması ve analizi, sonuçların yorumlanması, makalenin hazırlanması, makalenin yayını için başvurulması ve makalenin yazılmasında herhangi bir rolü olmamıştır. Yazarlar Irmgard Costa, M. Carmen Ruiz de Villa Raquel Escrich'e bu çalışmalardaki işbirlikleri için teşekkürü borç bilirler.

Referanslar

1. Ferlay J, Shin HR, Bray F et al (2010) Estimates of worldwide burden of cancer in 2008: GLOBOCAN 2008. Int J Cancer 127:2893–2917
2. Kenemans P, Verstraeten RA, Verheijen RH (2004) Oncogenic pathways in hereditary and sporadic breast cancer. Maturitas 49:34–43
3. Musgrove EA, Sutherland RL (2009) Biological determinants of endocrine resistance in breast cancer. Nat Rev Cancer 9:631–643
4. Ferlay J, Shin HR, Bray F et al (2010). GLOBOCAN 2008 v1.2, Cancer Incidence and Mortality Worldwide: IARC CancerBase No. 10 [Internet]. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer; 2010. Available from: http://globocan.iarc.fr, accessed on day/month/year
5. World Cancer Research Fund/American Institute for Cancer Research (2007) Food, nutrition, physical activity, and the prevention of cancer: a global perspective. American Institute for Cancer Research, Washington, DC
6. Escrich E, Ramírez-Tortosa MC, Sanchez-Rovira P et al (2006) Olive oil in the prevention and the progression of cancer. Nutr Rev 64:40–52
7. Escrich E, Solanas M, Moral R (2006) Olive oil, and other dietary lipids, in cancer: experimental approaches. In: Quiles JL, Ramírez-Tortosa MC, Yaqoob P (eds) Olive oil and health. CABI Publishing, Oxford
8. Escrich E, Solanas M, Moral R et al (2006) Are the olive oil and other dietary lipids related to cancer? Experimental evidence. Clin Transl Oncol 8:868–883
9. Gonzalez CA, Riboli E (2010) Diet and cancer prevention: contributions from the european prospective investigation into cancer and nutrition (EPIC) study. Eur J Cancer 46:2555–2562

10. Howe GR, Hirohata T, Hislop TG et al (1990) Dietary factors and risk of breast cancer: combined analysis of 12 case-control studies. J Natl Cancer Inst 82:561–569
11. Schulz M, Hoffmann K, Weikert C et al (2008) Identification of a dietary pattern characterized by high-fat food choices associated with increased risk of breast cancer: the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC)-Potsdam Study. Br J Nutr 100:942–946
12. Smith-Warner SA, Spiegelman D, Adami HO et al (2001) Types of dietary fat and breast cancer: a pooled analysis of cohort studies. Int J Cancer 92:767–774
13. Willett WC (1998) Dietary fat intake and cancer risk: a controversial and instructive story. Semin Cancer Biol 8:245–253
14. Bartsch H, Nair J, Owen RW (1999) Dietary polyunsaturated fatty acids and cancers of the breast and colorectum: emerging evidence for their role as risk modifiers. Carcinogenesis 20:2209–2218
15. Fay MP, Freedman LS, Clifford CK et al (1997) Effect of different types and amounts of fat on the development of mammary tumors in rodents: a review. Cancer Res 57:3979–3988
16. Ip C (1997) Review of the effects of trans fatty acids, oleic acid, n-3 polyunsaturated fatty acid, and conjugated linoleic acid on mammary carcinogenesis in animals. Am J Clin Nutr 66:1523S–1529S
17. Lee MM, Lin SS (2000) Dietary fat and breast cancer. Annu Rev Nutr 20:221–248
18. Willett WC, Sacks F, Trichopoulou A et al (1995) Mediterranean diet pyramid: a cultural model for healthy eating. Am J Clin Nutr 61(6 Suppl):1402S–1406S
19. Hashim YZ, Eng M, Gill CI et al (2005) Components of olive oil and chemoprevention of colorectal cancer. Nutr Rev 63:374–386
20. Manna C et al (2009) Olive oil phenolic compounds inhibit homocysteine-induced endothelial cell adhesion regardless of their different antioxidant activity. J Agric Food Chem 57:3478–3482
21. Owen RW, Giacosa A, Hull WE et al (2000) Olive-oil consumption and health: the possible role of antioxidants. Lancet Oncol 1:107–112
22. Bougnoux P, Giraudeau B, Couet C (2006) Diet, cancer, and the lipidome. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 15:416–421
23. Owen RW, Haubner R, Wurtele G et al (2004) Olives and olive oil in cancer prevention. Eur J Cancer Prev 13:319–326
24. Pérez-Jiménez F, Ruano J, Perez-Martinez P et al (2007) The influence of olive oil on human health: not a question of fat alone. Mol Nutr Food Res 51:1199–1208
25. Visioli F, Galli C (2002) Biological properties of olive oil phytochemicals. Crit Rev Food Sci Nutr 42:209–221
26. Escrich E (1987) Mammary cancer model induced by dimethylbenz(a)anthracene: a good experimental tool for the study of tumour markers. Int J Biol Markers 2:109–119
27. Escrich E (1987) Validity of the DMBA-induced mammary cancer model for the study of human breast cancer. Int J Biol Markers 2:197–206
28. Russo J, Gusterson BA, Rogers AE et al (1990) Comparative study of human and rat mammary tumourigenesis. Lab Invest 62:244–278
29. Escrich E, Solanas M, Segura R (1994) Experimental diets for the study of lipid influence on induced mammary carcinoma in rats: I—diet definition. In Vivo 8:1099–1106
30. Escrich E, Solanas M, Ruiz de Villa MC et al (1994) Experimental diets for the study of lipid influence on induced mammary carcinoma in rats: II—suitability of the diets. In Vivo 8:1107–1112
31. Solanas M, Hurtado A, Costa I et al (2002) Effects of a high olive oil diet on the clinical behavior and histopathological features of rat DMBA-induced mammary tumors compared with a high corn oil diet. Int J Oncol 21:745–753
32. El Halimi R, Ocaña J, Ruiz de Villa MC et al (2003) Modelling experimental mammary adenocarcinoma growth, using nonlinear mixed-effects models and S-Plus. InterStat. http://jscs.stat.vt.edu/interstat/articles/2003/abstracts/0309002.html-ssi

33. Escrich E, Ribalta T, Muntané J et al (1991) Effects of an androgenic derivative on pre-established mammary tumours chemically induced in the rat. J Cancer Res Clin Oncol 117:575–582
34. Gonçalves MH, Cabral MS, Ruiz de Villa MC et al (2007) Likelihood approach for count data in longitudinal experiments. Comput Stat Data Anal 51:6511–6520
35. Ruiz de Villa MC, Cabral MSE, Escrich E et al (1999) A non parametric regression approach to repeated measures analysis in cancer experimental. J Appl Stat 26:601–611
36. Escrich E, Solanas M, Soler M et al (2001) Dietary polyunsaturated n-6 lipids effects on the growth and fatty acid composition of rat mammary tumors. J Nutr Biochem 12:536–549
37. Moral R, Solanas M, García G et al (2003) Modulation of EGFR and neu expression by n-6 and n-9 high-fat diets in experimental mammary adenocarcinomas. Oncol Rep 10:1417–1424
38. Solanas M, Moral R, Escrich E (2000) Effects of dietary (n-6) polyunsaturated lipids on experimental mammary carcinogenesis. J Women's Cancer 2:67–72
39. Moral R, Escrich R, Solanas M et al (2011) Diets high in corn oil or extra-virgin olive oil provided from weaning advance sexual maturation and differentially modify susceptibility to mammary carcinogenesis in female rats. Nutr Cancer 63:410–420
40. Cohen LA, Epstein M, Pittman B et al (2000) The influence of different varieties of olive oil on N-methylnitrosourea (NMU)-induced mammary tumorigenesis. Anticancer Res 20:2307–2312
41. Guthrie N, Carroll KK (1999) Specific versus non-specific effects of dietary fat on carcinogenesis. Prog Lipid Res 38:261–271
42. Kritchevsky D (1999) Caloric restriction and experimental carcinogenesis. Toxicol Sci 52:13–16
43. Costa I, Esquius J, Solanas M et al (2001) Histopathologic characteristics of chemically induced mammary adenocarcinomas in rats fed diets high in (n-6) polyunsaturated lipids. Virchows Arch 439:310–311
44. Costa I, Solanas M, Escrich E (2002) Histopathologic characterization of mammary neoplastic lesions induced with 7,12 dimethylbenz(alpha)anthracene in the rat: a comparative analysis with human breast tumors. Arch Pathol Lab Med 126:915–927
45. Costa I, Moral R, Solanas M et al (2004) High-fat corn oil diet promotes the development of high histologic grade rat DMBA-induced mammary adenocarcinomas, while high olive oil diet does not. Breast Cancer Res Treat 86:225–235
46. Escrich E, Moral R, Grau L et al (2007) Molecular Mechanisms of the Effects of Olive Oil and Other Dietary Lipids on Cancer. Mol Nutr Food Res 51:1279–1292
47. Escrich E, Moral R, Solanas M (2011) Olive Oil, an Essential Component of the Mediterranean Diet, and Breast Cancer. Public Health Nutr 14(1A):2323–2332
48. Escrich E, Solanas M, Moral R et al (2011) Modulatory Effects and Molecular Mechanisms of Olive Oil and Other Dietary Lipids in Breast Cancer. Curr Pharm Des 17:813–830
49. Escrich E (1998) Endocrine aspects of breast cancer. In: Cardoso J (ed) Senology. Monduzzi Editore, Bologna
50. Wynder EL, Cohen LA, Muscat JE et al (1997) Breast cancer: weighing the evidence for a promoting role of dietary fat. J Natl Cancer Inst 89:766–775
51. Hilakivi-Clarke L, Clarke R, Onojafe I et al (1997) A maternal diet high in n-6 polyunsaturated fats alters mammary gland development, puberty onset, and breast cancer risk among female rat offspring. Proc Natl Acad Sci USA 94:9372–9377
52. de Assis S, Khan G, Hilakivi-Clarke L (2006) High birth weight increases mammary tumorigenesis in rats. Int J Cancer 119:1537–1546
53. Stark AH, Kossoy G, Zusman I et al (2003) Olive oil consumption during pregnancy and lactation in rats influences mammary cancer development in female offspring. Nutr Cancer 46:59–65
54. Sylvester PW, Russell M, Ip MM et al (1986) Comparative effects of different animal and vegetable fats fed before and during carcinogen administration on mammary tumorigenesis, sexual maturation, and endocrine function in rats. Cancer Res 46:757–762

55. Hulbert AJ, Turner N, Storlien LH et al (2005) Dietary fats and membrane function: implications for metabolism and disease. Biol Rev Camb Philos Soc 80:155–169
56. Barceló F, Perona JS, Prades J et al (2009) Mediterranean style diet effect on the structural properties of the erythrocyte cell membrane of hypertensive patients: the Prevencion con Dieta Mediterranea Study. Hypertension 54:1143–1150
57. Malaney S, Daly RJ (2001) The ras signaling pathway in mammary tumorigenesis and metastasis. J Mammary Gland Biol Neoplasia 6:101–113
58. Solanas M, Grau L, Moral R et al (2010) Dietary olive oil and corn oil differentially affect experimental breast cancer through distinct modulation of the p21ras signaling and the proliferation-apoptosis balance. Carcinogenesis 31:871–879
59. Rao CV, Newmark HL, Reddy BS (1998) Chemopreventive effect of squalene on colon cancer. Carcinogenesis 19:287–290
60. Hynes NE, MacDonald G (2009) ErbB receptors and signaling pathways in cancer. Curr Opin Cell Biol 21:177–184
61. Muraoka-Cook RS, Feng SM, Strunk KE et al (2008) ErbB4/HER4: role in mammary gland development, differentiation and growth inhibition. J Mammary Gland Biol Neoplasia 13:235–246
62. Jin Z, El-Deiry WS (2005) Overview of cell death signaling pathways. Cancer Biol Ther 4:139–163
63. Han J, Talorete TP, Yamada P et al (2009) Anti-proliferative and apoptotic effects of oleuropein and hydroxytyrosol on human breast cancer MCF-7 cells. Cytotechnology 59:45–53
64. Hardy S, Langelier Y, Prentki M (2000) Oleate activates phosphatidylinositol 3-kinase and promotes proliferation and reduces apoptosis of MDA-MB-231 breast cancer cells, whereas palmitate has opposite effects. Cancer Res 60:6353–6358
65. Llor X, Pons E, Roca A et al (2003) The effects of fish oil, olive oil, oleic acid and linoleic acid on colorectal neoplastic processes. Clin Nutr 22:71–79
66. Larsson S, Kumlin M, Ingelman-Sundberg M et al (2004) Dietary long-chain n-3 fatty acids for the prevention of cancer: a review of potential mechanisms. Am J Clin Nutr 79:935–945
67. Rose DP (1997) Effects of dietary fatty acids on breast and prostate cancers: evidence from in vitro experiments and animal studies. Am J Clin Nutr 66:1513S–1522S
68. Stoll BA (2002) N-3 fatty acids and lipid peroxidation in breast cancer inhibition. Br J Nutr 87:193–198
69. Della Ragione F, Cucciolla V, Borriello A et al (2000) Pyrrolidine dithiocarbamate induces apoptosis by a cytochrome c-dependent mechanism. Biochem Biophys Res Commun 268:942–946
70. Sun SY, Hail N Jr, Lotan R (2004) Apoptosis as a novel target for cancer chemoprevention. J Natl Cancer Inst 96:662–672
71. Jump DB (2004) Fatty acid regulation of gene transcription. Crit Rev Clin Lab Sci 41:41–78
72. Moral R, Solanas M, Manzanares EM et al (2004) Influence of DMBA-induced mammary cancer on the liver CPT I, mit HMG-CoA synthase and PPARa mRNA expression in rats fed low or high corn oil diet. Int J Mol Med 14:283–287
73. Costa I, Moral R, Solanas M et al (2011) High corn oil and extra virgin olive oil diets and experimental mammary carcinogenesis: clinicopathological and immunohistochemical p21Ha-Ras expression study. Virchows Arch 458:141–151
74. Solanas M, Moral R, Escrich E (2001) The stimulating effect of a high-fat n-6polyunsaturated diet on rat DMBA-induced mammary tumors is not related to changes in c-Ha-ras1 mRNA tumor expression. Nutr Res 21:1261–1273
75. Singh RP, Kumar R, Kapur N (2003) Molecular regulation of cholesterol biosynthesis: implications in carcinogenesis. J Environ Pathol Toxicol Oncol 22:75–92
76. Moral R, Solanas M, Garcia G et al (2008) High corn oil and high extra virgin olive oil diets have different effects on the expression of differentiation-related genes in experimental mammary tumors. Oncol Rep 20:429–435

77. Solanas M, Escrich E, Rouzaut A et al (2002) Deregulated expression of the PCPH proto-oncogene in rat mammary tumors induced with 7,12-dimethylbenz[a]anthracene. Mol Carcinog 33:219–227
78. Escrich E, Moral R, García G et al (2004) Identification of novel differentially expressed genes by the effect of a high fat n-6 diet in experimental breast cancer. Mol Carcinog 40:73–78
79. Solanas M, Moral R, Garcia G et al (2009) Differential expression of H19 and vitamin D3 upregulated protein 1 as a mechanism of the modulatory effects of high virgin olive oil and high corn oil diets on experimental mammary tumours. Eur J Cancer Prev 18:153–161
80. Russo IH, Russo J (1996) Mammary gland neoplasia in long-term rodent studies. Environ Health Perspect 104:938–967
81. Vizmanos B, Martí-Henneberg C (2000) Puberty begins with a characteristic subcutaneous body fat mass in each sex. Eur J Clin Nutr 54:203–208
82. Castellano JM, Roa J, Luque RM et al (2009) KiSS-1/kisspeptins and the metabolic control of reproduction: physiologic roles and putative physiopathological implications. Peptides 30:139–145
83. Oi-Kano Y, Kawada T, Watanabe T et al (2007) Extra virgin olive oil increases uncoupling protein 1 content in brown adipose tissue and enhances noradrenaline and adrenaline secretions in rats. J Nutr Biochem 18:685–692
84. Buckland G, Bach A, Serra-Majem L (2008) Obesity and the Mediterranean diet: a systematic review of observational and intervention studies. Obes Rev 9:582–593
85. Romaguera D, Norat T, Vergnaud AC et al (2010) Mediterranean dietary patterns and prospective weight change in participants of the EPIC-PANACEA project. Am J Clin Nutr 92:912–921
86. Soriguer F, Almaraz MC, Ruiz-de-Adana MS et al (2009) Incidence of obesity is lower in persons who consume olive oil. Eur J Clin Nutr 63:1371–1374
87. López-Miranda J, Pérez-Jiménez F, Ros E et al (2010) Olive oil and health: summary of the II international conference on olive oil and health consensus report, Jaén and Córdoba (Spain) 2008. Nutr Metab Cardiovasc Dis 20:284–294
88. Perez-Jimenez F, Alvarez de Cienfuegos G, Badimon L et al (2005) International conference on the healthy effect of virgin olive oil. Eur J Clin Invest 35:421–424
89. Bach-Faig A et al (2011) Mediterranean diet pyramid today. Science and cultural updates. Public Health Nutr 14(12A):2274–2284

Doğal Antioksidanların Enflamasyon ve Karaciğer Kanseri Üzerindeki Etkilerinin Araştırılmasına Holistik Bir Yaklaşım

Susan Costantini, Giovanni Colonna ve Giuseppe Castello

Özet

Kemoterapinin kısıtlı etkinliği ve kanserlerin yüksek rekürans oranları acil olarak yeni moleküler hedeflerin belirlenmesi ve yeni tedavilerin geliştirilmesi ihtiyacını ortaya koymaktadır. Çok sayıda güncel epidemiyolojik çalışmada meyve ve sebze tüketimi, doğal antioksidanlar ile kanser arasında ters orantılı bir ilişkinin varlığı vurgulanmaktadır. Kanserin önlenmesi ve tedavisinde diyet veya bitkisel kaynaklı takviyeler yoluyla alınan antioksidanların kullanımı kuvvetle önerilmektedir. Sebze, mineral veya hayvansal kaynaklı maddeler olan antioksidanlar serbest radikalleri nötralize ederek, plazma membranı, proteinler ve DNA üzerindeki olumsuz etkilerinden vücudu korumaktadır. Bu nedenle immun sistemin stimülasyonu ile kanser hücrelerinin yok edilmesi veya proliferasyonlarının bloke edilmesi ile kanserin önlenebilmesi mümkündür. Yaşayan organizmaların bütün ve kompleks bir sistem olarak "omik bilimleri" tarafından incelenebiliyor olması, genler, mRNA, proteinler ve metabolitler ile ilgili anlayışın gelişmesine ve global mekanizmalarının anlaşılabilmesine yol açmıştır. Bizim amacımız biyoinformatik ve sistemler biyolojisini kullanarak enflamatuar proseslerin gelişiminde önemli rol oynayan ve kanserde de önemli bir komponent olan sitokinomu incelemektir. Kanser kronik enflamasyondan kaynaklanabilen, tip 2 diyabet ve obezite ile de eş zamanlı görülebildiği kabul edilen bir hastalıktır. Bu bölümde sitokinomları oluşturan proteinlerin tamamını ve biyolojik hücrelerin içindeki ve çevrelerindeki etkileşimlerini tanımlayacağız.

S.Costantini (✉) · G. Castello
Istituto Nazionale per lo Studio e la Cura dei Tumori, Fondazione Giovanni Pascale–IRCCS-Italia, Via Ammiraglio Bianco, 83013, Mercogliano, AV, Italy
e-mail: susan.costantini@unina2.it

G. Colonna (✉)
Department of Biochemistry, Biophysics and General Pathology (Second University of Naples), via Costantinopoli 16, 80138, Naples, Italy
e-mail: giovanni.colonna@unina2.it

V. Zappia et al. (eds.), *Advances in Nutrition and Cancer,*
Cancer Treatment and Research 159, DOI: 10.1007/978-3-642-38007-5_18,
© Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2014

Kanserden etkilenen hastalardaki kompleks sitokinom ağının anlaşılması hem kanserin gelişiminin ilk evrelerinden itibaren takip edilmesi, hem de biyolojik sistem yaklaşımları kullanarak yenilikçi terapötik stratejilerin tanımlanmasında çok faydalı olacaktır. Bu bölümde grubumuzun "omik" mantığını kullanarak yaptığı çalışmalardan elde edilen bazı sonuçları gözden geçireceğiz ve (1) Özellikle hepatoselüler karsinomu da içeren multifaktöryel kanser gibi kompleks sistemlere global yaklaşım gereksinimini, (2) Doğal antioksidanlar, enflamasyon ve karaciğer kanseri arasındaki korelasyonu, (3) Sitokinom profilinin zorluklarını ve önemini, (4) Tip 2 diyabet ve/veya kronik hepatit C enfeksiyonu olan hastalardaki sitokinom profilinin değerlendirmesini, (5) Adipokin interaktomunu inceleyeceğiz.

Anahtar Kelimeler

Sistemler biyolojisi • Kompleks sistemler • Sitokinom • Enflamasyon

Kısaltmalar

ACE	Anjiotensin dönüştürücü enzim
ADIPOQ	Adiponektin
AGT	Anjiotensin II
KHC	Kronik hepatit C
KKH	KHC ve tip 2 diyabet
CXCL1	Kemokin (CXC motif) ligand 1
CXCL9	Kemokin (CXC motif) ligand 9
GIP	Glukoza bağımlı insülinotropik peptid
HCC	Hepatoselüler karsinom
HGF	Hepatosit büyüme faktörü
IL-1	İnterlökin-1
JAK	Janus kinaz
LC	KKH- ile ilişkili siroz
LCD	KHC- ile ilişkili siroz ve tip 2 diyabet
MIF	Makrofaj migrasyon inhibitör faktörü
NF-κB	Aktive B hücrelerinde nükleer faktör kappa hafif zincir güçlendirici
NGF	Sinir büyüme faktörü
NR3C1	Nükleer reseptör alt ailesi 3 grup C, üye 1
PAI-1	Plazminojen aktivatör inhibitörü-1
D (POLR2D)	Polimeraz (RNA) II (DNA tarafından yönetilen) polipeptid
RBP4	Retinol bağlayıcı protein 4
RELA	V-rel retiküloendotelioz viral onkogen homoloğu A
ROS	Reaktif oksijen türleri
SFR5	Salgılanan kıvrımla ilişkili protein 5
STAT3	Sinyal dönüştürücü ve transkripsiyon aktivatörü

T2D	Tip 2 diyabet
TNT	Tümör nekroz faktörü
USF1	Yukarı yönlü stimulatör faktör 1

İçindekiler

1 "Omik" Çağında Biyolojinin Yeni Mantığı 313
2 Doğal Antioksidanların Enflamasyon ve Karaciğer Kanseri Üzerindeki Etkilerinin Araştırılmasına Holistik Bir Yaklaşım 314
3. Tip 2 Diyabet ve/veya Kronik Hepatit C Enfeksiyonu Olan Hastalardaki Sitokinom Profili 317
4 Adipokin İnteraktomu 320
5 Sonuçlar 321
Referanslar 322

1 "Omik" Çağında Biyolojinin Yeni Mantığı

Biyolojik bilimler geçtiğimiz yüzyılın sonuna kadar, biyolojik objenin parçalarının analiz edilerek yaşam süreçlerinin açıklanmasına dayanıyordu. Tipik olarak analitik ve indirgeyici olan bu yaklaşım, yaşayan organizmaların genler, proteinler ve metabolitler gibi hemen tüm moleküler özelliklerinin anlaşılmasına yardım etmişti. Sistemin tek tek tüm komponentlerinin incelenmesine odaklanmıştı. Ancak sistemin bir bütün olarak nasıl davranacağını öngöremiyordu. Sistem aynı ortamda bulunarak birbirleri ile etkileşime giren çok sayıda yapıtaşının oluşturduğu bütün olarak tanımlanabilir. Özellikleri komponentlerini oluşturan elemanların yapısına bağlıdır. Sistem ayrıca dışarıdan gelen uyarılar ile etkileşime girebilir ve cevap verebilir. Birbiriyle etkileşime giren komponentlerin sayısı çok fazla ise kompleks bir sistemden bahsedilir. Kompleks sistemlerin çarpıcı bir özelliği, komponentleri arasındaki etkileşimler ile ortaya tahmini güç olan özelliklerinin (gelişen özellikler) çıkmasıdır. Sistemlerin içinde dinamik olarak rol oynayan unsurların indüklediği adaptasyon, kendini organize etme ve problemlere cevap verebilme gibi özelliklerin etkisi ile kompleks bir davranışa sahip olduklarını söyleyebiliriz. Bu nonlineer etkileşimler, tekil komponentlerin işlevlerine bakarak tahmin edilemeyen farklı durumların ve devamında da davranışların ortaya çıkmasına neden olur. Borsa, ekosistemler ve kuş sürülerinin özelliklerini tahmin etmekte kullanılan bu prensiplerin biyolojiye uygulanması ise yakın zamanda gerçekleşmiştir.

Biyolojide yaşayan canlıları bir bütün olarak değerlendirilmesi ile ilgili bilgilerimiz sınırlı düzeydedir. Ancak biyolojik sistemleri yöneten organizasyonal güçlerle ilgili

kanunlar kollektif fenomenin ve sistemlerin fonksiyonları için gereken yapının anlaşılmasında hayati rol oynamaktadır. "Omik bilimleri" bir çevredeki "biyolojik aktörlerin" bütün olarak anlaşılmasındaki ilk basamak olup, genler (genomik), mRNA (transkriptomik), proteinler (proteomik) ve metabolitler (metabolomik ile) ile ilgili verilerin bütün olarak anlaşılmasını ve tanımlanmasını amaçlar. Ancak farklı "omik" düzeyleri arasındaki ilişkileri tanımlayacak bir yöntem henüz geliştirilememiştir. Biyolojik bilimler giderek daha fazla veri üretmektedir. Yeni hücresel teknikler ve moleküler analizler ile yorumlanan bu bilgilerin yorumlanmasında, sadece tekil komponentlerin değil, bu komponentlerin aralarındaki ilişkilerin de analiz edilmesi gerekir. Sadece bu şekilde protein katlanması veya bazı majör hastalıkları açıklamakta yetersiz olduğu bilinen tipik, analitik ve indirgemeci prosedürlerden kaçınılabilir.

Kompleks sistemlerin küçük komponentlere ve basit birimlere ayrılmasının organizasyonu ve yeni bir özelliği anlamakta yetersiz olduğu günümüzde yaygın olarak kabul edilmektedir. Komponentlerin aralarındaki etkileşimlere ve ağlara odaklanmak kompleks karakteristiklerini çözümleyebilmek adına çok önemlidir.

Bu bağlamda, sistemlerin tüm olası durumlarını içeren birimler arasında bulunan çok yüksek sayıdaki bağlantılar göz önüne alınmalıdır. Grafikler ve nöral düğümler gibi matematiksel araçlar fonksiyonel ağların anlaşılabilmesi amacıyla sıklıkla kullanılmaktadır. Çünkü sadece bu yolla kanser gibi patolojik proseslerden etkilenen metabolik davranışın kapsamlı bir bakış açısıyla anlaşılması sağlanabilir. Dikkate alınması gereken bir başka konu da çevreden kaynaklanan anormalliklerin tüm sistemi ilgilendiren değişimleri indükleyebilme ihtimalidir.

2 Doğal Antioksidanların Enflamasyon ve Karaciğer Kanseri Üzerindeki Etkilerinin Araştırılmasına Holistik Bir Yaklaşım

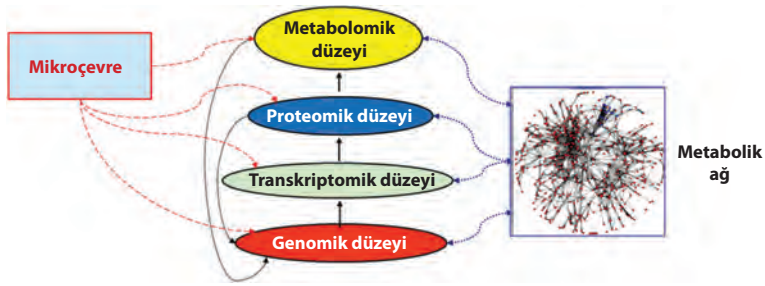
İnsan diyetindeki antioksidan bileşiklerin, oksidatif metabolizma ile oluşan reaktif oksijen türleriyle (ROS) etkileşimi hakkında bir çok yayın mevcuttur [1]. Bir antioksidanın etkisini gösterebilmesi, metabolize ve elimine olabilmesi için hücresel metabolik proseslerle etkileşime girmesi gerekir [2]. Antioksidanların spesifik moleküler özellikleri hakkında yeterli veri olmasına rağmen, gerçek fizyolojik faydaları ve metabolik aktiviteleri hakkındaki bilgiler yetersizdir [2]. Antioksidanların özellikle spesifik hücresel bölgelerdeki etkileri ile ilgili, sıklıkla çelişkili sonuçlar içeren birçok çalışma vardır. Ancak daha geniş metabolik ağdaki aktiviteleri ve global etkileri ile ilgili olarak az miktarda veri mevcuttur. Genel olarak, antioksidanların etkilerini popülasyonlardaki bireylerde kısıtlı zaman periyodlarında yapılan ve makroskopik etkilerini açıklayan epidemiyolojik çalışmalar ile anlamaya çalışıyoruz. Bu etkiler sıklıkla U şekilli eğriler ile karakterize olmaktadır. Eğrideki geniş minimum değer fizyolojik olarak aktif olması gereken konsantrasyonu gösterir. Eğrinin yükselen kolları ise fizyolojik ve hatta

toksik etkiler ile ilişkili değildir [3, 4]. Bu antioksidanları içeren diyetlerin, kanser hastalarındaki progresyonun sınırlanması amacıyla kombine edilmesi konuyu daha da karışık hale getirmektedir. Biyolojik olarak multi-etyolojik bir hastalık olan kanserin farklı hücresel ve metabolik özellikleri farklı bir hastalık olduğunu ortaya koymaktadır [5]. Bu durum antioksidan bileşiklerin kanserli hastalardaki genel etkilerini anlamamızı zorlaştırmaktadır.

Milenyumun ilk yıllarına kadar yapılan çalışmaların çoğunda kullanılan bilimsel rasyonel hala indirgemeci mantığı yansıtmaktaydı. Bu çalışmalar tekil biyolojik moleküllerin ve/veya spesifik bir hücre bölgesinin özellikleri hakkında önemli bilgiler sağlamıştır. Ancak entegrasyonları ve genel bakış açıları yetersizdir. Bu milenyumun ilk yıllarında geliştirilen İnsan Genom Projesi kapsamında biyologlar tarafından geliştirilen holistik bakış açısı, "omik" teknolojileri tarafından yeterince desteklenmiş ve sistemler biyolojisi adı altında çok büyük miktarda verinin kompleks istatistiksel analizinin yapılmasını sağlamıştır [7]. Çalışma grubumuz düşük sağkalım şansı olan letal bir kanser türü olan hepatoselüler karsinom ile ilgili son yıllardaki çalışmalarında bu kapsamlı yaklaşımı kullanmaktadır [8]. Bu hastalık dünya çapında olduğu gibi güney İtalya'nın Campania bölgesinde de yaygın olup en tehlikeli kanser türlerinden bir tanesidir.

Ana objektifimiz deneysel ve sayısal veriler yardımıyla, tip 2 diyabet ve obezite varlığında (ya da yokluğunda) karaciğer kanserine yol açan kronik enflamatuar prosesleri araştırmaktı [9]. Kapsamlı bir yaklaşımla yapılan bu çalışmalar sadece "omik" bilimlerinden (genomik, transkriptomik, proteomik ve metabolomik) elde edilen verileri değil, aynı zamanda aralarındaki olası ilişkilerin karaciğer kanserinin gelişimini ve progresyonunu regüle eden metabolik ağın tamamının tanımlanmasını da göz önüne almaktadır [7]. Bu şekilde indirgeyici bir yaklaşım yerinde geniş kapsamlı global bir bakış açısına ulaşmak mümkün olacaktır. Farklı "omik" düzeylerinin fizyolojik ve/veya kanser şartlarındaki hepatositlere entegre edilmesi ile metabolik ağlar hakkında elde edilecek farklı bakış açısı, evrelerin ve hastalığın progresyonuna bağlı olarak oluşan değişimlerin ve önemli fizyolojik fonksiyonları kontrol eden temel öneme sahip metabolik nodların tanımlanmasına yardımcı olacaktır. Bu bilgileri, sadece bu şartlar altında hastalığın erken evrelerindeki patolojik değişimleri tanımlayarak hedefli metabolik veya farmakolojik yaklaşımlara yönelik olarak kullanabiliriz. Bu sonuca ulaşabilmek için farklı düzeylere özgü verileri kullanmamız gerekmektedir. Şekil 1'de çok daha basit bir biyolojik modele uyguladığımız mantıksal yaklaşımın şeması görülmektedir. Farklı düzeylerle ilgili verilerin çözülmesi gereken problemle ilgili bir şekilde entegre edilmesi gerekmektedir. Çevrenin (çoğunlukla diyette bulunan besin öğelerinden kaynaklanan) hücresel sistemler üzerinde farklı düzeylerde anormalliklere yol açtığı görülmektedir. Metabolik ağın sinyal sisteminin net olarak tanımlanması önemlidir. Bir hastalığın progresyonunu ve oksidatif strese karşı kullanılan gıda takviyelerinin başarılı olup olmadıklarını anlayabilmek için normal ve patolojik hücrelerdeki farklı düzeylerdeki bilgi alışverişlerinin anlaşılması önemlidir. Bu nedenle yaklaşık 50 farklı sitokin, kemokin ve büyüme faktörü ile hastalardaki sitokinom sinyallerini değerlendiren multipleks

immunoassay adı verilen modern bir teknik kullanıyoruz. Bu yaklaşım "omik" mantığı ile ilişkilendirildiğinde önemlidir. Hücreler sitokin sinyallerini membranlarında bulunan uygun reseptörler ile algılarlar. Ancak bu reseptörler ile çalışma yapmanın bazı kısıtlamaları vardır: (1) Çok duyarlı antikorlar ile yapılan testler ve floresan (ELİZA) kullanıldığında bile sadece daha fazla sayıda olan reseptörler araştırılabilmiştir; (2) Reseptörlerin pleiotropik özelliklere sahip olmaları nedeniyle farklı sitokinlere karşı afinitelerinin olması, benzer mesajların farklı reseptörler tarafından üretilmesine yol açmaktadır; (3) Biyolojik mesaj tanımı sadece bazı reseptörler için bilinmektedir. Yetersiz derecede temsil edilen (plazmada daha düşük konsantrasyonlara sahip olan) sitokinler tarafından taşınan tüm bu mesajların anlamını bilmiyoruz Ayrıca bu mesajların reseptörler tarafından gereksiz bilgi olarak mı yoksa farklı bilgi içeren mesajlar olarak mı algılandığını bilmiyoruz [10, 11]. Ciddi ve geliştirilmiş sensitiviteye sahip protein çipleri günümüzde mevcuttur. Farklı sitokinlerin eş zamanlı tespitine floresan/lazer/antikor bazlı yeni bir test teknolojisi ile olanak tanırlar (multipleks teknolojisi). En doğru, sensitif ve tekrar edilebilir sonuçları verebilen bu test çok küçük serum, plazma veya hücresel süpernatan örnekleri değerlendirebilmektedir. Bu teknolojinin çok ilginç başka bir yönü de, yetersiz temsil edilen sitokinleri sayısal olarak gösterebilmesidir [12, 13]. Bu yeni holistik paternin parçası olan sitokin paternlerine "sitokinom" adı verilir [14]. Sitokinler bir bilgi ağı oluşturan hücre sinyallerinde internete benzer mantıkla, kapilerlerin bir organizmanın tüm hücresel sistemlerine bağlanan bölümlerinde etki gösterirler. Bu ağın kapsamlı bir tanımının yapılması birçok kronik enflamatuar hastalığın patojenik evrimlerinin anlaşılabilmesinde önemlidir. Ancak hala cevaplanmamış birçok soru mevcuttur. Örneğin kronik enflamatuar hastalıklarda tüm sitokin paterni içinden hangilerinin rol oynadığı bilinmemektedir. Tüm sitokinlerin tüm hastalıklarda aynı yolla ve genel olarak rol oynayıp oynamadıkları veya belirli bir patolojinin farklı sitokin tip ve sınıfları ile ilişkili olup olmadıkları bilinmemektedir. Belirli hastalıkta hangi sitokinlerin geliştiği de henüz aydınlatılmamıştır. Bu cevapların bilinmesi kronik enflamatuar hastalıkların progresyonunda rol oynayan sitokinomların dinamiklerinin değerlendirilmesine yardımcı olacaktır. Ancak en önemlisi prognozun önceden tahmin edilmesini de sağlayabileceklerdir. Sitokin ağının bir başka karmaşık yönü de sitokin kodlayan bazı genlerin alternatif birleşme yoluyla sitokin varyantlarının (izoformlar) oluşumuna yardımcı olmasıdır. Bu durum yapısal olarak hafifçe farklı olsalar da biyolojik aktiviteleri anlamlı olarak farklı moleküllerin ortaya çıkmasına neden olur. Bu bulgu sitokinlerle korelasyon gösteren gen ekspresyonlarının incelenmesinin niçin her durumda faydalı olacağını açıklamaktadır. Daha önce yapılan çalışmalarda bazı kanser türlerinde önemli mutasyonlar tanımlanmıştır. Ancak bu çalışmaların kısıtlı bir gen setine odaklanmış olmaları mutasyonal spektrumun sınırlı bir görüntüsünü sunabilmelerini sağlamıştır. Sitokinin fonksiyonlarının doğru ve kapsamlı olarak anlaşılabilmesi serum konsantrasyonlarının eş zamanlı ve uyumlu ölçümlerinin yapılması ile mümkün olsa da, sitokinom yaklaşımının kullanılmasının bir diğer avantajı da multipleks teknolojisinden kaynaklanmaktadır. Aynı biyolojik sıvıdaki farklı moleküllerdeki bağımsız sitokin konsantrasyonlarının ölçülerek doğru internal oranların elde edilmesi güçtür.



Şekil 1 Farklı omik düzeyleri arasındaki ilişkinin şematik gösterimi.

Çünkü konsantrasyonlar arasındaki farklılıklar çok farklı büyüklük basamaklarına sahiptir. Ancak günümüzde sitokinlerin serum düzeylerini efektif olarak tanımlamak ve güvenilir internal konsantrasyon oranlarını hesaplamak geniş spektrumlu, boncuk tabanlı (bead-based) multipleks immunoassay kullanımı ile mümkün olmaktadır. Bu nedenle sitokinlerle ilişkili tüm veriler grafikler veya farklı veri gruplarına bağlanabilen ağlar (mikroarray ve multipleks biyometrik ELISA tabanlı immunoassay kullanılarak elde edilen gen ve protein ekspresyonu ile ilgili) kullanılarak analiz edilebilir ve modellenebilir. Böylece metabolik ve/veya fizyolojik aktivitelerin ve/veya patojenik yolakların olasılık haritaları elde edilebilir. İnsan sitokinomunun tanımlanması, gelecekte hem sağlıklı bireylerdeki hem de kanser hastalarındaki sitokin ağlarının analizinde kullanılan önemli bir araç olabilir. Bu sayısal modellerin kullanılması ile kronik enflamatuar proseslerin regresyonunun sitokinlerin hücresel popülasyonlarını etkileyerek kanseri nasıl bloke edebileceğini anlamak kolaylaşacaktır. Bu bilgi klinisyenler için kullanışlı bir prognostik ve diyagnostik araç olacaktır.

3 Tip 2 Diyabet ve/veya Kronik Hepatit C Enfeksiyonu Olan Hastalardaki Sitokinom Profili

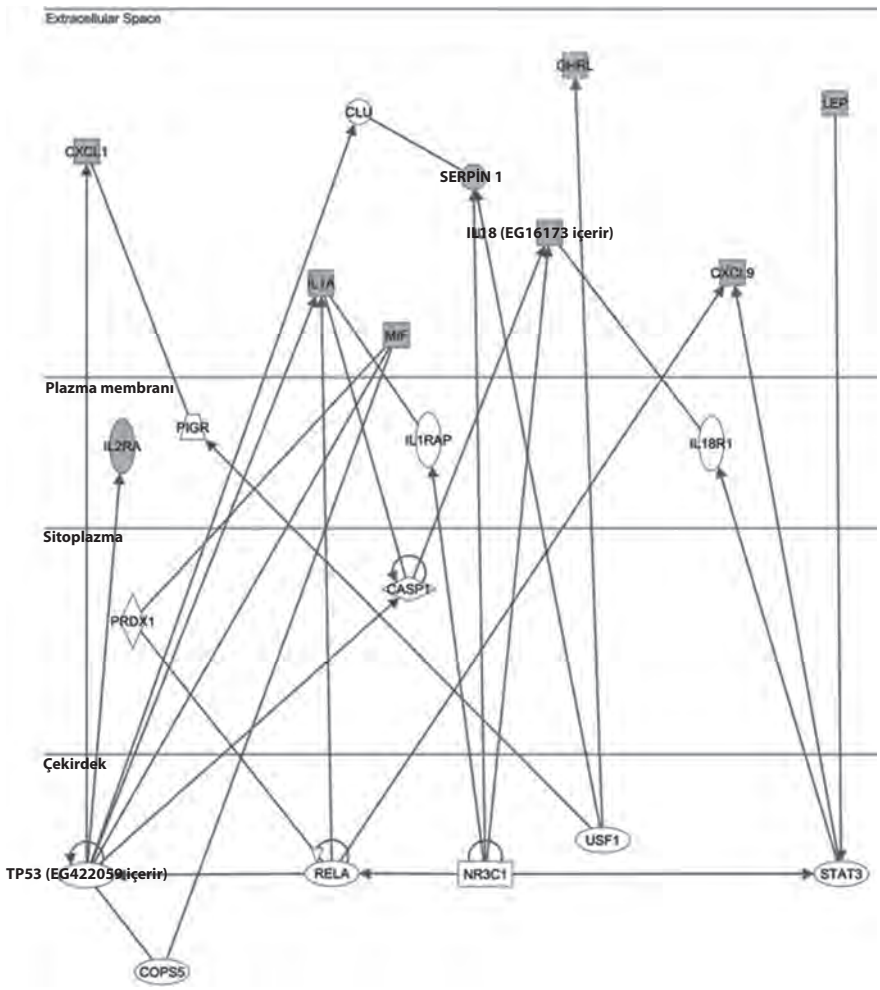
Karaciğerde hepatoselüler karsinom gelişimine neden olan metabolik olayların karmaşıklığı, bazı hastalıkların (hepatit virüsleri, diyabet, obezite) gelişiminde rol oynayan moleküler mekanizmaların anlaşılmasının önünde hala ciddi bir engeldir. Bağımsız ya da bağımlı olarak etki gösteren bu moleküler mekanizmalar sonuçta sıklıkla kanser gelişimine neden olmaktadır. Patolojinin progresyonunu yöneten farklı bilgi sinyallerinin birbirinden ayrıştırılarak tanımlanması, köken ve metabolik etkilerin hastalığın tanımlanmasındaki gerçek önemlerinin doğru olarak anlaşılabilmesi için önemlidir.

Ancak bu prensibe göre hareket edilmediğinde, herhangi bir nütrisyonel takviyenin metabolik önemini anlamak pratikte imkansızdır. Bu takviyelerin makroskopik ve fenotipik etkilerinin her zaman gösterilebilmesi mümkündür. Ancak metabolik ağ düzeyinde ne tür etkilere yol açtıklarını hiçbir zaman öğrenemeyebiliriz. Bu nedenle şu andaki çalışmalarımız multipleks teknoloji ile geliştirilen paneller kullanılarak birçok patojenik sitokinin kökenlerini tanımlamaya odaklanmıştır.

Genel olarak hem tip 2 diyabetin (T2D) hem de kronik hepatit C (KHC) enfeksiyonunun hepatoselüler karsinom (HCC) gelişim riskini artırdığını söyleyebiliriz [15, 16]. Sitokinlerin sadece insülin rezistansında ve glukoz kullanımında değil, karaciğerdeki viral enfeksiyonlardaki patolojik proseslerde de önemli rol oynadıkları bilinmektedir [12]. Bu nedenle, KHC, KHC'ye bağlı siroz, T2D, KHC ve T2D, KHC'ye bağlı siroz ve T2D ve sağlıklı kontrollerde bu hastalıkların farklı evrelerinin ayrımını yapabilmek amacıyla, birçok sitokin, kemokin, adipokin ve büyüme faktöründen oluşan panellerin serum seviyeleri BioPlex testi ile ölçülmüştür [9].

Elde edilen sonuçlar b-NGF, CXCL1, CXCL9, Cpeptid, GIP ve adiponektin ekspresyonunun T2D dışındaki tüm hasta gruplarında yukarı regüle olduğunu göstermiştir. Bu bulgu fibroz, siroz ve kanser progresyonuna yol açabilecen KHC enfeksiyonu (ya da KHC ile birlikte T2D'nin) ile ilişkili olabileceklerini göstermektedir. Ayrıca Tip 2 diyabetin KHC enfeksiyonunun gidişatını modifiye edebilen bir kofaktör olduğunun bilinmesi ve bağımsız bir HCC göstergesi olarak kullanılabilmesi nedeniyle [16], T2D ve KHC hastalarındaki anlamlı moleküller karşılaştırılmıştır. Sonuçlarda (1) KHC hastalarındaki girelin ve leptin düzeylerinin T2D hastalarına göre daha düşük olduğu, (2) KHC hastalarındaki IL-1a, insülin ve PAI-1 düzeylerinin T2D hastalarına göre daha yüksek olduğu, (3) CXCL1, CXCL9, b-NGF, C-peptid, GIP ve adiponektin düzeylerinin sadece KHC hastalarında yüksek olduğu, (4) HGF ve glukagonun sadece T2D hastalarında yüksek olduğu bulunmuştur.

Tüm bu moleküller ilgili fonksiyonları ve literatürde bildirilen deneysel çalışma sonuçlarını kullanarak bir veri ağı oluşturan Ingenuity Yolak Analizi 7.1 (Ingenuity Systems Inc., Redwood, Kaliforniya, ABD) kullanılarak analiz edilmiştir (Şekil 2). Bu grafik transkripsiyon 3 (STAT3), NR3C1 (nükleer reseptör alt ailesi 3, grup C, üye 1), NF-κB (RELA adı da verilir), TP53 (tümor p53), ve yukarı yönlü stimülan faktör 1'in (USF1) adlı sinyal dönüştürücüsü ve aktivatörü olan beş ana geni göstermektedir. Leptin tarafından indüklenen STAT3 [17], CXCL9 gibi STAT1'e bağımlı enflamatuar genlerdeki IFN indüksiyonunda rol oynamaktadır [18]. Bu nedenle T2D hastalarındaki yüksek leptin düzeylerinin STAT3 ekspresyonunu artırdığı ve ilgili CXCL9'u da suprese ettiği hipotezinin geliştirilmesi mümkün olmuştur. Diğer taraftan kortizol ve diğer glukokortikoidlerin bağlandığı NR3C1 reseptörü de STAT3 ve RELA ile etkileşime girmektedir [19]. Şekil 2'de gösterilen ağ, RELA'nın TP53, MIF, CXCL9 ve IL-1a ekspresyonunu regüle ederken, TP53'ün ise CXCL1, IL-2R, IL-1a, MIF, PAI-1 (SERPINE1 adı da verilir), ve IL-18 ekspresyonunu regüle ettiğini göstermektedir. Bu durum KHC hastalarındaki CXCL1, IL-1a, IL-18, PAI-1 ve CXCL9 düzeylerinin niçin daha yüksek olduğunu açıklayabilir. USF1 ise glukoz, lipid ve hepatik metabolizmadaki çok



Şekil 2 Bu grafik Ingeniuty Yolak Analizi bilgisayar programı ile elde edilen T2D ve KHC hastalarındaki (*gri semboller*) önemli sitokinlerle ve diğer moleküllerle (*beyaz semboller*) yakından ilişkili olan ağı göstermektedir ([9] nolu referanstan uyarlanmıştır).

sayıda genin regülasyonunda rol oynamaktadır. USF1 ekspresyonu KHC hastalarındaki karaciğer fibrozunun progresyonu sırasında aşağı regüle olmaktadır [20]. Bu bulgu KHC hastalarındaki girelin ekspresyonunun T2D hastalarına göre niçin daha düşük olduğunu açıklamaktadır. Ayrıca HGF'nin sadece KHC hastalarında normal değerlerde bulunması da dikkate değerdir. Bu büyüme faktörü epitel ve endotel hücrelerindeki mitojenik, motojenik (metastogenez dahil) ve morfojenik etkileri reseptörü olan proto-onkogen Met ile stimüle etmektedir. Met'in HGF bağlanması ile aktive olması

hücre büyümesi ve sağkalımı ile PI3-kinase/PDK/Akt ve Ras/Raf/MEK/ERK yolaklarının aktivasyonu yoluyla, hücre mobilitesi ve sitoskeletal organizasyon ile de RhoGT-Pazlar, Rho, Rac, ve CDC42 aktivasyonu yoluyla ilişkilidir. HGF ve Met birçok kanser türünün progresyon, invazyon ve metastaz özelliği ile ilişkilidir. Bu nedenle sinyalleri kanser tedavilerinin geliştirilmesinde ana hedef durumundadırlar [21]. HGF düzeyleri KHC hastaları dışındaki tüm hasta gruplarında yükseldiği için bu proteinin T2D hastalarındaki kronik enflamasyonun kansere dönüşümünü tahmin etmekte kullanılması mümkündür [13]. Bu çalışma genel olarak, büyük bir sitokin panelinin eş zamanlı sayısal tespitinin, yüksek ve düşük oranda temsil edilen moleküller arasındaki doğru oran ve dinamikleri gösterebilmesinin mümkün olduğunun göstergesidir. Ayrıca doğru, basit, spesifik, noninvazif, tekrar edilebilen ve pahalı olmayan bir yöntem olduğu için, gelecekte rutin klinik pratikte tip 2 diyabet ve/veya KHC ile karaciğer sirozu ve muhtemelen de kanser arasındaki ilişkinin takibinde kullanılarak, bu hastalıklarının prognozlarının iyileştirilmesine katkıda bulunabilir.

4 Adiponektin İnteraktomu

Adipöz doku hem lokal (otokrin/parakrin) hem de sistemik (endokrin) etkileri olan farklı adipokinleri eksprese edebilir ve salgılayabilir. Adipöz doku bu efferent sinyallere ek olarak, klasik hormon sistemlerinin afferent sinyallerine cevap verebilmesini sağlayan birçok reseptörü de eksprese eder. Adipöz doku, depolama ve enerji salımı için gereken biyolojik repertuvara ek olarak uzak organlarla iletişime izin veren metabolik mekanizmaları da içerir. Adipöz doku bu interaktif ağı kullanarak enerji metabolizması, nöroendokrin fonksiyon ve immun fonksiyon gibi bir dizi biyolojik prosesin koordinasyonuna entegre olarak rol oynar [22]. Grubumuzun son zamanlarda başlattığı bir çalışmada tip 2 diyabet, obezite ve kanser arasındaki muhtemel bir bağlantıya işaret eden adipokin ağının kompleks etkileşimleri incelenmektedir [23]. İnsan proteomunun tamamından elde edilen bu birbiri ile ilişkili ağ için, Biogrid, HPRD, MINt ve Yolak Etkileşim Veri Tabanı, ve Verona Üniversitesi tarafından manuel olarak oluşturulan ve güncellenen veri tabanı (önceki versiyonu 11.210 nodül içermektedir) kullanılmıştır [24]. 21.289 köşesi (interaksiyon) olan 729 nodülden (protein) oluşan adipokin ağı ADIPOQ ve SFRP-5 gibi direkt etkileşime giren iki izole komponent içerir. Bu ağın bağlantılı komponenti 21.286 interaksiyon içeren 724 nodülden oluşur ve ortalama kümelenme kat sayısı 0.586'dır. Ortalama kümelenme kat sayısı dağılımının gelişimi ile tanımlanan metabolik ağların modüler organizasyonu ve ağ heterojenitesi (bağlanabilirlik varyansı) ile ilişkili değer, bir ağın ana nodüller içerme eğiliminin göstergesidir.

Bir ağdaki sıkışmış proteinler ana birleştiricileri temsil ettikleri için ağın önemli ve vazgeçilmez nodülleridir [25]. Ayrıca merkezi konumun arada kalma düzeyi bir ağdaki tepe ya da köşenin muhatap olduğu trafik miktarı ile ifade edilir [26]. Stres merkeziyeti en kısa yolakların çok sayıda olduğunu göstermektedir [27]. Bu nedenle sıkışıklığın, arada olmanın ve stresin dereceleri ağdaki önemli ve temel nödüllerin karakterize edilebilmeleri amacıyla hesaplanmıştır. Bu değerler tüm adipokinler arasında sadece anjiotensin II (AGT) için yüksek derecede tespit edilmiştir. Birinci sıradaki AGT interaktomunu araştırdığımızda, adipokinin 19 protein ve 27 interaksiyon ile etkileştiğini ve kan basıncının regülasyonu ile ilişkili çok sayıda metabolik prosesi regüle ettiğini tespit ettik. Ayrıca anjiotensin dönüştürücü enzim 2 de (ACE2), AGT ve girelin arasındaki zayıf bir ilişki meydana getirerek leptin ve IL-6 ile etkileşime girmektedir. IL-6 ağındaki JAK1, JAK2, STAT1 ve STAT3 gibi komponentler de TNF ve omentin gibi diğer adipokinlerin fosforilasyonunun regülasyonunda rol oynamaktadır. Adipokin ağının detaylı analizi 0.840 ortalama kat sayısı olan POLR2D'nin (RBP4 adı da verilir) bir diğer yüksek oranda kümelenen ağ komponenti olduğunu göstermiştir. Bazıları RNA bağlanması, metabolik yolaklar, gen ekspresyonu ve DNA tamiri gibi farklı hücresel aktivitelerle ilişkili olan 257 protein ve 10.920 interaksiyon ile etkileşime girer. IL-6, IL-8, adipsin, TNF ve rezistin gibi birçok adipokin RBP4 ile ikinci sıra derecesinde etkileşime girer. Tüm bu veriler adipokinlerin birbirleri ile etkileşime girerek kompleks bir ağ oluşturduklarını ve obezite ve kanser gelişimini desteklemek için uyum için çalıştıklarını göstermektedir.

5 Sonuçlar

Çok sayıda güncel epidemiyolojik çalışmada meyve ve sebze tüketimi, doğal antioksidanlar ve kanser tüketimi arasında ters orantılı bir ilişkinin varlığı vurgulanmaktadır. Kanserin önlenmesi ve tedavisinde diyet veya bitkisel kaynaklı takviyeler yoluyla alınan antioksidanların kullanımı kuvvetle önerilmektedir (Storner ve Mukhtar 1995). Sebze, mineral veya hayvansal kaynaklı maddeler olan antioksidanlar serbest radikalleri nötralize ederek, plazma membranı, proteinler ve DNA üzerindeki olumsuz etkilerini önleyerek vücudu korumaktadır [28, 29].

Ancak antioksidan takviyelerle ilişkili çalışmaların, sıklıkla çok dar bir metabolik bakış açısıyla detaylı metabolik etkilere odaklandığını ve tüm organizma ile fizyolojik yapıda mevcut olan geniş metabolik ağ ile yeterince ilişkili olmadığını gözlüyoruz. Daha çok zaman isteyen, birçok farklı yetenek gerektirdiği için çok daha kompleks olan ve çok ciddi sayısal analizler gerektiren bir yöntem olmasına rağmen bu kısıtlamayı aşmanın en iyi yolunun sistemler biyolojisi yaklaşımı olduğuna inanıyoruz.

Çalışmalarımız hepatokarsinom progresyonunu destekleyen metabolik ağın anlaşılmasına odaklamıştır. Enflamasyon, tip 2 diyabet, obezite ve kanser arasındaki ilişkiye olan ilgi son yıllarda yeniden artmaya başlamıştır. Sitokinlerin bu hastalıkların evrimlerinde önemli rol oynayan moleküllerden olduğuna inanıyoruz. Enflamasyonun öncesinde ve sırasında eksprese olan bu proteinler hastalıkların çeşitli evrelerinde önemli bir rol oynarlar. Bu nedenle kanserin ve spesifik evrimsel basamaklarının spesifik markerları olarak değerlendirilebilirler [12, 13]. Son zamanlarda, KHC, KHC'ye bağlı siroz, KHC ve T2D, KHC'ye bağlı siroz ve T2D hastalarındaki birçok sitokin, kemokin, adipokin ve büyüme faktörünün serum düzeyleri geniş spektrumlu, boncuk tabanlı multipleks immunoassay kullanımı ile değerlendirilmiştir Elde edilen veriler bazı proteinlerin serum düzeylerinin yukarıda sayılan tüm hastalıklarda arttığını, diğer bazılarının ise sadece bir hastalıkta arttığını göstermiştir. Her iki hastalığın mevcudiyetinde ise farklı düzeylerde artış tespit edilmiştir. Bazı moleküllerin klinik ve biyokimyasal veriler ile anlamlı korelasyon göstermesi, hastalığın farklı evrelerinde spesifik biyomarkerlar olarak kullanılabilecek mini panellerin geliştirilebilme olasılığına işaret etmektedir. Ancak tüm bu gözlemler, izole ölçümler yerine entegre bir yaklaşım kullanılmasının bu iki kompleks patolojinin (tip 2 diyabet ve KHC) tek başlarına veya birlikte bulunduğu hastalardaki farklı evrelerinin, değerlendirilmesinde çok daha güçlü bir yaklaşım olduğunu göstermektedir [9].

Bu nedenle sitokinlerin evrimi ile ilişkili verilerin grafikler veya çeşitli veri gruplarına bağlanan ağlar kullanılarak kompüterize bir şekilde modellenmesi gerektiğini vurgulamak istiyoruz. Böylece metabolik ve/veya fizyolojik aktivitelerin ve/veya patojenik yolakların olasılık haritaları elde edilebilir. Gerçekten de insan sitokinomunun tanımlanması sadece bu yolla mümkündür. Bu şekilde hem sağlıklı hem de farklı hastalıkları olan bireylerdeki sitokin ağlarındaki etkileşimlerin analizinde kullanılan önemli bir araca sahip olabiliriz.

Referanslar

1. Carlsen MH, Halvorsen BL, Holte K et al (2010) The total antioxidant content of more than 3,100 foods, beverages, spices, herbs and supplements used worldwide. Nutr J 9:3
2. Das Sarma A, Rahaman Mallick A, Ghosh AK (2010) Free radicals and their role in different clinical conditions: an overview. Int J Pharma Sci Res 1:185–192
3. Agewall S, Wright S, Doughty RN et al (2000) Does a glass of red wine improve endothelial function? Eur Heart J 21:74–78
4. Zhang Y, Shen G, Yu Y et al (2009) The hormetic effect of cadmium on the activity of antioxidant enzymes in the earthworm Eisenia fetida. Environ Pollut 157:3064–3068
5. Seyfried T, Shelton LM (2010) Cancer as a metabolic disease. Nutr Metab 7:7
6. Gonzaga-Jauregui C, Lupski JR, Gibbs RA (2012) Human genome sequencing in health and disease. Annu Rev Med 63:35–61
7. Costantini S, Autiero I, Colonna G (2008) On new challenge for the bioinformatics. Bioinformation 3:238–239
8. Castello G, Costantini S, Scala S (2010) Targeting the inflammation in HCV-associated hepatocellular carcinoma: a role in the prevention and treatment. J Trasl Med 8:109

9. Costantini S, Capone F, Guerriero E et al (2012) Cytokinome profile of patients with type 2 diabetes and/or chronic hepatitis C infection. PLoS ONE 7(6):e39486
10. Palladino P, Portella L, Colonna G et al (2012) The N-terminal peptide of CXCL11 as structural template for CXCR3 antagonist: synthesis, conformational analysis and binding studies. Chem Biol Drug Des 80(2):254–265
11. Trotta T, Costantini S, Colonna G (2009) Modelling of the membrane receptor CXCR3 and its complexes with CXCL9, CXCL10 and CXCL11 chemokines: putative target for new drug design. Mol Immunol 47:332–339
12. Capone F, Costantini S, Guerriero E et al (2010) Serum cytokine levels in patients with hepatocellular carcinoma. Eur Cytokine Netw 21:99–104
13. Costantini S, Capone F, Guerriero E et al (2010) Serum cytokine levels as putative prognostic markers in the progression of chronic HCV hepatitis to cirrhosis. Eur Cytokine Netw 21:251–256
14. Costantini S, Castello G, Colonna G (2010) Human Cytokinome: a new challenge for systems biology. Bioinformation 5(4):166–167
15. Huang JF, Dai CY, Hwang SJ et al (2007) Hepatitis C viremia increases the association with type 2 diabetes mellitus in a hepatitis B and C endemic area: an epidemiological link with virological implication. Am J Gastroenterol 102:1237–1243
16. Hung CH, Lee CM, Wang JH et al (2011) Impact of diabetes mellitus on incidence of hepatocellular carcinoma in chronic hepatitis C patients treated with interferon-based antiviral therapy. Int J Cancer 128(10):2344–2352
17. Carvalheira JBC, Siloto RMP, Ignacchitti I et al (2001) Insulin modulates leptin-induced STAT3 activation in rat hypothalamus. FEBS Lett 500:119–124
18. Ho HH, Ivashkiv LB (2006) Role of STAT3 in type I interferon responses. JBC 281:14111–14118
19. Hollenberg SM, Weinberger C, Ong ES et al (1985) Primary structure and expression of a functional human glucocorticoid receptor cDNA. Nature 318:635–641
20. Takahara Y, Takahashi M, Zhang Q-W et al (2008) Serial changes in expression of functionally clustered genes in progression of liver fibrosis in hepatitis C patients. World J Gastroenterol 14:2010–2022
21. Gentile A, Trusolino L, Comoglio PM (2008) The met tyrosine kinase receptor in development and cancer. Cancer Metastasis Rev 27:85–94
22. Kershaw EE, Flier JS (2004) Adipose tissue as an endocrine organ. J Clin Endocrinol Metab 89:2548–2556
23. Raucci R, Rusolo F, Sharma A et al (2012) Functional and structural features of adipokine family. Cytokine
24. Scardoni G, Petterlini M, Laudanna C (2009) Analyzing biological network parameters with CentiScaPe. Bioinformatics 25:2857–2859
25. Yu H, Kim PM, Sprecher E et al (2007) The importance of bottlenecks in protein networks: correlation with gene essentiality and expression dynamics. PLoS Comput Biol 3:e59
26. Brandes U (2001) A faster algorithm for betweenness centrality. J Math Sociol 25:163–177
27. Sharma A, Gautam V, Costantini S et al (2012) Interactomic and pharmacological insights on human Sirt-1. Front Exp Pharmacol Drug Discov 3:40
28. Jayaprakasam BJ, Vanisree M, Zhang Y et al (2006) Impact of alkyl esters of caffeic and ferulic acids on tumor cell proliferation cyclooxygenase enzyme and lipid peroxidation. J Agric Food Chem 54:5375–5381
29. Lin HP, Kuo LK, Chuu CP et al (2012) Combined treatment of curcumin and small molecule inhibitors suppresses proliferation of A549 and H1299 human non-small-cell lung cancer cells. Phytother Res 26:122–126

Natürel Sızma Zeytinyağı: Kompozisyondan Moleküler Gastronomiye

Raffaele Sacchi, Antonello Paduano, Maria Savarese, Paola Vitaglione ve Vincenzo Fogliano

Özet

Bu bölümde natürel sızma zeytinyağı (NSZY) ile ilgili güncel çalışmaların sonuçlarını ve pişirme esnasında diğer gıda içerikleri ile etkileşimlerini kısaca gözden geçirerek "sihirli" NSZY'nin basit moleküler özelliklerini ve Akdeniz gastronomisindeki rolünü vurgulayacağız. Gıdalara pişirme sonrası çiğ olarak (veya salata yağı olarak) NSZY eklenmesi, orijinal tadın korunmasının ve doğal antioksidanlar ile insan sağlığına faydalı bileşiklerin (hipotensif, antienflamatuar, antikanserojenik ve diğerleri) alımının maksimize edilmesinin en iyi yoludur. NSZY'nin koruyucu etkileri pişirme sırasında ve sonrasında da devam etmektedir. Bifenolik bileşiklerle diğer gıda içerikleri arasında (su, süt proteinleri, domatesteki karotenoidler, yağla konserve yapılmış balık, et ve balık proteinlerindeki omega-3 poliansatüre doymamış yağ asitleri) farklı kimyasal reaksiyonlar oluşmaktadır. NSZY pişirme esnasında bile güçlü antioksidan özellikler göstermekte ve pişirilen gıdaların genel tadını etkilemektedir. NSZY'nin pişirilmesi esnasında oluşan fiziksel (partisyon oluşumu, emülsiyon) ve kimyasal (hidroliz, kovalen bağlanma, antioksidan özellikler) fenomen, bazı geleneksel Akdeniz yemeklerinin duyusal (acılık ve meyvemsi tat) ve nütrisyonel kalitesi üzerinde oluşturduğu değişimlere odaklanarak incelenecektir. Özellikle pişirme esnasındaki domates-yağ etkileşimleri, NSZY'de balık konservesi, pişirme öncesi NSZY ile marine etme, fırında veya tavada NSZY ile kızartma yöntemleri incelenecektir. Zeytinyağı antioksidanlarının ve tatlarının süt proteinleri ile olan etkileşimlerinden de kısaca bahsedilmiştir.

R. Sacchi · A. Paduano · M. Savarese · P. Vitaglione · V. Fogliano
Department of Agriculture, University of Naples Federico II, I-80055, Portici, NA, Italy

R. Sacchi (✉)
Dipartimento di Agraria, via Universita' 100, 80055, Portici, NA, Italy
e-mail: raffaele.sacchi@unina.it

V. Zappia et al. (eds.), *Advances in Nutrition and Cancer,*
Cancer Treatment and Research 159, DOI: 10.1007/978-3-642-38007-5_19,
© Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2014

Anahtar Kelimeler

Natürel sızma zeytinyağı • Moleküler gastronomi • Akdeniz diyeti

Kısaltmalar

EFSA	Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi
NSZY	Natürel sızma zeytin yağı
HA	Heterosiklik Amin
HPLC	Yüksek performanslı likid kromatografi
HPTA	Hidroksi pentasiklik triterpen asitleri
LC–MS	Likid kromatografi-Kütle spektrometresi
NMR	Nükleer manyetik rezonans

İçindekiler

1. Zeytinyağının Kompozisyonu ve Sağlıklı Etkileri 326
2. Akdeniz Moleküler Gastronomisinde NSZY 328
   2.1 Balık Konservelerinde NSZY 330
   2.2 Domates ve NSZY Etkileşimi 331
   2.3 Etlerin Fırında Kızartma Öncesinde NSZY ile Marine Edilmesi 332
   2.4 NSZY ile Kızartma 333
   2.5 NSZY ve Süt Proteinleri 335
3 Sonuçlar 336
Referanslar 336

1 Zeytinyağının Kompozisyonu ve Sağlıklı Etkileri

Son birkaç yıl içinde natürel sızma zeytinyağının (NSZY) kimyasal kompozisyonunun insan sağlığı üzerindeki in vitro ve in vivo olumlu etkileri ile ilişkili bazı çalışmalar yayınlanmıştır [16, 31]. Zeytinyağının sağlıklı özellikleri yüksek oleik asit ve triasilgliserol içeriğine ve zeytinyağının sabunlaşmayan fraksiyonu içinde bulunan birçok minör bileşiğin (skualen, tokoferoller, fenil alkol gibi fenolik asit bileşikleri, sekoridoidler ve lignanlar) varlığına bağlanmaktadır. Bu özelliklerin insan sağlığını koruyu etkileri vardır [16]. Zeytinyağı başlıca antimikrobik, antioksidan, ve antienflamatuar özelliklere sahiptir (inceleme için [9] nolu referansa bakınız). Zeytinyağının antienflamatuar faydaları ile ilişkili olan fenolik bileşik oleokantala özel olarak odaklanılmıştır (inceleme için [18] nolu referansa bakınız). Bu bileşiğin ibuprofene benzer aktivitesi olduğu gösterilmiştir.

Her iki bileşik de (oleokantal ve ibuprofen) prostoglandin biyosentez yolağındaki siklooksijenaz enzimlerini inhibe eder [5]. Ancak NSZY'nin içinde mevcut oleokantal miktarının, zeytinyağının antienflamatuar etkisinden sorumlu tek bileşik olduğu henüz bilimsel olarak gösterilememiştir [14]. Aslında, gıda bilimi ve sağlık araştırmalarında giderek artan şekilde elde edilen kanıtlar, tekil bileşiklerden ziyade, gıdalarda bulunan kompleks polifenol karışımlarının sinerjistik etki ile sağlığa faydalı olduklarını düşündürmektedir. Bu konsept zeytinyağında bulunan pinoresinol ve kolon kanseri arasındaki ilişki için gösterilmiştir [12]. Araştırmacılar pinoresinol yönünden zengin zeytinyağı ekstrelerinin kolon kanserinde güçlü kemopreventif etkileri olduğunu bildirmiştir. Ancak aynı sonuca saflaştırılmış pinoresinole göre çok daha düşük pinoresinol konsantrasyonları içeren zeytinyağı ile de ulaşılabilmiştir [12].

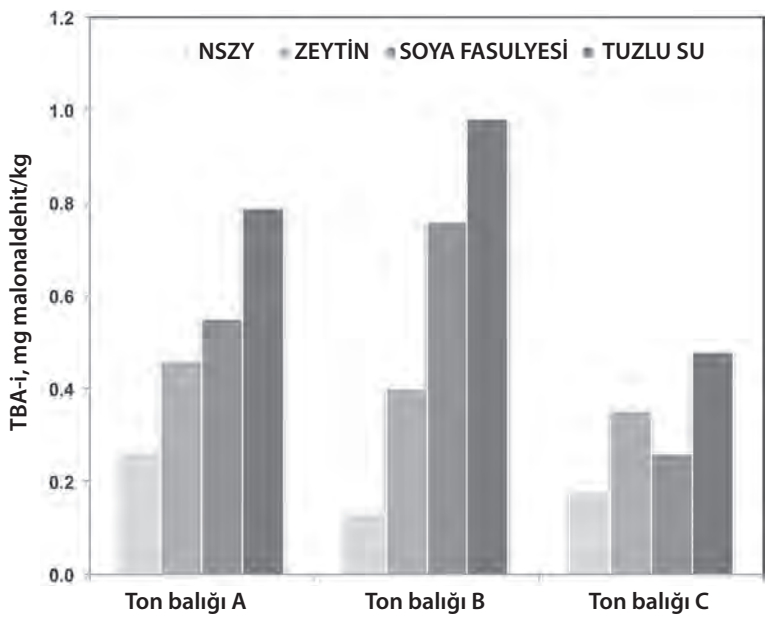
Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi (EFSA) tarafından yakın zamanda gerçekleştirilen Diyetetik Ürünler, Nütrisyon ve Alerji Panelinde ortaya konulan bilimsel görüş şu şekildedir: *Zeytinde bulunan polifenollerin LDL partiküllerini oksidatif hasardan koruduğu, kandaki normal HDL konsantrasyonlarını ve normal kan basıncını koruduğu, antienflamatuar etki yaptığı, üst respiratuar sistem sağlığına katkı yaptığı, normal gastrointestinal kanal sağlığını koruduğu ve dış ajanlara karşı vücut savunmasına katkı yaptığı ile ilgili sağlık iddiaları incelenmiştir. Bu sağlık iddialarının konusu olan gıda bileşeni zeytindeki polifenollerdir (zeytin meyvesi, zeytinyağı değirmeni ürünü veya zeytinyağı, Olea europaea L. ekstresi ve yaprağı). Panel sunulan verilere dayanarak zeytinyağındaki polifenoller ile (hidroksitirozol ve türevlerinin içeriğine göre standardize edilmiştir) LDL partiküllerinin oksidatif stresten korunması arasında bir neden sonuç ilişkisi olduğuna karar vermiştir. Panel bu iddiadaki etkinin ortaya çıkabilmesi için zeytinyağında bulunan hidroksitirozol ve türevlerinin (örn. oleuropein kompleksi ve tirozol) hergün 5 mg tüketilmesi gerektiğini bildirmiştir [11].*

NSZY'deki fenolik bileşikler antioksidan kapasiteleri ile oksidatif proseslere karşı kimyasal stabilite (yüksek oksidatif stabilite) sağladıkları gibi acı ve buruk tadın oluşmasına da katkı yaparlar. Meyvemsi bir aroması olan doğal uçucu fenol bileşikleri NSZY'nin hem "fonksiyonel gıda" özelliğine hem de lezzetine katkı yaparlar. Ancak NSZY çeşitleri kullanılan zeytinin türüne, yetiştiği çevreye, büyüme ve olgunluk düzeyine, ekstraksiyon ve depolama teknolojisine bağlı olarak büyük farklılıklar gösterirler [31]. Piyasada mevcut NSZY'ler arasında kimyasal ve duyusal kaliteleri, nütrisyonel özellikleri ve fiyatları yönünden büyük farklar mevcuttur. Gıda kimyacıları ve uzman panelleri daha acı tada sahip olan NSZY'lerin daha yüksek kaliteye sahip olduğu ve sağlıklı özelliklere sahip NSZY seçiminde tadın önemli bir yol gösterici olabileceği yönünde hemfikirdir [36].

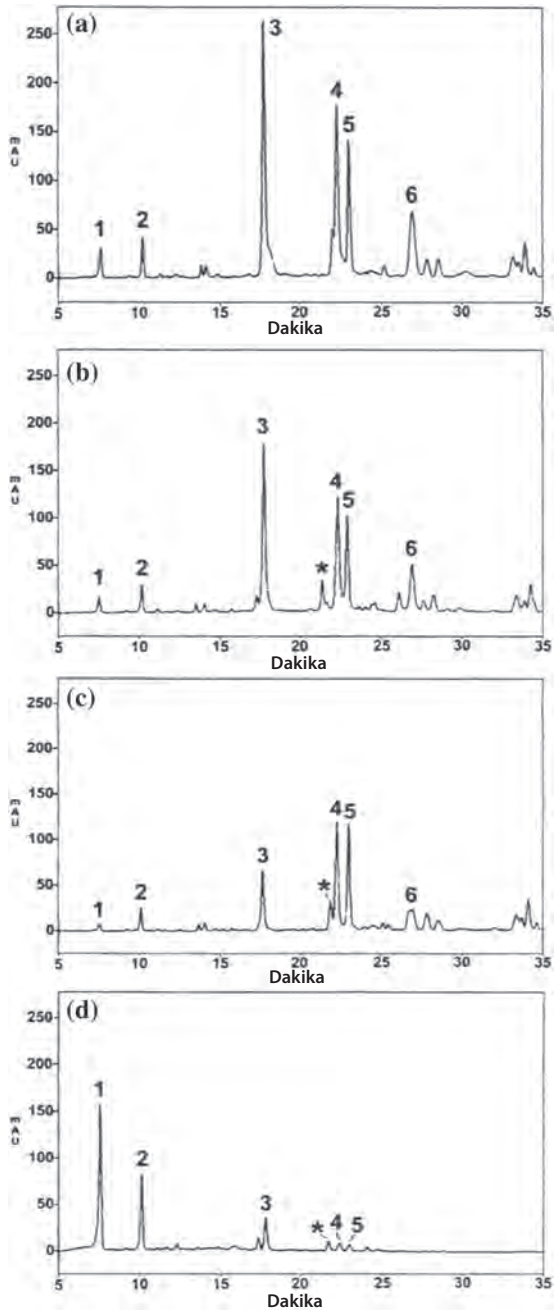
NSZY'nin pişmesi esnasında fenolik ve uçucu bileşiklerde meydana gelen değişimlerle birlikte Akdeniz yemeklerinde kullanılan diğer birçok bileşen ile de etkileşimler meydana gelir. Zeytinyağının kalitesi hakkındaki agronomik ve teknolojik parametrelerle ilgili birçok çalışma olmasına rağmen çok az sayıda çalışmada gastronomik özellikleri araştırılmıştır. Bu bölümde konuyla ile ilgili güncel çalışmaların sonuçlarını kısaca gözden geçirecek ve "sihirli" NSZY'nin Akdeniz gastronomisindeki rolünü açıklamak amacıyla ana moleküler özelliklerini vurgulayacağız.

2 Akdeniz Moleküler Gastronomisinde NSZY

Gıdalara pişirme sonrası çiğ olarak (veya salata yağı olarak) NSZY eklenmesi, orijinal tadın korunmasının ve doğal antioksidanlar ile insan sağlığına faydalı bileşiklerin (hipotensif, antienflamatuar, antikanserojenik ve diğerleri) alımının maksimize edilmesinin en iyi yoludur. Ancak NSZY'nin koruyucu etkileri pişirildiğinde de devam etmektedir. Bifenolik bileşiklerle diğer gıda içerikleri arasında (su, süt proteinleri, domatesteki karotenoidler, yağla konserve yapılmış balık, et ve balık proteinlerindeki omega-3 poliansatüre doymamış yağ asitleri) oluşan farklı kimyasal reaksiyonlar birçok çalışmada incelenmiştir. NSZY pişirme esnasında bile güçlü antioksidan özellikler göstermekte ve pişirilen gıdaların genel tadını etkilemektedir. NSZY'nin pişirilmesi esnasında oluşan fiziksel (partisyon oluşumu, emülsiyon) ve kimyasal (hidroliz, kovalen bağlanma, antioksidan özellikler) fenomen, bazı geleneksel Akdeniz yemeklerinin duyusal (acılık ve meyvemsi tat) ve nütrisyonel kalitesi üzerinde değişimlere yol açar. NSZY'deki fenolik bileşiklerle farklı biçimde pişirilen gıda sistemlerindeki diğer bileşikler arasında moleküler etkileşimler oluşarak, bazı pişmiş gıdaların sağlıklı ve koruyucu etkilerinin artmasına yol açar. Bu etki ilerleyen paragraflarda detaylı olarak tartışılacaktır.



Şekil 1 Farklı maddeler ile sterilize edilen üç farklı ton balığı konservesinin oksidasyon düzeyleri (TBA-i, mg malonaldehit/kg).



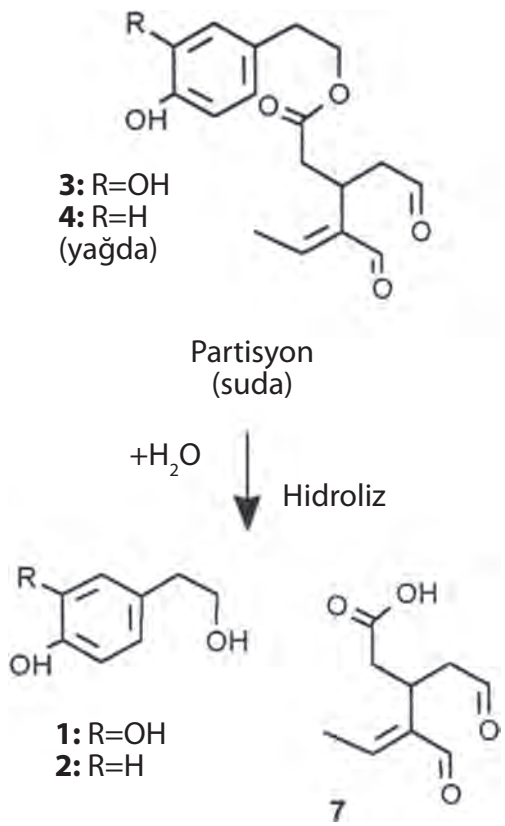
Şekil 2 Fenolik antioksidan sterilizasyon bileşiklerinin davranışları: (**a**) Başlangıçtaki NSZY; (**b**) sterilize NSZY; (**c**) sterilizasyon sonrası yağlı faz; (**d**) sterilizasyon sonrası su fazı. Tepe değerleri: hidroksitirozol (*1*), tirozol (*2*), dekarboksimetil oleuropeinin (*3*) ve ligstrosidin dialdehidik formu (*4*), aglikonlar, pinoresinol (*5*), oleuproeinin aldehidik formu (*6*), *bilinmeyen bileşik.

2.1 Balık Konservelerinde NSZY

Doldurma yağı olarak kullanılan NSZY ile konserve ton balığı eti arasındaki etkileşimler yaptığımız çeşitli deneylerde incelenmiştir. Deneylerin amacı balık etinde konserveleme öncesi bulunan doğal n-3 PUFA'ların korunmasıdır.

NSZY ile konservelenen tuna etinin NMR spektroskopisi ile ölçülen n-3 PUFA düzeyleri, soya fasulyesi, rafine zeytinyağı ve tuzlu su ile konservelenen ve sterilize edilen tuna etindeki düzeylere göre anlamlı olarak daha yüksektir [21, 22]. Konserve tuna etinden ekstrakte edilen lipidlerdeki oksidasyon oranları da NSZY ile daha düşük bulunmuştur (Şekil 1).

NSZY'nin konservelere uygulanan işlem sırasındaki ve sonrasındaki koruyucu etkisi içindeki doğal antioksidanlara bağlanmaktadır. Bu etki diğer doldurma yağları ve tuzlu suda mevcut değildir [13, 23]. Konservelerin sterilizasyon işlemlerinin öncesinde ve sonrasındaki fenol düzeylerine bakıldığında, sekoiridoid aglikonların hidrolizi ile kombine olan yağ fazından su fazına (et) doğru net bir partisyon oluşumu gözlenmiştir (Şekil 2 ve Şema 1) [7, 32].



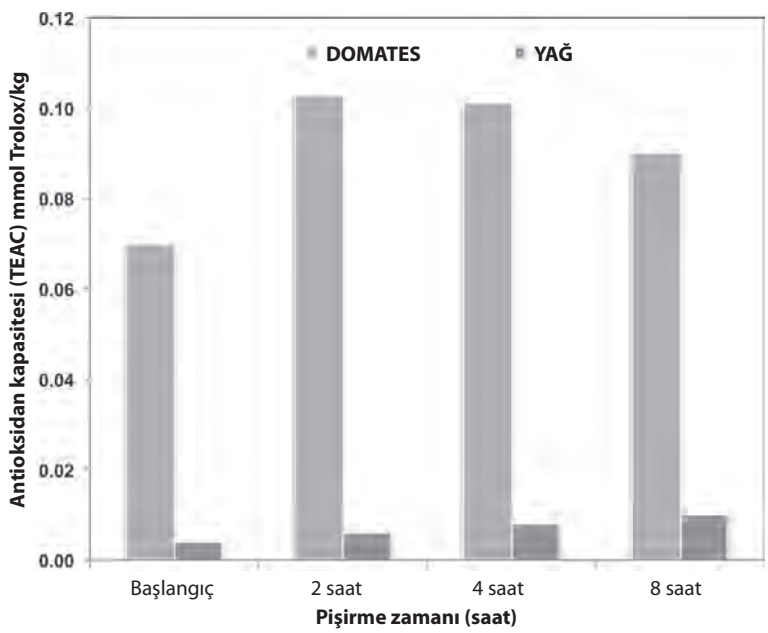
Şema 1 NSZY ile tuzlu su karışımı ile sterilizasyon sırasında, hidroksitirozol (*1*) tirozol (*2*) ve dekarboksimetil elenolik asidin dialdehidik formunun (*7*) tuzlu sudaki dekarboksimetil oleuropeinin dialdehidik formundan (*3*) ve ligstrosid (*4*) aglikonlarından formasyonu.

Bu iki fenomenin (partisyon oluşumu ve hidroliz) kombinasyonu etin yüzeyinde hidrofilik fenolik antioksidanların (hidroksitirozol ve tirozol) birikmesine yol açarak n-3 PUFA'yı termal oksidasyondan korumaktadır.

2.2 Domates ve NSZY Etkileşimi

Taze domates ve domates ürünleri sağlıklı olmaları ve özellikle prostat kanserine karşı antitümör özellikleri ile bilinirler [28]. Karotenoid (likopen) alımı hem in vitro hem de in vivo ortamda antikarsinojenik aktivite ve antiaterojenik etkiler ile ilişkilidir [27]. Çeşitli epidemiyolojik çalışmalarda likopen içeren domates ve domates ürünlerinin yüksek oranda tüketiminin kardiyovasküler hastalıklara karşı koruyucu olabileceği ve başta prostat, meme ve sindirim kanalı olmak üzere çeşitli kanserlerin riskini azaltabileceği gösterilmiştir. Likopenin serum düzeyleri kronik hastalık riski ile ters orantılı ilişkiye sahiptir [27]. Tüm dünyadaki insan diyetlerinde hem taze hem de işlenmiş domates tüketimi mevcuttur. Ancak Akdeniz gastronomisinde makarna ve pizza kombinasyon halinde büyük oranlarda domates ve zeytinyağı içerir.

Son yıllarda, domates soslarının küçük miktarda NSZY ile kombinasyon halinde pişirilmesini simüle eden farklı model sistemlerinin davranışlarını inceledik. Özellikle geleneksel bir domates sosunun (örn. Napolitan Ragù) pişirilmesi uzun süreler gerek-



Şekil 3 Domatesin antioksidan kapasitesi (TEAC, mmol Trolox ekivalan/kg) ile domates ve NSZY sosuna ısı testi uygulanması sırasındaki yağ fazları.

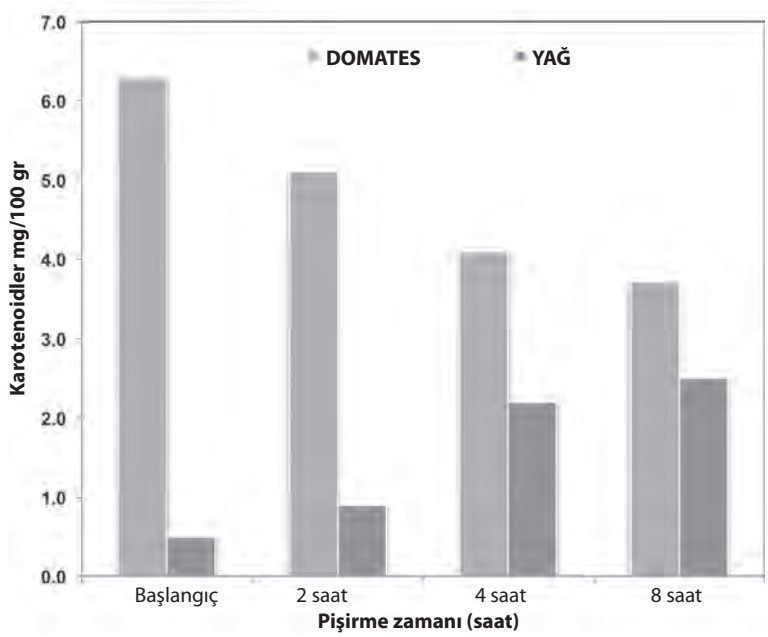
tirmekte (6-10 saat) ve orta ısıda (70-80 °C) geleneksel toprak kaplarda pişirilmektedir. Bu şartlarda ısıtılan domates-yağ sistemine neler olur? Pişirmenin sonunda antioksidan içeriğinde bir azalma beklenebilir. Bu azalma ısı testi yapılan domates sosunda gösterilmiştir [29]. Buna karşın, kendi çalışmamızda NSZY ilavesi ile pişirilen domatesteki antioksidanların (domates karoteonidlerinin sızma zeytinyağında bulunan sekoiridoidler tarafından korunması ile) anlamlı düzeyde arttığını tespit ettik (Şekil 3).

Karotenoidlerin ve naringenin gibi flavonoidlerin, yağ fazı yönünde partisyonlara ayrılması (Şekil 4) pişirme sırasında gözlenmiştir. Bu bulgu hazırlanan yemeklerdeki biyolojik olarak kullanılabilir karotenoid miktarı ile de ilişkilidir.

Bu gözlemler ve veriler Ragù gibi geleneksel fonksiyonel gıdaların kanserden koruyucu özelliklerinin ilgi çekmesine neden olmaktadır. Bu geleneksel yemekler hem antioksidan hem de koruyucu olan moleküllerin alımını sağladıkları için çok sağlıklı gıdalardır.

2.3 Etlerin Fırında Kızartma Öncesinde NSZY ile Marine Edilmesi

Akdeniz tarzı pişirme yöntemlerindeki bir başka geleneksel yöntem de et ve balığın yağ, şarap ve bitkiler (kekik, biberiye) kullanılarak fırında kızartma öncesi marine edilmesi ve pişirme esnasında et veya balığın yüzeyini nemlendirmek amacıyla limon-yağ veya



Şekil 4 Isı testi uygulanan domates-yağ karışımının karotenoid içeriği (mg/100 gr).

yağ-kırmızı şarap emülsiyonu kullanılmasıdır. Ev ve restoranlarda kısmen kaybolan bu geleneksel yöntemin, ısıl işlem sırasındaki protein degradasyonuna karşı koruyucu etkisi olduğu gösterilmiştir [25, 30, 35].

Pişirme simülasyon sistemlerine fenol bileşikleri veya NSZY eklenmesinin heterosiklik amin (HA) formasyonunu anlamlı olarak inhibe ettiği gösterilmiştir. Et veya balık pişirilirken düşük miktarlarda oluşan mutajenik HA'lardan bazılarının muhtemel insan karsinojeni olduğu düşünülmektedir. HA formasyonu sentetik veya doğal olarak oluşan antioksidanların varlığından etkilenebilir. Monti ve ark. [25] NSZY'deki fenolik bileşiklerin bir sistem modelindeki HA formasyonu üzerindeki etkisini LC-MS ile belirlemiş ve ölçmüştür. Kreatinin, glukoz ve glisinden oluşan aköz bir solüsyon, sadece fenolik bileşiklerin kompozisyonunda farklılık olan iki NSZY örneği ile birlikte ısıtılmıştır. Sistem modeline NSZY eklenmesi ile 2-amino-3-metilimidazo[4,5-f]kuinoksalin, 2-amino-3,8-dimetilimidazo [4,5f] kuinoksalin ve 2-amino-3,7,8-trimetilimidazo [4,5-f] kuinoksalin formasyonunu kontrollere kıyasla %30-50 arasında inhibe etmiştir. Çok miktarda dihidroksifeniletanol içeren taze zeytinyağı, HA formasyonunu bir yıllık zeytinyağından daha fazla azaltmıştır. Natürel zeytinyağından elde edilen fenolik bileşiklerle HA formasyonunun inhibisyonu, NSZY'nin balık ve etlerin pişirilmesi veya fırında kızartılması sırasında oluşan potansiyel karsinojenik molekülerin formasyonunun engellenmesinde ilginç bir rolü olabileceğini göstermektedir.

NSZY'deki fenolik bileşiklerin bisküvi gibi düşük nemli sistemlerdeki akrilamid formasyonunu bile azaltabilmesi de ilginçtir [4].

2.4 NSZY ile Kızartma

NSZY kullanarak yapılan kızartma potansiyel olarak toksik bileşiklerin üretimini (akrilamid ve hidroksi-alkenaller gibi) ve kızartmanın gevrek dış kısmında bulunan sağlıklı bifenolik antioksidanların alımlarını da minimize edebilir. NSZY'de bulunan fenolik bileşikler çok stabildirler ve kızartmadan birkaç saat sonra bile tespit edilebilirler [1, 10]. Bu bileşikler gıda matriksi ile etkileşime girerek tehlikeli bileşiklerin formasyonunu inhibe ederler.

NSZY fenol bileşikleri ile patates kızartmasındaki akrilamid formasyonu arasındaki ilişki ilk olarak Napolitano ve ark. tarafından incelenmiştir [26]. 20 NSZY örneğindeki fenolik kompozisyon LC-MS yöntemi ile tespit edilmiştir. Kızartma deneyleri için farklı fenol bileşik paternleri ile karakterize olan dört yağ seçilmiştir. Patates dilimleri 180 °C'de 5, 10, 15 dakika boyunca NSZY içinde kızartılarak akrilamid içerikleri LC-MS ile belirlendi. NSZY'nin fenolik bileşikleri kızartma sırasında degrade olmamıştır. Dört farklı NSZY ile kızartılan patateslerin renklerinde de anlamlı bir fark oluşmamıştır. Kızartma esnasında patateslerdeki akrilamid konsantrasyonları arttı. Ancak en yüksek artış en düşük fenolik bileşik içeren yağda gerçekleşmiştir. En yüksek orto-difenolik bileşik konsantrasyonu içeren NSZY hafif-orta ateşte yapılan kızartma sırasındaki akrilamid formasyonunu etkili bir biçimde inhibe edebilmiştir. Orto-difenolik yönünden zengin NSZY'lerin kullanımının evlerde yapılan derin

kızartmalarda akrilamid formasyonunu azaltabilen güvenilir bir strateji olduğu öne sürülmüştür.

Kızartma sırasında PUFA'ların dekompozisyonu ile oluşan hidroksi alkenaller diğer potansiyel toksik ve karsinojenik bileşiklerdir [15]. Termal olarak okside yağlardaki hidroksiperoksidaz dekompozisyonunun kantitatif analizinde yüksek çözünürlüklü proton nükleer manyetik rezonans (1H-NMR) spektroskopisi (400-600 MHz) kullandık [33]. Farklı yağlar (NSZY, ayçiçek ve soya yağı) termostatik fritözde ısıtıldı (180 °C'de 360 dakika). Proton NMR 15 yağ örneğindeki (0, 60, 120, 240 ve 360 dakika ısıtma süresi) kantitatif aldehit analizi (n-alkanaller, trans-2-alkenaller, 4-hidroksitrans-2-alkenaller, alka-2,4-dienaller) silika kolon kromatografisi ile ölçülen total polar bileşiklerle ve gaz kromatografisi ile ölçülen kısa zincirli yağ asitleri ile karşılaştırılmıştır. Üç yağda 6 saatlik ısıtma boyunca farklı aldehitlerin formasyonu takip edilmiştir. Alka-2,4-dienallller ve trans-2-alkenaller tüm ısıtılan yağlarda NMR ile saptanan majör ürünlerdir. Trans-2-alkenal üretimi NSZY ve tohum yağlarında hemen hemen aynı seviyede bulunurken, pişirmenin sonunda oluşan n-alkaneller en büyük oranda NSZY'de tespit edilmiştir.

NSZY kullanılarak yapılan 6 saatlik ısıtmanın sonunda özellikle 4-hidroksi-2-alkenal (eşik değer 0.1 mM/L) tespit edilmedi. Bu bileşiklerin formasyonu poliansatüre yağ asitlerinin oksidasyonundan kaynaklanan konjuge hidroperoksidienlerin dekompozisyonu ile ilişkilidir [15]. Zeytinyağında bulunan düşük linoleik (%5-10) ve linolenik (%1'den az) asit miktarları bu bulguları açıklamaktadır. Aynı nedenle poliansatüre tohum yağları ile oluşan alka-2,4-dianeller de düşük miktarlarda (6 saatlik ısıtmadan sonra 1.1 mM/L) ölçülmüştür.

NSZY ile kızartılan gıdalarla ilgili diğer çalışmalar fenol bileşiklerinin alımına odaklanmıştır. Sürekli kızartma yağı olarak NSZY kullanılan patates kızartmalarının, (LC-MS ile ekstrakte edilerek ölçülebilen) anlamlı miktarda fenol bileşiği abzorbe ettikleri bulunmuştur [34]. Kalogeropoulos ve ark. [19] Yunanistan'da bulunan en popüler balık türlerini natürel sızma zeytinyağı içinde kızartarak incelemiştir. Taze balık, kızartma yağı ve kızarmış balıktaki polifenol, hidroksi pentasiklik triterpen asitler (HPTA) ve α-tokoferol analizleri yapılmıştır. Kızartma yağı örneklerinde 6 tanesi kızarmış balıkta da bulunan 9 polifenol tespit etmişlerdir. Terpenik asitler olan oleanolik, maslinik ve ursolik asitler kızartma yağı ve kızarmış balıkta da tespit edilmiştir. Tavada kızartma ile oluşan su kaybı ve yağ absorpsiyonunun yanında, kızartma yağında araştırılan tüm antioksidanlarda kısmı azalma meydana gelirken, kızarmış balıktaki antioksidan miktarları artmıştır. Araştırılan antioksidanların polariteleri kızartma yağı ile su içeren balık arasındaki partisyonda bir miktar etkilenmiştir.

Aynı yazarlar [20] Akdeniz'in geleneksel gastronomik kültürüne göre sığ NSZY'de kızartılan patates, yeşil biber, kabak ve patlıcanı araştırmıştır. Kabak ve patlıcanlar kızartılmadan önce buğday unu veya sulu hamur ile kaplanmıştır. Tespit edilen 12 polifenol arasında bulunan tirozol kızartma yağlarında ve kabak örneklerinde en sık rastlanan polifenoldür. Klorojenik asit ise diğer sebze örneklerinde en çok bulunan fenolik türüdür. Su kaybı ve yağ absorpsiyonuna ek olarak, sığ yağda kızartma ile kızartma yağındaki

tüm antioksidanların miktarlarında kısmi azalma ile kızartılan sebzelerdeki zeytinyağı kaynaklı antioksidan miktarlarında da artış tespit edilmiştir. Bu sonuçlar kısmen kızartılan sebzenin türünden ve uygulanan kızartma şeklinden etkilenmiştir. Yağdaki antioksidanların genel korunma oranları α-tokoferol için %32-64, polifenoller için %25-70 ve HPTA için %35-83 bulunmuştur. NSZY'de kızartılan sebzelerin α-tokoferol, terpenik asitler ile tirozol ve klorojenik asit gibi polifenollerin alımını artırdıkları düşünülmektedir.

Natürel zeytinyağının ve ticari sebze yağının performansı da (180 °C'de toplam 60 dakika süreli ardışık 10 tava patates kızartması ile 170 C'de toplam120 dakika süreli ardışık 10 derin patates kızartması) Andrikopoulos ve ark. tarafından araştırılmıştır [2]. Test edilen her iki yağ türünde de tavada kızartma derin kızartmaya göre daha kötü etki yapmıştır. Aynı etki natürel sızma zeytinyağında görülebilir spektrumlar ve total fenoller için de geçerliydi. Tavada kızartma performansı her iki yağ için de benzerken, natürel zeytinyağı derin kızartmada daha iyi performans göstermiştir. Tüm veri setinde oktatonik asit formasyonu ile total polar artefaktlar arasında çok güçlü bir ilişki gözlenmiştir.

Andrikopoulos ve ark. [3] yerel pratiklere uygun olarak natürel zeytinyağı, ayçiçek yağı ve sebze yağı kullanarak derin yağda veya tavada kızarttıkları patatesleri de ardışık sekiz seans boyunca test ettiler. Patateslerin yağ absorpsiyon oranları yağ tipine ve kızartma şekline bağlı olarak %6.1 ila %12.8 arasında bulunmuştur. Total fenoliklerin korunma oranları %70-80 (birinci kızartma) ile %20-30 (sekizinci kızartma) arasında değişmekteydi. Tannik asit, oleuropein ve hidroksitirosolelenolik asidin dialdehidik formu her iki kızartma şekline karşı anlamlı rezistans gösterirken, hidroksitirozol ve hidroksitirozol-elenolik asit daha hızlı elimine olmuştur. Diğer fenolik türlerin azalmaları, (evlerde gayet yaygın uygulandığı üzere üç ila dört saatlik kızartma seansları sonrasında) derin kızartma ile %40-50, tavada kızartma ile %20-30 düzeyinde bulunmuştur.

Kızartma yağındaki sağlığa yararlı mikro-bileşenlerin patates kızartmasına geçme oranları, bu termal prosesteki E vitamini davranışını inceleyen Chiou ve ark. tarafından da araştırılmıştır [8].

2.5 NSZY ve Süt Proteinleri

Zeytinyağı bileşikleri ile süt proteinleri arasındaki etkileşimler de gıda matriksinin algılanmasını ve nütrisyonel kalitesini değiştirebilir. Meynier ve ark. [24] NSZY'de yüksek miktarlarda bulunan heksanal ve t-2-heksanal uçucu bileşiklerinin peynir altı suyu proteinleri ve sodyum kazeinat ile kovalen bağlanarak okside lipidlerin varlığında amino asit kompozisyonunda değişimlere yol açabileceğini göstermişlerdir. Benzer bir davranış NSZY fenolik bileşikleri ile süt proteini arasında da, algılanan acılık ve buruklukta azalma ile birlikte gözlenebilir. Bir başka önemli konu da uçucu olan ve uçucu olmayan (biofenoller) bileşiklerin sudaki yağ emülsiyonları ile ilişkili olarak algılanma düzeyleridir. Emülsiyonlardaki hidrofobik tat komponentleri suda yağa göre daha düşük kon-

santrasyonlarda algılanabilir ve lipid oksidasyon ürünlerinin çoğu yağ fazında yüksek çözünürlüğe sahiptir [6].

NSZY ve süt proteinlerinin mevcut olduğu gıda sistemlerindeki etkileşimler NSZY'nin duyusal özelliklerinin ciddi biçimde modifiye olmasına yol açarak acılık ve burukluk tadının kaybına yol açar.

3 Sonuçlar

Burada kısaca tartışılan bilimsel kanıtlar NSZY'nin aktif fonksiyonel bir rolü olduğunu göstermiştir. Akdeniz diyetindeki bu rol sadece çiğ tüketildiğinde bir antioksidan kaynağı olmasından değil pişirme esnasında diğer gıda komponentlerini korumasından da kaynaklanmaktadır.

Diğer komponentlerle de (karotenoidler, omega-3 PUFA ve proteinler) çeşitli modifikasyonlar ve pozitif etkileşimler oluşabilir. NSZY ile pişirilen gıdaların nütrisyonel kalitesi ve antikarsinojenik etkileri artabilir. Bu etkinin varlığı pişmiş domates ve NSZY karışımı için net olarak gösterilmiştir [17].

Referanslar

1. Ambrosino ML, Della Medaglia D, Paduano A et al (2002) Behaviour of phenolic antioxidants of virgin oil during oil heating and frying. In: Amadò R et al (eds) Bioactive compounds in plant foods: healt effects and perspectives for the food industry. European scientific conference of COST action 916. EC Office for Official Publications, Luxembourg, pp 119–120, ISBN 92-828-1816-0
2. Andrikopoulos NK, Kalogeropoulos N, Falirea A et al (2002) Performance of virgin olive oil and vegetable shortening during domestic deep-frying and pan-frying of potatoes. Int J Food Sci Technol 37:177–190
3. Andrikopoulos NK, Dedoussis GVZ, Falirea A et al (2002) Deterioration of natural antioxidant species of vegetable edible oils during the domestic deep-frying and pan-frying of potatoes. Int J Food Sci Nutr 53:351–363
4. Arribas-Lorenzo G, Fogliano V, Morales FJ (2009) Acrylamide Formation in a cookie system as influenced by the oil phenol profile and degree of oxidation. Eur Food Res Technol 228:311–319
5. Beauchamp GK, Keast RS, Morel D et al (2005) Ibuprofen-like activity in extra-virgin olive oil. Nature 437:45–46
6. Beltran G, Paz Aguilera M, Gordon MH (2005) Solid phase microextraction of volatile oxidation compounds in oil-in-water emulsions. Food Chem 92:401–406
7. Brenes M, Garcia A, Dobarganes MC et al (2002) Influence of thermal treatments simulating cooking processes on the polyphenol content in virgin olive oil. J Agric Food Chem 50:5962–5967
8. Chiou A, Kalogeropoulos N, Boskou G et al (2012) Migration of health promoting microconstituents from frying vegetable oils to French fries. Food Chem 133:1255–1263
9. Cicerale S, Lucas LJ, Keast RS (2012) Antimicrobial, antioxidant and anti-inflammatory phenolic activities in extra virgin olive oil. Curr Opin Biotechnol 23:129–135
10. Della Medaglia D, Ambrosino ML, Spagna Musso S et al (1996) Modification of phenols during the storage and heating of extra-virgin olive oil. Oil Process and Biochemistry of lipids. In: 1st European meeting of the American oil chemists society, University of Burgundy, Dijon (France) 19–20 Sept, p B24

11. EFSA (2011) Scientific Opinion on the substantiation of health claims related to polyphenols in olive and protection of LDL particles from oxidative damage (ID 1333, 1638, 1639, 1696, 2865), "maintenance of normal blood HDL-cholesterol concentrations" (ID 1639), "maintenance of normal blood pressure" (ID 3781), "anti-inflammatory properties" (ID 1882), "contributes to the upper respiratory tract health" (ID 3468), "can help to maintain a normal function of gastrointestinal tract" (3779), and "contributes to body defences against external agents" (ID 3467) pursuant to Article 13(1) of Regulation (EC) No 1924/2006. EFSA J 9(4):2033
12. Fini L, Hotchkiss E, Fogliano V et al (2008) Chemopreventive properties of pinoresinol-rich olive oil involve a selective activation of the ATM-p53 cascade in colon cancer cell lines. Carcinogenesis 29:139–146
13. Fogliano V, Ritieni A, Monti S et al (1999) Antioxidant activity of virgin olive oil phenolic compounds in a micellar system. J Sci Food Agric 79:1803–1808
14. Fogliano V, Sacchi R (2006) Oleocanthal in olive oil: between myth and reality. Mol Nutr Food Res 50:5–6
15. Frankel EN (1998) Lipid Oxidation. The Oily Press Ed, Dundee
16. Frankel EN (2011) Nutritional and biological properties of extra virgin olive oil. J Agric Food Chem 59(3):785–792
17. Lee A, Thurnham I, Chopra M (2000) Consumption of tomato products with olive oil but not sunflower oil increases the antioxidant activity of plasma. Free Radical Biol Med 29:1051–1055
18. Lucas L, Russell A, Keast R (2011) Molecular mechanisms of inflammation. Anti-inflammatory benefits of virgin olive oil and the phenolic compound oleocanthal. J Agric Food Chem 59:785–792
19. Kalogeropoulos N, Chiou A, Mylona A et al (2007) Recovery and distribution of natural antioxidants (α-tocopherol, polyphenols and terpenic acids) after pan-frying of Mediterranean finfish in virgin olive oil. Food Chem 100:509–517
20. Kalogeropoulos N, Mylona A, Chiou A et al (2007) Retention and distribution of natural antioxidants (α-tocopherol, polyphenols and terpenic acids) after shallow frying of vegetables in virgin olive oil. LWT 40:1008–1017
21. Medina I, Sacchi R, Aubourg S (1995) A ^{13}C-NMR study of lipid alteration during fish canning: effect of filling medium. J Sci Food Agric 69:445–450
22. Medina I, Sacchi R, Giudicianni I et al (1998) Oxidation of fish lipids during thermal stress as studied by ^{13}C nuclear magnetic resonance spectroscopy. J Am Oil Chem Soc 75:147–154
23. Medina I, Sacchi R, Biondi L et al (1998) Effect of packing media on the oxidation of canned tuna lipids. Antioxidant effectiveness of extra virgin olive oil. J Agric Food Chem 46:1150–1157
24. Meynier A, Rampon V, Delgadarrondo M et al (2004) Hexanal and t-2-hexenal form covalent bonds with whey proteins and sodium caseinate in aqueous solution. Int Dairy J 14:681–690
25. Monti S, Ritieni A, Sacchi R et al (2001) Characterisation of phenolic compounds in virgin olive oil and their effect on the formation of carcinogenic/mutagenic heterocyclic amines in a model system. J Agric Food Chem 49:3969–3975
26. Napolitano A, Morales F, Sacchi R et al (2008) Relationship between virgin olive oil phenolic compounds and acrylamide formation in fried crisps. J Agric Food Chem 56:2034–2040
27. Omoni AO, Aluko RE (2005) The anti-carcinogenic and anti-atherogenic effects of lycopene: a review. Trends Food Sci Technol 16:344–350
28. Pannellini T, Iezzi M, Liberatore M et al (2010) A dietary tomato supplement prevents prostate cancer in TRAMP mice. Cancer Prev Res (Phila) 3:1284–1291
29. Pernice R, Vitaglione P, Sacchi R et al (2007) Phytochemicals in mediterranean diet: the interaction between tomato and olive oil bioactive compounds. In: Hui YH et al (eds) Handbook of food products manufacturing, Vol 2. Wiley-Interscience, London, pp 53–68. ISBN 978-0-470-04964-0

30. Persson E, Graziani G, Ferracane R et al (2003) Influence of antioxidants in virgin olive oil on the formation of heterocyclic amines in fried beef burgers. Food Chem Tox 41:1587–1597
31. Preedy V R, Watson RR (2010) Olives and olive oil in health and disease prevention. Academic Press, Elsevier Inc, USA
32. Sacchi R, Paduano A, Fiore F et al (2002) Partition behavior of virgin olive oil phenolic compounds in Oil-Brine mixtures during thermal processing for fish canning. J Agric Food Chem 50:2830–2835
33. Sacchi R, Falcigno L, Paduano A et al (2006) Quantitative evaluation of the aldehydes formed in heated vegetable oils using high resolution proton-NMR spectroscopy. Riv Ital Sostanze Grasse 82:257–263
34. Savarese M, Parisini C, De Marco E et al (2006) Detection of biophenols from virgin olive oil in fried French-fries potatoes by high-performance liquid chromatography tandem electrospray ionization mass spectrometry (HPLC-ESI/MS). In: 4th EuroFed lipid congress (Oils, fats and lipids for a Healthier future), University Complutense of Madrid, Spain
35. Vitaglione P, Fogliano V (2004) Use of antioxidants to minimize the human health risk associated to mutagenic/carcinogenic heterocyclic amines in food. J Chromatography B 802:189–199
36. Vitaglione P, Savarese M, Paduano A et al (2012) Healthy virgin olive oil: a matter of bitterness. Critical Rev Food Sci Nutr, in press

Kanser Reküransının Hayat Tarzı Değişimleri ile Önlenmesi: Yin ve Yang

Franco Berrino

Özet

Hayat tarzının kanser teşhisi sonrası prognozu etkileyebileceği ile ilgili kanıtlar giderek artmaktadır. Çeşitli çalışmalarda Batı diyet paterni, obezite, kilo alımı, sedanter yaşam tarzı, metabolik sendrom, yüksek serum insülin düzeyleri, büyüme faktörleri ve enflamatuar sitokinlerin kanser teşhisi sonrasındaki rekürans insidansını artırdığı gösterilmiştir. Bu çalışmaların çoğu meme ve kolon kanserinde yapılmıştır. Ancak kanserin klinik yönetiminde hayat tarzını iyileştirmeye ve vücut ağırlığını kontrol etmeye yeterince dikkat gösterilmemektedir. Kanser reküransı ile ilişkili gözlemlerin doğrulanabilmesi ya da çürütülmesi için hayat tarzı girişim çalışmalarına ihtiyaç vardır. Ancak şu anda bile orta derecede fiziksel egzersiz, orta derecede kalori kısıtlaması ve Akdeniz diyet paterninin uygulanmasının önünde bir kontrendikasyon mevcut değildir. AICR/WCRF 2007 tarafından gerçekleştirilen sistematik literatür analizleri sonucunda, kanser hastalarının kanserin önlenmesine uygun hayat tarzı sürdürmeleri tavsiye edilmektedir. AICR/WCRF tavsiyeleri ilginç biçimde uzak Doğu filozofisine dayanan geleneksel kurallarla benzerlik göstermektedir. Bu kurallarda şekerli içecekler ve kalori yoğun yiyecekler gibi aşırı "yin" gıdalardan ve işlenmiş et gibi gibi aşırı “yang” gıdalardan kaçınılması ve tam taneli işlenmemiş tahıllar gibi hafifçe yang gıdalar ile baklagiller ve sebzeler gibi hafifçe yin gıdaların dengeli olarak tüketilmesi gerekmektedir.

Anahtar Kelimeler

Makrobiyotik diyet • Hayat tarzı • Akdeniz diyet paterni • Meme kanseri

F. Berrino (✉)
Fondazione IRCCS Istituto Nazionale dei Tumori, Via Venezian, 1, 20133, Milan, Italy
e-mail: franco.berrino@istitutotumori.mi.it

V. Zappia et al. (eds.), *Advances in Nutrition and Cancer,*
Cancer Treatment and Research 159, DOI: 10.1007/978-3-642-38007-5_20,
© Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2014

Kısaltmalar

CMF	Siklofosfamid/metotreksat/5-florourasil
CR	Kalori kısıtlaması
MS	Metabolik sendrom

İçindekiler

1 Giriş 342
2 "Yin" Gıdalar ve "Yang" Gıdalar 343
3 Beslenmede Sinerji 345
4 Kanser ve Hayat Tarzı 347
Referanslar 349

1 Giriş

Dünyada bulaşıcı olmayan yaşa bağlı kronik hastalıkların prevalansının eşi görülmemiş bir şekilde arttığı bir döneme giriyoruz. Bu bulgu ekonomik ve sosyal problemlerde çok ciddi artışa yol açmaktadır. İnsanlarda görülen kronik hastalıklar kompleks ve nonlineer proseslerdir. Birbirine bağlı çok sayıda genetik ve metabolik yolaklardan kaynaklanan bu sorunla başa çıkabilmek için çok boyutlu önleyici stratejilerin kullanılması gerekmektedir. Hayvanlarda kanser ve yaşla ilişkili diğer kronik hastalıkların önlenmesi ile hayatın uzatılmasındaki en güçlü diyet girişimi kalori kısıtlamasıdır. İnsanlarda ise kalori yoğun diyetler ve sedanter yaşam tarzı artan metabolik sendrom (MS) prevalansından sorumludur ve sigara kullanımı ile birlikte en sık görülen kronik hastalıkların en önemli önlenebilir nedenidir. Metabolik sendroma insülin, büyüme faktörleri ve enflamatuar sitokinlerin düzeylerindeki artış aracılık yapar. MS'nin kanser reküransının majör belirleyicisi olduğu yönündeki kanıtlar da giderek artmaktadır [6, 44, 46, 49, 55, 59, 60]. Biz ve diğer araştırmacılar tarafından gösterildiği üzere, sürdürülebilir kalori kısıtlaması MS prevalansındaki azalma ile ilişkilidir. Bu amaca diyet alışkanlıklarının kapsamlı olarak değiştirilmesi ile ulaşılabilir. Değişimler hayvansal gıdaların ve rafine karbonhidratların azaltılması ile tam taneli tahılların, baklagillerin ve sebzelerin artırılmasını kapsar [2, 13]. Kronik hastalıklar sıklıkla Batı hayat tarzı faktörlerinin sonucunda oluşur. Ancak bugüne kadar, potansiyel koruyucu ve sürdürülebilir hayat tarzına yapılan yatırımlar muhtemel getirisine kıyasla oldukça düşüktür.

Kanser ve diğer kronik hastalıkların biyolojileri, son birkaç dekad içinde son derece hızlı gelişmekte ve kardiyovasküler hastalıkların önlenmesinde (spesifik risk faktörlerinin tedavi edilmesine dayanır) çok faydalı olan ancak kanser için çoğunlukla geçer-

siz olan geçmişte sık kullanılan indirgemeci yaklaşım yerine kompleksitenin önemini vurgulamaktadır. İnsanlarda şu anda kadar yapılan kanser kemoprevensiyon deneyleri giderek gelişmekte olan kanserin kompleks bir hastalık olduğu görüşünü dikkate alıyor görünmemektedir. Çoğu tek veya birkaç besin öğesinin takviyesine veya kullanımının durdurulmasına dayanan bu çalışmaların çoğu başarısız olmuş veya net olmayan sonuçlar vermiştir. Kanserin gelişiminde rol oynayan kompleks biyolojik sistemleri hedeflenen şekilde etkileyebilmek için muhtemelen çok boyutlu girişimlere ihtiyaç vardır. Çok sayıda dolaylı yolağın varlığı nedeniyle, bir veya birkaç yolağa odaklanan tek bir ajan veya faktör muhtemelen başarısız olacaktır. Hatta potansiyel olarak koruyucu olan yolaklarla etkileşerek tehlikeli olma ihtimali de vardır.

2 "Yin" Gıdalar ve "Yang" Gıdalar

Tüm gıdalar yaşayan organizmalar olan hayvan veya bitkilerden elde edilir. Bu gıdalar insanların ataları gibi milyonlarca yıllık süreç içinde evrimleşmiş son derece kompleks organizmalardır. Gıdaların mevcudiyeti insan evrimini etkilemiştir (tersi de geçerlidir). Toksik gıdalar giderek hızlanan şekilde tespit edilmekte ve diyetlerden çıkarılmaktadır. Doğal seleksiyon sağlıklı üremeyi mümkün kılacak gıda paternlerinin adaptasyonunu sağlamıştır. Tahıllar son 10-30.000 yıl içinde hemen tüm insan popülasyonlarının değişmez gıdası olmuştur. İnsanlar tahıllar ile baklagilleri aynı yemekte kombine etmenin avantajını, içeriklerindeki tamamlayıcı aminoasit kompozisyonunu öğrenmeden binlerce yıl önce kullanmaya başlamıştır. Diyetle lif tüketimi ve mortalite ilişkisini araştıran iki güncel kohort çalışması mevcuttur. Avrupa'da yapılan EPIC [8] ve ABD'de yapılan NCI-ARP çalışmasında [45], yüksek tahıl liflerinin kullanımının düşük kanser, kardiyovasküler, pulmoner, gastrointestinal ve enfeksiyon hastalıkları mortalitesi ile ilişkili olduğu istikrarlı olarak gösterilmiştir. Ayrıca sebze ile alınan liflerin de kısmen koruyucu olduğu ancak meyve liflerinin bu özelliği taşımadığı da tespit edilmiştir. İlginç biçimde tam taneli tahılların komponentlerin (lifler, vitaminler veya mineraller) izole olarak uygulanmasında koruyucu etki görülmemesi [26], tahıllardaki birden fazla bileşenin bir araya gelerek "gıda sinerjisi" ile toplam etki yaptığını düşündürmektedir [23–25].

Tam taneli tahıllar (başlıca esmer pirinç, darı, arpa, yulaf) ve kısmen de kara buğday ve buğday makarnası makrobiyotik bir diyetin temel komponentleridir. Ayrıca %20-30 lokal sebzeler, %5-10 fasulye (geleneksel soya ürünleri de içerir), deniz sebzeleri ile bazen de meyve, sert kabuklu yemişler ve balık içerir [33]. 2007 WCRF/AICR kanserin önlenmesi tavsiyeleri ilginç bir şekilde şeker ve şekerli ve alkollü içecekler gibi aşırı derecede "yin" gıdalar ile işlenmiş et, tuzlu gıdalar, kırmızı et gibi aşırı "yang" gıdalardan sakınılmasını öneren makrobiyotik tavsiyelerle genel bir benzerlik göstermektedir.[1] Ana tavsiye olan "Çoğunlukla bitkisel kaynaklı gıdalar tüketiniz. Hergün çeşitli nişastasız sebzeler ve

[1] www.dietandcancerreport.org

Tablo 1 WCRF tavsiyeleri

• Normal sınırlar içindeki vücut ağırlığına mümkün olduğu kadar yakın olunuz
• Fiziksel aktiviteyi günlük yaşamın bir parçası haline getirerek aktif kalınız
• Enerji yoğun besinlerin tüketimini azaltınız ve şekerli içeceklerden kaçınınız
• Çoğunlukla bitkisel kaynaklı gıdalar tüketiniz. "Hergün çeşitli nişastasız sebzeler ve çeşitli meyveler" ile "her öğünde görece az işlenmiş tahıllar (taneli) ve/veya bakliyat" tüketiniz
• Kırmızı et tüketimini azaltınız ve işlenmiş etten sakınınız
• Alkollü içkileri azaltınız
• Tuz tüketimini azaltınız. Küflü tahıl veya baklagil tüketiminden sakınınız
• Nütrisyonel ihtiyaçları sadece diyetle karşılamaya çalışınız
• Anneler emzirmeli; bebekler emzirilmelidir
• Kanser hastaları kanserin önlenmesi ile ilişkili tavsiyelere uymalıdır

Şekil 1 Yin ve yang kavramını temsil eden Tao piktogramı.



çeşitli meyveler ile her öğünde görece az işlenmiş tahıllar ve/veya bakliyat tüketiniz" ifadesi aynı zamanda Akdeniz diyetinin de temel özelliğidir. Aynı zamanda endüstri devriminden önceki toplumlarının çoğunun temel gıdalarıdır: İtalya'da fasulye ile makarna, Kuzey Afrika'da nohut ile kuskus, Asya'da soya ürünleri ile pirinç, Orta Amerika'da darı ile börülce, Siyahi Afrika'da darı ve yer fıstığı bu yiyeceklere örnek olarak verilebilir.

Tablo 2 Yin-yang kriterlerine göre sıralanmış WCRF nütrisyonel tavsiyeleri

Şekerli içeceklerden kaçınız	▼▼▼
Alkollü içkileri azaltınız	▼▼
Yüksek enerjili gıdaları azaltınız	▼
Çoğunlukla görece az işlenmiş tahıllar, bakliyat, sebzeler içeren, bitkisel kaynaklı gıdalar tüketiniz.	
Kırmızı et tüketimini azaltınız	▼
Tuz tüketimini azaltınız	▼▼
İşlenmiş etlerden sakınınız	▼▼▼

Yin-yang konsepti Çin filozofisinde polar karşıtların veya belirgin olarak zıt güçlerin doğal dünyada birbirleriyle nasıl bağlantılı olduklarını ve herşeyin meydana gelmesine nasıl neden olduklarını tanımlamakta kullanılır. Yin ve yang karşıt değil tamamlayıcı güçlerdir. Herşeyin hem yin hem de yang yönü vardır. Yin ve yang konsepti Tao piktogramı ile gösterilmektedir (Şekil 1). Sembolik olarak omuzlarındaki bambu kamışına asılı iki sepetten birinde yin enerjisini diğerinde ise yang enerjisini taşıyan yürüyen bir adam ile ifade edilir. Bu insan sadece iki enerji arasında mükemmel bir denge olması halinde Tao'ya doğru ilerleyebilir. Klasik olarak "yang" ifadesi "güneşli tarafı", "yin" ifadesi ise "gölgeli tarafı" sembolize eder. Karanlık, pasif, kadınsı, soğuk, ıslak, yaygın ve zayıf olan "yin" dünya ile ilişkilidir. Parlak, aktif, erkeksi, sıcak, kuru, odaklı ve güçlü olan "yang" ise gökyüzü ve güneş ile ilişkilidir. Hayvansal besinler, özellikle de tuz ve tuzlu et yangdır. Bitkisel besinler ise yindir. Yağlar, alkollü içkiler ve şeker gibi rafine besinlerin çoğu da yindir.

Tablo 2 WCRF/AICR tavsiyelerinin yin ve yangdaki makrobiyotik sınıflamaya göre sıralanmış halini göstermektedir. Bir üçgen ile sembolize edilen yang bu üçgenin tabanında huzur içinde dinlenmektedir. Yini sembolize eden üçgen ise tepe noktasındaki dengeyi zorlukla sağlayabilmektedir. WCRF/AICR tavsiyelerinin aslında aşırı derecede yin ve yang gıdalardan sakınılmasını, yin ve yang gıdalarının dengesini bozan gıdaların azaltılmasını, taneli işlenmemiş tahıllar gibi hafifçe yang gıdaların, baklagiller ve sebzeler gibi hafifçe yin gıdalar ile dengelenmesini önerdiği görülmektedir.

Gerçekten de ılıman iklimlerde yaşayan tüm toplumların gastronomik geleneklerine bakıldığında, genel olarak yang ve yin gıdalarının dengelenmeye çalışıldığı görülmektedir: Balık sıklıkla kaynatılmış patatesle, hindi kestane ile doldurulmuş olarak, kırmızı et biraz salata ve kırmızı şarapla servis edilir; İtalya'da tuzlu jambon karpuzla, Sicilya'da narenciye türü meyveler tuz ile tüketilir; kırmızı etten yapıldığı ve yüksek ısıda pişirildiği için aşırı derecede yang bir gıda olan hamburger sıklıkla buzlu ve şekerli yin içeceklerle tüketilmektedir. Sadece çok soğuk (yin) iklimlerde domuz pastırması ve yumurta gibi çok yang olan kahvaltılar tüketilir. Sıcak iklimlerde ise yin meyveler ve tatlılar tercih edilir. Taoist filozofinin ana prensiplerinden biri wu-wei'nin (tam anlamı eylemsizliktir) eylemsizlik ile uygulanması vurgular. Temel olarak doğaya saygı duyma, doğa ile uyum sağlama ve natürelliği ifade eder. Nütrisyonel olarak da aşırı derecede işlenmiş gıdaların yerine natürel, basit ve uyumlu gıdaların seçilmesine dayanır.

3 Beslenmede Sinerji

Gıda komponentleri arasında sinerji oluşturan basit gıdaların tercih edilmesi giderek daha fazla kabul görmektedir [25]. Balıktan alınan omega-3 yağ asitlerinin biyoyararlanımı takviyelerle alınandan birkaç kat daha yüksektir. Yağda çözünen bir vitaminin takviye olarak alınması aynı taşıyıcı mekanizmayı kullanan vitaminlerin absorpsiyonunda azalmaya yol açabilir. Gıda takviyeleri (başlıca antioksidan vitaminler, mineral-

ler ve B vitaminleri) ile ilgili randomize kontrollü çalışmaların çoğunda ya hiçbir etki bulunmamış ya da advers olaylar görülmüştür. Buna karşın ihtiyatlı veya Akdeniz diyet paterni skoru yüksek olan bireylerde gerçekleştirilen gözlemsel çalışmalarda kronik hastalık insidansı daha düşük bulunmuştur. Diyabet [51], kardiyovasküler hastalık [18, 30], Alzheimer [53], meme [9, 57, 61], mide [3], kolon [5] ve pankreas [27] kanserini de içeren çeşitli kanserlerin insidansları bu bireylerde anlamlı olarak daha düşük bulunmuştur.

Doğal gıdaların içerikleri koordinasyon içindedir ve ortama göre konsantrasyonları farklılıklar gösterir. Örneğin dağlarda büyüyen sebzeler, soğuktan koruyan poliansatüre yağ asitleri yönünden daha zengindir. Yüksek oranda poliansatüre yağ asidi içeren gıdalar da antioksidan fitokimyasallar yönünden genellikle daha zengindir. Fitokimyasalların gen ekspresyonunu etkiledikleri, DNA metilasyonunu, histon asetilasyonunu ve mikro-RNA'yı artırdığı ya da azalttıkları yönündeki kanıtlar giderek artmaktadır. Çeşitli kanser türlerinde gösterilen spesifik DNA metilasyonları ve histon modifikasyonları çoğunlukla proenflamatuar mikroortamlarla ilişkilidir. Epigenetik değişimler prensipte ardışık mitotik bölünmeler ile iletilebildiği için, gebelik öncesi veya embriyonik gelişim sırasında oluşmaları organizmanın genel epigenetik statüsü üzerinde çok daha büyük etki yapacaktır. Ancak diyet ve fiziksel aktivite gibi çevresel faktörler her yaşta DNA modifikasyonuna ve histon asetilasyonuna yol açabilirler [14, 36]. Global hipometilasyon ve bulunduğu bölgeye spesifik hipermetilasyon insan tümörlerinin genel özelliğidir. Diyet epigenetik paternleri derinden değiştirebilir. Ancak insan hastalıklarının gelişiminde diyet ve epigenetik arasındaki nedensel ilişki hala çok az düzeyde anlaşılmıştır. Hangi advers epigenetik işaretlerin ilaçlar, besinler veya hayat tarzı değişimleri ile geriye çevrilebileceğini araştıran zorlu bir araştırma alanı gelişmektedir. Elliden fazla biyoaktif fitokimyasalın DNA metiltransferaz veya histon asetilaz/deasetilazı etkilediği gösterilmiştir. Hayvanlarda veya insan hücre kültürlerinde yapılan deneysel çalışmalar fitokimyasalların kanserdeki rolünü desteklemektedir. Ancak bu deneyler insanlardaki konsantrasyonların çok üzerindeki değerler ile gerçekleştirilmiştir. Bu sonuçlardan bu maddelerin insanlardaki hastalıkların önlenmesi ile ilişkili etkilerini tahmin etmek çok güçtür. Ancak fizyolojik konsantrasyonlara sürekli maruz kalmanın epigenomu kümülatif bir şekilde yeniden yapılandırabileceği yönündeki kanıtlar artmaktadır [52]. Ayrıca bu deneylerde kullanılan tam gıda ekstrelerinin izole spesifik bileşenlere göre anlamlı olarak daha yüksek fizyolojik etkileri olduğu bulunmuştur: "Tabiat ana bitkileri yaratırken ne yaptığını biliyordu: Sebzeler, meyveler, tam tahıllar, sert kabuklu yemişler ve baklagiller vitamin, mineral, lif, protein, antioksidan ve daha birçok önemli bileşenin zengin kombinasyonlarını içeren mükemmel örneklerdir" ([24] nolu referanstan alınmıştır). Biyolojik olarak aktif gıda komponentleri hakkında henüz bilmediğimiz ve anlamadığımız çok şey olduğu için gıdaların doğal formlarına en uygun şekilde tüketilmesi daha uygun olacaktır: Şimdi doğa ile uyum içinde olma zamanıdır.

4 Kanser ve Hayat Tarzı

Çeşitli çalışmalarda Batı diyet paterni, obezite, kilo alımı, sedanter yaşam tarzı, metabolik sendrom, yüksek serum insülin düzeyleri, büyüme faktörleri ve enflamatuar sitokinlerin kanser teşhisi sonrasındaki rekürans insidansını artırdığı ve kansere spesifik sağkalımı azalttığı gösterilmiştir.< Çalışmaların çoğu meme ve kolon kanserinde yapılmıştır. Ancak kanserin klinik yönetiminde hayat tarzını iyileştirmeye ve vücut ağırlığını kontrol etmeye yeterince dikkat gösterilmemektedir.

KANSER reküransı ile ilişkili gözlemlerin doğrulanabilmesi ya da çürütülmesi için hayat tarzı girişim çalışmalarına ihtiyaç vardır. Ancak şu anda bile orta derecede fiziksel egzersiz, orta derecede kalori kısıtlaması ve Akdeniz diyet pateninin uygulanmasının önünde bir kontrendikasyon mevcut değildir. Çeşitli çalışmalarda meme [10, 37, 50, 54], kolorektal [11, 20] ve prostat kanseri [17, 38] teşhisi koyulan obez bireylerin kanserin evresinden ve hastalığın diğer biyolojik özelliklerinde bağımsız olarak daha düşük genel ve hastalıksız sağkalıma sahip oldukları gösterilmiştir. Son zamanlarda yapılan klinik bir çalışmada obezitenin non-Hodgkin lenfoma için de olumsuz bir prognostik faktör olduğu gösterilmiştir [16]. Meme kanseri hastalarını takip eden 43 çalışmanın metaanalizinde obez hastaların normal kilolu hastalara göre hem genel [HR 1.33; %95 güven aralığı (CI) 1.21, 1.47] hem de meme kanserine spesifik sağkalımlarının (HR 1.33; %95 CI 1.19, 1.50) daha kötü olduğu gösterilmiştir. Benzer sonuçlar obezite ölçütü olarak bel kalça oranı kullanıldığında da elde edilmiştir (HR 1.31; 1.08, 1.58). Bu etki hem premenopozal hem postmenopozal hastalar ile tedavi ve gözlem kohortları için de geçerliydi [50].

Meme kanseri teşhisi sonrası kilo alımının total ve meme kanseri mortalitesini artırdığı yönünde kanıtlar da vardır. Bir başka çalışmada her 5 kg'lık kilo artışının meme kanserine spesifik mortalitede %13 azalma ile ilişkili olduğu bulunmuştur [43]; tanı sonrası kilo kaybı ise tüm nedenlere bağlı ölümde artışa yol açarken, meme kanserine bağlı ölümleri ise (kilosu değişmeyenlere göre) anlamlı olmayan düzeyde azaltmıştır. Çeşitli çalışmalarda CMF bazlı adjuvan kemoterapi esnasındaki kilo alımının genel olarak daha kötü prognoz ile ilişkili olduğu gösterilmiştir [5, 31]. Kendi çalışmamızda adjuvan kemoterapi esnasındaki kilo alımının önlenebileceğini gösterdik [59]. Ancak günümüzde meme kanserinin klinik yönetiminde kilo kontrolüne yeterince dikkat gösterilmemektedir.

Diyetle alınan yağın azaltılmasının etkisinin test edildiği 2500 meme kanseri hastası ile yapılan randomize kontrollü çalışmada yeni meme kanseri olaylarında %24 (sınırda anlamlı) oranında azalma gösterilmiştir (lokal ve distal rekürranslar ile kontralateral meme kanseri) [7]. Bu çalışmanın girişim kolundaki kadınlar 5 yıllık takip süresince ortalama 2.1 kg zayıflamıştır. Yağ alımını azaltmanın ve meyve ve sebze tüketimini artırmanın (başlıca meyve ve sebze suları ile) etkisinin 3000'den fazla hastada test edildiği bir başka çalışmada ise herhangi bir koruyucu etki tespit edilmemiştir; ancak çalışmanın dizaynının izokalorik olması nedeniyle girişim grubuna randomize edilen kadınlar biraz kilo almıştır [48]. Bu tür bir çelişkinin olası nedeni orta derecede kalori kısıtlamasının meme kanseri reküransından koruyabilme ihtimalidir.

Opere edilen binlerce meme [21, 22, 47] ve kolorektum kanseri [20, 40] hastasında yapılan gözlemsel çalışmalarda ise tanı sonrası orta düzeyde fiziksel egzersiz yapanlardaki rekürans ve ölüm riskinin azaldığı tespit edilmiştir. I ve IV. evredeki kolon kanseri olan hastalarda herhangi bir etki mevcut değilken, II ve III: evrelerdeki hastalarda ise belirgin etki tespit edilmiştir. Fiziksel aktivitenin meme kanseri hastalarındaki etkisi östrojen reseptörü pozitif tümörlerle sınırlıdır. Hergün tempolu yürüyüş düzeyinde 30 dakika egzersiz yapan kadınlardaki kansere spesifik mortalite %30-50 oranında azalmıştır. Fiziksel aktivitenin koruyucu olmasının altında yatan mekanizma muhtemelen insülin sensitivitesi üzerindeki etkisinden kaynaklanmaktadır.

Adjuvant kemoterapi gören kolon kanseri hastalarının katıldığı diyet paterni ile ilişkili gözlemsel bir çalışmada yüksek Batı diyeti skorunun rekürans riskinde anlamlı artış ile ilişkili olduğu bulunmuştur. Daha yüksek faktör yükü olan besinler arasında peynir, yağlı soslar, margarinler, tatlılar, kırmızı et ve işlenmiş et mevcuttur [39] Ancak meme kanseri hastalarında yapılan benzer çalışmalarda Batı diyet paterni ile tüm nedenlere bağlı ölüm daha düşük tespit edilmiştir. Bu etki meme kanserine spesifik mortalite için geçerli değildir [32, 35]. Ovaryum kanseri hastalarında yapılan iki çalışmada süt ürünlerinden zengin ve sebze yönünden fakir diyetlerin daha kötü sağkalım ile ilişkili olduğu bulunmuştur [12, 41]. Ancak bu çalışmalar çalışmada yer alan hastaların tanı öncesindeki diyetlerini hatırlamalarına dayanmaktadır. Gözlemsel çalışmalarda soya [4, 19, 29, 56] ve turpgiller gibi spesifik sebze yemeklerinin hem hormon tedavisi alan hem de almayan meme kanseri hastalarındaki reküransı azaltmaya yardımcı olabileceği öne sürülmüştür. Ayrıca gıdalarla alınan deniz ürünleri kaynaklı yağ asitlerinin de meme kanseri reküransında ve tüm nedenlere bağlı ölümde muhtemel azalma ile ilişkili olduğu gösterilmiştir: 6 yıl süreli olan ve hastaların son 24 saat içinde yediklerini hatırlamalarına dayanarak diyet değerlendirmesi yapan bir çalışmada uzun zincirli omega 3 yağ asidi tüketimi en yüksek 2 üçtebirlik dilimde olan meme kanseri hastalarında ilave meme kanseri olaylarının görülme riski %25 azalmıştır [27, 58]. Omega-3 takviyelerinin tüketimi ile herhangi bir koruyucu etki tespit edilmemiştir. Meme kanserinde multivitamin desteğinin araştıran çalışmalarda elde edilen sonuçlar ise çelişkilidir [34, 42].

DIANA (Diyet ve Androjen) çalışmalarında meme kanserinin önlenmesinde diyet girişimlerinin etkisi araştırılmıştır. Birkaç ay süreyle uygulanan Akdeniz ve makrobiyotik diyetin yüksek meme kanseri riski altındaki kadınların metabolik ve endokrin özelliklerini olumlu yönde (insülin düzeyleri ile büyüme faktörlerinin ve seks hormonlarının biyoyararlanımlarının azalması) modifiye etmek için yeterli olduğu gösterilmiştir [2, 28]. Hala sürmekte olan DIANA-5 projesi [60] metabolik sendrom ve/veya yüksek serum insülin veya testosteron düzeyleri nedeniyle yüksek rekürans riski altında bulunan 2000 meme kanseri hastasında diyet ve fiziksel aktivitenin etkisini araştıran randomize kontrollü bir çalışmadır. Çalışmanın amacı 2007 Dünya Kanser Araştırma Fonu tavsiyelerinde yer alan orta derecede fiziksel egzersiz, orta düzeyde kalori kısıtlaması ile büyük bölümü bitkisel kaynaklı olan ve çok çeşitli işlenmemiş taneli tahıllar, baklagiller, mevsim sebzeleri ve meyve içeren diyetlerin meme kanseri reküransını anlamlı olarak azaltabileceği hipotezini test etmektir.[2]

[2] www.dietandcancerreport.org

Bu ve diğer çalışmalardan kanserle ilişkili morbiditenin azaldığını ve hayat kalitesinin yükseldiğini gösteren sonuçlar elde edilmesi durumunda, diyet tavsiyesi ve kilo kontrolü meme kanseri hastaları için yeni bir bakım standardı haline gelebilir.

Referanslar

1. Agnoli C, Krogh V, Grioni S, Sieri S et al (2011) A priori-defined dietary patterns are associated with reduced risk of stroke in a large Italian cohort. J Nutr 141:1552–1558
2. Berrino F, Bellati C, Secreto G et al (2001) Reducing bioavailable sex hormones through a comprehensive change in diet: the diet and androgens (DIANA) randomized trial. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 10:25–33
3. Buckland G, Agudo A, Lujan L et al (2010) Adherence to a Mediterranean diet and risk of gastric adenocarcinoma within the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC) cohort study. Am J Clin Nutr 91:381–390
4. Caan BJ, Natarajan L, Parker B et al (2011) Soy food consumption and breast cancer prognosis. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 20:854–858
5. Camoriano JK, Loprinzi CL, Ingle JN et al (1990) Weight change in women treated with adjuvant therapy or observed following mastectomy for node-positive breast cancer. J Clin Oncol 8:1327–1334
6. Castillejos-Molina R, Rodriguez-Covarrubias F et al (2011) Impact of metabolic syndrome on biochemical recurrence of prostate cancer after radical prostatectomy. Urol Int 87:270–275
7. Chlebowski RT, Blackburn GL, Thomson CA et al (2006) Dietary fat reduction and breast cancer outcome: interim efficacy results from the Women's Intervention Nutrition Study. J Natl Cancer Inst 98:1767–1776
8. Chuang SC, Norat T, Murphy N et al (2012) Fiber intake and total and cause-specific mortality in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition cohort. Am J Clin Nutr 96:164–174
9. Cottet V, Touvier M, Fournier A et al (2009) Postmenopausal breast cancer risk and dietary patterns in the E3N-EPIC prospective cohort study. Am J Epidemiol 170:1257–1267
10. Dawood S, Broglio K, Gonzalez-Angulo AM et al (2008) Prognostic value of body mass index in locally advanced breast cancer. Clin Cancer Res 14:1718–1725
11. Dignam JJ, Polite BN, Yothers G et al (2006) Body mass index and outcomes in patients who receive adjuvant chemotherapy for colon cancer. J Natl Cancer Inst 98:1647–1654
12. Dolecek TA, McCarthy BJ, Joslin CE et al (2010) Prediagnosis food patterns are associated with length of survival from epithelial ovarian cancer. J Am Diet Assoc 110:369–382
13. Esposito K, Marfella R, Ciotola M et al (2004) Effect of a mediterranean-style diet on endothelial dysfunction and markers of vascular inflammation in the metabolic syndrome: a randomized trial. JAMA 292:1440–1446
14. Fraga MF, Ballestar E, Paz MF et al (2005) Epigenetic differences arise during the lifetime of monozygotic twins. Proc Natl Acad Sci USA 102:10604–10609
15. Fung TT, Hu FB, Wu K et al (2010) The Mediterranean and dietary approaches to stop hypertension (DASH) diets and colorectal cancer. Am J Clin Nutr 92:1429–1435
16. Geyer SM, Morton LM, Habermann TM et al (2010) Smoking, alcohol use, obesity, and overall survival from non-Hodgkin lymphoma: a population-based study. Cancer 116:2993–3000
17. Gong Z, Agalliu I, Lin DW et al (2007) Obesity is associated with increased risks of prostate cancer metastasis and death after initial cancer diagnosis in middle-aged men. Cancer 109:1192–1202

18. Guallar-Castillon P, Rodriguez-Artalejo F, Tormo MJ et al (2012) Major dietary patterns and risk of coronary heart disease in middle-aged persons from a Mediterranean country: the EPIC-Spain cohort study. Nutr Metab Cardiovasc Dis 22:192–199
19. Guha N, Kwan ML, Quesenberry CP et al (2009) Soy isoflavones and risk of cancer recurrence in a cohort of breast cancer survivors: the Life After Cancer Epidemiology study. Breast Cancer Res Treat 118:395–405
20. Haydon AM, Macinnis RJ, English DR et al (2006) Effect of physical activity and body size on survival after diagnosis with colorectal cancer. Gut 55:62–67
21. Holick CN, Newcomb PA, Trentham-Dietz A et al (2008) Physical activity and survival after diagnosis of invasive breast cancer. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 17:379–386
22. Holmes MD, Chen WY, Feskanich D et al (2005) Physical activity and survival after breast cancer diagnosis. JAMA 293:2479–2486
23. Jacobs DR Jr, Steffen LM (2003) Nutrients, foods, and dietary patterns as exposures in research: a framework for food synergy. Am J Clin Nutr 78:508S–513S
24. Jacobs DR Jr, Tapsell LC (2007) Food, not nutrients, is the fundamental unit in nutrition. Nutr Rev 65:439–450
25. Jacobs DR Jr, Gross MD, Tapsell LC (2009) Food synergy: an operational concept for understanding nutrition. Am J Clin Nutr 89:1543S–1548S
26. Jacobs DR, Pereira MA, Meyer KA et al (2000) Fiber from whole grains, but not refined grains, is inversely associated with all-cause mortality in older women: the Iowa women's health study. J Am Coll Nutr 19:326S–330S
27. Jiao L, Mitrou PN, Reedy J et al (2009) A combined healthy lifestyle score and risk of pancreatic cancer in a large cohort study. Arch Intern Med 169:764–770
28. Kaaks R, Bellati C, Venturelli E et al (2003) Effects of dietary intervention on IGF-I and IGF-binding proteins, and related alterations in sex steroid metabolism: the diet and androgens (DIANA) randomised trial. Eur J Clin Nutr 57:1079–1088
29. Kang X, Zhang Q, Wang S et al (2010) Effect of soy isoflavones on breast cancer recurrence and death for patients receiving adjuvant endocrine therapy. CMAJ 182:1857–1862
30. Keys AB, Keys M (1975) Eat well and stay well the Mediterranean way. Doubleday, Garden City
31. Kroenke CH, Chen WY, Rosner B et al (2005a) Weight, weight gain, and survival after breast cancer diagnosis. J Clin Oncol 23:1370–1378
32. Kroenke CH, Fung TT, Hu FB et al (2005b) Dietary patterns and survival after breast cancer diagnosis. J Clin Oncol 23:9295–9303
33. Kushi LH, Cunningham JE, Hebert JR et al (2001) The macrobiotic diet in cancer. J Nutr 131:3056S–3064S
34. Kwan ML, Greenlee H, Lee VS et al (2011) Multivitamin use and breast cancer outcomes in women with early-stage breast cancer: the Life After Cancer Epidemiology study. Breast Cancer Res Treat 130:195–205
35. Kwan ML, Weltzien E, Kushi LH et al (2009) Dietary patterns and breast cancer recurrence and survival among women with early-stage breast cancer. J Clin Oncol 27:919–926
36. Ling C, Groop L (2009) Epigenetics: a molecular link between environmental factors and type 2 diabetes. Diabetes 58:2718–2725
37. Loi S, Milne RL, Friedlander ML et al (2005) Obesity and outcomes in premenopausal and postmenopausal breast cancer. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 14:1686–1691
38. Ma J, Li H, Giovannucci E et al (2008) Prediagnostic body-mass index, plasma C-peptide concentration, and prostate cancer-specific mortality in men with prostate cancer: a long-term survival analysis. Lancet Oncol 9:1039–1047
39. Meyerhardt JA, Niedzwiecki D, Hollis D et al (2007) Association of dietary patterns with cancer recurrence and survival in patients with stage III colon cancer. JAMA 298:754–764
40. Meyerhardt JA, Ogino S, Kirkner GJ et al (2009) Interaction of molecular markers and physical activity on mortality in patients with colon cancer. Clin Cancer Res 15:5931–5936

41. Nagle CM, Purdie DM, Webb PM et al (2003) Dietary influences on survival after ovarian cancer. Int J Cancer 106:264–269
42. Nechuta S, Lu W, Chen Z et al (2011) Vitamin supplement use during breast cancer treatment and survival: a prospective cohort study. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 20:262–271
43. Nichols HB, Trentham-Dietz A, Egan KM et al (2009) Body mass index before and after breast cancer diagnosis: associations with all-cause, breast cancer, and cardiovascular disease mortality. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 18:1403–1409
44. Oh SW, Park CY, Lee ES et al (2011) Adipokines, insulin resistance, metabolic syndrome, and breast cancer recurrence: a cohort study. Breast Cancer Res 13:R34
45. Park Y, Subar AF, Hollenbeck A et al (2011) Dietary fiber intake and mortality in the NIH-AARP diet and health study. Arch Intern Med 171:1061–1068
46. Pasanisi P, Berrino F, De Petris M et al (2006) Metabolic syndrome as a prognostic factor for breast cancer recurrences. Int J Cancer 119:236–238
47. Patterson RE, Cadmus LA, Emond JA et al (2010) Physical activity, diet, adiposity and female breast cancer prognosis: a review of the epidemiologic literature. Maturitas 66:5–15
48. Pierce JP, Natarajan L, Caan BJ et al (2007) Influence of a diet very high in vegetables, fruit, and fiber and low in fat on prognosis following treatment for breast cancer: the women's healthy eating and living (WHEL) randomized trial. JAMA 298:289–298
49. Post JM, Beebe-Dimmer JL et al (2011) The metabolic syndrome and biochemical recurrence following radical prostatectomy. Prostate Cancer 2011:245642
50. Protani M, Coory M, Martin JH (2010) Effect of obesity on survival of women with breast cancer: systematic review and meta-analysis. Breast Cancer Res Treat 123:627–635
51. Romaguera D, Guevara M, Norat T et al (2011) Mediterranean diet and type 2 diabetes risk in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC) study: the InterAct project. Diabetes Care 34:1913–1918
52. Scalbert A, Manach C, Morand C et al (2005) Dietary polyphenols and the prevention of diseases. Crit Rev Food Sci Nutr 45:287–306
53. Scarmeas N, Stern Y, Mayeux R et al (2009) Mediterranean diet and mild cognitive impairment. Arch Neurol 66:216–225
54. Sestak I, Distler W, Forbes JF et al (2010) Effect of body mass index on recurrences in tamoxifen and anastrozole treated women: an exploratory analysis from the ATAC trial. J Clin Oncol 28:3411–3415
55. Shen Z, Ye Y, Bin L et al (2010) Metabolic syndrome is an important factor for the evolution of prognosis of colorectal cancer: survival, recurrence, and liver metastasis. Am J Surg 200:59–63
56. Shu XO, Zheng Y, Cai H et al (2009) Soy food intake and breast cancer survival. JAMA 302:2437–2443
57. Sieri S, Krogh V, Pala V et al (2004) Dietary patterns and risk of breast cancer in the ORDET cohort. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 13:567–572
58. Thomson CA, Rock CL, Thompson PA et al (2011) Vegetable intake is associated with reduced breast cancer recurrence in tamoxifen users: a secondary analysis from the women's healthy eating and living study. Breast Cancer Res Treat 125:519–527
59. Villarini A, Pasanisi P, Raimondi M et al (2012) Preventing weight gain during adjuvant chemotherapy for breast cancer: a dietary intervention study. Breast Cancer Res Treat 135:581–589
60. Villarini A, Pasanisi P, Traina A et al (2012) Lifestyle and breast cancer recurrences: The DIANA-5 trial. Tumori 98:1–18
61. Wu AH, Yu MC, Tseng CC et al (2009) Dietary patterns and breast cancer risk in Asian American women. Am J Clin Nutr 89:1145–1154

Eski Bir Antidiyabetik İlaca Yeni Yaklaşım: Antikanser Ajan Olarak Metformin

Alessandra Leone, Elena Di Gennaro, Francesca Bruzzese, Antonio Avallone ve Alfredo Budillon

Özet

Pahalı olmayan, iyi tolere edilen ve tip 2 diyabetin birinci basamak tedavisinde sıklıkla kullanılan, oral ajan metforminin potansiyel antikanser ajan özelliği önemli bir araştırma konusu haline gelmiştir. Epidemiyolojik, klinik ve preklinik kanıtların birleşimini yansıtan bu araştırmalar metforminin diyabetiklerdeki kanser riskini azaltabileceğini ve birçok sık görülen kanser türünün sonuçlarını iyileştirebileceğini göstermektedir. Metforminin diyabetiklerde hayat boyunca görülen kanser riskini yaklaşık %30 azaltabilmesi dikkate değer bir bulgudur. Metforminin ekteki etkilerinin varlığı giderek daha fazla kabul edilmektedir: (1) Mitokondriyal respirasyonu etkileyerek hücrelerdeki enerji homeostazını kontrol eden AMP-aktive protein kinaz (AMPK) aktivasyonuna yol açarak kanser hücrelerini direkt olarak etkileyebilir. (2) Büyük oranda AMPK aracılığında gerçekleşen hepatik glukoneojenezi azaltarak dolaşımdaki insülin düzeylerinin azalmasına ve PI3K yolağının insülin/IGF-1 reseptörü aracılığındaki aktivasyonunun azalmasına yol açarak konak metabolizması üzerinde indirekt etki gösterebilir. Bu etkiler, metforminin kanser hücrelerinin in vitro büyümesini inhibe ettiği, farelerde tütün karsinojeni ile indüklenen akciğer kanserinin başlangıcını geciktirdiği ve metformin analoğu fenforminin kansere duyarlı transgenik farelerde spontan tümör gelişimini geciktirdiği yönündeki gözlemler tarafından desteklenmektedir. Hem direkt antitümör etki hem de konak üze-

A. Leone · E. Di Gennaro · F. Bruzzese
Experimental Pharmacology Unit, Istituto Nazionale per lo Studio e la Cura dei Tumori Fondazioni Giovanni Pascale - IRCCS, 80131, Naples, Italy

A. Avallone
Gastrointestinal Medical Oncology Unit, Istituto Nazionale per lo Studio e la Cura dei Tumori Fondazioni Giovanni Pascale - IRCCS, 80131, Naples, Italy

A. Budillon (✉)
Direttore U.O.C. Farmacologia Sperimentale, Istituto Nazionale per lo Studio e la Cura dei Tumori Fondazioni Giovanni Pascale - IRCCS, Via Mariano Semmola, 80131, Napoli, Italy
e-mail: a.budillon@istitutotumori.na.it

V. Zappia et al. (eds.), *Advances in Nutrition and Cancer,*
Cancer Treatment and Research 159, DOI: 10.1007/978-3-642-38007-5_21,
© Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2014

rinde indirekt etki yapabilme potansiyeli çok büyük ilgi çekmiştir. Ancak preklinik bulguların kliniğe yansıtılmasında aşılması gereken ilave engeller mevcuttur. Ancak artmakta olan kanıtlar, meme kanserinde yapılan büyük ölçekli adjuvan çalışma da dahil olmak üzere, metforminin antikanser özelliklerini araştıran klinik çalışmaların başlaması için yeterli hale gelmiştir.

Anahtar Kelimeler

Metformin • Fenformin • Diabetes mellitus • AMP-aktive protein kinaz • PI_3K yolağı

Kısaltmalar

ACC	Asetil-CoA karboksilaz
ACF	Aberan kript odakları
ACL	ATP sitrat liyaz
AKT/PKB	Protein kinaz B
CaMKK2	Ca^{2+}/kalmodülin-aktive kinaz kinaz
cAMP	Siklik adenozin monofosfat
CI	Güven aralığı
CRTCS	cAMP-'a cevap veren element bağlayıcı protein (CREB)-regüle transkripsiyon koaktivatörü
CSC	Kanser kök hücresi
DM	Diabetes mellitus
ER	Östrojen reseptörü
ERK	Ekstraselüler sinyal-regüle kinaz
FAS	Yağ asidi sentaz
FOXO	Forkhead box class O
GLUT	Glukoz taşıyıcısı
GPCR	G-protein birleşik reseptör
HCC	Hepatoselüler karsinom
HIF-1α	Hipoksi ile indüklenebilir faktör 1α
HOMA	Homeastaz model değerlendirmesi
IGF	İnsülin büyüme faktörü
IGFBP	İnsülin büyüme faktörü bağlayıcı protein
IGF-R	İnsülin büyüme faktörü reseptörü
IR	İnsülin reseptörü
IRS	İnsülin reseptör substratları
LKB1	Karaciğer kinaz B1
MAPK	Mitojen aktive protein kinaz
MEF	Fare embriyonik fibroblastı
mTOR	Memeli rapamisin hedefi

mTORC1	mTOR kompleks 1
NAFLD	Nonalkolik yağlı karaciğer hastalığı
Nampt	Nikotinamid fosforibosiltransferaz
OCT	Organik katyon taşıyıcısı
PDK1-3	Piruvat dehidrogenaz kinaz 1 ve 3
PET	Pozitron emisyon tomografisi
PI3K	Fosfatidilinositol 3 kinaz
rag	Rekombinasyon aktive edici gen
RR	Rölatif risk
SREBP-1	Sterol regülatör element bağlayıcı protein 1
TSC	Tüberöz skleroz
UMIN	Üniversite Hastanesi Medikal Enformasyon Ağı
VEGF	Vasküler endotelyal büyüme faktörü

İçindekiler

1 Giriş 357
2 Kanser ve Metabolizma 358
3 Diyabet ve Kanser 360
4 Metformin ve Kanser 363
4.1 Epidemiyolojik Çalışmalar 363
4.2 Etki Mekanizması ve Preklinik Çalışmalar 366
4.3 Klinik Çalışmalar 370
5 Sonuçlar 371
Referanslar 372

1 Giriş

Diabetes mellitus (DM) insülin sekresyonu, insülin etkisi veya her ikisindeki defektlerden kaynaklanan kronik hiperglisemi ve anormal karbonhidrat, yağ ve protein metabolizması ile karakterize metabolik bir bozukluktur. Yüzyıllardır bilinen ve tedavi edilen majör ve global bir sağlık problemidir. Avrupalılar Orta Çağ'dan beri DM hastalarında görülen iki semptom olan "susama ve sıklıkla idrar yapma" belirtilerini daha sonra bir guanidin türevi olan galegin gibi aktif komponentler içerdiği tespit edilen otsu bir bitki olan Galega officinalis ekstreleri ile tedavi etmiştir. 1920'lerde galeginin kan şekerini ve insülin rezistansını azaltıcı etkisi olduğu bulunmuştur. Fenformin ve metformin gibi biguanid türevlerinin 1950'lerde klinik kullanıma sunulması oral antidiyabetik farmakoterapinin geliştirilmesinde önemli bir kilometre taşı olmuştur. Fenformin nadir görülen

fatal laktik asidoz yan etkisi nedeniyle ABD ve diğer birçok ülkede 1978'den itibaren piyasadan çekilmiştir. Ancak geçici gastrointestinal toksisiteye ve çok nadir ağır laktik asidoza neden olan metformin, birinci basamak antidiyabetik tedavide diyet ve egzersiz ile birlikte hala yaygın olarak tercih edilmektedir [80].

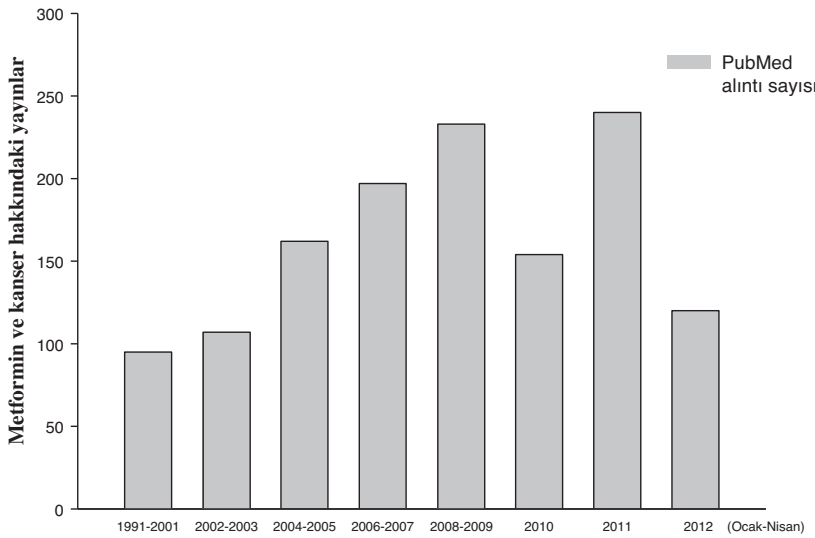
Güncel hasta serileri ve metaanalizlerde DM hastalarındaki kanser riskinin arttığı gösterilmiştir. Özellikle DM hastalarındaki metabolik dengenin deregülasyonunda rol oynayan başlıca organlar olan pankreas ve karaciğer kanserleri ile diyabet arasında güçlü bir ilişki gösterilmiştir [80]. Hiperglisemi ve hiperinsülinemi gibi metabolik patolojiler ve obezite ve yüksek oranda doymuş yağ içeren diyetler gibi DM ile ilişkili diğer unsurların da kanser için bağımsız risk faktörleri olmaları her iki hastalık arasındaki yakın ilişkiyi göstermektedir [39].

Buna karşın diyabet hastalarındaki metformin tedavisinin yaşam boyu kanser insidansında azalma ile korele olduğunu gösteren çeşitli retrospektif epidemiyolojik çalışmalar mevcuttur. Ayrıca günümüzde kanserin ana özelliklerinden biri olduğu kabul edilen metabolik programlama, antikanser tedavinin hedefi haline gelmiştir [73]. Bu bağlamda, NCI (Ulusal Kanser Enstitüsü) direktörü Harold Varmus dedike bir web sitesinde kanser araştırmalarındaki ilerlemeler ile ilgili kafa karıştırıcı problemler hakkında 24 provokatif soru sormuştur. Bu sorulardan kritik olan bir tanesi, yaygın ve kronik olarak farklı endikasyonlarda kullanılan bazı ilaçların (metformin ve diğerleri) kanserin insidans ve mortalitesini azaltabilen mekanizmalarının nasıl tanımlanacağıdır [9]. Metformin kanserde de etkili olan bir diyabet ilacı mı, yoksa diyabette de etkili olan bir kanser ilacı mıdır? [53]. Bu bölümde birçok tartışmanın yaşandığı bu alandaki tüm bu özellikleri gözden geçirerek soruların bazılarına cevap vermeye çalışacağız. Bu nedenle PubMed'de son 3 yıl içinde metformin ve kanser arasındaki ilişkiyi araştıran çok sayıda yayına rastlamak bir sürpriz değildir (Şekil 1).[1]

2 Kanser ve Metabolizma

Kanser hücrelerinin artan glukoz alımı ilk kez 1920'lerde Nobel Ödülü sahibi Otto Warburg tarafından tanımlanmıştır. Warburg etkisi adı verilen bu bulgu tümör hücrelerinin çoğunun yüksek oksijen basıncı (örn. aerobik glikoz) olan durumlarda bile korunan glikoliz artışı ile karakterize olmalarıdır. Bu artışı laktat üretim seviyelerinin artması takip eder. Bu metabolik durum, normal hücrelerin çoğundaki mitokondrial piruvatın oksidasyonu ile ilişkili olan düşük glikolitik oranlarla kontrast teşkil eder [12]. Warburg bu metabolizma değişiminin kanserin temel nedeni olduğu görüşünü de öne sürmüştür. Günümüzde, kanser hücrelerinin büyümelerinde hayati önemi olan çeşitli biyosentetik yolakların yönetilmesinde karbon kaynağı olarak artan oranlarda glukoz kullandıklarını

[1] http://provocativequestions.nci.nih.gov



Şekil 1 Grafik son 20 yıl içindeki PubMed kayıtlarında metformin ile kanser hakkındaki ilişki ile ilgili alıntıların sayısındaki artmayı göstermektedir (Mayıs 2012).

biliyoruz [47]. Glukoz metabolizmasındaki değişimler karsinogenezin erken dönemlerinde oluştuğu için, hem primer hem de metastatik kanserlerde alımı artan radyoaktif işaretli deoksiglukozu kullanarak kanseri teşhis etmeyi amaçlayan pozitron emisyon tomografisinin (PET) günümüzdeki kullanımının temeli Warburg etkisine dayanmaktadır [25, 79].

Aerobik glikolizin öncelikli kullanımı, yüksek oranda proliferatif olan hücrelerin sürekli değişen oksijen basıncı koşullarındaki sağkalımını iyileştirmektedir. Aksi halde sürekli değişen oksijen koşulları ATP üretimi için oksidatif fosforilasyona ihtiyaç duyan normal hücreler için öldürücü olacaktır [68]. Ayrıca kanser hücreleri tarafından üretilen laktik asit hücresel pH'yı etkileyerek tümör invazyonunu ve antikanser immun efektörlerin supresyonunu destekleyebilir. Pentoz fostat sistemi ile glukozu metabolize edebilen tümörler, yağ asidi sentezine katkı yapabilen ve kemoterapötik ajanlarla karşı koruyabilen NADPH üretebilirler [25, 73].

Warburg etkisi uzun yıllardır bilinmesine rağmen bu fenomenin altında yatan moleküler mekanizma henüz bilinmemektedir. Ayrıca antikanser yaklaşımlar için selektif bir hedefin tanımlanması da güçtür. Bazı yayınlarda, glukoz-6-fosfat dönüşümünü katalizleyen ve glikolitik yolakların birinci basamağının hızını sınırlayan bir metabolik enzim olan heksokinazın bir antikanser hedef olabileceği bildirilmiştir [87]. Ayrıca hem glikolitik yolaklarda rolü olan çeşitli metabolik reaksiyonların ve hem de tümör progresyonunu ve enflamatuar cevabı (örn. sirtuinler) etkileyen faktörlerin regülasyonunda hayati rol oynayan nikotinamid fosforibosiltransferaz (Nampt) ile ürünü olan nikotinamid adenin dinükleotid de (NAD) antikanser bir hedef olabilir [24].

Yeni yağ asidi üretim artışının kanser hücrelerinde hayati bir metabolik değişim olduğu ve ATP sitrat liyaz (ACL), asetil CoA karboksilaz (ACC) ve yağ asidi sentaz (FAS) gibi lipojenik enzimlerin hiperaktivitesi ile ilişkili olduğu düşünülmektedir [48]. FAS bir çok kanser türünde aşırı eksprese olur [81]. FAS'ın kimyasal inhibitörlerinin kanser hücrelerindeki proliferasyonu azaltıp, apoptozu artırdığı gösterilmiştir [48]. Güncel çalışmalarda kanser hücrelerindeki Warburg etkisinin, mitokondrial entegrasyon ve fonksiyonu korumak amacıyla, Krebs döngüsü yoluyla piruvat akışında azalmaya ve nonglukoz karbon kaynaklarının (örn. yağ asitleri) oksidasyonunda kaymaya yol açan mitokondrial ayrışmaya (kanser hücrelerinde mitokondrial membran potansiyeline cevap olarak ATP sentezinin ortadan kalkması) bağlı olabileceği bildirilmiştir [71]. Ancak diğer bazı yayınlarda Warburg etkisinin daimi mitokondrial disfonksiyonunda rol oynamayabileceği bildirilmiştir [87]. İlginç biçimde hücreleri sitotoksik saldırılara karşı daha dirençli hale getiren mitokondrilerin birbirlerinden ayrılmaları ve+ kemorezistans ile ilişkili olan yağ asidi oksidasyonunda artışın kanser tedavisinde ilave terapötik hedefler olma ihtimali vardır.

Kanser hücrelerinin metabolik yeniden programlanmaları ile il. bir başka hedefte düşük oksijenli ortama maruz kalan hücrelerin adaptasyonunda rol oynadığı düşünülen hipoksi ile indüklenen gen ekspresyonunu modüle eden bir transkripsiyon faktörü olan hipoksi ile indüklenen faktör 1a'dır (HIF-1α). Bu tür genler glikolizde rol oynayan genleri kaplar ve glukoz taşıyıcıları içerirler (GLUT1 ve GLUT3). Ayrıca güncel makalelerde, piruvat dehidrogenazın fosforilasyonunu ve devamında kanser hücrelerindeki mitokondrial respirasyonu kolaylaştıran piruvat dehidrogenaz kinaz 1 ve 3 (PDK1-3) ekspresyonunun HIF-1 tarafından indüklendiği gösterilmiştir [44, 52, 65].

Özet olarak hücresel metabolizmanın mitokondrial respirasyondan glikolize doğru kayması kanser hücrelerinin transformasyon ve progresyonları ile kemorezistansı yönlendirdiği için antikanser tedavide hayati bir hedef olarak değerlendirilmelidir.

3 Diyabet ve Kanser

DM iki predominant alt tipten oluşan (tip 1 ve 2) ve farklı metabolik aktiviteler ile karakterize olan bir grup metabolik bozukluktur. Tip 1 diyabette (tüm diyabetiklerin %5-10'u) endojen insülinin mevcut olmaması, insülin salgılayan β-pankreatik hücrelerin otoimmün harabiyetine bağlanır ve eksojen insülin uygulanmasını gerektirir. Buna karşın tip 2 diyabet ise (tüm diyabetiklerin %90'ı) uzun süreli hiperinsülinemi ve hiperglisemi ile karakterize olup periferik dokularda insülin rezistansı mevcuttur. Tip 2 diyabet tedavisinde sadece β-pankreatik hücrelerin fonksiyonlarını kaybetmeleri durumunda eksojen insülin tedavisi gerekir [39, 80]. Günümüzde DM tedavisinde kullanılan birçok ilaç çeşidi mevcuttur. Bunlar arasında hastaların pankreatik hücrelerindeki insülin üretim eksikliğni kompanse eden insülin, insülin analogları ve

insülin sekretagogları mevcuttur. Bir başka grup olan insülin duyarlılığını artırıcılar da, insülin rezistansını tedavi edebilen oral antidiyabetikler olan metformin veya tiazolidindionlar gibi ilaçları içerir. Son olarak akarboz gibi glukozidaz inhibitörleri de postprandiyal hipergliseminin önlenmesi amacıyla karbonhidrat sindirimi üzerinde etki gösterirler. Genel olarak tüm diyabetik ilaç sınıfları, DM ile sıklıkla birlikte görülen obezitenin engellenebilmesi için diyet ve egzersiz gibi hayat tarzı değişiklikleri ile birlikte kullanılırlar [62].

DM retinopati, nöropati, kardiyovasküler hastalıklar ve birçok çalışmada da bildirildiği üzere kanser riskinde artış gibi birçok komplikasyona neden olmaktadır.

Diyabetiklerden oluşan vaka kontrol ve kohort çalışmalarındaki kanserin rölatif riskini (RR) inceleyen çeşitli metaanalizlerde kanser ve kansere bağlı mortalitede hafif bir artış gösterilmiştir. Bu artış hem solid hem de hematolojik maligniteler için geçerli olsa da, spesifik bazı bölgelerdeki kanserler daha fazla artmaktadır. Rölatif risk artışı, DM gelişiminde rol oynayan başlıca organlar olan pankreasın (RR 2.50 %95 CI 1.8-3.5) ve karaciğerin (RR 1.94 %95 CI 1.53-2.46) kanserlerinde gösterilmiştir [22, 37].

Daha önce yayınlanan metaanalizlerde önceden mevcut olan diyabetin ekzokrin pankreatik kanserinin oluşumunu kolaylaştıran bir faktör mü olduğu ya da kanserin bir sonucu olarak mı ortaya çıktığı tespit edilemediği için, diyabetle pankreatik kanser arasındaki ilişkinin kesin olarak tanımlanması güçtür.

Orta yaşlı hastaların kaydedildiği güncel tarama çalışmalarında erken başlangıçlı diyabet pankreas kanserinin erken başlama ihtimalinin potansiyel göstergesi olarak kullanılmaktadır. Yaşlı hastalardaki pankreas kanserinde yüksek tahmin gücü olduğu gösterilen bu yöntem yaşlı diyabetiklerdeki 3 yıllık pankreas kanseri riskinin benzer yaş ve cinsiyetteki nondiyabetiklere göre 8 kat daha fazla olduğunu göstermiştir. Farklı çalışmalarda da yeni başlayan diyabetin normal pankreas dokusundaki değişimlerden çok pankreatik tümörlerinin sitokin üretiminden kaynaklanan erken bir olay olduğu gösterilmiştir [15, 64]. Metaanalizler yaş, ırk, sigara ve yükleme sonrası glukoz seviyelerine göre düzeltildiğinde hastalığın yeni başladığı diyabetik hastalardaki rölatif riskin yüksek kalması ilginç bir bulgudur. Bu bulgular hiperglisemi ve prediyabetik evrenin pankreas kanseri için risk faktörü olabileceğini ve kanser progresyonunun desteklenmesinde insülinin önemli rol oynadığını göstermektedir. Ancak tip 1 diyabetik hastalardaki pankreatik hücreler diğer dokulara kıyasla daha fazla insüline maruz kalmadıkları için, kanser progresyonunun desteklenmesinde tek başına insülin varlığı yetersizdir [64, 80].

Diyabetik hastalarda karaciğer kanserinin insidansında artış görülmesinin (özellikle hepatoselüler karsinom-HCC) başlıca nedeni karaciğer hücrelerinin portal dolaşım yolu ile maruz kaldıkları insülin seviyesinin artmasıdır. Bu durum özellikle tip 2 diyabetteki hiperinsülineminin ve insülin rezistansının şiddetlenmesi ile karakterize olan fizyolojik ve patolojik durumlar için geçerlidir. Eksojen insülin ile tedavi edilen tip 1 diyabet hastalarının karaciğer hücrelerindeki insülin düzeylerinin diğer organlar ile aynı seviyede olması dikkat çekicidir. Yukarıda pankreas kanseri ile ilgili olarak benzer şekilde bahsedil-

diği üzere, karaciğer kanserinde de artmış insülin düzeyleri kanser ve diyabet arasındaki korelasyonu açıklayamamaktadır. Bu nedenle çeşitli epidemiyolojik çalışmalarda diğer faktörler analiz edilmiştir. Örneğin iki hastalık arasında bağlantıya neden olan faktörler olarak hepatik steatoz ve siroz ile hepatit B ve C enfeksiyonları gösterilmiştir. Benzer şekilde nonalkolik yağlı karaciğer hastalığının da obez diyabetik hastalar ile tip 2 diyabet hastalarının %80'inde kanser riski için önemli bir faktör olabileceği bildirilmiştir [16, 18].

Sonuç olarak diyabet ile kanser arasındaki ilişki hala netleşmemiş olup diyabet tek bir rahatsızlıktan oluşan bir hastalık olmadığı için konunun yeniden değerlendirilmesi gerekmektedir. DM bir grup metabolik bozukluktan oluşur. Bu bozuklukların her biri hastaları farklı şekilde etkileyen özel metabolik ve hormonal anormalliklerle karakterize olur. Bu nedenle diyabetik hastaların homojen bir kohort olarak değerlendirilmesi güçtür. Diyabet ve kanser arasındaki bu kompleks ilişkiyi anlayabilmek için yeni çalışmalara ihtiyaç vardır.

Ayrıca fiziksel aktivite eksikliği, sigara, cinsiyet, etnik köken, komorbiditeler, tedavinin süresi, metabolik kontrolün kalitesi ve tedavi sırasında değiştirilen antidiyabetik ilaçların sayısı gibi birçok karıştırıcı faktör de mevcuttur. Bu tür faktörler metaanaliz sonuçlarını etkileyebilmektedir. Bu bağlamda yapılan güncel bir çalışmada insülin düzeylerinin erken takip için (teşhis sonrası ilk 5 yıl) fizyolojik bir gösterge olabileceği, leptin gibi obezite ile ilişkili faktörlerin de meme kanserinin uzun süreli takibinde önemli bir marker olabileceği gösterilmiştir [27].

Diyabetik hastalarda gözlenen tümör büyümesinde, moleküler düzeyde birçok faktör rol oynayabilir. Diyabet karsinogenezi, insülinin sadece metabolik yolakları modüle etmekle kalmayıp ekteki iki özgün mekanizma ile mitojenik sinyali de modüle eden kompleks aşağı yönlü sinyal ağı ile de destekleyebilir: (a) Hiperglisemi ve hiperinsülinemiyi de içeren spesifik değişimlerle ilişkili sistemik mekanizmalar ve (b) Spesifik organları etkileyen bölgeye özel mekanizmalar [80]. Hiperinsülinemi ilginç biçimde, epitel hücrelerindeki insülin reseptörlerini (IR) aktive ederek veya insülin büyüme faktörleri (IGF'ler), seks hormonları ve enflamatuar medyatörler gibi diğer modülatörleri indirekt olarak etkileyerek tümörijenezi destekler. Örneğin insülin çoğunlukla kanser hücrelerinde eksprese olan IR'nin A izoformuna bağlanarak IR substratları (IRS1-4) gibi adaptör proteinler yoluyla etki gösteren mitojenik sinyal yolaklarını tetikleyebilir. Bu sinyal mitojen aktive protein kinaz (MAPK) yolağının aktivasyonuna (insülin rezistansı varlığında korunan aktivasyon) ve AKT ve memeli rapamisin hedefi (mTOR) aracılığındaki sağkalım sinyalinin indüklenmesine neden olur [39, 55]. İnsülin yukarıda da bahsettiğimiz üzere, IGF'ler ve bunların aynı kökten gelen reseptörleri (IGF-R) vasıtasıyla indirekt etki gösterebilir. İnsülin rezistansı ve artmış insülin düzeyleri IGF'leri insülin büyüme faktörü bağlayıcı proteinlerden (IGFBP) ayırarak, tümör büyümesini ve kanser progresyonunu artırabilen serbest IGF düzeylerinde artışa yol açar. Meme kanseri hücre dizilerinde, insülin ile bu tümörde çok miktarda eksprese edilen IR izoformu olan IRA homodimeri ve IR-A/IGF1R heterodimeri arasında gözlenen etkileşim tümörijenezi stimüle eder ve sağkalım yolaklarını güçlendirir [6,

56, 66]. Ayrıca IGF1R'nin polimorfik formunun küçük hücreli dışı akciğer kanseri ile, IGF2R'nin polimorfizminin de gastrik kanser riski ile ilişkili olduğu gösterilmiştir [36, 86]. Meme kanserinde tümörün alt tipinden bağımsız olarak (örn. luminal, üçlü negatif veya Her2+) IGF1R/IR aktivasyonu gözlenmiştir. Bu aktivasyon sağkalımda azalma ve östrojen reseptörü ve Her ailesinin üyelerini de kapsayan hedefe yönelik tedavilere rezistans ile ilişkilidir. Yazarlar ayrıca spesifik tirozin kinaz inhibitörü olan BMS-536924'ün, meme kanserinin alt tipinden bağımsız olarak bu tür bir rezistansın üstesinden gelmek ve sağkalımı artırmak için kullanılabileceğini öne sürmüşlerdir [50].

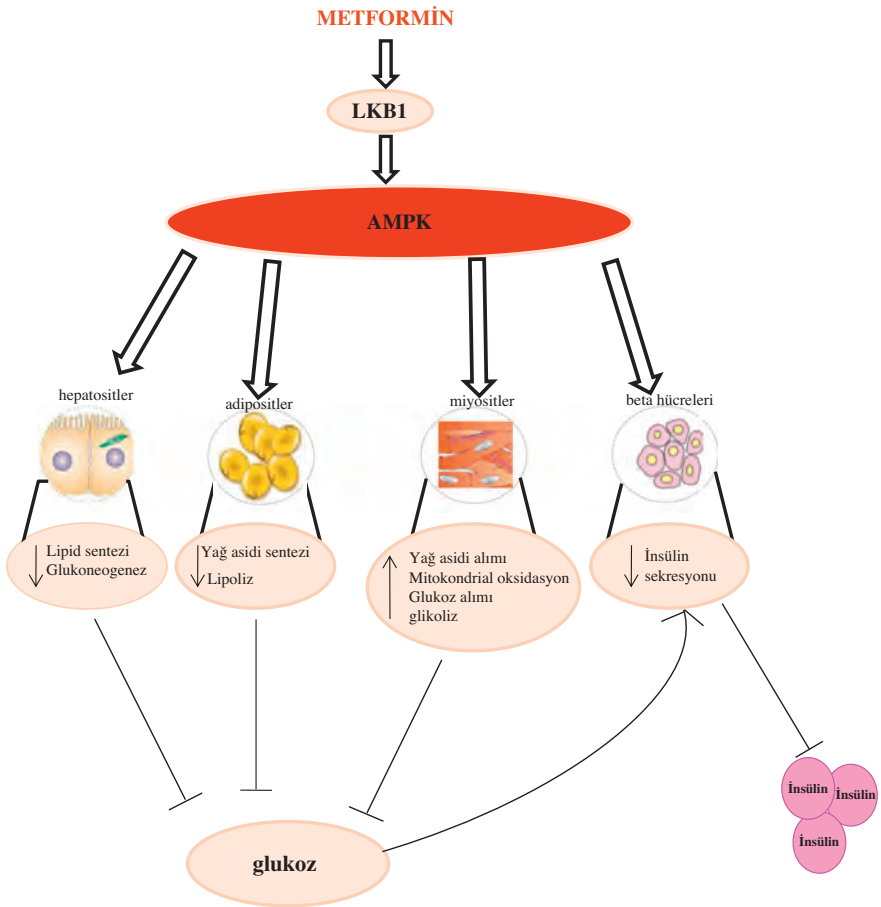
Yükselmiş insülin seviyeleri insülin rezistansı ile ilişkilidir. Bu rezistans overlerde üretilen serbest östrojen seviyelerini artırarak, seks hormonu bağlayıcı globülini bloke ederek ve adipöz dokudaki androjenin östrojene dönüşümünü artırarak tümörijenezi destekleyebilir [39, 80].

4 Metformin ve Kanser

4.1 Epidemiyolojik Çalışmalar

Bir biguanid türevi olan metformin (1, 1-dimetilbiguanid hidroklorid) oral bir hipoglisemik ajandır. Metformin başlıca hepatositler, miyositler, adipozitler ve pankreastaki β hücrelerinde etki gösterir (Şekil 2). Metformin karaciğerdeki glukoz üretimini inhibe ederken, periferik dokulardaki insülin sensitivitesini artırarak, iskelet kası ve adipöz dokuların glukoz alımının ve kullanımının artışına yol açar. Primer etkisi plazma insülin ve glukoz düzeylerinin azalmasıdır. Bunu kan glukoz kontrolünde iyileşme ve diyabetle ilişkili komplikasyonların azalması takip eder [8, 20]. Metforminin moleküler düzeydeki glukoz düşürücü etkisinin başlıca metabolik medyatörü hücresel enerji metabolizmasının regülasyonunda rol oynayan bir serin treonin kinaz olan AMPK aktivasyonudur [45, 67] (bkz. bölüm 5). Metformin görece düşük fiyatı, güvenli bir ilaç olarak bilinmesi ve kardiyovasküler hastalıkların önlenmesindeki etkileri nedeniyle tip 2 diyabette en sık reçetelenen birinci basamak ilaçlardandır [7]. Metforminin hafif-orta düzeyde toksisitesine bağlı olarak görülen bulantı, kusma ve diyare gibi gastrointestinal rahatsızlıklar doz azaltımı ile engellenebilir. Laktik asidoz nadir görülmesine rağmen en ciddi görülen yan etkisidir. En çok, mevcut hepatik, kardiyak veya renal komorbiditeleri olan yaşlı hastalarda görülür [20].

Son dekadda yapılan epidemiyolojik gözlem çalışmalarında DM hastalarında metformin kullanımının kanser insidansında azalma ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Evans ve. ark. tarafından yapılan 11.876 yeni tanı almış tip 2 diyabet hastası arasında bulunan 923 kanser hastasının değerlendirildiği vaka kontrol çalışmasında metformin tedavisi gören hastalardaki kanser insidansının diğer gruplara göre daha düşük olduğu ilk kez



Şekil 2 Metforminin tip 2 diyabet olan hastalardaki çeşitli dokularda ATP tüketen yolakların aşağı regülasyonuna ve ATP üreten yolakların yukarı regülasyonuna yol açan etkileri.

gösterilmiştir. Ayrıca tedavinin süresi ve reçetelerin sayısı da kanser insidansını etkilemektedir: Tedavi süresinde ve reçete sayılarındaki artış daha düşük kanser insidansı ile ilişkili bulunmuştur [23].

Bu çalışmadan sonra giderek artan sayıda retrospektif analiz yapılmaktadır. Bowker ve ark. 2006 yılında farklı tedaviler uygulanan (metformin, sülfonilüreler ve/veya insülin) 10.309 diyabet hastasından oluşan bir kohortun 5.4 yıl boyunca takip edildiği bir popülasyon çalışması gerçekleştirmiştir. Çalışmada sadece metformin ile tedavi edilen (insülin kullanmayan) hastalardaki kanser ölümlerinin, süfonilüre ile tedavi edilen hastalara göre (insülin kullanımından bağımsız olarak) azaldığı bildirilmiştir [11, 62]. Çalışmada tedavi görmeyen bir kontrol grubu olmadığı için, kanser riskinin metformin tarafından mı azaltıldığı yoksa insülin tarafından mı artırıldığı maalesef tespit edilememiştir.

Diğer gözlemsel çalışmalarda da benzer trendler bildirilmiştir [3, 60]. Kanser insidansı ve mortalitesinde metformin tedavisi ile görülen azalmanın, insülin varlığında veya insülin dozunun ayarlanması sonrasında da ilginç biçimde korunmuş olması metforminin etkilerinin insülinden bağımsız olduğunu düşündürmektedir [60].

Son zamanlarda, metforminin kanser insidansı ve mortalitesi üzerindeki etkisini anlamayı amaçlayan çeşitli metaanalizler yapılmıştır. Decensi ve ark. kapsamlı literatür taraması ile tespit ettikleri dil veya zaman sınırlaması olmayan 11 epidemiyolojik çalışmayı (tüm kanserlerle ilgili 5 kapsamlı çalışma ile, tek kanser tipine odaklanan 6 çalışma) incelemiştir. Analizden elde edilen veriler metformin tedavisinin kanser insidans ve mortalitesinde doza bağlı olarak %31'lik artış ile ilişkili olduğunu göstermiştir. İlginç biçimde, metformin tedavisi ile hepatoselüler ve pankreas kanseri arasında anlamlı bir korelasyon bulunurken, kolon, meme ve prostat kanserleri ile anlamlı bir korelasyonun tespit edilememiş olması metforminin etkilerini kanserin bölgesine spesifik olarak gösterdiğini düşündürmektedir [19]. 1353 tip 2 diyabet hastasında yapılan güncel bir çalışmada da metformin tedavisinin 9.6 yıllık takipteki kansere karşı koruyucu etkilerinin doza bağlı olarak ortaya çıktığı konfirme edilmiştir [1, 49].

Farklı ülkeleri kapsayan geniş kapsamlı popülasyon tabanlı verilerin kullanıldığı başka bir metaanalizde ise metformin tedavisinin kanserlerin (herhangi bir bölgedeki) insidans ve mortalitesini yaklaşık %33 oranında azalttığı gösterilmiştir. Azalma oranlarında kanserin bölgesine göre farklılıklar görülmüştür. Metformin tedavisi kolon, akciğer ve karaciğer kanseri risklerini de azaltmış, ancak hormona bağımlı prostat ve meme kanserleri ile pankreas ve gastrik kanser gelişimini etkilememiştir [61].

Metforminin metastaz gelişimindeki rolünü ve kemoterapinin etkinliğini artırıp artırmadığını anlamak amacıyla retrospektif analizler yapılmıştır. Özellikle akciğer kanseri olan diyabetik hastalarda yapılan bir analizde, metformin tedavisinin metastatik hastalığı azalttığı [57, 58] ve kemoterapötik etkinliği artırdığı bulunmuştur [78]. Jiralerspong benzer şekilde metformin tedavisinin, neoadjuvan kemoterapi alan meme kanseri hastalarındaki toplam patolojik cevabı artırdığını gözlemiştir Metformin 3 yıllık tahmini relapssız sağkalım oranlarını maalesef artırmamıştır [1, 42]. Buna karşın, metformin tedavisinin üçlü negatif meme kanserindeki genel sağkalım, hastalıksız sağkalım veya distal metastaz gelişimi üzerinde herhangi bir pozitif etkisi tespit edilememiştir [4].

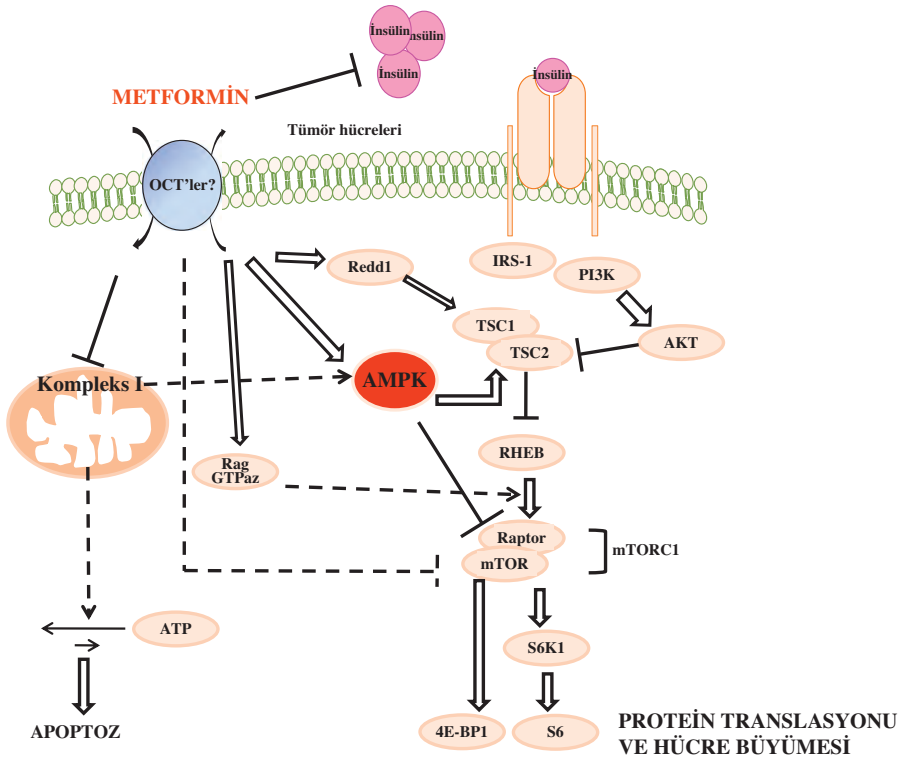
Sonuç olarak bazı çalışmalarda metforminin antikanser ilaç olarak kullanımı önerilmiş olmasına rağmen, mevcut kısıtlamaların göz önüne alınması gerekmektedir. Bu çalışmaların bir çoğu retrospektif çalışmalardır. Elde edilen veriler de popülasyon tabanlı kayıtlardan değil, klinik ve hastane kayıtlarından alınmıştır. Ayrıca çeşitli tedaviler uygulanan diyabetik hastalar metformin uygulamasına göre veya objektif kriterler kullanılarak randomize edilmemiştir (örn. kanser hikayesi olan bazı hastalar kanser riskini araştıran çalışmalarda yer almıştır). Ayrıca önemli kanser riskleri ile prognostik faktörler arasında bir dengesizlik olduğu da aşikardır. Ancak yine de bu tür gözlemsel çalış-

malar ile metforminin olası antitümör etkilerinin gösterilmiş olması prospektif klinik çalışmalar için bir altyapı oluşturmuştur.

4.2 Etki Mekanizması ve Preklinik Çalışmalar

Metforminin antitümör etkilerini açıklayabilmek amacıyla farklı mekanizmalar öne sürülmüştür. Ancak moleküler düzeydeki ana etkisi AMPK aktivasyonudur [21, 63]. AMPK metabolizma ve stresi algılayan hücresel sensör görevi yapar. Örneğin oksidatif stres, iskemi ve diğer faktörler AMP:ATP oranınında artışa yol açarak sonuçtaki AMPK aktivasyonunu artırırlar [20]. AMPK şu üç bağımsız mekanizma ile metformin tarafından aktive edilebilir: (1) AMPK'nın katalitik alt ünitesindeki Thr 172'nin fosforilasyonunun LKB1 (karaciğer kinaz B1) tarafından indüklenmesi ile [51]; (2) İndirekt olarak respiratuar zincirdeki kompleks I'in inhibisyonu ile; ve (3) Oligomisin gibi mitokondrial ATP sentezinin diğer inhibitörlerinin aktivasyonu ile. Respiratuar zincirdeki kompleks I'in blokajının düşük oksijen tüketimine yol açmasını, takip eden NAD+/NADH oranının modülasyonu ve AMP:ATP oranındaki artış, AMPK aktivasyonunda artışa yol açar [1]. Memelilerdeki bir diğer önemli kinaz da, AMP:ATP oranını değiştirmeden intraselüler Ca2+ artışına cevap olarak alternatif AMPK yolağını aktive eden Ca2+/kalmodulin aktive kinaz kinazdır (CaMKK2) [31]. Aktive AMPK fizyolojik şartlardaki hipoglisemik etkilerini Glut1 düzeylerinin artışını indükleyerek glukoz alımını artırdığı karaciğer, β-pankreatik hücreler, kaslar ve adipoz dokuda gösterir. AMPK ayrıca glikoliz gibi ATP üreten yolakları indüklerken, glukoneojenez, glikojen sentezi ve kolesterol sentezi gibi ATP tüketen yolakları inhibe eder [39, 45, 67]. AMPK aktivasyonu glukoz ve yağ asitlerinin oksidatif katabolizmalarının indüklenmesinde ve mitokondrial biyogenezin regülasyonunda hayati rol oynamaktadır. Ayrıca AMPK aktivasyonu, mTOR yolağını bloke ederek protein sentezinin inhibisyonuna da yol açar [31]. AMPK aktivasyonu genel olarak hem hipoglisemik etki gösterir hem de tümör gelişiminde rol oynayan çeşitli yolakları direkt olarak etkiler.

AMPK bu bulguların ışığında bir tümör baskılayıcı olarak kabul edilebilir. Solid tümörlerde genel olarak mutasyona uğrayan yukarı yönlü kinaz LKB1'in de tümör baskılayıcı etkiye sahip bir gen olması dikkate değerdir. LKB1 geni küçük hücreli olmayan akciğer kanserlerinin yaklaşık %30'unda ve servikal kanserlerin yaklaşık %20'sinde, genin kendi fonksiyonun kaybına yol açan mutasyonlara uğrar [40, 83]. LKB1 mutasyonlarının hücre büyümesini, hücre siklus progresyonunu ve polariteyi etkilediği gösterilmiştir [30, 82]. Ayrıca LKB1'in küçük hücreli olmayan akciğer kanserlerinde sıklıkla kRAS ile birlikte mutasyona uğraması tümör insidansı ve metastaz artışlarını indükler [30]. AMPK inhibisyonu, B-RAf V600E mutasyonuna sahip melanomlara yol açar. İçindeki LKB1 iki C-terminal bölgesinde fosforillenmiştir [88] ve AMPK'yi aktive edemez. Ayrıca birçok tümörde sıklıkla mevcut olan AKT hiperaktivasyonu, AMPK'nın LKB1 tarafından fosforilasyonunu ve aktivasyonunu inhibe eden ser485'teki AMPK'nın fosfo-



Şekil 3 Metformin insüline bağımlı olan ve olmayan mekanizmalar ile antitümör etki gösterir. AKT-mTOR yolağının inaktivasyonu ve/veya AMPK ve mitokondrial kompleks I üzerinde etki göstererek sırasıyla apoptoz artışına, protein translasyonunun aşağı regülasyonuna ve hücre büyümesinin inhibisyonuna yol açar.

rilasyonunu indükler [34]. AMPK'nin olumlu bir prognoz markeri olduğu bir başka çalışmada da gösterilmiştir. pAMPK ve pMAPK3/1'in konkomitant artışlarının, kolorektal kanser hastalarının tedavisi için olumlu prognostik faktörler olduğu düşünülmektedir. Bu bulgu bu iki yolağın ve yeni terapötik stratejilerin muhtemel bir etkileşimi olduğunu düşündürmektedir [2].

Metforminin antikanser etkilerinin şu iki özgün mekanizma ile gerçekleştiği düşünülmektedir: İndirekt insüline bağımlı etkisi ile insülinden bağımsız direkt olarak tümör üzerindeki etkisi (Şekil 3) Metforminin indirekt etkileri karaciğerde gerçekleşir. Burada AMPK aktivasyonunu indükleyerek hepatik glukoneogenezi inhibe etmesini takiben dolaşımdaki glukoz ve insülin düzeyleri azalır. İn vitro ve in vivo çalışmalarda metforminin diğer biguanidlere benzer şekilde glukozdan yoksun hücrelerdeki 4E-bağlayıcı proteinin hiperaktivasyonunu indükleyerek katlanmamış protein cevabının inhibisyonu ile mTOR yolağının güçlü inhibisyonuna yol açtığı gösterilmiştir [56]. Ayrıca Buzzai ve arkadaşları

da kolorektal hücre dizilerinde, metformine cevap olarak gelişen AMPK aktivasyonu ile oluşan glukoz deprivasyonu ile indüklenen p53'e bağımlı otofajiyi göstermişlerdir [14]. Buna karşın p53 statüsünün meme kanseri hücrelerinin metformin sensitivitesi ile ilişkili olmadığı görülmektedir. Metformin glukoz deprivasyonuna cevap olarak hem kaspaza bağımlı hem de kaspazdan bağımsız mekanizmalarla apoptozu, NAD+ düzeylerindeki azalma ile ilişkili hücresel enerji kolapsına bağlı mitokondrial morfolojideki ve membran permeabilitesindeki eş zamanlı değişimlerle birlikte indükler [90]. Ayrıca, pankreatik kanser hücrelerinin, insülin/IGF1 reseptörleri ile G-proteinine bağlı reseptörler (GPCR) arasındaki etkileşimi (crosstalk) indükleyerek, mTORC1, ERK, ve PI_3K tarafından indüklenen hücre büyümesinde ve sağkalım sinyalinde artışa yol açtığı son zamanlarda gösterilmiştir. İyi tanımlanmış KRAS efektörleri olan ERK ve PI_3K pankres kanserlerinin %90'ında mutasyona uğrar. Yukarıda sözü geçen etkileşim bu mutasyonlar tarafından güçlendirilir. İlginç bir şekilde metforminin IR/IGF1R ve GPCR'ler arasındaki etkileşimi bozarak her iki hücre dizisindeki [46] ve ksenograft modellerindeki hücre proliferasyonunu azalttığı gözlenmiştir [70].

Metforminin indirekt etkisi Memmott ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada tütün karsinojeni ile indüklenen akciğer tümörijenezinin metformin tarafından engellendiğinin gözlenmesi ile konfirme edilmiştir. Özellikle, metforminin tümör yükünü azalttığı ve tümörlerdeki mTOR'u eş zamanlı olarak belirgin şekilde aşağı regüle ettiği gösterilmiştir. Metformin mTOR'u karaciğerdeki AMPK'yı aktive ederek inhibe ederken, IR/IGF1R'yi indirekt olarak aşağı regüle ettiği ve AKT'yi azalttığı akciğerde aynı inhibisyona yol açmaması ilginçtir [59].

Metforminin kanser büyümesi üzerindeki direkt etkisi insülinden bağımsızdır ve lipojenik yolaklar gibi çeşitli yolakları SREBP-1 (sterol regülatör element bağlayıcı protein 1) supresyonu, hücre döngüsünün p53 ve FOXO3a [84] fosforilasyonu ile regülasyonu veya CRTCS fosforilasyonu (cAMP'a cevap veren element bağlayıcı protein (CREB)-regüle transkripsiyon koaktivatörü) ile östrojene bağımlı yolağın modülasyonu ile birçok yolağı inhibe eden AMPK'nin aktivasyonunda rol oynayabilir [13]. Direkt AMPK'ya bağımlı etki, AMPK'nın TSC2 üzerindeki direkt etkisini de kapsayabilir ve aşağı yönlü sinyalinin bir sonucu olarak hem protein sentezini hem de hücre döngüsünün progresyonunu azaltır. TSC2 kaybı sırasında, AMPK'nın mTOR ile ilişkili protein Raptor'u fosforilleyerek mTOR'u direkt olarak etkilediği öne sürülmüştür [29]. Ayrıca AMPK aktivasyonu ile metabolik sinyallerde rol oynayan bir protein olan adiponektin arasındaki korelasyonda son zamanlarda gösterilmiştir. Adiponektinin fizyolojik konsantrasyonlarının normal kilolu hastalardaki AMPK'yi aktive ederek ve S6 K'yı inhibe ederek prostat ve kolon kanserini engellediği bulunmuştur. Bu bulgunun düşük adiponektin seviyeleri olan obez hastalarda görülmemesi daha düşük AMPK aktivasyonuna ve tümör büyümesinde artışa yol açar. Yazarlar sonuç olarak, metforminin AMPK aktivatörü görevi yaparak adiponektine karşı olan rezistansı engelleyerek hücre büyümesini engellediğini belirtmişlerdir [85].

Metforminin TSC2 ve AMPK'dan bağımsız olarak mTOR üzerinde direkt etki yaptığı son zamanlarda gözlenmiştir [43]. Bu çalışmada metforminin MEF içindeki mTOR ak-

tivitesini azaltan bir protein olan Rheb içeren hücresel kompartmanlardaki mTORC1'in direkt translokasyonunda rol oynayan bir GTPaz proteini olan Rag'ı inhibe ederek antitümör etki gösterdiği bulunmuştur [43]. Bu bulguları konfirme edecek şekilde, pankreas hücreleri ile yapılan güncel bir çalışmada metforminin mTOR yolağını direkt olarak (p53'e bağımlı bir şekilde), mTOR'un negatif regülatörü olan REDD1'i AMPK'dan bağımsız bir mekanizmayla artırarak etkilediği gösterilmiştir. Ayrıca REDD1'in indüklenmesi ile AMPK1'den bağımsız olarak siklin D1 düzeylerinin azalması hücre döngüsünde durmaya yol açmıştır [8]. Metforminin tümör üzerindeki AMPK'dan bağımsız bir başka direkt etkisi de respiratuar zincirdeki kompleks I'i modüle ederek ATP düzeylerinin regülasyonuna yol açarak apoptozu etkilemesi olabilir.

Tümörlerin artan heterojenitesini baz alarak yapılan çeşitli güncel çalışmalarda metforminin özellikle kanser kök hücrelerini de (CSC) kapsayan kanser hücrelerinin alt kümelerinde selektif etki gösterdiği öne sürülmüştür [5, 33]. Bu hipotezi ilk kez metforminin üçlü negatif meme kanseri hücrelerindeki kanser kök hücrelerini selektif olarak hedefleyerek doksorubisin ile sinerjistik antitümör aktivite gösterdiğini gözlemleyen Hirsch ve ark. [33] öne sürmüştür. Bu bulgu metforminin çeşitli kanser hücre modellerinde farklı kemoterapötik ajanlarla kombine uygulanması ile muhtemelen yüksek oranda tümörijenik olan CSC-benzeri hücrelerin inhibisyonu ile hücre büyümesinin azaldığı ve relapsın önlendiği gözlenen güncel fare ksenogreftleri ile konfirme edilmiştir. Ayrıca metformin ile kemoterapötik ilaçlar arasındaki sinerjistik etkileşim de konfirme edilmiştir [38]. Metformin ile kemoterapötiklerin kombine uygulandığı bir başka çalışmada, metformin ile paklitakselin etkileri birleşerek AMPK aktivasyonunu artırarak hücre büyümesinin azalmasına yol açmıştır [69]. Metforminin kanser hücrelerinde AMPK aktivasyonu ve mTOR aktivasyonu ile radyorezistansı azaltarak, bu hücrelerin radyoterapiye daha sensitif hale gelmelerini sağladığı ve kanser kök hücreleri üzerinde sitotoksik etki yaptığı güncel bir çalışmada gösterilmiştir [75].

Metformin analoğu olan biguanide fenformin gibi bir katyondur. Metforminin direkt ve indirekt selektif antitümör etkileri organik katyon taşıyıcılarının ekspresyonuna dayanır (OCT1, 2 ve 3). Metformin diyabetik hastalardaki hepatik hücrelere hepatik portal vende ilaca yüksek maruziyet sırasında OCT1 taşıyıcıları ile girer. Katyonik taşıyıcılar hepatositlerde yüksek oranda eksprese olurlar; global OCT1 knockout'u ve OCT1 polifmorfizmleri mevcut olan farelerde metforminin hepatik alımı ciddi derecede bozulur ve hipoglisemik etkileri azalır [41, 59, 74, 89]. Neoplastik hücrelerdeki OCT1 hakkında çok az şey bilinmektedir. Ancak OCT1 ekspresyonunun hem epitelyal over kanser hücrelerinde hem de primer insan tümörlerinde yüksek oranda değişken olduğu son zamanlarda gösterilmiştir. Epitelyal over kanser hücre dizilerindeki OCT1 knockdown'u ve OCT1 inhibitörü kuinidin uygulanması ile metforminin antitümör etkisi azalmış ancak fenforminin antineoplastik aktivitesi etkilenmemiştir [31, "kişisel iletişim", 72].

4.3 Klinik Çalışmalar

Prospektif ve sürmekte olan klinik çalışmalar metforminin kanser hastalarındaki etkinlik ve güvenliğini diyabetten bağımsız olarak araştırmayı, kemopreventif ajan olarak rolünü analiz etmeyi ve biyolojik etkilerini tanımlamayı amaçlamaktadırlar (Şekil 3). NCI'ın metforminin kanser hastalarındaki etkinliğini araştıran elliden fazla çalışması cancer.gov'da kayıtlıdır. Bu çalışmaların çoğu biyomarker analizi ve metforminin tek ajan olarak veya diğer tedavi modaliteleri ile kombinasyon halinde uygulanmasını içeren faz II meme kanseri çalışmalarıdır.

Şu ana kadar metformin ile ilişkili az sayıda klinik çalışma yayınlanmıştır. Hadad ve ark. yaptıkları preoperatif "fırsat penceresi" randomize çalışmasında metforminin tümör dokularındaki olası biyolojik etkilerini göstermişlerdir. Metformin nondiyabetik meme kanseri hastalarına cerrahi öncesi uygulanmış ve antitümör etkileri tedavi almayan kontrol grubu ile karşılaştırılmıştır. İlginç biçimde metformin tedavisinin 2-3. haftalarından sonra hastalardaki tümör boyutlarında ölçülebilir bir değişim görülmemiştir. Ancak tümörlerden alınan biyopsilerin analizinde insülin düzeylerinde ve tümör dokularındaki muhtemel etkileri gösteren bir proliferasyon markeri olan ve Ki67 boyanmada azalma görülmüştür [30]. Buna karşın nondiyabetik meme kanseri hastalarında yapılan güncel bir çalışmada cerrahi öncesi uygulanan metforminin plasebo grubu ile karşılaştırıldığında Ki67 düzeylerini etkilemediği bulunmuştur. Planlı bir alt grup analizinde metforminin Ki67 üzerindeki etkileri HOMA (homeostaz model değerlendirmesi) indeksine göre insülin rezistansı bazında sınıflandırılabilmiştir. HOMA indeksi 2.8'den büyük olan hastalarda insülin düzeyleri ile metformin tedavisi arasında bir korelasyon gözlenmemiştir. Ancak HOMA indeksi 2.8'den düşük olan hastalarda Ki67 düzeylerinde değişimler gözlenmesi metforminin insülin rezistansının derecesine bağlı olarak indirekt etki yaptığını göstermektedir. İlginç biçimde fazla kilolu veya obez olan, abdominal obezitesi olan veya orta derecede alkol tüketen kadınlardaki Ki67'nin HOMA indeksine göre sınıflandırılmasında da benzer sonuçlar elde edilmiştir [10].

Gözlemsel çalışmalara göre nondiyabetik meme kanseri hastalarındaki artmış peptid-C düzeyleri kötü prognoz ile ilişkilidir [17]. Goodwin ve ark. [27, 28] standart doz olarak uygulanan metforminin (1500 mg/gün) relaps görülmeyen nondiyabetik meme kanseri hastalarındaki insülin düzeylerini %22 azalttığını göstermiştir. Aynı araştırma grubunun güncel bir neoadjuvan "fırsat penceresi" çalışmasında cerrahiden 2-4 hafta önce günde üç kez metformin uygulanmıştır. Metforminin olası faydaları ile ilişkili şu potansiyel göstergeleri belirlemişlerdir: Konak üzerindeki etkisi ile ilgili markerler olarak artmış VKİ, fiziksel inaktivite, yüksek açlık insülin düzeyleri ve Ki67 ve TUNEL boyama için tümör immunopozitivitesi, tümör etki markerları olarak da OCT1 ve LKB1 varlığı. İlginç biçimde, TUNEL boyanmada net bir artış ile Ki67 boyanmada azalmanın metabolik değişimler ile korele olduğunu tespit etmişlerdir [27, "kişisel iletişim", 76].

Metforminin kemopreventif rolü kolorektal kanser için endoskopik surrogate marker olarak kabul edilen rektal aberan kript odakları (ACF) ile yapılan kısa süreli klinik çalışmada gösterilmiştir. Metformin ACF'li nondiyabetik hastalardaki ACF sayılarını 1 aylık tedavi sonrası kontrol grubuna göre anlamlı olarak daha fazla azaltmıştır. Yazarlar prolifere olan hücre nükleer antijen işaretleme indeksini kullanarak değerlendirdikleri, aynı gruptaki kolonik epitelin proliferatif aktivitesinin de aşağı regüle olduğunu tespit etmişlerdir. Buna karşın önemli bir apoptotik modülasyon tespit edilmemiştir [35]. ACF'nin kolorektal kanserde surrogate marker olarak biyolojik önemi tartışmalıdır. Aynı grup Üniversite Hastanesi Medikal Araştırma Ağı (UMIN) veri tabanına UMIN000006254 nolu güncel bir prospektif, randomize, kontrollü çalışmayı kaydetmiştir. Bu çalışmada metforminin kemopreventif etkileri metakronoz kolorektal poliplerde ve nondiyabetik post-polipektomi hastalarında değerlendirilecektir [32].

5 Sonuçlar

Bu bölümde biguanid metforminin antitümör ajan olarak rolünü destekleyen çeşitli kanıtlardan bahsettik. Ancak metforminin ana etki mekanizması (direkt veya indirekt/konak etkisi), metformine cevabı etkileyebilen hasta veya tümör özellikleri, biguanidlere ne tür kanserlerin cevap verebileceği, hangi terapötik ortamın metforminin etkilerini artırabileceği (kemoprevensiyon, neoadjuvan, adjuvan, kombine veya tek ajan uygulaması) gibi konular henüz netleştirilememiştir.

Çeşitli yayınlarda metforminin antitümör aktivitesinin hem direkt hem indirekt mekanizmalarla ortaya çıktığı düşünülmektedir. İnsülin düzeylerini azaltarak ya da hem AMPK'ya bağımlı hem de bağımsız mekanizmalarla tümör dokularını direkt olarak etkileyerek etki gösterebileceği bildirilmiştir. Metformin aktivitesinin başlıca aracılarından biri olan AMPK birçok tümör hücrelerinde defektiftir. AMPK aktivasyonunun kaybına çeşitli mekanizmalar neden olabilir ve metforminin antitümör etkinliğini etkileyebilir. Metformin AMPK aktivasyonunun kaybolduğu tümörlerde, ATP düzeylerini daha fazla azaltabileceği ve apoptozu daha çok artırabileceği için paradoksal olarak daha etkili olabilir.

Fizyolojik ve klinik şartlara göre daha yüksek metformin, insülin ve glukoz düzeylerini kullanıldığı preklinik modellerdeki kısıtlamalardan dolayı metforminin etki mekanizması belirsizliğini korumaktadır. Örneğin klinik ve epidemiyolojik çalışmalarda kullanılan metformin dozu 250-2250 mg/gün iken, preklinik çalışmalardaki doz in vivo çalışmalar için bu dozun 45 katına, in vitro çalışmalar için de 10.000 katına kadar çıkabilmektedir. Bu çalışmalarda metformin için mM konsantrasyonları kullanılmaktadır. Ayrıca doku kültürleri de 3-5 kat daha fazla glukoz, ve 40 kata kadar daha fazla insülin içermektedir. Ancak son zamanlarda metforminin düşük dozlarının (yaklaşık 10 μM)

orta derecede AMPK aktivasyonunu ve devamındaki aşağı yönlü yolakların aktivasyonunu indüklemek için yeterli olduğu gösterilmiştir [77].

Bu konuları araştırmak için kaydedilen, güncel bir faz III randomize çalışmada erken evre meme kanseri hastalarında metformin ile kemoterapi kombinasyonunun etkinliği plasebo ile karşılaştırılmaktadır. Çalışmaya katılan hastalar hormon reseptör statüsüne, HER2 ekspresyonuna ve paklitaksel, doksorubisin ve siklofosfamid gibi kullanılan kemoterapötik ilaçlara göre sınıflandırılmıştır [26]. Primer sonlanım noktası kansersiz sağkalım iken, sekonder sonlanım noktaları ise genel sağkalım, hastalıksız sağkalım, advers olaylar ve kilo, açlık plazma insülin düzeyleri ve tümör dokusu gibi bağlantılı analizle ilişkili faktörlerden oluşmaktadır. Çalışmanın primer hipotezi başlangıçtaki yükselmiş açlık insülin düzeylerinde 6. ayda anlamlı bir düşüş olmasının metforminin faydasının göstergesi olduğudur ([27], "kişisel iletişim", [28]).

Klinik uygulamada hangi biguanid tipinin uygun olduğu da henüz netleşmeyen konulardadır. Örneğin tümör üzerinde direkt etki istenen durumlarda OCT1 reseptörünün ekspresyon düzeyleri önem kazandığı için, hücrelere penetre olmak için OCT1 reseptörlerinin varlığına ihtiyaç duymayan fenformin kullanımı daha uygun olabilir.

Güncel bir tartışmalı çalışmada tüm melanomların %50'sinde mevcut olan mutant V600E Braf geninin AMPK aktivasyonunu engelleyen RSK'yı aktive ederek metformine karşı in vitro rezistans gelişimine neden olduğu bildirilmiştir. Ayrıca metformin tedavisi ile in vitro ortamdaki tümör büyümesi hızlanmış ve VEGF-A ekspresyonu indüklenmiştir. Kombine anti-VEGF tedavisi Braf mutantındaki tümör büyümesini sinerjistik etkiyle azaltırken, aynı etkiye normal hücrelerde rastlanmamıştır [54].

Birçok çalışmada "eski" antidiyabetik ilaç olan metforminin yeni bir uygulama ile antikanser ilaç olarak kullanımı birçok çalışmada ne olarak gösterilmiştir. Ancak antitümör ilaç olarak optimal terapötik ve klinik kullanım şartlarını belirleyebilmek için etki mekanizması ile ilişkili daha ileri ve derinlemesine bilgilere ihtiyaç vardır.

Referanslar

1. Aljada A, Mousa SA (2012) Metformin and neoplasia: implications and indications. Pharmacol Ther 133:108–115
2. Baba Y, Nosho K, Shima K et al (2010) Prognostic significance of AMP-activated protein kinase expression and modifying effect of MAPK3/1 in colorectal cancer. Br J Cancer 103:1025–1033
3. Baur DM, Klotsche J, Hamnvik OP et al (2011) Type 2 diabetes mellitus and medications for type 2 diabetes mellitus are associated with risk for and mortality from cancer in a German primary care cohort. Metabolism 60:1363–1371
4. Bayraktar S, Hernadez-Aya LF, Lei X et al (2012) Effect of metformin on survival outcomes in diabetic patients with triple receptor-negative breast cancer. Cancer 118:1202–1211
5. Bednar F, Simeone DM (2012) Metformin and cancer stem cells: old drug, new targets. Cancer Prev Res (Phila) 5:351–354
6. Belfiore A, Frasca F (2008) IGF and insulin receptor signaling in breast cancer. J Mammary Gland Biol Neoplasia 13:381–406

7. Ben Sahra I, Le Marchand-Brustel Y, Tanti JF et al (2010) Metformin in cancer therapy: a new perspective for an old antidiabetic drug? Mol Cancer Ther 9:1092–1099
8. Ben Sahra I, Regazzetti C, Robert G et al (2011) Metformin, independent of AMPK, induces mTOR inhibition and cell-cycle arrest through REDD1. Cancer Res 71:4366–4372
9. Blagosklonny MV (2011) NCI's provocative questions on cancer: some answers to ignite discussion. Oncotarget 2:1352–1367
10. Bonanni B, Puntoni M, Cazzaniga M et al (2012) Dual effect of metformin on breast cancer proliferation in a randomized presurgical trial. J Clin Oncol 30(21):2593–2600
11. Bowker SL, Majumdar SR, Veugelers P et al (2006) Increased cancer-related mortality for patients with type 2 diabetes who use sulfonylureas or insulin. Diabetes Care 29:254–258
12. Brahimi-Horn MC, Chiche J, Pouyssegur J (2007) Hypoxia signalling controls metabolic demand. Curr Opin Cell Biol 19:223–229
13. Brown KA, Simpson ER (2010) Obesity and breast cancer: progress to understanding the relationship. Cancer Res 70:4–7
14. Buzzai M, Jones RG, Amaravadi RK et al (2007) Systemic treatment with the antidiabetic drug metformin selectively impairs p53-deficient tumor cell growth. Cancer Res 67:6745–6752
15. Chari ST, Leibson CL, Rabe KG et al (2008) Pancreatic cancer-associated diabetes mellitus: prevalence and temporal association with diagnosis of cancer. Gastroenterology 134:95–101
16. Chen HF, Li CY, Chen P et al (2006) Seroprevalence of hepatitis B and C in type 2 diabetic patients. J Chin Med Assoc 69:146–152
17. Chlebowski RT, Aiello E, McTiernan A (2002) Weight loss in breast cancer patient management. J Clin Oncol 20:1128–1143
18. Davila JA, Morgan RO, Shaib Y et al (2005) Diabetes increases the risk of hepatocellular carcinoma in the United States: a population based case control study. Gut 54:533–539
19. Decensi A, Puntoni M, Goodwin P et al (2010) Metformin and cancer risk in diabetic patients: a systematic review and meta-analysis. Cancer Prev Res (Phila) 3:1451–1461
20. Dowling RJ, Niraula S, Stambolic V et al (2012) Metformin in cancer: translational challenges. J Mol Endocrinol 48:R31–R43
21. El-Mir MY, Nogueira V, Fontaine E et al (2000) Dimethylbiguanide inhibits cell respiration via an indirect effect targeted on the respiratory chain complex I. J Biol Chem 275:223–228
22. El-Serag HB, Hampel H, Javadi F (2006) The association between diabetes and hepatocellular carcinoma: a systematic review of epidemiologic evidence. Clin Gastroenterol Hepatol 4:369–380
23. Evans JM, Donnelly LA, Emslie-Smith AM et al (2005) Metformin and reduced risk of cancer in diabetic patients. BMJ 330:1304–1305
24. Galli M, Van Gool F, Rongvaux A et al (2010) The nicotinamide phosphoribosyltransferase: a molecular link between metabolism, inflammation, and cancer. Cancer Res 70:8–11
25. Gatenby RA, Gillies RJ (2004) Why do cancers have high aerobic glycolysis? Nat Rev Cancer 4:891–899
26. Gonzalez-Angulo AM, Meric-Bernstam F (2010) Metformin: a therapeutic opportunity in breast cancer. Clin Cancer Res 16:1695–1700
27. Goodwin PJ, Ennis M, Pritchard KI et al (2012) Insulin- and obesity-related variables in early-stage breast cancer: correlations and time course of prognostic associations. J Clin Oncol 30:164–171
28. Goodwin PJ, Stambolic V, Lemieux J et al (2011) Evaluation of metformin in early breast cancer: a modification of the traditional paradigm for clinical testing of anti-cancer agents. Breast Cancer Res Treat 126:215–220
29. Gwinn DM, Shackelford DB, Egan DF et al (2008) AMPK phosphorylation of raptor mediates a metabolic checkpoint. Mol Cell 30:214–226
30. Hadad S, Iwamoto T, Jordan L et al (2011) Evidence for biological effects of metformin in operable breast cancer: a pre-operative, window-of-opportunity, randomized trial. Breast Cancer Res Treat 128:783–794

31. Hardie DG, Ross FA, Hawley SA (2012) AMPK: a nutrient and energy sensor that maintains energy homeostasis. Nat Rev Mol Cell Biol 13:251–262
32. Higurashi T, Takahashi H, Endo H et al (2012) Metformin efficacy and safety for colorectal polyps: a double-blind randomized controlled trial. BMC Cancer 12:118
33. Hirsch HA, Iliopoulos D, Tsichlis PN et al (2009) Metformin selectively targets cancer stem cells, and acts together with chemotherapy to block tumor growth and prolong remission. Cancer Res 69:7507–7511
34. Horman S, Vertommen D, Heath R et al (2006) Insulin antagonizes ischemia-induced Thr172 phosphorylation of AMP-activated protein kinase alpha-subunits in heart via hierarchical phosphorylation of Ser485/491. J Biol Chem 281:5335–5340
35. Hosono K, Endo H, Takahashi H et al (2010) Metformin suppresses colorectal aberrant crypt foci in a short-term clinical trial. Cancer Prev Res (Phila) 3:1077–1083
36. Hoyo C, Schildkraut JM, Murphy SK et al (2009) IGF2R polymorphisms and risk of esophageal and gastric adenocarcinomas. Int J Cancer 125:2673–2678
37. Huxley R, Ansary-Moghaddam A, Berrington de Gonzalez A et al (2005) Type-II diabetes and pancreatic cancer: a meta-analysis of 36 studies. Br J Cancer 92:2076–2083
38. Iliopoulos D, Hirsch HA, Struhl K (2011) Metformin decreases the dose of chemotherapy for prolonging tumor remission in mouse xenografts involving multiple cancer cell types. Cancer Res 71:3196–3201
39. Jalving M, Gietema JA, Lefrandt JD et al (2010) Metformin: taking away the candy for cancer? Eur J Cancer 46:2369–2380
40. Ji H, Ramsey MR, Hayes DN et al (2007) LKB1 modulates lung cancer differentiation and metastasis. Nature 448:807–810
41. Jin HE, Hong SS, Choi MK et al (2009) Reduced antidiabetic effect of metformin and down-regulation of hepatic Oct1 in rats with ethynylestradiol-induced cholestasis. Pharm Res 26:549–559
42. Jiralerspong S, Palla SL, Giordano SH et al (2009) Metformin and pathologic complete responses to neoadjuvant chemotherapy in diabetic patients with breast cancer. J Clin Oncol 27:3297–3302
43. Kalender A, Selvaraj A, Kim SY et al (2010) Metformin, independent of AMPK, inhibits mTORC1 in a rag GTPase-dependent manner. Cell Metab 11:390–401
44. Kim JW, Tchernyshyov I, Semenza GL et al (2006) HIF-1-mediated expression of pyruvate dehydrogenase kinase: a metabolic switch required for cellular adaptation to hypoxia. Cell Metab 3:177–185
45. Kim YH, Liang H, Liu X et al (2012) AMPKalpha modulation in cancer progression: multilayer integrative analysis of the whole transcriptome in Asian gastric cancer. Cancer Res 72:2512–2521
46. Kisfalvi K, Eibl G, Sinnett-Smith J et al (2009) Metformin disrupts crosstalk between G protein-coupled receptor and insulin receptor signaling systems and inhibits pancreatic cancer growth. Cancer Res 69:6539–6545
47. Kroemer G, Pouyssegur J (2008) Tumor cell metabolism: cancer's Achilles' heel. Cancer Cell 13:472–482
48. Kuhajda FP (2000) Fatty-acid synthase and human cancer: new perspectives on its role in tumor biology. Nutrition 16:202–208
49. Landman GW, Kleefstra N, van Hateren KJ et al (2010) Metformin associated with lower cancer mortality in type 2 diabetes: ZODIAC-16. Diabetes Care 33:322–326
50. Law JH, Habibi G, Hu K et al (2008) Phosphorylated insulin-like growth factor-i/insulin receptor is present in all breast cancer subtypes and is related to poor survival. Cancer Res 68:10238–10246
51. Long YC, Zierath JR (2006) AMP-activated protein kinase signaling in metabolic regulation. J Clin Invest 116:1776–1783

52. Lu CW, Lin SC, Chen KF et al (2008) Induction of pyruvate dehydrogenase kinase-3 by hypoxia-inducible factor-1 promotes metabolic switch and drug resistance. J Biol Chem 283:28106–28114
53. Martin M, Marais R (2012) Metformin: a diabetes drug for cancer, or a cancer drug for diabetics? J Clin Oncol 30(21):2698–2700
54. Martin MJ, Hayward R, Viros A et al (2012) Metformin accelerates the growth of BRAFV600E-driven melanoma by upregulating VEGF-A. Cancer Discov 2:344–355
55. Massoner P, Ladurner-Rennau M, Eder IE et al (2010) Insulin-like growth factors and insulin control a multifunctional signalling network of significant importance in cancer. Br J Cancer 103:1479–1484
56. Matsuo J, Tsukumo Y, Saito S et al (2012) Hyperactivation of 4E-binding protein 1 as a mediator of biguanide-induced cytotoxicity during glucose deprivation. Mol Cancer Ther 11:1082–1091
57. Mazzone PJ (2010) Lung cancer screening: an update, discussion, and look ahead. Curr Oncol Rep 12:226–234
58. Mazzone PJ (2010) Preoperative evaluation of the lung cancer resection candidate. Expert Rev Respir Med 4:97–113
59. Memmott RM, Mercado JR, Maier CR et al (2010) Metformin prevents tobacco carcinogen–induced lung tumorigenesis. Cancer Prev Res (Phila) 3:1066–1076
60. Monami M, Colombi C, Balzi D et al (2011) Metformin and cancer occurrence in insulin-treated type 2 diabetic patients. Diabetes Care 34:129–131
61. Noto H, Goto A, Tsujimoto T et al (2012) Cancer risk in diabetic patients treated with metformin: a systematic review and meta-analysis. PLoS ONE 7:e33411
62. Onitilo AA, Engel JM, Glurich I et al (2012) Diabetes and cancer II: role of diabetes medications and influence of shared risk factors. Cancer Causes Control 23:991–1008
63. Owen MR, Doran E, Halestrap AP (2000) Evidence that metformin exerts its anti-diabetic effects through inhibition of complex 1 of the mitochondrial respiratory chain. Biochem J 348(Pt 3):607–614
64. Pannala R, Basu A, Petersen GM et al (2009) New-onset diabetes: a potential clue to the early diagnosis of pancreatic cancer. Lancet Oncol 10:88–95
65. Papandreou I, Cairns RA, Fontana L et al (2006) HIF-1 mediates adaptation to hypoxia by actively downregulating mitochondrial oxygen consumption. Cell Metab 3:187–197
66. Pollak M (2008) Insulin and insulin-like growth factor signalling in neoplasia. Nat Rev Cancer 8:915–928
67. Pollak M (2012) Metformin and pancreatic cancer: a clue requiring investigation. Clin Cancer Res 18:2723–2725
68. Pouyssegur J, Dayan F, Mazure NM (2006) Hypoxia signalling in cancer and approaches to enforce tumour regression. Nature 441:437–443
69. Rocha GZ, Dias MM, Ropelle ER et al (2011) Metformin amplifies chemotherapy-induced AMPK activation and antitumoral growth. Clin Cancer Res 17:3993–4005
70. Rozengurt E, Sinnett-Smith J, Kisfalvi K (2010) Crosstalk between insulin/insulin-like growth factor-1 receptors and G protein-coupled receptor signaling systems: a novel target for the antidiabetic drug metformin in pancreatic cancer. Clin Cancer Res 16:2505–2511
71. Samudio I, Fiegl M, Andreeff M (2009) Mitochondrial uncoupling and the Warburg effect: molecular basis for the reprogramming of cancer cell metabolism. Cancer Res 69:2163–2166
72. Segal ED, Yasmeen A, Beauchamp MC et al (2011) Relevance of the OCT1 transporter to the antineoplastic effect of biguanides. Biochem Biophys Res Commun 414:694–699
73. Seyfried TN, Shelton LM (2010) Cancer as a metabolic disease. Nutr Metab (Lond) 7:7
74. Shu Y, Sheardown SA, Brown C et al (2007) Effect of genetic variation in the organic cation transporter 1 (OCT1) on metformin action. J Clin Invest 117:1422–1431
75. Song CW, Lee H, Dings RP et al (2012) Metformin kills and radiosensitizes cancer cells and preferentially kills cancer stem cells. Sci Rep 2:362
76. Stambolic V (2012). A. 2012. Chicago

77. Stambolic V, Woodgett JR, Fantus IG et al (2009) Utility of metformin in breast cancer treatment, is neoangiogenesis a risk factor? Breast Cancer Res Treat 114:387–389
78. Tan BX, Yao WX, Ge J et al (2011) Prognostic influence of metformin as first-line chemotherapy for advanced nonsmall cell lung cancer in patients with type 2 diabetes. Cancer 117:5103–5111
79. Vander Heiden MG, Cantley LC, Thompson CB (2009) Understanding the Warburg effect: the metabolic requirements of cell proliferation. Science 324:1029–1033
80. Vigneri P, Frasca F, Sciacca L et al (2009) Diabetes and cancer. Endocr Relat Cancer 16:1103–1123
81. Wang HQ, Altomare DA, Skele KL et al (2005) Positive feedback regulation between AKT activation and fatty acid synthase expression in ovarian carcinoma cells. Oncogene 24:3574–3582
82. Williams T, Brenman JE (2008) LKB1 and AMPK in cell polarity and division. Trends Cell Biol 18:193–198
83. Wingo SN, Gallardo TD, Akbay EA et al (2009) Somatic LKB1 mutations promote cervical cancer progression. PLoS ONE 4:e5137
84. Zadra G, Priolo C, Patnaik A et al (2010) New strategies in prostate cancer: targeting lipogenic pathways and the energy sensor AMPK. Clin Cancer Res 16:3322–3328
85. Zakikhani M, Dowling RJ, Sonenberg N et al (2008) The effects of adiponectin and metformin on prostate and colon neoplasia involve activation of AMP-activated protein kinase. Cancer Prev Res (Phila) 1:369–375
86. Zhang M, Hu Z, Huang J et al (2010) A 3'-untranslated region polymorphism in IGF1 predicts survival of non-small cell lung cancer in a Chinese population. Clin Cancer Res 16:1236–1244
87. Zhao Y, Liu H, Riker AI et al (2011) Emerging metabolic targets in cancer therapy. Front Biosci 16:1844–1860
88. Zheng B, Jeong JH, Asara JM et al (2009) Oncogenic B-RAF negatively regulates the tumor suppressor LKB1 to promote melanoma cell proliferation. Mol Cell 33:237–247
89. Zhou G, Myers R, Li Y et al (2001) Role of AMP-activated protein kinase in mechanism of metformin action. J Clin Invest 108:1167–1174
90. Zhuang Y, Miskimins WK (2011) Metformin induces both caspase-dependent and poly(ADP-ribose) polymerase-dependent cell death in breast cancer cells. Mol Cancer Res 9:603–615

İntestinal Mikroplar, Diyet ve Kanser

Meredith A. J. Hullar, Andrea N. Burnett-Hartman
ve Johanna W. Lampe

Özet

Giderek artan kanıtlar intestinal mikropların kanser etyolojisindeki rolünü desteklemektedir. Daha önce direkt olarak gastrointestinal maligniteleri başlatan veya destekleyen bakteri türlerinin tanımlanmalarına odaklanılıyordu; ancak intestinal mikropların sistemik enflamasyonu ve diğer aşağı yönlü yolakları etkileme kapasiteleri, bunların gastrointestinal kanal dışında dokulardaki kanser riskini de etkileyebileceğini göstermektedir. İntestinal mikrobiyotanın kansere karşı duyarlılıkla ilgili genel fonksiyonel katkıları arasında şunlar mevcuttur: (1) Başka türlü kullanılması mümkün olmayan diyet besin öğeleri ve/veya enerji kaynaklarına erişim (örn. diyet liflerinin ve dirençli nişastanın fermentasyonu); (2) Potansiyel olarak faydalı veya zararlı olabilen ksenobiyotiklerin metabolizması (örn. diyet bileşenleri, ilaçlar, karsinojenler v.s.); (3) İntestinal epitel hücrelerinin yenilenmesi ve mukozal entegrasyonun korunması; ve (4) İmmun sistem gelişim ve aktivitesinin etkilenmesi. İntestinal mikrobiyom, konak immun sistemi ve diyet maruziyetleri arasındaki kompleks ve dinamik ilişkilerin anlaşılması, karsinogenez mekanizmalarının tanımlanmasına yardımcı olarak gelecekteki kanser önleme ve tedavi stratejilerine ışık tutabilir.

Supported by US NIH grants U01 CA162077, R01 DK084157 and Fred Hutchinson Cancer Research Center.

M. A. J. Hullar · A. N. Burnett-Hartman · J. W. Lampe (✉)
Cancer Prevention Program, Public Health Sciences Division, Fred Hutchinson Cancer Research Center, 1100 Fairview Ave N, M4-B402, PO Box 19024Seattle, WA 98109, USA
e-mail: jlampe@fhcrc.org

J. W. Lampe
Department of Epidemiology, School of Public Health, University of Washington, Seattle, WA 98195, USA

V. Zappia et al. (eds.), *Advances in Nutrition and Cancer,*
Cancer Treatment and Research 159, DOI: 10.1007/978-3-642-38007-5_22,
© Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2014

Anahtar Kelimeler

Mikrobiyota · İntestinal mikrobiyom · İntestinal mikrobiyal topluluk · Kanserin önlenmesi

Kısaltmalar

PRR	Patern tanıma reseptörleri
ETFB	Enterojen *Backteroides fragilis*
LPS	Lipopolisakarid
TLR-4	Toll benzeri reseptör -4
LBP	LPS-bağlayıcı protein
MSI	Kararsız mikrosatelit
CIN	Kromozomal kararsızlık
SRB	Sülfat indirgeyici bakteri
UC	Ülseratif kolit
NOC	N-nitrozo bileşikleri
ODC	Ornitin dekarboksilaz
DFMO	Difluorometilornitin
ODMA	O-desmetilangolensin
ITC'ler	İzotiyosiyanatlar
EHC	Enterohepatik dolaşım
SSA	Sekonder safra asitleri
CA	Kolik asit
DCA	Deoksikolik asit
LCA	Litokolik asit
E_2	Östradiol
E_1	Östron
E_1S	Östron-3-sülfat
E_3	Östriol
DHEA	Dehidroepiandrosteron
16α-OHE1	16α-hidroksiöstron
TRFLP	Terminal restriksiyon uzunluk polimorfizmi
SHBG	Seks hormonu bağlayıcı globülin

İçindekiler

1 Giriş 379
2 İntestinal Mikrobik Topluluğun Moleküler Özellikleri 379
3 İntestinal Mikrobiyomun Kanser Gelişimindeki Direkt Etkileri 382
3.1 Enfeksiyon Ajanı Olarak İntestinal Mikroplar 382

3.2 Enflamasyonla İlişkili İntestinal Mikrobik Antijenik Partiküller 383
4 İntestinal Mikrobiyomun Kanserin Gelişimi ve Önlenmesindeki İndirekt Etkileri 383
4.1 Karsinogenez İle İlişkili Eksojen Substratların İntestinal Mikrobik Metabolizması 385
4.2 Karsinogenez İle İlişkili Endojen Substratların İntestinal Mikrobik Metabolizması 389
5 Sonuçlar 392
Referanslar 392

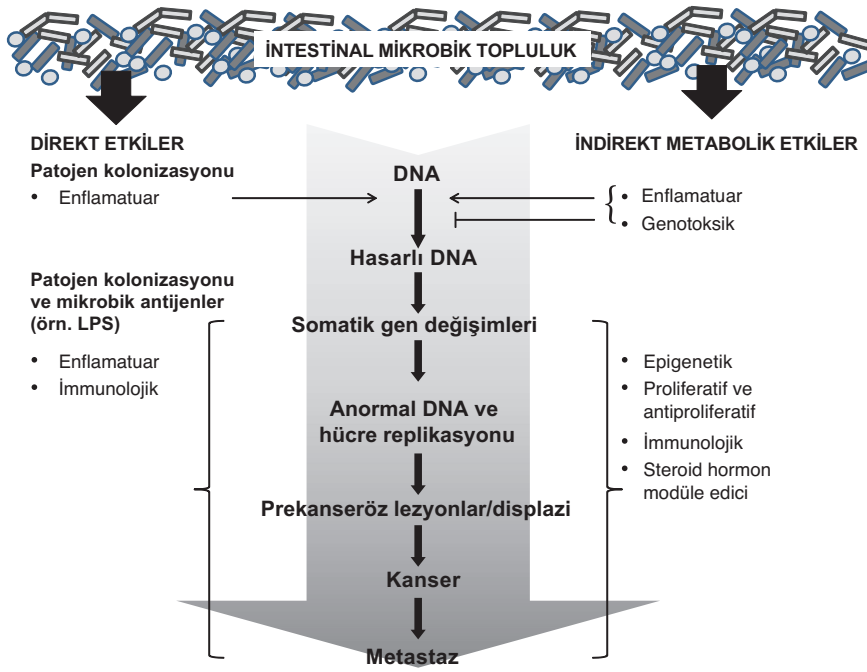
1 Giriş

İnsan bağırsaklarında büyük bir ekosistem oluşturan doğal bakterilerin çeşitli fizyolojik etkileri vardır. Ayrıca konağın sağlığını etkileyebilen multipl metabolik fonksiyonlara sahiptirler. Bakterilerin konağa bir çok farklı şekilde faydalı oldukları hipotezi mevcuttur. Bu faydalı etkiler arasında şunlar mevcuttur: (1) Metabolik dönüşümün ve faydalı diyet komponentlerinin kolaylaştırılması; (2) İntestinal pH'yı etkileyen faydalı fermentasyon son ürünlerinin üretimi ve intestinal mukoza epitel hücreleri ile etkileşim; (3) İntestinal mukozadaki patojenlerin bağlanma bölgeleri için yarışma yoluyla elimine edilmesi; (4) İntestinal immun sistem ile etkileşim ve immun sistemin regülasyonuna katkı; (5) Toksik maddelerin transformasyonu veya ekskresyonu; (6) Geçiş zamanını azaltan ve toksik maddeleri dilüe eden fekal kütlenin oluşturulması Mikropsuz ve normal hayvanlar arasındaki fenotipik farkları araştıran laboratuar çalışmalarında, mikrobiyotanın genel konak sağlığı üzerindeki etkisi gösterilmektedir [128, 142]; mikropsuz hayvanlarda daha düşük vücut ısısı, daha küçük lenf nodları, bilüribin ve safra asitlerinin dekonjugasyon yokluğu, üreaz ve β-glukuronidaz aktivitelerinin yokluğu ve daha düşük organ ağırlıkları görülür [20, 139].

Karsinogenez mikrobiyomla direkt ve indirekt yolaklar vasıtası ile ilişkilidir (Şekil 1). Direkt yolaklar arasında epitelde patojen kolonizasyonu veya patern tanıma reseptörleri olan bakteryel antijenik partiküller ile doğal immun sistem ile direkt etkileşim mevcuttur (PRR, örn. toll benzeri reseptör). İndirekt yolaklar arasında bakteryel karsinojen ve kemoprotektif faktörlerin diyet gibi eksojen kaynaklardan üretimi veya insanda metabolizma sonucunda ortaya çıkan endojen kaynaklardan üretilen bileşikler (örn. safra asitleri ve steroid hormonlar) mevcuttur. Aşağıda intestinal mikrobiyom, diyet ve kanser arasındaki ilişkiler ile ilgili epidemiyolojik ve deneysel kanıtlardan bahsedeceğiz.

2 İntestinal Mikrobik Topluluğun Moleküler Özellikleri

Bakteriler gastrointestinal kanal boyunca kolonize olurlar. Fekal örneklerdeki bakteriler insan kolon lümenindeki bakteryel kompozisyonu büyük oranda yansıtırlar [49, 129].



Şekil 1 İntestinal mikrobik toplulukların kanser riskini direkt ve indirekt olarak etkileme mekanizmaları. Patojenlerin intestinal epitelde direkt olarak kolonize olmaları ve mikrobik antijenlerin etkileri (örn. lipopolisakarid-LPS) enflamasyona ve immun fonksiyonun değişimine katkı yapabilir. Eksojen substratların (örn. diyet bileşenleri) mikrobik metabolitleri ve endojen konak bileşikleri (örn. steroid hormonlar, safra asitleri vs.) kolondaki karsinogenez sürecini ve sistemik etki ile de diğer dokulardaki karsinogenez sürecini etkileyebilir.

Erişkin insan bağırsağı 800'den fazla bakteri türü içeren bir bakteri topluluğuna ev sahipliği yapmaktadır [119]. Ancak bu mikrobik topluluk başlıca iki bakteryel tür olan Bacterioidetes ve Firmcutes ile bir Archaeal türü olan Methanobacter brevii tarafından oluşturulur [49, 62, 119, 143]. İntestinal mikropların metagenomik analizinde tüm bireylerde mevcut olan ana bir mikrobiyom olduğu gösterilmiştir. Ancak bireyler arasında intestinal mikrobik kompozisyonu oluşturan bakteri türleri yönünden büyük varyasyonlar mevcuttur [49, 62, 119, 143]. Bu nedenle insanda spesifik bir fenotip ile ilişkili özel bir bakterinin tanımlanması zor olabilir. Aktif bakterilerin izole edilmelerinde ve tanımlanmalarında kullanılan geleneksel kültür teknikleri zahmetli ve çok zaman alıcı yöntemlerdir. Ayrıca bakterilerin bu tekniklerle ölçümü, memeli bakteri türlerinin yaklaşık %40-60'ının klasik kültür teknikleri ile üretimlerinin mümkün olmaması nedeniyle sınırlıdır [20, 140].

İntestinal mikroplarla yapılan çalışmalar, klasik kültür tekniklerinin problemleri nedeniyle, intestinal bakteri türlerinin tanımlanmasında kullanılan moleküler sekans

bazlı yaklaşımlara kaymıştır [5, 53, 65, 92, 150]. Bakteryel DNA ve RNA bakterinin kültürde mevcudiyetinden bağımsız olarak tanımlanabilir. 16S ribozomal RNA (rRNA) geni filogenetik bazlı yaklaşımlar için idealdir. Çünkü bakteri türleri boyunca korunan DNA bölgeleri içerir. Ayrıca spesifik bakteri türlerine özgü sekanslar da içerir. Ayrıca enterik bakterilerdeki rRNA içeriği ile büyüme oranı arasındaki ilişki iyi bilinmektedir. Hücre başına düşen rRNA içeriği farklı beslenme şartlarındaki büyüme oranlarına bağlı olarak değişimler gösterir. Bu nedenle 16S rRNA içeriği mikrobik biyokütlenin [112, 124, 131] ve fizyolojik olarak aktif bakterilerin tahmininde kullanılabilir. Bu moleküler analizler alan düzeyine (örn. Eubacteria ve Archae), filum düzeyine (örn. Bacteroidetes ve Firmicutes), fonksiyonel grup düzeyine (örn. sülfat indirgeyici bakteriler) veya diğer türler düzeyine (örn. Clostridia türleri) odaklanmak amacıyla kullanılabilir.

Karşılaştırmalı omik teknolojileri mikrop kolonilerinin yapı ve fonksiyonlarının insan sağlığı ve hastalıkları ile ilişkilendirilmesine olanak tanımıştır Qin ve ark. 124 bireyin mikrobiyomlarındaki genleri metagenomik yaklaşım ile kataloglad ıkları güncel çalışmalarında 3.3 milyon bakteryel sekans tanımlamıştır [119]. Bu yaklaşım insanları, intestinal mikrobiyomların kompozisyon ve fonksiyonel potansiyellerine göre üç varsayımsal sınıfa ya da enterotipe ayırmak için kullanılmıştır [9]. Bu yaklaşım intestinal mikrobiyomun altında yatan fizyolojinin ve insanların bu mikrobiyomdan nasıl etkilenebileceklerinin potansiyel olarak tahmin edilebileceğini öne sürdüğü için merak uyandırıcıydı. Ancak bir genin varlığı, o genin her zaman eksprese olup mikrobiyom-konak ilişkilerini belirlemesi anlamına gelmemektedir. Fonksiyonel metagenomik yaklaşımların hangi genlerin aktif olarak eksprese olduğunu (metatranskriptomik) ve fonksiyonel proteinler haline dönüştüğünü (metaproteomik) değerlendiren yaklaşımlarla entegre olması gerekmektedir. Bu "omik" teknolojilerinin entegrasyonu ile sülfat indirgenmesi, nitrat indirgenmesi, sekonder safra asidi formasyonu ve diyetle etkileşime girerek insan sağlığını etkileyen diğer metabolik yolların değerlendirilmesi mümkündür. Epitel hücrelerinde karsinogenezi destekleyebilen patojenlerin direkt etkilerinin ölçümünde de kullanılabilirler. İntestinal mikrobiyomunun karsinogenezi direkt veya indirekt ajan olarak etkilediğini gösteren kanıtlar epidemiyolojik literatürde mevcuttur (bkz. aşağıdaki bölümler). İn vitro sistemler, fare modelleri ve kontrollü insan girişimleri ile birlikte intestinal mikrobiyomun insan sağlığını ve hastalık riskini etkileme mekanizmalarını anlamaya başlayabiliriz. Ancak intestinal mikrobiyomu prospektif bir şekilde örnekleyene kadar hastalık sonuçları üzerindeki nedensel etkilerini tam olarak anlamak güç olacaktır [86].

3 İntestinal Mikrobiyomun Kanser Gelişimindeki Direkt Etkileri

3.1 Enfeksiyon Ajanı Olarak İntestinal Mikroplar

Enfeksiyöz ajanların servikal, anal, penil, orofarengeal, karaciğer ve mide kanserleri ile belirli lenfoma tiplerinin etyolojilerinde önemli rol oynadıkları artık netleşmiştir [23, 42]. Dünyadaki kanser yükünün yaklaşık %20'si bilinen enfeksiyon ajanlarına bağlıdır. Bu oranın zaman içinde artması beklenmektedir [23, 153]. Enfeksiyonla ilişkili kanserlerin büyük bölümü viral ajanlara bağlı olarak oluşur. Servikal kanser ile insan papillomavirüs alfa tiplerinin veya karaciğer kanseri ile hepatit B ve C virüslerinin ilişkisi örnek olarak verilebilir [116]. Ancak özellikle intestinal mikropları kapsayan bakterilerin de karsinojenik etkileri olduğu bildirilmiştir [96].

Helicobakter pylori Uluslararası Kanser Araştırma Ajansı (IARC) tarafından klas I karsinojen olarak kabul edilmektedir. Gastrik kanserin ve MALT lenfomanın kabul edilen nedenlerinden biridir ve dünyadaki kanserlerin yaklaşık %5.5'inde sorumludur [72, 116]. Tifo ajanı olan *Salmonella typhi*'nin kronik mevcudiyetinin safra kesesi kanseri ile ilişkili olduğu hipotezi geliştirilmiştir [90]. Ayrıca çeşitli bakteri türleri de kolon kanserine yol açan potansiyel adaylar olarak belirlenmiştir. Bunlar arasında *Streptococcus bovis* (*S. gallolyticus* olarak da bilinir), *Fusobacterium nucleatum*, *H. pylori*, *Coriobacterialies*, ve enterotoksikojenik *Bacteroides fragilis* (ETFB) mevcuttur [27, 31, 63, 100].

Potansiyel enfeksiyöz bakteriyel ajanlarla intestinal karsinomları ilişkilendiren çalışmalarda vaka kontrol dizaynı kullanılmıştır. Vaka kontrol çalışmaları nadir hastalıkları incelemek için yeterli olsalar da, enfeksiyon ve kanser arasındaki zamana bağlı ilişkiyi tespit edemezler [99]. Bu metodolojik problem vaka kontrol çalışmalarının sonuçlarının yorumlanmasında önemlidir. Kanserde tümörün etrafındaki mikroçevre daha anaerobik hale gelerek, kanserin progrese olurken enfeksiyonlara muhtemelen daha duyarlı hale gelmesine neden olmaktadır [68]. Bu nedenle malign bir tümörün spesifik bakteryel ajanlar içeren enfeksiyonlara ideal bir ortam yaratıp yaratmadığı veya bakteryel enfeksiyonun kanserden önce başlayıp enflamasyon veya diğer yolaklarla karsinogeneze yol açıp açmadığı konusu henüz netleşmemiştir. Ayrıca bazı bakteri türleri erken karsinogenezde önemli rol oynasalar da, kanser gelişirken oluşan tümör ortamını tolere edemeyebilir; bu potansiyel olarak önemli ajanlar intestinal kanserle ilgili vaka kontrol çalışmalarında gözden kaçırılabilir. Bu nedenle prospektif çalışmalar ile kolorektal adenomlar gibi kanser prekürsörlerini araştıran çalışmalar bakteryel ajanlarla kanser arasındaki nedensel ilişkinin belirlenmesinde önemlidir.

Ayrıca bakteryel ajanlarla kanser arasındaki zamana bağlı ilişkinin tespit edilmesine ek olarak, enfeksiyon ajanlarının karsinogenezi hangi mekanizmalarla desteklediklerini de tespit edilmelidir. Yukarıda kısaca tartışılan tüm bakteri türlerinin, enfeksiyon bölgesindeki kanserleri klasik mikrobik karsinogenez ile direkt olarak desteklediklerini hipotezi

öne sürülmüştür. Bu modelde mikrobun intestinal mukozayı enfekte ederek kronik, lokal enflamatuar cevaba yol açmasının hücresel proliferasyonu, sitokin üretimini ve artan reaktif oksijen türlerine bağlı olarak DNA hasarın tetiklediği öne sürülmektedir [37]. Zaman içinde enfekte hücreler ile komşu hücrelerinde DNA hasarının akümüle olması ile tümör baskılayıcı genler ile morfolojik değişimleri indükleyen onkogenlerde ortaya çıkan mutasyonlar, sonuçta malign tümör gelişimine neden olur. Bu model *H. pylori* ve gastrik kanser gelişimi yönünden kesinlikle önemli olmasına rağmen [51], intestinal mikropların gastrointestinal sistem dışındaki bölgelerde bulunan karsinogenezi de etkileme potansiyelleri olduğunu ve diyet ile kompleks etkileşimlere girdiğini gösteren kanıtlar giderek artmaktadır [36, 123]. Örneğin bazı araştırmacılar *H.pylori* ve tuz alımının sinerjistik etki ile gastrik kanseri desteklediği hipotezini geliştirmiştir [147]. Ayrıca güncel çalışmalarda farelerdeki poliamin katabolizmasının ETFB tarafından indüklenen kolon tümörijenezine katkı yaptığı gösterilmiştir [63] (bkz. aşağıdaki diyet poliamin bölümü). Diyet ayrıca muhtemel karsinojen etkisi olan enfeksiyonların potansiyel kaynağı da olabilir. Örneğin kırmızı et tüketimi kolorektal kanser riskinde artış ile ilişkilidir [114]. Bu artışın kırmızı et ürünlerinde bulunan *S. bovis* gibi potansiyel karsinojenik bakteriyel kontaminantlardan kaynaklanıyor olması mümkündür [84].

3.2 Enflamasyonla İlişkili İntestinal Mikrobik Antijenik Partiküller

Gram negatif bakterilerin hücre duvarındaki komponentlerinden biri olan lipopolisakarid (LPS, endotoksin olarak da bilinir) obezitede düşük dereceli kronik enflamasyon [29, 30, 38] ve kolorektal kanser ile ilişkilidir [28, 56]. LPS toll benzeri doğal immunite ile ilişkili bir PRR olan ve TGF-β aracılığındaki yolakları tetikleyen reseptör-4 (TLR-4) yoluyla etki gösterir [1, 97]. Bu etki büyüme faktörlerini ve enflamatuar aracıları da içeren neoplaziye yol açabilen çeşitli genlerin ekspresyonu ile ilişkilidir. TLR-4 aktivasyonu ile LPS bağlayan, serum LPS-bağlayıcı protein (LBP) LPS'nin dolaşımdaki konsantrasyonları ile koreledir [117]. Güncel bir prospektif çalışmada LBP genindeki polimorfizmlerin kolorektal kanser riskinde artış ile ilişkili olduğu gösterilmiştir [33]. Bugüne kadar bu mutasyonların intestinal mikrobiyomdaki gram negatif bakterilerin dağılımı ve kanser riski ile ilişkisini araştıran bir çalışma yapılmamıştır.

4 İntestinal Mikrobiyomun Kanserin Gelişimi ve Önlenmesindeki İndirekt Etkileri

Diyet intestinal bakterilerin miktar ve tiplerini etkiler. Diyet bileşenlerinin intestinal metabolizmaları da hem koruyucu hem de zararlı metabolitlerin oluşumunu etkiler. Bu nedenle diyet ve ortak yaşayan intestinal bakteriler arasındaki etkileşimin sonucunda insanlardaki kanser riski etkilenebilir. Kanserler genomik ve epigenomik instabilite

Tablo 1 Spesifik eksojen ve endojen bileşiklerle ilgili intestinal mikrobik metabolizmanın kanser riski üzerindeki potansiyel etkisinin özeti

Bakteriyel metabolizma	Substrat kaynakları	Bakteri türleri	Kanserde potansiyel etkisi
Eksojen substratlar			
Hidrojen sülfür üretimi için sülfat indirgenmesi (H_2S)	Diyet proteinleri, özellikle sülfür içeren amino asitler ve inorganik sülfür kaynakları (su içindeki SO_4)	Sülfat indirgeyici bakteriler (SRB)	H_2S sitotoksik ve genotoksik etkilere sahiptir
Nitratın nitrite indirgenmesi N-nitrozo bileşiklerinin oluşumuna yol açar	Et (özellikle kırmızı et)	Multipl intestinal bakteri türleri	NOC, DNA eklentileri oluşturabilir
Poliamin üretimi	Ornitin	Multipl intestinal bakteri türleri	Enflamatuar mikroçevrenin büyümesi ile ilişkili poliamin
Flavonoid metabolizması: daidzein ekuola dönüşür	Soya	*Enterococcus faecium* suşu EPI1, *Laktobacillus mucosae* suşu EPI2, *Finegoldia magna* suşu EPI3 ve *Veillonella* türleri	Yüksek soya tüketen popülasyonlardaki ekuol üretimi düşük meme ve prostat kanseri riski ile ilişkilidir
Glukozinatların isotiyosiyanatlara (ITC) metabolize olması	Brokoli, lahana, kara lahana ve Brüksel lahanası gibi turpgiller ailesine ait sebzeler	*Escherichiacoli, Bacteroides thetaiotaomicron, Enterococcusfaecalis, Enterococcusfaecium, Peptostreptococcussp.* ve *Bifidobacterium* türleri	ITC'nin hücre siklusunu durdurma ve apoptozu indüklemeyi de içeren anti-karsinojenik özellikleri vardır
Endojen substratlar			
Sekonder safra asidi üretimi: Deoksikolik asit ve litokolik asit	Primer safra asitleri: Kolik asit ve kenodeoksikolik asit	Multipl Clostridium türleri	Sekonder safra asitleri tümör destekleyici aktiviteye bazı çalışmalar yüksek fekal sekonder safra asidi kolorektal kanser riskinde artış ile ilişkili olduğunu bildirmiştir
Endojen östrojen metabolizması	Östradiol (E2), östron 16α-hidroksiöstron, 16-oksoöstradiol, 15α-hidroksiöstron	*Clostridium paraputrificum, Bacteroides* türleri, *Eubacterium lentumu* da içeren çok sayıda reaksiyon gerçekleşir	Meme kanseri ile ilişkili olarak yükselen E2 konsantrasyonları

sonucunda ortaya çıkarlar. Bu instabilite normal, sağlıklı hücreleri kanser hücrelerine dönüştüren genetik ve epigenetik değişimlerin akümülasyonuna izin verir. Mikrobik metabolitler DNA üzerindeki direkt genotoksik etkileri ile DNA tamir sistemlerin modülasyonu ve histon asetilasyonu veya CpG adacık metilasyonu ile epigenetik mekanizmaların modülasyonu ile instabil mikrosatelit veya instabil kromozomlar içeren tümörlerin gelişimini etkileyebilirler [98, 137]. İnorganik bileşikleri büyüyebilmek için elektron akseptörü ve organik karbon kaynağı olarak kullanan kemolitoheterotroflar ile organik karbonu hem respirasyon hem de büyüme için kullanan organoheterotroflar gibi özgün metabolizmaları olan bakteriler kanserle ilişkilidir. Aşağıda özgün metabolizmaya sahip çeşitli bakteri örnekleri tanımladık. Bu mekanizmalar intestinal mikrobiyomun 1) Eksojen kaynaklardan (örn. diyet) tümörijenezi etkileyebilen metabolitleri üretebilmesine veya 2) Dolaşımda bulunan ve steroid hormonlar veya safra asitleri gibi tümörijenezi etkileyen endojen bileşiklere maruziyeti değiştirmesine neden olur.

4.1 Karsinogenez İle İlişkili Eksojen Substratların İntestinal Mikrobik Metabolizması

4.1.1 Sülfat İndirgenmesi

Hidrojen sülfit (H_2S) sülfat indirgeyici bakteri (SRB) tarafından üretilir ve hücre kültürü çalışmalarında hem sitotoksik hem de genotoksik etkilere sahiptir [13, 44, 75]. Örneğin Attene-Ramos ve ark. [13] modifiye komet deneyi kullanarak H_2S'in DNA hasarına yol açtığını göstermişlerdir. Sülfitin kolonik epitel hücrelerindeki bütiratın oksidasyonunu da önleyerek ATP formasyonunu ve enerji kullanımını azalttığı gösterilmiştir [34]. Bu etki iyonların absorpsiyonunu, mukus formasyonunu ve hücresel detoksifikasyonu engeller. Roediger ve ark. [121, 122] H2S'e maruz kalan kolonositlerdeki yağ asidi oksidasyonun azaldığını ve sülfitin hücresel redoks potansiyelini değişime uğratarak hücre proliferasyonunu değiştirdiğini bildirmiştir [44].

Sülfat indirgeyici bakterilerin enflamatuar bağırsak hastalığı ve kolorektal kanserdeki rolü çeşitli epidemiyolojik ve klinik çalışmalar tarafından araştırılmıştır [15, 60, 80, 118, 121, 122, 130]. Kolon kanseri için bir risk faktörü olan ve H2S maruziyetine bağlı olarak oluştuğu hipotezi geliştirilen genomik instabilite sporadik kolon kanseri ve ülseratif kolit ile ilişkilidir [14]. Popülasyon bazlı bir çalışmada (n=55) farklı etnik gruplardaki SRB dağılımı farklılıklar göstermiştir. SRB prevalansı daha yüksek kolon kanseri görülen gruplardaki diyet ile ilişkili bulunmuştur [115]. Ülseratif kolit muhtemelen SRB tarafından üretilen H2S ile ilişkili enflamasyon artışı ile bağlantılıdır [52]. Ayrıca ülseratif kolitli hastalardan alınan ve kültür yöntemi ile analiz edilen fekal örneklerde ülseratif kolit olmayanlara göre daha yüksek SRB konsantrasyonları tespit edilmiştir [61].

Normal intestinal mikrobiyatada sıklıkla bulunan SRB'nin dağılım ve aktivitesi diyetten etkilenebilir. Özellikle sülfür içeren amino asitler gibi diyet proteinleri ve inorganik sülfür kaynakları (suda SO_4) H_2S üretimine katkı yapabilir [46]. Magee ve ark. [95] tara-

fından yapılan kontrollü besleme çalışmasında H_2S üretiminin tüketilen protein miktarı ile anlamlı olarak ilişkili olduğu gösterilmiştir. Farelerden alınan fekal bulamaç ile inoküle edilmiş sürekli kültürde inorganik sülfat indirgenmesi [46] ve sülfonlu proteinler (örn. müsinler) sülfat indirgenmesini artırmış ve metanogenezi inhibe etmiştir [59]. Bu çalışmalar sülfat indirgenmesinin gerçekleşmesi için SRB gerektiğini ve SRB miktarının diyet tarafından değiştirilebileceğini göstermiştir. Delta Proteobacterianın delta alt divizyonunda bulunan SRB'lerin çoğu filogenetik olarak mütevazi bir grup oluştururlar. Gram pozitif bakterilerin Clostridium alt divizyonunda bulunan Desulfotomaculum bu duruma bir istisna teşkil eder [71]. Adenozin indirgenme yolağındaki ana enzimler, fonksiyonel genler olan katabolik (bi) sülfit redüktaz (*dsr*A) [154] ve adenozin-5' -fosfosülfat redüktazdır (*aps*A) [45, 55].

4.1.2 Nitrat İndirgenmesi

Epidemiyolojik çalışmalarda kırmızı ve işlenmiş et tüketimi ile kolon kanseri arasında ilişki olduğu gösterilmiştir [114]. Kırmızı ve işlenmiş etteki protein ve diğer nitrojenöz kalıntılar gibi instestinal bakterilerin N-nitrozo bileşikleri (NOC) üretmesine izin veren birçok bileşen [17] bu risk artışına katkı yapabilir [22]. Nitrat endojen olarak intestinal bakteriler tarafından üretilen nitrat redüktaz ile nitrite indirgenebilir. Nitrit organik bileşikler ile NOC oluşturmak üzere etkileşime girebilir. Feçeste nitrozaminler, nitrozamidler ve nitrozoguanidini de içeren birçok NOC sınıfı tespit edilmiştir [25]. NOC mutasyonları indükleyebilen DNA eklentileri oluşturabilir. Örneğin bazı NOC'ların K-ras geninin 12. veya 13. kodonunun ikinci tabanındaki GC'den AT'ye transisyonu indükleyebilen alkilleyici ajanlar oldukları gösterilmiştir. Bu K-ras mutasyonları olan kolorektal tümörlerde sık görülen bir mutasyondur [25]. Daha yakın zamanda yapılan bir çalışmada, ülseratif kolit teşhisi alan enflamatuar barsak hastaları ile enflamasyon olmayan irritabl barsak hastalarının kolon biyopsilerinin transkriptomik analizleri karşılaştırıldı [66]. Araştırmacılar gen ekspresyon düzeylerini çalışmaya katılan tüm deneklerdeki (vakalar ve kontroller) fekal NOC ile ilişkilendirdiler. Ağ analizi ile kromatin modifikasyonunun 11 histon geninin regülasyonunda değişim ile ilişkili olduğunu buldular. Bu bulgu epigenetik mekanizmaların NOC tarafından indüklenen karsinogenez ile ilişkili olabileceğini düşündürmektedir.

Diyet NOC konsantrasyonlarını etkileyebilir. Et tüketimi kolondaki nitrojenöz kalıntıları artırır [136]. Sekiz erkekte yapılan kontrollü besleme çalışmasında et tüketimi ile fekal NOC konsantrasyonları arasında doza bağlı ilişki tespit edilmiştir [73]. Fekal su genotoksisitesi, kırmızı et ile 7 günlük diyet girişim çalışasında, DNA hasar tamiri, hücre siklüsü ve apoptoz yolaklarını da içeren prokarsinojenik yolaklardaki kolonik gen ekspresyonunda değişimler ile ilişkili bulunmuştur Erkeklerde yapılan diğer kontrollü besleme çalışmalarında "hem demir" fekal NOC düzeylerini artırırken, "hem" yönünden zayıf protein kaynaklarının (örn. beyaz et ve sebze kaynaklı protein) fekal NOC'u artırmadığı bulunmuştur [22, 39]. Hem'in NOC üzerindeki bağımsız etkisi, bakteryel N-nitrozlaşmasına ek olarak kimyasal katalizin kırmızı etin endojen intestinal

N-nitrozlaşması üzerindeki doza bağlı etkisinden sorumlu olabileceğini düşündürmektedir [39]. Yüksek oranda kırmızı et içeren diyete brokoli, Brüksel lahanası ve bezelye eklenmesinin fekal NOC düzeylerine bir etkisi olmamıştır. Ancak soya eklenmesi fekal NOC düzeylerini anlamlı düzeyde baskılamıştır [74].

İntestinal bakterilerin N-nitrozlaşması üzerindeki önemi, nitrozlaştırma ajanı olarak nitrat verilen mikropsuz farelerde N-nitrozlaşması görülürken, normal intestinal mikrobiotası olan farelerde bu etkinin görülmemesi ile gösterilmiştir [103]. Bazı fakültatif ve anaerob bakteriler nitrat redüktaz yoluyla NOC katalizleyebilirler. Katabolik nitrat indirgenmesi bakteri grupları boyunca dağılmış bir grup bakteri tarafından yürütülür. NarG geni nitratın nitrite indirgenmesinden sorumludur. İnsanlarda yapılan güncel çalışmalarda haftada üç porsiyondan fazla kırmızı et tüketenlerde ve nükleotid eksizyon tamir yolağında polimorfizm olanlarda kolorektal kanser riskinde artış gözlenmiş olması ilginçtir [79]. Ancak intestinal mikrobik NOC formasyonunun derecesi ile konak DNA tamir mekanizmalarındaki varyasyonların kolorektral risk üzerindeki kombine etkileri araştırılmamıştır.

4.1.3 Poliamin Üretimi

Poliamine maruziyet kolonik mukoza enflamasyonu ve devamında kolon kanseri riski ile ilişkilendirilmiştir [58]. Ornitin spermidin ve spermin prekürsoru olan poliamin putreskine dönüşür. Bu yolak normal büyümede önemlidir. Ancak poliaminler okside olarak reaktif oksijen türlerinin üretimine yol açarak kronik enflamatuar mikroçevreye katkı yapabilirler. Epitelyuma poliamin akışında artış ökaryotik ornitin dekarboksilazı (ODC) yukarı regüle eder. Poliamin sentezinde rol oynayan önemli bir regülatör enzim olan ODC kolon kanserinde yukarı regüle olur. Bu ODC yukarı regülasyonu, CIN tümörlerinde bulunan K-ras mutasyonlarının aşağı yönündeki MAPK sinyal yolağı yukarı regüle olan kolon kanserlerini destekleyebilir [76, 89, 105].

Poliaminler endojen olarak üretilmelerine rağmen diyet ve diyet prekürsorlarının metabolizması ile üretilen poliaminler intestinal epitel hücrelerinin maruziyetini etkilerler. Gerner ve ark. [57] kemopreventif tedavilerin etkinliklerinin diyetle alınan putreskinin modülasyonu ile etkilenebileceğini göstermiştir. Ancak intestinal mikrobiyomunun modülasyonu dikkat çekmemiş bir kemopreventif opsiyondur. Ailesel adenamatöz polipoziste sıklıkla uygulanan bir kemoprevensiyon tedavisi ODC'nin difluorometilornitin (DFMO) ve nonsteroidal antienflamatuar ilaçlarla bloke edilmesidir [58]. DFMO poliaminlerin ökaryotik üretimlerinde rol oynar; ancak bakteryel yolla üretilen putreskinin tedarik miktarının değiştirilmesinde daha az etkili olabilir. Bakteryel amino asit dekarboksilazların filogenetik ve yapısal farklılıkları göz önüne alındığında [91] bakterilerin poliamin üretmelerini ve lümendeki poliamin konsantrasyonlarını etkilemelerini sağlayan multipl, farklı mekanizmaları mevcuttur. DFMO bu nedenle poliaminlerin ökaryotik üretimlerini etkilerken, bakteryel üretim etkilenmeyebilir. Örneğin DFMO'nun H. pylori büyüme oranlarını etkilediği gösterilmiştir. Ancak E. coli ve C. rodentium gibi diğer enterikleri etkilememektedir [16]. Poliamin üretiminin intestinal mikroplar tarafından azaltılmasının yeni yollarının tanımlanması veya intestinal mik-

robiyal topluluğunun değişimi, yüksek riskli hasta popülasyonlarında kullanılabilecek farklı bir kemoprevensiyon stratejisi olabilir.

4.1.4 Flavonoid Mekanizması

Epidemiyolojik çalışmalarda bitkisel kaynaklı besinlerin tüketiminin farklı kanser türlerinin risklerinde azalma ile ilişkili olduğu gösterilmiştir [152]. Polifenolik bileşikler olan flavonoidler insan diyetinde en çok bulunan bitkisel kaynaklı besin öğeleridir. Altı kategoriye ayırılırlar. Antioksidan özellikleri yoluyla DNA hasarının azaltılması veya enflamasyon yolakları ile etkileşime girebilme gibi çeşitli kanser engelleyici özellikleri mevcuttur ([138] nolu referansta incelenmiştir). Salgı miktarlarında ve dolaşımdaki konsantrasyonlarında büyük bireysel farklılıklar olması muhtemelen intestinal mikrobiyom varyasyonlarının bir yansımasıdır.

Bakteryel metabolizma üzerindeki etkileri en fazla araştırılmış flavonoid muhtemelen soya izoflavonu olan daidzeindir. Çalışmalarda popülasyonun yaklaşık %30-50'sinin daidzeini ekuole [54, 88], %80-90'ının da O-desmetilangolensine (ODMA) metabolize edebildiği gösterilmiştir [6, 81]. Çeşitli in vitro çalışmalarda ekuolinin prekürsörü olan daidzeine göre daha biyolojik olarak daha fazla aktif olduğu gösterilmiştir. Örneğin ekuolin daha fazla östrojenik [101], daha güçlü bir antioksidan olduğu [7, 120, 144, 145] ve serumda hem genistein hem de 17β-östradioldan daha yüksek serbest fraksiyonunun mevcut olduğu gösterilmiştir [110]. Bu bulgu 10 yıldan daha uzun süre önce ekuol üretebilen bireylerin soya tüketimine potansiyel "cevap verici" olması nedeniyle ilginin artmasına yol açmıştır. Setchell ve ark. [133] soya ve izoflavon takviye çalışmalarında çok farklı sonuçlar elde edilmesinin, bireylerin ekuol üretebilme yeteneklerinin "bakteryel tiplemesinin" yapılmamış olmasından kaynaklanabileceği hipotezini geliştirmiştir. Hepsi değilse de, bazı çalışmalarda ekuol üretiminin meme ve prostat kanseri risklerinde azalma ile ilişkili olduğu gösterilmiştir ([87] nolu referansta incelenmiştir). Ayrıca ekuol üretimi ile (meme kanseri riski yönünden), steroid hormonların ve üriner östrojen metabolitlerinin dolaşımdaki miktarları ve mamografik meme dansitesi arasında olumlu ilişkiler gözlenmiştir [10, 48, 54, 113].

İnsan intestinal bakterileri ekuol ve ODMA üretiminden sorumludur [11. 32]. Belirli bakterilerin ekuol üretim yolağında özgün fonksiyonları olduğu belirlenmiştir [135]. Ancak diğer çalışmalarda Enterococcus faecium suş EPI1, Lactobacillus mucosae EPI2 suşu, Finegoldia magna EPI3 suşu ve suşu henüz tespit edilemeyen Veillonella türünden bakterilerden oluşan bir konsorsiyumun da ekuol üretiminde rol oynayabileceği gösterilmiştir [43].

4.1.5 Turpgillerden Elde Edilen Glukozinolatların Metabolizmaları

Turpgiller veya hardal ailesine ait sebzelerin tüketiminin bazı kanser riskleriyle ters orantılı ilişkiye sahip olduğu gösterilmiştir [85]. Glukozinolatların hidroliz ürünü olan izotiyosiyanatların (ITC) hem in vitro hem de in vivo ortamda antikarsinojenik özellikleri olduğu gösterilmiştir ([111] nolu referansta incelenmiştir). ITC'lerin biyolojik etkileri çeşitlidir. Karsinogenezde önemli rol oynayan multipl yolaklarla iletişime girmeyi ve

yolakların kendi arasındaki etkileşimini de kapsayan çeşitli etkileri mevcuttur. ITC'nin tümörijenezi inhibe edici etkisinin, enzim aktivitelerinin faz 1 ve 2 biyotransformasyonlarını inhibe etmeleri ile karsinojenlerin metabolizmaları ve DNA'ya bağlanmaları gibi kimyasal karsinogenez ile ilişkili farklı mekanizmaları etkilemeleri yoluyla gerçekleştiği gösterilmiştir [70]. İn vitro çalışmalarda ITC'nin hücre döngüsünü durdurduğu ve apoptozu indüklediği de gösterilmiştir [109].

Glukozinolatlar bitki mirozinazları veya bakteriler tarafından üretilen tioglukozidazlar tarafından ITC'ye dönüştürülürler. Turpgillere ait bitkilerin pişirilmesi bitki mirozinazlarını deaktive eder. Turpgillerin çoğunun pişirilerek tüketildiği düşünülürse intestinal bakterilerin glukozinolatların ITC'ye dönüştürülmesinde önemli rol oynadığı ortaya çıkmaktadır. Daha önce yapılan çalışmalarda insan bağırsağından veya feçesten elde edilen Escherichia coli, Bacteroides thetaiotaomicron, Enterococcus faecalis, E. faecium, Peptostreptococcus türleri, ve Bifidobacterium türleri gibi belirli bakterilerin glukozinatları ITC veya diğer türevlerine dönüştürebildiği gösterilmiştir [26, 50, 69]. İnsanlardaki kontrollü besleme çalışmalarında (bitki mirozinaz aktivitesini yok etmek için ısıtılmış veya mikrodalga fırında ısıtılmış) aynı miktarda turpgilllere ait sebzelerin tüketimi sonrasında üriner ITC ekskresyon oranlarında önemli bireysel farklar gösterilmiştir [125, 134, 146]. Benzer sonuçlar sıçanlarla yapılan kontrollü besleme çalışmalarında da tespit edilmiştir [35, 126]. Bu bulgular ITC formasyonunda bireyler arasındaki intestinal bakterilerin aktivite veya kompozisyonlarının farklı olduğunu düşündürmektedir. Yakın zamanda yaptığımız bir çalışmada, standart pişirilmiş brokoli yemeğinden sonra idrarında daha yüksek ITC ekskresyonu görülen bireylerdeki fekal bakterilerin glukorafanini daha fazla metabolize ettiğini gösterdik [93].

4.2 Karsinogenez İle İlişkili Endojen Substratların İntestinal Mikrobik Metabolizması

4.2.1 Sekonder Safra Asitlerinin Üretimi

Kolonik bakteryel transformasyon ürünü olan sekonder safra asitl (SSA) deoksikolik asidin (DCA) safra taşı formasyonunda [141] ve kolorektal karsinogenezde [21, 106] rolü olduğu bildirilmiştir Primer safra asitleri olan kolik asit ve kenodeoksikolik asit karaciğer kolesteroldan sentezlendikten sonra glisin veya taurin ile konjuge olarak enterohepatik dolaşıma girerler. Karaciğer, safra kesesi ve bağırsaklar arasındaki enterohepatik dolaşım yaklaşık %95 oranında etkili olduğu halde, safra asitlerinin 5%'i bu dolaşımdan kaçarak kolondaki anaerobik bakteriler tarafından SSA, DCA ve litokolik aside (LCA) dönüştürülürler. Diyet kolona geçen safra asitlerinin miktarını direkt olarak etkileyebilir. Çalışmalar yüksek yağlı diyetlerin daha yüksek SSA konsantrasyonlarına yol açabileceğini göstermektedir [40, 104]. Hayvan çalışmalarında SSA'ların tümör destekleyici etkileri olduğu gösterilmiştir. İnsanlarda yapılan bazı çalışmalarda da yüksek fekal safra asidi konsantrasyonlarının kolorektal kanser riskini artırdığı belirtilmiştir ([104] nolu referansta incelenmiştir). Ancak bu ilişki tüm çalışmalarda gösterilememiştir [107]. İn. geçiş zamanı ve pH gibi faktörlerin fekal SSA konsantrasyonlarını etkilediği düşünüldü-

ğünde fekal safra asidi konsantrasyonları ile kolon kanseri arasındaki ilişkinin kompleks olduğu anlaşılmaktadır. Enterohepatik dolaşımdan kaçan hemen tüm safra asitlerinin ekskresyon öncesi SSA'ya dönüştürüldüğü göz önüne alınırsa, fekal safra asidi konsantrasyonları kullanılarak tahmin edilen safra asidi havuzundaki DCA miktarlarının gerçekte olduğundan daha yüksek çıkabileceği bildirilmiştir [104]. Ancak safra asidi havuzunu daha doğru ölçebilen serum DCA seviyelerinin de kolon kanseri hastalarında sağlıklı bireylerden daha yüksek olduğu gösterilmiştir [18, 19]. DCA ile kolon kanseri arasındaki potansiyel bir ilişki DCA'nın tümör supresyonuna müdahil olarak ve hücre büyüme sinyalleri yoluyla büyümeyi stimüle ederek apoptoz, proliferasyon ve intestinal epitelin farklılaşması [64] arasındaki dengeyi değiştirmesi olabilir.

DCA formasyonundan sorumlu bakterilerin *Clostridium* cinsine ait olduğu belirlenmiştir [47, 83, 148, 149]. Bu bakteriler düşük veya yüksek 7α-hidroksile edici aktivitelerine göre iki sınıfa ayrılmıştır. Bu sınıflar bireysel DCA konsantrasyonlarındaki varyasyonları kısmen açıklayabilir. Ayrıca kolik asidin DCA'ya bakteryel 7α-dehidroksilasyonunda rol oynayan safra asidi tarafından indüklenen operon da tanımlanmıştır [148].

4.2.2 Endojen Östrojenlerin Metabolizması

Meme kanseri riski idrarda yükselmiş östradiol (E_2), östron (E_1), E_1 sülfat (E_1S), östriol (E_3), dehidroepiandrosteron (DHEA) ve 16α-hidroksiöstron (16α-OHE_1) seviyeleri ile ilişkilidir [10]. Dolaşımdaki östrojen seviyelerini değiştiren hem genetik hem de çevresel faktörler de meme kanseri riskini etkileyebilir.

Östrojenler kan dolaşımında serbest ya da proteine bağlanmış, konjuge veya konjuge olmayan halde bulunabilir, hedef organ ile etkileşime girebilir veya salgılanabilirler. Östrojenler karaciğerde sülfatlanabilir, glukuronidasyona uğrayabilir ya da metile olabilirler. Yaklaşık %50'si idrarla atılırken kalan kısmı safraya geçerek enterohepatik dolaşıma geçer. Kolondaki bazı bileşikler feçesle atılırken bazıları da intestinal mikrobiyom tarafından metabolize edilir ([108] nolu referansta incelenmiştir). İn. mikrobiyom (1) dekonjugasyon yoluyla dolaşımdaki hormonlara maruziyeti artırabilir ve (2) dolaşımdaki hormonların kompozisyonunu (veya tiplerini) hidroksilasyon/dehidroksilasyon ve metilasyon/demetilasyon yoluyla etkileyebilir. Çeşitli intestinal bakterilerde bulunan β-glukozidazlar, β-glukuronidazlar ve sulfatazlar hormon konjugatlarını hidrolize ederler [41]. Bu unkonjuge östrojenler kan dolaşımına reabsorbe olduktan sonra, idrarla atılabilir veya tekrar enterohepatik dolaşıma girebilirler [132] Adlercreutz ve ark. otuz yıldan daha uzun süre önce antibiyotik uygulanması ile östrojenlerin idrarla atılımının azaldığını gözlemiştir. Bu bulgu intestinal bakterilerin östrojenlerin enterohepatik dolaşımının regüle edilmesinde ve buna bağlı olarak maruz kalınma derecelerinde önemli rol oynadıklarını göstermektedir [3, 4, 102]. Diyetin kendisi de östrojenleri direkt olarak diyet lifleri ile bağlayarak ya da intestinal mikropların östrojenleri metabolize etme derecelerini etkileyerek serum hormon konsantrasyonlarını etkileyebilir [2].

Birçok intestinal bakteri konjuge steroidlerin hidrolizasyonlarının ilk aşamasını gerçekleştirerek [151] diğer intestinal bakteriler tarafından daha ileri metabolize edilmelerinin yolunu açar. Östrojenlerin mikrobik metabolizmaları indirgenme, oksidasyon ve E_2'nin E_1'den

Tablo 2 Premenopozal kadınlardaki serum hormon konsantrasyonları (sonuç) ile intestinal mikrobik topluluk (maruziyet) ve diyet (maruziyet) arasındaki ilişkiler.

	β-Katsayısı	p değeri
Östron sülfat		
Archaea[b]	–0.11	0.028
Total lif	–0.01	0.019
Alu I Eksen 1	–0.18	0.017
Total lif	–0.01	0.094
Total yağ	–0.005	0.045
Serbest östradiol: östradiolun *tamamı*		
Alu I Eksen 2	0.21	0.013
Total lif	–0.01	0.099
Total östradiol		
Rsa I Eksen 2	0.17	0.028
Total lif	–0.011	0.053

[a] Basamaklı GLM (genel lineer model) ile hormonlar, vücut yağı yüzdesi ve potansiyel olarak bozucu demografik faktörler 0.10 düzeyinde değerlendirilmiştir

[b] Adipozite için düzeltme

ve E_2-3-glukuronidden, E_1'in E_2'den ve östron-3-sulfattan (E_1S) ve E_3'ün 16α-OHE_1'den oluşumunu içerir. Ayrıca in vitro enkübasyonda E_1, E_2, ve 16α-dehidroksiöstronun E_3'e, 16-oksoöstradiolun 16-epiöstriola, ve 15α-hidroksiöstronun 15α-hidroksiöstradiole dönüşümü de gösterilmiştir [77, 78, 94]. Ring-A indirgemesi *Clostridium paraputrificum* ve *Bacteroides* türleri gibi çok çeşitli bakterilerin enzimleri ile katalizlenir. Ring-D'nin redüktif dehidroksilasyonu ve dehidrojenasyon gibi oksidatif reaksiyonlar da *Eubacterium lentum* gibi bakteriler tarafından gerçekleştirilir [24].

Güncel bir çalışmada intestinal mikrobik topluluk kompozisyonu ile dolaşımdaki steroid hormon konsantrasyonları arasındaki ilişkileri 40-45 yaşları arasındaki 115 sağlıklı premenopozal kadında araştırdık [12]. Fekal örneklerdeki intestinal mikrobik topluluğun kompozisyonu Alu I (başlıca Bacteroidetes) ve Rsa I (başlıca Firmicutes) adlı iki restriksiyon enzimi içeren terminal restriksiyon uzunluk polimorfizmi (TRFLP) ve Bacteria, Bacteroides, Clostridia Küme XIVa ve Archaea'daki 16S rRNA genlerinin kuantitatif PCR'ı (qPCR) ile ölçüldü. Regresyon modelleri hormonlar ve intestinal mikrobik topluluk yapısı arasındaki ilişkileri değerlendirmek amacıyla kullanıldı. E_1, E_1S, total ve serbest E_2 ve seks hormonu bağlayıcı globülinin (SHBG) serum konsantrasyonları ile serbest E_2:total E_2 oranları ölçülmüştür. Ayrıca TRFLP analizi ve qPCR'dan elde edilen intestinal mikrobik topluluk çok değişkenli eksen maruziyetleri ölçülmüştür. Alu I TRFLP paternlerinin NMS (non-mass selected) analizlerinin final çözümünde 400 tekrar sonrası 16.65'lik stabil stres değeri elde edilmiştir. Üç eksen her iki alt kümedeki TRFLP verilerindeki varyasyonlarının %79.7'sini kümülatif olarak açıklayabilmiştir. 1, 2 ve 3. eksenler sırasıyla %26.2, %31.7, %21.7 oranında açıklanmıştır. Rsa I TRFLP pa-

ternlerinin NMS (non-mass selected) analizlerinin final çözümünde 400 tekrar sonrası 16.87'lik stabil stres değeri elde edilmiştir. Rsa I TRFLP'nin NMS analizi eksen 1 (%23), eksen 2 (%29) ve eksen 3 (%29) verilerindeki varyasyonların %82'sini açıklamıştır. E_1 ($p<0.004$), E_1S ($p<0.017$), E_2, ve serbest E_2:total E_2 oranı ALU I kullanan intestinal mikrobik topluluk ile anlamlı olarak ilişkili bulunmuştur ($p<0.05$). E_1S, E_2, ve serbest E_2:total E_2 oranı Rsa I ile tanımlanan intestinal mikrobik topluluk ile anlamlı olarak ilişkili bulunmuştur ($p<0.05$). E_2, ve serbest E_2:total E_2 oranı ve SHBG Bacteroides ile ilişkili bulunmuştur. E_1 ve E_1S Archaea ile ilişkilidir ($p<0.05$). Diyet faktörlerine ve demografik özelliklere göre düzeltme yapıldıktan sonra E_1S ile Archaea veya Alu Ekseni I, serbest E_2:total E_2 ve Alu Ekseni 2, ve E_2 ve Rsa Ekseni I arasında anlamlı ilişki bulunmuş olması intestinal mikrobiyomun kompozisyonunun dolaşımdaki steroid hormonlarının konsantrasyonlarının ve tiplerinin belirlenmesinde önemli bir faktör olabileceğini göstermektedir. Bu çalışma diyet gibi maruziyetlerin intestinal mikrobik topluluk ile ilişkisinin değerlendirilmesinin önemli olduğunu vurgulamaktadır (Tablo 2).

5 Sonuçlar

İnsan sağlığı intestinal mikrobiyom, diyet ve konak fizyolojisi arasındaki etkileşimlerden etkilenmektedir. Bu bölümde mikrobik olarak yönetilen kanserle ilgili yolaklar ile ilgili örnekler sunduk. Bu yolaklar 1) Patojeninin insanlar ile direkt temasını ve 2) Mikrobik metabolizmanın eksojen ve endojen substratlar üzerindeki indirekt etkilerini kapsamaktadır. Bu yolaklar enflamasyonun özelliklerini değiştirebilir, DNA'yı modifiye ederek mutasyonlara neden olabilir veya epigenetik ve gen sessizleştirmesinde rol oynayabilirler. Son zamanlarda intestinal mikrobiyomda yapılan metagenomik çalışmalarda, çeşitli kemoheterotrofik ve organoheterotrofik anaerobik metabolizmaların fermentasyonda ve konağa faydalı veya zararlı olabilen metabolitlerin üretiminde rol oynadığı gösterilmiştir [9, 143]. Ayrıca bu yaklaşımlar ile kolondaki tümörlü ve tümörsüz bölgelerdeki intestinal mikrobik topluluğun kompozisyonundaki farklılıklar da tanımlanmıştır [100]. Bireyler arası kanser riskindeki farklılıklar, mikrobik biyokütle, kompozisyon, fonksiyon ve diyet gibi konak faktörleri ile olan etkileşimden kaynaklanabilir. Gelecekteki çalışmalar intestinal mikrobiyomu konağın maruz kaldığı faktörler ile ilişkisine katkı yapan fonksiyonel bir ünite olarak değerlendirmelidir. Böylece hem intestinal mikrobiyomun hem de maruziyetlerin kanser riski üzerindeki etkileri anlaşılarak uygun önleme stratejileri dizayn edilebilir.

Referanslar

1. Abreu MT (2010) Toll-like receptor signalling in the intestinal epithelium: how bacterial recognition shapes intestinal function. Nat Rev Immunol 10:131–144
2. Adlercreutz H, Martin F (1980) Biliary excretion and intestinal metabolism of progesterone and estrogens in man. J Steroid Biochem 13:231–244
3. Adlercreutz H, Martin F, Pulkkinen M et al (1976) Intestinal metabolism of estrogens. J Clin Endocrinol Metab 43:497–505

4. Adlercreutz H, Martin F, Lehtinen T et al (1977) Effect of ampicillin administration on plasma conjugated and unconjugated estrogen and progesterone levels in pregnancy. Am J Obstet Gynecol 128:266–271
5. Amann RI, Binder BJ, Olson RJ et al (1990) Combination of 16S rRNA-targeted oligonucleotide probes with flow cytometry for analyzing mixed microbial populations. Appl Environ Microbiol 56:1919–1925
6. Arai Y, Uehara M, Sato Y et al (2000) Comparison of isoflavones among dietary intake, plasma concentration and urinary excretion for accurate estimation of phytoestrogen intake. J Epidemiol 10:127–135
7. Arora A, Nair MG, Strasburg GM (1998) Antioxidant activities of isoflavones and their biological metabolites in a liposomal system. Arch Biochem Biophys 356:133–141
8. Arts CJM, Govers CARL, Van den Berg H et al (1991) In vitro binding of estrogens by dietary fiber and the in vivo apparent digestibility tested in pigs. J Steroid Biochem Mol Biol 38:621–628
9. Arumugam M, Raes J, Pelletier E et al (2011) Enterotypes of the human gut microbiome. Nature 473:174–180
10. Atkinson C, Skor HE, Dawn Fitzgibbons E et al (2003) Urinary equol excretion in relation to 2-hydroxyestrone and 16alpha-hydroxyestrone concentrations: an observational study of young to middle-aged women. J Steroid Biochem Mol Biol 86:71–77
11. Atkinson C, Berman S, Humbert O et al (2004) In vitro incubation of human feces with daidzein and antibiotics suggests interindividual differences in the bacteria responsible for equol production. J Nutr 134:596–599
12. Atkinson C, Newton KM, Stanczyk FZ et al (2008) Daidzein-metabolizing phenotypes in relation to serum hormones and sex hormone binding globulin, and urinary estrogen metabolites in premenopausal women in the United States. Cancer Causes Control 19:1085–1093
13. Attene-Ramos MS, Wagner ED, Plewa MJ et al (2006) Evidence that hydrogen sulfide is a genotoxic agent. Mol Cancer Res 4:9–14
14. Attene-Ramos MS, Wagner ED, Gaskins HR et al (2007) Hydrogen sulfide induces direct radical-associated DNA damage. Mol Cancer Res 5:455–459
15. Balamurugan R, Rajendiran E, George S et al (2008) Real-time polymerase chain reaction quantification of specific butyrate-producing bacteria, Desulfovibrio and Enterococcus faecalis in the feces of patients with colorectal cancer. J Gastroenterol Hepatol 23:1298–1303
16. Barry DP, Asim M, Leiman DA et al (2011) Difluoromethylornithine is a novel inhibitor of Helicobacter pylori growth, CagA translocation, and interleukin-8 induction. PLoS ONE 6:e17510
17. Bastide NM, Pierre FH, Corpet DE (2011) Heme iron from meat and risk of colorectal cancer: a meta-analysis and a review of the mechanisms involved. Cancer Prev Res (Phila) 4:177–184
18. Bayerdorffer E, Mannes GA, Richter WO et al (1993) Increased serum deoxycholic acid levels in men with colorectal adenomas. Gastroenterology 104:145–151
19. Bayerdorffer E, Mannes GA, Ochsenkuhn T et al (1994) Variation of serum bile acids in patients with colorectal adenomas during a one-year follow-up. Digestion 55:121–129
20. Berg RD (1996) The indigenous gastrointestinal microflora. Trends Microbiol 4:430–435
21. Bernstein C, Holubec H, Bhattacharyya AK et al (2011) Carcinogenicity of deoxycholate, a secondary bile acid. Arch Toxicol 85:863–871
22. Bingham SA, Hughes R, Cross AJ (2002) Effect of white versus red meat on endogenous N-nitrosation in the human colon and further evidence of a dose response. J Nutr 132:3522S–3525S
23. Blaser MJ (2008) Understanding microbe-induced cancers. Cancer Prev Res 1:15–20
24. Bokkenheuser VD, Winter J (1980) Biotransformation of steroid hormones by gut bacteria. Am J Clin Nutr 33:2502–2506

25. Bos JL (1989) ras oncogenes in human cancer: a review. Cancer Res 49:4682–4689
26. Brabban AD, Edwards C (1994) Isolation of glucosinolate degrading microorganisms and their potential for reducing the glucosinolate content of rapemeal. FEMS Microbiol Lett 119:83–88
27. Burnett-Hartman AN, Newcomb PA, Potter JD (2008) Infectious agents and colorectal cancer: a review of Helicobacter pylori, Streptococcus bovis, JC virus, and human papillomavirus. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 17:2970–2979
28. Cammarota R, Bertolini V, Pennesi G et al (2010) The tumor microenvironment of colorectal cancer: stromal TLR-4 expression as a potential prognostic marker. J Transl Med 8:112
29. Cani PD, Neyrinck AM, Fava F et al (2007) Selective increases of bifidobacteria in gut microflora improve high-fat-diet-induced diabetes in mice through a mechanism associated with endotoxaemia. Diabetologia 50:2374–2383
30. Cani PD, Amar J, Iglesias MA et al (2007) Metabolic endotoxemia initiates obesity and insulin resistance. Diabetes 56:1761–1772
31. Castellarin M, Warren RL, Freeman JD et al (2011) *Fusobacterium nucleatum* infection is prevalent in human colorectal carcinoma. Genome Res 22:299
32. Chang YC, Nair MG (1995) Metabolism of daidzein and genistein by intestinal bacteria. J Nat Prod 58:1892–1896
33. Chen RFL, Wang Y et al (2011) LBP and CD14 polymorphisms correlate with increased colorectal carcinoma risk in Han Chinese. World J Gastroenterol 17:2326–2331
34. Christl SU, Eisner HD, Dusel G et al (1996) Antagonistic effects of sulfide and butyrate on proliferation of colonic mucosa: a potential role for these agents in the pathogenesis of ulcerative colitis. Dig Dis Sci 41:2477–2481
35. Conaway CC, Getahun SM, Liebes LL et al (2000) Disposition of glucosinolates and sulforaphane in humans after ingestion of steamed and fresh broccoli. Nutr Cancer 38:168–178
36. Conterno L, Fava F, Viola R et al (2011) Obesity and the gut microbiota: does up-regulating colonic fermentation protect against obesity and metabolic disease? Genes Nutr 6:241–260
37. Coussens LM, Werb Z (2002) Inflammation and cancer. Nature 420:860–867
38. Creely SJ, McTernan PG, Kusminski CM et al (2007) Lipopolysaccharide activates an innate immune system response in human adipose tissue in obesity and type 2 diabetes. Am J Physiol Endocrinol Metab 292:E740–E747
39. Cross AJ, Pollock JR, Bingham SA (2003) Haem, not protein or inorganic iron, is responsible for endogenous intestinal N-nitrosation arising from red meat. Cancer Res 63:2358–2360
40. Cummings JH, Wiggins HS, Jenkins DJ et al (1978) Influence of diets high and low in animal fat on bowel habit, gastrointestinal transit time, fecal microflora, bile acid, and fat excretion. J Clin Invest 61:953–963
41. Dabek M, McCrae SI, Stevens VJ et al (2008) Distribution of beta-glucosidase and beta-glucuronidase activity and of beta-glucuronidase gene gus in human colonic bacteria. FEMS Microbiol Ecol 66:487–495
42. De Flora S, Bonanni P (2011) The prevention of infection-associated cancers. Carcinogenesis 32:787–795
43. Decroos K, Vanhemmens S, Cattoir S et al (2005) Isolation and characterisation of an equol-producing mixed microbial culture from a human faecal sample and its activity under gastrointestinal conditions. Arch Microbiol 183:45–55
44. Deplancke B, Gaskins HR (2003) Hydrogen sulfide induces serum-independent cell cycle entry in nontransformed rat intestinal epithelial cells. FASEB J 17:1310–1312
45. Deplancke B, Hristova KR, Oakley HA et al (2000) Molecular ecological analysis of the succession and diversity of sulfate-reducing bacteria in the mouse gastrointestinal tract. Appl Environ Microbiol 66:2166–2174

46. Deplancke B, Finster K, Graham WV et al (2003) Gastrointestinal and microbial responses to sulfate-supplemented drinking water in mice. Exp Biol Med (Maywood) 228:424–433
47. Doerner KC, Takamine F, LaVoie CP et al (1997) Assessment of fecal bacteria with bile acid 7 alpha-dehydroxylating activity for the presence of bai-like genes. Appl Environ Microbiol 63:1185–1188
48. Duncan AM, Merz-Demlow BE, Xu X et al (2000) Premenopausal equol excretors show plasma hormone profiles associated with lowered risk of breast cancer. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 9:581–586
49. Eckburg PB, Bik EM, Bernstein CN et al (2005) Diversity of the human intestinal microbial flora. Science 308:1635–1638
50. Elfoul L, Rabot S, Khelifa N et al (2001) Formation of allyl isothiocyanate from sinigrin in the digestive tract of rats monoassociated with a human colonic strain of *Bacteroides thetaiotaomicron*. FEMS Microbiol Lett 197:99–103
51. Ernst P (1999) Review article: the role of inflammation in the pathogenesis of gastric cancer. Aliment Pharmacol Ther 13(Suppl 1):13–18
52. Florin T, Neale G, Gibson GR et al (1991) Metabolism of dietary sulfate—absorption and excretion in humans. Gut 32:766–773
53. Frank DN, Pace NR (2001) Molecular-phylogenetic analyses of human gastrointestinal microbiota. Curr Opin Gastroenterol 17:52–57
54. Frankenfeld CL, McTiernan A, Aiello EJ et al (2004) Mammographic density in relation to daidzein-metabolizing phenotypes in overweight, postmenopausal women. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 13:1156–1162
55. Friedrich MW (2002) Phylogenetic analysis reveals multiple lateral transfers of adenosine-5′-phosphosulfate reductase genes among sulfate-reducing microorganisms. J Bacteriol 184:278–289
56. Fukata M, Abreu MT (2007) TLR4 signalling in the intestine in health and disease. Biochem Soc Trans 35:1473–1478
57. Gerner EW (2007) Impact of dietary amino acids and polyamines on intestinal carcinogenesis and chemoprevention in mouse models. Biochem Soc Trans 35:322–325
58. Gerner EW, Meyskens FL Jr (2009) Combination chemoprevention for colon cancer targeting polyamine synthesis and inflammation. Clin Cancer Res 15:758–761
59. Gibson GR, Cummings JH, Macfarlane GT (1988) Use of a three-stage continuous culture system to study the effect of mucin on dissimilatory sulfate reduction and methanogenesis by mixed populations of human gut bacteria. Appl Environ Microbiol 54:2750–2755
60. Gibson GR, Cummings JH, Macfarlane GT (1991) Growth and activities of sulfate-reducing bacteria in gut contents of healthy-subjects and patients with ulcerative-colitis. FEMS Microbiol Ecol 86:103–111
61. Gibson GR, Macfarlane S, Macfarlane GT (1993) Metabolic interactions involving sulfate-reducing and methanogenic bacteria in the human large-intestine. FEMS Microbiol Ecol 12:117–125
62. Gill SR, Pop M, Deboy RT et al (2006) Metagenomic analysis of the human distal gut microbiome. Science 312:1355–1359
63. Goodwin AC, Destefano Shields CE, Wu S et al (2011) Polyamine catabolism contributes to enterotoxigenic *Bacteroides fragilis*-induced colon tumorigenesis. Proc Natl Acad Sci USA 108:15354–15359
64. Hague A, Elder DJ, Hicks DJ et al (1995) Apoptosis in colorectal tumour cells: induction by the short chain fatty acids butyrate, propionate and acetate and by the bile salt deoxycholate. Int J Cancer 60:400–406
65. Hayashi H, Sakamoto M, Benno Y (2002) Phylogenetic analysis of the human gut microbiota using 16S rDNA clone libraries and strictly anaerobic culture-based methods. Microbiol Immunol 46:535–548

66. Hebels DG, Sveje KM, de Kok MC et al (2011) N-nitroso compound exposure-associated transcriptomic profiles are indicative of an increased risk for colorectal cancer. Cancer Lett 309:1–10
67. Hebels DG, Sveje KM, de Kok MC et al (2012) Red meat intake-induced increases in fecal water genotoxicity correlate with pro-carcinogenic gene expression changes in the human colon. Food Chem Toxicol 50:95–103
68. Hirayama A, Kami K, Sugimoto M et al (2009) Quantitative metabolome profiling of colon and stomach cancer microenvironment by capillary electrophoresis time-of-flight mass spectrometry. Cancer Res 69:4918–4925
69. Holst B, Williamson G (2004) A critical review of the bioavailability of glucosinolates and related compounds. Nat Prod Rep 21:425–447
70. Holst JJ, Deacon CF (2004) Glucagon-like peptide 1 and inhibitors of dipeptidyl peptidase IV in the treatment of type 2 diabetes mellitus. Curr Opin Pharmacol 4:589–596
71. Hristova KR, Mau M, Zheng D et al (2000) Desulfotomaculum genus- and subgenus-specific 16S rRNA hybridization probes for environmental studies. Environ Microbiol 2:143–159
72. Huang JQ, Sridhar S, Chen Y et al (1998) Meta-analysis of the relationship between *Helicobacter pylori* seropositivity and gastric cancer. Gastroenterology 114:1169–1179
73. Hughes R, Cross AJ, Pollock JR et al (2001) Dose-dependent effect of dietary meat on endogenous colonic N-nitrosation. Carcinogenesis 22:199–202
74. Hughes R, Pollock JR, Bingham S (2002) Effect of vegetables, tea, and soy on endogenous N-nitrosation, fecal ammonia, and fecal water genotoxicity during a high red meat diet in humans. Nutr Cancer 42:70–77
75. Huycke MM, Gaskins HR (2004) Commensal bacteria, redox stress, and colorectal cancer: mechanisms and models. Exp Biol Med (Maywood) 229:586–597
76. Ignatenko NA, Gerner EW, Besselsen DG (2011) Defining the role of polyamines in colon carcinogenesis using mouse models. J Carcinog 10:10
77. Järvenpää P (1990) In vitro metabolism of catechol estrogens by human fecal microflora. J Steroid Biochem 35:289–292
78. Järvenpää P, Kosunen T, Fotsis T et al (1980) *In vitro* metabolism of estrogens by isolated intestinal micro-organisms and by human faecal microflora. J Steroid Biochem 13:345–349
79. Joshi AD, Corral R, Siegmund KD et al (2009) Red meat and poultry intake, polymorphisms in the nucleotide excision repair and mismatch repair pathways and colorectal cancer risk. Carcinogenesis 30:472–479
80. Kanazawa K, Konishi F, Mitsuoka T et al (1996) Factors influencing the development of sigmoid colon cancer. Bacteriologic and biochemical studies. Cancer 77:1701–1706
81. Kelly GE, Joannou GE, Reeder AY et al (1995) The variable metabolic response to dietary isoflavones in humans. Proc Soc Exp Biol Med 208:40–43
82. Key TJ (1999) Serum oestradiol and breast cancer risk. Endocr Relat Cancer 6:175–180
83. Kitahara M, Takamine F, Imamura T et al (2000) Assignment of *Eubacterium sp*. VPI 12708 and related strains with high bile acid 7alpha-dehydroxylating activity to *Clostridium scindens* and proposal of *Clostridium hylemonae sp*. nov., isolated from human faeces. Int J Syst Evol Microbiol 50(Pt 3):971–978
84. Knudtson LM, Hartman PA (1993) Comparison of fluorescent gentamicin-thallous-carbonate and KF streptococcal agars to enumerate enterococci and fecal streptococci in meats. Appl Environ Microbiol 59:936–938
85. Kristal AR, Lampe JW (2002) Brassica vegetables and prostate cancer risk: a review of the epidemiological evidence. Nutr Cancer 42:1–9
86. Lampe JW (2008) The human microbiome project: getting to the guts of the matter in cancer epidemiology. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 17:2523–2524
87. Lampe J (2010) Emerging research on equol and cancer. J Nutr 140:1369S–1372S
88. Lampe JW, Karr SC, Hutchins AM et al (1998) Urinary equol excretion with a soy challenge: influence of habitual diet. Proc Soc Exp Biol Med 217:335–339

89. Laukaitis CM, Gerner EW (2011) DFMO: targeted risk reduction therapy for colorectal neoplasia. Best Pract Res Clin Gastroenterol 25:495–506
90. Lazcano-Ponce EC, Miquel JF, Munoz N et al (2001) Epidemiology and molecular pathology of gallbladder cancer. CA Cancer J Clin 51:349–364
91. Lee J, Michael AJ, Martynowski D et al (2007) Phylogenetic diversity and the structural basis of substrate specificity in the beta/alpha-barrel fold basic amino acid decarboxylases. J Biol Chem 282:27115–27125
92. Ley RE, Bäckhed F, Turnbaugh P et al (2005) Obesity alters gut microbial ecology. Proc Natl Acad Sci USA 102:11070–11075
93. Li F, Hullar MA, Beresford SA et al (2011) Variation of glucoraphanin metabolism in vivo and ex vivo by human gut bacteria. Br J Nutr 106:408–416
94. Lombardi P, Goldin B, Boutin E et al (1978) Metabolism of androgens and estrogens by human fecal microorganisms. J Steroid Biochem 9:795–801
95. Magee EA, Curno R, Edmond LM et al (2004) Contribution of dietary protein and inorganic sulfur to urinary sulfate: toward a biomarker of inorganic sulfur intake. Am J Clin Nutr 80:137–142
96. Mager DL (2006) Bacteria and cancer: cause, coincidence or cure? A review. J Transl Med 4:14
97. Manco M, Putignani L, Bottazzo GF (2010) Gut microbiota, lipopolysaccharides, and innate immunity in the pathogenesis of obesity and cardiovascular risk. Endocr Rev 31:817–844
98. Maneval ML, Eckert KA (2004) Effects of oxidative and alkylating damage on microsatellite instability in nontumorigenic human cells. Mutat Res 546:29–38
99. Mann CJ (2003) Observational research methods. Research design II: cohort, cross sectional, and case-control studies. Emerg Med J 20:54–60
100. Marchesi JR, Dutilh BE, Hall N et al (2011) Towards the human colorectal cancer microbiome. PLoS ONE 6:e20447
101. Markiewicz L, Garey J, Adlercreutz H et al (1993) *In vitro* bioassays of non-steroidal phytoestrogens. J Steroid Biochem Mol Biol 45:399–405
102. Martin F, Peltonen J, Laatikainen T et al (1975) Excretion of progesterone metabolites and estriol in faeces from pregnant women during ampicillin administration. J Steroid Biochem 6:1339–1346
103. Massey RC, Key PE, Mallett AK et al (1988) An investigation of the endogenous formation of apparent total N-nitroso compounds in conventional microflora and germ-free rats. Food Chem Toxicol 26:595–600
104. McGarr SE, Ridlon JM, Hylemon PB (2005) Diet, anaerobic bacterial metabolism, and colon cancer: a review of the literature. J Clin Gastroenterol 39:98–109
105. Meyskens FL Jr, Gerner EW (2011) Back to the future: mechanism-based, mutation-specific combination chemoprevention with a synthetic lethality approach. Cancer Prev Res (Phila) 4:628–632
106. Mower HF, Ray RM, Shoff R et al (1979) Fecal bile acids in two Japanese populations with different colon cancer risks. Cancer Res 39:328–331
107. Mudd DG, McKelvey ST, Norwood W et al (1980) Faecal bile acid concentration of patients with carcinoma or increased risk of carcinoma in the large bowel. Gut 21:587–590
108. Munro IC, Harwood M, Hlywka JJ et al (2003) Soy isoflavones: a safety review. Nutr Rev 61:1–33
109. Myzak MC, Hardin K, Yan M et al (2006) Sulforaphane inhibits HDAC activity in prostate cancer cells, retards growth of PC3 xenografts, and inhibits HDAC activity in vivo. FASEB J 20:A150–A150
110. Nagel SC, vom Saal FS, Welshons WV (1998) The effective free fraction of estradiol and xenoestrogens in human serum measured by whole cell uptake assays: physiology of delivery modifies estrogenic activity. Proc Soc Exp Biol Med 217:300–309
111. Navarro SL, Li F, Lampe JW (2011) Mechanisms of action of isothiocyanates in cancer chemoprevention: an update. Food Funct 2:579–587

112. Neidhardt FC, Magasanik B (1960) Studies on the role of ribonucleic acid in the growth of bacteria. Biochim Biophys Acta 42:99–116
113. Nettleton JA, Greany KA, Thomas W et al (2005) The effect of soy consumption on the urinary 2:16-hydroxyestrone ratio in postmenopausal women depends on equol production status but is not influenced by probiotic consumption. J Nutr 135:603–608
114. Norat T, Bingham S, Ferrari P et al (2005) Meat, fish, and colorectal cancer risk: the European prospective investigation into cancer and nutrition. J Natl Cancer Inst 97:906–916
115. O'Keefe SJD, Carrim Y, van der Merwe CF et al (2004) Differences in diet and colonic bacterial metabolism that might account for the low risk of colon cancer in native Africans compared with Americans. J Nutr 134:3526S–3527S
116. Parkin DM (2006) The global health burden of infection-associated cancers in the year 2002. Int J Cancer 118:3030–3044
117. Pastor Rojo O, Lopez San Roman A, Albeniz Arbizu E et al (2007) Serum lipopolysaccharide-binding protein in endotoxemic patients with inflammatory bowel disease. Inflamm Bowel Dis 13:269–277
118. Pitcher MCL, Beatty ER, Gibson GR et al (1995) Sulfate-reducing bacteria—prevalence in active and inactive ulcerative-colitis. Gastroenterology 108:A894–A894
119. Qin J, Li R, Raes J et al (2010) A human gut microbial gene catalogue established by metagenomic sequencing. Nature 464:59–65
120. Rimbach G, De Pascual-Teresa S, Ewins BA et al (2003) Antioxidant and free radical scavenging activity of isoflavone metabolites. Xenobiotica 33:913–925
121. Roediger WEW (1998) Decreased sulphur amino acid intake in ulcerative colitis. Lancet 351:1555
122. Roediger WEW, Moore J, Babidge W (1997) Colonic sulfide in pathogenesis and treatment of ulcerative colitis. Dig Dis Sci 42:1571–1579
123. Rooks MG, Garrett WS (2011) Bacteria, food, and cancer. F1000 Biol Rep 3:12
124. Rosset R, Julien J, Monier R (1966) Ribonucleic acid composition of bacteria as a function of growth rate. J Mol Biol 18:308–320
125. Rouzaud G, Rabot S, Ratcliffe B et al (2003) Influence of plant and bacterial myrosinase activity on the metabolic fate of glucosinolates in gnotobiotic rats. Br J Nutr 90:395–404
126. Rouzaud G, Young SA, Duncan AJ (2004) Hydrolysis of glucosinolates to isothiocyanates after ingestion of raw or microwaved cabbage by human volunteers. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 13:125–131
127. Rowland IR (1999) Toxicological implications of the normal microflora. In: Tannock GW (ed) Medical importance of the normal microflora. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht
128. Samuel BS, Gordon JI (2006) A humanized gnotobiotic mouse model of host-archaeal-bacterial mutualism. Proc Natl Acad Sci USA 103:10011–10016
129. Savage DC (1977) Microbial ecology of the gastrointestinal tract. Annu Rev Microbiol 31:107–133
130. Scanlan PD, Shanahan F, Clune Y et al (2008) Culture-independent analysis of the gut microbiota in colorectal cancer and polyposis. Environ Microbiol 10:789–798
131. Schaechter M, Maalow O, Kjelgaard NO (1958) Dependency on medium and temperature of cell size and chemical composition during balanced grown of *Salmonella typhimurium*. J Gen Microbiol 19:592–606
132. Setchell KDR, Adlercreutz H (1988) Mammalian lignans and phyto-oestrogens: recent studies on their formation, metabolism and biological role in health and disease. In: Rowland I (ed) Role of the gut flora in toxicity and cancer. Academic Press, NY, pp 316–345
133. Setchell KD, Brown NM, Lydeking-Olsen E (2002) The clinical importance of the metabolite equol-a clue to the effectiveness of soy and its isoflavones. J Nutr 132:3577–3584

134. Shapiro TA, Fahey JW, Wade KL et al (1998) Human metabolism and excretion of cancer chemoprotective glucosinolates and isothiocyanates of cruciferous vegetables. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 7:1091–1100
135. Shimada Y, Yasuda S, Takahashi M et al (2010) Cloning and expression of a novel NADP(H)-dependent daidzein reductase, an enzyme involved in the metabolism of daidzein, from equol-producing Lactococcus strain 20–92. Appl Environ Microbiol 76:5892–5901
136. Silvester KR, Cummings JH (1995) Does digestibility of meat protein help explain large bowel cancer risk? Nutr Cancer 24:279–288
137. Soreide K (2008) Proteinase-activated receptor 2 (PAR-2) in gastrointestinal and pancreatic pathophysiology, inflammation and neoplasia. Scand J Gastroenterol 43:902–909
138. Spencer JPE, Crozier A (2012) Flavonoids and related compounds. CRC Press, Taylor & Francis Group, Boca Raton
139. Tannock GW (1999) The normal microflora: an introduction. In: Tannock GW (ed) Medical importance of the normal microfloraed. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, pp 1–23
140. Tannock GW, Munro K, Harmsen HJ et al (2000) Analysis of the fecal microflora of human subjects consuming a probiotic product containing *Lactobacillus rhamnosus* DR20. Appl Environ Microbiol 66:2578–2588
141. Thomas LA, Veysey MJ, Bathgate T et al (2000) Mechanism for the transit-induced increase in colonic deoxycholic acid formation in cholesterol cholelithiasis. Gastroenterology 119:806–815
142. Turnbaugh PJ, Ley RE, Mahowald MA et al (2006) An obesity-associated gut microbiome with increased capacity for energy harvest. Nature 444:1027–1031
143. Turnbaugh PJ, Hamady M, Yatsunenko T et al (2009) A core gut microbiome in obese and lean twins. Nature 457:480–484
144. Turner R, Baron T, Wolffram S et al (2004) Effect of circulating forms of soy isoflavones on the oxidation of low density lipoprotein. Free Radic Res 38:209–216
145. Vedavanam K, Srijayanta S, O'Reilly J et al (1999) Antioxidant action and potential antidiabetic properties of an isoflavonoid-containing soyabean phytochemical extract (SPE). Phytother Res 13:601–608
146. Vermeulen M, Van den Berg R, Freidig AP et al (2006) Association between consumption of cruciferous vegetables and condiments and excretion in urine of isothiocyanate mercapturic acids. J Agric Food Chem 54:5350–5358
147. Wang XQ, Terry PD, Yan H (2009) Review of salt consumption and stomach cancer risk: epidemiological and biological evidence. World J Gastroenterol 15:2204–2213
148. Wells JE, Hylemon PB (2000) Identification and characterization of a bile acid 7alpha-dehydroxylation operon in *Clostridium sp*. strain TO-931, a highly active 7alpha-dehydroxylating strain isolated from human feces. Appl Environ Microbiol 66:1107–1113
149. Wells JE, Berr F, Thomas LA et al (2000) Isolation and characterization of cholic acid 7alpha-dehydroxylating fecal bacteria from cholesterol gallstone patients. J Hepatol 32:4–10
150. Wilson KH, Blitchington RB (1996) Human colonic biota studied by ribosomal DNA sequence analysis. Appl Environ Microbiol 62:2273–2278
151. Winter J, Bokkenheuser VD (1987) Bacterial metabolism of natural and synthetic sex hormones undergoing enterohepatic circulation. J Steroid Biochem 27:1145–1149
152. World Cancer Research Fund (2007) Food, nutrition, physical activity, and the prevention of cancer: a global perspective. American Institute for Cancer Research, Washington, D.C
153. Zur Hausen H (2009) The search for infectious causes of human cancers: where and why. Virology 392:1–10
154. Zverlov V, Klein M, Lucker S et al (2005) Lateral gene transfer of dissimilatory (bi)sulfite reductase revisited. J Bacteriol 187:2203–2208

Kanserin Tedavisinde ve Önlenmesinde Enflamatuar Anjiogenez ve Tümör Mikroçevresinin Hedeflenmesi

Antonino Bruno, Arianna Pagani, Elena Magnani, Teresa Rossi, Douglas M. Noonan, Anna Rita Cantelmo ve Adriana Albini

Özet

Tümör hücreleri anormal şekilde transformasyona uğramış hücrelere ek olarak, stromal hücreler, vasküler hücreler ve prekürsorları ile immun hücreler gibi konak komponentlerine de sahiptir. Tüm bu bileşenler birbirleriyle hücresel ve moleküler düzeyde etkileşerek tümör mikroçevresi olarak tanımlanan karmaşık ve heterojen hücre komplekslerinin ve matriksin ortaya çıkmasına neden olur. Bu etkileşimlerde rol oynayan çeşitli yolaklar hem patolojik hem de fizyolojik senaryolar ile incelenmiştir. Günümüzdeki kemoterapötik ve koruyucu tedavilerin hedefinde farklı moleküller mevcuttur. Birçok fitokimyasal ve türevlerinin tümör mikroçevresinde etkili olarak tümör progresyonunu, anjiogenezi ve metastazı engelleyici etki yaptığı gösterilmiştir. Bu incelemede tümör mikroçevresinde rol oynayan başlıca oyuncular ve mekanizmalar ile bu etkileşimleri engelleyerek tümörlerin kontrolsüzlüğünü ve progresyonunu bloke etmeyi amaçlayan bazı ilginç bileşikleri tartışacağız. Bu değerlendirmeler sağlıklı görünen bireylerden oluşan büyük popülasyonlarda kanser riskinin azaltılmasında kullanılacak yeni koruyucu yaklaşımların geliştirilmesinde hayati rol oynayacaktır.

A. Bruno · A. Pagani
Polo Scientificoe Tecnologico, Multi Medica Onlus, Milano, Italy

T. Rossi · A. Albini (✉)
Research Infrastructure, IRCCS Arcispedale Santa Maria Nuova, Reggio Emilia, Italy
mail: adriana.albini@asmn.re.it

A. Pagani · D. M. Noonan
Department of Biotechnologies and Life Sciences, University of Insubria,Varese, Italy

E. Magnani · D. M. Noonan · A. R. Cantelmo
Polo Scientifico e Tecnologico, MultiMedica IRCCS, Milano, Italy

V. Zappia et al. (eds.), *Advances in Nutrition and Cancer,*
Cancer Treatment and Research 159, DOI: 10.1007/978-3-642-38007-5_23,
© Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2014

Anahtar Kelimeler

Tümör mikroçevresi • Anjiogenez • Enflamasyon • Antianjiogenik tedavi • Kemoprevensiyon

Kısaltmalar

IGF1-R	İnsülin benzeri büyüme faktörü 1-reseptörü
IκB	İnhibitör kinaz B
IKK	İnhibitör kinaz kinaz
IL-13	İnterlökin-13
IL-4	İnterlökin-4
IL-6	İnterlökin-6
IL-12	İnterlökin-12
IL1Rα	İnterlökin-1 reseptör-alfa
IL1β	İnterlökin-1 beta
JAK	Aktive Janus kinaz
MAPK	Mitojen aktive protein kinaz
MDM2	Mürin çift dakika 2
MDM4	Mürin çift dakika 4
MDSC	Myeloid-derive supresör hücre
MMP-1	Matriks metalo proteaz-1
MMP-2	Matriks metalo proteaz-2
MMP-7	Matriks metalo proteaz-7
MMP-9	Matriks metalo proteaz-9
mTOR	Memeli rapamisin hedefi
N1	N1-polarize nötrofiller
N2	N2-polarize nötrofiller
NAC	N-asetilsistein
NF-κB	Nükleer faktör kappa B
NSAİD	Nonsteroid antienflamatuar ilaç
NSCLC	Küçük hücreli olmayan akciğer kanseri
PDGF	Platelet derive büyüme faktörü
PDGFR-β	Platelet derive büyüme faktör reseptörü-beta
PDGFR	Platelet derive büyüme faktör reseptörü

PI3K	Fosfoinositid 3-kinaz
PIG3	p53 ile indüklenebilir gen 3
PlGF	Plasenta büyüme faktörü
PMNs	Polimorfonükleer nötrofiller
Raf	Root abundant factor
RAR	Retinoid asit reseptörü
RARβ	Retinoid asit reseptörü-beta
RCC	Renal hücreli karsinom
RelA	NFkB alt ünite-A
RelB	V-rel retiküloendotelioz viral onkojen homoloğu B
RET	Transfeksiyon sırasında yeniden düzenlenmiş
RHD	Rel homoloji alanı
RITA	p53 reaktivasyonu ve tümör hücre apoptozunun indüksiyonu
ROS	Reaktif oksijen türleri
RTK	Reseptör tirozin kinaz
STAT	Sinyal dönüştürücü ve transkripsiyon aktivatörü
STAT3	Sinyal dönüştürücü ve transkripsiyon aktivatörü 3
SV40	Simian virüsü 40
TAM	tümör ile ilişkili makrofaj
TEM	Tie2-eksprese eden makrofaj
TGFα	Transforme olan büyüme faktörü-alfa
TGFβ	Transforme olan büyüme faktörü-beta
Th	Yardımcı T
Th2	Yardımcı T tip-2 polarizasyon
TKİ	Tirozin kinaz inhibitörleri
TNF	Tümör nekroz faktörü
TNFα	Tümör nekroz faktörü-alfa
TP53TG1	TP53 hedefi 1
TSP-1	Trombospondin-1
VEGF-A	Vasküler endotelyal büyüme faktörü A izoformu
VEGF	Vasküler endotelyal büyüme faktörü
VEGFR	Vasküler endotelyal büyüme faktörü reseptörü
wSMC	Vasküler düz kas hücresi
WIP1	Yara ile indüklenen protein 1

İçindekiler

1 Tümör Mikroçevresi 404
1.1 Hücresel Oyuncular 405
1.2 Moleküler Yolaklar 408

2 Kanser Kemoprevensiyonu 412
2.1 N-asetilsistein 412
2.2 Fenretinid 413
3 Tümör Mikroçevresini Hedefleyen Tedaviler 414
4 Sonuçlar 416
Referanslar 417

1 Tümör Mikroçevresi

Konağın karsinogenezde ve tümör progresyonunda önemli bir rol oynadığı biliniyor da olsa, Virchow'un 1863 yılında kanserdeki enflamatuar hücreleri gözlemesi ve Paget tarafından 1889 yılında ortaya atılan ve günümüzde de geçerliliğini koruyan "tohum ve toprak" hipotezi yaklaşık bir yüzyıl boyunca göz ardı edilmiştir [14]. Kanserin bir doku olduğu ve sadece bir hücredeki mutasyonlardan kaynaklanmadığı ve konakta kanser gelişimine izin veren kompleks bir prosesinin mevcut olduğu günümüzde artık kabul edilmektedir [44]. Tümör mikroçevresinin, [46] hem kanser tedavisinde (örneğin giderek artan sayıda tümör tipinde anjiogenezin hedeflenmesi ile) ve belki de daha da önemli olarak kanserin önlenmesinde de [8, 10] bir hedef olabileceği konsepti giderek daha fazla gerçeğe yaklaşmaktadır.

Enflamasyon günümüzde karsinogenezi yöneten bir güç olarak kabul edilmektedir [31, 114]. Kanserin birçok çevresel nedeni ve risk faktörleri kronik enflamasyonun tiplerinden biri ile ilişkilidir. Kanserlerin %20'ye kadar olan kısmı kronik enfeksiyonlarla ilişkilidir. %30'u sigara ve inhale edilen kirleticilerle (örn. silika ve asbest), %35'i de diyet faktörleriyle (kanser yükünün %20'si obezite ile ilişkilidir) bağlantılıdır [77].

Enflamasyonun tümör progresyonundaki etkisi anjiogenezi başlatan "anjiogenetik anahtarı" etkileyebilme yeteneği ile ilişkilidir [7, 89, 106]. Kanser hücreleri vasküler endotelyal büyüme faktörü (VEGF) bir dizi büyüme faktörü salgılarlar. Bu faktörler endotel hücre yerleşimi ve aktivasyonunu indükleyen spesifik reseptörler etkileşirler. Aktive endotel hücreleri tümör damar ağının gelişimini başlatırlar. Tümör anjiogenezi olarak bilinen bu proses normal dokulardaki damar ağından oldukça farklıdır. Karmaşık, disorganize ve delikli damarlar, yüksek makromolekül difüzyon katsayıları ve yüksek interstisyel basınca neden olan yetersiz veya mevcut olmayan lenfatik ağ ile karakterizedir. Tümör vaskülarizasyonu kanser progresyonu için şarttır. Tümörün büyümesi, lokal invazyonu ve metastatik yayılımının bu yolla gerçekleşmesi tümör anjiogenezinin karsinogenez için kritik bir erken olay olduğunu gösterir [22, 47, 54, 59].

1.1 Hücresel Oyuncular

1.1.1 Enflamatuar Hücreler

Birçok çalışmada kanser ve enflamasyon arasında sıkı bir ilişki olduğu gösterilmiştir (Tablo 1). Kanserle ilişkili enflamasyon tümör mikroçevresindeki önemli rolü nedeniyle, yakın zamanda kanserin yedinci ana özelliği olarak tanımlanmıştır [28, 60]. Mikroçevresinin enflamatuar komponentleri, kanserle ilişkili enflamasyonda rol oynayan ve enflamasyonun sürdürülmesini sağlayan çeşitli hücre tiplerinden oluşur. Tümörlere infiltre olan başlıca enflamatuar hücreler, tümörle ilişkili makrofajlar (TAM), Tie2 eksprese eden monositler (TEM), miyeloid kaynaklı supresor hücreler (MDSC) ve nötrofillerdir. Tümöre infiltre olan makrofajların rolleri gayet iyi bilinmektedir. Makrofajlar mikroçevredeki uyarıcılara bağlı olarak, tümör progresyonunu veya spesifik immun cevapların gelişimini destekleyen kemokinler gibi farklı fenotiplere sahip olabilirler [31, 106, 121]. Tümörlere infiltre olabilen en önemli enflamatuar hücreler olan tümörle ilişkili makrofajlar bir dizi büyüme faktörleri, sitokinler ve ekstraselüler matriks modelleme molekülleri üreterek tümör proliferasyonunu ve anjiogenezi indüklerler. Monosit prekürsörlerinden kaynaklanan tümörle il. makrofajlar tümör hücrelerine CCL2 ve CSF-1 vasıtası ile kan dolaşımından ulaşırlar. tümörle il. makrofajlar CCL2 üreterek otokrin pozitif regülasyon döngüsünü oluştururlar [141]. Çeşitli çalışmalarda tümörle il. makrofajların nekrotik ve hipoksik bölgelerde lokalize olarak, TAM migrasyonunu regüle eden HIF-1'e bağımlı molekülleri (VEGF, CXCL12 ve CXCR4) salgıladıkları gösterilmiştir [104]. Aktive TAM'lar tümör büyümesini destekleyen ve sürdüren VEGF, PDGF, TGFβ ve FGF ailesi üyelerini de kapsayan bir dizi proanjiogenik hücre salgılarlar. TAM'lar ayrıca matriks metaloproteinazlar olan MMP-7, MMP-2, MMP-9, MMP-1 ve sikloksijenaz (COX)-2 gibi çok sayıda anjiogenez modüle edici enzim salgılarlar [106].

Çeşitli çalışmalarda infiltre olan TAM ile lenfoma [76, 165] ve meme kanseri [20] gibi malignitelerin prognozunda kötüleşme arasında korelasyon olduğu gösterilmiştir Son zamanlarda mürin gliom modellerinde CCL2'ye karşı geliştirilen ve test edilen bir antikorun TAM oranlarını anlamlı olarak azalttığı ve tümör olan farelerdeki sağkalımı uzattığı gösterilmiştir [182]. TEM'ler endotel hücreler ve tümör anjiogenezi ile yakından ilişkili olan Tie2 eksprese edici TAM'ların bir alt kümesidir [27].

Polimorfonükleer nötrofiller (PMN) lökositlerin kandaki en yaygın bulunan alt kümesini oluşturan ve esas olarak mikroorganizmalara karşı oluşan doğal immun cevapla ilişkili olan hücrelerdir. Esneklikleri ve regüle edebilme kapasiteleri giderek daha fazla anlaşılmaktadır [96, 149]. Nötrofiller stimülasyon sonrası etkilenen dokulara hızlıca yerleşerek degranüle olarak proteazları salgılar ve reaktif oksijen türlerini (ROS) üretirler. Bu faktörler doku hasarı ve hücre lizisine yol açtıkları gibi, hem başlatıcı hem de destekleyici görev yaparak potansiyel DNA hasarına yol açarlar [96]. Nötrofil düzeylerinin artması meme ve kolon kanseri gibi çeşitli kanser türlerinde ve enflamatuar lezyonlarda ve ülserli bölgelerde gözlenmiştir [104]. PMN'ler kemokin bağlayan CXCR2 tarafından

Tablo 1 Bazı kemoprevensiyon ajanlarının etki mekanizması

Bileşik	Fonksiyonel hedefler		Moleküler hedefler			
	↓Enflamasyon	Anjiyoprevensiyon	↓NF-κB	↓AKT	↓STAT3	↑AMPK
NAC	+	+	+	+*	+*	+*
Fenretinid	–	+	?	+	–	–
Aspirin	+	+	+	+	+	+**
Metformin	+	+	+	+	+	+
EGCG	+	+	+	+	+	+
Ksantohumol	+	+	+	+	–	–
Deguelin	+	+	+	+	+	+
Hiperforin	+	+	+	+	–	–
Kurkumin	+	+	+	+	+	+
Resveratrol	+	+	+	+	+	+
CDDO-Me	+	+	+	+	+	+
CDDO-Im	+	+	+	+	+	–
Tamoksifen	–	+	+	–	+***	–

Bu kanser prevensiyon ajanlarının bir çoğunun enflamasyonu (↓), anjiogenezi (anjioprevensiyon), NF-κB ve Akt yolaklarını inhibe ettikleri gösterilmiştir. Bazılarının STAT3 yolağını bloke ettikleri ve AMPK'yi (↑) aktive ettikleri gösterilmiştir (AMPK devamında Akt aşağı yönlü yolağını inhibe eder). +Aktivite var, - Literatürde aktivite kanıtı yok *Aktivite kontrast oksidatif stres kaynaklıdır. **Aktivite in vivo bir metabolit olan salisilat kaynaklıdır. *** Sadece bir makalede raloksifen kullanılmıştır. Referanslar için ekteki makalelere bakınız: [2,8,10,138,139].

indüklenen anjiogenezde direkt rol oynarlar. Kemokin bağlanması PMN'lerin VEGF üretimini indükler Çeşitli kanıtlara dayanarak tümörlerdeki PMN'lerin tümör makrofajları [106], anti-tümör "PMN1" (veya N1) ve protümör "PMN2" (veya N2) alt kümeleri ile benzer fenotipik polarizasyona sahip olabilecekleri hipotezini geliştirdik [73, 107, 142]. Deneysel modellerde yapılan güncel çalışmalarda pro-anjiogenik (N2) veya anti-tümör (N1) nötrofil fenotiplerinin varlığını destekleyen birçok bulgu elde edilmiştir [49]. İki fenotip arasındaki değişimin TGFβ'den kaynaklandığı düşünülmektedir. Çünkü TGFβ düzeylerindeki artış N2 nötrofilleri yönündeki polarizasyonu stimüle etmektedir [48, 49]. Nötrofiller tümör nekroz faktörü α (TNFα), interlökin (IL) 1b, IL12, IL1Rα ve VEGF gibi çok sayıda sitokin, kemokinlerler (CXCL1, CXCL8, CXCL9, CCL3 ve CCL4) ve MMP9 gibi proteazlar üretebilir [106].

1.1.2 Fibroblastlar ve Miyofibroblastlar

Fibroblastlar dokuların yapısal kelepçesi olan stromayı üretir ve tümör mikroçevresinde önemli rol oynarlar. Fizyolojik koşullarda oldukça sessizdirler. Ancak doku hasarı fibroblastları aktive ederek kollajen ve fibronektin gibi ekstraselüler matriks komponentle-

rinin üretimini artırırlar [125]. Ayrıca bazal membranın formasyonunda laminin ve tip IV kollajen salgılayarak rol oynarlar. Fibroblastlar karsinojenik prosesin ilk fazlarındaki tümör progresyonunu aktive fibroblastlar arasındaki ara bağlantılar yoluyla inhibe ederler. Tümör progrese olurken kanserle ilişkili fibroblastlar (CAF) tümörün büyümesini ve progresyonunu tümör stromasını modifiye ederek desteklerler [116]. Mekanik basınçlar aktive fibroblastların miyofibroblastlara farklılaşmasını sağlarlar. Güncel çalışmalarda fibrozisin karsinogenezin majör bir destekçisi olduğu bildirilmiştir [75]. Matriks rijiditesinin invazif tümör büyümesinin ve yayılımının ana yolu olan karsinogenez ve epitelyal mezenkimal geçişin (EMT) belirli özelliklerini regüle ettiği bilinmektedir [74]. CAF'lar tümörü çevreleyen stromaya çeşitli sitokinler ile hepatosit büyüme faktörü (HGF), fibroblast büyüme faktörü (FGF), CXCL2, IL6 ve TGFβ gibi çeşitli büyüme faktörleri salgılarlar [60]. CAF'lar stroma kaynaklı faktör-1 (SDF-1) olarak da bilinen ve endotel hücre prekürsörlerini çeken CXCL12 üreterek anjiogenezi desteklerler [110, 172]. Mobil dil skuamoz hücreli karsinomu olan hastalardaki CAF dansitesinin prognozu tahmin etmekte güvenilir bir faktör olduğu güncel bir çalışmada gösterilmiştir [15].

1.1.3 Endotel Hücreleri ve Perisitler

Tümörlerdeki damarların yapıları normal damarlardan oldukça farklıdır. Bunun en önemli nedeni endotel-endotel ve endotel-perisit etkileşimlerindeki değişimlerin iyi gelişmemiş çapraşık damar gelişimine neden olmasıdır. Bu damarlar delikli duvarlar, perisitlerin az sayıda olması gibi fonksiyonel değişimlere yol açan yapısal varyasyonlara sahiptir. Mevcut damarlardan yeni damarların formasyonu ile karakterize olan anjiogenez farklı basamakları olan kompleks bir prosestir. Başlangıçta, metaloproteinazlar gibi proteinazlar tarafından indüklenen ekstraselüler matriks hasarı ile özellikle VEGF'yi de içeren ve kendileri de permeabiliteye yol açan anjiogenez faktörlerinin etkisi ile vasküler permeabilite artışı görülür [71]. Daha sonra endotel hücreleri anjiogenik uyarının kaynağına doğru yer değiştirerek prolifere ve sonrasında da diferansiye olurlar. Duvar hücreleri yeni damar hücreleri oluşturan endotel hücrelerini stabilize ederler. Bu proses anjipoietinler, integrinler, kemokinler, oksijen sensörleri ve diğer ilgili faktörlerin aracılığındaki uyarıcı ve inhibe edici sinyallerin hassas regülasyonunu gerektirir [21]. Normal damarlardaki perisitler kapiler yatağının entegre parçalarıdır. Sızıntıyı önlemek için damarın endotel hücreleri ile diğer komponentleri arasındaki intraselüler sinyalleri koordine ederler. Kan damarlarının vasküler tonusları ve kontraksiyonları damarların etrafında tek veya multipl tabakalar oluşturan damar düz kas hücreleri tarafından sağlanır [128].

Buna karşın proanjiogenik ve antianjiogenik faktörlerin disregülasyonuna bağlı olarak anjiogenik sitokinlerin ve inhibitörlerin dengesiz ekspresyonu sonucu tümör damarlarının immatür olduğu gözlenir. Tümör mikroçevre tümörijenez esnasında kemik iliğindeki endotel prekürsör hücrelerini çeken uyarılar oluşturur. Sonrasında endotel veya mural hücrelerinin diferansiye olarak olgunlaşmalarını sağlar [66]. Bu prosesin başlıca medyatörlerinden biri çeşitli neoplastik hücrelerden salgılanan VEGF-A'dır. VEGF-A hipoksi varlığında yukarı regüle olarak EPC'lerde bulunan reseptörlere bağlanır ve mo-

bilize olmalarını indükler. VEGF-A ve VEGA-A reseptörleri, monoklonal antikorlar ile antitümör ve antianjiogenik aktiviteleri olan küçük inhibitör moleküller gibi farklı bileşikler tarafından hedeflenirler. Anjiogenezin hedeflenmesi kanserin önlenmesinde kullanılabilecek bir yöntem (Tablo 1) ve terapötik bir modalite olarak değerlendirilmeye başlanan bir konudur [8, 9, 153].

Perisitlerin tümör damar ağı üzerindeki rolü son zamanlarda incelenmektedir. Fibroblastik/düz kas benzeri hücreler olan perisitler endotel hücreleri ile yakın temas halindedir. Yerleşimleri, farklılaşmaları, fonksiyonları ve homeostazları platelet kaynaklı büyüme faktörü (PDGF), TGFβ ve anjiopoietinler gibi bir dizi sinyal yolağı tarafından hassasiyetle regüle edilmektedir [117]. Perisitler endotel hücrelerini anti-VEGF tedaviden koruyabilir. Yeterli miktarda perisite sahip olmayan tümör hücreleri antianjiogenik tedavilere karşı daha hassastırlar [117]. Bu nedenle, çeşitli araştırma grupları, endotel hücrelerin anti-VEGF terapi ile hedeflenmeleri ile perisitlerin anti-PDGF terapi ile hedeflenmelerinin fizibilitesini değerlendirmiştir. Çift hedefli tedavilerin etkinliklerinin daha yüksek olduğu çeşitli fare modellerinde gösterilmiştir [17, 42]. Ancak güncel çalışmalarda klinik araştırmalarla ilgili bazı problemlerin hala mevcut olduğu gösterilmiştir [92]. İlginç biçimde, renal karsinom ve diğer bazı kanser türlerinde onaylı iki küçük moleküllü tirozin kinaz inhibitörü olan (TKİ) antianjiogenik ajanlar (Sorafenib ve Sunitinib) hem VEGFR'leri hem de PDGFR'leri hedeflemektedir. Ancak deneysel çalışmalarda anjiogenez inhibisyonunun metastatik yayılımı destekleyebileceği yönündeki bulgular [43, 111], daha sonra perisitlerin kapsama alanlarının inhibisyonuna ve devamında tümör hücrelerinin damarlara ulaşmalarının kolaylaşmasına bağlanmıştır [26, 170].

1.2 Moleküler Yolaklar

Mikroçevre içindeki moleküler yolakların deregülasyonu sitokinlerin, kemokinlerin ve diğer ilgili faktörlerin yaygın olarak stimüle olması ile karsinogenezin tüm evrelerinde gerçekleşir. Bu durum hücrelerde bir tür yaşam veya ölüm meselesi oluşması anlamına gelir. Bu dinamik dengesizliğin mevcudiyetinde, farklı evrelerdeki sinyal yolaklarını hedefleyen kimyasallar hücresel şartlara uygun şekilde kullanılabilir. Bu bölümde aşağıda açıkladığımız doğal bileşikler tarafından modüle edilen ana yolakları tanımlıyoruz. Bu yolaklar basitçe paralel veya farklı yönlere giden yollar gibi gözükseler de, birbirleri ile çapraşık bir biçimde kesiştikleri için nihai sonucun veya hedefin tahmin edilmesi güç ve rastlantısal bir hale gelmesine neden olurlar [152, 166].

1.2.1 p53

p53 mitojenik onkogenlerin dergülasyonu, DNA hasarı, besin öğesi eksikliği, hipoksi ve stroma desteği kaybı ile indüklenen hücresel strese cevap olarak aktive olan, hücrenin geleceğini belirleyen başlıca regülatörlerden biridir [161]. Moll ve Schramm tanımladıkları "tümörijenezdeki akrobat" ifadesini, p53 proteininin diğer moleküler partnerlerle girdiği multipl etkileşimler sonucunda hücre sağkalımında oynadığı "iyi polis/kötü polis" rolünü anlatmak için kullanmışlardır [136] 1979 yılında bulunan p53, SV40-

dönüştürülmüş hücrelerindeki büyük T antijeni ile ko-immunopresipitasyona uğrayan konak tarafından üretilen bir 55-kDA proteinidir [85]. Normal dokulardaki p53 düzeyleri ölçülemezken, birçok tümörde aşırı derecede eksprese olduğu bulunmuştur [32]. Bu bulgu diğer deneysel kanıtlarla [97, 100] bir arada değerlendirildiğinde hücre proliferasyonunun pozitif regülasyonunda rol oynadığı düşünülebilir. Ancak 1980'lerin sonunda p53'ün insan kanserlerinin yaklaşık yarısında mutasyona uğrayarak fonksiyon kaybına uğradığı bulunmuştur [61, 62]. Büyük T antijeni Rb ve p53 ile bir kompleks oluşturarak her iki molekülü de inaktive ederek SV40 virüsünün potent hücre transformasyon kapasitesinde rol oynar. Ayrıca sıçan fibroblastlarına doğal (wild type) p53 enjeksiyonu başka onkogenler tarafından transforme edilmesini engellemektedir [88]. Bu bulgular geniş kabul görmüş ve p53 tümör baskılayıcı bir gen olarak tanımlanmıştır. Başlangıçta TP53 geni tarafından kodlanan tek ürün olduğu düşünülmüş olsa da, şu anda p53 ailesinin alternatif ayrışma, alternatif promotör kullanımı veya translasyon başlamasından kaynaklanan en az dokuz izoformu mevcuttur. p53 spesifik DNA cevap element sekansları bağlayan, hücre döngüsü kontrolünde (p21, GADD45, WIP1, mdm-2, EGFR, PCNA, Siklin D1, Siklin G, TGFα, ve 14-3-3 s), DNA tamirinde (GADD45, PCNA, ve p21), apoptozda (BAX, Bcl-L, FAS1, FASL, IGF-BP3, PAG608 ve DR5/KILLER ve GML) anjiogenezde (TSP-1, BAI1) ve hücresel stres cevabında (TP53TG1, CSR, ve PIG3) rol oynayan genleri aktive eden bir transkripsiyon faktörüdür [122]. Güncel bulgular, p53 tarafından tetiklenen tümör progresyonunda, sadece hücre döngüsünün durdurulması ve apoptozun değil, senesansın indüksiyonuna bağlı olarak organizma tarafından verilen immun cevapların da rol oynayabileceğini ilginç bir biçimde göstermektedir [173]. Güncel bir çalışmada p53'ün mikroRNA ekspresyonunu [63] regüle edebildiğinin ve Bcl-2 ailesinin üyeleri ile direkt olarak etkileşime girerek sitoplazmadaki otofaji ve apoptozisi tetikleyen nontranskripsiyonel aktiviteye de sahip olduğunun keşfedilmiş olması tümör baskılayıcı rolüne yeni bir kompleks mekanizmanın eklenmesini sağlamıştır [56]. p53 aktivitesi geçiş denetçisi MDM2 tarafından sıkı bir şekilde regüle edilir. MDM2 p53'ün transaktivasyon bölgesine bağlanarak transkripsiyonel aktivitesini bloke ederek [102] ve p53'e ubikutin eklenmesini sağlayarak proteazom için degrade olmasını sağlar [83]. MDM2 p53'ün direkt transkripsiyonel hedefi olduğu için [169], sistem sıkı bir şekilde regüle edilir. MDM4 de MDM2 gibi p53'e bağlanarak degradasyonunda rol oynar [90]. MDM2-p53 döngüsünün ayarlanması antikanser tedavi için ümit verici bir hedeftir.

Onkogen sinyallerin tümör hücrelerindeki anjiogenik programı, HIF1α'yı stabilize ederek [103, 133], VEGF ve diğer proanjiogenik faktörleri de artırarak aktive ettiği tespit edilmiştir [79, 123, 124]. Ancak onkosupresörler hem normal hem de tümör hücrelerindeki anjiogenik programın regülasyonunda rol oynarlar [50, 150]. Anjiogenez birçok kemoterapötikten etkilenen veya kemoterapötiklerin efektörü olan başlıca moleküllerden birisi ve ana regülatör ve kritik tümör supresörü olan p53 tarafından modüle edilir [50, 150]. Multivalan tümör supresörü olan p53'ün tümörlerdeki yolakları sıklıkla inaktive ederek kanseri engelleyici etkiye sahip olduğu gösterilmiştir [109].

p53'e atfedilen birçok fonksiyon arasında tamir ve rekombinasyon üzerinde direkt etki, genom stabilitesinde rol oynayan proteinlerle ilişkisi ve kromatin modifikasyonu

mevcuttur. Ancak en önemli hücresel etkisi transkripsiyon faktörü üzerindedir. p53'ün kontrol ettiği büyük gen ağındaki ana regülatör etkisi, apoptoz, hücre döngüsü regülasyonu, senesans, enerji metabolizması, immun cevap, motilite ve migrasyon ile hücreler arası iletişim gibi çeşitli biyolojik aktivitelerden kaynaklanır [162].

p53'ün anjogenezi çeşitli farklı mekanizmalar yoluyla da suprese ettiğini gösteren kanıtlar giderek artmaktadır: (1) Ektraselüler matrikste bulunan ve kolajen prolil-4-hidroksilazın kolajen aktivitesinden kaynaklanan p53'ün transkripsiyonel hedefi olan antianjiogenik moleküllerin üretimini artırır [151]; (2) VEGF ve bFGF gibi proanjiogenik moleküllerin transkripsiyonunu represe eder [150]; (3) HIF1α degradasyonunu direkt bağlanma ile stimüle eder [126]; (4) miR107 gibi HIF1β'yi modüle eden mikroRNA'ları modüle eder [174]; (5) Tümörlerdeki anjiogenez anahtarını p19ARF ile birlikte inhibe eder[155]. Ayrıca p53 yolağının nongenotoksik aktivatörü olan nutlin-3'ün de endotel hücre migrasyonunu ve tüp formasyonunu inhibe ettiği ancak endotel hücre döngüsü ve apoptoz üzerinde minör etkileri olduğu gösterilmiştir [132]. MDM2-p53 etkileşimini bozan iki ilaç olan nutilinler ve RITA preklinik çalışmalarda önemli antikanser aktivite göstermiştir [70, 157]. Bu etkinin klinikte de test edilmesini umuyoruz.

1.2.2 NF-κB

NF-κB spesifik DNA sekansları bağlayan transkripsiyon faktörüdür [134]. Çok sayıda normal hücresel cevabın kontrolünde (immun ve enflamatuar cevaplar, gelişim, hücresel büyüme ve apoptoz) rol oynar. NF-κB kronik enflamasyon, kalp hastalığı ve kanseri de içeren birçok hastalıkta rol oynar [11, 84].

NF-κB DNA bağlayabilen Rel homoloji alanı (RHD) adı verilen korunan N-terminal bölgesini paylaşan beş farklı proteinin (p50, p52, p65 RelA, RelB, ve c-Rel) hetero- ve homodimerlerinden oluşur. IκB adı verilen inhibitör partner ailesi de mevcuttur [13]. NF-κB birçok hücrede IκB ailesinin yedi üyesinden birine direkt olarak bağlandığı için sitoplazmada tecrit edilmiş halde bulunur. Bu etkileşimin yukarı yönlü regülatörü IκB kinazdır (IKK). İki katalitik alt üniteden (IKKα ve IKKβ) ve bir regülatuar alt üniteden (IKKγ) oluşur. Ektraselüler sinyallarin aktivasyonunu takiben IIK IκB'yi fosforiller. IκB devamında çoklu ubikutin eklenme degradasyon yolağına girerek sitoplazmada tecrit halindeki NF-κB'nin serbestleşmesini sağlar. NF-κB çekirdeğe girince sitokinleri, kemokinleri, immunoreseptörleri, hücre adezyon moleküllerini, hücre yüzey reseptörlerini ve pro- ve antiapoptotik proteinleri kodlayan çok sayıda geni regüle edebilir [53]. Birçok farklı uyarı NF-κB'yi üç farklı yolak ile aktive edebilir. Kanonik yolak proenflamatuar sitokinler ve viral/mikrobik enfeksiyonlar ve IKK aktivasyonu-IκB degradasyonu-p50:ReIa nükleer lokalizasyonu ile tetiklenerek doğal immunitede yer alan genlerin ekspresyonuna ve apoptozun inhibisyonuna yol açar [77, 135]. Nonkanonik yolağında ise, TNF sitokin aile üyeleri tarafından stimüle edildikten sonra prekürsör kompleksi p100:ReIB'nin proseslenmesi ile p52:ReIB oluşur. Bu da adaptif immun cevapta rol oynayan genlerin modülasyonuna ve sekonder lenfoid organ gelişimine yol açar [171]. Atipik olan üçüncü yolak ise IKK aktivasyonuna ihtiyaç duymaz. DNA hasarı (ultraviyole

radyasyon), belir kemoterapötik ilaçlar ve ARF aktivasyonu antiapoptotik genleri aktive etmek yerine p50:ReIA ile represe ederek tümör baskılayıcı fonksiyon yapar [112]. Aktive edici stokinlerin (TNF-a, IL-1b) [51] aşırı üretimleri, ras veya myc gibi onkogenler veya NF-κB kodlayan genlerdeki genetik değişimler [30, 127] birçok malignitedeki NF-κB'nin yapısal ekspresyonunu belirler. NF-κB kanser destekleyici bir faktör olarak apoptozu [140] represe eder, anjiogenezi [24], tümör metastazını [68] ve hücre döngü progresyonunu [67] güçlendirir. NF-κB aracılığındaki kemorezistans apoptozu inhibe edici etkisinden sorumludur. Ancak bazı durumlarda (paklitaksel, doksorubisin) ilaçla indüklenen hücre ölümü için NF-κB gerekir [18, 68]. Araştırmacılar kanser ve enflamasyondaki karmaşık rolü nedeniyle NF-κB yolağını ve sıklıkla natürel bileşiklerden (kurkumin, resveratrol), sentetik ilaçlardan (talidomid) veya biyomoleküler araçlardan (hücre permeabl peptidler, mikroRNA ve tuzak oligodeoksinükleotidler) oluşan regüle edici partnerlerini (Tablo 1) spesifik olarak hedefleyen yeni stratejilerin geliştirilebilmesi için büyük çaba harcamaktadırlar [12, 78, 87].

1.2.3 Sinyal Dönüştürücü ve Transkripsiyon Aktivatörü

Tümör hücreleri tarafından salgılanan sitokinler ve büyüme faktörleri kanser hücrelerindeki ve tümör mikroçevresinin diğer komponentlerindeki yapısal NF-κB aktivasyonunu tetikler [57, 91, 131]. IL-6 ve FGF gibi spesifik faktörler sinyal dönüştürücü ve transkripsiyon aktivatörü 3'ün (STAT3) aktivatörüdür [41, 181]. Memelilerde herbiri farklı bir gende kodlanan yedi STAT proteini mevcut olup, bazılarının farklı alternatif ayrışma izoformları mevcuttur. Orijinal olarak IFN ile indüklenen cevapların [35] araştırılması ile tespit edilen STAT'lar çok farklı olan ve STAT spesifitesine katkı yapan karboksi-terminal transkripsiyonel aktivasyon bölgesi haricinde yapısal ve fonksiyonel olarak korunan alanları paylaşırlar [178]. En yüksek oranda korunan alan olan SH2 alanı sadece STAT'ların homo-heterodimerize edebilme kapasitelerinden değil [137], aynı zamanda spesifik fosfotirozin motiflerine bağlanabilmelerinden de sorumludur. Gerçekten de bu son SH2 özelliği STAT sinyali için vazgeçilmezdir. Sitokin reseptörüne STAT yerleşimini ve aktive edici Janus kinaz (JAK) ile ilişkisini sağlarlar [58] Bilinen yedi STAT proteini içinde, STAT3, STAT5 ve STAT6'nın yapısal aktivasyonunun lösemi, multipl miyelom ve çeşitli solid tümörlerde rol oynadığı bilinmektedir. Bu bulgular, NF-κB sinyal yolağındaki rolleri ile birlikte STAT'ları kanser tedavisi için uygun hedefler haline getirmektedir. STAT3 ilk olarak IL-6'ya cevap veren genlerin transkripsiyonlarında rol oynayan akut faz cevap faktörleri (APRF) olarak tanımlanmıştır [5]. Daha sonra yapılan çalışmalarda STAT3'ün yapısal aktivasyonunun Src gibi onkogenik tirozin kinazlar tarafından transforme edilen hücrelerde gerçekleştiği gösterilmiştir [177, 178]. Yapısal STAT3 aktivasyonunun mekanizması, esas olarak tümördeki enflamatuar ortamda bulunan IL-6'nın, STAT3 fosforilasyonuna yol açan otokrin ve parakrin üretiminden kaynaklanmaktadır. IL-6 ile indüklenen STAT3'ün, devamında ileri beslemeli aktivasyon döngüsü ile IL-6'yı indüklemesi ilginç bir bulgudur. STAT3 aktivasyonu hücreleri apoptozdan korurken, hücre döngüsünün progresyonunu ve metastazı destekler [23]. Çeşitli çalışmalarda

STAT3 ve NF-κB yolakları arasında bağlantılar tanımlanmıştır: STAT3, NF-κB'nin transkripsiyonal hedefleri olan IL-6 [105, 181] ve COX-2 [34] tarafından aktive edilmektedir. Diğer yandan STAT3 normal immun hücrelerdeki NF-κB aktivasyonunu IKK'yı inhibe ederek kontrol etmektedir [166]. Fosrolillenmemiş STAT3, fosforillenmemiş NF-κB'yi bağlayarak çekirdekte akümüle olur ve NF-κB'ye bağımlı genlerin alt kümesini aktive eder [175]. Ayrıca, Lee ve ark. güncel bir çalışmalarında STAT3'ün ReIA ile direkt olarak etkileşerek p300 tarafından asetile edilmesini kolaylaştırıp hem tümör hem de tümör ile ilişkili immun hücrelerdeki NF-κB'nin nükleer retansiyonunu nasıl uzattığı açıklanmaktadır. STAT6'nın önce IL-4 tarafından, devamında da IL-4 ile bir reseptör zinciri paylaşan IL13 tarafından aktive edildiği gösterilmiştir. İnterlökin-4 yardımcı T hücre alt kümelerinin dengelerinin modüle edilmesinde önemli rol oynayarak, Th2 türünün Th1'e göre daha fazla yayılmasını sağlamaktadır. Gerçekten de STAT6 knockout fareler Th2 hücreleri geliştiremezler [148].

2 Kanser Kemoprevensiyonu

2.1 N-asetilsistein

N-asetilsistein (NAC) mikroçevresinin korunmasında ümit vadeden ajanlardan biri [39] olarak görünmektedir (Tablo 1). Vücuttaki en önemli antioksidan olan sistein ve glutatyonun sentetik prekürsörüdür. Glutatyon düzeylerinin artmasına yol açan NAC'ın kendisi de bir antioksidan ilaç olarak kabul edilmekte ve artrit, kanser, kardiyovasküler ve respiratuar hastalıklarda reaktif oksijen türlerinin yol açtığı oksidatif stresi tamponlamakta önemli bir rol oynamaktadır [179]. NAC ilk kez 1960'larda bir mukolitik ilaç olarak [119] kronik obstruktif akciğer hastalığının alevlenmelerine engel olmak amacıyla kullanılmıştır. Daha sonra 1980'lerde hayvan modellerinde yapılan çeşitli deneylerde kanser önleyici potansiyeli ortaya çıkmıştır. NAC'ın karsinojenler aracılığında gerçekleşen oksidatif DNA hasarını önlediği, tümörlerin ve neoplastik lezyonların gelişimini baskıladığı ya da geciktirdiği kemirgenlerde gösterilmiştir [37, 38]. NAC ayrıca HIV1 aracılığında düşük sistein ve glutatyon düzeylerine bağlı olarak oluşan oksidatif stresi takiben oluşan hücresel hasarı engelleyebilir [118].

Son zamanlarda fare epitel hücre dizilerinde DNA eklentilerinin oluşumunu engellediği bildirildiği için meme kanserine karşı korumada uygun bir ilaç olabileceği önerilmiştir [160]. NAC'ın koruyucu rolünün gerçekleşmesinde yer alan moleküler mekanizmalar derinlemesine araştırılmıştır. NF-κB, AP1, MAPK yolaklarını inhibe etmekte, proenflamatuar ve büyüme faktörü sinyalleri ile mücadele etmekte ve kemoterapi ile radyoterapi sonrası görülen hücre hasarını azaltmaktadır [147]. NAC, AKT fosforilasyonunu azalttığı için mikroçevreyi de hedeflemektedir. Anjiogenezi ve tümör metastazlarını deneysel modellerde engellediğinin gösterilmesi antikanser etkilerini destekleyen bulgulardır [6, 94]. İyi bir kemopreventif ilacın birçok özelliğine sahip olmasına rağmen, NAC ile yapılan kli-

nik çalışmalar büyük hayal kırıklığı yaratmıştır: BRONCUS çalışmasında pulmoner hastalıkta bir faydası tespit edilmemiştir [40]; EUROSCAN çalışmasında da boyun, baş veya akciğer kanseri olan hastalarda NAC uygulanması ile herhangi bir fayda tespit edilmemiştir [156]. Ayrıca kardiyovasküler, karaciğer ve böbrek hastalıklarındaki etkisine işaret edebilecek güçlü klinik kanıtlar da mevcut değildir [3]. Deneysel çalışmalarda NAC'ın Cu II varlığında DNA hasarına yol açarak muhtemel karsinojenik etki gösterebilme ihtimali de (diğer antioksidanlar ile benzer şekilde) gösterilmiştir [108].

2.2 Fenrenitid

N-(4-hidroksifenil)retinamid (4HPR) olarak da bilinen fenrenitid kanser kemoprevensiyonunda en sık kullanılan retinoid asit analoğudur. Retinoik asit reseptörünün intraselüler reseptörünün steroid/tiroid hormon üst ailesine ait olduğu biliniyor olsa da, analoğu aktivitesini tümör hücrelerindeki çeşitli yolakları etkileyerek gösterir. 4HPR hepatoselüler karsinom, akciğer, baş, boyun kanseri ve çeşitli ovaryum hücre dizilerinde RARβ bağlayarak kaspaz 3'ü aktive ederek apoptozu indükler [19, 129]. RARβ normal hücre büyüme ve regülasyonunda rol oynayan üç retinoid asit reseptöründen (RAR) birisidir. Fenretinid apoptozu kaspazdan bağımsız olarak redoks dengesini bozarak, reaktif oksijen türlerinin üretimini ve sitokrom c salınımını tetikleyerek de indükleyebilir. Ayrıca seramid/sfingomiyelin aracılığındaki yolakları da aktive eder [159]. Bu etki mekanizmaları miyeloid lösemi hücrelerinde [72], prostat kanseri hücrelerinde [55], insan pankreas hücrelerinde [98], nöroblastom [33], retinoblastom [154, 159] ve karaciğer kanseri hücrelerinde aktiftir [176].

Fenretinid tümör mikroçevresinin anjiogenik komponentini de etkiler (Tablo 1). Direkt olarak endotel fonksiyonunu bozar, çeşitli büyüme faktörlerinin ve sitokinlerin üretim, salınım ve aktivasyonunu etkiler. Pienta ve ark. onbeş yıl önce 4HPR'nin prostat kanser modelinde endotel hücre motilitesini inhibe ettiğini, kapiler benzeri yapılar oluşturabildiğini ve neovaskülarizasyona yol açabildiğini gösterdiler [115]. Biz de daha sonra 4HPR'nin retinoblastom ve Kaposi sarkomu modellerindeki tümör anjiogenezini azalttığını gösterdik [45, 154]. Fehretinid ayrıca IGF1/IGF1 reseptörü, TGFβ ve NF-κB gibi diğer yolakları hedefleyen hücrelerin yaşama yeteneklerini de etkiler [138].

Çeşitli klinik çalışmalarda fenretinidin hem kemopreventif hem de kemoterapötik etkinliği araştırılmıştır. En büyük faz III klinik çalışma İstituto Nazionale dei Tumori of Milan koordinatörlüğünde 1987 yılında başlatılan ve evre I meme kanseri olan hastalardaki tümör insidansı üzerinde fenrenitinidin etkilerini araştıran çok merkezli, randomize, kemoprevensiyon çalışmasıdır. Bu çalışmanın sonuçları fenretinidinin premenopozal kadınlarda kemopreventif etkisi olduğunu göstermiştir. Ancak postmenopozal kadınlarda paradoksik şekilde karşıt etkileri olduğu görülmektedir. Şu anda serviks, mesane ve ovaryum kanserinde fenretinidin kemoprevensiyon özelliğini araştıran klinik çalışmalar sürmektedir. Diğer çalışmalar 4HPR'nin baş ve boyun kanseri, lenfoma, nöroblastom, böbrek kanseri, gliom, küçük hücreli akciğer kanseri ve prostat kanseri hastalarında kemoterapötik ilaç olarak etkinliğini araştırmayı amaçlamaktadır.

3 Tümör Mikroçevresini Hedefleyen Tedaviler

Konvansiyonel kanser tedavisinde tümör hücresinin kendisini hedefleyen tedavilere alternatif veya ek olarak tümör mikroçevresinin hedeflenmesinin ümit verici olduğu açıktır. Bu teori tümör mikroçevresinin kansere yol açan tek neden olduğunu öneren bulgularla desteklenmektedir [163, 164]. Ayrıca tümör mikroçevresinin çeşitli kemoprevensiyon ajanları tarafından hızlıca ve efektif olarak hedeflenebilmesi ile tümörün agresifliği engellenebilmekte ya da geciktirilebilmektedir.

Solid tümörlerin klinik olarak sessiz olan küçük hücre grubu durumundan, onkoloji hastalarının çoğunun ölüm nedeni olan metastaz yapabilecek hale gelebilmesi için anjiogenez şarttır. Bu gerçek araştırmacıların ve endüstrinin efektif antianjiogenik tedaviler geliştirmek için sarf ettikleri büyük enerjinin nedenidir. Folkman 1971 yılında anjiogenezin karsinogenezdeki rolünü öngörmüştür [46]. Tümör hücreleri genetik ve çevresel değişimleri takiben proanjiogenik büyüme faktörlerini (örn. VEGF) salgılayarak tümör damar ağı formasyonuna neden olan "anjiogenik anahtarı" aktive ederler. Bu anjiogenik fenotipin oluşumunda rol oynayan tüm yolaklar ve moleküler oyuncular antianjiogenik terapi için iyi birer adaydır. Çalışmaların çoğu VEGF/VEGFR yolağına odaklanmıştır. Bevakizumab VEGF (VEGF-A) izoformlarını inhibe ederek reseptörlerine bağlanmasını engelleyen hümanize monoklonal antikordur. FDA tarafından kolorektal kanser tedavisinde kemoterapi rejimi ile kombinasyon halinde kullanım için onaylı ilk antianjiogenik ilaçtır. Bevakizumab, muhtemelen tümör damarları üzerindeki "normalizasyon" etkisi nedeniyle, hemen her zaman sadece kemoterapi ile kombine olarak kullanıldığında etkilidir. Bu dengesiz ve düzensiz tümör damar düzeninin "tamiri" sızıntıları azaltarak interstisyel basıncı düşürür. Böylece ilaçların daha iyi dağılmasını ve etkinlik göstermelerini sağlar [71, 80, 99].

Aflibersept (VEGF-Tuzağı) VEGFR-1 ve VEGFR-2'nin ekstraselüler bölgelerinin IgG'nin Fc fragmanı ile birlikte füzyonu sonucunda elde edilen bir moleküldür. Füzyon proteinlerinin preklinik çalışmalarda, VEGF ve PIGF'nin hücresel reseptörlerine bağlanmalarını inhibe ederek anjiogenezi ve tümör büyümesini bloke ettikleri tespit edilmiştir. Akut myeloid lösemi, glioblastom, karsinom, metastatik pankreas kanseri, küçük hücreli akciğer kanseri ile diğer bazı kanser türlerinde yapılmakta olan güncel klinik çalışmalarda değerlendirilmektedir [64].

Yoğun olarak araştırılan bir başka bileşik sınıfı da RTK inhbitörleri olarak da bilinen tirozin kinazların reseptörlerini hedefleyen TKİ'lerdir. Bazı reseptörler hem endotel hem de kanser hücreleri tarafından eksprese edildikleri için, bu moleküller her iki hücre tipinde de etkili olabilirler. Bu sınıfa ait olan ilk bileşik olan semaksanib ilk olarak 5-florourasil ile kombinasyon halinde test edilmiştir. Ancak çalışma hayal kırıklığı yaratan sonuçları ve yüksek toksisite nedeniyle durdurulmuştur [130]. Küçük bir oral molekül olan ve VEGFR, PDGFR, c-kit, RET ve koloni stimüle edici faktör (CSF)-1R'yi hedefleyen sunitinib tedavisi ile metastatik renal hücreli karsinom (RCC) hastalarında yapılan klinik çalışmada ümit verici sonuçlar alınması sonrası metastatik renal hücreli karsinom ve gastrointestinal stromal tümör tedavisinde FDA onayı al-

mıştır [28]. Aynı bileşik grubuna ait olan sorafenib de VEGFR, PDGFR-β ve c-kit'i inhibe eder. Bu molekül çeşitli tümör hücre dizilerinde Raf kinazları ve ERK1/1 MAPK sinyalini de hedefler. Metastastik RCC ve rezeke edilemeyen hepatoselüler karsinom tedavisinde onaylıdır [167].

EGFR/HER1 inhibitörü olan erlotinibin antikanser aktivitesini VEGF'yi de içeren büyüme faktörlerinin ekspresyonunu represe ederek gösterdiği düşünülmektedir. Pankreas kanserinin tedavisinde gemsitabin ile kombine halde ve küçük hücreli olmayan akciğer kanserinin (NSCLC) tedavisinde onaylıdır [120]. PDGFR ve Bcr/Abl inhibitörü olan imatinib kronik miyeloid lösemi tedavisinde kullanılır. İn vitro anjiogenetik etkileri de olan imatinib endotel hücrelerini ve perisitleri PDGFR ile etkileşimi sayesinde etkiler. Perisitlerin hedeflenmesi damar ağını etkilemek için geçerli bir yaklaşımdır. Ancak bu yaklaşım dezavantajı sızdıran damarların metastaza neden olma ihtimalidir. Bu potansiyel yan etkilerden kaçınabilmek için iyi dizayn edilmiş bir tedavi gereklidir [144].

Uzun süreli anti-VEGF tedavinin faydaları yanında kardiyovasküler komplikasyonlar ve direnç kazanımı gibi yan etkileri de vardır. Kardiyovasküler yan etkiler bu bileşiklerin hem tümör hem de tümörle ilişkili olmayan endotel hücrelerinde etki gösteriyor olmalarından kaynaklanır. Tümörle ilişkisiz endotel hücrelerinde etki göstermeleri anjiogenez sinyallerinin çokluğundan kaynaklanır. Bu dezavantajların üstesinde gelebilmek için çok hedefli bir yaklaşım gerekir.

İnter- ve intraselüler iletişimlerin altında yatan kompleks ağ nedeniyle, sinyal yolaklarını hedeflemek üzere geliştirilen birçok bileşik aynı zamanda anjiogenezi de etkilemektedir. EGFR'yi hedefleyen monoklonal antikor olan setuksimab metastatik kolorektal kanserdeki proanjiogenik sitokin ekspresyonunu represe eder [82].

PI3K ailesinin iki inhibitörü olan LY294002 ve wortmannin yüksek toksisiteleri nedeniyle klinik kullanıma girememiştir [145]. AKT/mTOR yolağı perifozin (bir alkilfosfolipid), rapamisin ve analogları (temsirolimus ve everolimus) tarafından hedeflenir; bu bileşikler renal hücreli karsinom tedavisinde etkilidir [69]. Sinyal ağındaki bir diğer merkezde hipoksi ile indüklenebilir faktör HIF'dır. HIF, DNA'ya bağlanmasını (Ekinomisin) [81] ve p300 (Ketomin) [143] veya HSP90 (Geldanamisin) [95] gibi kofaktörlerle etkileşimini engelleyerek, transkripsiyonel aktivitesinin inhibe eden [180] multipl bileşikler tarafından hedeflenir. HIF'ı hedeflemenin diğer yöntemleri ekspresyonunu ve akümülasyonunu (2-Metoksiöstradiol) tioredoksinlerin inhibisyonu (PX-12) ile engellemektir. Geldanamisin, 2-Metoksiöstradiol ve PX-12 ile ilgili süren çalışmalarda bazı ön sonuçlar alınmıştır [29].

Çeşitli epidemiyolojik çalışmalarda antienflamatuar ilaçlarla (NSAİD) ve diğer COX-2 inhibitörleri ile uzun süre tedavi edilen hastalardaki kolon, meme ve gastrik kanserlerin insidansları daha düşük bulunmuştur [10]. COX-2 adenokarsinom, over ve kolon kanseri gibi farklı kanser türleri olan hastalarda kötü prognoz ile koreledir. COX-2 inhibitörü selekoksibin (Celebrex) prostat, baş ve boyun, küçük hücreli akciğer kanserleri gibi çeşitli kanserlerin tedavisinde kullanıldığı klinik çalışmalar sürmektedir [52].

En önemli proenflamatuar moleküllerden biri TNFα'dır. TNFα, tümörlerin büyüme ve yayılımları için gerekli olan NF-κB yolağını ve dokuların yeniden yapılanmasını aktive eder. TNFα aktivitesine engel olmak için çözünür TNF reseptörü, etanersept, TNF'e karşı kimerik bir monoklonal antikor, infliksimab ve pegile hümanize anti-TNFα parçası, CDP870 gibi çeşitli yaklaşımlar kullanılmıştır [1]. Bu inhibitörler günümüzde başta romatoid artrit olmak üzere çeşitli kronik enflamatuar hastalıkların tedavisinde klinikte kullanılmaktadır. TNFα inhibitörlerini anti-neoplastik tedavide kullanımlarını araştıran çeşitli klinik çalışmalar sürmektedir. Ancak şu ana kadar etkinliklerini gösteren net bir kanıt bulunmamıştır (http://clinicaltrials.gov/).

Tanımlanan moleküler yolaklara ek olarak, tümör mikroçevresini oluşturan enflamatuar hücreler de kanser tedavisinde uygun hedefler olabilir. Yukarıda bahsedildiği üzere, TAM'lar kanser ile ilişkili enflamasyonda çok önemli rol oynarlar; çoğunlukla CSF-1 ve CCL-2 tarafından alınırlar. TAM infiltrasyonunu inhibe etmenin muhtemel bir yolu CSF-1/CFS-1 reseptörünü (CSF-1R) veya CCL2/CCL2 reseptör (CCR2) eksenini hedeflemektir. RTK inhibitörü olan sunitinib in vitro deneylerde CSF-1R'yi bloke edebilmektedir [25]. CCR2 inhibitörleri çeşitli ilaç firmaları tarafından araştırılmaktadır. Merck'in son zamanlarda geliştirdiği MK0812 tedavisi ataklar ve remisyonlarla karakterize multipl sklerozda ve romatoid artritte sürmekte olan faz II klinik çalışma ile araştırılmaktadır [168] (http://clinicaltrials.gov/).

TAM'lar yerleşimlerini takiben, karsinojenezi destekleyen çok miktarda proanjiogenik ve protümörijenik faktörler salgılarlar. Bu nedenle diğer stratejiler aktive TAM'ları hedeflerler. Kemik metastazları ile ilgili iskelet problemlerini azalttığı bilinen zoledronik asidin, TAM'lara yönelik miyeloid farklılaşmayı bozarak ve TAM'ların MMP9 salgılamalarını azaltarak da etki gösterdiği güncel çalışmalarda gösterilmiştir [158]. Ayrıca CAF'lar da güncel bir tedavi hedefidir. CAF'lar, endotel hücre prekürsorlarını (EPC) kendilerine çekerek anjiogenezi destekleyen CXCR4 ligandı olan SDF-1 üretirler. CXCR4 inhibitörü olarak geliştirilen AMD3100'ün akut myeloid lösemi, lenfoma, relaps/refrakter multipl miyelom ve diğer malignitelerin tedavisinde kullanımını araştıran klinik çalışmalar sürmektedir [36].

Tümör mikroçevresinin hedeflenmesinin avantajı, (en azından teorik olarak) nontümör hücre popülasyonlarının genetik olarak stabil olmaları nedeniyle kazanılmış ilaç rezistansına yol açan mutasyonların akümülasyonuna daha az eğilimli olmalarıdır. Ancak bu varsayım tam olarak doğru değildir. Örneğin endotel hücrelerinin tümör hücrelerinden kaynaklanabileceği ve tümörle ilişkili endotel hücrelerinde genetik dş.lerin bazı vakalarda görüldüğü güncel deneyler ile gösterilmiştir [4, 93, 113, 146].

4 Sonuçlar

Sonuç olarak etkili bir tümör tedavisi sadece tümör hücresini değil bütün hücresel oyuncuları hedef almalıdır: Bu komplike proseste rol oynayan endotel hücreleri, perisitler, immun hücreler ve fibroblastlar hedeflenmelidir. Bu hedefe ulaşmak için çok sayıda

adım atılmıştır. Ancak kanseri ve karsinogenez prosesini etkili bir şekilde hedefleyebilmek için çok daha fazlasına ihtiyaç vardır. Çok miktarda deneysel veriler, klinik ve preklinik gözlemler göz önüne alındığında kanseri yok edebilmek için tümör hücrelerinin hedeflenmesinin yeterli olmadığı açıktır. Çeşitli terapötik protokollerde bevakizumab, sunitib ve sorafenib gibi antianjiogenik ilaçlar yer almaktadır. Tümör mikroçevresine uyarlanmış antienflamatuar ilaçlar da mevcuttur. Tedaviler bu çok hedefli yaklaşımlara rağmen sıklıkla başarısız olmaktadır. Bu durum kısmen hastalığın ileri evrede teşhis ve tedavi edilmesine bağladır. Bu nedenle tümörlerin henüz klinik olarak teşhis edilemedikleri başlangıç evrelerinde kanser kemoprevensiyonu yoluyla hedeflenmeleri ilginç bir alternatif stratejidir. Bu yaklaşımın başlıca özelliklerinden biri tümör mikroçevresinin hedeflenmesidir. Hatta tümör mikroçevresinin oluşmadan önce engellenerek tümör büyüme ve progresyonunun durdurulması en ideal yaklaşımdır.

Bu yaklaşımın altında yatan bilimsel mantığın bazı yönleri ile tümör, tümör mikroçevresi ve ilaçlar arasındaki etkileşimlerin gerçekleştiği biyolojik senaryoyu tanımladık. Karsinogenezin tüm evreleri, preneoplastik hücrelerdeki genetik mutasyonlar, mikroçevresinin moleküler sinyalleri ve tümör homeostazı ilaçların olası hedefleridir. Bu bölümde hem preklinik hem de klinik çalışmalarda kanser kemoprevensiyonunda kullanımları araştırılmakta olan en fazla ümit vadeden bileşiklerle ilgili güncel bilgilerden bahsettik. Bazıları çelişkili olsa da genel olarak ümit verici olan çalışma sonuçlarında, tümör mikroçevresinin önemi vurgulanmakta ve kemopreventif yaklaşımların kanserin ve progresyonunun önlenmesinde geçerli stratejiler haline gelebileceği bildirilmektedir.

Teşekkürler Bu çalışmalara maddi destke veren kurumlar: AIRC (Associazione Italiana per la Ricerca sul Cancro), Ministero della Salute, ISS (Istituto Superiore della Sanità). AB, FIRC (Fondazione Italiana per la Ricerca sul Cancro) asistanıdır. AP, "Caterina Forni" AIRC bursu almıştır. Veri yönetimi için Dr Paola Corradino'ya (Multimedica IRCCS) teşekkür ediyoruz.

Referanslar

1. Aaltonen KJ, Virkki LM, Malmivaara A, Konttinen YT, Nordstrom DC, Blom M (2012) Systematic review and meta-analysis of the efficacy and safety of existing TNF blocking agents in treatment of rheumatoid arthritis. PLoS One 7:e30275
2. Aggarwal BB, Vijayalekshmi RV, Sung B (2009) Targeting inflammatory pathways for prevention and therapy of cancer: short-term friend, long-term foe. Clin Cancer Res 15:425–430
3. Aitio ML (2006) N-acetylcysteine—passe-partout or much ado about nothing? Br J Clin Pharmacol 61:5–15
4. Akino T, Hida K, Hida Y, Tsuchiya K, Freedman D, Muraki C, Ohga N, Matsuda K, Akiyama K, Harabayashi T, Shinohara N, Nonomura K, Klagsbrun M, Shindoh M (2009) Cytogenetic abnormalities of tumor-associated endothelial cells in human malignant tumors. Am J Pathol 175:2657–2667
5. Akira S, Nishio Y, Inoue M, Wang XJ, Wei S, Matsusaka T, Yoshida K, Sudo T, Naruto M, Kishimoto T (1994) Molecular cloning of APRF, a novel IFN-stimulated gene factor 3 p91-

related transcription factor involved in the gp130-mediated signaling pathway. Cell 77:63–71
6. Albini A, Morini M, D'Agostini F, Ferrari N, Campelli F, Arena G, Noonan DM, Pesce C, De Flora S (2001) Inhibition of angiogenesis-driven Kaposi's sarcoma tumor growth in nude mice by oral N-acetylcysteine. Cancer Res 61:8171–8178
7. Albini A, Noonan DM (2012) Angiopoietin2 and tie2: tied to lymphangiogenesis and lung metastasis. New perspectives in antimetastatic antiangiogenic therapy. J Natl Cancer Inst 104:429–431
8. Albini A, Sporn MB (2007) The tumour microenvironment as a target for chemoprevention. Nat Rev Cancer 7:139–147
9. Albini A, Tosetti F, Benelli R, Noonan DM (2005) Tumor inflammatory angiogenesis and its chemoprevention. Cancer Res 65:10637–10641
10. Albini A, Tosetti F, Li VW, Noonan DM, Li WW (2012) Cancer prevention by targeting angiogenesis. Nat Rev Clin Oncol 9:498–509
11. Aradhya S, Nelson DL (2001) NF-kappaB signaling and human disease. Curr Opin Genet Dev 11:300–306
12. Aravindaram K, Yang NS (2010) Anti-inflammatory plant natural products for cancer therapy. Planta Med 76:1103–1117
13. Baldwin AS Jr (1996) The NF-kappa B and I kappa B proteins: new discoveries and insights. Annu Rev Immunol 14:649–683
14. Balkwill F, Mantovani A (2001) Inflammation and cancer: back to Virchow? Lancet 357:539–545
15. Bello IO, Vered M, Dayan D, Dobriyan A, Yahalom R, Alanen K, Nieminen P, Kantola S, Laara E, Salo T (2011) Cancer-associated fibroblasts, a parameter of the tumor microenvironment, overcomes carcinoma-associated parameters in the prognosis of patients with mobile tongue cancer. Oral Oncol 47:33–38
16. Benelli R, Morini M, Carrozzino F, Ferrari N, Minghelli S, Santi L, Cassatella M, Noonan DM, Albini A (2002) Neutrophils as a key cellular target for angiostatin: implications for regulation of angiogenesis and inflammation. FASEB J 16:267–269
17. Bergers G, Song S, Meyer-Morse N, Bergsland E, Hanahan D (2003) Benefits of targeting both pericytes and endothelial cells in the tumor vasculature with kinase inhibitors. J Clin Invest 111:1287–1295
18. Bian X, McAllister-Lucas LM, Shao F, Schumacher KR, Feng Z, Porter AG, Castle VP, Opipari AW Jr (2001) NF-kappa B activation mediates doxorubicin-induced cell death in N-type neuroblastoma cells. J Biol Chem 276:48921–48929
19. Bu P, Wan YJ (2007) Fenretinide-induced apoptosis of Huh-7 hepatocellular carcinoma is retinoic acid receptor beta dependent. BMC Cancer 7:236
20. Campbell MJ, Tonlaar NY, Garwood ER, Huo D, Moore DH, Khramtsov AI, Au A, Baehner F, Chen Y, Malaka DO, Lin A, Adeyanju OO, Li S, Gong C, McGrath M, Olopade OI, Esserman LJ (2011) Proliferating macrophages associated with high grade, hormone receptor negative breast cancer and poor clinical outcome. Breast Cancer Res Treat 128:703–711
21. Carmeliet P (2003) Angiogenesis in health and disease. Nat Med 9:653–660
22. Carmeliet P, Jain RK (2000) Angiogenesis in cancer and other diseases. Nature 407:249–257
23. Chan KS, Sano S, Kiguchi K, Anders J, Komazawa N, Takeda J, DiGiovanni J (2004) Disruption of Stat3 reveals a critical role in both the initiation and the promotion stages of epithelial carcinogenesis. J Clin Invest 114:720–728
24. Chilov D, Kukk E, Taira S, Jeltsch M, Kaukonen J, Palotie A, Joukov V, Alitalo K (1997) Genomic organization of human and mouse genes for vascular endothelial growth factor C. J Biol Chem 272:25176–25183
25. Chow LQ, Eckhardt SG (2007) Sunitinib: from rational design to clinical efficacy. J Clin Oncol 25:884–896

26. Chung AS, Lee J, Ferrara N (2010) Targeting the tumour vasculature: insights from physiological angiogenesis. Nat Rev Cancer 10:505–514
27. Coffelt SB, Hughes R, Lewis CE (2009) Tumor-associated macrophages: effectors of angiogenesis and tumor progression. Biochim Biophys Acta 1796:11–18
28. Colotta F, Allavena P, Sica A, Garlanda C, Mantovani A (2009) Cancer-related inflammation, the seventh hallmark of cancer: links to genetic instability. Carcinogenesis 30:1073–1081
29. Cook KM, Figg WD (2010) Angiogenesis inhibitors: current strategies and future prospects. CA Cancer J Clin 60:222–243
30. Courtois G, Smahi A (2006) NF-kappaB-related genetic diseases. Cell Death Differ 13:843–851
31. Coussens LM, Werb Z (2002) Inflammation and cancer. Nature 420:860–867
32. Crawford LV, Pim DC, Gurney EG, Goodfellow P, Taylor-Papadimitriou J (1981) Detection of a common feature in several human tumor cell lines–a 53,000-dalton protein. Proc Natl Acad Sci USA 78:41–45
33. Cuperus R, Leen R, Tytgat GA, Caron HN, van Kuilenburg AB (2010) Fenretinide induces mitochondrial ROS and inhibits the mitochondrial respiratory chain in neuroblastoma. Cell Mol Life Sci 67:807–816
34. Dalwadi H, Krysan K, Heuze-Vourc'h N, Dohadwala M, Elashoff D, Sharma S, Cacalano N, Lichtenstein A, Dubinett S (2005) Cyclooxygenase-2-dependent activation of signal transducer and activator of transcription 3 by interleukin-6 in non-small cell lung cancer. Clin Cancer Res 11:7674–7682
35. Darnell JE Jr, Kerr IM, Stark GR (1994) Jak-STAT pathways and transcriptional activation in response to IFNs and other extracellular signaling proteins. Science 264:1415–1421
36. De Clercq E (2010) Recent advances on the use of the CXCR4 antagonist plerixafor (AMD3100, Mozobil) and potential of other CXCR4 antagonists as stem cell mobilizers. Pharmacol Ther 128:509–518
37. De Flora S, Bennicelli C, Zanacchi P, Camoirano A, Morelli A, De Flora A (1984) In vitro effects of N-acetylcysteine on the mutagenicity of direct-acting compounds and procarcinogens. Carcinogenesis 5:505–510
38. De Flora S, D'Agostini F, Izzotti A, Balansky R (1991) Prevention by N-acetylcysteine of benzo[a]pyrene clastogenicity and DNA adducts in rats. Mutat Res 250:87–93
39. De Flora S, Izzotti A, D'Agostini F, Balansky RM (2001) Mechanisms of N-acetylcysteine in the prevention of DNA damage and cancer, with special reference to smoking-related end-points. Carcinogenesis 22:999–1013
40. Decramer M, Rutten-van Molken M, Dekhuijzen PN, Troosters T, van Herwaarden C, Pellegrino R, van Schayck CP, Olivieri D, Del Donno M, De Backer W, Lankhorst I, Ardia A (2005) Effects of N-acetylcysteine on outcomes in chronic obstructive pulmonary disease (Bronchitis Randomized on NAC Cost-Utility Study, BRONCUS): a randomised placebo-controlled trial. Lancet 365:1552–1560
41. Deo DD, Axelrad TW, Robert EG, Marcheselli V, Bazan NG, Hunt JD (2002) Phosphorylation of STAT-3 in response to basic fibroblast growth factor occurs through a mechanism involving platelet-activating factor, JAK-2, and Src in human umbilical vein endothelial cells. Evidence for a dual kinase mechanism. J Biol Chem 277:21237–21245
42. Duignan IJ, Corcoran E, Pennello A, Plym MJ, Amatulli M, Claros N, Iacolina M, Youssoufian H, Witte L, Samakoglu S, Schwartz J, Surguladze D, Tonra JR (2011) Pleiotropic stromal effects of vascular endothelial growth factor receptor 2 antibody therapy in renal cell carcinoma models. Neoplasia 13:49–59
43. Ebos JM, Lee CR, Cruz-Munoz W, Bjarnason GA, Christensen JG, Kerbel RS (2009) Accelerated metastasis after short-term treatment with a potent inhibitor of tumor angiogenesis. Cancer Cell 15:232–239
44. Egeblad M, Nakasone ES, Werb Z (2010) Tumors as organs: complex tissues that interface with the entire organism. Dev Cell 18:884–901

45. Ferrari N, Morini M, Pfeffer U, Minghelli S, Noonan DM, Albini A (2003) Inhibition of Kaposi's sarcoma in vivo by fenretinide. Clin Cancer Res 9:6020–6029
46. Folkman J (1971) Tumor angiogenesis: therapeutic implications. N Engl J Med 285:1182–1186
47. Folkman J (2002) Role of angiogenesis in tumor growth and metastasis. Semin Oncol 29:15–18
48. Fridlender ZG, Albelda SM (2012) Tumor-associated neutrophils: friend or foe? Carcinogenesis
49. Fridlender ZG, Sun J, Kim S, Kapoor V, Cheng G, Ling L, Worthen GS, Albelda SM (2009) Polarization of tumor-associated neutrophil phenotype by TGF-beta: "N1" versus "N2" TAN. Cancer Cell 16:183–194
50. Gabellini C, Del Bufalo D, Zupi G (2006) Involvement of RB gene family in tumor angiogenesis. Oncogene 25:5326–5332
51. Garg AK, Aggarwal BB (2002) Reactive oxygen intermediates in TNF signaling. Mol Immunol 39:509–517
52. Ghosh N, Chaki R, Mandal V, Mandal SC (2010) COX-2 as a target for cancer chemotherapy. Pharmacol Rep 62:233–244
53. Ghosh S, Karin M (2002) Missing pieces in the NF-kappaB puzzle. Cell 109(Suppl):S81–S96
54. Goh PP, Sze DM, Roufogalis BD (2007) Molecular and cellular regulators of cancer angiogenesis. Curr Cancer Drug Targets 7:743–758
55. Gouaze-Andersson V, Flowers M, Karimi R, Fabrias G, Delgado A, Casas J, Cabot MC (2011) Inhibition of acid ceramidase by a 2-substituted aminoethanol amide synergistically sensitizes prostate cancer cells to N-(4-hydroxyphenyl) retinamide. Prostate 71:1064–1073
56. Green DR, Kroemer G (2009) Cytoplasmic functions of the tumour suppressor p53. Nature 458:1127–1130
57. Greten FR, Karin M (2004) The IKK/NF-kappaB activation pathway-a target for prevention and treatment of cancer. Cancer Lett 206:193–199
58. Gupta S, Yan H, Wong LH, Ralph S, Krolewski J, Schindler C (1996) The SH2 domains of Stat1 and Stat2 mediate multiple interactions in the transduction of IFN-alpha signals. EMBO J 15:1075–1084
59. Hanahan D, Folkman J (1996) Patterns and emerging mechanisms of the angiogenic switch during tumorigenesis. Cell 86:353–364
60. Hanahan D, Weinberg RA (2011) Hallmarks of cancer: the next generation. Cell 144:646–674
61. Harris CC (1993) p53: at the crossroads of molecular carcinogenesis and risk assessment. Science 262:1980–1981
62. Harris CC, Hollstein M (1993) Clinical implications of the p53 tumor-suppressor gene. N Engl J Med 329:1318–1327
63. Hermeking H (2007) p53 enters the microRNA world. Cancer Cell 12:414–418
64. Holash J, Davis S, Papadopoulos N, Croll SD, Ho L, Russell M, Boland P, Leidich R, Hylton D, Burova E, Ioffe E, Huang T, Radziejewski C, Bailey K, Fandl JP, Daly T, Wiegand SJ, Yancopoulos GD, Rudge JS (2002) VEGF-Trap: a VEGF blocker with potent antitumor effects. Proc Natl Acad Sci USA 99:11393–11398
65. Hou J, Schindler U, Henzel WJ, Ho TC, Brasseur M, McKnight SL (1994) An interleukin-4-induced transcription factor: IL-4 Stat. Science 265:1701–1706
66. Hristov M, Erl W, Weber PC (2003) Endothelial progenitor cells: mobilization, differentiation, and homing. Arterioscler Thromb Vasc Biol 23:1185–1189
67. Hsia CY, Cheng S, Owyang AM, Dowdy SF, Liou HC (2002) c-Rel regulation of the cell cycle in primary mouse B lymphocytes. Int Immunol 14:905–916
68. Huang S, DeGuzman A, Bucana CD, Fidler IJ (2000) Nuclear factor-kappaB activity correlates with growth, angiogenesis, and metastasis of human melanoma cells in nude mice. Clin Cancer Res 6:2573–2581

69. Hudes GR (2009) Targeting mTOR in renal cell carcinoma. Cancer 115:2313–2320
70. Issaeva N, Bozko P, Enge M, Protopopova M, Verhoef LG, Masucci M, Pramanik A, Selivanova G (2004) Small molecule RITA binds to p53, blocks p53-HDM-2 interaction and activates p53 function in tumors. Nat Med 10:1321–1328
71. Jain RK (2002) Tumor angiogenesis and accessibility: role of vascular endothelial growth factor. Semin Oncol 29:3–9
72. Jiang L, Pan X, Chen Y, Wang K, Du Y, Zhang J (2011) Preferential involvement of both ROS and ceramide in fenretinide-induced apoptosis of HL60 rather than NB4 and U937 cells. Biochem Biophys Res Commun 405:314–318
73. Kaipainen A, Kieran MW, Huang S, Butterfield C, Bielenberg D, Mostoslavsky G, Mulligan R, Folkman J, Panigrahy D (2007) PPARalpha deficiency in inflammatory cells suppresses tumor growth. PLoS One 2:e260
74. Kalluri R (2009) EMT: when epithelial cells decide to become mesenchymal-like cells. J Clin Invest 119:1417–1419
75. Kalluri R, Zeisberg M (2006) Fibroblasts in cancer. Nat Rev Cancer 6:392–401
76. Kamper P, Bendix K, Hamilton-Dutoit S, Honore B, Nyengaard JR, d'Amore F (2011) Tumor-infiltrating macrophages correlate with adverse prognosis and Epstein-Barr virus status in classical Hodgkin's lymphoma. Haematologica 96:269–276
77. Karin M, Lin A (2002) NF-kappaB at the crossroads of life and death. Nat Immunol 3:221–227
78. Kasinski AL, Slack FJ (2010) Potential microRNA therapies targeting Ras, NFkappaB and p53 signaling. Curr Opin Mol Ther 12:147–157
79. Kerbel RS (2008) Tumor angiogenesis. N Engl J Med 358:2039–2049
80. Kim S (1993) Liposomes as carriers of cancer chemotherapy. Current status and future prospects. Drugs 46:618–638
81. Kong D, Park EJ, Stephen AG, Calvani M, Cardellina JH, Monks A, Fisher RJ, Shoemaker RH, Melillo G (2005) Echinomycin, a small-molecule inhibitor of hypoxia-inducible factor-1 DNA-binding activity. Cancer Res 65:9047–9055
82. Ku GY, Haaland BA, de Lima Lopes G (2012) Cetuximab in the first-line treatment of K-ras wild-type metastatic colorectal cancer: the choice and schedule of fluoropyrimidine matters. Cancer Chemother Pharmacol 70:231–238
83. Kubbutat MH, Jones SN, Vousden KH (1997) Regulation of p53 stability by Mdm2. Nature 387:299–303
84. Kumar A, Takada Y, Boriek AM, Aggarwal BB (2004) Nuclear factor-kappaB: its role in health and disease. J Mol Med (Berl) 82:434–448
85. Lane DP, Crawford LV (1979) T antigen is bound to a host protein in SV40-transformed cells. Nature 278:261–263
86. Lee H, Herrmann A, Deng JH, Kujawski M, Niu G, Li Z, Forman S, Jove R, Pardoll DM, Yu H (2009) Persistently activated Stat3 maintains constitutive NF-kappaB activity in tumors. Cancer Cell 15:283–293
87. Leen AM, Christin A, Khalil M, Weiss H, Gee AP, Brenner MK, Heslop HE, Rooney CM, Bollard CM (2008) Identification of hexon-specific CD4 and CD8 T-cell epitopes for vaccine and immunotherapy. J Virol 82:546–554
88. Levine AJ (1989) The p53 tumor suppressor gene and gene product. Princess Takamatsu Symp 20:221–230
89. Lewis CE, Pollard JW (2006) Distinct role of macrophages in different tumor microenvironments. Cancer Res 66:605–612
90. Linares LK, Hengstermann A, Ciechanover A, Muller S, Scheffner M (2003) HdmX stimulates Hdm2-mediated ubiquitination and degradation of p53. Proc Natl Acad Sci USA 100:12009–12014
91. Lu T, Sathe SS, Swiatkowski SM, Hampole CV, Stark GR (2004) Secretion of cytokines and growth factors as a general cause of constitutive NFkappaB activation in cancer. Oncogene 23:2138–2145

92. Lu-Emerson C, Norden AD, Drappatz J, Quant EC, Beroukhim R, Ciampa AS, Doherty LM, Lafrankie DC, Ruland S, Wen PY (2011) Retrospective study of dasatinib for recurrent glioblastoma after bevacizumab failure. J Neurooncol 104:287–291
93. Lyden D, Hattori K, Dias S, Costa C, Blaikie P, Butros L, Chadburn A, Heissig B, Marks W, Witte L, Wu Y, Hicklin D, Zhu Z, Hackett NR, Crystal RG, Moore MA, Hajjar KA, Manova K, Benezra R, Rafii S (2001) Impaired recruitment of bone-marrow-derived endothelial and hematopoietic precursor cells blocks tumor angiogenesis and growth. Nat Med 7:1194–1201
94. Ma WW, Adjei AA (2009) Novel agents on the horizon for cancer therapy. CA Cancer J Clin 59:111–137
95. Mabjeesh NJ, Post DE, Willard MT, Kaur B, Van Meir EG, Simons JW, Zhong H (2002) Geldanamycin induces degradation of hypoxia-inducible factor 1alpha protein via the proteosome pathway in prostate cancer cells. Cancer Res 62:2478–2482
96. Mantovani A, Cassatella MA, Costantini C, Jaillon S (2011) Neutrophils in the activation and regulation of innate and adaptive immunity. Nat Rev Immunol 11:519–531
97. Mercer WE, Avignolo C, Baserga R (1984) Role of the p53 protein in cell proliferation as studied by microinjection of monoclonal antibodies. Mol Cell Biol 4:276–281
98. Messner MC, Cabot MC (2011) Cytotoxic responses to N-(4-hydroxyphenyl) retinamide in human pancreatic cancer cells. Cancer Chemother Pharmacol 68:477–487
99. Miller RB, Reece G, Kroll SS, Chang D, Langstein H, Ziogas A, Robb G, Evans GR (2007) Microvascular breast reconstruction in the diabetic patient. Plast Reconstr Surg 119: 38–45; discussion 46–48
100. Milner BJ, Allan LA, Eccles DM, Kitchener HC, Leonard RC, Kelly KF, Parkin DE, Haites NE (1993) p53 mutation is a common genetic event in ovarian carcinoma. Cancer Res 53:2128–2132
101. Moll UM, Schramm LM (1998) p53–an acrobat in tumorigenesis. Crit Rev Oral Biol Med 9:23–37
102. Momand J, Zambetti GP, Olson DC, George D, Levine AJ (1992) The mdm-2 oncogene product forms a complex with the p53 protein and inhibits p53-mediated transactivation. Cell 69:1237–1245
103. Monti E, Gariboldi MB (2011) HIF-1 as a target for cancer chemotherapy, chemosensitization and chemoprevention. Curr Mol Pharmacol 4:62–77
104. Murdoch C, Muthana M, Coffelt SB, Lewis CE (2008) The role of myeloid cells in the promotion of tumour angiogenesis. Nat Rev Cancer 8:618–631
105. Naugler WE, Karin M (2008) The wolf in sheep's clothing: the role of interleukin-6 in immunity, inflammation and cancer. Trends Mol Med 14:109–119
106. Noonan DM, De Lerma Barbaro A, Vannini N, Mortara L, Albini A (2008) Inflammation, inflammatory cells and angiogenesis: decisions and indecisions. Cancer Metastasis Rev 27:31–40
107. Nozawa H, Chiu C, Hanahan D (2006) Infiltrating neutrophils mediate the initial angiogenic switch in a mouse model of multistage carcinogenesis. Proc Natl Acad Sci USA 103:12493–12498
108. Oikawa S, Yamada K, Yamashita N, Tada-Oikawa S, Kawanishi S (1999) N-acetylcysteine, a cancer chemopreventive agent, causes oxidative damage to cellular and isolated DNA. Carcinogenesis 20:1485–1490
109. Olivier M, Hollstein M, Hainaut P (2010) TP53 mutations in human cancers: origins, consequences, and clinical use. Cold Spring Harb Perspect Biol 2: a001008
110. Orimo A, Gupta PB, Sgroi DC, Arenzana-Seisdedos F, Delaunay T, Naeem R, Carey VJ, Richardson AL, Weinberg RA (2005) Stromal fibroblasts present in invasive human breast carcinomas promote tumor growth and angiogenesis through elevated SDF-1/CXCL12 secretion. Cell 121:335–348

111. Paez-Ribes M, Allen E, Hudock J, Takeda T, Okuyama H, Vinals F, Inoue M, Bergers G, Hanahan D, Casanovas O (2009) Antiangiogenic therapy elicits malignant progression of tumors to increased local invasion and distant metastasis. Cancer Cell 15:220–231
112. Perkins ND (2004) Regulation of NF-kappaB by atypical activators and tumour suppressors. Biochem Soc Trans 32:936–939
113. Pezzolo A, Parodi F, Corrias MV, Cinti R, Gambini C, Pistoia V (2007) Tumor origin of endothelial cells in human neuroblastoma. J Clin Oncol 25:376–383
114. Philip M, Rowley DA, Schreiber H (2004) Inflammation as a tumor promoter in cancer induction. Semin Cancer Biol 14:433–439
115. Pienta KJ, Nguyen NM, Lehr JE (1993) Treatment of prostate cancer in the rat with the synthetic retinoid fenretinide. Cancer Res 53:224–226
116. Pietras K, Ostman A (2010) Hallmarks of cancer: interactions with the tumor stroma. Exp Cell Res 316:1324–1331
117. Pietras K, Pahler J, Bergers G, Hanahan D (2008) Functions of paracrine PDGF signaling in the proangiogenic tumor stroma revealed by pharmacological targeting. PLoS Med 5:e19
118. Pollicita M, Muscoli C, Sgura A, Biasin A, Granato T, Masuelli L, Mollace V, Tanzarella C, Del Duca C, Rodino P, Perno CF, Aquaro S (2009) Apoptosis and telomeres shortening related to HIV-1 induced oxidative stress in an astrocytoma cell line. BMC Neurosci 10:51
119. Poppe JK (1964) Clinical Experiences with Acetylcysteine as a Mucolytic Agent. Dis Chest 46:66–69
120. Pore N, Gupta AK, Cerniglia GJ, Jiang Z, Bernhard EJ, Evans SM, Koch CJ, Hahn SM, Maity A (2006) Nelfinavir down-regulates hypoxia-inducible factor 1alpha and VEGF expression and increases tumor oxygenation: implications for radiotherapy. Cancer Res 66:9252–9259
121. Pucci F, Venneri MA, Biziato D, Nonis A, Moi D, Sica A, Di Serio C, Naldini L, De Palma M (2009) A distinguishing gene signature shared by tumor-infiltrating Tie2-expressing monocytes, blood "resident" monocytes, and embryonic macrophages suggests common functions and developmental relationships. Blood 114:901–914
122. Qian H, Wang T, Naumovski L, Lopez CD, Brachmann RK (2002) Groups of p53 target genes involved in specific p53 downstream effects cluster into different classes of DNA binding sites. Oncogene 21:7901–7911
123. Rak J, Klement G (2000) Impact of oncogenes and tumor suppressor genes on deregulation of hemostasis and angiogenesis in cancer. Cancer Metastasis Rev 19:93–96
124. Rak J, Yu JL, Kerbel RS, Coomber BL (2002) What do oncogenic mutations have to do with angiogenesis/vascular dependence of tumors? Cancer Res 62:1931–1934
125. Rasanen K, Vaheri A (2010) Activation of fibroblasts in cancer stroma. Exp Cell Res 316:2713–2722
126. Ravi R, Mookerjee B, Bhujwalla ZM, Sutter CH, Artemov D, Zeng Q, Dillehay LE, Madan A, Semenza GL, Bedi A (2000) Regulation of tumor angiogenesis by p53-induced degradation of hypoxia-inducible factor 1alpha. Genes Dev 14:34–44
127. Rayet B, Gelinas C (1999) Aberrant rel/nfkb genes and activity in human cancer. Oncogene 18:6938–6947
128. Raza A, Franklin MJ, Dudek AZ (2010) Pericytes and vessel maturation during tumor angiogenesis and metastasis. Am J Hematol 85:593–598
129. Sabichi AL, Lerner SP, Grossman HB, Lippman SM (1998) Retinoids in the chemoprevention of bladder cancer. Curr Opin Oncol 10:479–484
130. Sakamoto J, Kodaira S, Hamada C, Ito K, Maehara Y, Takagi H, Sugimachi K, Nakazato H, Ohashi Y (2001) An individual patient data meta-analysis of long supported adjuvant chemotherapy with oral carmofur in patients with curatively resected colorectal cancer. Oncol Rep 8:697–703
131. Scapini P, Morini M, Tecchio C, Minghelli S, Di Carlo E, Tanghetti E, Albini A, Lowell C, Berton G, Noonan DM, Cassatella MA (2004) CXCL1/macrophage inflammatory protein-2-

induced angiogenesis in vivo is mediated by neutrophil-derived vascular endothelial growth factor-A. J Immunol 172:5034–5040
132. Secchiero P, Corallini F, Gonelli A, Dell'Eva R, Vitale M, Capitani S, Albini A, Zauli G (2007) Antiangiogenic activity of the MDM2 antagonist nutlin-3. Circ Res 100:61–69
133. Semenza GL (2010) Vascular responses to hypoxia and ischemia. Arterioscler Thromb Vasc Biol 30:648–52
134. Sen R, Baltimore D (1986) Inducibility of kappa immunoglobulin enhancer-binding protein Nf-kappa B by a posttranslational mechanism. Cell 47:921–928
135. Senftleben U, Cao Y, Xiao G, Greten FR, Krahn G, Bonizzi G, Chen Y, Hu Y, Fong A, Sun SC, Karin M (2001) Activation by IKKalpha of a second, evolutionary conserved, NF-kappa B signaling pathway. Science 293:1495–1499
136. Sharpless NE, DePinho RA (2002) p53: good cop/bad cop. Cell 110:9–12
137. Shuai K, Horvath CM, Huang LH, Qureshi SA, Cowburn D, Darnell JE Jr (1994) Interferon activation of the transcription factor Stat91 involves dimerization through SH2-phosphotyrosyl peptide interactions. Cell 76:821–828
138. Sogno I, Vene R, Ferrari N, De Censi A, Imperatori A, Noonan DM, Tosetti F, Albini A (2010) Angioprevention with fenretinide: targeting angiogenesis in prevention and therapeutic strategies. Crit Rev Oncol Hematol 75:2–14
139. Sogno I, Vene R, Sapienza C, Ferrari N, Tosetti F, Albini A (2009) Anti-angiogenic properties of chemopreventive drugs: fenretinide as a prototype. Recent Results Cancer Res 181:71–76
140. Sohur US, Dixit MN, Chen CL, Byrom MW, Kerr LA (1999) Rel/NF-kappaB represses bcl-2 transcription in pro-B lymphocytes. Gene Expr 8:219–229
141. Solinas G, Germano G, Mantovani A, Allavena P (2009) Tumor-associated macrophages (TAM) as major players of the cancer-related inflammation. J Leukoc Biol 86:1065–1073
142. Sparmann A, Bar-Sagi D (2004) Ras-induced interleukin-8 expression plays a critical role in tumor growth and angiogenesis. Cancer Cell 6:447–458
143. Staab A, Loeffler J, Said HM, Diehlmann D, Katzer A, Beyer M, Fleischer M, Schwab F, Baier K, Einsele H, Flentje M, Vordermark D (2007) Effects of HIF-1 inhibition by chetomin on hypoxia-related transcription and radiosensitivity in HT 1080 human fibrosarcoma cells. BMC Cancer 7:213
144. Steeghs N, Nortier JW, Gelderblom H (2007) Small molecule tyrosine kinase inhibitors in the treatment of solid tumors: an update of recent developments. Ann Surg Oncol 14:942–953
145. Stein RC (2001) Prospects for phosphoinositide 3-kinase inhibition as a cancer treatment. Endocr Relat Cancer 8:237–248
146. Streubel B, Chott A, Huber D, Exner M, Jager U, Wagner O, Schwarzinger I (2004) Lymphoma-specific genetic aberrations in microvascular endothelial cells in B-cell lymphomas. N Engl J Med 351:250–259
147. Sun Y, Chen J, Rigas B (2009) Chemopreventive agents induce oxidative stress in cancer cells leading to COX-2 overexpression and COX-2-independent cell death. Carcinogenesis 30:93–100
148. Takeda K, Kamanaka M, Tanaka T, Kishimoto T, Akira S (1996) Impaired IL-13-mediated functions of macrophages in STAT6-deficient mice. J Immunol 157:3220–3222
149. Tazzyman S, Lewis CE, Murdoch C (2009) Neutrophils: key mediators of tumour angiogenesis. Int J Exp Pathol 90:222–231
150. Teodoro JG, Evans SK, Green MR (2007) Inhibition of tumor angiogenesis by p53: a new role for the guardian of the genome. J Mol Med (Berl) 85:1175–1186
151. Teodoro JG, Parker AE, Zhu X, Green MR (2006) p53-mediated inhibition of angiogenesis through up-regulation of a collagen prolyl hydroxylase. Science 313:968–971
152. Tergaonkar V (2009) p53 and NFkappaB: fresh breath in the cross talk. Cell Res 19:1313–1315

153. Tosetti F, Ferrari N, De Flora S, Albini A (2002) Angioprevention': angiogenesis is a common and key target for cancer chemopreventive agents. Faseb J 16:2–14
154. Tosetti F, Vene R, Arena G, Morini M, Minghelli S, Noonan DM, Albini A (2003) N-(4-hydroxyphenyl) retinamide inhibits retinoblastoma growth through reactive oxygen species-mediated cell death. Mol Pharmacol 63:565–573
155. Ulanet DB, Hanahan D (2010) Loss of p19 (Arf) facilitates the angiogenic switch and tumor initiation in a multi-stage cancer model via p53-dependent and independent mechanisms. PLoS One 5:e12454
156. van Zandwijk N, Dalesio O, Pastorino U, de Vries N, van Tinteren H (2000) EUROSCAN, a randomized trial of vitamin A and N-acetylcysteine in patients with head and neck cancer or lung cancer. For the European organization for research and treatment of cancer head and neck and lung cancer cooperative groups. J Natl Cancer Inst 92:977–986
157. Vassilev LT (2004) Small-molecule antagonists of p53-MDM2 binding: research tools and potential therapeutics. Cell Cycle 3:419–421
158. Veltman JD, Lambers ME, van Nimwegen M, Hendriks RW, Hoogsteden HC, Hegmans JP, Aerts JG (2010) Zoledronic acid impairs myeloid differentiation to tumour-associated macrophages in mesothelioma. Br J Cancer 103:629–641
159. Vene R, Arena G, Poggi A, D'Arrigo C, Mormino M, Noonan DM, Albini A, Tosetti F (2007) Novel cell death pathways induced by N-(4-hydroxyphenyl) retinamide: therapeutic implications. Mol Cancer Ther 6:286–298
160. Venugopal D, Zahid M, Mailander PC, Meza JL, Rogan EG, Cavalieri EL, Chakravarti D (2008) Reduction of estrogen-induced transformation of mouse mammary epithelial cells by N-acetylcysteine. J Steroid Biochem Mol Biol 109:22–30
161. Vousden KH, Lu X (2002) Live or let die: the cell's response to p53. Nat Rev Cancer 2:594–604
162. Vousden KH, Ryan KM (2009) p53 and metabolism. Nat Rev Cancer 9:691–700
163. Walkley CR, Olsen GH, Dworkin S, Fabb SA, Swann J, McArthur GA, Westmoreland SV, Chambon P, Scadden DT, Purton LE (2007) A microenvironment-induced myeloproliferative syndrome caused by retinoic acid receptor gamma deficiency. Cell 129:1097–1110
164. Walkley CR, Shea JM, Sims NA, Purton LE, Orkin SH (2007) Rb regulates interactions between hematopoietic stem cells and their bone marrow microenvironment. Cell 129:1081–1095
165. Wang L, Zheng GG, Ma CH, Lin YM, Zhang HY, Ma YY, Chong JH, Wu KF (2008) A special linker between macrophage and hematopoietic malignant cells: membrane form of macrophage colony-stimulating factor. Cancer Res 68:5639–5647
166. Welte T, Zhang SS, Wang T, Zhang Z, Hesslein DG, Yin Z, Kano A, Iwamoto Y, Li E, Craft JE, Bothwell AL, Fikrig E, Koni PA, Flavell RA, Fu XY (2003) STAT3 deletion during hematopoiesis causes Crohn's disease-like pathogenesis and lethality: a critical role of STAT3 in innate immunity. Proc Natl Acad Sci USA 100:1879–1884
167. Wilhelm SM, Adnane L, Newell P, Villanueva A, Llovet JM, Lynch M (2008) Preclinical overview of sorafenib, a multikinase inhibitor that targets both Raf and VEGF and PDGF receptor tyrosine kinase signaling. Mol Cancer Ther 7:3129–3140
168. Wisniewski T, Bayne E, Flanagan J, Shao Q, Wnek R, Matheravidathu S, Fischer P, Forrest MJ, Peterson L, Song X, Yang L, Demartino JA, Struthers M (2010) Assessment of chemokine receptor function on monocytes in whole blood: In vitro and ex vivo evaluations of a CCR2 antagonist. J Immunol Methods 352:101–110
169. Wu X, Bayle JH, Olson D, Levine AJ (1993) The p53-mdm-2 autoregulatory feedback loop. Genes Dev 7:1126–1132
170. Xian X, Hakansson J, Stahlberg A, Lindblom P, Betsholtz C, Gerhardt H, Semb H (2006) Pericytes limit tumor cell metastasis. J Clin Invest 116:642–651

171. Xiao ZL, Sun GY, Xia QM, Qian GS (2001) Experimental research on permeability injury of pulmonary microvascular endothelial cells monolayer induced by tumor necrosis factor. Zhongguo Ying Yong Sheng Li Xue Za Zhi 17:79–81
172. Xing F, Saidou J, Watabe K (2010) Cancer associated fibroblasts (CAFs) in tumor microenvironment. Front Biosci 15:166–179
173. Xue W, Zender L, Miething C, Dickins RA, Hernando E, Krizhanovsky V, Cordon-Cardo C, Lowe SW (2007) Senescence and tumour clearance is triggered by p53 restoration in murine liver carcinomas. Nature 445:656–660
174. Yamakuchi M, Lotterman CD, Bao C, Hruban RH, Karim B, Mendell JT, Huso D, Lowenstein CJ P53-induced microRNA-107 inhibits HIF-1 and tumor angiogenesis. Proc Natl Acad Sci U S A 107: 6334-9
175. Yang G, Yu F, Fu H, Lu F, Huang B, Bai L, Zhao Z, Yao L, Lu Z (2007) Identification of the distinct promoters for the two transcripts of apoptosis related protein 3 and their transcriptional regulation by NFAT and NFkappaB. Mol Cell Biochem 302:187–194
176. Yang H, Bushue N, Bu P, Wan YJ (2010) Induction and intracellular localization of Nur77 dictate fenretinide-induced apoptosis of human liver cancer cells. Biochem Pharmacol 79:948–954
177. Yu CL, Meyer DJ, Campbell GS, Larner AC, Carter-Su C, Schwartz J, Jove R (1995) Enhanced DNA-binding activity of a Stat3-related protein in cells transformed by the Src oncoprotein. Science 269:81–83
178. Yu H, Pardoll D, Jove R (2009) STATs in cancer inflammation and immunity: a leading role for STAT3. Nat Rev Cancer 9:798–809
179. Zafarullah M, Li WQ, Sylvester J, Ahmad M (2003) Molecular mechanisms of N-acetylcysteine actions. Cell Mol Life Sci 60:6–20
180. Zhang Q, Zhang ZF, Rao JY, Sato JD, Brown J, Messadi DV, Le AD (2004) Treatment with siRNA and antisense oligonucleotides targeted to HIF-1alpha induced apoptosis in human tongue squamous cell carcinomas. Int J Cancer 111:849–857
181. Zhong Z, Wen Z, Darnell JE Jr (1994) Stat3: a STAT family member activated by tyrosine phosphorylation in response to epidermal growth factor and interleukin-6. Science 264:95–98
182. Zhu X, Fujita M, Snyder LA, Okada H (2011) Systemic delivery of neutralizing antibody targeting CCL2 for glioma therapy. J Neurooncol 104:83–92

DNA Hasarının Önlenmesinde, Telomer Bütünlüğünün Korunmasında ve Kanser Büyümesinin Kontrolünde Nutriomlar ve Bireyselleştirilmiş Beslenme

Michael F. Fenech

Özet

Baz sekans ve kromozom düzeyindeki DNA hasarı gelişimsel ve dejeneratif hastalıkların temel nedenlerinden biridir. Multipl mikrobesinler ve bunların genetik ve/veya edinsel genom ile etkileşimleri DNA hasarının ve genomik instabilite oranlarını belirler. Aşılması gereken ana zorluk her birey için genom stabilitesini optimize edebilecek (telomer bütünlüğü ve fonksiyonelliği ile DNA tamiri dahil) mikrobesin kombinasyonlarının ve dozlarının (örn. nutriom) belirlenmesidir. Nutrient (besin öğesi) dizilim sistemleri ile birlikte DNA hasarı, hücre ölümü ve hücre büyümesinin geniş içerikli analizlerinin kullanımı, DNA hasar kontrolü ve kanser büyüme kontrolü için gereken optimal nutriomun bireysel bazda tespit edilmesine olanak tanır. Bu bilgi terapötiklerde kullanılan hücrelerin kültür sistemlerin geliştirilmesi için de kullanılabilir. Kök hücrelerinin vücuda uygulanmadan önce genetik olarak anormal olmadıklarının tespiti bu kullanıma bir örnektir. Bu bilgiler ayrıca mikrobesin eksikliğine veya fazlalığına bağlı DNA hasarının engellenebilmesi için gereken mikrobesin kombinasyon ve konsantrasyonlarına sahip diyet paternlerinin dizayn edilmesi için de kullanılabilir. Bu yaklaşım ile spesifik kanser türlerinin kontrol edilebilmesi için gereken diyet kısıtlamaları ve/veya takviyeleri hakkında yeni bilgiler elde edilebilir. Bu yaklaşım kanser teşhisi alan bireyler için güvenilir ve valide önerilerin henüz mevcut olmadığı göz önüne alındığında özel olarak önemlidir.

M. F. Fenech (✉)
CSIRO Food and Nutritional Sciences, 10041 Adelaide BC, SA 5000, Australia
e-mail: michael.fenech@csiro.au

V. Zappia et al. (eds.), *Advances in Nutrition and Cancer,*
Cancer Treatment and Research 159, DOI: 10.1007/978-3-642-38007-5_24,
© Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2014

Anahtar Kelimeler

Nutriomlar • DNA hasarı • Telomer • Genom stabilitesi • Bireyselleştirilmiş beslenme

Kısaltmalar

MRI	Manyetik rezonans görüntleme
TRF1; TRF2	Telomerik-tekrar bağlayıcı faktörler 1 ve 2
MTHFR	Metilentetrahidrofolat redüktaz
ADH1	Alkol dehidrogenaz
ALDH2	Aldehit dehidrogenaz
CBMN Cyt	Sitokinez-bloke mikronükleus sitom
MTAP	Metiltioadenozin fosforilaz

İçindekiler

1 Arkaplan ve Güncel Durum 428
2 İn Vivo Ortamda Nutriomlar, DNA Hasarı ve Telomer Koruma 429
3 Nütrisyonel İhtiyaçlar ve Doku Kültür Sistemlerindeki Bilgi Eksiklikleri 432
4 Nutriomların Nutrient Dizilerinde Test Edilmesi 434
5 Kanser Büyümesinin Kontrolü İçin Nutrient Kısıtlaması 436
6 Sonuçlar 438
Referanslar 438

1 Arka Plan ve Güncel Durum

Baz sekans ve kromozom düzeyindeki DNA hasarı gelişimsel ve dejeneratif hastalıkların temel nedenlerinden biridir (yaşlanma hızlanması dahil) ve bu hastalıkların prospektif olarak tahmin edilebilmesini sağlar [1-3]. Genom bütünlüğünde rol oynayan yüzlerce gen mevcuttur. Bireyler arasında enzim aktivitelerinin farklı olmasına yol açan polimorfizmlerde büyük kişisel farklılıklar mevcuttur [4-8]. DNA replikasyonu, DNA tamiri ve potansiyel genotoksinlerin detoksifikasyonunda rol oynayan genler için gerekli olan proteinlerin optimal fonksiyon gösterebilmeleri diyetle alınan önemli kofaktörlere bağlıdır [9-24]. Bireyler arasındaki diyet profilleri edinilmiş veya ailesel diyet tercihlerine ve gıdaların mevcudiyet durumuna göre değişmektedir; ayrıca mikrobesinlerin sindirim sisteminde reabsorbe olmaları ve hücrelere taşınmaları genetik özelliklere ve taşıyıcı ekspresyonunda yaşa bağlı olarak ortaya çıkan değişimlere bağlıdır [25-27]. İn vivo ortamda genomun korunması için gereken nütrisyonel faktörler büyük farklılıklar gösterir. Aynı durum, in vitro ortamda kullanılan farklı kültür ortamları içinde geçerlidir [28-29]. Genom bütünlüğünün in vitro ortamda korunması özellikle uzun süreli hücre

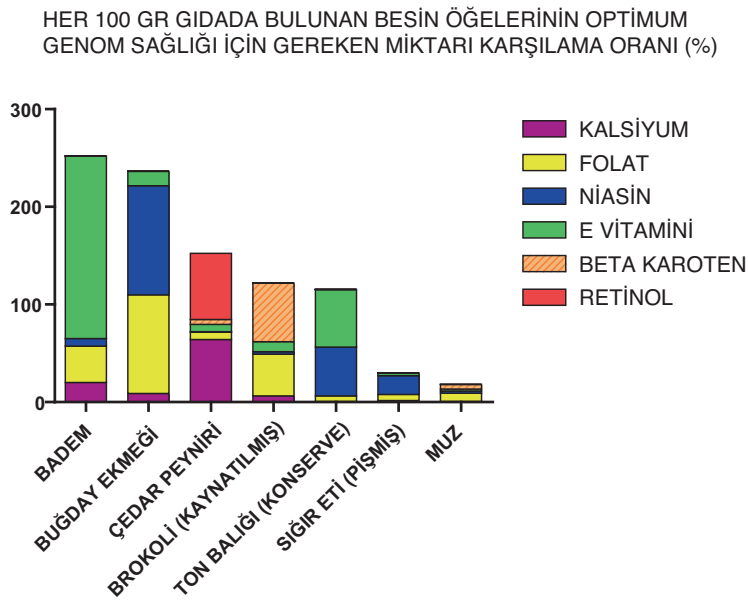
kültürleri (örn. kök hücreler) için kritik öneme sahiptir. Bireyden alınan bu hücreler kültür ortamında çoğaltıldıktan sonra medikal tedavi amaçlı olarak orijinal donöre veya diğer hastalara uygulanır. İn vitro ortamda oluşabilecek DNA hasarı kök hücrelerinde onkojenik olayların gelişimine neden olabilir [30, 31]. Günümüzdeki diyet referans değerleri (örn. tavsiye edilen günlük tüketim miktarları, üst güvenlik sınırları) ve kültür ortamlarının içerikleri ve özellikleri, genom bütünlüğü üzerindeki etkileri dikkate almamaktadır. DNA sekans ve/veya epigenom hasarı hala hücrelerin ve organizmaların sağlıkları ve hastalıkları ile ilişkili en temel ve kritik patolojilerdir.

2 İn Vivo Ortamda Nutriomlar, DNA Hasarı ve Telomer Koruma

Gıdaların tüketim sıklığını sorgulayan anketleri ve DNA hasarının [1] en iyi valide edilmiş biyomarkerlerinden biri olan sitokinez-bloke mikronükleus analizini kullanarak kromozom kırılması veya kaybı ile ilişkili dokuz mikrobesini belirlemeyi başardık. Diyetle alınan E vitamini, folat, retinol ve nikotinik asit tüketimlerinin artması DNA hasarında azalma ile ilişkili bulunurken, riboflavin, pantotenik asit ve biyotin tüketimlerinin artması daha yüksek DNA hasarına neden olmuştur. Beta-karotenin orta derece kullanımının faydalı ancak aşırı tüketimin zararlı olabileceğini gösteren U şekilli bir ilişki tespit edilmiştir [32]. Ayrıca bu faktörlerin kendi aralarında da interaktif etkileşimler olduğu tespit edilmiştir.

Bu çalışmaların sonuçları kullanılarak, DNA hasarının önlenmesine yönelik olarak E vitamini, kalsiyum, folat, retinol, beta karoten ve nikotinik asitten oluşan gıdaların nutriom içeriklerinin şekil 1'de gösterildiği üzere sınıflandırılması mümkündür. Bu sınıflandırmadan sığır eti ve muzun, genom koruyucu nutriom içeriği yönünden badem, buğday kepeği, peynir, brokoli ve ton balığına göre daha fakir olduğu anlaşılmaktadır. Nutriomların bu yaklaşımla incelenmesi, genom düzeyindeki başlıca patolojilere karşı en iyi koruma sağlayan gıdaların ve diyet paternlerinin belirlenmesinde daha etkili bir yöntem olabilir. En önemli komponentlerin analiz edildiği güncel bir çalışmada, plazma nutriomlarının kognitif fonksiyonlarda ve beyin MRI bulgularında düzelmelere yol açtığı ilk kez bildirilmiştir [33]. Benzer yaklaşımlar DNA hasarı ve kanserden korunma ile ilişkili besin öğelerinin biyomarker paternlerinin tanımlanmasında da kullanılabilir.

Bu yolla elde edilecek daha detaylı bilgiler optimal sağlık için uyulması gereken diyet tavsiyelerinin mükemmelleştirilmesine yardımcı olabilir. Örneğin en güncel WHO/FAO raporunda kalp hastalığı, kanser, diyabet ve obeziteden korunmak ve özellikle az gelişmiş ülkelerdeki mikrobesin eksikliklerini engellemek ve mevcut eksiklikleri düzeltebilmek amacıyla günde en az 400 gr. sebze ve meyve tüketimi önerilmektedir [34]. Tablo 1'deki genom bütünlüğü ve normal fetal gelişim için başlıca mikrobesinlerden biri olan folat örneğine bakıldığında bu önerinin yanlış yönlendirici olma ihtimali ortaya çıkmaktadır [35, 36]. Başlıca dört sebze tipi mevcuttur. Meyveler bu sebze tiplerinden



Şekil 1 Sık kullanılan bazı gıdalardaki DNA hasarında azalma ile ilişkili mikrobesinler. Farklı besinleri gösteren sütunların içindeki mikrobesinlerin günlük tavsiye edilen minimum alım miktarını karşılama yüzdeleri Fenech ve ark. tarafından yapılan çalışmada lenfositlerde azalan mikronükleus sıklık indeksi kullanılarak tespit edilmiştir [32]. Her mikrobesinin (mevcut ise) rölatif katkısı farklı renklerdeki sütunların yüksekliği ile gösterilmektedir. Besin öğesi içerikleri USDA Nutrient Veri Tabanı (http://www.nal.usda.gov/fnic/foodcomp/search/) ile McCance ve Widdowson Kompozisyonu (6. Özet Baskı) gibi gıda içerik tabloları kullanılarak belirlenmiştir.

bir tanesidir. Seçilen veya tercih edilen sebzeler içerdikleri folat miktarı veya günlük tüketim ihtiyacını karşılama oranları büyük farklılıklar göstermektedir. Yüksek folat içerikli sebzelerin (örn. baklagiller ve/veya yeşil yapraklı veya turpgiller ailesine ait sebzeler) günde 400 gr tüketilmeleri (günlük 400 µg'lık folat ihtiyacının karşılanabilmesi için) yeterlidir. Ancak kök veya yumru sebzelerin veya "meyve sebzelerin" tercih edilmesi durumunda tüketilmesi gereken miktar pratikte imkansız ve çok pahalı olan 2.5 kg'a yükselmektedir. Ayrıca meyvelerin içindeki folat miktarı kök ve yumru sebzelerin yarısından daha azdır. Tek başına bu örnek bile güncel tavsiyelerin, folat gibi önemli mikrobesinlerin alımının etkili bir şekilde maksimize edilmesinde yetersiz kaldığını göstermektedir. Acil olarak baklagiller ve taneli tahıllar gibi nutrient yönünden zengin olan gıdalara ve genom bütünlüğünün korunmasında etkili kombinasyonlara odaklanan daha kesin tavsiyelere ihtiyaç vardır.

Telomer, genomik ile uğraşan bilim adamlarının giderek daha fazla ilgisini çeken genom bölgesidir. Kromozomların uçlarında bulunan başlıklar olan telomerler TTAGGG tandem tekrar sekanslarıdır. İlişkili oldukları shelterin proteinleri (örn. TRF1 ve TRF2) ile birlikte disentrik kromozomların, anafaz köprülerinin, kromozom

kırığı döngülerinin ve başlıksız kromozomların ortaya çıkmasına bağlı olarak daha ileri füzyonların oluşumuna yol açan kromozom uçlarının füzyonunu engellerler. Bu kırılma-füzyon-köprü döngüsü aşırı telomer kısalması ve/veya telomer/telozom kompleksinin disfonksiyonundan kaynaklanır [37, 38]. Nütrisyon şu nedenlerle muhtemel koruyucu rol oynayabilir: (1) Telomer sekansındaki guaninin oksidasyonu telomer stabilitesi ve fonksiyonu için gereken TRF1 ve TRF2 bağlanmasını engelleyebilir. Guanin oksidasyonu diyetle uygun antioksidan alımı ile engellenebilir; (2) Telomer sekansında urasil akümülasyonuna engel olmak için folat gereklidir. Urasil birikimi telomer ve subtelomerde kırıklara neden olarak telomer silinmeleri ve kaybına yol açarken, subtelomer hipometilasyonu ise telomer uzunluk kontrolünün kaybına ve disfonksiyonuna yol açar; (3) Niasin, tankiraz aktivitesi için NAD sağlanmasında gereklidir. Bu aktivite telomerazın, telomeri korunma işlevini yerine getirebilmesi için gereklidir [39, 40].

İn vivo çalışmalarda folat, D vitamini, omega 3 yağ asitleri, multivitamin kullanımı, kalori kısıtlaması ile kilo kaybı ve tahıl lifinin daha uzun telomerler ile ilişkili olduğu bulunmuştur. Oksidatif stres, yüksek plazma homosisteini, işlenmiş et, lineolik asit, psikolojik stres ve obezite ise daha kısa telomerlerle ilişkilidir [41, 47]. Bu sonuçların büyük bölümü tekil çalışmalardan elde edildiği için anlamlılık dereceleri netleşmemiştir. Telomer kısalmasının sağlıksız yaşlanma ile ilişkisi aşırı uzun ve aşırı kısa telomerlerin kanser riski ile ilişkili olduğu göz önüne alınarak araştırılmıştır [48].

Tablo 1 Sebzelerin folat içerikleri (Her 100gr'da µg olarak diyet folat eşdeğeri)[a]

Yüksek folat içeren sebzeler		Düşük folat içeren sebzeler	
Baklagiller	Yeşil yapraklı sebzeler veya turpgiller	Kökler veya yumrular	"Meyve" sebzeler
Kırmızı barbunya (130)	Brokoli (93)	Soğan (16)	Domates (15)
Maş fasulyesi (60)	Brüksel lahanası (60)	Patates (22)	Bal kabağı (9)
Bezelye (171)	Lahana (43)	Turp (9)	Salatalık (6)
Mercimek (180)	Hindiba (142)	Yabani havuç (57)	Kırmızı biber (11)
Nohut (59)	Ispanak (146)	Şalgam (21)	Patlıcan (14)
Kuru fasulye (50)	Marul (73)	Havuç (14)	Zeytin (0)
Ortalama (108)	Ortalama (93)	Ortalama (23)	Ortalama (10)
	Ortalama (100)		Ortalama (16)

[a]Veriler USDA Nutrient Veri Tabanı (http://www.nal.usda.gov/fnic/foodcomp/search/) Diyet folat eşdeğeri değerleri parantez içinde gösterilmiştir.

3 Nütrisyonel İhtiyaçlar ve Doku Kültür Sistemlerindeki Bilgi Eksiklikleri

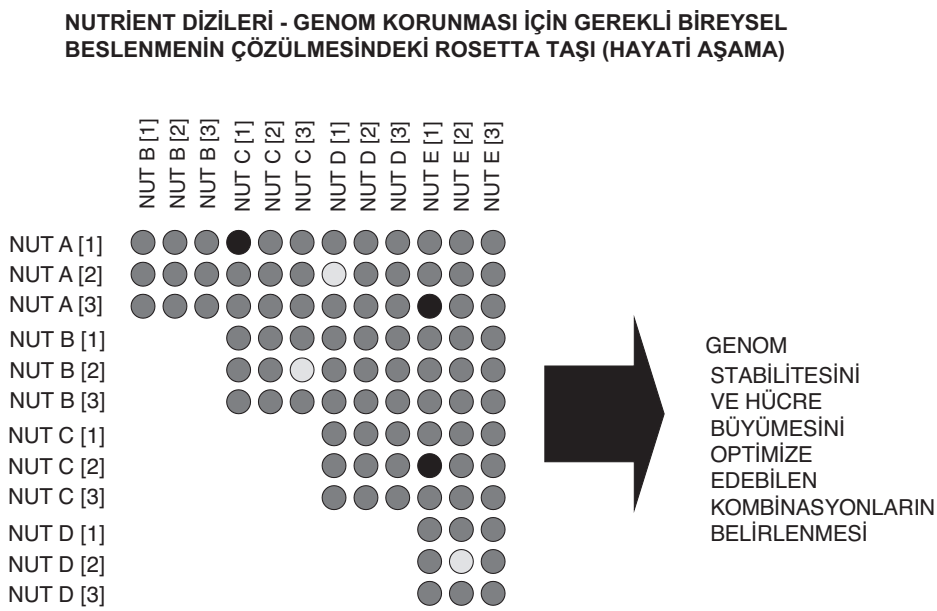
Doku kültüründeki önemli problemlerden bir tanesi hem kültür ortamı hem de oksijen basıncının fizyolojik koşullardan uzak olmasıdır. Her iki faktör de hücre büyümesinde ve kromozomal instabilite düzeylerinde önemli etkilere sahiptir. Örneğin farklı kültür ortamları mineral ve vitamin içerikleri yönünden büyük farklara sahip olup insan serumuna kıyasla da sıklıkla suprafizyolojik ya da normalden düşük konsantrasyonlarda bulunmaktadırlar. RPMI 1640 kültür ortamı insan hücrelerinin kültüründe en sık kullanılan ortamlardandır. Kültürdeki folat, metionin ve riboflavin konsantrasyonları insan serumuna göre suprafizyolojik düzeylerde iken, demir, bakır, çinko, magnezyum ve sülfür oranları ise normalden düşüktür (Tablo 2). Kültür ortamındaki bazı eksiklikler sadece %5-10 oranında eklenen fetal sığır serumu ile kısmen giderilebilir. Ancak kültürde eksik olan ya da hiç olmayan mikrobesinler hala istenilen düzeye gelmeyebilir. Günümüzde kullanılan kültür ortamlarının insan serumuna kıyasla fizyolojik olmadıkları açıktır Bu nedenle in vitro çalışmalardan elde edilen veriler in vivo tahminler yapmak için kullanılacağında dikkatli olunmalıdır. Bu tür tahminler yapmak sadece insan serumuna ve diğer vücut sıvıların (örn. serebrospinal sıvı, interstisyel sıvı) eşdeğer kompozisyona ve oksijen basıncına sahip fizyolojik kültür ortamları geliştirildiğinde makul hale gelecektir. Fizyolojik oksijen basıncı hücre kültür inkübatörlerinde kullanılan atmosferik oksijene göre 2-4 kat daha azdır. Fizyolojik oksijen şartlarında büyüyen hücrelerin daha az oksidatif strese maruz kaldıkları ve atmosferik oksijen inkübatörlerindeki hücrelere göre paradoksik olarak daha yavaş büyüdükleri gösterilmiştir [49, 50]. Daha hızlı büyüme daha iyi genom stabilitesine yol açmayabilir. Çünkü hızlı büyüme, hücre döngüsü kontrol noktalarının izin vermesi ile hücre döngü zamanında kısalmalara ve/veya DNA hasarı olan hücrelerin apoptozunda azalmalara yol açar. Biz ve diğer yazarlar kültür hücrelerindeki DNA hasarının, hücre ölümünün ve büyümesinin önemli mikrobesinlerin konsantrasyonlarından ciddi oranda etkilendiğini göstermiştir. Fizyolojik sınırlara göre hem daha fazla hem de daha az konsantrasyon genoma zarar vererek hücre büyümesi ve sağkalım kinetiklerini değiştirebilmektedir [23, 28, 29, 51–54]. Kültür ortamlarındaki metil donörlerinin (örn. folat, metionin, kolin, b12 vitamini) aşırı yüksek konsantrasyonları teorik olarak advers DNA metilasyon paternine yol açarak, önemli idareci genlerin sessizleşmesine neden olabilir. Ancak bu teoriyi desteklemesi beklenen güçlü kanıtlar henüz mevcut değildir [55]. Genomun korunması ve tamiri için gereken geniş mikrobesin spektrumu göz önüne alındığında, fizyolojik kültür ortamı kompozisyonunun geliştirilmesi, genomik olarak stabil durumda olan insan hücrelerinin büyüyebilmesi için optimal kültür şartlarının sağlanması ve farklı mikrobesin kombinasyonlarının (örn. nutriomlar) ve farklı genetik altyapılardaki dozajların etkilerinin incelenebilmesi için şarttır. Bu gelişmeler in vitro verilerin bireysel bazda in vivo etkilerin tahmin edilmesinde kullanılacağı durumlar için de kritiktir. Bu bağlamda, in vitro ortamda ulaşılabilen

Tablo 2 İnsan serum örneği ile normal komple RPMI 1640 kültür ortamındaki bazı mikrobesinlerin konsantrasyonlarının karşılaştırması (daha önce yayınlanmamış veriler)

Mikrobesinler	Konsantrasyon	İnsan serumu	RPMI 1640 kültür ortamı
Folat	μmol/L	0.028	2.3
Metionin	μmol/L	30	100
Riboflavin	μmol/L	0.05	0.53
Demir	mg/L	0.84	0.19
Bakır	mg/L	1.4	<0.1
Çinko	mg/L	0.94	0.17
Kalsiyum	mg/L	98	26
Magnezyum	mg/L	20	11
Sodyum	mg/L	3,400	3,200
Potasyum	mg/L	154	200
Fosfor	mg/L	121	174
Sülfür	mg/L	1,110	64

mikrobesin konsantrasyonlarına in vivo ortamda dokulardaki yeniden dağılım nedeniyle ulaşılamayacağı dikkate alınmalıdır. Ayrıca vücut sıvıları dikkate alındığında kan plazmasındaki mikrobesin konsantrasyonları hakkında oldukça iyi bilgilere sahibiz. Ancak organların çevreleyen interstisyel sıvı (örn. serebrospinal sıvı) ve dokulardaki konsantrasyonlarla ilgili bilgilerimiz oldukça yetersizdir. Hem fizyolojik hem de suprafizyolojik olarak en uygun sınırları göz önünde bulundurmalıyız. Ancak sadece in vivo ortamda ulaşılabilen "fizyolojik doz aralıklarını" in vitro modellerin in vivo tahmininde kullanabiliriz.

In vitro ve in vivo hücre sağlığı ile ilgili genom ve epigenom hasar parametrelerinin mikrobesin konsantrasyonlarındaki değişimlere "normal" fizyolojik sınırlarda bile son derece duyarlı oldukları giderek daha fazla kabul görmektedir [23, 28, 29, 52, 55, 56]. Bu nedenle diyet referans değerlerinin DNA hasarını minimize edebilecek doku konsantrasyonlarına ulaşılmasını sağlayacak şekilde yeniden gözden geçirilmesi pratik, makul ve arzu edilen bir durumdur. DNA hasarının validasyon statüsü ile ilgili detaylı bir inceleme, malnütrisyonun genomik etkilerini ölçen biyomarkerler ve optimal gen koruması için gereken nutrient ve nutriom gerekliliklerinin belirlenmesinde kullanılabilecek bir yol haritası için Fenech çalışmasına başvurabilirsiniz [1, 18].



Şekil 2 Basit nutrient dizilerinin mikrokültür sistemi için teorik bir örnek NUT = tek nutrient veya multipl nutrient kombinasyonu; A-E = farklı nutrient veya nutrient kombinasyonları; 1-3= artan doz düzeyleri. Farklı gri tonları, kullanılan kombinasyona bağlı olarak ortaya çıkabilen hücre büyümesi, canlılığı ve genom stabilitesindeki potansiyel varyasyonların göstergesidir. Buradaki en önemli zorluk her birey için en iyi kombinasyonun tanımlanmasıdır.

4 Nutriomların Nutrient Dizilerinde Test Edilmesi

Nütrisyonel genomik ile ilgili en büyük zorluk indirgeyici tek-nutrient-tek-gen etkileşimi yaklaşımından komple nutrient kombinasyonunun (örn. nutriom) bireysel bazda bir bireyin tüm genomu ile etkileşiminin incelenmesidir. Nihai hedef her bireyin genomuna en uygun nutriomu bulmaktır. Böylece hücresel fonksiyon, genom ve epigenomun optimal bir biçimde sürdürülebilmesi sağlanabilecektir. Bu bulmacayı çözebilmek için gereken "Rosetta Taşı" (mekanizma veya kod) mikrokültür sistemleri içinde nutrient dizileri geliştirmektir. Böylece multipl nutriomlar eş zamanlı olarak test edilirken, farklı dozajların etkileri de değerlendirilmiş olur (Şekil 2). Hücre üreten mikrokuyucuk uygun ve tutarlı bir şekilde prolifere olurken genom ve epigenom stabilitesinin korunması ile bireyin hücrelerine en uygun nutriomun tespit edilmesi mümkün olacaktır. Geniş içerikli otomatikleştirilmiş DNA hasar analizlerinin geliştirilebilmesi kantitatif görüntü sitometrisi kullanımı ile uygulanabilir hale gelmiştir [57-60]. Bu yöntem interfaz hücrelerin sayıları ve nükleer DNA içeriklerini de kapsayan multipl ölçütler içerebilir. Genom

stabilitesi ile ilgili telomer uzunluğu ve FISH ile aneuploidi ölçümü gibi multipl ölçütler, immunohistokimyasal yöntemlerle oksidize guanin ve DNA metilasyonu tespiti, sitokinez bloke çift çekirdekli hücrelerde mikronükleus sitom testleri ile kromozom hasarı ve telomer uç füzyonları gibi ölçütler ve daha birçok ölçüt örnek olarak verilebilir.

Bu tür bir sistemde basit bir tarama ile multipl mikrobesinlerin eksikliği veya güvenli üst sınır aralıkları bireysel bazda tespit edilebilir. Ayrıca normalde tahmin edilemeyecek şekilde sitotoksik veya genotoksik olabilen beklenmedik kombinasyonlar da tespit edilebilir. Bu tür bir ihtimalin akla yakın olabileceği genom instabilitesinin, düşük folat konsantrasyonlarında (20 nM) ve riboflavin konsantrasyonları doygun hale geldiğinde arttığını gösteren gözlemlerimizle desteklenmiştir [20]. Bu bulgu muhtemelen MTHFR'nin FAD kofaktörünün prekürsörü olan riboflavinin, 5,10-metilentetrahidrofolatın 5-metiltetrahidrofolata irreversibl dönüşümünü katalizleyen MTHFR aktivitesini artırmasıyla, dUMP'den dTMP sentezi için gereken öncel folat türlerinin miktarını azaltıp DNA'daki urasili artırmasından kaynaklanıyor olabilir. DNA'da aşırı urasil bulunması abazik bölgelerin oluşmasına ve urasil glikozilazlar bu yüksek oranda mutajenik lezyonu tamir etmeye çalışırken DNA zincir kırıklarına yol açar [1, 18, 55]. Bu nedenle farklı dozajlardaki multipl mikrobesin kombinasyonlarını etkili bir biçimde incelemeye olanak tanıyacak nutrient dizi sistemlerinin geliştirilmesi önemlidir. Bu tür bir yaklaşım bireylerin genetik geçmişlerini bilmeye gerek kalmadan genom sağlığının koruması için gereken bireysel nutriomların tanımlanmasına olanak sağladığı için avantajlıdır. Ayrıca bu tür sistemler farklı genotiplerin benzer nutriom şartlarındaki cevaplarını karşılaştırmak ve ölçülen biyomarkerların değişim yüzdelerini karşılaştırmak için de kullanılabilir. Bu değişimler test edilen nutriomlardaki farklı genotipler ve farklı nutrientler ile aralarındaki etkileşimlerden kaynaklanmaktadır.

DNA hasarı, hücre ölümü ve hücre büyümesi ile ilişkili aşağıdaki interaktif etkileri araştırmayı amaçlayan bu yaklaşımın kullanıldığı prototipler bizim grubumuz ve farklı araştırmacılar tarafından geliştirilmiştir:

1. Sabit fizyolojik metionin konsantrasyonlarında farklı sülfür- ve seleno-metionin oranları [54].
2. Alkolde folat konsantrasyonları [61].
3. Alkol/asetaldehit konsantrasyonları ve ADH1 veya ADLH2 genotipi [62, 63].
4. BRCA1 veya BRCA2 genotipinde folat konsantrasyonları [64, 65].
5. MRHFR C677T genotipinde riboflavin konsantrasyonu ile folat konsantrasyonu [29].

Bu çalışmalarda CBMN Cyt testi kromozomal instabilite, hücre ölümü ve hücre bölünmesi ile ilişkili multipl ölçümlerin yapılması için kullanılmıştır [66, 67]. Bu yaklaşımın sonuçları oldukça ümit vericidir. Çünkü sadece spesifik bir mikrobesin, genotip ve bu parametreler arasındaki etkileşimler ile ilişkili genotoksisite, sitotoksisite, metabolit ve hücre büyüme markerlerindaki yüzdesel varyasyonların tanımlanmasında değil, genetik olarak tanımlanmış hücre tiplerindeki nutrient/DNA hasarı doz-cevap eğrisinin şeklinin belirlenmesinde de kullanılabilir. CBMN Cyt testinin kullanılması bu amaç için özellikle uygundur. Çünkü bir nutriomdaki multipl kombinasyonlardaki mikrobesinler

ve konsantrasyonları arttığında veya azaldığında rölatif DNA hasarı, hücre ölüm olayları ve sitostaz insidansları da değişmektedir. Tek bir metabolik yolakla ilgili nutriomlar ikiden fazla mikrobesin içerebilir. Örneğin folat-metionin döngüsü substrat olarak farklı folat formlarına ve kofaktörler olarak da betain, B12 vitamini, B6 vitamini ve B2 vitaminine ihtiyaç göstermektedir. Bu nedenle nutrient dizilerinin multipl mikrobesinlerin kombinasyonlarını eş zamanlı ve dozla ilişkili şekilde inceleyecek biçimde dizayn edilmeleri de gerekir. Bu dizayn bir mikrobesinin farklı veya çelişkili doz düzeylerinin diğer mikrobesinlerle karşılaştırılmasını da içermelidir.

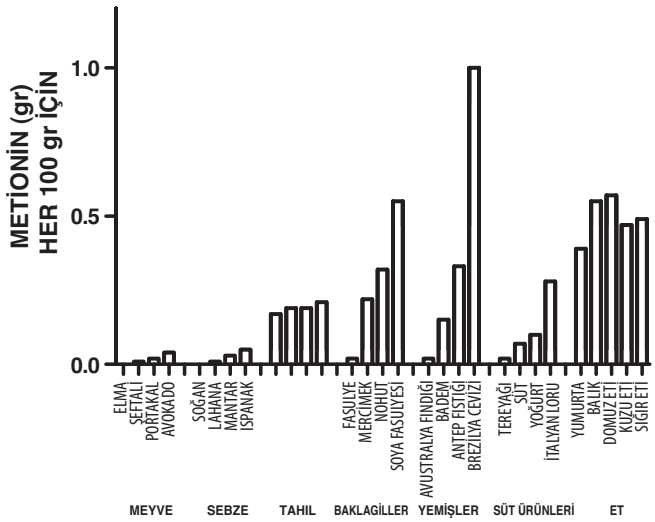
İn vitro nutrient dizi sistemi çeşitli spesifik ve önemli metabolik yolaklar ile ilgili geliştirilmekte olan nutrigenomik matematiksel modellerin [68, 69] doğruluklarının test edilmesinde de ideal bir mekanizma olabilir. Çünkü bu sistemin in vivo insan modellerine kıyasla, diyet girişimlerine uyum, beklenmeyen hayat tarzları, stres ve uyuşturucu kullanımı gibi sorunlardan ve genom hasarı ölçümlerini etkileyebilen çevresel genotoksik etkenlerden daha az etkilenmesi olasıdır. Ayrıca multipl mikrobesinlerin in vivo ortamda test edilmesi oldukça pahalıdır.

5 Kanser Büyümesinin Kontrolü İçin Nutrient Kısıtlaması

Yaşlanmakta olan popülasyonlardaki en önemli problemlerden birisi yaşla artan kanserlerin proliferasyonlarının engellenmesi gereksinimidir. Günümüzde kanser teşhisi alan bireylerde kullanılabilecek valide diyet önerileri mevcut değildir. Çünkü kanserde nutrient-gen ilişkisi ile ilgili bilgilerimiz çok sınırlıdır. Ayrıca genom koruması ve hücre büyümesi (örn. folat, metionin) için takviye amaçlı kullanılan bazı nutrientlerin kanser büyümesini stimüle edebilecekleri yönünde endişeler de mevcuttur. Her kanser türünün büyümesini engelleyebilecek nutriomların tanımlanması mümkün müdür?

Nutriomlar ve nutrient dizi sistemleri ideal olarak, sadece bir bireydeki normal hücrelerde büyüme ve genom koruması için gerekli nütrisyonel gereksinimleri incelemekle kalmamalıdır. Aynı zamanda bu tür bir nutriomun bireyde mevcut olma ihtimali olan kanser hücrelerinin büyümesini stimüle etmediği de doğrulanmalıdır. Kanser hücrelerinin genotiplerinin konağın diğer normal hücrelerine göre farklılıklar göstermesi olasıdır. Bu nedenle aynı nutriomlara farklı cevaplar verebilirler. Örneğin bazı kanser hücreleri folik asit reseptörlerine yüksek afinitelerini artırarak [68] normal hücrelere göre potansiyel olarak avantajlı hale gelirler. Ortamdaki folat miktarı kısıtlandığında çevre sıvılardaki folatı kullanabilirler. Yaşlanmakta olan veya kansere duyarlı bireylerdeki ideal nutriom, normal hücrelerin yenilenmelerinin korunmasını genetik bütünlük içinde sağlarken, kanser hücrelerinin büyümelerini de inhibe etmelidir. Bir bireyde bulunan hem normal hem de kanser hücrelerinin eş zamanlı olarak aynı tek-nutrient dizi sisteminde test edilmesi mantıklı bir yaklaşımdır.

Kanser büyümesinin engellenmesi için nutrigenetik diyet kısıtlaması uygun olabilir. Önerdiğim strateji aşağıdaki basamakları içermektedir:



Şekil 3 Tipik meyveler, sebzeler, tahıllar, baklagiller, sert kabuklu yemişler, süt ve etin her 100 gramında bulunan metionin içeriği: Metionin içerikleri USDA Nutrient Veri Tabanı (http://www.nal.usda.gov/fnic/foodcomp/search/) ile McCance ve Widdowson Kompozisyonu (6. Özet Baskı) gibi gıda içerik tabloları kullanılarak belirlenmiştir.

1. DNA tamir ve büyümesi için gereken mikrobesinlerle spesifik ve güçlü olarak bağlantılı olan kansere yol açan genetik defektin tanımlanması.
2. Nutriom-nutrient dizi sistemi kullanarak mikrobesin kısıtlamasına karşı oluşan duyarlılığın test edilmesi.
3. (1) Genotoksik ilaçlarla yapılan tedavinin tedavi edebilme oranını artırabilmek için bireysel diyet kısıtlamalarının dizaynı, veya (2) Tedavi sonrası kalan kanser kalıntılarındaki hücre büyümesini inhibe edebilecek veya hücre ölümünü indükleyebilecek bireysel diyet kısıtlamalarının dizayn edilmesi.

Sağlıklı hayat süresini uzatabilmek ve kanserlerin büyümelerini kontrol edebilmek amacıyla uygulanan metionin kısıtlaması son zamanlarda önemli derecede ilgi çeken bir konudur (Güncel incelemesi Cavuoto ve Fenech tarafından yapılmıştır [70]). Bu ihtimalin nedeni birçok kanserin metionine bağımlı fenotipe sahip olmasıdır. Kanserlerin metionin metabolizma genlerindeki yan yolaklardaki veya yeni oluşan yolaklardaki mutasyonlardan kaynaklandığı düşünülmektedir. Bu mutasyonların en sık görülen ve en iyi tanımlanmış örneği yan yolaktaki MTAP geninin silinmesidir. Bu mutasyon sıklıkla, kanserlerin tipine bağlı olarak %8-60'ında görülen CDKN2A (p16INK4) silinmesi ile birlikte görülür. Bu iki önemli genetik olayın birlikte görülmesi iki genin 9. kromozomun p koluna çok yakın konumda olmalarından kaynaklanmaktadır. Yüksek metionin düzeyleri hücre büyümesini artırma eğilimi gösterir. Çünkü poliamin sentezi için metionin gereklidir. Kanser hücrelerindeki MTAP silindiği zaman, metionini rejenere edemez hale geldikleri, için tamamen diyetle metionin tedarikine bağımlı hale gelirler. Kanserin

metionine bağımlı olduğu bilgisi, (yukarıda tanımlanan kritik mutasyona sahip olduğu durumlarda) kanserin kontrolü amacıyla diyet metionin kısıtlamasının önerilebileceği düşüncesini doğurmaktadır. Bu yaklaşımın fizibilitesi şu anda laboratuarımızda test edilmektedir. Metionin kısıtlamasının bireysel kanser büyüme kontrolünde (özellikle MTAP silinmesi olan bireylerde) rol oynama ihtimali diyet metionin kaynaklarına daha fazla konsantre olunması gereksinimini doğurmaktadır.

Şekil 3 incelendiğinde en zengin metionin kaynaklarının et, yumurta, bazı süt ürünleri (örn. peynir), bazı sert kabuklu yemişler (örn. Brezilya cevizi) ve bazı baklagiller (örn. soya fasulyesi) olduğu görülmektedir. En fakir kaynaklar ise meyve ve sebzelerdir. Dikkatli olarak düzenlenen meyve ve sebze yönünden zengin vegan diyetlerinin metionin alımını en çok kısıtlayan diyet olacağı açıktır.

6 Sonuçlar

Sonuç olarak nutriomların incelenmesi ve multipl nutrient dozlarına ve kombinasyonlarına verilen genomik cevapların araştırılması makul bir yaklaşım olup aynı zamanda takviye ve kısıtlamaları da içeren tüm nütrisyonel gereksinimlerin eksiksiz olarak tanımlanmasında çok ümit vadeden bir yöntemdir. Bu şekilde normal şekilde farklılaşan propenitor hücrelerin ve kök hücrelerinin büyüme veya çoğalmalarının genetik olarak stabil bir şekilde korunması ve kanser hücrelerinin büyümelerinin baskılanarak yok edilmeleri mümkün olabilecektir.

Referanslar

1. Fenech MF (2010) Dietary reference values of individual micronutrients and nutriomes for genome damage prevention: current status and a road map to the future. Am J Clin Nutr 91(5):1438S–1454S
2. Hoeijmakers JH (2009) DNA damage, aging, and cancer. N Engl J Med 361:1475–1485
3. Larsson NG (2010) Somatic mitochondrial DNA mutations in mammalian aging. Annu Rev Biochem 79:683–706
4. Behrens MI, Lendon C, Roe CM (2009) A common biological mechanism in cancer and Alzheimer's disease? Curr Alzheimer Res 6:196–204
5. Coppede F, Migliore L (2009) DNA damage and repair in Alzheimer's disease. Curr Alzheimer Res 6:36–47
6. Iarmarcovai G, Bonassi S, Botta A, Baan RA, Orsiere T (2008) Genetic polymorphisms and micronucleus formation: a review of the literature. Mutat Res 658:215–233
7. Jiang J, Zhang X, Yang H, Wang W (2009) Polymorphisms of DNA repair genes: ADPRT, XRCC1, and XPD and cancer risk in genetic epidemiology. Methods Mol Biol 471:305–333
8. Mocellin S, Verdi D, Nitti D (2009) DNA repair gene polymorphisms and risk of cutaneous melanoma: a systematic review and meta-analysis. Carcinogenesis 30:1735–1743
9. Ames BN (2003) The metabolic tune-up: metabolic harmony and disease prevention. J Nutr 133:1544S–1548S
10. Ames BN, Wakimoto P (2002) Are vitamin and mineral deficiencies a major cancer risk? Nat Rev Cancer 2:694–704

11. Claycombe KJ, Meydani SN (2001) Vitamin E and genome stability. Mutat Res 475:37–44
12. Dreosti IE (2001) Zinc and the gene. Mutat Res 475:161–167
13. Fenech M (2001) Recommended dietary allowances (RDAs) for genomic stability. Mutat Res 480–481:51–54
14. Fenech M (2001) The role of folic acid and Vitamin B12 in genomic stability of human cells. Mutat Res 475:57–67
15. Fenech M (2003) Nutritional treatment of genome instability: a paradigm shift in disease prevention and in the setting of recommended dietary allowances. Nutr Res Rev 16:109–122
16. Fenech M (2008) Genome health nutrigenomics and nutrigenetics–diagnosis and nutritional treatment of genome damage on an individual basis. Food Chem Toxicol 46:1365–1370
17. Fenech M, Ferguson LR (2001) Vitamins/minerals and genomic stability in humans. Mutat Res 475:1–6
18. Fenech M (2010) Folate, DNA damage and the aging brain. Mech Ageing Dev 131(4):236–241
19. Ferguson LR, Philpott M (2008) Nutrition and mutagenesis. Annu Rev Nutr 28:313–329
20. Hageman GJ, Stierum RH (2001) Niacin, poly (ADP-ribose) polymerase-1 and genomic stability. Mutat Res 475:45–56
21. Halliwell B (2001) Vitamin C and genomic stability. Mutat Res 475:29–35
22. Hartwig A (2001) Role of magnesium in genomic stability. Mutat Res 475:113–121
23. Ho E, Ames BN (2002) Low intracellular zinc induces oxidative DNA damage, disrupts p53, NFkappa B, and AP1 DNA binding, and affects DNA repair in a rat glioma cell line. Proc Natl Acad Sci USA 99:16770–16775
24. Keen CL, Zidenberg-Cherr S (2003) Manganese. In: Zeigler EE, Filer LJ (eds) Present knowledge in nutrition. ILSI Press, Washington DC
25. Lovell MA (2009) A potential role for alterations of zinc and zinc transport proteins in the progression of Alzheimer's disease. J Alzheimers Dis 16:471–483
26. Park S, Johnson MA (2006) What is an adequate dose of oral vitamin B12 in older people with poor vitamin B12 status? Nutr Rev 64:373–378
27. van Ommen B, El-Sohemy A, Hesketh J, Kaput J, Fenech M, Evelo CT, McArdle HJ, Bouwman J, Lietz G, Mathers JC, Fairweather-Tait S, van Kranen H, Elliott R, Wopereis S, Ferguson LR, Meplan C, Perozzi G, Allen L, Rivero D (2010) The micronutrient genomics project: a community-driven knowledge base for micronutrient research. Genes Nutr 5:285–296
28. Crott JW, Mashiyama ST, Ames BN, Fenech M (2001) The effect of folic acid deficiency and MTHFR C677T polymorphism on chromosome damage in human lymphocytes in vitro. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 10:1089–1096
29. Kimura M, Umegaki K, Higuchi M, Thomas P, Fenech M (2004) Methylenetetrahydrofolate reductase C677T polymorphism, folic acid and riboflavin are important determinants of genome stability in cultured human lymphocytes. J Nutr 134:48–56
30. Holzwarth C, Vaegler M, Gieseke F, Pfister SM, Handgretinger R, Kerst G, Muller I (2010) Low physiologic oxygen tensions reduce proliferation and differentiation of human multipotent mesenchymal stromal cells. BMC Cell Biol 11:11
31. Vukicevic V, Jauch A, Dinger TC, Gebauer L, Hornich V, Bornstein SR, Ehrhart-Bornstein M, Muller AM (2010) Genetic instability and diminished differentiation capacity in long-term cultured mouse neurosphere cells. Mech Ageing Dev 131:124–132
32. Fenech M, Baghurst P, Luderer W, Turner J, Record S, Ceppi M, Bonassi S (2005) Low intake of calcium, folate, nicotinic acid, vitamin E, retinol, beta-carotene and high intake of pantothenic acid, biotin and riboflavin are significantly associated with increased genome instability–results from a dietary intake and micronucleus index survey in South Australia. Carcinogenesis 26:991–999
33. Bowman GL, Silbert LC, Howieson D, Dodge HH, Traber MG, Frei B, Kaye JA, Shannon J, Quinn JF (2012) Nutrient biomarker patterns, cognitive function, and MRI measures of brain aging. Neurology 78:241–249

34. Nishida C, Uauy R, Kumanyika S, Shetty P (2004) The joint WHO/FAO expert consultation on diet, nutrition and the prevention of chronic diseases: process, product and policy implications. Public Health Nutr 7:245–250
35. Fenech M (2012) Folate (vitamin B9) and vitamin B12 and their function in the maintenance of nuclear and mitochondrial genome integrity. Mutat Res 733:21–33
36. Stover PJ (2009) One-carbon metabolism-genome interactions in folate-associated pathologies. J Nutr 139:2402–2405
37. de Lange T (2010) How shelterin solves the telomere end-protection problem. Cold Spring Harb Symp Quant Biol 75:167–177
38. Sfeir A, de Lange T (2012) Removal of shelterin reveals the telomere end-protection problem. Science 336:593–597
39. Bull C, Fenech M (2008) Genome-health nutrigenomics and nutrigenetics: nutritional requirements or 'nutriomes' for chromosomal stability and telomere maintenance at the individual level. Proc Nutr Soc 67:146–156
40. Paul L (2011) Diet, nutrition and telomere length. J Nutr Biochem 22:895–901
41. Bull CF, O'Callaghan NJ, Mayrhofer G, Fenech MF (2009) Telomere length in lymphocytes of older South Australian men may be inversely associated with plasma homocysteine. Rejuvenation Res 12:341–349
42. Cassidy A, De Vivo I, Liu Y, Han J, Prescott J, Hunter DJ, Rimm EB (2010) Associations between diet, lifestyle factors, and telomere length in women. Am J Clin Nutr 91:1273–1280
43. Farzaneh-Far R, Lin J, Epel ES, Harris WS, Blackburn EH, Whooley MA (2010) Association of marine omega-3 fatty acid levels with telomeric aging in patients with coronary heart disease. JAMA 303:250–257
44. Nettleton JA, Diez-Roux A, Jenny NS, Fitzpatrick AL, Jacobs DR Jr (2008) Dietary patterns, food groups, and telomere length in the multi-ethnic study of atherosclerosis (MESA). Am J Clin Nutr 88:1405–1412
45. O'Callaghan NJ, Clifton PM, Noakes M, Fenech M (2009) Weight loss in obese men is associated with increased telomere length and decreased abasic sites in rectal mucosa. Rejuvenation Res 12:169–176
46. Richards JB, Valdes AM, Gardner JP, Paximadas D, Kimura M, Nessa A, Lu X, Surdulescu GL, Swaminathan R, Spector TD, Aviv A (2007) Higher serum vitamin D concentrations are associated with longer leukocyte telomere length in women. Am J Clin Nutr 86:1420–1425
47. Xu Q, Parks CG, DeRoo LA, Cawthon RM, Sandler DP, Chen H (2009) Multivitamin use and telomere length in women. Am J Clin Nutr 89:1857–1863
48. Hou L, Zhang X, Gawron AJ, Liu J (2012) Surrogate tissue telomere length and cancer risk: shorter or longer? Cancer Lett 319:130–135
49. Atkuri KR, Herzenberg LA (2005) Culturing at atmospheric oxygen levels impacts lymphocyte function. Proc Natl Acad Sci USA 102:3756–3759
50. Atkuri KR, Herzenberg LA, Niemi AK, Cowan T (2007) Importance of culturing primary lymphocytes at physiological oxygen levels. Proc Natl Acad Sci USA 104:4547–4552
51. Bull CF, Mayrhofer G, Zeegers D, Mun GL, Hande MP, Fenech MF (2012) Folate deficiency is associated with the formation of complex nuclear anomalies in the cytokinesis-block micronucleus cytome assay. Environ Mol Mutagen 53:311–323
52. de Vogel S, Bongaerts BW, Wouters KA, Kester AD, Schouten LJ, de Goeij AF, de Bruine AP, Goldbohm RA, van den Brandt PA, van Engeland M, Weijenberg MP (2008) Associations of dietary methyl donor intake with MLH1 promoter hypermethylation and related molecular phenotypes in sporadic colorectal cancer. Carcinogenesis 29:1765–1773
53. Sharif R, Thomas P, Zalewski P, Graham RD, Fenech M (2011) The effect of zinc sulphate and zinc carnosine on genome stability and cytotoxicity in the WIL2-NS human lymphoblastoid cell line. Mutat Res 720:22–33
54. Wu J, Lyons GH, Graham RD, Fenech MF (2009) The effect of selenium, as selenomethionine, on genome stability and cytotoxicity in human lymphocytes measured using the cytokinesis-block micronucleus cytome assay. Mutagenesis 24:225–232

55. Chango A, Abdel Nour AM, Niquet C, Tessier FJ (2009) Simultaneous determination of genomic DNA methylation and uracil misincorporation. Med Princ Pract 18:81–84
56. Bistulfi G, Vandette E, Matsui S, Smiraglia DJ (2010) Mild folate deficiency induces genetic and epigenetic instability and phenotype changes in prostate cancer cells. BMC Biol 8:6
57. Decordier I, Papine A, Plas G, Roesems S, Vande Loock K, Moreno-Palomo J, Cemeli E, Anderson D, Fucic A, Marcos R, Soussaline F, Kirsch-Volders M (2009) Automated image analysis of cytokinesis-blocked micronuclei: an adapted protocol and a validated scoring procedure for biomonitoring. Mutagenesis 24:85–93
58. Varga D, Johannes T, Jainta S, Schuster S, Schwarz-Boeger U, Kiechle M, Patino Garcia B, Vogel W (2004) An automated scoring procedure for the micronucleus test by image analysis. Mutagenesis 19:391–397
59. Zhao H, Albino AP, Jorgensen E, Traganos F, Darzynkiewicz Z (2009) DNA damage response induced by tobacco smoke in normal human bronchial epithelial and A549 pulmonary adenocarcinoma cells assessed by laser scanning cytometry. Cytometry A 75:840–847
60. Zhao H, Traganos F, Darzynkiewicz Z (2010) Kinetics of the UV-induced DNA damage response in relation to cell cycle phase correlation with DNA replication. Cytometry A 77:285–293
61. Teo T, Fenech M (2008) The interactive effect of alcohol and folic acid on genome stability in human WIL2-NS cells measured using the cytokinesis-block micronucleus cytome assay. Mutat Res 657:32–38
62. Ishikawa H, Ishikawa T, Yamamoto H, Fukao A, Yokoyama K (2007) Genotoxic effects of alcohol in human peripheral lymphocytes modulated by ADH1B and ALDH2 gene polymorphisms. Mutat Res 615:134–142
63. Kim JS, Kim YJ, Kim TY, Song JY, Cho YH, Park YC, Chung HW (2005) Association of ALDH2 polymorphism with sensitivity to acetaldehyde-induced micronuclei and facial flushing after alcohol intake. Toxicology 210:169–174
64. Beetstra S, Salisbury C, Turner J, Altree M, McKinnon R, Suthers G, Fenech M (2006) Lymphocytes of BRCA1 and BRCA2 germ-line mutation carriers, with or without breast cancer, are not abnormally sensitive to the chromosome damaging effect of moderate folate deficiency. Carcinogenesis 27:517–524
65. Beetstra S, Suthers G, Dhillon V, Salisbury C, Turner J, Altree M, McKinnon R, Fenech M (2008) Methionine-dependence phenotype in the de novo pathway in BRCA1 and BRCA2 mutation carriers with and without breast cancer. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 17:2565–2571
66. Fenech M (2006) Cytokinesis-block micronucleus assay evolves into a “cytome” assay of chromosomal instability, mitotic dysfunction and cell death. Mutat Res 600:658–666
67. Fenech M (2007) Cytokinesis-block micronucleus cytome assay. Nat Protoc 2:1084–1104
68. Kelemen LE (2006) The role of folate receptor alpha in cancer development, progression and treatment: cause, consequence or innocent bystander? Int J Cancer 119:243–250
69. Nijhout HF, Gregory JF, Fitzpatrick C, Cho E, Lamers KY, Ulrich CM, Reed MC (2009) A mathematical model gives insights into the effects of vitamin B-6 deficiency on 1-carbon and glutathione metabolism. J Nutr 139:784–791
70. Cavuoto P, Fenech MF (2012) A review of methionine dependency and the role of methionine restriction in cancer growth control and life-span extension. Cancer Treat Rev 38:726–736

Melanomun Önlenmesi ve Tedavisinde Özgün Yaklaşımlar

Antonio M. Grimaldi, Pamela B. Cassidy, Sancy Leachmann ve Paolo A. Ascierto

Özet

Kutanöz melanom insidansı diğer malignitelere göre anlamlı olarak daha yüksek oranlarda artmaktadır. Bu artış popülasyonların hem güneş hem de solaryum kaynaklı aşırı ultraviyole (UV) radyasyonu maruziyetlerinin tehlikeleri hakkında bilgilendirilme çabalarına rağmen sürmektedir. Melanom görece daha genç popülasyonları etkileyen ve metastaz yapma eğilimi ile mevcut terapötik rejimlere zayıf cevap vermesi ile tanınan bir hastalıktır. Bu faktörler melanomun önlenmesini, hastalık ile ilişkili mortalitenin azaltılması için gösterilen çabaların vazgeçilmez bir komponenti haline getirmiştir. Melanositlerin malign melanoma dönüşmesinde genetik faktörler, ultraviyole radyasyon ve tümör mikroçevresi arasındaki etkileşimler rol oynar. UV radyasyonunun melanom etyolojisindeki rolü hem foto ürünlerinin formasyonu ile oluşan DNA hasarından hem de reaktif oksijen türlerinin üretiminden kaynaklanmaktadır. Melanomun önlenmesi amacıyla geliştirilmekte olan ümit verici antioksidan ajanların çoğu gıda kaynaklıdır. Serin/treonin-spesifik protein kinazlar içeren Raf kinaz ailesinin bir üyesi olan B-Raf, MAP kinaz/ERK sinyal yolağının regülasyonunda rol oynamaktadır. Melanomların yaklaşık %50'sinde BRAF mutasyonları mevcuttur. Melanomlarda bulunan BRAF mutasyonları gövde ve kol-

A. M. Grimaldi · P. A. Ascierto (✉)
Unit of Melanoma, Immunotherapy and Innovative Therapies, Istituto Nazionale per lo Studio e la Cura dei Tumori Fondazione G. Pascale, Via Mariano Semmola, 80131, Naples, Italy
e-mail: paolo.ascierto@gmail.com

P. B. Cassidy · S. Leachmann
Huntsman Cancer Institute, University of Utah, Melanoma and Cutaneous Oncology Program, Salt Lake, UT, USA

V. Zappia et al. (eds.), *Advances in Nutrition and Cancer,*
Cancer Treatment and Research 159, DOI: 10.1007/978-3-642-38007-5_25,
© Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2014

ları aralıklı olarak güneşe maruz kalanların %59'unda oluşurken, aynı mutasyon akral melanomların sadece %23'ünde, mukozal melanomların %11'inde mevcuttur. Üveal melanomlarda bu mutasyon görülmez. İki yeni ajan olan ipilimumab ve vemurafenibin ileri melanomun sonuçlarında iyileşmelere yol açtığı Amerikan Klinik Onkoloji Derneği'nin 2011 yılındaki yıllık toplantısında sunulmuştur. Vemurafenib BRAFV600 mutasyonu olan metastatik melanomda progresyonsuz sağkalımda ve genel sağkalımda iyileşmeye yol açtığı gösterilen ilk bileşiktir. Aynı zamanda antiproliferatif etkisini yüksek oranda spesifik moleküler bir hedefin inhibisiyonu ile gösteren ilk ilaç sınıfına ait ilk ilaçtır. GSK2118436 (dabrafenib) faz I ve faz II çalışmalarda vemurafenib ile benzer sonuçlar veren ikinci BRAF inhibitörüdür. Bir faz III çalışması şu anda sürmektedir. Vemurafenib ve dabrafenibin klinik geliştirme süreçlerinde, BRAF inhibitörlerinin bu mutasyonu taşıyan melanomların progresyonlarını durdurabildiği veya tersine çevirebildiği net olarak gösterilmiştir. BRAF inhibitörleri tarihsel standart tedavilere göre de sağkalım zamanlarını artırmıştır (kemoterapi ve interlökin-2). RAF265 ve LGX818 gibi BRAF inhibitörlerinin klinik geliştirme süreçleri de devam etmektedir. BRAF inhibitörlerinin ipilimumab, bir anti-CTLA-4 antikoru ve/veya MEK inhibitörleri veya metformin ile kombinasyon stratejileri klinik çalışmalarda araştırılmaktadır.

Anahtar Kelimeler

Melanom • BRAF • İpilimumab • Vemurafenib • Dabrafenib

Kısaltmalar

GTE	Yeşil çay ekstresi
EGCG	Epigallokateçin-3-gallat
CSD	kronik güneş hasarı
CTLA-4	sitotoksik T lenfosit ile ilişkili antijen 4
cSCC	Kutanöz skuamöz hücreli karsinom
VEGFR-2	vasküler endotelyal büyüme faktörü reseptörü 2

İçindekiler

1 Giriş 445
2 Melanom Önleme Stratejileri 445
2.1 Diyet ve Melanom 446
2.2 BRAF Proteininin Melanomdaki Rolü 447
2.3 İleri Melanom Tedavisi 449
3 Sonuçlar 452
Referanslar 453

1 Giriş

Kutanöz melanom insidansı diğer malignitelere göre anlamlı olarak daha yüksek oranlarda artmaktadır. Son 30 yıl içinde beyaz ırkta yıllık yaklaşık %3'lük artış görülmüştür. Bu artış halkın, hem güneş hem de solaryum kaynaklı aşırı ultraviyole radyasyonu maruziyetlerinin tehlikeleri hakkında bilgilendirilme çabalarına rağmen sürmektedir [1]. Melanom ile ilişkili diğer risk faktörleri arasında açık renkli ve bronzlaşamayan cilt, kızıl saç, açık göz rengi, çok sayıda veya atipik benler, >50 yaş, erkek cinsiyet ve kişisel veya ailesel hikaye mevcuttur [2]. Erken evrelerde tespit edilen kutanöz melanom vakalarının %90'ından fazlası cerrahi eksizyon ile kesin tedavi edilir. Ancak bölgesel metastaz varlığındaki 5 yıllık sağkalım %60'a, uzak metastaz varlığında ise %16'nın altına düşmektedir [3]. Melanom görece daha genç popülasyonları etkileyen ve metastaz yapma eğilimi ile mevcut terapötik rejimlere zayıf cevap vermesi ile tanınan bir hastalıktır. Bu faktörler melanomun önlenmesini, hastalık ile ilişkili mortalitenin azaltılması için gösterilen çabaların vazgeçilmez bir komponenti haline getirmiştir.

Epidemiyolojik veriler UV radyasyonunun melanom için majör çevresel karsinojen olduğunu göstermektedir. B (UV-B; 260–320 nm) ve A (UV-A; 320–400 nm) dalga boylarında UV maruziyeti sporadik melanom gelişimi ile biyolojik olarak en ilişkili çevresel risk faktörüdür. Ancak UV radyasyonunun melanomu indükleme mekanizması henüz tam olarak anlaşılamamıştır. Melanositlerin malign melanoma dönüşmesinde genetik faktörler, ultraviyole radyasyon ve tümör mikroçevresi arasındaki etkileşimlerin rol oynadığı günümüzde anlaşılmıştır [4].

Dokuz farklı ülkeden 20 araştırmacı solaryum kullananlarda görülen cilt kanseri insidansları ile ilişkili 20'den fazla epidemiyolojik çalışmanın analizini yapmıştır. Verilerin incelenmesi ile 30 yaşından önce solaryum kullanmaya başlayanlardaki melanom riskinin %75 arttığı bulunmuştur. Bu metaanalizin ayrıntılı makalesi "The Lancet Oncology" dergisinde yayınlanmıştır [5]. Makale Dünya Sağlık Örgütünün (WHO) solaryumdan ve aşırı güneş ışığından kaçınılması yönündeki önerisini desteklemektedir. Uluslararası Kanser Araştırma Ajansı (IARC) UV ışınları yayan bronzlaşma cihazlarını "muhtemel karsinojen" kategorisinden "insanlar için karsinojen" kategorisine yükseltmiştir (WHO IARC Çalışma Grubu) [6]. Bu yeni sınıflandırma solaryum ve güneş ışığı lambalarını asbest, radon, sigara, alkol ve hepatitin de bulunduğu faktörleri içeren kanser risk faktörleri grubuna sokmuştur.

2 Melanom Önleme Stratejileri

Melanomun önlenmesi primer, sekonder ve tersiyer stratejilerden oluşur. Primer önleme stratejileri karsinogenezin en erken evresinde yani kanserin ilk etkisinin görülmesinden önce uygulanır. Güneş kremleri gibi primer önleme stratejileri "normal" bir hücrenin maruz kaldığı ilk mutasyonları azaltmaktadır. Sekonder korumayı oluşturan,

tarama protokolleri kullanılan önleme rejimleri, premalign lezyonları erkenden tespit etmeyi veya bu lezyonların kansere dönüşmesini engelleyen ajanlarla tedaviyi içerir. Tersiyer koruma kanser tedavisi gören hastalardaki reküransların önlenmesi ve sağkalım süresinin uzatılmasını amaçlar.

UV radyasyonuna maruziyet foto ürünlerinin formasyonu ile direkt DNA hasarına yol açarken, reaktif oksijen türleri de indirekt oksidatif hasara neden olur. Her iki etki de UV ile indüklenen karsinogeneze ve foto yaşlanmaya neden olur [7]. Melanomdan koruma amaçlı geliştirilmekte olan ümit verici antioksidan ajanların büyük bölümü gıda kaynaklarından elde edilir ve oksidatif DNA hasarını azaltarak etki gösterir.

2.1 Diyet ve Melanom

2.1.1 Likopen

Likopen sıklıkla domateste bulunan kırmızı renkli bir bileşiktir. Tüm karotenoidlerin en etkili oksijen söndürücü (ve antioksidan) olanıdır. İngiltere'de yayınlanan yeni bir makalede UV ile indüklenen ışın hasarı, 12 hafta boyunca günlük olarak zeytinyağı içinde 55 gram domates salçası (16 mg likopen) tüketen kadınlarda sadece zeytinyağı tüketenlere göre anlamlı olarak azalmıştır [8]. Ancak primer melanomun önlenmesinde likopen kullanımı için hala fare melanom modellerinde preklinik değerlendirme yapılmasına ihtiyaç vardır.

2.1.2 Sulforafan

Brokoli filizlerinden izole edilen küçük moleküllü bir antioksidan olan sulforafan (SF), turpgiller ailesine ait sebzelerin büyük oranda tüketiminin kanser riskini azalttığı gözlemini açıklamak amacıyla dizayn edilen bir çalışmada tespit edilen kimyasal maddelerden biridir. Reaktif oksijen türlerini direkt olarak etkileyen karotenoidlerin aksine, SF antioksidan kapasitesini dokulardaki doğal antioksidan enzimleri yukarı regüle ederek gösterir. SF'nin topikal olarak uygulanması ile antioksidan enzimlerin indüklendiği ve insan cildindeki UV radyasyonuna karşı oluşan MED'i (minimal eritem dozu) artırdığı bulunmuştur [9]. İkinci bir çalışmada farelerin brokoli filizlerinden oluşan takviye ile oral yoldan beslenmesinin UV ile indüklenen skuamoz hücreli karsinomları azalttığı gösterilmiştir [10]. Ancak SF'nin melanomdan primer korunmadaki kullanımı henüz fare modelinde test edilmemiştir.

2.1.3 Yeşil çay ekstresi

Yeşil çayın antikanser özelliklerinin içerdiği polifenollerden (özellikle (-) epigallokateçin-3-gallat (EGCG)) kaynaklandığı düşünülmektedir. EGCG'nin kimyasal özellikleri hem güneş kremi hem de serbest radikal söndürücüsü olarak etki yapabileceğini göstermektedir. Ancak bu özelliklerin tek başına biyolojik aktivite göstermesi için yetip yetmediği

şüphelidir [11]. Yeşil çay ekstresi ve EGCG fare modellerindeki UV kaynaklı melanom üzerinde test edilmemiştir. EGCG'nin eşgenetikli fare melanom modelinde kuyruk venine B16 melanom hücrelerinin enjekte edilmesi sonrasında akciğer metastazlarını azalttığı bulgusu sekonder önleme modalitesinde kullanılabileceğini göstermiştir [12]. Topikal EGCG uygulaması UV radyasyonuna maruz kalan insan cildinde eritem, oksidatif stres ve enflamatuar lökositlerin infiltrasyonunu azaltmış ve DNA'daki pirimidin dimer tamirini iyileştirmiştir. Güneş kremlerini de içeren birçok cilt bakımı ürünü yeşil çay ekstresi içermektedir. Ancak birçoğunun polifenol içeriği standardize değildir. Yeşil çay ekstresinin ve EGCG'nin melanomu da kapsayan cilt kanserlerinin önlenmesini araştıran daha ileri klinik çalışmalara kesinlikle ihtiyaç vardır.

2.2 BRAF Proteininin Melanomdaki Rolü

B-Raf, serin/treonin-spesifik protein kinazlar içeren Raf kinaz ailesinin bir üyesidir. Bu protein MAP kinaz/ERK sinyal yolağının regülasyonunda hücre bölünme, farklılaşma ve sekresyonunu etkileyerek rol oynar [13]. Bu gendeki mutasyonlar melanom, papiler tiroid karsinomu, kolorektal kanser, non-Hodgkin lenfoma, küçük hücreli olmayan akciğer karsinomu ve akciğer adenokarsinomu gibi farklı kanser türlerinde görülür [14].

İnsan kanserlerinde BRAF geninin otuzdan fazla mutasyonu tespit edilmiştir. BRAF mutasyonlarının sıklığı insanlardaki kanserin türüne göre büyük farklılıklar gösterir. Melanomların yaklaşık %50'sinde BRAF mutasyonları mevcuttur. Bu mutasyonların %90'ı kodon 600 düzeyindedir (örn. V600E mutasyonu). En sık görülen ikinci mutasyon BRAFV600 K'dır [15]. Kutanöz melanomlardaki yüksek BRAF mutasyonu prevalansı ve UV ile melanom arasındaki epidemiyolojik link, BRAFV600E mutasyonunun UV hasarına bağlı olarak ortaya çıktığı spekülasyonunu doğurmuştur. Melanomlarda bulunan BRAF mutasyonları gövde ve kolları aralıklı olarak güneşe maruz kalanların %59'unda oluşurken, aynı mutasyon akral melanomların sadece %23'ünde, mukozal melanomların %11'inde [16] mevcuttur. Üveal melanomlarda bu mutasyon görülmez [17, 18]. UV-BRAF arasındaki bağlantı kronik olarak güneşe maruz kalan (solar elastoza işaret eden histopatolojik kanıtlar ile tanımlanır) bölgelerdeki BRAFV600E mutasyonunun sadece %11 olduğunun tespit edilmesiyle komplike hale gelmiştir [19]. Bu çelişkili gözlemler BRAF mutasyonlarının oluşumunda rol oynayan ve özellikle güneş maruziyetini de içeren moleküler faktörlerle ilgili belirsizlikleri vurgulamaktadır. BRAFV600E, melanom progresyonu ile ilişkili farklı mekanizmalar da rol oynamaktadır: Aşağı yönlü MEK/ERK yolağının aktivasyonu, senesans ve apoptozdan sakınma, kontrolsüz replikatif potansiyel, anjiogenez (MEK'ye bağımlı HIF-1α ve VEGF aktivasyonu yoluyla), doku invazyonu, metastaz (migrasyon, integrin sinyali, hücre kontraktilitesi, tümör ve mikroçevre kaynaklı interlökin-8 gibi çeşitli proteinlerin yukarı regülasyonu), immun cevaptan sakınma [20]. Primer melanomların klinikopatolojik özellikleri şu bulgularla tutarlı olarak ilgilidir: Genç yaşlarda da görülen mutant BRAF,

çevre dokularda kronik güneş hasarının daha az sayıda markeri, daha yüksek total vücut beni sayısı, spesifik histopatolojik bulgular (büyük epiteloid kriptomorfoloji, ağır melanizasyon ve melanositlerin belirgin yukarı yönlü epidermal yayılımı). Bir Avustralya araştırma grubu [21] metastatik melanomdaki onkogenik BRAF mutasyonlarının sıklık ve tiplerini araştıran çalışmanın sonuçlarını ve BRAF statüsünün klinikopatolojik özellikler ve sonuçlarla ilişkisini yayınlamıştır. Cerrahi olarak çıkarılması mümkün olmayan AJCC evre IIIC ve evre IV melanomu olan 197 hasta çalışmaya alınmıştır. 95 hastada mutasyonlu BRAF tespit edilmiştir (%48). Mutant BRAF melanomu olan hastalar normal (wild-type) BRAF melanomu olan hastalara gör hem uzak metastaz tanısı esnasında (medyan yaş, sırasıyla 55.8'e karşı 63.1) hem de primer melanom tanısı esnasında (medyan yaş, sırasıyla 55.8'e karşı 63.1) daha genç yaştaydı. Metastatik melanomu olan hastaların hastalıksız intervali de içeren diğer özellikleri, mutant BRAF veya normal BRAF olan hastalar arasında anlamlı farklılıklar göstermemiştir. Bu çalışma BRAF mutant metastatik melanomu olan hastaların genel prognozunun hastalıksız sağkalım yönünden normal BRAF olan hastalardan daha iyi olmadığını göstermiştir. Buna rağmen çalışma periyodu sırasında yeni teşhis edilen melanomu olan BRAF mutant hastaların üçte ikisine BRAF inhibitörü tedavisi verilmemiş ve bu hastalardaki genel sağkalım normal BRAF olan hastalara göre tutarlı olarak daha kötü bulunmuştur. Primer melanomdaki mutant BRAF ile bağlantılı olan faktörler kanserin bölgesi (gövde), kronik güneş hasarı, nodüler ve yüzeysel yayılan histopatolojik alt tipler, ve mitoz sayılarıdır. Bu bulgular mutant BRAF olan melanomun biyolojik olarak heterojen olduğu ve özel bir fenotip oluşturacak şekilde diğer genetik değişimlerle birlikte etki yaptığı görüşünü desteklemektedir. BRAF onkogeninde aktive edici mutasyon varlığı uzak ve rezeke edilemeyen metastazların gelişim zamanı üzerinde bir etki yapmamıştır. Ancak devamında daha kötü sonuçlar ile ilişkilidir. Uzak metastaz teşhisi sonrası yapılan sağkalım analizlerinde, BRAF inhibitörü kullanan BRAF mutant hasta alt kümesinden dolayı iki nedenle karışıklık oluşmuştur. Birincisi BRAF inhibitörlerinin genel sağkalımı uzatmasıdır; ikincisi klinik çalışmalarda yer almak üzere seçilen hastaların daha iyi performans statüsü, semptomatik beyin metastazlarının yokluğu ve diğer ölçülemeyen faktörleri de kapsayan daha iyi prognostik faktörlere sahip olma ihtimalleridir. Metastatik melanom olan hastalarda mutant BRAF varlığı, ilk melanomun teşhisinden ilk uzak metastaz teşhisine kadar olan interval üzerinde bir etki yapmamıştır (ilk rezeke edilemeyen lokorejyonal rekürans dahil). BRAF inhibitörlerinin BRAF mutant hastalardaki sağkalım analizinde karışıklığa neden olması kısmen bu gruptaki hastaların diğer hastalara göre daha uzun sağkalıma sahip olmalarından kaynaklanmaktadır. BRAF mutasyonunun varlığı metastatik melanom hastalarında daha kısa sağkalım ile ilişkili gözükmektedir. Ancak bu bulgu BRAF inhibitörlerinin henüz mevcut olmadığı zamanlardaki hasta kohortlarında konfime edilmelidir.

2.3 İleri Melanom Tedavisi

2.3.1 2011'den Önce İleri Melanom Tedavisi

ABD Gıda ve İlaç İdaresi (FDA) tarafından 2011 öncesinde metastatik melanom tedavisinde onaylı olan tek kemoterapötik ajan olan dakarbazin ile yapılan faz III çalışmalardaki cevap oranı %7-12, medyan genel sağkalım ise tedavi başlangıcından itibaren 5.6-7.8 ay bulunmuştur [22].

2.3.2 2011'den Sonra İleri Melanom Tedavisi

İpilimumab ve vemurafenibın ileri melanom tedavisinde kullanıldığı iki farklı çalışmanın sıradışı ilerlemeler içeren pozitif sonuçları yayınlanmıştır. ipilimumab CTLA-4'e bağlanan (sitotoksik T lenfosit ile ilişkili antijen 4) tam bir insan antikoru olan ve doğal immun cevapların regülasyonunda kritik rol oynadığına inanılan sitotoksik T lenfositleri etkileyen bir moleküldür [23]. CTLA-4'ün varlığı immun sistemin hastalıklarla savaşan T-hücre cevabının zayıflamasına neden olurken, yokluğu ise bu cevabın güçlenmesine neden olur. İpilimumab CTLA-4 aktivitesini bloke edecek şekilde dizayn edildiği için melanom hücrelerine saldırırken aynı zamanda aktif immun cevabın ortaya çıkmasına da neden olur. İpilimumabın melanomda görülen immun toleransı tersine çevirici etkisi bir hasta popülasyondan uzun süreli yanıt alınmasına neden olmuştur. Aynı zamanda otoimmun yan etkiler de indüklenmiştir [24].

Onkogenik mutant BRAF'ın selektif ve potent inhibitörü [25] olan vemurafenib (PLX4032/RG7204/RO5185426) klinik çalışmalarda çok iyi sonuçlar vermiştir. Daha önce melanom tedavisi gören ve BRAFV600E mutasyonu olan hastalarda yapılan faz II çalışmada vemurafenibin aktivitesi, genel cevap oranı (tedavi edilen hastalardaki tümör cevabını ölçen primer sonlanım noktası), cevabın süresi ve genel sağkalım ölçülerek tespit edilmiştir. Çalışmaya alınan 132 hasta günde iki kez 960 mg oral vemurafenib ile (kabul edilemeyen yan etkiler veya progresyon görülene kadar) tedavi edilmiştir. Çalışmada konfirme cevap oranının %53, cevabın süresinin 6.7 ay, medyan genel sağkalımın 15.9 ay bulunmuş olması melanom hastaları için eşi görülmemiş sonuçlar anlamına geliyordu [26].

Takip süresi boyunca (medyan 12.9 ay, aralık 0.6-20.1) vemurafenib kullanırken progresyon görülen hastaların %24'üne ipilimumab tedavisi uygulanmıştır. Planlanmamış bir post hoc analizde medyan genel sağkalım 15.9 ayda kalmıştır (%95 CI %11.6-%18.3) [27].

2.3.3 BRIM-3 Sonuçları

İki kollu, randomize, faz III BRIM-3 (melanomda BRAF inhibitörü-3) çalışmasında günde iki kez 960 mg oral vemurafenib ile 1000 mg/m^2 dozunda her üç haftada bir kullanılan dakarzabin kemoterapisinin birinci basamak tedavi olarak kullanımları metastatik melanom hastalarında karşılaştırılmıştır. Progresyonsuz sağkalım ve genel sağkalım çalışmanın primer sonlanım noktasını oluşturuyordu. Daha önce tedavi görmemiş, rezeke edilemeyen evre IIIC veya evre IV metastatik melanomu ve BRAFV600E mutasyonu

olan 675 hasta çalışmaya alınmıştır. Çalışmanın sonuçları BRAFV600E mutasyonu olan hastalardaki ölüm riskinin %63, tümör progresyonu riskinin ise %74 azaldığını göstermiştir. Uzun süreli takipte vemurafenib kolundaki genel sağkalım 13.2 ay, dakarzabin kolunda ise 9.9 ay bulunmuştur. Vemurafenib kolundaki hastaların %38'inin doz azaltımına ihtiyaç duymuş olması dikkat çekicidir [28]. Vemurafenib ile en sık görülen advers olaylar kutanöz olaylar, artralji ve yorgunluktur. BRIM-3 çalışmasında fotosensitiviteye bağlı 2 ve 3. derecede deri reaksiyonları hastaların %12'sinde görülmüştür. Su toplama ile karakterize 3. derece reaksiyonlar sıklıkla güneş kremi ile engellenebilmiştir. BRIM-3 çalışmasındaki vemurafenib grubundaki 336 hastanın 129'unda (%38) doz modifikasyonu veya tedavinin kesilmesi gerekmiştir. 61 hastada (%18) kutanöz skuamöz hücreli karsinom (cSCC), keratoakantom veya her iki rahatsızlık birlikte görülmüştür Tüm lezyonlar basit eksizyon ile tedavi edilmiştir. Vemurafenib bugüne kadar tamamlanan tüm klinik çalışmalarda iyi tolere edilmiştir. BRIM-3 çalışmasında, 1-2 derece ve 3-4 derece advers olayların oranı daha önce yapılan çalışmalar ile benzer bulunmuştur.

Vemurafenib BRAFV600 mutasyonu olan metastatik melanomda progresyonsuz sağkalım ve genel sağkalımı artırdığı gösterilen ilk bireyselleştirilmiş bileşiktir. BRIM-3 çalışmasının sonuçları metastatik melanom tedavisinde bugüne kadar elde edilen en dramatik ilerlemelerin gösterildiği çalışmadır. ABD Gıda ve İlaç İdaresi (FDA) 17 Ağustos 2011'de rezeke edilemeyen veya BRAFV600E mutasyonu (FDA tarafından onaylı bir test ile tespit edilen) olan metastatik melanomun birinci ve ikinci basamak tedavisinde vemurafenib kullanımını onaylamıştır. Avrupa İlaç Ajansının (EMA) İnsan İlaç Ürünleri Komitesi (CHMP) 15 Aralık 2011'de vemurafenibin metastatik veya rezeke edilemeyen BRAFV600 mutasyonlu melanom tedavisinde kullanım için pazara verilmesine izin verilmesini tavsiye etmiştir. Avrupa komisyonu 17 Şubat 2012'de 27 Avrupa Birliği ülkesinde pazarlama izni vermiştir (Patient W.A.I.T. Indicator EFPIA 2010).

2.3.4 BRAF İnhibitörü Tedavisinin Geleceği

İkinci BRAF inhibitörü olan GSK2118436 (dabrafenib) ile yapılan faz I ve faz II çalışmalarda [29] vemurafenib çalışmalarına benzer sonuçlar elde edilmiştir. Dabrafenib mutant V600EBRAF'ın (mt BRAF) yüksek oranda spesifik bir inhibitörüdür. Dabrafenib melanom hücre dizilerindeki mutant BRAF'ı vemurafenibden dört kat daha güçlü inhibe ederken, mutant BRAF olan selektivitesi de (doğal BRAF'a göre) vemurafenib ile benzer düzeydedir. Faz I sonuçları hem güvenlik hem de etkinlik anlamında en az vemurafenib ile yapılan faz I çalışmaların sonuçları kadar etkileyicidir. Dabrafenib ile yapılan faz I çalışmasının dizaynı vemurafenib çalışmasının dizaynına benzerdir. Elde edilen sonuçlar ise daha çarpıcıdır. Çalışmanın doz artırma fazında kaydedilen 93 hastanın 85'inde metastatik melanom mevcuttu. Melanom hastalarının 76'sında aktive edici BRAF mutasyonları vardı. En yüksek iki dozla tedavi edilen 16 hastanın 10'unda ölçülebilir cevap elde edilmiştir (%63 cevap oranı). Bir faz III çalışma ise hala sürmektedir. Ayrıca beyin metastazı olan melanom hastalarında da cevaplar görülmüştür. Vemurafenib ve dabrafenibin klinik geliştirme süreçleri BRAF inhibitörlerinin bu mutasyonu taşıyan

melanomların progresyonlarını durdurabildiği veya tersine çevirebildiği (en azından geçici olarak) net olarak gösterilmiştir. BRAF inhibitörleri ayrıca standart tarihsel tedavilere kıyasla sağkalım zamanlarını da artırmıştır (kemoterapi ve interlökin-2).

RAF265 ise BRAF, CRAF ve mutant BRAF'ı da inhibe edebilen oral kullanılan bir başka selektif RAF inhibitörüdür. RAF265 vasküler endotelyal büyüme faktörü reseptörü 2'yi (VEGFR-2) inhibe ederek antianjiogenik aktivite de gösterir. RAF265 BRAF mutant ksenogreft fare modelinde doza bağlı tümör regresyonuna yol açmıştır ([30] Stuart ve ark. 2001). RAF265 ileri malign melanomlu hastalarda yapılmakta olan faz I çalışmada araştırılmaktadır.

LGX818 [31] mükemmel bir farmakolojik profile imkan veren özgün biyokimyasal özelliklere sahip potent ve selektif RAF kinaz inhibitörüdür. LGX818, BRAFV600E eksprese eden hücreler üzerinde selektif antiproliferatif ve apoptotik etkiye sahiptir. LGX818, A375 (BRAFV600E) insan melanom hücre dizilerinde fosfo-ERK'i (EC_{50} = 3 nM) suprese ederek potent proliferasyon inhibisyonuna yol açar. LGX818 bağışıklık sistemi zayıflatılmış fare ve sıçanlardaki multipl insan ksenogreft modellerinde tümör regresyonunu 1 mg/kg gibi düşük dozlarda indükleyebilmektedir. BRAF mutant tümörleri olan hastalarda yapılan faz I çalışma halen sürmektedir (http://cancertrialaustraliaa.com/Clinical-Trials-Register.aspx.Cancer Trials Australia).[32]

2.3.5 Kombinasyon Stratejileri

Vemurafenib ile ipilimumab kombinasyonunun güvenlik, tolerabilite ve etkinliğini araştıran faz I/II çalışma dizayn edilmiştir [33]. Bu tedavi hedefe yönelik ve immunoterapi yaklaşımlarını kombine etmektedir. İki ilacın etki mekanizmaları farklıdır. İpilimumab (ABD'de birinci ve ikinci basamak tedavide, Avrupa'da ikinci basamak tedavide 3 mg/kg dozunda ileri evre rezeke edilemeyen melanom hastalarının tedavisinde kullanılır) aktif immun cevabın sürdürülmesini sağlar. Vemurafenib ve ipilimumab farklı etki paterni de gösterirler: Vemurafenib hızlı etki göstererek metabolizmayı durdurur. Ancak hastalık medyan olarak 6-8 ay sonra progresyon gösterir. İpilimumab ise daha yavaş etki gösterir ve hastalığı kronik hale getirme yeteneği vardır.

Başka bir kombinasyon da BRIM-7 çalışmasında test edilmektedir [34]. Bu faz Ib, doz yükseltme çalışması tek başına vemurafenib tedavisi ile progresyon görülen BRAFV600E pozitif metastatik melanom hastalarında, vemurafenib ile GDC-0973 kombinasyonunun güvenlik, tolerabilite ve farmakokinetiklerini araştırmayı amaçlamaktadır. GDC-0973, BRAF'ın aşağı yönlü hedefi olan MEK1/2'nin potent ve yüksek oranda selektif inhibitörüdür. Bu kombine tedavinin altında yatan mantık iki aşamalıdır: Birincisi progresyonsuz sağkalım üzerinde aditif ve muhtemelen de sinerjistik etki beklentisidir; ikincisi ise BRAF inhibitörleri tek başlarına kullanıldığında MEK yolağının paradoksik olarak stimüle olabilmesi ile ortaya çıkabilen muhtemel toksisitenin engellenmesidir. BRAF inhibitörlerinin tek başlarında kullanıldığı çalışmaların çoğunda bildirilen kutanöz skuamöz hücreli karsinom ve keratoakantomaların ortaya çıkmalarının nedeni bu paradoksik etki olabilir. Güncel faz I ve faz II çalışmalarda bu yaklaşımın güvenli olduğu ve her iki ajanın tek

başlarına kullanımları ile oluşan toksisiteyi azalttığı gösterilmiştir. Faz I çalışmasına 43 BRAF mutasyonlu melanom hastası (tümü BRAF inhibitörü naif) kaydedilmiştir. 3. derece advers etkiler olarak generalize döküntü (%2.4) ve nötropeni (%2.4) görülmüştür. 2. derece ve daha ileri cilt toksisiteleri 9 hastada (%20) görülmüştür. Bunlar arasında 2. derece döküntü (%4.8) ve maküler döküntü mevcuttur (n=1). Herhangi bir doz düzeyinde kutanöz skuamöz hücreli karsinom ve hiperproliferatif cilt lezyonları görülmemiştir. Değerlendirilen 16 hastadan 13'ü parsiyel cevap verirken, 3'ünde hastalık stabil hale gelmiştir. Objektif cevap oranı (ORR) %81'dir (%95CI %54.4-96.0). İki hasta dışındaki tüm hastalar tamamlamıştır. Bir başka kombinasyon çalışmasında günde iki kez 150 mg dabrafenib + günde bir kez ≥1 mg trametinib uygulanan 10 hastanın, 9'u parsiyel cevap verirken, 1'inde de hastalık stabil hale gelmiştir. Günde bir kez 2 mg uygulanan trametinib, günde iki kez 150 mg dabrafenib ile güvenle kombine edilmiştir. Şu ana kadar skuamöz hücreli karsinom vakasına rastlanmamıştır. Ayrıca bu kombinasyon ile daha önce tek başına dabrafenib veya trametinib kullanılan çalışmalarda görülen deri döküntüleri de azalmıştır [35]. Preliminer antitümör aktivitesi için daha ileri çalışmalara ihtiyaç vardır. Şu anda faz II randomize bir çalışma (3. bölüm) sürmektedir.

Tek başına metformin tedavisi 19 hücre dizisinden 12 tanesindeki proliferasyonu BRAF mutasyon statüsünden bağımsız olarak inhibe etmiştir. Ancak bir $NRAS^{Q61K}$ mutant hücre dizisindeki hücre büyümesini güçlü bir şekilde stimüle etmiştir [36]. Metformin ile vemurafenib kombinasyonunun sinerjistik antiproliferatif etkisi 11 BRAFV600E mutantının 6 tanesinde gözlenmiştir. Bunlar arasında 2 BRAFV600E mutant melanom hücre dizisindeki yüksek oranda sinerjistik etki de mevcuttur. Özellikle tek ajan olarak uygulanan vemurafenibe dirençli BRAFV600E mutant hücre dizilerini de kapsayan bazı hücre dizilerinde antagonistik etkiler gözlenmiştir. Kombinasyon tedavisi ile 8 mutasyonsuz BRAF hücre dizisinin yedisinde marjinal sinerjistik antiproliferatif etki görülmüştür. Bu hücre dizilerinden bir tanesi kombinasyon ile yüksek düzeyde antagonistik etki göstermiştir. Bu farklı sonuçlar sadece her bir ilaca karşı olan sensitiviteye bağlı olmayıp, hücre döngüsü veya sinyal yolakları üzerindeki etkilerden de kaynaklanmaktadır. Vemurafenib ile metformin kombinasyonunun BRAFV600E mutant hücre dizileri üzerinde daha güçlü antiproliferatif etki gösterme eğilimi vardır [36]. Ancak bu kombinasyonun potansiyel klinik kullanımı test edilmeden önce vemurafenib ve metformin sinerjizminin veya antagonizminin belirleyicilerinin daha detaylı anlaşılması gerekmektedir.

3 Sonuçlar

UV radyasyonu melanom gelişimi için majör bir çevresel karsinojendir. UV radyasyonunun melanoma yol açma mekanizması belirlenememiştir. Ancak melanositlerin malign melanoma dönüşümünün genetik faktörler, UV maruziyeti ve tümör mikroçevresi arasındaki etkileşimden kaynaklandığı artık bilinmektedir. Cilt kanseri ile ilgili 20'den fazla epidemiyolojik çalışmanın analizinde 30 yaşından önce solaryum kullanan bireylerdeki melanom riskinin %75 arttığı tespit edilmiştir. Bu sonuçlara bağlı olarak UV ışınları yayan bronzlaşma cihazlarının kategorisi "muhtemel karsinojen" kategorisinden

"insanlar için karsinojen" kategorisine yükseltilmiştir. Bu yeni sınıflandırma solaryum ve güneş ışığı lambalarını asbest, radon, sigara, alkol ve hepatitin de bulunduğu faktörleri içeren kanser risk faktörleri grubuna sokmuştur. UV radyasyonunun melanom etyolojisindeki rolü foto ürünlerinin formasyonu ile oluşan DNA hasarından ve reaktif oksijen türlerinin üretiminden (UV ile indüklenen oksidatif stres, enflamasyon ve fotoyaşlanmaya katkı yaparlar) kaynaklanmaktadır. Melanomun önlenmesi amaçlı geliştirilmekte olan ümit vadeden antioksidan ajanların çoğu gıda kaynaklıdır. Primer, sekonder ve tersiyer önleme stratejilerinin geliştirilmelerinin, kansere neden olan mutasyonların ve devamında malignite oluşumunun güvenli bir şekilde önlenebilme potansiyeli vardır. Başarılı önleme stratejilerinin melanom kaynaklı morbidite ve mortaliteyi azaltmakta çok büyük potansiyeli mevcuttur.

Metastatik melanomun prognozu geleneksel kemoterapötiklere (dakarzabin) cevap alınamaması nedeniyle oldukça kötüdür. Tüm melanomların yaklaşık %50'si aktive edici BRAF mutasyonuna sahiptir. BRAF inhibitörleri sahip oldukları çok iyi klinik etkinlik ve iyi güvenlik profili nedeniyle hedefe yönelik antikanser tedavisine mükemmel bir örnek oluşturmaktadırlar. Metastatik melanom hastalarındaki BRAF'ın mutasyonlu veya normal alt kümelere ayrılarak sınıflandırılması, hastalığın prognoz ve tedavine yaklaşımın değişmesine neden olmuştur. Diğer kanser tiplerine benzer şekilde, moleküler bir hedefin keşfi, terapötik hedefin tanımlanmasına yol açmaktadır (örn. meme kanseri için HER2, NH lenfomalar için CD20, kolorektal ve rektal kanserler için EGFR). Aynı patern BRAF mutant melanomlar için de geçerlidir. Bu mutasyonun varlığı daha genç yaşta başlangıç ve agresif seyir ile ilişkilidir. Ancak spesifik inhibitörlerin geliştirilmesi ile bu melanomlu hasta grubundaki prognoz dramatik bir şekilde iyileşmiştir. Gerçekten de BRAF inhibitörlerinin ipilimumab gibi diğer aktif ajanlarla veya aynı yolağı hedefleyen MEK inhibitörleri gibi diğer sinerjistik ajanlarla kombinasyonları, etkinliğin daha da artması ve toksisitenin veya yan etkilerin azalması potansiyeline sahiptir. Tek ajanla yapılan bu çalışmaların ümit vadeden sonuçlarına dayanarak melanom hastalarının geleceğini farklı şekilde dizayn etme zamanı olabilir: Kombinasyon stratejileri [37].

Referanslar

1. Lazovich DA, Vogel RI, Berwick M, Weinstock MA, Anderson KE, Warshaw EM (2010). Indoor tanning and Risk of Melanoma: A case-control study in a highly exposed population. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 19(6):1557–1568.
2. Pho L, Grossman D, Leachman SA (2006) Melanoma genetics: a review of genetic factors and clinical phenotypesin familian melanomas. Curr Opin Oncol 18(2):173–179
3. Balch CM, Buzaid AC, Soong SJ, Atkins MB, Cascinelli N, Coit DG, Fleming ID, Gershenwald JE, Houghton A Jr, Kirkwood JM, McMasters KM, Mihm MF, Morton DL, Reintgen DS, Ross MI, Sober A, Thompson JA, Thompson JF (2001) Final version of the American joint committee on cancer staging system for cutaneous melanoma. J Clin Oncol 19:3635–3648
4. Gruijl FR (2003) IL-40 UV carcinogenesis and melanocytes. Pigment Cell Res 16:591
5. Ghissassi F, Baan R, Straif K, Grosse Y, Secretan B, Bouvard V, Benbrahim-Tallaa L, Guha N, Freeman C, Galichet L, Cogliano V (2009) On behalf of the WHO international agency for

research on cancer monograph working group. Special report: policy a review of human carcinogens—Part D: radiation. Lancet Oncol, 10(8):751–752
6. WHO (2006) International agency for fresearch on cancer. exposure to artificial UV radiation and skin cancer. IARC working group reports. Vol 1
7. Meyskens FL, Jr McNulty SE, Buckmeier JA, Tohidian NB, Spillane TJ, Kahlon RS, Gonzalez RI (2001) Aberrant redox regulation in human metastatic melanoma cells compared to normal melanocytes. Free Radic Biol Med 31:799–808
8. Rizwan M, Rodriguez-Blanco I, Harbottle A, Birch-Machin MA, Watson RE, Rhodes LE (2011) Tomato paste rich in lycopene protects against cutaneous photo damage in humans in vivo: a randomized controlled trial. Br J Dermatol 164:154–162
9. Talalay P, Fahey JW, Healy ZR, Wehage SL, Benedict AL, Min C, Dinkova-Kostova AT (2007) Sulforaphane mobilizes cellular defenses that protect skin against damage by UV radiation. Proc Natl Acad Sci USA 104: 17500–17505
10. Dinkova-Kostova AT, JW Fahey, AL Benedict, SN Jenkins, L Ye, SL Wehage, P Talalay (2010) Dietary glucoraphanin-rich broccoli sprout extracts protect against UV radiation-induced skin carcinogenesis in SKH-1 hairless mice. Photochemical and Photobiological Sciences 9: 597–600
11. Nichols JA, Katyar SK (2010) Skin photoprotection and natural polyphenol:anti-inflammatory, antioxidant and DNA repair mechanisms. Arch Dermatol Res 302(2):71–83
12. Taniguchi S, Fujiki H, Kobayashi H, Go H, Miyado K, Sadano H, Shimokawa R (1992) Effect of (-)-epigallocatechin gallate, the main constituent of green tea, on lung metastasis with mouse B16 melanoma cell lines. Cancer Lett 65:51–54
13. Wellbrock C, Karasarides M, Marais R (2004) The RAF proteins take centre stage. Nat Rev Mol Cell Biol 5:875–885
14. Namba H, Nakashima M, Hayashi T, Hayashida N, Maeda S, Rogounovitch TI, Ohtsuru A, Saenko VA, Kanematsu T, Yamashita S (2003) Clinical implication of hot spot BRAF mutation, V599E, in papillary thyroid cancers. J Clin Endocrinol Metab 88(9):4393–4397. doi:10.1210/jc.2003-030305.PMID12970315
15. Curtin JA, Fridlyand J, Kageshita T, Patel HN, Busam KJ, Kutzner H, Cho KH, Aiba S, Bröcker EB, LeBoit PE, Pinkel D, Bastian BC (2005) Distinct sets of genetic alterations in melanoma. N Engl J Med, 353:2135–2147
16. Edwards RH, Ward MR, Wu H, Medina CA, Brose MS, Volpe P, Nussen-Lee S, Haupt HM, Martin AM, Herlyn M, Lessin SR, Weber BL (2004) Absence of BRAF mutations in UV-protected mucosal melanomas. J Med Genet 41:270–272
17. Cohen Y, Goldenberg-Cohen N, Parrella P, Chowers I, Merbs SL, Pe'er J, Sidransky D (2003) Lack of BRAF mutation in primary uveal melanoma invest. Ophthalmol Vis Sci, 44:72876–2878
18. Cruz F, Rubin BP, Wilson D, Town A, Schroeder A, Haley A, Bainbridge T, Heinrich MC, Corless CL (2003) Absence of *BRAF* and *NRAS* mutations in uveal melanoma. cancer res, 63(18):5761–5766
19. Maldonado JL, Fridlyand J, Patel H, Jain AN, Busam K, Kageshita T, Ono T, Albertson DG, Pinkel D, Bastian BC (2003) Determinants of BRAF Mutations in Primary Melanomas. J Natl Cancer Inst 95(24):1878–1890
20. Maurer G, Tarkowski B, Baccarini M (2011) Raf kinases in cancer-roles and therapeutic opportunities. Oncogene 30:3477–3488
21. Long GV, Menzies AM, Nagrial AM, Haydu LE, Hamilton AL, Mann GJ, Hughes TM, Thompson JF, Scolyer RA, Kefford RF (2011) Prognostic and clinicopathologic associations of oncogenic BRAF in metastatic melanoma. JCO April 1, 29(10):1239–1246
22. Huncharek M, Caubet JF, McGarry R (2001) Single-agent DTIC versus combination chemotherapy with or without immunotherapy in metastatic melanoma: a meta-analysis of 3,273 patients from 20 randomized trials. Melanoma Res, 11(1):75–81
23. Tarhini AA, Iqbal F (2010) CTLA-4 blockade: therapeutic potential in cancer treatments. Onco Targets Ther 3:15–25

24. Robert C, Ghiringhelli F (2009) What is the role of cytotoxic T lymphocyte-associated antigen 4 blockade in patients with metastatic melanoma? Oncologist 8:848–861
25. Bollag G, Hirth P, Tsai J, Zhang J, Ibrahim PN, Cho H, Spevak W, Zhang C, Zhang Y, Habets G et al (2010) Clinical efficacy of a RAF inhibitor needs broad target blockade in BRAF-mutant melanoma. Nature 467:596–599
26. Flaherty KT, Puzanov I, Kim KB, Ribas A, McArthur GA, Sosman JA, O'Dwyer PJ, Lee RJ, Grippo JF, Nolop K, Chapman PB (2010) Inhibition of mutated, activated BRAF in metastatic melanoma. N Engl J Med 363:809–819
27. Sosman JA, Kim KB, Schuchter L, Gonzalez R, Pavlick AC, Weber JS, McArthur GA, Hutson TE, Moschos SJ, Flaherty KT et al (2012) Survival in BRAF V600-mutant advanced melanoma treated with Vemurafenib. N Engl J Med 366:707–714
28. Chapman PB, Hauschild A, Robert C, Haanen JB, Ascierto P, Larkin J, Dummer R, Garbe C, Testori A, Maio M et al (2011) Improved survival with vemurafenib in melanoma with BRAF V600E mutation. N Engl J Med 364:2507–2516
29. Kefford R et al (2010) Phase I/II study of GSK2118436, a selective inhibitor of oncogenic mutant BRAF kinase, in patients with metastatic melanoma and other solid tumors. J Clin Oncol 28:15 s, (suppl; abstr 8503)
30. Amiri P, Aikawa ME, Dove J et al (2006) CHIR-265 is a potent selective inhibitor of c-Raf/B-Raf/$_{mut}$B-Raf that effectively inhibits proliferation and survival of cancer cell lines with RAS/RAF pathway mutations. Proc Am Assoc Cancer Res, 47 (Abstract 4855)
31. Stuart DD, Li N, Poon DJ, Aardalen K, Kaufman S, Merritt H, Salangsang F, Lorenzana E, Li A, Ghoddusi M, Caponigro G, Sun F, Kulkarni S, Kakar S, Turner N, Zang R, Tellew J, Pryer N. Preclinical profile of LGX818: a potent and selective RAF kinase inhibitor.#3790
32. http://www.cancertrialsaustralia.com/Clinical-Trials-Register.aspx. Cancer Trials Australia
33. http://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01400451?term=Vemurafinib&rank=5.U.S. NIH
34. Halaban R, Zhang W, Bacchiocchi A, Cheng E, Parisi F, Ariyan S, Krauthammer M, McCusker JP, Kluger Y, Sznol M (2010) PLX4032, a selective BRAF (V600E) kinase inhibitor, activates the ERK pathway and enhances cell migration and proliferation of BRAF melanoma cells. Pigment Cell Melanoma Res 23:190–200
35. Infante JR et al (2011) Phase I/II study to assess safety, pharmacokinetics, and efficacy of the oral MEK 1/2 inhibitor GSK1120212 (GSK212) dosed in combination with the oral BRAF inhibitor GSK2118436 (GSK436). J Clin Oncol 29: (suppl; abstr CRA8503)
36. Niehr et al (2011) Combination therapy with Vemurafinib (PLX4032/RG7204) and Metformin in melanoma cell lines with distinct driver mutations. J Trans Med, 9:76
37. Ascierto PA, Streicher HZ, Sznol M (2010) Melanoma: a model for testing new agents in combination therapies. J Trans Med 8:38

Sonsöz

Rodolfo Saracci

İçindekiler

Referanslar..... 459

Mayıs 2012'de Napoli'de yapılan 3. Nütrisyon ve Kanserdeki İlerlemeler Konferasında sunulan ve bu kitapta yer alan çok çeşitli konuları ve araştırma perspektiflerini özetlemeye çalışma çabası en iyi ihtimalle tekrar, en kötü ihtimalle de kafa karıştırıcı olacaktır. Bu nedenle, burada yapacağımız özet Ekim 1998'de Napoli'de yapılan 2. Nütrisyon ve Kanserdeki İlerlemeler Konferansında ortaya çıkan veya ortaya çıkmakta olan birkaç önemli konuyu kapsayacaktır.

Kesin olan birşey varsa o da dünyanın ve özellikle de insan sağlığına ilişkin nütrisyon dünyasının 1998 yılından itibaren ciddi anlamda değişime uğramış olmasıdır. İnsanoğlunun sayı, ağırlık ve boyları artmaktadır. Dünya nüfusu altı milyardan yedi milyara doğru büyüdükçe, fazla kilo ve obezite sadece ekonomik anlamda gelişmiş ülkelerde değil, dünyanın daha az zengin bölgelerinde de hızla yayılmaktadır. Ortalama insan boyunun azaldığı bir ülke yoktur. Aksine ortalama boylar ya artmakta ya da sabit seyretmektedir. Bu majör ve hala devam etmekte olan trendlerin ana belirleyicisi gıda tüketimidir. Dünya çapında nütrisyona yönelik etkili önlemler alınmadığı sürece bu trendler gelecekte de sürerek mutlak kanser rakamlarının artışına yol açacaktır.

R. Saracci
Institute of Clinical Physiology, National Research Council, via Trieste 41, 56100, Pisa, Italy

R. Saracci (✉)
Istituto di Fisiologia Clinica, CNR, via Trieste 41, 56100, Pisa, Italy
e-mail: saracci@hotmail.com

V. Zappia et al. (eds.), *Advances in Nutrition and Cancer,*
Cancer Treatment and Research 159, DOI: 10.1007/978-3-642-38007-5_26,
© Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2014

Ayrıca fazla kilo (hayat boyu süren kalorik dengesizliğin göstergesi) ile veya boy (erken yaşamdaki nütrisyonun göstergesi) ile ilgili olduğu gösterilen kanser türlerinde de muhtemel artışlar olacaktır. Nütrisyonun intrauterin hayat, çocukluk ve adolesan dönemdeki rolü ile erişkin yaşamdaki uzun dönemli sağlık ve kanseri de içeren hastalıklar üzerindeki etkilerini verimli bir şekilde "hayat seyri" boyunca araştıran çalışma alanı gelişmiştir [1].

Ayrıca biyolojide de devrim niteliğinde gelişmeler olmuştur. İnsan genomunun tümünün yapısı 2003 yılında belirlenmiştir. Bu başarı, şaşırtıcı bir hızla gelişen genomik ve sonrasında da epigenomik bilimleri nedeniyle adeta çok uzun süre önce yapılmış bir keşif hissi vermektedir. Hem genomik hem epigenomik bilimleri, son iki dekaddaki kayda değer teknolojik gelişmelerle hızla büyüyerek günümüzdeki biyolojik araştırmalara sistematik ve global yaklaşımı mümkün kılmıştır. Bu araştırma konularına örnek olarak, intestinal floranın seçilmiş mikroorganizmaları yerine intestinal mikrobik topluluğun kollektif genomları adı verilen insan intestinal mikrobiyom "evreninin" diyet bileşenlerini etkileyerek karsinogenezde çeşitli rolleri olan bileşikler oluşturma yetenekleri verilebilir [2]. Benzer şekilde çeşitli bitki ekstrelerinin tüm metabolitlerinde (metabolom) mevcut olan ve (onkolojiyi de içeren) insan farmakolojisi ile potansiyel olarak ilişkili bileşikler günümüzde mevcut olan nükleer manyetik rezonans teknikleriyle ölçülebilmektedir. DNA'nın lezyonlara karşı korunma düzeyini optimize edebilecek veya karsinogenezde potansiyel epigenetik yolaklar olan DNA metilasyon paternlerini etkileyebilecek bireysel düzeydeki mikrobesinlerin optimal kombinasyonunu (bireysel "nütriom") belirlemekte genom boyunca yapılan metilasyon testleri kullanılmaktadır [4]. Bu yaklaşımların gelecek 10 yıl içinde nütrisyonel faktörlerin kanserin oluşumunda rol oynayan ana mekanizmaları ile ilgili anlayışımızı nasıl değiştireceğini görmek en fazla ilgi çeken alan olacaktır. Bu yaklaşımlar ile ortaya çıkan çok büyük miktardaki veriyi analiz etmek için yaratıcı yöntemlere ihtiyaç olduğu kesindir.

Genomik ve epigenomik (bu yeni sistemik yaklaşımlara ek olarak), kanser hücrelerine özgü ölümü indükleyen epigenetik dönüştürücülerden [5], normal ve kanseröz insan hücrelerinin hayat sürelerini belirleyen telomeraz üzerindeki epigenetik etkileri oluşturan nütrientler ile ilgili araştırmalara kadar olan hedefe yönelik çalışmaların boyutlarını ve derinliklerini büyük oranda artırmıştır [6].

Bu kadar hızla ilerleyen alanların mevcudiyetine karşın, diğer bazı araştırma konuları görece olarak yavaş ilerlemektedir. Bazı konular ile ilgili 15 yıl önce hatırladıklarımı hala bugün de hatırlıyor olmam, ilerlemenin umulandan çok daha yavaş olduğunun göstergesidir. Bu konuların en başta geleni, iyileşme, konsantrasyon ve yer değiştirme kategorileri ile ilgili nutrient ve gıdalara spesifik maruziyet biyomarkerlerine olan ihtiyaçtır. Örneğin altın standart olarak kabul edilen iyileşme biyomarkerleri kategorisinde, enerji alımını ve idrardaki nitrojen, potasyum ve sodyumu ölçmek için hala ciddi anlamda kısıtlı olan çift etiketli su yöntemini kullanıyoruz. İnsanların bugün , dün ve geçmişte neyi ne şekilde yedikleri konusu, araştırma ajandasında sürekli yer alan bir problem olmaya devam etmektedir. Yukarıda bahsettiğimiz sistemik yaklaşımlarla korelasyon halindeki

kapsamlı gıda ve besin öğesi tüketim paternleri, bu tür profillerin spesifik gıda tüketimleri için güvenilir biyomarkerler olup olmadığını inceleyen yeni araştırma alanlarıdır. Gıda ve besin öğesi alımının sağlık üzerindeki erken ve geç etkilerinin biyomarkerleri arasındaki nedensel bağlantıları değerlendiren kontrollü randomize çalışmalar yapılmaya devam etmektedir. Ancak bunlar çeşitli pratik uygulamalar yönünden sıklıkla zahmetli ve problemli çalışmalar olup sayıları giderek azalmaktadır.

Bu çok hızlı ve yavaş ilerleyen araştırma konuları arasında, insanların yemek yeme alışkanlıklarının nütrisyonel analizi mevcuttur. Bu konuda 1998 yılından beri bazı yeni bulgular bildirilmiş, eskiden bildirilen bazı sonuçlar da konfirme edilmiştir. Bir diyette bulunan multipl besin öğelerinin birlikte etki göstererek absorpsiyon, metabolizma ve biyolojik etkileri modifiye ettikleri uzun süredir bilinmektedir. Bu nedenle sadece besin öğelerinin değil, belirli gıdaların, gıda sınıflarının ve gıda paternlerinin araştırılması gerekmektedir. Antioksidan içerikleri yönünden zengin olan sebze ve meyvelerin kolorektal kanseri de içeren çeşitli kanser türlerini engelleyici etkileri olduğu kabul edilmektedir. 2010 yılının sonuna kadar yayınlanan tüm prospektif çalışmaları içeren güncel bir metaanaliz bu koruyucu etkiyi sadece kısmen konfirme etmektedir [7]. Fark sadece yüksek miktarda meyve ve sebze tüketen bireylerle çok az tüketen bireyler arasında gösterilebilmiştir. Ancak uygun miktarda sebze ve meyve tüketen bireylerin tüketimlerinin günlük 100 gramın üstüne yükseltilmesi ilave bir koruma sağlamamaktadır. 1990'lardan itibaren "Akdeniz diyetlerinin" sadece kardiyovasküler hastalıklara karşı değil, aynı zamanda metabolik hastalıklara ve kanserlere karşı da koruyucu olduğunu gösteren kanıtlar farklı platformlarda konfirme edilmiştir [8]. Alınan kalori ile harcanan kalori arasındaki temel ve ince ayar gerektiren dengeyi sağlayabilen bu diyetler (formda kalmaya yardımcı olan düzenli fiziksel aktivite yardımıyla) İtalya'daki makarna tüketimi gibi bazı lokal farklılıklar içermelerine rağmen ortak komponentler içerirler. Ortak komponentler şunlardır: Yüksek tahıl, baklagiller, sebze ve balık tüketimi; düşük kırmızı et, işlenmiş et ve alkol tüketimi; diyet kombinasyonunda önemli bir faktör olan zeytinyağı ile yüksek monoansatüre yağ oranı.

Bu kalitatif ve kantitatif özellikler şu genel tavsiye ile hoş bir uyum sergilemektedir: "Her şeyi aşırıya kaçmadan kararında tüketiniz. Aşırıya kaçmamada da aşırıya kaçmayınız". Bu sadece iyi bir sağlık için değil, Aristo'nun da çok önceden bildiği gibi "iyi bir yaşam" için de gereken dengeli ve dinamik bir reçetedir.

Referanslar

1. Lillycrop KA, Burdge GC (2013) Breast cancer and the importance of early life nutrition. In: Zappia V, Russo GL, Panico S, Budillon A, Della Ragione F (eds) Advances in nutrition and cancer 3. Springer-Verlag GmbH, Heidelberg
2. Hullar MAJ, Burnett-Hartman AN, Lampe JW (2013) Gut microbes, diet and cancer. In: Zappia V, Russo GL, Panico S, Budillon A, Della Ragione F (eds) Advances in nutrition and cancer 3. Springer-Verlag GmbH, Heidelberg

3. Fenech MF (2013) Nutriomes and personalised nutrition for DNA damage prevention, telomere integrity maintenance and cancer growth control. In: Zappia V, Russo GL, Panico S, Budillon A, Della Ragione F (eds) Advances in nutrition and cancer 3. Springer-Verlag GmbH, Heidelberg
4. van Veldhoven K, Rahman S, Vineis P (2013) Epigenetics and epidemiology: models of study and examples. In: Zappia V, Russo GL, Panico S, Budillon A, Della Ragione F (eds) Advances in nutrition and cancer 3. Springer-Verlag GmbH, Heidelberg, Germany
5. Conte M, Altucci L (2013) Functions, aberrations and advances for chromatin modulation in cancer. In: Zappia V, Russo GL, Panico S, Budillon A, Della Ragione F (eds) Advances in nutrition and cancer 3. Springer-Verlag GmbH, Heidelberg
6. Tollefsbol TO (2013) Dietary Epigenetics in cancer and aging. In: Zappia V, Russo GL, Panico S, Budillon A, Della Ragione F (eds) Advances in nutrition and cancer 3. Springer-Verlag GmbH, Heidelberg
7. Norat T, Aune D, Chan D, Romaguera D (2013) Fruits and vegetables. Updating the epidemiologic evidence for the WCRF-AICR lifestyle recommendations for cancer prevention. In: Zappia V, Russo GL, Panico S, Budillon A, Della Ragione F (eds) Advances in nutrition and cancer 3. Springer-Verlag GmbH, Heidelberg
8. Panico S, Mattiello A, Panico C, Chiodini P (2013) Mediterranean dietary pattern and chronic diseases. In: Zappia V, Russo GL, Panico S, Budillon A, Della Ragione F (eds) Advances in nutrition and cancer 3. Springer-Verlag GmbH, Heidelberg

Türkiye Kanserle Savaş Vakfı'nın hekimlere armağanıdır.

www.nobeltip.com

ISBN 978-975-96147-3-7

9 789759 614737