

TÜMÖR BİYOLOJİSİNDE TELOMERAZ AKTİVİTESİNİN ÖNEMİ

12.

BÖLÜM

Serdal Sadet ÖZCAN¹

GİRİŞ

Leonard Hayflick 1961'de normal insan fetal hücre kültüründe, hücrelerin sadece 40-60 kez bölünebildiğini, daha sonra büyümenin durduğunu ve hücrelerin replikatif yaşlanma olarak adlandırılan yeni bir yola girdiklerini keşfettiler (1). Bu sınırlı sayıda bölünme fikrini desteklemek için yaptığı çalışmada hücrelerin sınırlı bir replikatif ömre sahip olduğuna dair ek kanıt sağlamanın yanı sıra, yaşlanmış hücrelerin bir moleküler sayma mekanizmasına sahip olduğunu ve bu biyolojik saatin süresi dolduğunda, hücrenin bölünmeyi durduracağını gösterdi (2). Günümüzde belirli sayıdan sonra hücrenin bölünmesinin durmasının (replikatif yaşlanma) kısalmış telomerlerin bir sonucu olduğu bilinmektedir (3). Kanser hücreleri, telomer kısalmasını önleyen mekanizmalar kullanarak yaşlanmanın üstesinden gelme ve sürekli bölünme yeteneği geliştirmişlerdir (4).

TELOMERLER VE TELOMERAZ

Telomerler, genomik DNA'nın bütünlüğünü koruyan ökaryotik kromozomların uçlarında bulunan, tekrarlayan dizilerdir (5). Telomerler, DNA ve shelterin protein komplekslerinden oluşan özel bir nükleoprotein yapısından oluşur. Shelterin kompleksi, telomer stabilitesini sağlayan kritik işlevleri yerine getiren bir protein kompleksidir (6). Telomerler mitoz ve mayoz bölünme sırasında kromozom ayrımı için gereklidir (7) ve birçok kilobaz TTAGGG nükleotid tekrarından oluşur (8). Bu kodlamayan tekrarlar doğumda insanlarda

10-15 kilobaz uzunluğundadır (9). Bu telomerik TTAGGG tekrarları, her hücre bölünmesiyle beraber kısalır (5) ve telomer kısalması sonucu normal insan hücrelerinde büyüme durur ve hücrenel yaşlanma tetiklenmiş olur (10). Hücreler bu şekilde çok uzun yıllar kalabilir ve bu, insanlar için bir şekilde kanserden korunma yöntemi olarak kabul edilebilir (11).

Karsinomlardan türetilen insan tümör hücreleri, genellikle hücrenel yaşlanmayı ve DNA hasarı sinyal yollarını atlar. İnsan hücre kültürü modellerinde, yaşlanma bypassı, önemli hücre döngüsü kontrol noktası genlerinin (TP53, p16 INK4a ve pRb gibi) ortadan kaldırılmasıyla gerçekleştirilebilir ve bu da, sonunda krize neden olan pre-malign hücrelerin çoğalmasına yol açar (12). Hücre büyümesi ile hücre ölümü arasında dengenin olduğu period kriz olarak adlandırılmaktadır. Kromozom uç füzyonları nedeniyle, genomik dengesizliğe, kromozomların yeniden düzenlenmesine ve kromozomda kırılma-füzyon-köprü olayları ve sonunda telomerazın aktivasyonu gerçekleşmektedir (11).

Telomeraz, kromozomların uçlarında bulunan telomerlere yeni DNA ekleyen bir reverse transkriptazdır (13). Telomeraz, insan somatik hücrelerinde sessiz iken malign tümörlerin yaklaşık % 85-90'ında saptanmaktadır (4). Telomeraz aktivitesi, telomerik tekrar amplifikasyon protokolü (TRAP) kullanılarak in vitro ölçülebilir (4). Bu tahlil, birçok hücre tipinde normal ve tümör dokusunun kültürlenmemiş ve kültürlenmiş örneklerinde telomeraz aktivitesini incelemek için

¹ Uzm. Dr., Serdal Sadet ÖZCAN, Kayseri Şehir Hastanesi, drserdalcot@hotmail.com ORCID iD: 0000-0002-6272-1220

liştirilmesinde başlıca hedef olmuştur. Ek olarak, kök hücreler dahil olmak üzere normal insan hücreleri daha düşük telomeraz aktivitesine sahiptir ve genellikle telomerleri kanser hücrelerine kıyasla daha uzun uzunluklarda tutar. Bu özellikler, normal hücrelerde olası telomer kısalması riskini minimuma indiren bir avantaj sağlar. Anti-telomeraz terapötiklerinin temel amacı, normal hücreler üzerindeki etkileri en aza indirirken kanser hücrelerinde seçici olarak apoptozu ve hücre ölümünü indüklemektir (41).

Aşılar, antisens oligonükleotidler ve hTERT veya hTR'yi hedefleyen küçük moleküllu inhibitörlerin geliştirilmesi yoluyla çok sayıda yaklaşım benimsenmiştir (24).

Telomerazı spesifik olarak hedefleyen en umut verici ilaçlardan biri, telomerazın şablon bölgesini bloke eden ve potansiyel antineoplastik içeren imetelstat (GRN163L)'tir. GRN163L bugüne kadar klinik olarak en çok çalışılan telomeraz inhibitörüdür (42-44). GRN163L, çoklu kanser hücre dizilerinde önemli ölçüde telomeraz inhibisyonu göstermiş ve bu da hücre proliferasyonunda ve yaşam süresinde azalma ile sonuçlanmıştır (45-46).

GRN163L ile ilgili yapılan çalışmalarda; Pankreas kanserlerinde telomeraz aktivitesini azalttığı ve hücre yaşlanma ve apoptozisi artırdığı (45), multipl miyelomda telomeraz aktivite inhibisyonunun belirgin olduğu ve canlı hücre sayısının başlangıcın %5'ine düştüğü görülmüştür (46). Bazı çalışmalarda ise metastaz kabiliyetini azalttığı bildirilmiştir (47).

Tüm bu olumlu sonuçlara rağmen hematolojik toksisitesi nedeniyle GRN163L'nin klinik kullanımı sınırlıdır. Yapılan bir Faz II çalışmasında santral sinir sistemi malignitelerinde, hastaların telomeraz aktivitesinde %95'lik azalma olmasına rağmen herhangi bir tümör cevabı gözlenmemiştir. Üstelik 2 hasta trombositopeniye sekonder kanama nedeniyle ölmüş ve çalışma durdurulmuştur (48). Diğer bir çalışmada küçük hücreli dışı akciğer kansinomlarında yapılan Faz II çalışmasında yaygın toksisite izlenirken progresyonsuz sağkalımda değişiklik izlenmemiştir (43).

Bu çalışmalar gelecek araştırmalara ışık tutacak olmakla beraber sonuçlar göstermiştir ki GRN163L ile ilgili daha ileri çalışmalara ihtiyaç vardır (49).

Jiayan Li ve ark. özofagus skuamoz hücreli kansinomlarında yaptıkları çalışmada immuno-histokimyasal olarak sitoplazmik hTERT ekspresyonunun tümör invazyon ve migrasyonunu engellediğini bildirmişlerdir. Bu çalışmada hTERT ekspresyonu metastaz kabiliyeti ve tümörün patolojik derecesi ve TNM evresi ile ilişkili bulunmuş olup proliferasyona etkisi olmadığı gösterilmiştir (50).

Telomerler kuadrupeks yapılar oluşturan sekanslar ile karakterizedir, bu yapıyı hedef alan katyonik porfirin TMPyP4, G-kuadrupeks stabilizatörü ve telomeraz inhibitörü olarak bilinmektedir. Konieczna N. ve ark. yaptıkları çalışmada meme kanserinde TMPyP4 kullanımının kanser hücre disseminasyonunda ve kanser hücresinin yaşam süresinde azalma bildirmiş ancak TMPyP4 ile telomeraz inhibisyonu arasında direk korelasyon saptayamamışlardır (51).

Cao H. ve ark. HCC olgularında telomeraz tekrarı içeren RNA (TERRA)'da downregülasyonu tespit etmişler, TERRA'nın downregülasyonunu telomeraz aktivasyonu ve telomerin uzaması ile ilişkilendirmişlerdir. TERRA'nın HCC hücre büyümesi ve metastazında kritik bir rol oynadığını ve HCC için potansiyel bir terapötik hedef olabileceğini ileri sürmüşlerdir (52).

Doğan F. ve ark TERT-RNA bağlanmasını bozan ve spesifik bir telomeraz inhibitörü olan BIBR1532'yi rapor etmişler ve tedavide yeni bir yaklaşım olabileceğini öne sürmüşlerdir (53).

Antikanser etkilerine ilişkin önemli kanıtlara rağmen etki mekanizmasının aydınlatılmamış olması ve karmaşıklığı nedeniyle T-oligolar henüz klinik deneylere ilerlememiştir (54,55).

KAYNAKÇA

1. Hayflick L, Moorhead PS. The serial cultivation of human diploid cell strains. *Exp Cell Res.* 1961;25:585-662.
2. Hayflick L. How and why we age. *Exp Gerontol.* 1998;33:639-65.
3. Bodnar AG, Ouellette M, Frolkis M, et al. Extension of life-span by introduction of telomerase into normal human cells. *Science.* 1998;279:349-52.
4. Kim NW, Pietyszek MA, Prowse KR, et al. Specific association of human telomerase activity with immortal cells and cancer. *Science.* 1994;266:2011-2015.
5. Akıncılar SC, Ünal B, Tergaonkar V. Reactivation of telomerase in cancer. *Cell Mol Life Sci.* 2016;73:1659-70.

6. De Lange T. Shelterin: the protein complex that shapes and safeguards human telomeres. *Genes Dev.* 2005;19:2100–10.
7. Kirk KE, Harmon BP, Reichardt IK, et al. Block in anaphase chromosome separation caused by a telomerase template mutation. *Science.* 1997;275:1478–81.
8. Moyzis RK, Buckingham JM, Cram LS, et al. A highly conserved repetitive DNA sequence, (TTAGGG)_n, present at the telomeres of human chromosomes. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1988;85:6622–6626.
9. Klewes L, Vallente R, Dupas E, et al. Three-dimensional nuclear telomere organization in multiple myeloma. *Transl Oncol.* 2013;6:749–756.
10. Shay JW. Telomerase therapeutics: telomeres recognized as a DNA damage signal. *Clin Cancer Res.* 2003;9:3521–3525.
11. Shay JW and Wright WE. Role of telomeres and telomerase in cancer. *Semin Cancer Biol.* 2011;21:349–353.
12. Wright WE, Pereira-Smith OM, Shay JW. Reversible cellular senescence: a two-stage model for the immortalization of normal human diploid fibroblasts. *Mol Cell Biol.* 1989;9:3088–3092.
13. Collins K, Mitchell JR. Telomerase in the human organism. *Oncogene.* 2002;21:564–579.
14. Güzelgöl F, Aksoy K. Telomeraz Enziminin Tanı ve Tedavide Kullanım Alanı. *Arşiv Kaynak Tarama Dergisi,* 2011;20:69–88.
15. Kannan S, Tahara H, Yokozaki H, et al. Telomerase activity in premalignant and malignant lesions of human oral mucosa. *Cancer Epidem. Biomarkers Prevent.* 1997;6:413–420.
16. Hiyama K, Ishioka S, Shirotani Y, et al. Alterations in telomeric repeat length in lung cancer are associated with loss of heterozygosity in p53 and Rb. *Oncogene.* 1995;10:937–944.
17. Sommerfield HJ, Meeker AK, Piatyszek MA, et al. Telomerase Activity: A Prevalent Marker of Malignant Human Prostate Tissue. *Cancer Res.* 1996;56:218–222.
18. Tahara H, Nakanishi T, Kitamoto M, et al. Telomerase Activity in Human Liver Tissues: Comparison between Chronic Liver Disease and Hepatocellular Carcinomas. *Cancer Res.* 1995;55:2734–2736.
19. Hiyama E, Gollahon L, Kataoka T, et al. Telomerase Activity in Human Breast Tumors. *JNCI.* 1996;88:116–122.
20. Hiyama E, Hiyama K, Yokoyama T, et al. Correlating telomerase activity levels with human neuroblastoma outcomes. *Nat. Med.* 1995;1:249–255.
21. Tahara H, Kumiyasu H, Yokozaki H, et al. Telomerase activity in preneoplastic and neoplastic gastric and colorectal lesions. *Clin. Cancer Res.* 1995;1:1245–1251.
22. Kyo S, Kunimio K, Uchibayashi T, et al. Telomerase activity in human urothelial tumors. *Am. J. Clin. Pathol.* 1997;107:555–560.
23. Lin Y, Miyamoto H, Fujinami K, et al. Telomerase activity in human bladder cancer. *Clin. Cancer Res.* 1996;2:929–932.
24. Jafri MA, Ansari SA, Alqahtani MH, et al. Roles of telomeres and telomerase in cancer, and advances in telomerase-targeted therapies. *Genome Med.* 2016;8(1):69.
25. Morin GB. Telomere Control of Replicative Lifespan. *Exp Gerontol* 1997; 32: 375–82.
26. Zhang Q, Kim NK, Feigon J. Architecture of human telomerase RNA. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2011;108(51):20325–20332.
27. Ghosh A, Saginc G, Leow SC, et al. Telomerase directly regulates NF-κB-dependent transcription. *Nat Cell Biol.* 2012;14:1270–1281.
28. Koh CM, Khattar E, Leow SC, et al. Telomerase regulates MYC-driven oncogenesis independent of its reverse transcriptase activity. *J Clin Invest.* 2015;125:2109–2122.
29. Liu H, Liu Q, Ge Y, et al. hTERT promotes cell adhesion and migration independent of telomerase activity. *Sci Rep.* 2016;6:22886.
30. Liu Z, Li K, Chen L, et al. Telomerase reverse transcriptase promotes epithelial-mesenchymal transition and stem cell-like traits in cancer cells. *Oncogene.* 2013;32:4203–4213.
31. Masutomi K, Kaneko S, Hayashi N, et al. Telomerase activity reconstituted in vitro with purified human telomerase reverse transcriptase and human telomerase RNA component. *J Biol Chem.* 2000;275:22568–22573.
32. Counter CM, Meyerson M, Eaton EN, et al. Telomerase activity is restored in human cells by ectopic expression of hTERT (hEST2), the catalytic subunit of telomerase. *Oncogene.* 1998;16(9):1217–1222.
33. Kilian A, Bowtell DD, Abud HE, et al. Isolation of a candidate human telomerase catalytic subunit gene, which reveals complex splicing patterns in different cell types. *Hum. Mol. Genet.* 1997;6:2011–2019.
34. Nakamura TM, Morin GB, Chapman KB, et al. Telomerase catalytic subunit homologs from fission yeast and human. *Science* 1997;277:955–959.
35. Avilion AA, et al. Human telomerase RNA and telomerase activity in immortal cell lines and tumor tissues. *Cancer Res.* 1996;56:645–650.
36. Yi X, Tesmer VM, Savre-Train I, et al. Both transcriptional and posttranscriptional mechanisms regulate human telomerase template RNA levels. *Mol. Cell Biol.* 1999;19:3989–3997.
37. Cristofari G, Lingner J. Telomere length homeostasis requires that telomerase levels are limiting. *EMBO J.* 2006;25(3):565–574.
38. Dilley RL, Greenberg RA. ALternative telomere maintenance and cancer. *Trends Cancer* 2015;1:145–156.
39. Henson JD, Reddel RR. Assaying and investigating alternative lengthening of telomeres activity in human cells and cancers. *FEBS Lett.* 2010;584:3800–3811.
40. Hakin-Smith V, Jellinek DA, Levy D, et al. Alternative lengthening of telomeres and survival in patients with glioblastoma multiforme. *Lancet* 2003;361:836–838.
41. Buseman CM, Wright WE, Shay JW. Is telomerase a viable target in cancer? *Mutat Res.* 2012;730:90–97.
42. Roth A, Harley CB, Baerlocher GM. Imetelstat (GRN-163L)-telomerase-based cancer therapy. *Recent Results Cancer Res.* 2010;184:221–234.
43. Chiappori AA, Kolevska T, Spigel DR, et al. A randomized phase ii study of the telomerase inhibitor imetelstat as maintenance therapy for advanced non-small-cell lung cancer. *Ann. Oncol.* 2015;26:354–362.
44. Mender I, Gryaznov S, Shay JW. A novel telomerase substrate precursor rapidly induces telomere dysfunction in telomerase positive cancer cells but not telomerase silent normal cells. *Oncoscience.* 2015;2:693–695.

45. Burchett KM, Yan Y, Ouellette MM. Telomerase inhibitor Imetelstat (GRN163L) limits the lifespan of human pancreatic cancer cells. *PLoS One*. 2014;9(1):e85155.
46. Shammass MA, Koley H, Bertheau RC, et al. Telomerase inhibitor GRN163L inhibits myeloma cell growth in vitro and in vivo. *Leukemia*. 2008;22:1410-1418.
47. Dikmen ZG, Gellert GC, Jackson S, et al. In vivo inhibition of lung cancer by GRN163L: A novel human telomerase inhibitor. *Cancer Res*. 2005;65:7866-7873.
48. Salloum R, Hummel TR, Kumar SS, et al. A molecular biology and phase II study of imetelstat (GRN163L) in children with recurrent or refractory central nervous system malignancies: a pediatric brain tumor consortium study. *J Neurooncol*. 2016;129:443-451.
49. Schrank Z, Khan N, Osude C, et al. Oligonucleotides Targeting Telomeres and Telomerase in Cancer. *Molecules*. 2018;23:2267.
50. Jiayan Li, Guogang Dong, Jinyun Song, et al. Telomerase inhibition decreases esophageal squamous carcinoma cell migration and invasion. *Oncol Lett*. 2020 Sep;20:2870-2880.
51. Konieczna N, Romaniuk-Drapała A, Lisiak N, et al. Telomerase Inhibitor TMPyP4 Alters Adhesion and Migration of Breast-Cancer Cells MCF7 and MDA-MB-231. *Int J Mol Sci*. 2019;20:2670.
52. Cao H, Zhai Y, Ji X, et al. Noncoding telomeric repeat-containing RNA inhibits the progression of hepatocellular carcinoma by regulating telomerase-mediated telomere length. *Cancer Sci*. 2020;111:2789-2802.
53. Doğan F, Özateş NP, Bağca BG, et al. Investigation of the effect of telomerase inhibitor BIBR1532 on breast cancer and breast cancer stem cells. *J Cell Biochem*. 2018;10.1002/jcb.27089.
54. Puri N, Eller MS, Byers HR, et al. Telomere-based DNA damage responses: a new approach to melanoma. *FASEB J*. 2004;18:1373-1381.
55. Norio Ohashi, Mina Yaar, Eller MS, et al. Features that determine telomere homolog oligonucleotide-induced therapeutic DNA damage-like responses in cancer cells. *J. Cell Physiol*. 2007;210:582-95.