

**T.C.
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
GÖĞÜS CERRAHİ ANABİLİM DALI**

**İNSAN AKCİĞER KANSERLERİNDE *TRPM* GEN ve *PIEZO*
İYON KANALLARININ EKSPRESYONU**

TIPTA UZMANLIK TEZİ
Dr. Suna POLATOĞLU

DANIŞMAN
Prof. Dr Akın Eraslan BALCI
Doç Dr Ebru ÖNALAN

ELAZIĞ 2016

DEKANLIK ONAYI

Prof. Dr. Murad ATMACA

DEKAN

Bu tez Uzmanlık Tezi standartlarına uygun bulunmuştur.

.....

Göğüs Cerrahi Anabilim Dalı

Tez tarafımızdan okunmuş, kapsam ve kalite yönünden Uzmanlık Tezi olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr Akın Eraslan BALCI

Danışman

Uzmanlık Tezi Değerlendirme Jüri Üyeleri

.....

.....

.....

.....

.....

TEŐEKKÖR

Bu tez çalışmasının kendi çalıőmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütÖn aşamalarda etik dışı davranıőımın olmadığını, bu tezdeki bütÖn bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalıőmasıyla elde edilmeyen bütÖn bilgi ve yorumlara kaynak gÖsterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalıőılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranıőımın olmadığını beyan ederim.

Suna POLATOğLU

ÖZET

Akciğer kanseri yirminci yüzyılın başlarında ender olmasına rağmen günümüzde sıklığı artan, önemli bir sağlık problemidir. Genel ölüm nedenleri arasında kalp hastalıklarından sonra ikinci sırayı alan akciğer kanseri, kanser ölümlerinin %28'ini oluşturmaktadır. Akciğer kanserinin yassı hücreli karsinom, küçük hücreli karsinom ve adenokarsino olmak üzere 3 histolojik tipi vardır. Plazma membranında yer alan iyon kanalları ise hücrel elektrogenesis ve elektrik iletiminden sorumludur. Bu kanallar apoptozis, proliferasyon ve farklılaşma gibi doku homeostazisinin korunması için gerekli olan tüm temel hücre davranışlarının yerine getirilmesinde görev almaktadır. İyon kanallarının bu kritik süreçlere katkısında birkaç ana mekanizma vardır. Bunlar membran potansiyelinin korunması, hücre volümünün düzenlenmesi ve temel sinyal iletimini sağlayan iyonların girişidir. Artmış proliferasyon sonucu malign hücrelerin transformasyonu, bozuk farklılaşma, ölüm yeteneğinin bozulması anormal doku gelişiminin temel sebebidir. Bunun sonucunda kontrolsüz yayılım ve invazyon ortaya çıkabilmektedir. Transformasyon sıklıkla iyon kanal ekspresyonundaki değişimlerle gerçekleşebilmektedir. Sonuç, hücrel cevapların anormal progresyonudur. Kanser ortaya çıkmasını ve ilerlemesini düzenleyen farklı ekspresyon ve iyon kanalı aktiviteleri önerilmesine rağmen akciğer kanseri hücrelerinde, iyon kanalı bağımlı mekanizmaları incelemek oldukça kıymetli olacaktır. Burada immünohistokimya ve real time PCR ile TRPM2, TRPM4, TRPM5, TRPM7, TRPM8 ile Piezo 1 ve Piezo 2'nin RNA ekspresyonları çalışılmıştır. Çalışmamızda akciğer kanser oluşumunda TRP iyon kanallarının etkileri incelenerek özellikle akciğer kanserli dokularda TRPM5, TRPM7 ve Piezo 2'nin anlamlı artış gösterdiği bulunmuştur. Elde ettiğimiz sonuçlarımız bu iyon kanallarının akciğer kanseri tedavisinde yeni hedef genler olacağını ve böylece daha sonraki bir aşamada invivo koşullarda bu proteinler hedeflenerek deneysel anlamda akciğer kanseri tedavi yöntemlerinin denenebilmesine olanak sağlayacağını düşündürmektedir.

Anahtar kelimeler: Akciğer kanseri, TRPM kanalları, RNA ekspresyonu, immünohistokimya

ABSTRACT

EXPRESSION OF TRPM GENES and PIEZO ION CHANNELS in HUMAN LUNG CANCERS

Lung cancer cases were rare at the beginning of the twentieth century; however, it is becoming a more widespread and important health problem nowadays. Lung cancer, which accounts for 28% of deaths due to cancer, became the second most mortal disease after heart diseases. There are three histological types of lung cancers, which are squamous cell carcinoma, small cell carcinoma and adenocarcinoma. Ion channels located on the plasma membrane are responsible for the cellular electrogenesis and electrical transmission. These channels are involved in the performing of all the basic cell actions which are required for the protection of tissue homeostatis like apoptosis, proliferation and differentiation. There are a few main mechanisms for the ion channels' contribution to these critical processes. These are the protection of membrane potential, regulation of cell volume and the entrance of ions which ensure basic signal transmission. The transformation of malign cells as a result of increased proliferation, corrupted differentiation, the corruption in cell termination are the main reasons for abnormal tissue development. Uncontrolled spread and invasion can occur as a result of this. Transformation can usually occur with changes in ion channel expression. The result is the abnormal progression of cellular responses. Even though various expressions and ion channel activities have been proposed to be the regulators of the formation and progression of cancer, it would be highly valuable to examine the mechanisms which are bound to ion channels, in lung cancer cells. In this research, immunohistochemistry and real time PCR and TRPM2, TRPM4, TRPM5, TRPM7, TRPM8, with RNA expression of Piezo 1 and Piezo 2 have been studied. In our study, we have examined the effects of TRP ion channels in the formation of lung cancer, and found out that TRPM5, TRPM7 and Piezo 2 have shown a significant increase especially in lung cancer tissue. The results we obtained suggest that these ion channels could be the new target genes in the treatment of lung cancer and thus, a new lung cancer treatment method can be the subject of a trial at a later stage, which consist of targeting these proteins in in vivo conditions.

Key words: Lung cancer, TRPM channels, RNA expression, immunohistochemistry

İÇİNDEKİLER

BAŞLIK SAYFASI	i
ONAY SAYFASI	ii
TEŞEKKÜR	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT	v
İÇİNDEKİLER	vi
TABLULARIN LİSTESİ	viii
ŞEKİLLERİN LİSTESİ	viii
KISALTMALAR VE SİMGELER	x
1.GİRİŞ	1
1.1. Akciğer	1
1.1.1. Akciğer Embriyolojisi	1
1.1.2. Akciğer Anatomisi Ve Histolojisi	2
1.1.3. Akciğer Kanserinde Epidemiyoloji	4
1.1.7. Akciğer Tümörlerinde Histopatoloji	9
1.1.7.1 Skuamöz Hücreli Karsinom	9
1.1.7.2. Küçük Hücreli Karsinom	10
1.1.7.3 Adenokarsinom	11
1.1.7.4. Büyük Hücreli Karsinom	14
1.1.7.5. Adenoskuamöz Karsinom	16
1.1.7.6. Sarkomatoid Karsinom	17
1.1.7.7. Karsinoid Tümör	18
1.2. Tümör Biyolojisi	18
1.2.1 Kanser hücrelerinin genel özellikleri	20
1.2.2. Hücre Siklusu	22
1.2.3. Hücre siklusunun kontrol mekanizması	23
1.3. Kanser Genetik Arasındaki İlişki	25
1.3.1 Onkogenler	26
1.3.2. Tümör baskılayıcı genler	27
1.4. TRP (Transient Receptor Potential)	27

1.4.1. TRPM (transient receptor potential melastatin)	28
1.4.2 <i>TRPM1</i>	29
1.4.3. TRPM7	29
1.4.4. <i>TRPM2</i>	29
1.4.5. TRPM4 ve TRPM5 Kanalları	32
1.4.6 TRPM8 Kanalı	33
1.4.7. Piezo proteinlerinin ekspresyonu, moleküler özellikleri ve yapısı	33
2. GEREÇ ve YÖNTEM	35
2.1. Çalışma Gruplarının Tanımı	35
2.2. Kullanılan Aletler	35
2.3. Kullanılan Kimyasal Maddeler	36
2.4. Kullanılan Yöntemler	37
2.4.1. Total RNA İzolasyonu	37
2.4.2. Spektrofotometrik RNA Ölçümü	38
2.4.3. Komplementer DNA Sentezi	38
2.4.4. Real Time-Polimeraz Zincir Reaksiyonu ile cDNA Amplifikasyonu:	39
2.5. İstatistiksel Değerlendirme	40
3. BULGULAR	41
3.1. Real Time-Polimeraz Zincir Reaksiyon Analizi Bulguları	41
4. TARTIŞMA ve SONUÇ	45
5. KAYNAKÇA	48
6. ÖZGEÇMİŞ	62

TABLULARIN LİSTESİ

Tablo 1.	Vaka özeti	35
Tablo 2.	Grup yaş ortalamaları ve standart sapma	35
Tablo 3.	Grupların diferansiasyon özellikleri	35
Tablo 4.	cDNA karışım miktarı	38
Tablo 5.	cDNA sentezi için uygulanan PZR programı	39
Tablo 6.	RT-PZR' da kullanılan primerler	39
Tablo 7.	RT-PZR için her bir kuyucuğa konan bileşikler	40
Tablo 8.	Uygulanan RT-PZR programı	40
Tablo 9.	Hastaların ve kontrol grubunu oluşturan sağlıklı bireylerin demografik verileri	41
Tablo 10.	Kanser ve kontrol grubundaki TRPM5 TRPM7 TRPM8 in istatistiksel değişimi	42
Tablo 11.	Kanser ve kontrol dokulardaki piezo 2 istatistiksel değişim	44

ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil 1.	Hücre döngüsü ve kontrol noktaları şekli	23
Şekil 2.	<i>TRPM2</i> kanalının moleküler yapısı	30
Şekil 3.	ADPR ve <i>TRPM2</i> kanal aktivasyonu ile oksidatif stres arasındaki ilişki	31
Şekil 4.	Kontrol ve kanser dokularındaki <i>TRPM5</i> , <i>TRPM7</i> ve <i>TRPM8</i> iyon kanallarının mRNA kat artışı grafiği.	43
Şekil 5.	Kontrol ve kanser dokularındaki <i>Piezo2</i> iyon kanalının mRNA kat artışı grafiği.	44



KISALTMALAR VE SİMGELER

ADPR	: Adenozin di-fosfat Riboz
C	: Sistenin
CDK	: Siklin bağımlı protein kinazlar
CDI	: Siklin bağımlı kinaz inhibitörler
DISC	: Death –Inducing Signaling Complex
DNaz	: Deoksiribonükleaz
EDTA	: Etilen diamin tetraasetik asit
FADD	: FAS-associated death domain protein
H₂O₂	: Hidrojen peroksit
LOH	: Loss of Heterozygosity
MPF	: M-phase/maturation promoting factor
Ptnm	: Pathological Tumor-Node-Metastasis
Pp	: Difosfat
ROS	: Serbest oksijen radikalleri
TNF	: Tumor Necrosis Factor
WHO	: Dünya sağlık örgütü
µg:	: Mikrogram
µmol	: Mikromol
kb	: Kilobyte
Vb.	: Ve benzeri

1. GİRİŞ

Akciğer kanseri dünyada en sık görülen malign tümördür (1). Plazma membranında yer alan iyon kanalları elektrik iletimi ve hücrel elektrogenezden sorumludur. Hücre proliferasyonu, apoptoz, migrasyon, invazyon ve anjiogenez gibi fizyolojik süreçlerin değişimi sonucunda tümör progresyonu oluşur. Bu süreçler, transient reseptör potansiyel (TRP) katyon kanalları ve kalsiyum homeostazı kontrolü altındadır (2). İyon kanalları, birçok fizyolojik süreçte yer almaktadır. Kanser gibi bazı ciddi hastalıklarla da bu kanalların ilişkili olduğu gösterilmiştir. Bir veya daha fazla TRP proteininin değişmiş ekspresyonu kanser başlangıcı ve progresyonu sürecinde, önem arz etmektedir (3). Bu kanalların karsinogeneze katkıları, ekspresyon yolları ve kanser tedavisinde TRP agonistlerinin uygulamaya konmasıyla ilgili araştırmalara ihtiyaç vardır (4). Farklı TRP genlerindeki mutasyonlar, çeşitli hastalıklarla ilişkilidir. (5) Potansiyel bir tümör supresor olarak tanımlanan bir protein olan melastatinden adını alan TRPM alt grubunun birçok üyesi kalsiyuma geçirgendir ve kalsiyumla aktive olan proteinlerdir. Bu gruba ait 8 protein tanımlanmıştır (6, 7). TRPM iyon kanallarındaki değişimler fizyolojik fonksiyonları etkileyerek, patolojik süreçlerin oluşumuna yol açar (8). Bu bilgiler ışığında akciğer kanseri tedavisinde yenilikler yapılmasına katkıda bulunacağını düşünerek akciğer kanserinde iyon kanallarının ekspresyonlarını incelemeyi amaçladık.

1.1. Akciğer

1.1.1. Akciğer Embriyolojisi

Solunum sisteminin ilk taslağı, ön barsağın (foregut) ventral duvarından yaklaşık 5 haftalık embriyoda bir divertikül halinde belirir. Kaudal yönde genişleyen bu divertikül, 2 bölmeli boru benzeri özofagotrakeal şişkinlik adı verilen bir yapı oluşturur. Burdan trakea ve özefagus meydana gelir. Ön barsakta bir dorsal bir de ventral bölüm meydana getiren endodermal kökenli olan bu şişkinlikler, özofagotrakeal septumu oluşturacak şekilde birleşirler. Dorsal bölüm özofagusu oluşturur (9). 5-6. haftalarda ön barsaktan ayrılan ventral bölüm, trakea denilen bir orta hat ve akciğer tomurcuğu denilen iki lateral çıkıntı oluşturur (9, 10). Kaudal ve

lateral yönlerde büyümeye devam eden akciğer tomurcukları, perikardiyoperitoneal kanala penetre olur. Ön barsağın her iki yanında yer alan bu boşluklar akciğer tomurcukları tarafından zamanla genişleyerek doldurulur. Visseral plevra akciğeri dıştan saran mezoderm tabakasından; parietel plevra vücut duvarının iç yüzünü saran mezoderm tabakasından oluşur (9). Gebeliğin 7. haftasında primer bronküslerden, primitif lobar bronküsler ortaya çıkar. Böylece 2 loblu sol, 3 loblu sağ akciğer taslağı meydana gelir. 16 bronş dalı 16. gebelik haftasına kadar oluşur. 16-23. haftalar arasında ise gelişigüzel devam eden dallanma 24. haftada sona erer. 20. Haftadan itibaren alveolizasyon başlar ve doğumdan sonra da devam eder(10).

Histolojik olarak akciğer gelişimi 4 ayrı dönemde incelenir. “Psödoglandüler Evre”de 5-17. haftalar arasında bronşiyol ve respiratuvar ağacın gelişimi ile undifferansiye primordiyal sistem oluşur. “Kanaliküler Evre” de 16-25. haftalar arasında terminal keseler ve vaskülarizasyon ortaya çıkar. Bu dönemde bronşiyoller küboidal epitel hücreleri ile döşenmektedir. 3. evre olan “Terminal Kесе Evresi”nde 25-40. haftalar arasında; terminal keselerin sayısı ve vaskülarizasyon artar. Bronşiyolleri döşeyen küboidal hücrelerin bir kısmı incelererek tip I ve tip II pnömositleri oluşturur. “Alveoler Evre”de ise 40 haftadan doğuma kadar terminal keseler matür alveoler yapılara dönüşür(9, 11).

1.1.2.Akciğer Anatomisi Ve Histolojisi

Bbronş ve bronkoalveoler yapılardan akciğer kanseri geliştiğinden, hava yollarının dallanması iyi anlaşılmalıdır. 4. vertebra hizasında toraks içinde trakea sağ ve sol ana bronşa ayrılır. Ana bronşlar beraberlerindeki pulmoner arter ve ven ile birlikte akciğere girer. Daha sonra sağ ana bronş 3 lobar bronküse, sol ana bronş 2 lobar bronküse ayrılır. Sağda 10, solda 9 olmak üzere lobar bronküslerden segmental bronküsler ve onlardan da subsegmental bronküsler dallanır (12).

Mukus sekrete eden goblet hücreleri ile karışık psödostratifye silyalı kolumnar epitel bu büyük hava yollarının iç yüzeyini döşer. Epitel hücrelerinin lüminal yüzeyine dar bir alanda tutunan silyalar, belirgin siyah bir çizgi şeklinde görülen terminal barı oluştururlar. Epitel rejenerasyonunun kaynağı olan üçgen şeklinde bazal hücreler (rezerv hücreler) epitelin bazal membran tarafında bulunur.

Ayrıca özellikle, nörosekretuar granül içeren ‘Feyrter’ veya ‘Kulchitsky’ diye bilinen az sayıda nöroepitelyal hücreler de bifurkasyonlarda yerleşmektedir (13).

Epitel altında ince bir lamina propria, onun da altında seröz ve müköz bez yapıları, düz kas lifleri içeren submukozal tabaka bulunur. Submukozanın altında hiyalin kıkırdak yapısı bulunur. Kıkırdak miktarı lobar bronküslerden segmenter bronküsle doğru giderken azalır. Kıkırdak yapısı ve submukozal bez yapıları subsegmenter bronşlardan sonraki hava yollarında ise yoktur. Bir arteriyol, bir venül ve kapillerler içeren bağ dokudan oluşan adventisya tabakası, kıkırdak tabakası altında yer alır. Her bir bronşa eşlik eden pulmoner arter ve ven yapısı adventisya dışında görülür (13, 14).

Hava yolları sırasıyla subsegmenter bronküslerden itibaren; bronşiyol, terminal bronşiyol, respiratuar bronşiyol, alveoler duktus ve alveoler keselere dallanır. Mukoza kıvrımları bronşiyollerde oldukça belirgindir. Psödostratifye silyalı kolumnar epitel içindeki goblet hücrelerinin sayısı azdır. Epitel altında bulunan ince lamina propria tabakasının altında bir düz kas tabakası, bunun da altında adventisya tabakası vardır (14).

Terminal bronşiyol ve respiratuar bronşiyol yapıları benzerdir. Ancak goblet hücreleri yerini terminal bronşiyolden itibaren sürfaktan üreten ‘Clara’ hücrelerine bırakır. Sitoplazmalarının apikal kısmında PAS (+), diastaza dirençli sekretuar materyal ile karakterize Clara hücreleri immünohistokimyasal olarak insan sürfaktan-ilişkili glikoprotein ile (+) boyanır. Respiratuar bronşiyölü döşeyen epitel ise giderek basıklaşarak küboidal epitele dönüşür. Proksimal epitel hücrelerinde az sayıda silya görülebilirken, distale doğru ilerledikçe bunlar tamamen kaybolur (13).

Alveoler yüzeyin %95’ini döşeyen, yassılaştırmış tip I pnömositler ve sürfaktan kaynağı olan, aynı zamanda tip I pnömosit hasarından sonra alveoler epitelin onarımını sağlayan yuvarlak tip II pnömositler alveolleri döşeyen epiteli oluşturur. Komşu alveoller arasında alveoler septum olarak adlandırılan kapiller damar ağı, elastik lifler, ince kollajen bantlar, az sayıda fibroblast benzeri interstisyel hücre, düz kas hücreleri, mast hücreleri ve nadiren de lenfosit ve monosit içeren, ince bir interstisyel doku vardır. Sıklıkla karbon partikülleri ve fagosit

ettikleri materyaller ile dolu olan alveoler makrofajlar, alveol epiteline gevşek bir şekilde tutunur (12).

1.1.3. Akciğer Kanserinde Epidemiyoloji

Akciğer kanseri dünyada en sık görülen malign tümördür. Aynı zamanda en sık ölüme neden olan kanser de %28.5 oranı ile akciğer kanseridir (1, 15). Yeni tanımlanan akciğer kanseri olgusu Amerikan verilerine göre 1950'de 18 000'den, 2003'te 171 900'e yükselmiştir (12). Avrupada ise her yıl tanımlanan kanser vakası 150 000 civarındadır (16). Kadınlara göre erkeklerde 2.7 kat daha fazladır. Akciğer kanseri dünya genelinde ise 1985'ten 2002'ye kadar kadınlarda %76, erkeklerde %44 olmak üzere ortalama %51'lik bir artış göstermiştir (17).

Hastalığın yaygınlığıyla ilgili Türkiye'de gerçek bir rakam verilemese de 1994 ve 1999 yılı Sağlık Bakanlığı verilerine göre insidansın 100.000'de 10.73'ten 14.2'ye yükseldiği bildirilmiştir (18, 19). Akciğer kanseri sıklığı coğrafi dağılım göz önüne alındığında batı ve güney bölgelerimizde en yüksek (Akdeniz 41.0/100.000, Ege ve İç Anadolu 39.5/100.000) Güneydoğu ve Doğu bölgelerimizde en düşüktür (17.7/100.000 ve 11.7/100.000) (20).

Karsinomlar tüm akciğer tümörlerinin %99'unu oluşturur. Cinsiyete göre insidans değişiklik gösterir. Dünya sağlık örgütüne göre en sık görülen karsinom olan skuamöz hücreli karsinom erkeklerde %44'lük oranda görülürken, kadınlarda ancak %25 oranında görülür. Adenokarsinomda ise bu oran, erkeklerde %28, kadınlarda %42'lere ulaşır (1). Bazı otörlere göre bu oranlar değişiklik gösterir. Adenokarsinom her iki cinsten en sık görülen akciğer kanseri olarak belirtilir (21). 2004'te Türkiye'de yapılan bir çalışmaya göre, skuamöz hücreli karsinom %41.1 ile en sık görülen akciğer kanseri tipini oluşturur. 2. Sırada ise adenokarsinom %25.6 ile yer alır (22). Yine Türkiye'de 3431 olgu içeren 1992-1998 yıllarını kapsayan geniş bir seride yapılan bir çalışmada, kadın hasta sayısında (%6.8'den %8, 5'a yükselme) ve adenokarsinom sıklığında artış olduğu rapor edilmiştir (23). Bir başka merkezin 1972-2002 yılları arasında 1834 hastayı içeren bir çalışmasında, skuamöz hücreli karsinom %32.1 oranı ile en sık primer akciğer kanseri histolojik tipi olduğu belirtilmiştir. Ancak cinsiyet göz önüne alındığında, kadınlarda %14 ile en sık adenokarsinom, erkeklerde %36.1 ile en sık skuamöz hücreli karsinom görüldüğü

bildirilmiştir (24). Başka bir merkezin 1999-2003 yıllarını kapsayan 971 hastalık bir çalışmada da sonuçlar benzerlik göstermektedir (19).

Diğer histolojik tiplerde insidans Dünya sağlık örgütü verilerine göre cinsiyet gözetmeksizin küçük hücreli karsinomda % 20, büyük hücreli karsinomda %9'dur (1). Türkiye'de ise; benzer şekilde 3. en sık görülen akciğer kanseri tipini %13.1 oranı ile küçük hücreli karsinom oluşturur (13).

40-60 yaşları arasında görülmekte olan akciğer kanserli olguların çoğu 50 ve 60 yaşlarda pik yapmaktadır. 40 yaş altında ise vakaların %2'den azı görülür. Türkiye'de Sulu E ve ark. yaptığı çalışmaya göre; akciğer kanseri yaş ortalaması 1992'de 56.4, 1998'de 57.9, 2004 ise 59.1'dir (22). 1834 hastayı içeren Bozkurt ve ark. (24) yaptığı bir başka çalışmada ise; skuamöz hücreli karsinom, adenokarsinom ve küçük hücreli karsinom 40 yaş ve üstü grupta; büyük hücreli karsinom, karsinoid ve metastatik kanserin ise 18-40 yaş grubunda daha fazla görüldüğü bildirilmiştir.

1.1.4. Akciğer Kanseri Etyolojisi

İnhale edilen bir karsinojen olan sigara, akciğer kanseri ile ilişkisi en iyi bilinen etyolojik faktörlerdendir.

Sigara kanser riskini hiç sigara içmeyenlere kıyasla erkeklerde 8-15 kat, kadınlarda 3-10 kat artırır (1). Bir yılda saptanan akciğer kanseri olgularının gelişmekte olan ülkelerde %16'sının, gelişmiş ülkelerde ise %10'unun sigara sebebiyle ortaya çıktığı düşünülmektedir. Akciğer kanseri olan erkeklerin %85'inde, kadınların ise %47'sinde, sigara öyküsünün mevcut olduğu Kuzey Amerika, Avrupa, Yeni Zelanda, Avustralya gibi birçok ülkeyi içeren kapsamlı bir çalışmayla gösterilmiştir (17, 25). Yapılan iki ayrı çalışmanın sonuçlarına göre ise sigara içenlerde akciğer kanseri görülme sıklığı Olak ve ark.'larına göre %20, Kopper ve ark.'larına göre ise %10-15'dir (15, 26).

Sigaranın ortalama tüketim miktarı, içim süresi, başlama yaşı, içindeki tütünün cinsi, inhalasyon paterni ve eğer bırakılmışsa üzerinden ne kadar süre geçtiği, sigara ve akciğer kanseri ilişkisini daha iyi gösteren özelliklerdir. Akciğer kanseri gelişiminde en önemli belirleyici özellikle sigara içim süresidir (1, 27). Tüm akciğer kanserlerinde riski arttırdığı bilinen sigara, en sık skuamöz hücreli karsinom

gelişimini arttırır. Küçük hücreli karsinom ve adenokarsinom da daha az ilişkili akciğer maligniteleridir (1).

Bazı mesleki ajanlar olan asbest, silika, kristalin silika, radon, ağır metal ve polisiklik aromatik hidrokarbonların akciğer karsinomu ile ilişkisi olduğu bilinir (1). Akciğer kanseri yüksek doz iyonize radyasyon ile de ilişkilidir. Bu ilişkinin kanıtı Hiroşima ve Nagasaki atom bombalarından sonra bu bölgede yaşayanlarda akciğer kanseri sıklığının artmış olmasıdır (12). Çernobil kazası sonrası uzun süre radyasyona maruz kalan 15 akciğer kanserli hastayı içeren Kogan ve arkadaşlarının çalışmasının sonucunda, bu hastalarda gelişen 4 küçük hücreli karsinom, 5 skuamöz differansiyasyonlu kombine küçük hücreli karsinom, 5 adenokarsinom ve 1 adenoskuamöz karsinomun radyasyonla ilişkili olduğu bulunmuştur (28). Akciğerde çeşitli genetik değişikliklere sigara ve diğer ajanlar neden olur (26). Sigarada bulunan aktif karsinojenler tümör supresör genlerden KRAS, p53 ve FHIT (fajil histidin triad) de delesyon oluşturabilir (16).

Çeşitli karsinojenlerin etkisiyle ortalama 10-20 arasında genetik mutasyon oluşmasıyla akciğerde klinik olarak görünür tümör ortaya çıkar (29). %18 oranında KRAS, %10'dan az oranda Beta-katenin mutasyonu, %80 oranında 3p LOH ya da %70 oranında p16, %15 oranında pRb inaktivasyonunu içeren genetik değişikliklerin en az birinin kısmen de olsa varlığı normal alveol epitelinden atipik adenomatöz hiperplazi veya bronş epitelinden skuamöz hücre displazisi gelişimine neden olur. Bu değişiklikleri %50 oranında p53 inaktivasyonu ve %80 oranında 13q LOH takip etmesi halinde daha ileri dönemde adenokarsinom ve skuamöz hücreli karsinom oluşumu gözlenir. %70 oranında 2q LOH, %80 oranında 9p LOH, %85 oranında 18q LOH, %75 oranında 22q LOH, %10 oranında cMYC amplifikasyonu en son olarak beklenir (26).

Nöroendokrin karakteri olan epitel hücrelerinin erken dönem transformasyonunda %80 oranında 3p LOH ve %90 oranında pRb inaktivasyonu önemli olduğu düşünülen değişikliklerdir. %90 oranında p53 inaktivasyonu, %70 oranında 5q LOH ve %70 oranında 22q LOH küçük hücreli karsinom gelişiminde izlenir. %30 oranında cMYC amplifikasyonu ile küçük hücreli karsinomun daha ileri progresyonu izlenir (26).

Tirozin kinaz reseptör ailesine ait bir reseptör olan epidermal growth factor receptor (EGFR)'ü, EGF, transforming growth faktöralfa (TGF- α) ve diğer epidermal growth faktör (EGF) ailesinden olan ligandlara cevap verir. Normal bronşiyal mukozadan epitelyal hiperplaziye, epitelyal hiperplaziden kansere doğru gidişte, EGFR ekspresyonunda belirgin kademeli bir artış olduğu görülür. Bu da EGFR'nin akciğer karsinogenezine katılımında etkili olduğunu destekler (30, 31). EGFR ekspresyon oranları küçük hücre dışı akciğer karsinomunda, farklı serilerde % 43'ten %89'a değişir. %70 oranı ile EGFR aşırı ekspresyonu en çok skuamöz hücreli karsinomda görülür. Sonra sırasıyla, %50 oranında adenokarsinomda ve daha az oranda büyük hücreli karsinomda izlenir. Ekspresyon küçük hücreli karsinomda ise oldukça nadirdir (31).

1.1.5. Akciğerde Preinvaziv Lezyonlar

1. Skuamöz Displazi ve Karsinoma İnsitu: Skuamöz hücreli karsinom öncüsü olabilen bu lezyon grubu büyük hava yollarında bronş epitelinde gelişir, tek başına veya invaziv karsinom ile birlikte. Bu lezyonlar; hafif, orta, şiddetli displazi ve karsinoma insitu şeklinde silya yokluğu, epitel kalınlığı, atipi derecesi ve atipik hücrelerin oranı ve dağılımına göre derecelendirilir. Hafif displazide sitolojik ve yapısal değişiklikler çok az iken, karsinoma insituda epiteli tam kat tutan belirgin atipi, pleomorfizm, mitoz ve maturasyon kaybı vardır (1, 32).

2. Atipik Adenomatöz hiperplazi: Akciğer periferinde bulunan, alveolleri ve nadiren respiratuvar bronşiyolleri tip 2 pnömosit veya clara hücrelerine benzeyen, küboidal veya alçak kolumnar hücrelerin döşemesi ile oluşan bir lezyondur. Periferik pulmoner adenokarsinomun prelezyonudur. Genellikle adenokarsinom nedeniyle rezeke edilen materyallerde multifokal olarak rastlantısal fark edilir. 1-3 mm çapındadır çoğunlukla. Çapı 5mm'den büyük lezyonlar, karsinom olarak kabul edilmelidir (1, 32, 33).

3. Diffüz İdiyopatik Pulmoner Nöroendokrin Hücre Hiperplazisi (DIPNAECH): Pulmoner nöroendokrin hücrelerin tek hücreler, küçük nodüller şeklinde veya lineer proliferasyonu ile bronş veya bronşiyol epitelinde olur. Tümörlet, karsinoid ve atipik karsinoidin prekürsör lezyonudur. Hastalarda uzun zamandır mevcut olan, yavaş ilerleyen, kuru öksürük ve nefes darlığı şikayetleri

vardır. Fizik muayenede genellikle bulgu saptanmazken, azalmış diffüzyon kapasitesi ve solunum testlerinde obstrüktif veya obstrüktif ve restriktif paternin birlikte olduğu karışık pattern görülür. Erken lezyonlar makroskopik olarak genellikle gözle görülmez. Tümörlet veya mikrokarsinoid geliştiğinde, küçük gri-beyaz nodül görülür. Histopatolojik olarak subepitelyal bazal membran korunacak şekilde pulmoner nöroendokrin hücrelerin yaygın proliferasyonu izlenir. Fibrozis nedeniyle bronşiyol duvarı kalınlaşmış olabilir. Fibrozis veya nöroendokrin hücre hiperplazisine bağlı bronşiyol tıkanması görülebilir. 5 mm çapa ulaştıkları zaman karsinoid olarak adlandırılmalıdır (1, 32 , 33).

1.1.6. Akciğer Tümörlerinde Sınıflama Sistemleri

Tüm dünyada tümörler için, uygun tedavi seçimi ve prognoz tayinine yardımcı olacak, tümörün davranışı hakkında bilgi verecek sınıflama sistemleri geliştirilmeye çalışılır. Akciğer tümörleri için Kreyberg ve Food ile 1952’de başlayan, WHO ile 1981-1999 ve 2004 te devam eden sınıflama sistemleri geliştirilmiştir. Yaygın olarak günümüzde 2004 WHO sınıflama sistemi kullanılmaktadır. Atipik adenomatöz hiperplazi ve diffüz nöroendokrin hücre hiperplazisinden oluşan 2 yeni prekürsör lezyon 1999 WHO sınıflama sisteminde 1981’den farklı olarak tanımlanmıştır. Lepidik yayılım gösteren invazyon yapmayan tümörler bronkoalveoler karsinom tanımlanmıştır. Adenokarsinomun alt tiplerine fetal adenokarsinom, kolloid adenokarsinom, müsinoz kistadenokarsinom, taşlı yüzük hücreli adenokarsinom ve berrak hücreli adenokarsinomu eklenmiştir. Büyük hücreli karsinom alt tiplerine büyük hücreli nöroendokrin karsinom ve bazaloid karsinomdan sonra son olarak pleomorfik, sarkomatoid veya sarkomatöz elementler içeren karsinom diye yeni bir grup eklenmiştir (33). 1999 sınıflamasından farklı olarak 2004 WHO sınıflamasında ise son eklenen grup pleomorfik karsinom, işsi hücreli karsinom, dev hücreli karsinom, karsinosarkom ve pulmoner blastom, sarkomatoid karsinom başlığı altında toplanmıştır (1).

1.1.7. Akciğer Tümörlerinde Histopatoloji

1.1.7.1 Skuamöz Hücreli Karsinom

Akciğerin skuamöz hücreli karsinomunun % 50'den fazlası ana bronküslerden gelişir (34). Hem endobronşiyal ve peribronşiyal bölgeye, hem de akciğer parankimine doğru yayılan santral bölge tümörleridir. İyi sınırlı nodüler bir büyüme özelliğine sahip kavitasyon yapma eğiliminde olan skuamöz hücreli karsinom genellikle periferik yerleşim gösterir (1, 34). Akciğerin skuamöz hücreli karsinomu diğer bölgelerdeki çok katlı yassı epitelden köken alan karsinoma göre genellikle orta ve az differansiyedir. Diğer bölgelerin skuamöz hücreli karsinomu ile mikroskopik olarak ortak özellikler taşır. Differansiyasyon, iyi, orta ve az differansiyasyon üzere hücresel pleomorfizm ve mitotik aktivite dikkate alınarak belirlenir. Tümörün derecesi belirlenirken, tüm histolojik kesitlerde en az differansiyasyon alan temel alınır. İyi differansiyasyon karsinomlarında keratinizasyon ve intersellüler köprüleşmeler belirginken, az differansiyasyon karsinomlarında daha nadir izlenir (1, 34). İntraepitelyal insitu tutulmuş olan bronküs boyunca uzanım gösterir. Adenokarsinom ve küçük hücreli karsinom bronşiyal uzanım göstermez. Tam tersine genellikle epitel altında büyür, özellikle küçük biyopsi materyallerinde keratinizasyon ve intersellüler köprü bulunmadığında histolojik tipe karar vermede yardımcıdır. Parankim içinde bulunuyor ise skuamöz hücreli karsinom, alveolleri harap ederek veya alveolleri doldurur tarzda büyüme gösterir (34). Dünya sağlık örgütü 2004 sınıflandırmasına göre skuamöz hücreli karsinomun papiller, berrak hücreli, küçük hücreli ve bazoid varyantları mevcuttur. Papiller skuamöz hücreli karsinom endobronşiyal, ekzofitik büyür. Fibrovasküler stroma etrafında papiller konfigürasyonda büyüme görülür mikroskopik olarak. Papiller yapıları döşeyen epitelde kalınlaşma ve tam kat belirgin hücresel atipi bulunur (35). İnvazyon çoğu vakada mevcuttur. Ancak bazı vakalarda invazyon olmaksızın sınırlı miktarda intraepitelyal uzanım görülebilir (1, 34). Bu özellikleri nedeniyle akciğerin papiller skuamöz hücreli karsinomunun benign epidermoid papillom, tiroid karsinomunun bronşiyal metastazı, endobronşiyal polipoid adenokarsinom gibi diğer endobronşiyal papiller tümörlerden ayırımı önemlidir (36). Epidermoid papillom lezyonunun altında yatan bazal membran varlığı ile endobronşiyal papiller skuamöz hücreli karsinomdan

ayrılır (37). Berrak hücreli varyantta tümör hücrelerinin neredeyse tamamını, belirgin hücre sınırları olan berrak sitoplazmaya sahip hücreler oluşturur. Sitoplazmik PAS (+) glikojen içermesinden ötürü böbreğin berrak hücreli karsinomunu anımsatır bir görünümü vardır. Bu nedenle böbreğin metastatik berrak hücreli karsinomundan ayrılmalıdır (1). Morfolojik olarak küçük tümör hücrelerinden oluşan az differansiye bir skuamöz hücreli karsinom varyantı olan küçük hücreli varyant, hiperkromatik nükleus, belli belirsiz bir nükleol, nükleer katlanma, ince nükleer membran ile karakterizedir. Daha iyi gelişmiş fibröz bir stroma ve belirgin hücre yuvalanmaları içerir küçük hücreli karsinoma kıyasla. Ayrıca bu alanlarla içiçe geçmiş oldukça belirgin skuamöz differansiyasyon alanları vardır. Daha kaba kromatinli olup nükleol içerir hücrelerin nükleusları (1, 35). Skuamöz hücreli karsinom ve küçük hücreli karsinomu birarada içeren kombine küçük hücreli karsinomdan ayırımını bu varyanttaki hücrelerin gerçek küçük hücreli karsinom hücresinin nükleer özelliklerini taşıması sağlar (1, 34). Tümör hücre adalarının periferinde belirgin palizadlaşan hücreler vardır bazaloid varyantta. Nodüler veya trabeküler bir büyüme paterni gösteren küçük tümör hücrelerinde dar ancak görülebilir bir sitoplazma, belirgin nükleol içermeyen hiperkromatik nükleus ve sık mitotik aktivite mevcuttur (38). Skuamöz differansiyasyon olmaksızın yaygın bazaloid patern içeren az differansiye karsinomlar büyük hücreli karsinomun bazaloid varyantıdır (1, 33, 34). Skuamöz hücreli karsinom immünohistokimyasal olarak %96 oranında yüksek molekül ağırlıklı sitokeratin (HMWCK) (34β12) (28), %100 oranında sitokeratin 5/6 (SK5/6) (39) ve %77 oranında ise karsinoembriyonik antijen (CEA) (40) ekspresyon eder. %3.6 gibi daha düşük oranda ise tiroid transkripsiyon faktör-1 (TTF-1) (41) ekspresyonu görülebilir (1, 4, 40, 41). Ayrıca %25 oranında bcl-2, %23 oranında sitokeratin 7(SK7) ve %63 oranında p16 ekspresyonu bildirilmiştir (39, 42).

1.1.7.2. Küçük Hücreli Karsinom

Herhangi bir akciğer kanseri geliştirebilecek plüripotent bronş rezerv hücresinden köken aldığı düşünülen küçük hücreli karsinomun köken aldığı hücre tam olarak bilinmemektedir. Nöroendokrin tümörler arasında değerlendirildiğinde, morfolojik ve genetik açıdan büyük hücreli nöroendokrin karsinoma daha çok

benzer tipik ve atipik karsinoide göre. Elektron mikroskopisinde hücrelerin büyük bir kısmında nöroendokrin granüller izlenir. Hem ana bronşta hem de akciğer parankiminde yerleşebilir. Makroskopik olarak bronşta yerleştiği zaman skuamöz hücreli karsinomdan farklı mukoza altında düz ve parlak nodüler bir yapı şeklindedir. Periferde bulunanlar ise sınırları düzgün, nodüler görünümlü lezyonlardır (1, 33). Hiperkromatik nükleus, belli belirsiz bir nükleol, nükleer katlanma, ince nükleer membran, dar sitoplazma ve belirsiz hücre sınırları içeren küçük hücrelerin diffüz büyümesinden oluşur mikroskopik olarak (43). 4 lenfosit boyutundan küçüktür her bir hücrenin boyutu. Mitotik oran çok yüksektir. Hücreler bazen rozet, trabekül ve periferde palizadlaşan hücreler bulduran yığıntılar oluşturur (1, 33). Kombine küçük hücreli karsinom, küçük hücre dışı karsinom tiplerinden (sıklıkla adenokarsinom, skuamöz hücreli karsinom veya büyük hücreli karsinom) herhangi birisi ile birlikte küçük hücreli karsinom varlığında oluşur. Küçük hücre dışı komponent en az %10 oranında bulunması halinde kombine küçük hücreli karsinom denilebilir (33, 44). %25 kadar tümörde nöroendokrin belirleyicilerin hiçbiri ile boyanma görülmezken immünohistokimyasal olarak olguların 2/3'ünden fazlası CD56, kromogranin, sinaptofizin (+) dir. (45). Ayrıca TTF-1 %90 kadar küçük hücreli karsinomda (+)'tir (46, 47). Sitokeratinlerden ise % 80 oranında SK 19, % 37 oranında SK 7 eksprese olur (39). 34β12 (yüksek molekül ağırlıklı sitokeratin) kombine küçük hücreli karsinomun küçük hücre dışı alanında pozitif olabilirken, küçük hücreli karsinomlarda negatiftir (48).

1.1.7.3 Adenokarsinom

Altı ayrı makroskopik paternde görülür akciğerin adenokarsinomları. En sık akciğer periferinden gelişen, santral skar ve sıklıkla plevral invazyon içeren kitle şeklindedir. Tümör kenarında ışınal uzanımlar veya lobüle bir görünüm olabilir. Santral veya endobronşiyal kitle şeklinde de makroskopik olarak görülebilir. Bu paternde polipoid büyüme gösterebilir ya da tümörün yüzeyini örten mukoza korunarak plak oluşturur. Distalde lipoid pnömoni eşlik edebilir bronşiyal lümen obstrüksiyonuna bağlı olarak. Üçüncü makroskopik patern, alttaki çatının korunduğu diffüz pnömoni benzeri lobar konsolidasyondur ve tipik müsinoz bronkoalveoler karsinomda görülür. Dördüncü makroskopik patern diffüz bilateral

akciğer hastalığından gelişir. Bazı vakalar karsinomun yaygın lenfatik yayılımına bağlı interstisyel pnömoni benzeri görünüm oluşturabilirken bazı vakalar tüm lobları tutan değişik boyutta nodüller içerir. Beşinci makroskopik paternde ise tümör visseral plevra boyunca plevrayı invaze ederek yayılır. “Psödomezoteliomatöz Karsinom” denilen özel bir adla anılan bu görünüm malign mezoteliomadaki kabuk benzeri kalınlaşmayı taklit eder. Son makroskopik adenokarsinom paterni lokalize bir skar veya diffüz interstisyel fibrozis zemininde gelişir (1). Akciğer adenokarsinomları Dünya Sağlık Örgütü'nün 2004 sınıflandırmasına göre mikst, asiner, papiller, bronkoalveoler, müsin üreten solid adenokarsinom alt tiplerine ayrılır. Asiner adenokarsinom, bronşları döşeyen hücelere benzeyen küboidal ve kolumnar hücrelerin oluşturduğu asini ve tübüller ile karakterizedir ve müsin üretir. Papiller adenokarsinom, tiroid ve overde görülene benzer, fibrovasküler bir kor etrafında papiller yapılar içerir ve akciğer parankiminin yerini almıştır (1, 21). Artmış mitotik aktivite sergileyen, belirgin nükleollü, iri hiperkromatik nükleuslu, büyük atipik hücreler ile döşelidir bu papiller yapılar (21). Morfolojik olarak nonmüsinöz bronkoalveoler karsinomlar ile papiller adenokarsinomlar karışabilir. Papiller adenokarsinomda komplike papiller büyüme paterni, altta yatan akciğer parankiminin destrüksiyonu, belirgin nükleer atipi bulguları vardır (49). Bronkoalveoler karsinom oluşumunda ana çatı korunacak şekilde neoplastik hücrelerin büyür ve stromal, plevral veya vasküler invazyon olmaksızın alveoller boyunca (lepidik patern) oluşur (1, 21). Müsinöz, nonmüsinöz ve ikisinin karışımından oluşan mikst alt tipleri bulunur (1). Makroskopik olarak diffüz pnömoni benzeri gelişim gösterebileceği gibi soliter bir pulmoner nodül olarak da görülebilir (21). Bronkoalveoler karsinomda septal kalınlaşma skleroz nedeniyle siktir. Sklerozan bronkoalveoler karsinom ile erken invaziv adenokarsinom ayırımı alveoler septaların kalınlaşması nedeniyle alveoler kollaps olduğunda güçleşir. Genellikle sitolojik atipide artış, fibrovasküler stromal reaksiyon ve sıklıkla asiner büyüme paterni invazyon göstergesidir (1). Fibroblastik aktivite içermelerine göre bronkoalveoler karsinomlar değerlendirildiğinde; fibroblastik aktivite içermeyenler cerrahi olarak çıkarıldıklarında kür kabul edildikleri için, akciğerin insitu adenokarsinomu olarak değerlendirilebilir. Sklerozan bronkoalveoler karsinom olarak adlandırılanlar ise fibroblastik aktivite içerirler. Tümör hücreleri fibroblastik

foküs ortasında daha az differansiye olup, daha fazla atipi bulundurur. İnvazyonun bu alanda olabileceği unutulmamalıdır (50). Histopatolojik olarak sıklıkla papiller bir çatı oluşturan Nonmüsinöz bronkoalveoler karsinom soliter bir lezyon olarak görülür (21, 49). Klara hücresi ve/veya tip II pnömosit differansiyasyonu tümörü oluşturan hücrelerde mevcuttur. Sitoplazmik çıkıntıları olan, soluk eosinofilik sitoplazmalı kolumnar hücreler klara hücreleridir. Küboidal hücrelerden oluşan tip II pnömositler ise sitoplazmik vakuelleri olan veya berraktan köpüksü görünüme değişebilen sitoplazmaya sahiptir. İntranükleer eosinofilik inklüzyonlar bulundurulabilir (1). Düşük dereceli bir tümör olan müsinöz bronkoalveoler karsinom bazal nükleusu olan, soluk sitoplazmalı uzun kolumnar hücrelerden oluşur. Goblet hücrelerine benzeyen bu hücreler değişik oranlarda sitoplazmik müsin içerirler. Çevre alveoler dokuyu dolduran müsin gölcükleri de bu tümörde görülebilir. Sitolojik atipi tümör hücrelerinde genellikle minimaldir. Hava yolu ile yayılan bu tümör hücreleri ana tümör dokusu çevresinde satellit tümör odakları oluşturabilir (1). Enterik, pankreatik ve biliyer kaynaklı metastatik adenokarsinomlardan bu lezyonların ayırımı yapılmalıdır (21).

Bronkoalveoler karsinom mikst alt tipte nadir görülür. Müsinöz ve non müsinöz bronkoalveoler karsinom makroskopik olarak soliter, multifokal veya konsolidasyon alanı şeklinde izlenebilir (1). Müsin üreten solid adenokarsinom; asini, tübül ve papilla yapısı içermeksizin iki büyük büyütme alanında en az beş müsin içeren tümör hücresi bulduran tabakalar şeklinde poligonal hücrelerden oluşur. 2004 Dünya Sağlık Örgütünün sınıflamasına göre; fetal adenokarsinom, müsinöz (kolloid) karsinom, müsinöz kistadenokarsinom, taşlı yüzük hücreli adenokarsinom, berrak hücreli adenokarsinom; müsin üreten solid adenokarsinom alt tipleri bulunmaktadır (1). Glikojenden zengin, silya içermeyen hücrelerin döşediği fetal akciğer tübüllerini anımsatan glandüler yapılardan oluşan bir tümör fetal adenokarsinomdur. Tümöre endometrioid görüntüyü hücrelerin içerdiği subnükleer ve supranükleer vakuoller verir. Fetal adenokarsinomların çoğu iyi differansiyedir. Pulmonar blastom olarak sınıflandığında sarkomatöz primitif blastemal stroma ile ilişkilidir. (1). Altta yatan akciğer parankimini destrükte eden müsinöz (kolloid) adenokarsinom geniş müsin gölcükleri oluşturan bir tümördür. Tek veya küçük küme oluşturmuş neoplastik epitel hücreleri müsin gölcükleri içinde

yüzer (1). Parsiyel fibröz kapsülü olan müsinöz kistadenokarsinom sınırlı bir tümördür. Müsin içeren kistik değişiklikler tümörün santralinde izlenir. Alveol duvarları boyunca neoplastik müsinöz epitel büyüme gösterir (1). Oldukça az differansiye bir tümör olan taşlı yüzük hücreli adenokarsinom geniş müsin vakuelleri nedeniyle nükleusu kenarda izlenen taşlı yüzük hücreleri içerir (21). Genellikle fokal bir patern şeklinde görülür ve diğer adenokarsinom alt tipleri ile ilişkilidir (1). Taşlı yüzük hücrelerinin tümörün en az %75'ini oluşturması taşlı yüzük hücreli adenokarsinom tanısı koydurur (21). Akciğerde taşlı yüzük hücreli adenokarsinom varlığında, primeri mide, kolon veya meme olabilecek metastatik bir tümör ekarte edilmelidir çünkü akciğerin primer taşlı yüzük hücreli adenokarsinomu oldukça nadirdir. (51). Sıklıkla majör adenokarsinom subtipleri içinde berrak hücre değişikliği fokal olarak görülür. Ancak berrak hücreli adenokarsinom nadiren tümörün major komponentini oluşturur (1). %80 ile en sık görülen alt tip mikst adenokarsinomdur. Değişik differansiyasyon alanları da içermekle birlikte histolojik subtiplerin karışımı bulunur (50). Adenokarsinomlar lenfatik ve hematojen yol ile öncelikle yayılır. Yayılım bronkoalveoler karsinomlarda aynı veya başka lobta, hava yolları boyunca görülebilir. bronkoalveoler karsinomlarda bu durum multisentrisiteye neden olur (1). Adenokarsinomlar immünohistokimyasal olarak sitokeratin AE1/AE3, EMA, CEA gibi epitelyal belirleyicileri tipik olarak ekspres ederler (52). SK 7 ve SK 19'u %100 oranında ekspres ederken, SK 20 pozitifliği oldukça nadirdir. TTF-1 pozitifliği % 90 oranında özellikle iyi differansiye tümörlerde belirgin olmak üzere bulunur (39). Adenokarsinom alt tiplerinde Sürfaktan protein A (SP-A) ekspresyonu değişiklik göstermektedir. SP-A reaksiyonu asiner adenokarsinomda %25, papiller adenokarsinomda %38, müsin üreten solid adenokarsinomda %3 oranında görülür (53). Ayrıca adenokarsinomlarda bcl-2 %10 oranında, siklin D1 %35-71 oranında ekspresyonu görülebilir (42).

1.1.7.4. Büyük Hücreli Karsinom

Undifferansiye küçük hücre dışı karsinom olan büyük hücreli karsinom; küçük hücreli karsinom, glandüler veya skuamöz differansiyasyon sitolojik ve yapısal görünümü içermez. Skuamöz hücreli karsinom, adenokarsinom ve küçük

hücreli karsinom komponenti dışlandıktan sonra büyük hücreli karsinom tanısı konur. Dünya Sağlık Örgütü 2004 sınıflamasına göre alt tipleri, büyük hücreli nöroendokrin karsinom, bazaloid karsinom, lenfoepiteliyoma benzeri karsinom, berrak hücreli karsinom, rabdoid fenotipli büyük hücreli karsinomdur (Tablo 1). Bazaloid karsinom ekzofitik bronşiyal büyüme gösterirken bunun dışındakiler tipik olarak periferel yumuşak, pembe-ten renkli büyük kitle olarak görülür. Ancak subsegmental veya daha büyük bronşlara da yerleşebilir. Sıklıkla komşu yapıları, visseral plevrayı, göğüs duvarını invaze eder (1, 54). Belirgin nükleollü, veziküler nükleuslu, büyük poligonal şekilli hücrelerin oluşturduğu tabakalar ve yuvalanmalar gösterir histopatolojik olarak (1, 34). Organoid yuvalanmalar, trabeküller, rozet benzeri ve palizadlaşan bir paternle nöroendokrin differansiyasyonu düşündüren görünüm büyük hücreli nöroendokrin karsinomda izlenir. Tümör hücreleri sıklıkla büyük, orta genişlikte veya geniş sitoplazmalıdır. Sıklıkla nükleol vardır ve belirgindir. Küçük hücreli karsinomdan ayırırda nükleol varlığı yardımcıdır. En fazla 75 olacak şekilde 11'den fazla mitoz 10 büyük büyüme alanında görülür. Daha yüksek mitotik oran ve geniş nekroz alanlarına sahip olması ile atipik karsinoidden ayırılır (1, 54). Kromogranin, sinaptofizin, CD56 gibi nöroendokrin belirteçler ile nöroendokrin differansiyasyon immünohistokimyasal olarak gösterilmelidir. Tek bir nöroendokrin belirleyicinin pozitif olması diffüz ve belirgin bir boyanma olduğunda tanı koymak için yeterlidir (34, 54). Büyük hücreli karsinomların genelinde %16 TTF-1, %40 sitokeratin 7, %36 sitokeratin 19 eksprese olur. Büyük hücreli nöroendokrin karsinomda ise bu oranlar sırasıyla %60, %70 ve %80'e çıkmaktadır (39). Sitokeratin 1, 5, 10 ve 14 (34β12)'ü ise eksprese etmez (1, 54). Büyük hücreli nöroendokrin karsinom ile birlikte skuamöz hücreli karsinom, adenokarsinom, dev hücreli karsinom ve/veya iğsi hücreli karsinom olduğunda büyük hücreli nöroendokrin karsinomun alt tipi olan kombine büyük hücreli nöroendokrin karsinom tanısı konulur (54). Bazaloid karsinom; solid, nodüler veya trabeküler büyüme paterni ile birlikte periferel palizadlaşan hücreler içerir. Küboidal den fuziforma değişen küçük monomorfik hücrelerdir tümör hücreleri. Mitotik oran 2mm²'de 1550 olacak şekilde oldukça yüksek ve sitoplazma oldukça dardır. Skuamöz differansiyasyon, skuamöz hücreli karsinomun bazaloid varyantının aksine içermemelidir. Stromada hiyalin veya mukoid dejenerasyon ve

küçük kistik boşluk çoğu bazaloid karsinomda bulunur. Ayrıca komedo tip nekroz sık görülebilir. SK 34β12 tüm vakalarda pozitif iken, TTF-1 negatiftir immünohistokimyasal olarak (1, 54). Büyük veziküler nükleuslu, belirgin nükleollü hücrelerin sinsityal büyüme paterni oluşturmaları ve yoğun lenfositik infiltrat ile karakterize olan lenfoepiteliyoma benzeri karsinom tümörün diffüz tabakalardan oluşan itici bir büyüme paterni vardır. Matür lenfositler ile karışık plazma hücreleri, histiyositler daha nadir olarakta nötrofil ve eosinofiller lenfoid reaksiyonu oluşturur. Epstein Bar Virüsü (EBV) viral sekansı tümör hücrelerinde saptanır (1, 54). Köpüksü sitoplazmalı geniş poligonal hücreler ile karakterize berrak hücreli karsinom, böbrek, tiroid ve tükrük bezindeki berrak hücreli karsinomları anımsatır. Tümör hücrelerinin en az % 10'unu rabdoid hücreler oluşturan rabdoid fenotipli büyük hücreli karsinomda bu rabdoid hücrelerin eosinofilik sitoplazmik globülleri içinde yer alan intermediate filamentleri vimentin, SK ve desmin pozitifdir (54). Saf rabdoid fenotipli büyük hücreli karsinom oldukça nadirdir. Küçük adenokarsinom foküsleri ve nöroendokrin belirleyiciler ile pozitiflik tümör içinde görülebilir (1).

1.1.7.5. Adenoskuamöz Karsinom

Biri en az %10 olacak şekilde skuamöz hücreli karsinom ve adenokarsinom içeren adenoskuamöz karsinom, genellikle akciğerin periferindeki santral bir skar üzerinde yerleşir. Asini, tübül veya papiller yapı varlığı ile adenokarsinom alanları; keratin ve intersellüler köprü varlığı ile skuamöz hücreli karsinom alanları belirlenir. Tanı koymak eğer adenokarsinom komponenti müsün üreten solid paternde ise güçleşir. Bu durumda diğer solid tip adenokarsinomlarda olduğu gibi bir büyük büyütme alanında 5 müsün damlacığı görmek adenokarsinom tanısı koymak için gerekir. Tümör, ayrıca bu iki komponente ek olarak büyük hücreli komponent bulundurabilir. Ancak tanı bu durumda bile değişmez (1, 34). Mukoepidermoid karsinomdan adenoskuamöz karsinomun ayırımı zordur. Atipi içermeyen veya hafif atipi içeren intermediate veya skuamoid hücreler ile karışık müsünöz glandlar düşük dereceli bir mukoepidermoid karsinomda mevcuttur. Yüksek dereceli mukoepidermoid karsinomu ayırmak daha güçtür. Yüksek dereceli mukoepidermoid karsinomda müsünöz ve epidermoid hücrelerin karışımı ile oluşan karakteristik görüntü, proksimal, ekzofitik, endobronşiyal yerleşim, düşük dereceli

mukoepidermoid alanların varlığı, keratinizasyon veya skuamöz inci yapılarının ve altta yatan skuamöz karsinoma insitu alanlarının yokluğu gibi bulgular görülür. Ancak tam bir ayırım tüm vakalarda her zaman yapılamamaktadır (1).Skuamöz hücreli ve adenokarsinomun immünohistokimyasal özelliklerini birlikte gösterir. TTF-1 pozitifliği adenokarsinom alanı ile sınırlıdır. SK AE1/AE3, SK 7 ve EMA pozitifdir (1).

1.1.7.6. Sarkomatoid Karsinom

Sarkom veya sarkom benzeri (iğsi ve/veya dev hücre) komponent içeren az differansiye küçük hücre dışı akciğer karsinomu olan sarkomatoid karsinom, Dünya Sağlık Örgütünün 2004 sınıflamasına göre pleomorfik karsinom, iğsi hücreli karsinom, dev hücreli karsinom, karsinosarkom ve pulmoner blastom olmak üzere 5 alt tipi vardır. Periferal akciğerde veya santralde yerleşir. Santral yerleşimli olanlar sesil veya pedinküle, daha küçük kitlelerdir. Periferal yerleşim gösterenler genellikle 5 cm üstünde çapa sahip olup, iyi sınırlı belirgin nekrozu olan kitle şeklinde izlenir. (1). Az differansiye skuamöz hücreli, adenokarsinom veya büyük hücreli karsinomdan birisine en az %10 oranında eşlik eden iğsi hücre ve/veya dev hücre varlığında pleomorfik karsinom tanısı konur. Sarkomatöz alanlardan karsinomatöz alanlara differansiyasyon olduğunda mikroskopik olarak karsinomatöz alanlardan sarkomatöz alanlara (iğsi ve/veya dev hücre içeren alanlar) geçişin görülmesi, bu sarkomatöz alanlarda epitelyal belirleyicilerin pozitif olması ve bazı vakalarda sarkomatöz alanlardaki hücrelerde intrasitoplazmik müsin varlığı gibi özellikler gösterir (55). İğsi hücreli karsinomda tümör sadece iğsi hücrelerden oluşur (1). Tümör belirgin kohezyon kaybı gösteren pleomorfik, multi ve/veya mononükleer dev hücrelerden oluştuğunda dev hücreli karsinom tanısı konur (1, 34). Karsinosarkom olarak adlandırılan tümörde ise malign kırıkırdak, kemik, iskelet kası gibi differansiye sarkomatöz eleman içeren sarkom ve karsinom birlikte görülür (13, 56). Sıklıkla solid kitle olarak üst loblarda görülür. %38'i periferal iken %62 endobronşiyal veya santral yerleşir (56). Bifazik bir tümör olan pulmoner blastom ise, iyi differansiye fetal adenokarsinomu anımsatan primitif epitelyal komponent ve osteosarkom, kondrosarkom ve rabdomyosarkom foküsü içeren, primitif mezenkimal stroma içerir (1). 10-16. haftalar arasındaki fetal akciğer dokusuyla benzerlik

gösteririr (57). İmmünohistokimyasal olarak pleomorfik, iğsi hücreli ve dev hücreli karsinom sıklıkla, sitokeratin, vimentin, karsinoembriyonik antijen ve düz kas belirleyicilerini eksprese eder. TTF-1 dev hücreli karsinomlarda pozitif olabilir. Karsinosarkomun sarkomatöz komponent kondrosarkom ise S-100 ile rabdomyosarkom ise kas belirleyicileri ile pozitiftir. Karsinosarkomun epitelyal komponenti keratinler ile pozitif boyanır. Pulmoner blastomun fetal adenokarsinom komponenti epitelyal belirleyiciler ile pozitif saptanırken, stromal hücreler ise vimentin ve kas spesifi aktin içerir (1).

1.1.7.7. Karsinoid Tümör

Nöroendokrin differansiyasyonu düşündüren büyüme paterni (trabeküller, palizadlaşmalar, organoid yapılar, rozet benzeri görünüm) ile karakterize tümördür karsinoid tümör (1). Köken aldığı Kulchitsky hücresi diffüz nöroendokrin sisteme dahildir (34). Tümör hücreleri arası stroma oldukça dar ve vaskülerdir Tümör hücreleri; ince granüler kromatinli ve eosinofilik sitoplazma içeren, poligonal şekilli uniform hücrelerdir. (34). Akciğer boyunca uniform bir dağılım gösteren tipik karsinoid tümör, 2 mm²'de 2'den az mitoz içerir ve nekroz bulundurmaz. Bronş ile ilişkili endobronşiyal kitle şeklinde izlendiğinde yüzeyinde intakt veya ülser bir mukoza bulundurur. Atipik karsinoid akciğerde daha çok periferik yerleşim gösterir ve tümör 2 mm²'de 2-10 mitoz ve/veya nekroz foküsü içerir. Her ikisinde iyi sınırlı, kesi yüzü ten rengi-sarı arası değişen kitle oluşturur (1). Tipik karsinoidlerde kromogranin, sinaptofizin, CD56, CD57 gibi nöroendokrin belirleyiciler, güçlü pozitif iken, atipik karsinoidlerde güçlü veya fokal, yama şeklinde pozitiflik gösterir. Karsinoidlerin çoğu sitokeratin eksprese eder. (1). Tipik karsinoidler %100 oranında nöral hücre adezyon molekülü (N-CAM), %40 oranında S-100 eksprese eder (31). Ayrıca %26 oranında TTF-1 içerir (39).

1.2. Tümör Biyolojisi

Kanser kontrolsüz hücre çoğalmasıyla karakterize, birçok hücre çeşidinde ve organda oluşabilen, çeşitli hastalıkların ortak adıdır (58). Kanser oluşumu, genellikle erişkinlerde sonradan edinilen bir genetik hastalıktır (58). Kanser oluşumunda genetik rol David Von Hansemann ve Theodor Boveri'nin

çalışmalarıyla, 19. yüzyıl sonu ile 20. yüzyıl başında ortaya konmuştur (59). Bu araştırmacılar, kanser hücrelerini mikroskop altında incelemiş, anormal kromozom yapılarını görerek kanserin kalıtsal materyaldeki değişimlerden kaynaklanan anormal klonlardan oluştuğunu öne sürmüşlerdir (59). Bu fikir, DNA'nın kalıtsal materyal olduğunu ve DNA hasarına sebep olan kimyasal maddelerin de aynı zamanda kansere sebep olabileceği fikrini desteklenmiştir (60). Daha sonraları, kanser hücrelerindeki genetik farklılaşma derin olarak çalışılmış ve kronik miyeloid lösemide 9 ve 22'nci kromozomlar arasındaki translokasyon saptanmıştır (59). Yapılan çalışmalarda, kanser hücrelerinden alınan total genomik DNA, normal NIH3T3 hücreleri ile karıştırılmış ve normal olan bu hücrelerde kanser oluştuğu gösterilmiştir (59, 61, 62). Kanser oluşumuna sebebiyet veren özgün DNA bölgesinin ayrıştırılması akabinde, G>T mutasyonunun *HRAS* geninin 12. Kodonunda yer alan glisin amino asidinin, valin amino asidine dönüşmesine sebep olduğu bulunmuştur (59, 63, 64). 1982 yılında yapılan bu çalışma, anormal genlerin kansere yol açtığı konusundaki diğer çalışmalar için de bir çığır açmıştır (59). Vücutta mevcut tüm hücreler gibi kanser hücreleri de, aynı diploid genoma sahip tek hücreden köken alan, döllenmiş yumurtadan gelişmektedir. (58). Döllenmiş yumurtaya nazaran kanser hücrelerinde; kromatin yapısal değişimleri ve gen ifade seviyelerinin değişmesine sebep olan epigenetik değişimlerin de olduğu görülmektedir. Ayrıca epigenetik etmenlerden sitozinlerden metillenme kalıtsaldır ve anne hücreden yavru hücreye aktarılmaktadır (65, 66). Kanser hücrelerinin gen ifadelerinin değişmesine neden olan epigenetik etmenler, tek başlarına kanser gelişimini başlatmasalar da, mutasyonların etkilerini arttırarak, onkogenik dönüşümün gerçekleşmesine katkıda bulunurlar (65). Epigenetik düzenlemelerdeki kontrol kayıpları, genetik mutasyonlara katkıda bulunarak neoplastik hastalıkların oluşmasına neden olur (65).

Epigenetik etmenlerdeki değişimler, karmaşık ve dinamik değişimdir (65). Bunlar; DNA metilasyonu, nükleozom yeniden şekillenmesi, transkripsiyon sonrası histon işlemleri, histon çeşitlerinin (varyant) oluşturulması ve kodlamayan RNA etkileri olabilir (65). Farklı histon çeşitlerinin oluşturulması gibi, kanser gelişiminde önemli rolü olan proteinlerin farklı kesilip ve eklenmesiyle, belli kanser türlerinde bazı çeşitlerinin daha fazla ifade edildiği görülmüştür (67, 68). Bu durum, kanser

gelişiminde farklı kesip ekleme mekanizmalarının da önemli etken olduğunu göstermektedir. Bu farklı kesilip eklenmiş yapılar bazı kanser türlerinde, ilgili kanser türü için belirteç olarak değerlendirilmektedir (68). Hücre nükleer genomundaki değişimlere ilave olarak, yaklaşık 17 kb büyüklüğündeki mitokondri genomunda da mutasyonlar olabilir. (69). Kanser hücrelerindeki mitokondrielerde gerçekleşen somatik mutasyonlar rapor edilmiş olmasına rağmen, kanser oluşumundaki rolleri net değildir (69).

1.2.1 Kanser hücrelerinin genel özellikleri

Kanser hücreleri, normal eşdeğer hücrelerden gerek hücresel düzeyde oluşan değişimler, gerekse çevre ve buldukları sistem içerisinde oluşan değişimlerden kaynaklanan nedenlerle, farklı özelliklere sahiptir (70). Normal hücrenin çoğalmasını, farklılaşmasını ve sağ kalımını sağlayan mekanizmalarda kanser hücrelerinde anormallikler görülür. Bu anormallikler, kanser hücrelerinin spesifik özelliklerinin ortaya çıkma sebebidir (70, 71). Büyüme faktörlerine bağlı olarak büyüme ve çoğalma faaliyetlerini gerçekleştiren normal hücreler, ortamda bulunan büyüme faktörlerinin düzeyine bağlı olarak belirli bir noktaya kadar çoğalırlar ve sonrasında hücre döngüsünün G_0 evresine girerler (70). Yoğunluğa bağlı engellenmeden etkilenmeyen kanserli hücreler, normal hücreler gibi hücre döngüsünün G_0 evresinde durmayıp, kontrolsüz *in vivo* çoğalmaya devam ederler (70). Kanser hücrelerinin hücre dışı büyüme faktörlerine ihtiyacı, normal hücrelerden daha azdır (71, 72). Tümör hücrelerinin bu özellikleri sebebiyle hem *in vivo* hem de *in vitro* koşullarda kontrolsüz çoğalmaları kolaydır (65, 70). Hücre içi uyarı sistemlerinde gerçekleşen bozukluklar ve hücre çoğalmasını sağlayan uyarı yollarında görev yapan büyüme faktörü reseptörlerinin, Ras proteini veya protein kinazlar gibi başka proteinlerin kontrolsüz çalışması; kanser hücrelerinin büyüme faktörlerinden bağımsız çalışmasına sebebiyet verir (65, 70, 73). Kanserli hücrelerin, hücre-hücre ve hücre-matriks etkileşimleri de daha düzensizdir (70, 72, 74). Kanser hücrelerinin çoğunun tutunma yeteneği, normal hücrelere kıyasla yüzey yapışma ve tutunma moleküllerinin ifadesindeki azalma nedeniyle daha düşüktür (70, 72, 74). Epitel hücrelerindeki başlıca tutunma molekülü olan E-kadherin'in ortadan kalkması, karsinomların gelişmesinde büyük öneme sahiptir (73, 74). Kanser

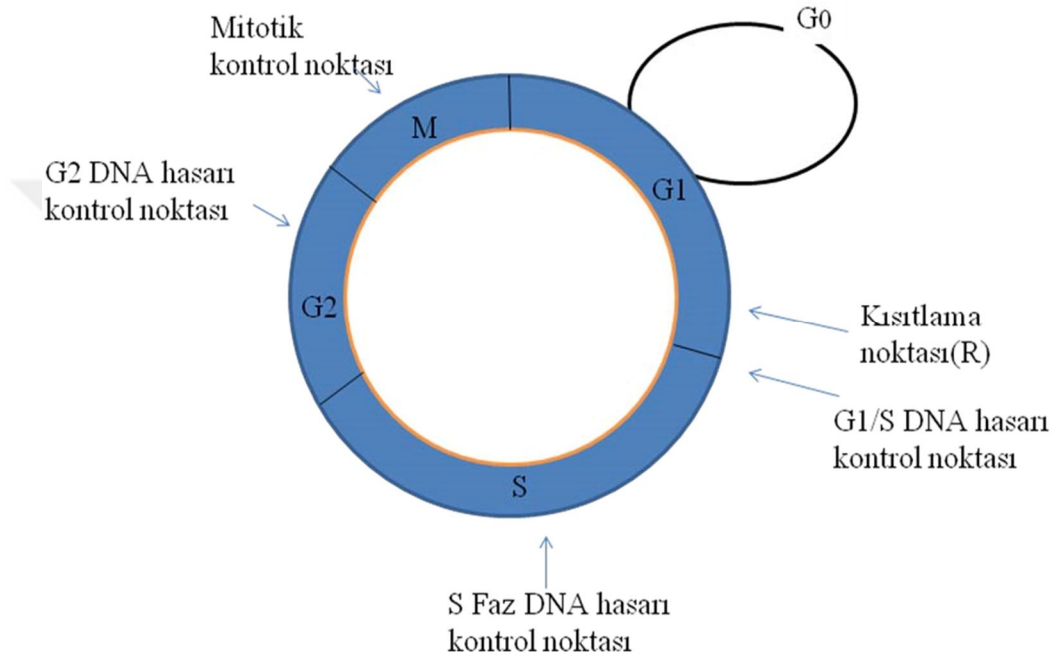
hücrelerinin yayılma ve metastaz yapma yeteneklerini artması; bu tutunma moleküllerindeki azalmayla oluşan diğer komşu hücreler ve doku bileşenleri tarafından, hücreler üzerinde gerçekleşen sınırlamanın kalkmasına bağlıdır (70).Kanser hücrelerinin tutunma yeteneklerinin azalma, morfolojileri ve hücre iskeletlerinin değişmesine de sebep olur (70). Tümör hücrelerinin çoğunun normal hücrelerden daha yuvarlak olması, hücre dışı matrikse veya komşu hücrelere tutunamadıklarındandır. (70).Dokunma engellemesi kaybı, hücre-hücre etkileşimleri bakımından normal hücreler ile kanser hücreleri arasındaki en önemli farklardan biridir (72, 75). Normal fibroblastlar, hücre kültürü sırasında kültür kabı üzerinde komşu hücrelerden biri ile temas ettikten sonra bu temasın etkisiyle hareketlerine son verirler. Ayrıca, hücreler birbirlerine tutunarak kültür kabı yüzeyinde düzenli olarak dizilirler (72, 75). Tümör hücreleri ise, komşu hücrelerle temas etseler de hareketlerine devam ederler (72, 75). Yanlardaki hücrelerin üzerine çıkarak düzensiz, çok katlı kümeler oluşturacak şekilde çoğalmalarını sürdürürler (72). Normal hücreler, hücre-hücre teması sonucunda hareket etme çoğalma işlevine son verirken, kanser hücreleri çoğalmaya devam eder (72). Kanser hücrelerinden salgılanan proteazlar, hücre dışı matriks bileşenlerini parçalayarak kanser hücrelerinin normal doku içine girmesini sağlar (76).Karsinomların bazal laminasını parçalayıp altındaki bağ dokusuna girebilmesinde önemli etken hücrelerden salgılanan kollojenazdır (76). Ayrıca, kanser hücrelerinden salgılanan büyüme faktörleri, yeni kan damarlarının oluşumunu (anjiyogenez) hızlandırır (77). Tümör kitlesinde hücre miktarı 1 milyonu aştığında, hücrelere oksijen ve besin maddelerini ulaştıracak ve tümörün büyümeye devam etmesini sağlayacak yeni damarların oluşmasına ihtiyaç vardır (70).Tümör hücresi tarafından salgılanan büyüme faktörlerine yanıt olarak, çevre doku kılcal damar duvarındaki endotel hücrelerinin çoğalması uyarılır, bu damarlar oluşur. Böylece oluşan yeni kılcal damarlar tümörün içine doğru uzanır (77).Hem tümör büyümesinde hem de bazı tümör hücrelerinin, tümör kitlesinden ayrılarak yeni kılcallara katılmasından dolayı, metastatik yayılımda yeni damar oluşumu önem taşımaktadır (77). Kanser hücreleri, kontrolsüz çoğalmalarıyla uyumlu olarak normal hücreler gibi farklılaşmazlar ve farklılaşmaları erken aşamalarda kalır. Kemik iliğindeki ortak bir kök hücreden köken alan kandaki farklı hücrelerin tümü; eritrosit, lenfosit, granülosit ve

makrofajlara farklılaşırlar. Farklılaşmayıp olgunlaşmanın erken evrelerinden birindeki durumlarını koruyan lösemi hücrelerinin ise, bölünme ve çoğalmaları devam eder (78). Birçok hücre türünde farklılaşmanın temel öğelerinden biri programlı hücre ölümüdür (79). Programlı hücre ölümünün kanser hücrelerinin çoğunda görülmemesinden ötürü, kanser hücreleri normal hücrelerden çok daha uzun yaşarlar. Tümör gelişimini önemli ölçüde hızlandıran önemli etmenlerden biri kanser hücrelerinin programlı hücre ölümünden etkilenmemesidir(78). DNA hasarı gerçekleştiğinde, normal hücrelerde programlı hücre ölümü başlatılır, ama kanser hücrelerinde bu durum olmaz. DNA hasarına yol açan kanser hücrelerinin programlı hücre ölümüne gidemeyişi, etki eden kemoterapotik ilaçlara karşı direnç göstermelerine neden olur (78). Kanser hücrelerinin sınırsız replikasyon yeteneğine sahip olmaları; programlı hücre ölümünden kaçışlarına ek olarak, ökaryotik kromozomların uçlarını kısaltmaktan koruyan telomeraz enziminin sentezi sebebiyledir (78). Kanser hücrelerinin devamlı ve kontrolsüz olarak çoğalma isteği kanser gelişiminin temel nedenidir (70).Kontrolsüz biçimde çoğalıp büyümelerini sürdüren kanser hücreleri, hücrenin normal davranışlarını kontrol eden uyarılara, normal tepkiyi göstermez (78). Bu çoğalmaya bağlı olarak normal doku ve organlara sonrasında tüm vücuda yayılırlar. Çoğalmayı denetleyen mekanizmaların yani hücre döngüsünün kontrolünün ortadan kalkması kanser hücrelerinin ortak olan özelliğidir. Çok hücreli sistemlerde biriken anomaliler bu durumun oluşmasında önemli rol oynamaktadır (70).

1.2.2. Hücre Siklusu

Hücrelerin kontrolsüz büyüme/çoğalmaları kanser hastalığının tanımındaki en temel noktadır. Köken aldıkları dokuda ya da yayılarak ulaştıkları diğer dokularda bölünüp ve çoğalan bu hücreler, vücudun normal işlevlerini bozarlar. Kanser hücrelerinin yeni damar oluşturma, metastaz yapma ve programlı hücre ölümünden kaçma gibi özelliklerinin yanı sıra, kanser hastalığının temelinde sınırlandırılmayan hücre çoğalması bulunmaktadır (79). Hücrelerin hacim ve kütle olarak büyümeleri, DNA'larını iki katına çıkarmaları ve iki yavru hücre oluşturmaları şeklindeki sırayı takip eden döngüsel işlem, hücre çoğalmasıdır. Hücrenin bölünme için gerekli hazırlığı yaptığı G₁ evresi, DNA'sını iki katına

çıkardığı S evresi, bölünmeye hazırlandığı G₂ evresi ve genetik materyalin eşit şekilde dağıtılarak iki yavru hücrenin oluşturulduğu M evresi bu döngüyü meydana getirir (79). Hücresel çoğalmanın geri dönüşsüz ve karmaşık oluşu nedeniyle, hücre döngüsündeki evreler arasında kontrol noktaları bulunmaktadır (Şekil 1). Bir evre bitmeden diğer evrenin başlatılmaması kontrol noktalarındaki en önemli özelliktir (79).



Şekil 1. Hücre döngüsü ve kontrol noktaları şekli

Hücre döngüsü, DNA sentezinden önceki bir hazırlık evresi G₁ (gap), DNA'nın sentezlendiği S evresi, sentez sonrası ara; G₂ ve mitoz (M) evrelerinden oluşmaktadır. Hücre döngüsünün ilerlemesinin durdurulabileceği Geç G₁, G₁-S geçişi, S, geç G ve mitozda kontrol noktaları vardır (79).

1.2.3. Hücre siklusunun kontrol mekanizması

Döngüye has bir takım proteinler olan siklinler, siklin-bağımlı serin/treonin protein kinazlar (CDK) ve siklin-bağımlı kinaz inhibitörler (CDI) aracılığıyla hücre siklusu özgün olarak kontrol edilmektedir (79, 80, 81). Karmaşık bir şekilde döngünün ilerlemesi sağlayan siklin, CDK ve CDI'lar hücre döngüsünün çeşitli aşamalarında farklılıklar gösterir (79, 80). Tek başlarına işlevsel olmayan CDK'lar,

siklin proteinleri ile birleşerek oluşan siklin-CDK kompleksleri halinde işlev kazanırlar Bu komplekslerin düzenleyici alt üniteleri siklinler, katalitik alt üniteleri ise CDK'lardır (80). Siklinler (A, B₁, D ve E), hücre siklusunun çeşitli evrelerinde döngüsel olarak bir yandan sentezlenirken diğer yandan da yıkılırlar. Bu proteinlerin yapım ve yıkım döngülerini vurgulamak için 'siklinler' olarak isimlendirilmiştir (79, 80).

Periyodik yapım ve yıkımları ile ilişkili olan CDK (CDK2, CDK4, CDK5, CDK6, CDK7, CDK25)'ların fonksiyonelliğinin düzenlenmesini siklinler sağlarlar. CDK'ların işlevleri siklinlerin yanı sıra, ayrıca özgün fosforilasyon defosforilasyon ile de düzenlenmektedir. Siklinlere, CDK'lara ya da siklin-CDK komplekslerine bağlanarak, CDK'ların işlevlerini CDI (p15, p18, p19 ve p27)'lar engellerler. Başlama siklinleri olarak adlandırılan D tipi siklinler, (D1, D2 ve D3) büyüme faktörleri veya mitojenlere cevap olarak sentezlenirler. Yıkımları ise mitojenlerin ortamdaki uzaklaşmasıyla olur. Doku tipine özgü olarak, hangi tip siklin D'nin ifade edileceği belirlenir. Örneğin, T lenfositler D3 tipi siklinlerle ifade edilir. CDK4 ve CDK6'nın düzenlenmesinde D tipi siklinler görev alırlar (80). CDK2'nin düzenlenmesinde Siklin E görev alır. G₁/S fazlarının sınırında geçici olarak sentezlenir ve hücre S fazına girdiğinde hemen yıkılır (80). Mitotik siklinler siklin A ve B₁ dir. S fazı boyunca sentezlenen siklin A, ve anafaz sırasında da yıkılır. CDK2 ile bileşim yapan Siklin A bu bileşimle DNA replikasyonunda rol aldığı düşünülmektedir (80). S fazının geç döneminde sentezlenen Siklin B₁, G₂ fazından M fazına geçerken sentezi en üst seviyeye erişir, anafazda da yıkılır. Siklin B'nin CDK2 ile birleşimi MPF (M-phase/maturation promoting factor) olarak da bilinir. Anafazda Siklin B₁ 'in yıkılmasıyla, hücre mitozdan çıkar ve G₁ fazına tekrar geri döner (80).

Protein-protein etkileşimleriyle hücre döngüsünün işlevleri düzenlenir. Siklinlerle etkileşerek işlev kazanan CDK'ların CDI'larla etkileşimi işlevlerini bozar. İşlevsel hale gelen CDK'lar, substratları fosforilleyerek işlev kazandırır. Hücre döngüsü, etkilenen substratın durumuna göre ya durur ya da bir sonraki aşamaya geçer. Örneğin, hücre bölünmesi ve farklılaşmasında *pRb* önemli rol oynamaktadır (79-81). Defosforile halde bulunan pRb, farklılaşmasını tamamlamış, dinlenme durumundaki veya yaşlı 'senesence' hücrelerde ifade edilir. G₁ fazının

sonunda bulunan bir kontrol noktasında (G₁/S kontrol noktası); pRb, normal işlevi gereği, hücre döngüsünü durdurur (79, 80, 81). pRb bir transkripsiyon faktörü ailesi olan E2F ailesini bağlayarak hücre döngüsü üzerindeki bu engelleyici etkisini gerçekleştirir. E2F ailesi engellenince bir sonraki faz olan S fazına hücre geçemeyeceğinden, döngü durur. Bölünme uyarısı alan G₀ evresindeki bir hücrede, hipofosforile halde olan *pRb*, CDK'ların etkisiyle fosforillenir ve M evresine kadar fosforile halde kalır. *pRb*, fosforile durumda iken E2F ailesini bağlayamaz ve E2F serbest kalır ve hücre G₁'den S evresine geçer. E2F ailesi; DNA polimeraz α , myc ve timidin kinaz gibi bir takım düzenleyici proteinler ile S evresine girişi sağlayarak gen ifadelerini olumlu yönde etkiler (79-81).

Sonuç olarak, hücre döngüsünün ilerlemesi ya da durması CDK'ların işlev kazanmaları ya da engellenmelerine bağlı olarak, *pRb* ve E2F üzerinden olmaktadır (79, 80).

1.3. Kansere Genetik Arasındaki İlişki

Kansere neden olan virüslerden türeyen genlerin tanımlanmasıyla kanser genleri ortaya konulmuş ve bu genlerin hücre dönüşümüne baskın (dominant) bir tarzda neden oldukları bulunmuştur. Onkogen'ler olarak isimlendirilen bu genler, tümör gelişimine yol açarlar. Kansere sebep olan bu genlerin bulunmasıyla, kanseri engelleyen genlerin de olabileceğini düşündürmüştür (82).

Tümör baskılayıcı genlerin varlığı, somatik hücre melezleme çalışmalarıyla ortaya çıkarılmıştır. Aynı çalışmalar, tümör baskılayıcı genlerin çekinik genler olduklarını ve, hücredeki işlevlerinin tamamen ortadan kalkmasının tümör geliştirdiğini düşündürmüştür (82). 1969 yılında yapılan somatik hücre melezleme çalışmaları, kötü huylu dönüşümü gerçekleştirmiş olan hücrelerdeki tümör gelişimini A9 hücrelerinin baskıladıklarını göstermiştir (82, 83). Tümör gelişimi için 'two hit' olarak adlandırılan bir model öneren Knudson, gerçekleştirdiği çalışmalar ile insan tümör baskılayıcı genlerin varlığını doğrulamış (82-84).

Knudson, baskın olan kalıtsal retinablastom ile kalıtsal olmayan retinablastom arasında, mekanik bir ilişkinin olduğu şeklindeki ilk hipotezini tek taraflı (unilateral) ve çift taraflı (bilateral) retinablastom hastalarında gerçekleştirdiği karşılaştırma çalışmaları sonucunda öne sürmüştür (82).

Kalitsal formda çift taraflı retinablastom gelişiminin, ilk mutasyonunun kalitsal olarak aktarıldığını ve diğer mutasyonunun da somatik hücrelerde oluştuğunu öne sürmüştür. Kalitsal olmayan ve genellikle tek taraflı olan formda, retinablastom gelişiminde ise önce somatik hücrelerde iki mutasyonun gerçekleşmesi gerektiğini öne sürmüştür. Knudson'un bu hipotezi 1986 yılında Rb geninin klonlanmasıyla doğrulanmıştır. Heterozigotluk kaybı (Loss of Heterozygosity; LOH) çalışmaları, hem kalitsal hem de kalitsal olmayan retinablastomlarda ve diğer tümörlerde, Rb geninin her iki allelde de mutasyon taşıdıklarını ortaya koymuştur. İki allelin de mutasyona uğraması durumunda kanser gelişmesi, tümör baskılayıcı genlerin kanser gelişiminde çekinik genler olduklarını göstermiştir (82).

1969 yılında Li ve Fraumeni rabdomiyosarkom, osteosarkom ve meme kanserinin kadınlarda ailesel olarak kalıtıldığını bildirmişlerdir (82).

Yapılan çalışmalarla, *TP53* geninin mutasyonu sonucunda Li-Fraumeni sendromunun oluştuğu ortaya konulmuştur (82, 86). Birçok tümörde de, *TP53* geninin iki kopyasının mutasyona uğramış olduğu gösterilerek, tümör baskılayıcı genlerin 'two hit' modeliyle işlevlerini kaybettikleri, tümör biyolojisinde, temel bir inanç oluşturmuştur (82).

1.3.1 Onkogenler

Protoonkogenlerden köken alan onkogenler hücrelerin büyümesi lehine faaliyet gösteren genlerdir. Bu genlerde gerçekleşen nokta mutasyonu, translokasyon ve gen çoğalması (amplifikasyonu) hücre replikasyonunun devamlı hale gelmesine sebep olur.

Allellerden yalnızca bir kopyasının mutasyona uğramış olması onkojen aracılı hücre çoğalması olabilmesi için yeterlidir (87). Örneğin, Ras protein ürününün sürekli olarak çoğalma uyarısı oluşturmasına neden olan Ras geninin 12. 13. ve 61. kodonlarında gerçekleşen mutasyonlar, hücreye dönüşüm özelliği kazandırır (88).

1.3.2. Tümör baskılayıcı genler

Hücre döngüsünün düzenlenmesi, hücre yaşlanması, DNA tamir mekanizması, uyarı iletimi ve programlı hücre ölümü gibi hücre faaliyetlerini düzenleyen genleri tümör baskılayıcı genler kodlamaktadırlar (65, 89, 90). Dışarıdan gelen sinyallerin hücre içine taşınmasında, genetik ve metabolik hasarlarda duyarlılık oluşturma ya da cevap vermede, düzenleyici diğer proteinlerin hücre içindeki yerlerinin belirlenmesinde, nükleus veya sitoplazmadaki diğer enzimlerin faaliyetlerini düzenlemek için kinaz işlevi göstermede ve hücre yaşamasını, büyümesini kontrol eden genlerin düzenlenmesinde rol alan transkripsiyon faktörlerinin düzenlenmesinde de tümör baskılayıcı genler rol almaktadırlar (59, 65, 90). Tümör baskılayıcı genler, 3 sınıfa ayrılabilir. Bunlar; karsinogenezin erken döneminde mutasyona uğrayanlar Tp53 ve p16 hücrenin genomik bütünlüğünün sağlanmasında görev alan BRCA2 ve tümörle doğrudan ilişkili olmayıp da tümörün içinde mikro çevre üzerine etkili olan LOX olarak sayılabilir (87, 91).

1.4. TRP (Transient Receptor Potential)

Transient Receptor Potential (TRP) kanalları *Drosophila* türü sirke sineklerinin göz hücrelerinde ilk olarak 1998 yılında bulunmuştur (92).

1. TRP cononcial (TRPC) 7 farklı alt kanal;
TRPC1, TRPC2, TRPC3, TRPC4, TRPC5, TRPC6, TRPC7
 2. TRP vanilloid (TRPV) 6 farklı alt kanal;
TRPV1, TRPV2, TRPV3, TRPV4, TRPV5, TRPV6
 3. TRP polycystein (TRPP) 3 farklı alt kanal; *TRPP1, TRPP2, TRPP3*
 4. TRP mucolipin (TRPML) 3 farklı alt kanal; *TRPML1, TRPML2, TRPML3*
 5. TRP ankyrin (TRPA) 1 farklı alt kanal;
TRPA1
 6. TRP NOMPC (TRPN) 1 farklı alt kanal; *TRPN1*
 7. TRP melastatin (TRPM) 8 farklı alt kanal;
TRPM1, TRPM2, TRPM3, TRPM4, TRPM5, TRPM6, TRPM7, TRPM8
- olarak 7 alt tipinin varlığı gösterilmiştir(92). Bu iyon kanallarının çoğunluğu tek bir

iyon kanalına seçici olmayan yani sodyum ve kalsiyum'a aynı anda geçirgen, iyon kanallarıdır. Fakat bazı istisnaları da yok değildir. Bunlardan;

- *TRPM4* ve *TRPM5*; monovalant katyonlara,
- *TRPM6* ve *TRPM7*; magnezyum'a
- *TRPV5* ve *TRPV6*; kalsiyum'a
- *TRPV1*, *TRPML6* ve *TRPP3*; hidrojen'e oldukça geçirgendir (93).

TRP kanallarının; ikinci mekanizmada kalsiyumun önemli rol oynadığı (94), hücre ölümlerine duyarlı oldukları (95), Uyarılmayan hücrelerdeki kalsiyum geçirgenliğinde ve katyon akışında etkili oldukları (96), Genel olarak voltajdan etkilenmedikleri (97), Hücre proliferasyonu, fertilité ve hassasiyet ile ilgili de görevlerinin olduğu bildirilmiştir (98).

1.4.1. TRPM (transient receptor potential melastatin)

TRP kanallarından ilk tanımlanan üye TRPM (Transient Receptor Potential Protein, Melastatin subfamily) olup, melastatin bir tümör baskılayıcı protein olarak bildirilmiştir (99, 100). TRPM alt üyeleri;

TRPM1, *TRPM2*, *TRPM3*, *TRPM4*, *TRPM5*, *TRPM6*, *TRPM7* ve *TRPM8* 'dir (101, 102).

TRPM'nin alt üyeleri başlıca 4 grupta sınıflandırılabilir;

1. *TRPM1* ve *TRPM3* birinci grupta yer almaktadır. *TRPM1*'i aktive eden bilinmezken, *TRPM3*'ün ise kalsiyum ile aktive olmaktadır.
2. *TRPM6* ve *TRPM7* ikinci grupta yer almaktadır. *TRPM6* ve *TRPM7*'nin COOHterminal serin/treonin ile aktive olmaktadır.
3. *TRPM4* ve *TRPM5* üçüncü grupta yer almaktadır. *TRPM4* ve *TRPM5*'in kalsiyum'a geçirgen değildir.
4. *TRPM2* ve *TRPM8* dördüncü grupta yer almaktadır. *TRPM2* NUDT9 ucunun ADP-Riboz, oksidatif stres ve ısı ile aktive olmakta; *TRPM8* ise soğuk reseptörüyle aktive olmaktadır (101, 102).

1.4.2 TRPM1

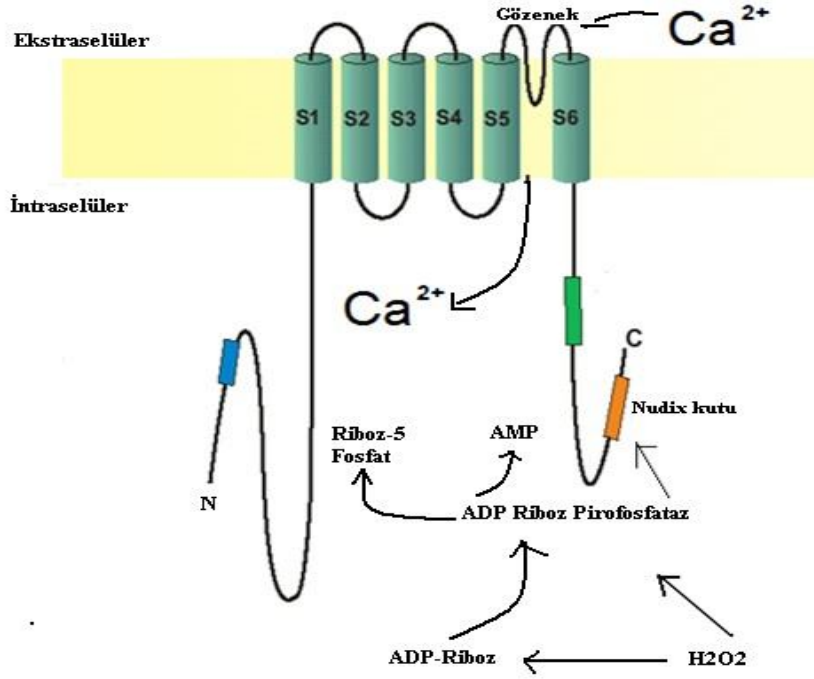
Bir tümör baskılayıcı protein olan melastatin1 (*TRPM1*), TRPM familyasının ilk ifade edilen üyesidir. (100) *TRPM1*'in melanositlerdeki ifadesi, melanomanın agresifliği ve metastaz yapması ile ters orantılı olduğu bildirilmiştir (92).

1.4.3. TRPM7

Calsiyum ve magnezyum'a bağlı metal iyonlarının geçirgenliğinde TRPM7'nin anlamlı bir etki göstermesinden ötürü, TRPM7'nin iyonların dokulardaki dağılımında önemli görevi olduğu düşünülmektedir. Ayrıca, *I_{OGD}* tarafından uyarılan anoksik nöral ölümlere de TRPM7'nin neden olduğu düşünülmektedir, Bu olgunun da; uzun süreli oksijen-glukoz yetersizliğine bağlı olarak aktif iyon akışının olmasından kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Bu çalışma aynı zamanda nöronlarda *TRPM7/I_{OGD}* akımına oranını, Ca²⁺ ve Mg²⁺'un düşük seviyelerinin arttırdığını göstermiştir. Ca²⁺ ve Mg²⁺ dan eksikliğiyle ALS-G (Amyotrophic lateral sclerosis) ve PD-G (Parkinsonism dementia complex) hastalık insidansı arasında kurulan bağlantı göz önüne alındığında, *TRPM7*'nin bu hastalıklarla ilişkili olabileceği düşünülmektedir (103).

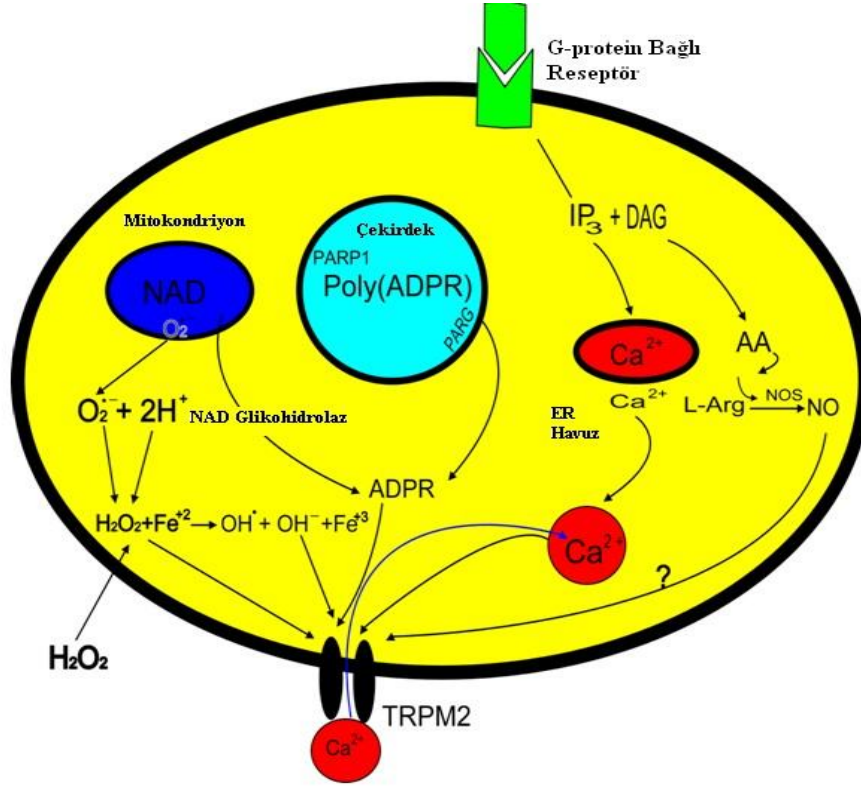
1.4.4. TRPM2

TRPM ailesinin ikinci üyesi olarak TRPM2 tanımlanmıştır (50, 51). Diğer iyon kanallarında olduğu gibi, *TRPM2* katyon kanallarında da 6 segment bulunmaktadır ve 5. ve 6. segmentler arasından iyon akışı gerçekleşmektedir (93). N ve C olmak üzere iki ucu vardır kanalın. Son çalışmalar, N-terminal bölgeyi kapsayan bir düzenleyici alan proteininin çevirilmesi ile iyon akışının da çevirilebileceğini düşündürmektedir. *TRPM2*'nin C ucuna 'nudix domain' adı verilmektedir. ADPR pirofosfataz enzimi bu uçta bulunmaktadır. ADPR'dan AMP ve Ribose 5-fosfat oluşumunu katalizleyen bu enzimdir (106).



Şekil 2. *TRPM2* kanalının moleküler yapısı

TRPM2'nin varlığı daha çok beyinde ispatlanmakla birlikte, aynı zamanda kemik iliği, dalak, kalp, lökosit, karaciğer ve akciğeri de kapsayan diğer birçok dokuda da saptanabilir. Perraud ve arkadaşları tarafından ilk defa 2001'li yılların başında *TRPM2* kanallarının ADPR tarafından aktive olabildikleri gösterilmiştir (107). Aachen Tıp Fakültesi Fizyoloji Enstitüsündeki Lückhoff'un grubu ile Japonya'dan Hara ve arkadaşlarının 2002 yılında yaptıkları çalışmalarda oksidatif stressle *TRPM2* kanallarının aktive olabileceğini ispatlamıştır (108-111). Daha sonraki çalışmalarda, etki mekanizmasının doğrudan ve dolaylı yolları konusunda araştırmacılar iki gruba ayrılmışlardır. Bir kısım araştırmacılar, mitokondriden ADPR üretiminin oksidatif stresle arttığını ve *TRPM2* kanallarını ADPR'nin açtığını öne sürmüşlerdir (112). Diğer bir kısım araştırmacılar ise; kanalların hem oksidatif stresle hem de ADPR ile ayrı ayrı açılabilmesini bildirmişlerdir (108, 109, 113).



Şekil 3. ADPR ve *TRPM2* kanal aktivasyonu ile oksidatif stres arasındaki ilişki

İntrasellüler adenine 5'-diphosphoribose (ADPR), Ca^{2+} akışını uyararak *TRPM2*'yi aktive eder., NUDT9-H *TRPM2*'nin C ucuna bağlanarak etkisini gösterir. Bu etki, NUDT9 ve ADPR hidrolaz arasındaki anlamlı ilişkiden kaynaklanmaktadır (109, 113, 114). ADPR ile perdelenen hücrelere karşı hücre içi Ca^{2+} 'un hassasiyeti vardır ve bu kanalın aktivasyonu için pozitif geribildirim sağlar (103). Oksidatif stres, hidrojen peroksid (H_2O_2) ya da tümör nekrozis faktör α ($TNF\alpha$) ile *TRPM2*'nin Ca^{2+} akışını uyardığı birçok çalışmada belirtilmiştir (103).

TRPM2'nin farklı aktivasyon özelliklerine göre *TRPM2-S*, *TRPM2-ΔN*, *TRPM2-ΔC* olarak üç fizyolojik varyantı tespit edilmiştir.

Kısa bir *TRPM2* varyantı olan *TRPM2-S*, *TRPM2*'nin N ucu ve *TRPM2*'nin uzunluğu boyunca doğrudan etkileşime girerek kalsiyum girişini inhibe etmektedir (91).

Dominant kanaldaki akışı bozan veya yüzeyi ile müdahaleyle akışkanlığı sağlayan *TRPM2-ΔN*, *TRPM2*'nin N ucundaki 20 amino asidin silinmesi ve H_2O_2

ya da ADPR'ye yanıt vermemesinden dolayı, TRPM2-ΔN mutasyonunu düşündüren, sistemdir (109).

Buna karşılık TRPM2-ΔC, TRPM2'nin C ucundaki NUDT9'da oluşan CAP etki alanında 34 amino asidi silerek, CAP etkiyi ADPR için CORE etki yaparak yakınlığını arttırmaktadır. Bu veriler, *TRPM2* aktivasyonunun oksidatif stresle olduğunu düşündürmektedir. NUDT9-H etki ya da ADPR etkisi içermeyen bu mekanizma net değildir. *TRPM2*'nin aktivasyonunun Hidrojen peroksit veya TNFα'ın ya da her ikisinin etkilerinin kalsiyum girişi ve hücre ölümüne duyarlılıklarıyla alakalı olduğu bildirilmiştir. Antisens yapıları ile baskılanarak ya da bağlı varyantları dominant olarak negatif inhibe ederek *TRPM2*'nin aktivitesinin durdurulmaktadır. Selektif inhibitörler henüz tesbit edilememekle birlikte, oksidan stres ve muhtemelen diğer olumsuz uyarılara karşı, potansiyel *in vivo* ölüm hücrelerini korumak için *TRPM2* fonksiyonlarının inhibisyonu bir yaklaşım olarak kabul edilmiştir. (108).

1.4.5. TRPM4 ve TRPM5 Kanalları

İntraselüler Ca²⁺ ile aktive edilen nonselektif bir katyon kanalı olan TRPM4, 2001'de beyin, plasenta ve testis cDNA kütüphanesinin taranmasından sonra klonlanmıştır (115). İlk olarak Launay ve arkadaşları tarafından klonlanmış ve tanımlanmış olan TRPM4 arteriyel endotelial hücreler, venöz endotelial hücreler, nöronlar, immun sistem hücreleri, pankreatik islet-β hücreleri düz kas hücreleri, gibi birçok dokuda eksprese olmaktadır (116). Monovalent spesifik bir katyon kanalıdır TRPM5 (115). TRPM5 in, cAMP kaskadında hedefi aşağı yöndedir (117). Tat reseptör hücrelerinde fonksiyon gören TRPM5 iyon kanalı ve fosfolipaz C'ye bağlı G-protein ilişkili reseptörlerle aktive olmaktadır. TRPM5'in düzenlendiği spesifik mekanizmalar henüz tam olarak aydınlatılamamıştır (114). Ca²⁺'a geçirgen olmamakla birlikte Ca²⁺, aktivitelerinde önemli yer tutmasının sebebi TRPM4 ve TRPM5 kanallarının internal Ca²⁺'un artışıyla aktive oluşudur. Bu yüzden, pek çok dokuda bulunan Ca²⁺-aktive non selektif katyonik akım olan TRPM4 ve TRPM5 in aktivasyonları, hücre membranı depolarizasyonunu indükler ve hücre fizyolojisine etkide bulunur(117).

Son yıllarda, devamlı eksprese edilen TRPM4 kanalının insülin sekresyonunda, kardiyak disfonksiyonda, serebral arter tıkanıklığında, nöron aktivitesinde, immün yanıtta da etkisi olduğu bildirilmiştir (118). Buna karşın, tat iletiminde görev alan TRPM5 daha sınırlı eksprese olmaktadır. Farklı kanserlerde TRPM8, TRPM1, TRPM4 ve TRPM5'in ekspresyonlarının arttığı gösterilmiştir (119).

1.4.6 TRPM8 Kanalı

Fiziksel şartlarda plazma membranı depolarizasyonuna neden olan Ca^{2+} ve Na^{+} 'un plazma membranından geçişini kolaylaştıran TRPM8 kanalı, bir katyon kanalıdır ve karsinogenezde önemli bir rol oynamaktadır (120). Bazı fare genitoüriner trase dokularında TRPM8-mRNA tanımlanmıştır (121). TRPM8- insan üriner mesanesinde ve immunoreaktif sinir liflerinde de gösterilmiştir (122). Mesane afferent nöronlarında TRPM8'in ekspresyon modeli tam olarak bildirilmemekle birlikte, TRPM8 mesane soğuk termoreseptörü olarak düşünülmektedir (120).

TRPM8'in ekspresyonu, prostatta bazal epitelyal hücrelerin hücre membranında lokalizedir. Farelerde yapılan çalışmalarda, ayrıca dorsal kök gangliyon dokusunda, penis, testis, , mesanede de bulunduğu gösterilmiştir. Testis, seminiferöz tübüller, skrotal deri ve mesanede eksprese olan TRPM8, Stein ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmaya göre, insan mesanesinde ürotelyuma sınırlıdır (123). Mesaneye buzlu soğuk su infüzyonuyla detrusor kas kontraksiyonunun spinal kord lezyonlu hastalarda gözlenmesi bu refleksin TRPM8 gibi soğuğa duyarlı olan TRP kanallarıyla ilişkili olabildiği düşünülmektedir (119).

1.4.7. Piezo proteinlerinin ekspresyonu, moleküler özellikleri ve yapısı

Omurgalılar Piezo1 (FAM38A) ve Piezo2 (FAM38B) adlı iki farklı proteine sahipken, birçok bitki hayvan ve ökaryot canlı tek bir Piezo proteinine sahiptir. Piezo 1 ve 2 farklı dokularda sentezlenmektedir (124, 125). Mesane, kolon, böbrek, akciğer ve deride Piezo1 ekspresyonu elde edilmiştir. Bu pattern ratlarda nortern blot analizleriyle de doğrulanmıştır. Piezo1 ayrıca deride de eksprese olmaktadır. Kolon, mesane ve akciğerde yoğun olarak eksprese olan Piezo 2 `nin ayrıca dorsal rat iletim nöronlarında da güçlü bir ekspresyonu elde edilmiştir. Yapısal olarak 6

transmembran unitinin 4 defa tekrarını içeren 24 transmembran alanlı voltajla aktive olan sodyum kanallarına benzemektedir. Endoplazmik retikulumda (ER) da Piezo 1 proteini bulunduğundan piezo proteinleri hem intrasellüler kompartımanlarda hem de hücre membranında rol oynayabilirler (124, 125).

Sodyum, potasyum, kalsiyum ve magnezyuma geçirgen olan Piezo 1 kanalı N2A, HEK293T ve C2C12 hücre hatlarında yoğun olarak eksprese edilmektedir (126, 127). İn vivo ortamda Piezo1 kanalının GsMTx4 tarafından inhibe edildiği gösterilmiştir (128).



2. GEREÇ ve YÖNTEM

2.1. Çalışma Gruplarının Tanımı

Tez çalışmasında kullanılan akciğer kanserli dokular Fırat Üniversitesi Patoloji Ana Bilim Dalından temin edildi.40 adet akciğer kanserli doku örneği alındı. 3 hasta çalışma dışı bırakıldı. Bunlardan çalışma gruplarıyla ilgili veriler aşağıdaki tabloda gösterilmiştir.

Tablo 1. Vaka özeti

Grup	OLGULAR					
	Dahil edilenler		Hariç edilenler		Total	
	Sayı	Oran	Sayı	Oran	Sayı	Oran
	37	92, 50%	3	7, 50%	40	100%

Tablo 2. Grup yaş ortalamaları ve standart sapma

Grup	Ort. yaş	Sayı	Std. Sap
1.Epidermoid	63.600	15	9, 50789
2.Adenokarsino	56.125	16	17, 49238
3.Büyük Hücreli	68.333	3	9, 50438
4.Küçük Hücreli	60.216	3	13, 72576

Tablo 3. Grupların diferansiasyon özellikleri

Grup	Az diferansiye	Undiferansiye	İyi diferansiye	Orta diferansiye
1-Epidermoid	6	2	3	3
2-Adenokarsino	10	0	0	6
3-Büyük Hücreli	3	0	0	0
4-Küçük Hücreli	3	0	0	0
Toplam	22	2	3	9

2.2. Kullanılan Aletler

- -20°C derin dondurucu: Arçelik, Türkiye
- -80°C derin dondurucu: Nuare, Meksika
- Etüv: Gallenkamp, Economy Incubator Size, Ukranya
- Falkon Tüp: Corning® 430766, 15 mL Centri füge Tube, Meksika
- Homojenizatör: Next Advance, Averill Park NY, Bullet Blender Storm, ABD

- Homojenizatör Boncuğu: Next Advance, GB05-RNA 0.5mm Dia, RNase-Free Glass Beads, ABD
- Mini Plate Spin: Labnet C1000, ABD
- Otomatik Pipetler: Socorex, Acura 825, Switzerland, İsviçre
- PZR ve Qubit tüpleri (0.6ml): Neptune, Katalog: 3737.S.X, Biotix Laboratory Media, İngiltere
- Plate Yapıştırıcı: AB Applied Biosystems, MicroAmp, Optical Adhesive Film, ABD
- Plate: AB Applied Biosystems, MicroAmp, Fast Optical 96-Well Reaction Plate With Barcode (0.1 mL), Singapur
- Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR): Biometra, Almanya
- Qubit® 2.0 Fluormeter: İnvitrogen by life technologies, Avustralya
- Real Time- PZR: AB Applied Biosystems, ABI Prism 7500 Fast Real Time PCR Instrument, Foster City, CA
- Santrifüj: Sigma, Almanya
- Spin: Labnet İnternational, Katalog No: C1031B-230V, Kore
- Vorteks: Elektro-Mag, Türkiye

2.3. Kullanılan Kimyasal Maddeler

- 2-Merkaptoethanol: C₂H₆OS, Biotechnology Grade, AMRESCO, Katalog No: 36/37/39.15, Ohio
- cDNA Kiti: AB Applied Biosystems, High- Capacity cDNA Reverse Trancription Kits, Part No: 437522 REVB, Foster City, CA
- Qubit RNA Buffer: İnvitrogen/Molecular Probes, ABD
- Qubit RNA Reagent: İnvitrogen/Molecular Probes, ABD
- Qubit® RNA Kiti: İnvitrogen/Molecular Probes, Qubit® RNA Assay Kit For Use With The Qubit® 2.0 Fluorometer, ABD
- RNA Kiti: İnvitrogen, Ambion by life technologies™ , PureLink™ RNA Mini Kit, Katalog No: 12183018A, ABD
- TaqMan® Gene Expression Master Mix: AB Applied Biosystems, Katalog No: 4369016, ABD

- Temizleme Solüsyonu: Bioshop, Nuclease Removal Reagent (500 mL), Kanada

2.4. Kullanılan Yöntemler

2.4.1. Total RNA İzolasyonu

Kullanılan Çözeltiler:

Lizis buffer: Kullanıma hazır şekilde kitin içinde bulunuyor.

Wash I: Kullanıma hazır şekilde kitin içinde bulunuyor.

Wash II: Kullanıma hazır şekilde kitin içinde bulunuyor.

%70'lik etanol

Deneyin Yapılışı: Akciğer dokularından RNA izolasyonu için PureLink™ RNA Mini Kiti kullanıldı. Çalışma prosedürü aşağıdaki gibidir:

Kit içerisindeki lizis buffer'den 1ml ve 2-merkaptoetanol'dan 10 µl falkon tüpüne alınıp karıştırılarak Lizis tampon çözeltisi elde edildi. Akciğer dokusu, doku ile eşit miktarda homojenizatör boncuğu ve hazırladığımız çözeltiden 600 µl alınarak kilitli eppendorf tüplere bırakıldı. Homojenizatörde 3 dakika (dk) 8. hızda parçalama işlemi yapıldı. Örnekler 12.000xg'de 2 dk oda sıcaklığında santrifüj edildi. RNA içeren sıvı fazın hepsi yeni bir ependorfa alınarak üzerine 500 µl %70'lik etanol eklendi ve vortekslendi. Örneklerden 700 µl alınarak kit içerisindeki kolonlara aktarıldı ve 12.000xg'de 15 saniye(sn) oda sıcaklığında santrifüj edildi. Kalan örneklerde kolonlara aktarılarak aynı şekilde santrifüj edildi. Santrifüj sonrası toplama tüpünün altında biriken sıvı boşaltıldı. Yıkama işlemleri kitin içindeki Wash I ve Wash II ile yapıldı. Örnekler 700 µl Wash I eklenerek 12.000xg'de 15 sn santrifüj edildi. Toplam tüpü değiştirildi. Örnekler 500 µl Wash II eklenerek 12.000xg'de 15 sn santrifüj edildi ve bu işlem iki defa tekrarlandı. Tüpün altındaki sıvı boşaltılarak hiçbir şey eklenmeden 12.000xg'de 2 dk santrifüj edildi. Kolonlar alınarak yeni ependorf tüplere bırakıldı ve üstüne 30 µl RNase içermeyen su eklenerek oda sıcaklığında 1 dk bekletildi ve 12.000xg'de 2 dk oda sıcaklığında santrifüj edildi. Ependorf tüpün dibindeki sıvı kısım bu aşamadan sonra RNA içermektedir. RNA örnekleri kullanılmaya kadar -80°C'de saklandı.

2.4.2. Spektrofotometrik RNA Ölçümü

RNA ölçümü için Qubit® RNA Assay Kit For Use With The Qubit® 2.0 Fluorometer (İnvitrogen/Molecular Probes) kullanıldı.

RNA miktarı µg/ml olarak ölçüldü. cDNA sentezi için RNA miktarlarının eşitlenmesi amacıyla okunan en düşük RNA değeri standart alındı. Komplementer DNA sentezi (cDNA) için her bir gruptaki örneklerden RNA havuzu hazırlandı ve 1.grup: kontrol, 2.grup: Beta-amiloid, 3.grup: amiloid+ Beta-amiloid ve 4.grup: sham olmak üzere toplam dört RNA havuzu elde edildi.

2.4.3. Komplementer DNA Sentezi

Kullanılan Çözeltiler: High- Capacity cDNA Reverse Transcription Kiti: Kit içinde 10XRT Buffer, 25XdNTP mix, 10XRT Random Primers, MultiScribe™ Reverse Transcriptase hazır halde bulunmaktadır.

Deneyin Yapılışı: cDNA sentezi için RNA örneklerinden 10 µl kullanıldı. cDNA sentezi toplam 20µl hacimde gerçekleştirildi. Sentez için 10µl RNA örneği, 2 µl 10XRT random primer, 2 µl 10XRT buffer, 0.8 µl 25XdNTP mix, 4.2 µl nükleaz içermeyen su ve en son olarak 1µl MultiScribe™ Reverse Transcriptase enzimi kullanıldı. Örnekler termal döngü cihazına yerleştirildi. 25°C'de 10 dk, 37°C'de 120 dk, 85°C'de 5 dk ve 4°C'de ∞ olacak şekilde cihazda bekletildi. Oluşan cDNA örnekleri -20°C'de saklandı.

Tablo 4. cDNA karışım miktarı

Bileşik	Hacim (µl)	Katalog No
10X RT Tamponu	2.0	4319981
25X dNTP karışımı (100mM)	0.8	4367381
MultiScribe™ Revers Transkriptaz	1.0	4319983
10XRT Random Primer	2.0	4319979
Nükleaz içermeyen H2O	4.2	
Reaksiyon toplamı	10.0	

Tablo 5. cDNA sentezi için uygulanan PZR programı

PZR	1.Adım	2. Adım	3. Adım	4. Adım
Sıcaklık	25°C	37°C	85°C	4°C
Zaman	10 dk	120 dk	5 dk	∞

2.4.4. Real Time-Polimeraz Zincir Reaksiyonu ile cDNA Amplifikasyonu:

Revers transkripsiyon ile elde edilen cDNA'lar sekans spesifik primerlerin varlığında Real Time-Polimeraz Zincir Reaksiyonu (RT-PZR) ile amplifiye edildi. Gliseraldehit 3-fosfat dehidrogenaz (GAPDH), TRPM2, TRPM4, TRPM5, TRPM7, TRPM8, Piezo1 ve Piezo2 genlerinin belirlenmesi için aşağıdaki tabloda verilen primerler kullanıldı. RT-PZR analizleri sonucunda gen ekspresyonundaki farklılıkların hesaplanmasında $2^{-\Delta\Delta CT}$ metodu kullanıldı.

Tablo 6. RT-PZR' da kullanılan primerler

Primer	Katalog Numarası
Gapdh	Hs02758991_g1
TRPM2	Hs01066071_m1
TRPM4	Hs00214167_m1
TRPM5	Hs00175822_m1
TRPM7	Hs00918956_m1
TRPM8	Hs00375481_m1
Piezo1	Hs00207230_m1
Piezo2	Hs00401026_m1

TaqMan Gene Expression Assay Gex: AB Applied Biosystems, ABD, 250µl

Real Time-PZR üç tekrarlı olarak gerçekleştirildi. RT-PZR plate hazırlanırken cDNA örneklerinde her bir kuyucuğa 2µl kondu. Buz üzerinde her bir örnek için 5µl TaqMan Master Mix, 2.5 µl nükleaz içermeyen su ve 0.5 µl primer hibridizasyon probu olacak şekilde örnek sayısına göre hesaplanan bileşen miktarları ependorflara bırakıldı ve vortekslendi. Plate'deki cDNA örneklerinin üzerine 8µl hazırlanan karışımdan bırakılarak plate'in üzeri optik yapıştırıcı filmle kapatıldı. Plate örneklerin tamamen dibe çökmesi ve oluşan kabarcıkların yok edilmesi amacıyla Mini plate spin cihazında 1 dakika santrifüj edildi.

Tablo 7. RT-PZR için her bir kuyucuğa konan bileşikler

Bileşikler	Hacim(μ l) X Örnek Sayısı
cDNA	2.0
Primer	0.5
TaqMan Mix	5.0
Nükleaz içermeyen H ₂ O	2.5
Toplam	10.0

Gen ekspresyon seviyeleri, Applied Biosystems 7500 Real-Time PZR sistemi ile ölçüldü. Çalışmada GAPDH kontrol gen (housekeeping) olarak kullanıldı. Isı koşulları 50°C’de 2 dakika, 95°C’de 10 dakika X 40 siklüs, 95°C’de 15 saniye ve 60°C’de 1 dakika olacak şekilde ayarlandı.

Tablo 8. Uygulanan RT-PZR programı

RT-PZR X 40 döngü				
	1. Adım	2.Adım	3.Adım	4.Adım
Sıcaklık	50°C	95°C	95°C	60°C
Zaman	2dk	10dk	15sn	1dk

2.5. İstatistiksel Değerlendirme

Bu tez çalışmasında istatistiksel değerlendirme; Fırat Üniversitesi Lisanslı (193.255.124.131) IBM SPSS 21.0 paket program kullanılarak yapılmıştır. İstatistiksel değerlendirmede $p < 0.05$ değeri anlamlı olarak kabul edilmiştir. Gruplar arasındaki ekspresyon düzeyleri arasındaki farklılıkların belirlenmesinde Student’s t testi kullanılmıştır.

3. BULGULAR

3.1. Real Time-Polimeraz Zincir Reaksiyon Analizi Bulguları

Çalışma Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji ABD’da yapılmıştır. Çalışma grubu 33-79 (ortalama 60, 2162yaş) yaş aralığında iken, kontrol grubu 59-70 (ortalama 64.6 yaş) aralığında idi. Çalışma grubunda 29 erkek, 8 kadın; kontrol grubunda ise 5 erkek, 2 kadın bulunmaktaydı. Patoloji ABD da seçilen akciğer kanserli hasta dokuları çalışma grubunu, normal akciğer dokulu hastalar ise kontrol grubunu oluşturdular. Çalışma grubundaki hastaların 15’i epidermoid karsinom, 16’sı adenokarsinom, 3’ü büyük hücreli karsinom, 3’ü deküçük hücreli karsinomdu. 37 akciğer kanserli doku ve 10 kontrol grubu olmak üzere toplam 47 akciğer dokusu çalışmaya alındı.

Tablo 9. Hastaların ve kontrol grubunu oluşturan sağlıklı bireylerin demografik verileri (Sonuçlar ortalama \pm standart sapma olarak verilmiştir).

	Kanser Grubu	Kontrol Grubu
n	37	10
Yaş	33-79	59-70

TRPM2

RT-PCR analiz sonuçlarımıza göre hem kontrol hemde kanser gruplarının hiçbirinde TRPM2 pozitifliği tespit edilmedi.

TRPM4

RT-PCR analiz sonuçlarımıza göre hem kontrol hemde kanser gruplarının hiçbirinde TRPM4 pozitifliği tespit edilmedi.

TRPM5

Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında adenokarsinom ($p=0.00$), Epidermoid ($p=0.01$) ve küçük hücreli ($p=0.00$) kanser gruplarında TRPM5 mRNA ifadesinin istatistiki olarak anlamlı düzeyde arttığı belirlendi. Ancak TRPM5 düzeyleri ve kanserin farklılaşması düzeyleri arasında istatistiki olarak anlamlı bir farklılık bulunmadı ($p= 0.45$)

TRPM7

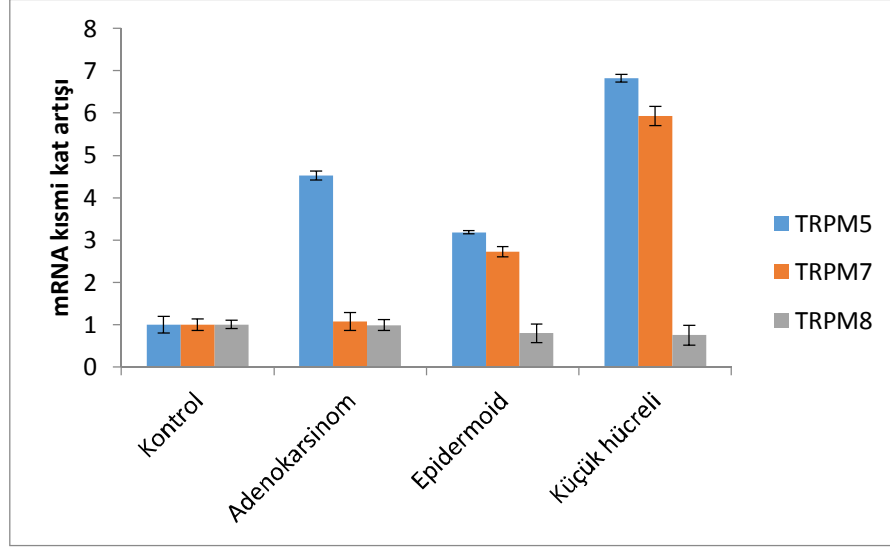
Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında epidermoid karsinom ($p=0.01$) ve küçük hücreli ($p=0.00$) kanser gruplarında TRPM7 mRNA ifadesinin istatistiki olarak anlamlı düzeyde arttığı belirlendi. Ancak kontrol grubuna göre adenokarsinom grubunda istatistiki olarak anlamlı düzeyde bir artış gözlenmedi. TRPM7 mRNA miktarı ve kanserin farklılaşma düzeyleri arasında istatistiki olarak anlamlı bir farklılık bulunmadı ($p= 0.09$)

TRPM8

Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında adenokarsinom ($p=0.68$), epidermoid ($p=0.57$) ve küçük hücreli ($p=0.49$) kanser gruplarında TRPM8 mRNA ifadesinin istatistiki olarak anlamlı düzeyde değişmediği belirlendi. TRPM8 düzeyleri ve kanserin farklılaşması düzeyleri arasında istatistiki olarak anlamlı bir farklılık bulunmadı ($p= 0.89$)

Tablo 10. Kanser ve kontrol grubundaki TRPM5 TRPM7 TRPM8 in istatisel değişimi

	TRPM5	TRPM7	TRPM8	TRPM5sd	TRPM7sd	TRPM8sd
Kontrol	1	1	1	0, 2	0, 14	0, 099
Adenokarsinom	4, 523005	1, 08	0, 99	0, 11	0, 21	0, 123
Epidermoid	3, 181746	2, 726291	0, 8	0, 04	0, 12	0, 22
Küçük hücreli	6, 819625	5, 93429	0, 75	0, 09	0, 23	0, 24



Şekil 4. Kontrol ve kanser dokularındaki TRPM5, TRPM7 ve TRPM8 iyon kanallarının mRNA kat artışı grafiği.

Real time PZR sonuçları, gruplar arasında TRPM8 açısından anlamlı farklılık olmadığını, TRPM5 ve TRPM7 genlerinde anlamlı artış olduğunu gösterdi. Her bir RT-PZR 3 tekrarlı olarak çalışıldı. Genlerin ekspresyon düzeyleri GAPDH'e göre normalize edildi. Sonuçlar her bir grup için ortalama± SD olarak ifade edildi.

Piezo1

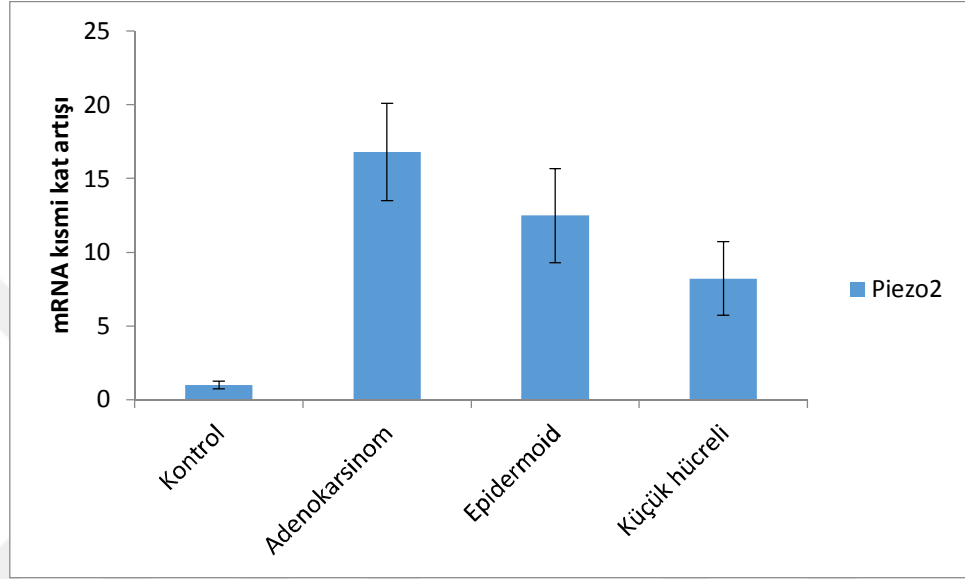
Kontrol grubunda Piezo 1 mRNA pozitifliği bulunmadı. Ancak kanser gruplarında pozitiflikler belirlendi. Adenokarsinom grubunun %20'sinde, Epidermoid karsinomların %15'inde ve küçük hücreli kanserlerden sadece 1'inde pozitiflik bulundu.

Piezo2

Real Time-Polimeraz Zincir Reaksiyon Analizi sonuçlarına göre kontrol grubu ile karşılaştırıldığında adenokarsinom ($p=0.00$), epidermoid ($p=0, 00$) ve küçük hücreli ($p=0.00$) akciğer kanserlerinde Piezo2 gen ekspresyonlarındaki değişimin istatistiki olarak anlamlı düzeyde olduğu belirlendi. Kanser grubunda Piezo2 geninin mRNA düzeyleri ve kanserin farklılaşma düzeyleri arasında anlamlı bir farklılık bulunmadı ($p=1, 02$).

Tablo 11. Kansere ve kontrol dokularındaki Piezo 2 istatistiksel değişim

	Piezo2	Piezo2 sd
Kontrol	1	0,26
Adenokarsinom	16,79383	3,3
Epidermoid	12,48446	3,2
Küçük hücreli	8,207098	2,5



Şekil 5. Kontrol ve kanser dokularındaki Piezo2 iyon kanalının mRNA kat artışı grafiği.

Real time PZR sonuçları gruplar arasında Piezo2 geninde ise anlamlı artış olduğunu gösterdi. Her bir RT-PZR 3 tekrarlı olarak çalışıldı. Genlerin ekspresyon düzeyleri GAPDH'e göre normalize edildi. Sonuçlar her bir grup için ortalama± SD olarak ifade edildi.

4. TARTIŞMA ve SONUÇ

Pek çok hücre tipinde ısı, kimyasal ve mekanik cevapları da içeren birçok fizyolojik olayda kritik görevler alan katyon kanalları olan TRP ailesi üzerinde yapılan çalışmalarda, kimyasal maruziyet, ısı, pH ve mekanik stres gibi pek çok çevresel faktörün spesifik TRP kanalları ile ilişkili olduğunu göstermektedir. Proliferasyon, farklılaşma, apoptoz ve onkogenез süreçlerinde bu spesifik TRP kanallarının önemli olduğu bildirilmektedir (129-132).

TRP ailesinin kalsiyum ve sodyum geçirgen kanallarının bazı üyelerinin, kanser hücrelerinde farklı düzeyde ekspresyonları olmasına rağmen şu ana kadar bu bilgi çok ilgi çekmemiştir. Bunun nedenlerinden birisi kanser evresine göre normal TRP proteinlerinin artmış ya da azalmış ekspresyon seviyelerinin bulunması ve TRP proteinlerini de içeren değişikliklerin içinde TRP genlerindeki mutasyonların olmaması olabilir (133).

Özellikle meme ve pankreas kanseri başta olmak üzere diğer kanserlerde de aşırı ekspresyonu bulunan TRPM7 kanalları her dokuda bulunmaktadır, pek çok dokuda düşük oranda eksprese olmaktadır (134, 135, 136). TRPM7 genindeki bir polimorfizmin kolorektal neoplazi için artmış risk ile ilişkili olduğu ortaya konan epidemiyolojik bir çalışma, TRPM7 ve kanser arasındaki ilişkiyi ilk tanımlayan çalışmalardan birisidir (137). Serum kalsiyum/magnezyum oranındaki artışın, TRPM7 kanallarını aktive ederek, prostat kanseri proliferasyonunu desteklediği daha sonraları yapılan bir çalışmada saptanmıştır. Aynı çalışma, prostat kanserinde TRPM7'nin önemli bir rolü olduğu ve tümör başlangıç ve progresyonunda kalsiyum/magnezyum oranının esas teşkil ettiğini vurgulamıştır (138). İnsan gastrik adenokansinom hücrelerinin büyümesini ve canlılığını TRPM7 kanalı aktivitesinin blokajı inhibe eder (139). Biz bu çalışmamızda akciğer kanserli dokularda TRPM 7 nin artmış olduğunu bulduk.

Oldukça yaygın oranda eksprese olan kalsiyuma geçirgen TRPM8 kanalları özellikle prostat kanserinde potansiyel bir prognostik ve tanısal bir biomarkırdır (140). TRPM8 mRNA'sı (diğer bir kalsiyuma geçirgen kanal) sağlıklı kolonda eksprese olmazken, kolorektal adenokarsinomda eksprese olur. Diğerlerine göre TRPM8, daha geç bulunan bir TRP aile üyesidir (141). Tümör hücrelerindeki

potansiyel aktivasyon mekanizması henüz tam olarak anlaşılabilen TRPM8'in soğuk sensörü olarak fizyolojik bir görev yerine getirdiği bilinmektedir (142). Ancak biz bu çalışmamızda akciğer kanserli dokularda TRPM 8'in değişmediğini bulduk.

Özellikle tat reseptör hücrelerinde eksprese TRPM5 kanalları akciğer, testis, dil, sindirim sistemi ve beyinde sentezlenmektedir (129). Bazı kanserlerde TRPM4 ve TRPM5 ekspresyonlarının arttığı bilinmektedir (143). Tümörögenезisin TRPM5'in değişmiş ekspresyon seviyeleriyle ilişkili olduğu düşünülmektedir. Özellikle TRPM5 mRNA ekspresyonu Wilms tümörlerinin birçoğunda ve rabdomyosarkomda artmış saptanmıştır (144). Biz bu çalışmamızda akciğer kanserli dokularda TRPM 5'in artmış olduğunu bulduk.

Özellikle pankreas, kalp ve plasentada sentezlenen TRPM4 kanalları hemen her dokuda eksprese olmaktadır. Özellikle üriner mesane detrusor düz kasında (DSM) tanımlanan ve DSM eksitabilitesi ve kontraktilesinden sorumlu olduğu düşünülen TRPM4 kanalının ürotelyumdaki fizyolojik önemi halen belirsizdir (145). TRPM4 iyon kanalı ekspresyonunun tanısal bir markır olarak kullanabileceğini TRPM4 mRNA ekspresyonunun lenfomalarda artması, göstermektedir (146). Ayrıca kanserde uygun bir terapötik yaklaşım olarak TRPM4 inhibisyonunun olabileceği ifade edilmektedir (147). Ancak biz bu çalışmamızda kanserli akciğer dokuları ve kontrol grubunda TRPM 4 pozitifliği saptamadık.

TRPM2 sessizleştirilmesi, sağlıklı hücreleri etkilemeden prostat kanser hücreleri proliferasyonunu ortadan kaldırır. TRPM2 mRNA seviyesi, CpG adacık metilasyonu ile artmış aktiviteye sahip olan melanomlarda yükselmektedir. (148). Bu bulgu, TRPM2 aktivitesinin artışının düzenlenmesinin melanom hücrelerinde kanser progresyonuna karşı mantıklı bir tedavi stratejisi olacağını göstermektedir (147). Ancak biz bu çalışmamızda kanserli akciğer dokuları ve kontrol grubunda TRPM 2 pozitifliği saptamadık.

Mesane, kolon, böbrek, akciğer ve deride Piezo1 ekspresyonu elde edilmiştir. Bu pattern ratlarda nortern blot analizleriyle de doğrulanmıştır. Piezo1 ayrıca deride de eksprese olmaktadır. Kolon, mesane ve akciğerde yoğun olarak eksprese olan Piezo 2'nin ayrıca dorsal rat iletim nöronlarında da güçlü bir ekspresyonu elde edilmiştir. Yapısal olarak 6 transmembran unitinin 4 defa tekrarını içeren 24

transmembran alanlı voltajla aktive olan sodyum kanallarına benzemektedir. Endoplazmik retikulumda (ER) da Piezo 1 proteini bulunduğundan piezo proteinleri hem intrasellüler kompartımanlarda hem de hücre membranında rol oynayabilirler (124, 125). Biz bu çalışmamızda akciğer kanserli dokularda piezo 2 yi artmış olarak bulduk.

Gelecekte her bir bireye ait tümör bilgisi kullanılarak kanser tedavisinin yapılabilineceği düşünülmektedir. Böylelikle, standart terapötik strateji yerini hasta ilişkili veriler kullanılarak bireye yönelik tedavi protokolüne bırakacaktır. Bu konuda hem yüksek oranda kişiselleştirilmiş tanıyı hem de hasta spesifik ve hedeflenmiş kanser tedavisini iyon kanalları güçlendirmektedir (142). Son yapılan çalışmalar, kanser tedavisinde TRP kanallarının önemli hedefler olduğunu göstermektedir. Kanser gelişimi ve progresyonunda bu kanalların ekspresyonu ve aktivitesi spesifik evreleri düzenlemektedir (129). Bu çalışmada amacımız, ülkemizde ve dünyada oldukça sık olarak görülen akciğer kanserinin TRPM piezo iyon kanalları ile ilişkili olup olmadığını ortaya koymak ve terapötik bir hedef olarak belirlemektir. Bunun sonucunda kanser tedavisinde önemli bir süreç başlatılacaktır.

5. KAYNAKÇA

1. Travis WD, Brambilla E, Hermelink HKM, Haris CC. Pathology and Genetics of Tumors of the Lung, Plevra, Thymus and Heart, Lyon: IARC Press, 2004.
2. Gautier M, Dhennin-Duthille I, Ay AS, Rybarczyk P, Korichneva I, Ouadid-Ahidouch H. New insights into pharmacological tools to TR(i)P cancer up. *Br J Pharmacol.* 2014; 171: 2582-2592.
3. Guinamard R, Sallé L, Simard C. The non-selective monovalent cationic channels TRPM4 and TRPM5. *Adv Exp Med Biol.* 2011; 704: 147-171.
4. Everaerts W, Gevaert T, Nilius B, De Ridder D. On the origin of bladder sensing: Tr(i)ps in urology. *Neurourol Urodyn.* 2008; 27: 264-73.
5. Everaerts W, Vriens J, Owsianik G, Appendino G, Voets T, De Ridder D, Nilius B. Functional characterization of transient receptor potential channels in mouse urothelial cells. *Am J Physiol Renal Physiol* 2010; 298: 692-701.
6. Farooqi AA, Javeed MK, Javed Z, Riaz AM, Mukhtar S, Minhaj S, Abbas S, Bhatti S. TRPM channels: same ballpark, different players, and different rules in immunogenetics. *Immunogenetics* 2011; 63: 773–787.
7. Zholos A. Pharmacology of transient receptor potential melastatin channels in the vasculature. *British Journal of Pharmacology* 2010; 159: 1559–1571.
8. Simon F, Varela D, Cabello-Verrugio C. Oxidative stress-modulated TRPM ion channels in cell dysfunction and pathological conditions in humans. *Cell Signal.* 2013; 25: 1614-1624.
9. Sadler T.W. Langman's Medikal Embriyolji, 6.Baskı. İstanbul: Palme Yayıncılık, 1989: 216: 222.
10. Warburton D, Schwarz M, Tefft D, Flores-Delgado G, Anderson KD, Cardoso WV. The molecular basis of lung morphogenesis. *Mechanisms of Development* 2000; 15; 92: 55-81.

11. Stocker JT, Dehner LP. Pediatric Pathology, 2nd edition. Lippincott JV, 1992:505: 510.
12. Kumar V, Abbas AK, Fausto N. Robbins and Cotran, Pathologic Basis of Disease, 7th edition. Philadelphia: E Saunders 2005: 711-773.
13. Koss LG, Melamed MR. Koss' Diagnostic Cytology and its Histopathologic Bases, 5th edition. Philadelphia: Lippincott Williams&Wilkins, 2006: 646-670.
14. Di Fiore MSH. Histoloji Atlası, 5. Baskı. İstanbul: Güven Yayınevi, 1981: 182-185.
15. Olak J, Colson Y. Gender differences in lung cancer: have we really come a long way, baby? J Thorac Card Sur 2004; 128: 346-351.
16. Huber RM, Stratakis DF. Molecular oncology--perspectives in lung cancer. Lung Cancer 2004; 45: 209-213.
17. Parkin DM, Bray F, Ferlay J, Pisani P. Global cancer statistics, 2002. CA: Cancer J Clinic 2005; 55: 74-108.
18. Özacar R, Böncü M, Yıldırım Y, Halilçolar H. Koah'lı olgularda akciğer kanseri. Akciğer Arşivi. 2002; 4: 177-181.
19. Arınç S, Özvaran MK, Güngör N, Çelik O, Soğukpınar Ö, Çolak F, Baran R. Hastanemizde tanı alan akciğer kanserli olguların epidemiyolojik ve histolojik özellikleri. Akciğer Arşivi 2005; 6: 149-152.
20. Hayretbağ HA, Akkoçlu A. Akciğer kanseri epidemiyolojisi. Türkiye Klinikleri Cerrahi Tıp Bilimleri 2006; 2: 58-65.
21. Moran CA. Pulmonary adenocarcinoma: the expanding spectrum of histologic variants. Arc Patholog Lab Med 2006; 130: 958-962.
22. Sulu E, Damadoğlu E, Nergiz S, Ertuğrul M, Saltürk C, Öğütçü-Karabay E, Yılmaz A. Primer akciğer kanserinde tümör tipi ve cinsiyet dağılımı değişiyormu? 2004 yılı sonuçlarının daha önceki yıllar ile karşılaştırılması. Tüberküloz ve Toraks Dergisi 2007; 55: 59-63.

23. Yılmaz A, Özvaran K, Unutmaz S, Bayramgürler B, Akaya E, Yazıcıoğlu Ö, Düzgün S. Akciğer kanserli olgularda tümör tipi ve bazı epidemiyolojik özellikler değişiyor mu? (1992-1998). *Toraks Dergisi* 2001; 2: 6-8.
24. Bozkurt B, Selçuk ZT, Fırat P, Kalyoncu AF, Artvinli M. 1972-2002 döneminde Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesinde akciğer kanseri tanısı konulan hastaların histolojik ve epidemiyolojik değerlendirilmesi. *Toraks Dergisi* 2004; 5: 148-153.
25. Parkin DM, Pisani P, Lopez AD, Masuyer E. At least one in seven cases of cancer is caused by smoking. Global estimates for 1985. *Int J Cancer* 1994; 59: 494-504.
26. Kopper L, Tímár J. Genomics of lung cancer may change diagnosis, prognosis and therapy. *Pathology Oncolog Res* 2005; 11: 5-10.
27. Tyczynski JE, Bray F, Aareleid T, Dalmas M, Kurtinaitis J, Plesko I, PompeKirn V, et al. Lung cancer mortality patterns in selected Central, Eastern and Southern European countries. *Int J Cancer* 2004; 109: 598-610.
28. Kogan EA, Cherniaev AL, Chuchalin AG, Samsonova MV, Demura SA, Sekamova SM, Zholt S, et al. Morphologic and molecular-genetic characterization of lung cancer developing in people who have worked at nuclear facilities and who have lived in Russian territories polluted after the accident at the Chernobyl power plant. *Arkhiv Patologi* 1999; 61: 22-26.
29. Salgia R, Skarin AT. Molecular abnormalities in lung cancer. *Journal of Clinical Oncology* 1998; 16: 1207-1217.
30. Hirsch FR, Scagliotti GV, Langer CJ, Varella-Garcia M, Franklin WA. Epidermal growth factor family of receptors in preneoplasia and lung cancer: perspectives for targeted therapies. *Lung Cancer* 2003; 41: 29-42.
31. Scagliotti GV, Selvaggi G, Novello S, Hirsch FR. The biology of epidermal growth factor receptor in lung cancer. *Clinical Cancer Research* 2004; 10: 4227-4232.
32. Kerr KM. Pulmonary preinvasive neoplasia. *J Clin Pathol* 2001; 54: 257-271.

33. Brambilla E, Travis WD, Colby TV, Corrin B, Shimosato Y. The new World Health Organization classification of lung tumours. *Eur Resp J* 2001; 18: 1059-1068.
34. Mills SE. *Sternberg's Diagnostic Surgical Pathology*, 4th edition. Philadelphia: Lippincott Williams&Wilkins, 2004: 1173-1217.
35. Silverberg SG, DeLellis RA, Frable WJ, LiVolsi VA, Wick MR. *Silverberg's Principles and Practice of Surgical Pathology and Cytopathology*, 4th edition. Elsevier, 2006: 941-942.
36. Dulmet-Brender E, Jaubert F, Huchon G: Exophytic endobronchial epidermoid carcinoma. *Cancer* 1986; 57: 1358-1364.
37. Cooper L, Hagenschneider JK, Banky S, Rosado-de-Christenson ML, Suster S: Papillary endobronchial squamous cell carcinoma. *Ann Diagnos Pathol* 2005; 9: 284-288.
38. Foroulis CN, Iliadis KH, Mauroudis PM, Kosmidis PA: Basaloid carcinoma, a rare primary lung neoplasm: report of a case and review of the literature. *Lung Cancer* 2002; 35: 335-338.
39. Jerome MV, Mazieres J, Groussard O, Garcia O, Berjaud J, Dahan M, Carles P, et al. Expression of TTF-1 and cytokeratins in primary and secondary epithelial lung tumours: correlation with histological type and grade. *Histopathology* 2004; 45: 125-134.
40. Ordóñez NG. The diagnostic utility of immunohistochemistry in distinguishing between epithelioid mesotheliomas and squamous carcinomas of the lung: a comparative study. *ModernPathology* 2006; 19: 417-428.
41. Zhang H, Liu J, Cagle PT, Allen TC, Laga AC, Zander DS. Distinction of pulmonary small cell carcinoma from poorly differentiated squamous cell carcinoma: an immunohistochemical approach. *Modern Pathology* 2005; 18: 111-118.
42. Pankiewicz W, Minarowski L, Niklińska W, Naumnik W, Nikliński J, Chyczewski L. Immunohistochemical markers of cancerogenesis in the lung. *Folia Histochemica et Cytobiologica*. 2007; 45: 65-74.

43. Junker K, Wiethage T, Müller KM. Pathology of small-cell lung cancer. *Journal of Cancer Research and Clinical Oncology*. 2000; 126: 361-368.
44. Nicholson SA, Beasley MB, Brambilla E, Hasleton PS, Colby TV, Sheppard MN, Falk R, et al. Small cell lung carcinoma (SCLC): a clinicopathologic study of 100 cases with surgical specimens. *Am J Surg Pathol* 2002; 26: 1184-1197.
45. Guinee DG, Fishback NF, Koss MN, Abbondanzo SL, Travis WD. The spectrum of immunohistochemical staining of small-cell lung carcinoma in specimens from transbronchial and open-lung biopsies. *Am J Clin Pathol* 1994; 102: 406-414.
46. Folpe AL, Gown AM, Lamps LW, Garcia R, Dail DH, Zarbo RJ, Schmidt RA. Thyroid transcription factor-1: immunohistochemical evaluation in pulmonary neuroendocrine tumors. *Modern Pathology* 1999; 12: 5-8.
47. Kaufmann O, Dietel M. Expression of thyroid transcription factor-1 in pulmonary and extrapulmonary small cell carcinomas and other neuroendocrine carcinomas of various primary sites. *Histopathology* 2000; 36: 415-420.
48. Sturm N, Rossi G, Lantuéjoul S, Laverrière MH, Papotti M, Brichon PY, Brambilla C, Brambilla E. 34BetaE12 expression along the whole spectrum of neuroendocrine proliferations of the lung, from neuroendocrine cell hyperplasia to small cell carcinoma. *Histopathology* 2003; 42: 156-166.
49. Silver SA, Askin FB. True papillary carcinoma of the lung: a distinct clinicopathologic entity. *Am J Surg Pathol* 1997; 21: 43-51.
50. Terasaki H, Niki T, Matsuno Y, Yamada T, Maeshima A, Asamura H, Hayabuchi N, et al. Lung adenocarcinoma with mixed bronchioloalveolar and invasive components: clinicopathological features, subclassification by extent of invasive foci, and immunohistochemical characterization. *Am J Surg Pathol* 2003; 27: 937-951.
51. Merchant SH, Amin MB, Tamboli P, Ro J, Ordóñez NG, Ayala AG, Czerniak BA, et al. Primary signet-ring cell carcinoma of lung: immunohistochemical study and comparison with non-pulmonary signet-ring cell carcinomas. *American Journal of Surgical Pathology* 2001; 25: 1515-1519.

52. Johansson L, Andersson C, Albin M. Immunohistochemical study of 158 lung carcinomas. *Acta Pathologica, Microbiologica, et Immunologica Scandinavica* 1992; 100: 914-921.
53. Uzaslan E, Stuempel T, Ebsen M, Freudenberg N, Nakamura S, Costabel U, Guzman J. Surfactant protein A detection in primary pulmonary adenocarcinoma without bronchioloalveolar pattern. *Respiration* 2005; 72: 249-253.
54. Brambilla E. Large cell carcinoma. *Breathe*. 2005; 1: 311-319.
www.ersnet.org/ers/LR/browse/viewPDF. Erişim tarihi; 20.04.2016
55. Nakajima M, Kasai T, Hashimoto H, Iwata Y, Manabe H. Sarcomatoid carcinoma of the lung: a clinicopathologic study of 37 cases. *Cancer* 1999; 86: 608-616.
56. Koss MN, Hochholzer L, Frommelt RA. Carcinosarcomas of the lung: a clinicopathologic study of 66 patients. *American Journal of Surgical Pathology*. 1999; 23: 1514-1526.
57. Cutler CS, Michel RP, Yassa M, Langleben A. Pulmonary blastoma: case report of a patient with a 7-year remission and review of chemotherapy experience in the world literature. *Cancer* 1998; 82: 462-467.
58. Cell Biology and Cancer. Video discovery, Inc. Development Team (National Institutes of Health), 1999.
59. Stratton MR, Campell PJ, Futreal PA, The Cancer Genome. *Nature* 2009; 458: 719-724.
60. Loeb LA, Haris CC, Advances in chemical carcinogenesis: a historical review and prospective. *Cancer Research* 2008, 68: 6863-6872.
61. Krontiris TG, Cooper GM, Transforming activity of human tumor DNAs. *Proc Nat Acad Sci* 1981; 78: 1181-1184.
62. Shih C, Padhy LC, Murray M, Weinderg RA, Transforming genes of carcinomas and neuroblastomas introduced into Mause fibroblasts. *Nature* 1981; 290: 261-264.

63. Reddy EP, Reynolds RK., Santos E, Barbacid M, A point mutation is responsible for the acquisition of transforming properties by the T24 human bladder carcinoma oncogene. *Nature* 1982; 300: 149-152.
64. Tabin CJ, Mechanism of activation of a human oncogene. *Nature* 1982; 300: 143-149.
65. DeVita V, Hellman S, Rosenberg SA. *Cancer*, Lippincott Williams and Wilkins, 2001: 77-119.
66. Talbot SJ, Crawford DH, Viruses and tumours-an update. *Eur J Cancer* 2004; 40: 1998-2005.
67. Venables JP, Aberrant and alternative splicing in cancer. *Cancer Research* 2004, 64: 7647-7654.
68. Brinkman BMN, Splice variants as cancer biomarkers. *Clinical Biochemistry* 2004; 37: 584-597.
69. Duccase M, Brown MA, Epigenetic aberrations and cancer. *Molecular Cancer* 2006; 5/60: 1-10.
70. Kouzarides T, Chromatin modifications and their function. *Cell* 2007; 128: 693-705.
71. <http://e-articles.info/e/a/title/development-of-cancer-and-characteristics-of-cancer-cells> Erişim tarihi: 14.11.2015.
72. <http://www.microbiologyprocedure.com/viruses-and-cancer/characteristics-of-cancer-cells.htm> Erişim Tarihi 14.11.2015.
73. Pedraza-Farina LG, Mechanisms of Oncogenes Cooperation in Cancer Initiation and Metastasis. *Yale J Biol Med* 2006, 79: 95-103.
74. Shiozaki H, Oka H, Inoue M, Tamura S, Monden M, E-cadherin mediated adhesion system in cancer cells. *Cancer* 1998; 77: 1605-1613.
75. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/bookshelf/br.fcgi?book=mboc4&part=A4313&rendertype=figure&id=A4313> Erişim Tarihi 14.11.2015.

76. Liotta LA, Stetler-Stevenson WG, Metallo proteinases and cancer invasion. *Semin Cancer Biol* 1990; 12: 99-106.
77. Carmeliet P, Jain RK, Angiogenesis in cancer and other diseases. *Nature* 2000; 407: 249-257.
78. Schulz WA, *Molecular Biology of Human Cancers*. Springer, 2007; 11-17.
79. Garret MD, Cell Cycle control and cancer. *Current Science*, 2001; 81: 515-522.
80. <http://biyokimya.uludag.edu.tr/CellCycleApoptosis.pdf> Erişim tarihi 29.01.2016).
81. Krug U, Ganser A, Koeffler HP, Tumor suppressor genes in normal and malignant hematopoiesis. *Oncogene*, 2002; 21: 3475-3495.
82. Payne SR, Kemp CJ, Tumor suppressor genetics, *Carcinogenesis*, 2005; 26: 2031-2045.
83. Harris H, Miller OJ, Klein G, Worst P, Tachibana T, Suppression of malignancy by cell fusion, *Nature* 1969; 223: 363-368.
84. Knudson AG, Mutation and cancer: statistical study of retinoblastoma. *Proc Natl Acad Sci* 1971; 68: 820-823.
85. Comings DE, A general theory of carcinogenesis. *Proc Natl Acad Sci* 2000; 70: 3324-3328.
86. Lee HP, Tumor suppressor genes: a newer a for molecular genetic studies of cancer. *Breast cancer Research and Treatment*, 1991; 19: 3-13.
87. Vimalachandran D, Genetics and prevention of pancreatic cancer, *Cancer Control* 2004; 11: 1, 6-14.
88. Sers C, Emmenegger U, Husmann K, Bucher K, Andres AC, Schafer R, Growthinhibitory Activity and Down regulation of the Class II Tumor-suppressor Gene Hrev107 in Tumor Cell Lines and Experimental Tumors. *Journal Cell Biolog* 1997; 136: 935-944.
89. Yeo CJ, Tumor suppressor genes: a short review. *Surgery* 1999; 125: 363-366.

90. Doğan AL, Güç D, Sinyal iletim mekanizmaları ve kanser. Hacettepe Tıp Dergisi, 2004; 35:34-42.
91. Erler JT, Bennewith KL, Nicolau M, Dörnhofer N, Kong C, Le QT, Chi JA, Jeffrey SS, Giaccia AJ, Lyslyoxidase is essential for hypoxia-induced metastasis. Nature 2006; 440: 1222-1226.
92. Clapham DE. TRP channels as cellular sensors. Nature 2003; 426: 517-524.
93. Nilius B, Owsianik G, Voets T, Peters JA. Transient Receptor Potential cation channels in disease. Physiol Rev 2007; 87: 165-217.
94. Berridge MJ, Lipp P, Bootman MD. The versatility and universality of calcium signalling. Nat Rev Mol Cell Biol 2000; 1: 11-21.
95. Harteneck C, Plant TD, Schultz G. From worm to man: three subfamilies of TRP channels. Trends Neurosci 2000; 23: 159-166.
96. Montell C. Physiology, phylogeny, and functions of the TRP superfamily of cation channels Sci STKE, RE1. 2001
97. Montell C, Birnbaumer L, Flockerzi V. The TPR channels, a remarkably functional family. Cell 2002; 108: 595-598.
98. Alexander SPH, Mathie A, Peters JA. Guide to Reseptors and Ion Channels. Br. J. Pharmacol 2004; 141: 1-126.
99. Duncan LM, Deeds J, Hunter J, Shao J, Holmgren LM, Woolf EA, Tepper RI, Shyjan AW. Down-regulation of the novel gene melastatin correlates with potential for melanoma metastasis. Cancer Res 1998; 58: 1515-1520.
100. Yee NS, Zhou W, Liang IC. Transient receptor potentiel ion channel Trpm7 regulates exocrine pancreatic epithelial proliferation by Mg²⁺-sensitive Socs3a signaling in development and cancer. Dis Model Mech. 2011; 4: 240-54.
101. Miller BA. The role of TRP channels in oxidative stress-induced cell death. J Membr Biol 2006; 209: 31-41.

102. Birnbaumer L. The TRPC class of ion channels: a critical review of their roles in slow, sustained increases in intracellular Ca^{2+} concentrations. *Annu Rev Pharmacol. Toxicol* 2009; 49: 395–426.
103. Mchugh D, Flemming R, Xu SZ, Perraud AL, Beech DJ. Critical intracellular Ca^{2+} dependence of transient receptor potential melastatin 2 (TRPM2) cation channel activation. *J Biol Chem* 2003; 278: 11002-11006.
104. Nagamine K, Kudoh J, Minoshima S, Kawasaki K, Asakawa S, Ito F, Shimizu N. Molecular cloning of a novel pupative Ca^{2+} channel protein (TRPC7) highly expressed in brain. *Genomics* 1998; 54: 124-131.
105. Sano Y, Inamura K, Miyake A, Mochizuki S, Yokoi H, Matsushime H, Furuichi K. Immuncyte Ca^{2+} influx system mediated by LTRPC2. *Science*, 2001; 293: 1327-330.
106. Clapham D E. Snapshot: mammalian TRP channels. *Cell* 2007; 129: 220.
107. Perraud AL, Fleig A, Dunn CA, Bagley LA, Launay P, Schmitz C, Stokes AJ, et al. ADP-ribose gating of the calcium-permeable LTRPC2 channel revealed by Nudix motif homology. *Nature* 2001; 411: 595–599.
108. Hara Y, Wakamori M, Ishii M, Maeno E, Nishida M, Yoshida T, et al. LTRPC2 Ca^{2+} -permeable channel activated by changes in redox status confers susceptibility to cell death. *Mol Cell* 2002; 9: 163-173.
109. Wehage E, Eisfeld J, Heiner I, Jungling E, Zitt C, Luckhoff A. Activation of the cation channel long transient receptor potential channel 2 (LTRPC2) by hydrogen peroxide. A splice variant reveals a mode of activation independent of ADP-ribose. *J Biol Chem* 2002; 277:23150-23156.
110. Naziroglu M. Lückhoff A. Effects of antioxidants on calcium influx through TRPM2 channels in transfected cells activated by hydrogen peroxide. *Journal of the Neurological Sciences* 2008; 15: 152-158.
111. Naziroglu M. Lückhoff A. A calcium influx pathway regulated separately by oxidative stress and ADP-ribose in TRPM2 channels: Single channel events. *Neurochem Res* 2008; 33: 1256-1262.

112. Perraud AL, Takanishi CL, Shen B, Kang S, Smith MK, Schmitz C, et al. Accumulation of free ADP-ribose from mitochondria mediates oxidative stress-induced gating of TRPM2 cation channels. *J Biol Chem* 2005; 280: 6138–6148.
113. Naziroglu M. New molecular mechanisms on the activation of TRPM2 channels by oxidative stress and ADP-ribose. *Neurochem. Res* 2007; 32: 1990-2001.
114. Hofmann T, Chubanov V, Gudermann T, Montell C. TRPM5 is a voltage-modulated and Ca(2+)-activated monovalent selective cation channel. *Curr Biol* 2003; 13: 1153-1158.
115. Van Haute C, De Ridder D, Nilius B. TRP channels in human prostate. *Scientific World Journal* 2010; 1: 1597-1611.
116. Launay P, Fleig A, Perraud AL, Scharenberg AM, Penner R, Kinet JP. TRPM4 is a Ca²⁺-activated nonselective cation channel mediating cell membrane depolarization. *Cell* 2002; 109: 397–407.
117. Thompson JA, Salcedo E, Restrepo D, Finger TE. Second-order input to the medial amygdala from olfactory sensory neurons expressing the transduction channel TRPM5. *J Comp Neurol* 2012; 520: 1819-1830.
118. Liman ER. The Ca₂₊-Activated TRP Channels: TRPM4 and TRPM5. Liedtke WB, Heller S, editors. *TRP Ion Channel Function in Sensory Transduction and Cellular Signaling Cascades*. Boca Raton (FL): CRC Press; 2007: Chapter 15.
119. Lehen'kyi V, Prevarskaya N. Oncogenic TRP channels. *Adv Exp Med Biol*. 2011; 704: 929-945.
120. Stein RJ, Santos S, Nagatomi J, Hayashi Y, Minnery BS, Xavier M et al. Cool (TRPM8) and hot (TRPV1) receptors in the bladder and male genital tract *J.Urol*. 2004; 172: 1175–1178.
121. Mukerji G, Yiangou Y, Corcoran SL, Selmer IS, Smith GD, Benham CD, et al. Cool and menthol receptor TRPM8 in human urinary bladder disorders and clinical correlations. *BMC Urol* 2006; 6: 6.

122. Hayashi T, Kondo T, Ishimatsu M, Yamada S, Nakamura K, Matsuoka K, Akasu T. Expression of the TRPM8-immunoreactivity in dorsal root ganglion neurons innervating the rat urinary bladder. *Neurosci Res* 2009; 65: 245-51.
123. Everaerts W, Gevaert T, Nilius B, De Ridder D. On the origin of bladder sensing: Tr(i)ps in urology. *Neurourol Urodyn* 2008; 27: 264-73.
124. Coste B, Mathur J, Schmidt M, Earley TJ, Ranade S, Petrus MJ, et al. Piezo1 and Piezo2 are essential components of distinct mechanically activated cation channels. *Science* 2010; 330: 55-60. B
125. Coste B. [Feeling the pressure? Identification of two proteins activated by mechanical forces. *Med Sci (Paris)* 2011; 27: 17-19.
126. Xiao R, Xu XZ. Mechanosensitive channels: in touch with Piezo. *Curr Biol* 2010; 20: 936-938.
127. McHugh BJ, Buttery R, Lad Y, Banks S, Haslett C, Sethi T. Integrin activation by Fam38A uses a novel mechanism of R-Ras targeting to the endoplasmic reticulum. *J Cell Sci* 2010 Jan 1; 123: 51-61.
128. Bae C, Sachs F, Gottlieb PA. The mechanosensitive ion channel Piezo1 is inhibited by the peptide GsMTx4. *Biochemistry* 2011; 50: 6295-300.
129. Gautier M, Dhennin-Duthille I, Ay AS, Rybarczyk P, Korichneva I, Ouadid-Ahidouch H. New insights into pharmacological tools to TR(i)P cancer up. *Br J Pharmacol* 2014; 171: 2582-2592.
130. Takaishi M, Uchida K, Fujita F, Tominaga M. Inhibitory effects of monoterpenes on human TRPA1 and the structural basis of their activity. *J Physiol Sci* 2014; 64: 47–57.
131. Santoni G, Farfariello V, Amantini C. TRPV channels in tumor growth and progression. *Adv Exp Med Biol* 2011; 704: 947–967.
132. Shapovalov G, Lehen'kyi V, Skryma R, Prevarskaya N. TRP channels in cell survival and cell death in normal and transformed cells. *Cell Calcium* 2011; 50: 295–302.

- 133.** Lazzeri M, Costantini E, Porena M. TRP family proteins in the lower urinary tract: translating basic science into new clinical prospective. *Ther Adv Urol* 2009; 1: 33-42.
- 134.** Guilbert A, Gautier M, Dhennin-Duthille I, Haren N, Sevestre H, Ouadid-Ahidouch H. Evidence that TRPM7 is required for breast cancer cell proliferation. *Am J Physiol Cell Physiol* 2009; 297: 493–502.
- 135.** Guilbert A, Gautier M, Dhennin-Duthille I, Rybarczyk P, Sahni J, Sevestre H et al. Transient receptor potential melastatin 7 is involved in oestrogen receptor-negative metastatic breast cancer cells migration through its kinase domain. *Eur J Cancer* 2013; 49: 3694–3707.
- 136.** Middelbeek J, Kuipers AJ, Henneman L, Visser D, Eidhof I, van Horsen R et al. TRPM7 is required for breast tumor cell metastasis. *Cancer Res* 2012; 72: 4250–4261.
- 137.** Trapani V, Arduini D, Cittadini A, Wolf FI. From magnesium to magnesium transporters in cancer: TRPM7, a novel signature in tumour development. *Magnes Res* 2013; 26: 149-155.
- 138.** Baldoli E, Maier JA. Silencing TRPM7 mimics the effects of magnesium deficiency in human microvascular endothelial cells. *Angiogenesis* 2012; 15: 47-57.
- 139.** Kim BJ, Nah SY, Jeon JH, So I, Kim SJ. Transient receptor potential melastatin 7 channels are involved in ginsenoside Rg3-induced apoptosis in gastric cancer cells. *Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology* 2011; 109: 233–239.
- 140.** Zhang L, Barritt GJ. TRPM8 in prostate cancer cells: a potential diagnostic and prognostic marker with a secretory function? *Endocr Relat Cancer* 2006; 13: 27–38.
- 141.** Clapham DE, Montell C, Schultz G, Julis D. International Union of Pharmacology. XLIII. Compendium of voltage-gated ion channels: transient receptor potential channels. *Pharmacol Rev* 2003; 55: 591–596.
- 142.** Schönherr R. Clinical relevance of ion channels for diagnosis and therapy of cancer. *J Membr Biol* 2005; 205: 175-84.

143. Prevarskaya N, Zhang L, Barritt G. TRP channels in cancer. *Biochim Biophys Acta*. 2007; 1772: 937-946.
144. Prawitt D, Enklaar T, Klemm G, Gartner B, Spangenberg C, Winterpacht A, et al. Identification and characterization of mTR1, a novel gene with homology to melastatin (MLSN1) and the TRP gene family located in the BWS-WT2 critical region on chromosome 11p15.5 and showing allele-specific expression. *Hum Mol Genet* 2000; 9: 203–216.
145. Parajuli SP, Hristov KL, Sullivan MN, Xin W, Smith AC, Earley S, Malysz J, Petkov GV. Control of urinary bladder smooth muscle excitability by the TRPM4 channel modulator 9-phenanthrol. *Channels (Austin)* 2013; 7: 537-40.
146. Suguro M, Tagawa H, Kagami Y, Okamoto M, Ohshima K, Shiku H, Morishima Y, Nakamura S, Seto M. Expression profiling analysis of the CD5+ diffuse large B-cell lymphoma subgroup: development of a CD5 signature. *Cancer Science* 2006; 97: 868–874.
147. Simon F, Varela D, Cabello-Verrugio C. Oxidative stress-modulated TRPM ion channels in cell dysfunction and pathological conditions in humans. *Cell Signal* 2013; 25: 1614-24.
148. Orfanelli U, Wenke AK, Doglioni C, Russo V, Bosserhoff AK, Lavorgna G. Identification of novel sense and antisense transcription at the TRPM2 locus in cancer. *Cell Research* 2008; 18: 1128–1140.

6. ÖZGEÇMİŞ

