

AKCİĞER KANSERİNDE İLAÇ DİRENCİ

Mustafa ÖZGÜROĞLU

İstanbul Üniversitesi, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı Tıbbi Onkoloji Bilim Dalı, İSTANBUL

ÖZET

Tümör hücreleri bir veya birden fazla sitostatige karşı çeşitli mekanizmalarla direnç geliştirebilmektedir. Direnç genellikle kanser hücrelerindeki spontan mutasyonlar sonucu meydana gelmektedir. Klinikte tesbit edilemediği erken dönemde, yani tümör hücre sayısı 10^4 - 10^6 boyutuna ulaştığında dirençli fenotip oluşmaktadır. Başka bir deyişle, ilaca dirençli hücre gruplarının her tümörde mevcut olduğu söylenebilir. Dirençli hücre popülasyonları oluşmadan, mümkün olduğu kadar erken dönemde ve farklı etki mekanizması olan ilaçların kombine kullanıldığı tedaviler kanser tedavisindeki başarıyı arttırmaktadır. Akciğer kanserinde görülen ilaç direnci hem küçük hücreli, hem de küçük hücreli dışı akciğer kanserinde tedavideki başarının önündeki en önemli engeldir. Akciğer kanserinde çoklu ilaç direncinden sorumlu MDR, MRP ve LRP genleri ve ürünleri, glutatyon ve DNA tamir mekanizmaları direnç mekanizmasında önemli rol üstlenmiştir. ERCCI, beta-tubulin ve ribonükleotid reduktaz mutasyonu gibi moleküler birtakım göstergelerin saptanması, bireysel bazda genomik farklılıkları gösterecek ve kısa bir süre sonra akciğer kanserinde günlük uygulamalarda tedavi planlama aşamasında yerini alacaktır.

Ahahtar kelimeler: Akciğer kanseri, ilaç direnci, kemoterapi

(Solunum 2003;5:180-183)

SUMMARY

DRUG RESISTANCE IN LUNG CANCER

Resistance to chemotherapeutic agents is a major problem in the treatment of patients with small cell (SCLC) and nonsmall cell lung cancer (NSCLC). Acquired multidrug resistance is the main obstacle for the cure of SCLC. Certain genetic abnormalities may target specific cytotoxic drugs and intervene with the mechanism of resistance development at an early stage during NSCLC treatment. Therefore it is futile to prescribe combinations of cytotoxic drugs to a vast majority of these patients. The following genetic abnormalities have been found to be useful surrogate markers of therapeutic response: ERCCI m RNA levels for platin, beta-tubulin mutations for taxane and vinorelbine and ribonucleotide reductase gene for gemcitabine. Detection of these genomic differences which are predictive of drug resistance and response will allow the individualization of treatment modalities in near future.

Key words: Lung cancer, kemoterapy, resistance to chemotherapy

(Solunum 2003;5:180-183)

GENEL OLARAK KANSERLİ OLGULARDA “İLAÇ DİRENCİ” KAVRAMI İLE NE ANLATILMAK İSTENMEKTEDİR?

Sık karşılaştığımız birçok kanser türünde (kolon kanseri ve küçük hücreli dışı akciğer kanseri gibi) sitotoksik tedaviye yanıt oranları oldukça düşüktür. Bazı tümörlerde (meme, over ve küçük hücreli akciğer kanseri gibi) ise başlangıçta iyi yanıt alınmasına rağmen sonradan gelişen “edinsel direnç” nedeniyle tedavideki şifa şansı belirgin

ölçüde azalmaktadır. Kemoterapötik ajanlara karşı primer veya edinsel direnç oluşumunda tümör hücrelerinin kanser ilacına karşı intrinsik direnci en önemli etkindir. Bunun yanında tümör hücrelerinin proliferatif durumu ve tümörün çevre faktörleriyle ilişkisi (damarlanma durumu, ilacın dokuya penetrasyonu) gibi birtakım faktörler de ilaç direncinden ikincil derecede sorumlu tutulmaktadır.

İlaçlara karşı “intrinsik duyarlılık”, tümürlü ve normal dokudaki hücre gruplarında değişmesi yanında, aynı tümör içindeki hücreler arasında bile farklılık

Yazışma adresi: Doç. Dr. Mustafa ÖZGÜROĞLU, İstanbul Üniversitesi, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Tıbbi Onkoloji Bilim Dalı, İSTANBUL
Tel.: (0212)

göstermektedir. Klinik uygulamalardaki başarının önündeki en önemli engellerden biri tedavi esnasında “ilaça dirençli hücre popülasyonunun” seleksiyonudur. İlaça dirençli hücre popülasyonu başlangıçta çok düşük oranlarda olsa bile (10^5 duyarlı hücreye karşılık 1 dirençli hücre gibi), tedavi esnasındaki seleksiyon sonucunda kısa sürede dominant hücre popülasyonu söz konusu dirençli hücre grubundan oluşacaktır. Klinik uygulamalarda bu durum “edinsel direnç” şeklinde karşımıza çıkacaktır.

İLAÇ DİRENCİDEN SORUMLU MEKANİZMALAR

Antineoplastik ajana karşı direnç, çeşitli mekanizmalarla olabilmektedir (Tablo I):

1. Kanser hücresi üzerinde etkili olabilmesi için sitotoksik ilacın aktif hale gelmesi gereklidir. Aktif hale gelmesi için ise ilacın,
 - a. Kanser hücresinin içine girmesi
 - b. Aktif metabolite çevrilmesi gereklidir
2. Hücre içine girdikten sonra hücredeki hedef dokusuna ulaştığında,
 - a. Metabolik olarak inaktive olmamalı
 - b. Kimyasal olarak inaktive olmamalı
 - c. Hücreden hızlıca atılmamalı
3. Hücredeki hedef dokuya ulaştığında,
 - a. Kanser hücresi hedef molekülü değiştirememeli
 - b. Hedefi tamir edememeli
 - c. Apoptoz mekanizması tam olarak çalışmalı

Tablo I: Sitostatiklere karşı direnç oluşumunda rol oynayan mekanizmalar

Mekanizma	İlaçlar
Hücreye alınmada azalma	Sisplatin Alkilleyiciler
Hücreden atılmada artma	Vinka alkaloidleri Etoposid Taksanlar
İlaç aktivasyonunda azalma	Antimetabolitler
İlaç katabolizmasında artma	Antimetabolitler
Hedef enzimde artma veya azalma	Topoizomerez inhibitörleri
Hedef enzim yapısında değişiklik	Topoizomerez inhibitörleri
Sulfhidril gruplarının bağlanmasıyla inaktivasyon (glutatyon gibi)	Sisplatin Alkilleyiciler
DNA tamirinde artma	Sisplatin Alkilleyiciler
Apoptoz oluşumunda azalma	Sisplatin Etoposid Alkilleyiciler

İlaç direncinde rol oynayan mekanizmaların çoğunluğu aslında genetik kökenlidir. Bunu destekleyen veriler aşağıda özetlenmiştir:

1. İlaça dirençli hücrelerin tüm özellikleri, ilaça hiç

- karşılaşılmasa yani kanser hücreleri seleksiyona uğramasa dahi, kalıtsal geçiş göstermektedir.
2. İlaça dirençli hücreler genetik mutasyonlarla benzer oranda spontan olarak oluşmaktadır.
3. Gen mutasyonu veya amplifikasyonunu arttıran bazı ilaçlarla temas halinde ilaca dirençli hücrelerin oluşumu artmaktadır. Birçok sitotoksik ilaç, mutasyon ve gen amplifikasyonunu hızlandırarak ilaca karşı direnç gelişimini de hızlandırmaktadır.

1984 yılında Goldie-Coldman tarafından tanımlanan hipoteze göre, tümör içerisinde dirençli bir hücre bulunma olasılığı tamamen tümör boyutu ile orantılıdır. Bu bilgi bize kür şansının erken mikroskopik hastalık döneminde daha fazla olduğunu göstermektedir. Goldie-Coldman modeline göre aralarında çapraz direnç olmayan iki ilaç ardışık yerine alterne şekilde kombine edilirse, her iki ilaca karşı dirençli hücre popülasyonlarının oluşması güçleşecektir.

Akciğer kanserli olgularda ilaç direnci hastalığın seyriinde önemli yer tutuyor mu? Sıklıkla karşılaşılan ilaç dirençleri nelerdir?

Küçük hücreli(KHAK) ve küçük hücreli dışı akciğer kanseri(KHDAK) olarak 2 ana başlık altında değerlendirilen akciğer kanserinde, ileri evre olgularda her iki grupta da sağkalım 1 yılın altındadır. KHAK’de temel ilaç kombinasyonu sisplatin/etoposid (PE), KHDAK’de ise eski jenerasyon olarak nitelendirilen PE ve platin/ifosfamis/mitomisin (MIC) yanında, yeni jenerasyon kombinasyonlardan platin/taksanlar, platin/vinorelbin, platin/gemsitabin kombinasyonları sık olarak kullanılmaktadır

Akciğer kanseri tedavisi esnasında başlangıçtaki tümör yanıtına rağmen bir süre sonra kemoterapiye dirençli hücre popülasyonu gelişmekte ve progresyona neden olmaktadır. Akciğer kanserinde en sık kullanılan ilaçlardan biri olan sisplatin direncinde sülfhidril bileşiklerine bağlanma, platin-DNA komplekslerinin uzaklaştırılması ve diğer DNA tamir mekanizmaları yanında, hücre içine girişteki azalma da önemli rol oynar.

İlacın hücreye alınmada azalmaya bağlı ilaç direnci

İlacın hücre içine girmesi 3 farklı mekanizmayla olabilmektedir.

1. *Pasif difüzyon:* Isı ve enerji gerektirmeyen, hücre yüzeyinde hiçbir reseptörle etkileşime geçmeden hücreye ilaç girmesi
2. *Kolaylaştırılmış difüzyon:* Enerji ve ısı gerektirmeyen, ancak hücre yüzeyinde taşıyıcı bir moleküle kimyasal etkileşime girerek hücre içine ilaç girmesi
3. *Aktif transport:* Taşıyıcı moleküle, enerji ve ısı gerektiren şekilde hücreye girer.

Söz konusu mekanizmaların aksaması sonucunda hücre içine alınamayan ilaç aktifleşmeyeceğinden dolayı beklenen etkiyi gösteremeyecektir.

Akciğer kanserinde multipl ilaç direnci

Kanser hücreleri aynı anda birden fazla kemoterapötik ilaca karşı da direnç geliştirebilir. Bu durum multipl ilaç direnci olarak tanımlanmaktadır. Akciğer kanserinde aktif birçok ilaçta (örneğin etoposid, vinka alkaloidleri ve taksanlar) ortak direnç mekanizmaları rol oynamaktadır (Tablo II). Bu ilaçlar membranda bulunan pompalar aracılığı ile hücre dışına atılmaktadırlar. Bu grupta bilinen 3 farklı molekül vardır: P-glikoprotein pompası((PGP), multidrug rezistan protein(MRP) ve akciğer rezistan protein(LRP).

P-glikoprotein pompası (P=pleiotropik) bunlar arasında en fazla bilinendir. P-glikoprotein (p-170) ATP-bağlayan ve ABC ailesi olarak isimlendirilen gruba dahil edilen bir moleküldür. Çeşitli antineoplastik ilaçları zardan taşır. PGP ile taşınan ilaçlar hidrofobiktir. Bu grupta vinka alkaloidleri, etoposid ve taksanlar yer alır. 7. kromozomda bulunan MDR1 geni tarafından kodlanmaktadır. Normal böbrek ve sürrenalde yüksek düzeyde, akciğer, karaciğer, kolon ve rektum dokusunda orta düzeyde, diğer dokularda ise çok düşük düzeylerde bulunmaktadır.

KHAK'de PGP geninin artmış ekspresyonu kötü prognoz göstergesidir. İlaç direncinin üstesinden gelmek için MDR inhibitörü olan verapamil, kalmodulin inhibitörleri(kinidin, klorokin) siklosporin analogu gibi çeşitli ilaçlar denenmektedir.

MRP, çapraz direnç gösteren, ancak PGP eksprese etmeyen bazı kanserlerde saptanan başka bir taşıyıcı proteindir. PGP gibi ABC ailesinden bir moleküldür. Ancak yapısal olarak PGP'ye benzememektedir. Aminoasidlerinin sadece %15'i PGP ile benzerdir. Bazı kanser ilaçlarının kanser hücresi içinde birikmesine engel olur. Ancak etkili olduğu ilaç spektrumu PGP'den farklıdır. 16. kromozom tarafından kodlanmakta ve hem hücre zarında, hem de endoplazmik retikulumun iç zarlarında bulunmaktadır. Akciğer kanserinde taksan direncinden kısmen sorumludur. Akciğer kanserinde artmış ekspresyonu gösterilmiştir. MRP antagonisti olan ve glutasyonu azaltan birtakım ilaçlar da direnci azaltmak amacıyla denenmektedir. *LRP* ise çoklu ilaç direncinden sorumlu başka bir moleküldür. Birçok farklı ilaca karşı dirence neden olmaktadır. 16. kromozom üzerinde bulunan bir gen tarafından kodlanmakta ve intrasellüler organel olan "vault" ismindeki yapılarda bulunan 100-kDa ağırlığında bir moleküldür. İlacı vault denilen vesiküllere, oradan da hücre dışına pompalamaktadır.

Çoklu ilaç direncinden sorumlu herhangi bir molekülün ekspresyonu ilaç direncinin göstergesidir. Birden fazla

molekülün birlikte ekspresyonu halinde direnç çok daha fazladır. LRP ekspresyonu diğer moleküllere kıyasla direncin daha fazla olduğunu ve MDR ile ilişkili olmayan ilaçlara karşı da direnç geliştiğini göstermektedir.

Tablo 2: Multipl ilaç direnci nedenleri ve sitostatiklerle ilişkisi

P-glikoprotein	MRP	LRP	Topo-II azalması
Vinka alkaloidleri	Vinka	Sisplatin?	Etoposid
Etoposid	Etoposid	Alkilleyiciler?	
Paklitaksel			
Dosetaksel			

KHAK'li olgularda yapılan bir çalışmada LRP, MRP, MDR1 ekspresyonu sırasıyla %74.2,%80.3 ve %37.9 bulunmuştur. 2 veya 3 genin aynı anda eksprese edilmesi medyan sağkalımı belirgin ölçüde azaltmaktadır. KHAK'de de kemoterapi direnci oldukça önemli bir sorundur. MDR1 ve MRP, KHAK'de sıklıkla eksprese edilmektedir. 50 olguk bir çalışmada kemoterapiye iyi yanıt veren 27 olgunun hiçbirinde PGP ve MRP ekspresyonu saptanmamıştır. Kemoterapiye yanıtız 23 olgunun sadece 4 olguda PGP veya MRP negatif bulunmuştur.

Topoizomeraz ve ilaç direnci

DNA topoizomerazlar DNA yapısındaki topolojik değişiklikleri katalize eden, DNA'nın replikasyonu ve RNA transkripsiyonu için gerekli enzimlerdir. Topo 1 kromozom 20'de, topo II-alfa kromozom 17 ve II-beta ise kromozom 3'de kodlanmıştır. Kalitatif ve kantitatif Topo II'deki değişiklikler ilaç direncine neden olmaktadır. Fosforilasyon ve nokta mutasyonları topoII fonksiyonlarını değiştirmektedir.

Glutasyon ve ilaç direnci

Sitotoksik ilaçlar reaktif ara ürünler oluşturarak hücre hasarına neden olurlar. Hücreler yüksek oranda glutasyon gibi fazla miktarda sülfhidril içeren bileşikler üreterek kendilerini hasardan korurlar. İndirgenmiş glutasyon, peroksidleri ve serbest radikalleri inaktive eder. Alkilleyicilerde bulunan pozitif yüklü elektrofilik moleküllerle de reaksiyona girer. Bu reaksiyonlar da glutasyon peroksidaz ve glutasyon S-transferaz(GST) tarafından katalize edilir. İndirgenmiş glutasyon ile konjuge olan ilaçlar da GS-X pompası tarafından hücre dışına atılırlar. Bu pompa MRP ile de bağlantılı çalışmaktadır. Yüksek GST düzeyleri alkilleyicilere karşı dirençten sorumludur. Artmış metalotionein düzeyi içerdiği kükürt molekülüne bağlı olarak sisplatin ve alkilleyicilere karşı dirençten sorumludur.

İlaç direnci ve DNA tamiri

DNA tamir mekanizmaları sisplatin ve alkilleyicilere karşı direnç oluşumunda oldukça fazla önem taşımaktadır. Özellikle DNA-“adduct”larının tamir mekanizmaları ile hızlıca ortamdaki uzaklaştırılması ilaçlara karşı direnç gelişmesinde önemli rol oynamaktadır. Alkilleyiciler tarafından oluşturulan DNA hasarı 3 şekilde tamir edilmektedir:

1. Hasarın tamamen tersine döndürülmesi
2. Nükleotid-eksizyon tamiri(NER)
3. Rekombinasyon veya komplementasyon yolu ile tamir

NER’de rol oynayan eksizyon-tamir geninin artmış ekspresyonu özellikle sisplatin direncinde önemli rol oynadığı gösterilmiştir.

Genetik yöntemlerle akciğer kanserinde ilaç direncinin belirlenmesi günlük uygulamalarımızı etkileyecek düzeyde mi?

Birtakım genetik bozukluklar özellikle bazı ilaçlara karşı direnç oluşumunda oldukça erken bir safhada rol oynamaktadır. Kemoterapiye yanıtı veya direnç durumunu önceden belirleyebilecek genomik farklılıkların saptanması bireysel tedavi planlanmasını mümkün kılacaktır. Akciğer kanserinde kullanılan kemoterapi kombinasyonlarında en temel ilaç sisplatinidir. DNA tamir kapasitesi sisplatin içeren rejimlere cevabı etkiler. Yukarıda değinildiği gibi ERCC1 mRNA’nın artmış ekspresyonu sisplatin direnci söz konusudur. Ribonükleotid redüktazın artmış ekspresyonunda ise gemsitabinin etkinliği belirgin şekilde azalmaktadır. Ribonükleotid redüktaz geninin bulunduğu kromozom 11p15.5 bölgesinin saptanması gemsitabin metabolizmasının değerlendirilmesi açısından önem taşımaktadır. Beta-tubulin III ve stathmin’in artmış ekspresyonu ise mikrotubule etkili ilaçlara (paklitaksel ve vinorelbin) yanıtı azaltmaktadır (Tablo 3).

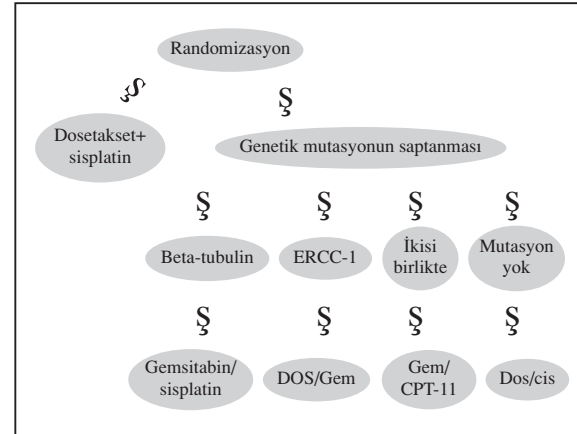
Tablo 3: Kemoterapinin bireyselleştirilmesinde kullanılabilen prediktif genetik testler

İlaç	Genetik belirleyici test
Sisplatin	ERCC1 mRNA
Vinorelbin	Beta-tubulin III mRNA Stathmin mRNA
Taksanlar	Beta-tubulin III mRNA
Gemsitabin	RRM1 mRNA

Tablo 3’de özetlenen prediktif genetik testler gözönüne

alınarak KHDAK’de randomize “genotyping international lung cancer study” (GILT) çalışması planlanmıştır (Şekil 1).

Bu çalışma sonucunda KHDAK’de bireysel bazda genetik testlerin öngördüğü şekilde ilaç seçiminin hastaya katkısı olup olmayacağı belirlenecektir.



Şekil 1: Prediktif genetik testler gözönüne alınarak oluşturulan GILT çalışmasının planı

KAYNAKLAR

1. Tannock IF, Goldenberg GJ. Drug resistance and experimental chemotherapy. In: Tannock IF, Hill RP, eds. The basic science of oncology. 3rd eds. New York, Mc Graw Hill, 1998;(ch 17), 392-419.
2. Campling BG, Young LC, Baer K, ve ark. Expression of the MRP and MDR1 multidrug resistance gene in small cell lung cancer. Clin Cancer Res. 1997;3:115-122.
3. Bai F, Nakanishi Y, Kawasaki M, ve ark. Immunohistochemical expression of glutathione-S-transferase can predict chemotherapy response in patients with non-small cell lung carcinoma. Cancer 1996;78:416-421.
4. Han B, Liao M, Su J. The relationship between drug sensitivity and expression of drug resistance gene mutations in non-small cell lung cancer. Zhonghua Jie He He Hu Xi Za Zhi 2002;25: 727-731.
5. Hsia TC, LinCC, Wang JJ, Ho ST, Kao A. Relationship between chemotherapy response of small cell lung cancer and p-glycoprotein or multidrug resistance-related protein expression. Lung 2002; 180:173-179.
6. Rosell R, Sanchez JM, Taron M, ve ark. Novel approaches in the treatment of non-small cell lung cancer. Oncology (Huntingt.) 2001;15:52-60.
7. Rosell R, Fossella F, Milas L. Molecular markers and targeted therapy with novel agents; prospects in the treatment of non-small cell lung cancer. Lung Cancer 2002;38 suppl 4:43-49.