

T.C.
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



**İNSANDA TÜMÖRLÜ VE TÜMÖRSÜZ PROSTAT
DOKULARINDA ETKİN OLAN İYON KANAL
EKSPRESYONLARININ ARAŞTIRILMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

SEDA ÖZAYDIN

ELAZIĞ - 2017

T.C.
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**İNSANDA TÜMÖRLÜ VE TÜMÖRSÜZ PROSTAT DOKULARINDA ETKİN
OLAN İYON KANAL EKSPRESYONLARININ ARAŞTIRILMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

SEDA ÖZAYDIN

[112110106]

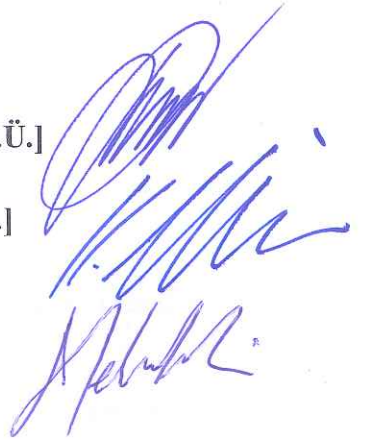
Tezin Enstitüye Verildiği Tarih: 14.06.2017

Tezin Savunulduğu Tarih: 25.09.2017

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Ebru Etem Önalın [F.Ü.]

Diğer Jüri Üyeleri: Prof. Dr. A. Kadri Çetin [F.Ü.]

Doç. Dr. İbrahim Tekedereli



Eylül – 2017

ÖNSÖZ

Danışmanım ve tezimin deneysel kısmında bana laboratuvarlarının kapılarını açarak destek olan ve her aşamadaki katkılarından dolayı Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı Başkanı Sayın Doç. Dr. Ebru ÖNALAN'a,

Yüksek lisans eğitimim boyunca desteğini hiçbir zaman esirgemeyen akademik hayatım boyunca örnek alacağım vefatıyla üzen danışmanım Sayın Prof. Dr. Ömer MUNZUROĞLU'na,

Tezim için gerekli olan numunelerin teminindeki yardımlarından dolayı Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. İbrahim ÖZERCAN' a,

Tez çalışmam boyunca her an yanımda olan ve desteğini hiçbir zaman esirgemeyen çok kıymetli arkadaşım ve dostum Arş. Gör. Ahmet TEKTEMUR' a,

Geç saatlere kadar süren laboratuvar çalışmalarım sırasında bana eşlik eden Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji asistanları Nefsun DANIŞ ve Betül OZAN'a,

Arsiv çalışmalarında bana eşlik eden sevgili Ars. Gör. Betül Çelik, Ars. Gör. Esin Öz ve Ars. Gör. İlay Buran'a,

Tezime sağladığı finansmandan dolayı Fırat Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi [FÜBAP]'ne,

Çocukluğumdan bu yana maddi ve manevi her an yanımda olan Derya ÖZTÜRK'e,

Son olarak eğitim hayatım boyunca maddi ve manevi desteklerini her zaman hissettiğim ÖZAYDIN aile bireylerinin her birine sonsuz teşekkür ederim.

Seda ÖZAYDIN

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ		III
İÇİNDEKİLER		IV
TABLolar LİSTESİ		VII
ŞEKİLLER LİSTESİ		VIII
KISALTMALAR		IX
ÖZET		XI
ABSTRACT		XIII
1. GİRİŞ		1
2. GENEL BİLGİLER		3
2.1. Prostat		3
2.1.1. Anatomisi		3
2.1.2. Prostatın Zonal Anatomisi		4
2.1.2.1. Glandüler Prostat Dokusu		4
2.1.2.2. Nonglandüler Prostat Dokusu		5
2.1.3. Histolojisi		6
2.1.4. Prostat Bezinin Fonksiyonu		6
2.2. Prostat Bezi Hastalıkları		6
2.2.1. Prostatit		7
2.2.2. Benign Prostat Hiperplazisi [BPH]		7
2.2.3. Prostat Kanseri [PK]		8
2.2.3.1. İnsidansı		8
2.2.4. Etyolojisi		9
2.3. Prostat kanserinde TNM evrelendirme kriterleri		10
2.3.1. Patolojik evreleme		14
2.3.2. Gleason Skorlama Sistemi		15
2.4. İyon Kanalları		16
2.4.1. Voltaj Kapılı Potasyum Kanalları [VKPK] ve Kalsiyum Aktiviteli Potasyum Kanalları		17
2.4.1.1. KCNA3 [Voltaj Bağımlı Potasyum Kanalı, A altfamilya, 3. Üyesi]		18
2.4.1.2. Kv1.4 [KCNA4] [Voltaj Bağımlı Potasyum Kanalı, A altfamilya, 4. Üyesi]		19
2.4.1.3. Kv1.6 [KCNA6] [Voltaj Bağımlı Potasyum Kanalı, A altfamilya, 6. Üyesi]		19

2.4.1.4.	Kv4.3 [KCND3] [Voltaj Bağımlı Potasyum Kanalı, D altfamilya, 3. Üyesi]	19
2.4.1.5.	Kv11.1 [KCNH2] [Voltaj Bağımlı Potasyum Kanalı, H altfamilya, 2. Üyesi]	19
2.4.1.6.	Kca3.1 [KCNN4] [Kalsiyum-Aktiviteli Potasyum Kanalı, N altaile, 4. üyesi]	20
2.4.1.7.	Kca1.1[KCNMA1][Kalsiyum-Aktiviteli Potasyum Kanalı, M altaile, 1. Üyesi.....	20
2.4.1.8.	TASK-3[KCNK9].....	20
2.4.2.	Voltaj Bağımlı Kalsiyum Kanalları [VKKK].....	21
2.4.2.1.	CACNA1G [kalsiyum kanalı, voltaj-bağımlı, T tipi, alfa-1G alt birimi]	22
2.4.2.2.	CACNA1H [kalsiyum kanalı, voltaj-bağımlı, T tipi, alfa-1H alt ünitesi]	23
2.4.2.3.	CACNA1I [kalsiyum kanalı, voltaj-bağımlı,T tipi, alfa-1I alt birimi]...	23
2.4.3.	Geçici [Transient] Reseptör Potansiyel Kanalları [TRP]	23
2.4.3.1.	Kanonikal Geçici Reseptör Potansiyel Kanalları [TRPC] Alt Ailesi	25
2.4.3.1.1.	TRPC1 [geçici reseptör potansiyel katyon kanalı, C altfamilya, 1. üyesi]	25
2.4.3.1.2.	TRPC3 [geçici reseptör potansiyel katyon kanalı, C altfamilya, 3. üyesi]	26
2.4.3.1.3.	TRPC4 [geçici reseptör potansiyel katyon kanalı, C altfamilya, 4. üyesi]	26
2.4.3.1.4.	TRPC5 [geçici reseptör potansiyel katyon kanalı, C altfamilya, 5. üyesi]	26
2.4.3.1.5.	TRPC6 [geçici reseptör potansiyel katyon kanalı, C altfamilya, 6. üyesi]	27
2.4.3.1.6.	TRPC7 [geçici reseptör potansiyel katyon kanalı, C altfamilya, 7. üyesi]	27
2.4.3.1.7.	TRPV2[geçici reseptör potansiyel katyon kanalı, V altfamilya, 2. üyesi]	27
2.4.3.1.8.	TRPV3[geçici reseptör potansiyel katyon kanalı, V altfamilya, 3. üyesi]	28
2.4.1.3.9.	TRPV4[geçici reseptör potansiyel katyon kanalı, V altfamilya, 4. üyesi]	28
2.4.1.3.10.	TRPV5[geçici reseptör potansiyel katyon kanalı, V altfamilya, 5. üyesi]	28
2.4.1.3.11.	TRPA1[geçici reseptör potansiyel katyon kanalı, A altfamilya, 1. üyesi]	29
2.4.4.	Cl KANALLARI	29
2.4.4.1.	CLCN3 [voltaja duyarlı klorür kanalı 3]	29
3.	GEREÇ VE YÖNTEMLER	31
3.1.	Vakaların Seçimi	31
3.2.	İyon Kanallarını Tespit Etmede Kullanılan Aletler.....	31
3.3.	İyon Kanallarını Tespit Etmede Kullanılan Kimyasal Maddeler	32
3.4.	İyon Kanallarını Tespit Etmede Kullanılan Yöntemler	32
3.4.1.	Parafin Blok Kesitlerden RNA İzolasyonu.....	32
3.5.	Spektrofotometrik RNA Ölçümü.....	33
3.6.	Komplementer DNA [cDNA] Sentezi.....	33

3.6.1.	Kullanılan Çözeltiler ve Gereçler	33
3.6.2.	Komplementer DNA Sentezi.....	34
3.7.	Real Time-Polimeraz Zincir Reaksiyonu ile cDNA Amplifikasyonu	34
3.8.	İstatistiksel Değerlendirme	35
4.	BULGULAR	37
5.	TARTIŞMA	47
	KAYNAKLAR	54
	ÖZGEÇMİŞ	66



TABLÖLAR LİSTESİ

Tablo 1. Prostat Kanseri 2002 TNM Evrelemesi [54].	13
Tablo 2. Prostat Kanseri Patolojik Evreleme [55].	14
Tablo 3. Prostat Kanseri Gleason Dereceleme Sistemi [58].	15
Tablo 4. Prostat kanserinde etkili olduğu düşünülen iyon kanalları	17
Tablo 5. cDNA karışım miktarı	34
Tablo 6. cDNA sentezi için uygulanan PZR programı.....	34
Tablo 7. RT-PZR için her bir kuyucuğa konan bileşikler	35
Tablo 8. Uygulanan RT-PCR programı	35
Tablo 9. Tanıya göre yaş ortalaması	37
Tablo 10. TNM evrelerine göre hasta dağılımı	37

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1. Prostat Lokalizasyonu	4
Şekil 2. Prostat Bezinin Zonal Anatomisi	5
Şekil 3. Voltaj kapılı kalsiyum kanallarının alt türleri ve alt birim kompleksi	22
Şekil 4. Memeli TRP kanallarının transmembran filogenetik ve topoloji ağacı	24
Şekil 5. KCNA3 mRNA ifadesi RT-PCR grafiği.....	38
Şekil 6. KCNA4 mRNA ifadesi RT-PCR grafiği.....	38
Şekil 7. KCNA6 mRNA ifadesi RT-PCR grafiği.....	39
Şekil 8. KCNA9 mRNA ifadesi RT-PCR grafiği.....	39
Şekil 9. KCNA1 mRNA ifadesi RT-PCR grafiği	40
Şekil 10. KCNN4 mRNA ifadesi RT-PCR grafiği.....	40
Şekil 11. CACNA1G mRNA ifadesi RT-PCR grafiği	41
Şekil 12. TRPC1 mRNA ifadesi RT-PCR grafiği	41
Şekil 13. TRPC3 mRNA ifadesi RT-PCR grafiği	42
Şekil 14. TRPC4 mRNA ifadesi RT-PCR grafiği	42
Şekil 15. TRPC5 mRNA ifadesi RT-PCR grafiği	43
Şekil 16. TRPC6 mRNA ifadesi RT-PCR grafiği	43
Şekil 17. TRPC7 mRNA ifadesi RT-PCR grafiği	44
Şekil 18. TRPA1 mRNA ifadesi RT-PCR grafiği.....	44
Şekil 19. TRPV2 mRNA ifadesi RT-PCR grafiği.....	45
Şekil 20. TRPV3 mRNA ifadesi RT-PCR grafiği.....	45
Şekil 21. TRPV4 mRNA ifadesi RT-PCR grafiği.....	46
Şekil 22. CIC-3 mRNA ifadesi RT-PCR grafiği	46

KISALTMALAR

BPH	: Benign Prostat Hiperplazi
PZR	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu
AÜSS	: Alt Üriner Sistem Semptomları
PK	: Prostat Kanseri
AUA	: Amerikan Üroloji Birliği
EAU	: Avrupa Üroloji Birliği
PSA	: Prostat Spesifik Antijen
DRM	: Dijital Rektal Muayene
TURP	: Transurethral Resection Of The Prostate
T	: Primer Tümör
N	: Bölgesel Lenf Düğümleri
M	: Uzak Metastaz
Pt	: Patolojik
Å	: Ångström
VKPK	: Voltaj Kapılı Potasyum Kanalları
Ca⁺²	: Kalsiyum
K	: Potasyum
Vkkk	: Voltaj Kapılı Kalsiyum Kanalı
Bk	: Big Potassium Channel
DAG	: Diaçilgliserol
TRP	: Transient Receptor Potential
TRPC	: Transient Receptor Potential-Canonical
TRPV	: Transient Receptor Potential-Vanilloid
TRPA	: Transient Receptor Potential- <u>Ankyrin</u>
NHERF	: Na ⁺ /H ⁺ Değişim Düzenleyici Faktör
MX1	: İnterferona Bağlı GTP Bağlayıcı Protein
RNF24	: Ring Finger Protein 24
SESTD1	: Spektrin Tekrar İçeren Protein 1
ANK	: Ankryin
CBS	: Sistatyonin Beta-Sintaz
LPA	: Lizofosfatidik Asit

GABA	: Gamma Aminobütirik Asit
Cl	: Klor
CaMKII	: Kalmodulin Bağımlı Protein Kinaz II
RT-PCR	: Real Time Polymerase Chain Reaction
CDNA	: Complementer Dna
CASR	: Ca Duyarlı Reseptör
FISH	: Floeran İn-Situ Hibridizasyon
Res	: Resveratrov
Tcs	: Triclosan
NO	: Nitrik Oksit
PIN	: Prostatik İntraepitalyal Neoplazi
SOCE	: Store-Operated Ca Girişi
ATP	: Adenosine Triphosphate
Tg	: Thapsigargin

ÖZET

Prostat kanseri dünya çapında en çok ölüme sebebiyet veren kanserlerin en başında gelmektedir. Çeşitli iyon kanalların kanser hücrelerinde proliferasyon, anjiyogenez, invazyon, hücre farklılaşması, hücre hacmi büyümesi, tümör büyümesi, metastaz ve apoptoz mekanizmasına etki ettiği tespit edilmiştir. İyon kanalları aktivitesi sonucu oluşan iyon akımı, bahsedilen temel mekanizmalarda etkili moleküller olduğundan dolayı kanser tedavisi için potansiyel hedefler olarak düşünülmektedir. Bu nedenle çalışmamızda prostat kanser dokularında iyon kanal ifade düzeylerinin kontrolle karşılaştırılarak araştırılması amaçlanmıştır.

Çalışmaya adenokarsinom tanısı almış 100 [n=105], benign prostat hiperplazisi [BPH] tanısı almış 30 [n=30] ve normal prostat dokusuna ait 30 [n=30] olmak üzere formalinde fiske edilip parafine gömülmüş toplam 165 vakanın örneği dâhil edilmiştir. RNA izolasyonu sonrası mRNA ifade analizlerinde kantitatif Real Time-PZR yöntemi kullanıldı. Örnekte TRPC1, TRPC3, TRPC4, TRPC5, TRPC6, TRPC7, TRPV2, TRPV3, TRPV4, TRPV5, TRPA1, Ca_v3.1, Cav3.2, Ca_v3.3, Kv1.3, Kv1.4, Kv1.6, Kv4.3, Kv11.1, KCa1.1, KCa3.1, TASK-3[KCNK9] ve Clcn-3 iyon kanal ifadeleri tüm örneklerde analiz edildi.

Kantitatif RT-PCR sonuçları KCNA3 gen ekspresyonunda gleason skor 6 ve 7'deki anlamlı azalma dışında diğer gruplarda anlamlı bir değişiklik olmadığını gösterdi. KCNA6, KCNK9, KCNMA1, KCNN4 gen mRNA ifadelerinin kontrolle karşılaştırıldığında KCNA6 için BPH hariç tüm kanser dokularında anlamlı bir azalmaya sahip olduğu tespit edildi. TRPC3 mRNA ifadesi kontrolle kıyaslandığında yalnızca gleason skor 10'da anlamlı bir artışa sahipken TRPC4 ve TRPC6 mRNA ifadelerinde ise önemli ölçüde artış tespit edildi. TRPC5, TRPA1, TRPV3 ve TRPV4 mRNA ifadelerinde ise anlamlı düzeyde azalma gözlemlendi. CIC-3 gen ekspresyonunda kontrolle karşılaştırıldığında gleason skor 7'de anlamlı bir artış ve gleason skor 10'da ise ciddi bir azalma olduğu saptandı. TRPC7, CACNA1G ve KCNA4 mRNA ifadelerinde kontrolle karşılaştırıldığında prostat kanser gruplarında anlamlı bir farklılık olmadığı bulundu.

İyon kanal mRNA ifadelerindeki değişimler proliferasyon artışı, apoptozise direnç, metastaz ve invazyon gibi pek çok transformasyon sürecinde katkıda bulunarak kanser gelişimine yol açabilir. Elde ettiğimiz veriler ön bulgular niteliğinde olup her bir kanalın

hücre transformasyonu sürecine katkısının daha ileri çalışmalarla irdelenmesi ve doğrulanması gerekmektedir.

Anahtar Kelimeler: Prostat Kanseri, İyon kanalı



ABSTRACT

THE INVESTIGATION OF ION CHANNEL EXPRESSIONS THOUGHT TO BE EFFECTIVE IN TUMOR CONTAINING AND TUMOR-FREE PROSTATE TISSUES IN HUMAN

Prostate cancer is one of the most deadly cancers in the worldwide. It has been found that, a variety of ion channels affect mechanisms such as proliferation, angiogenesis, invasion, cell differentiation, cell volume growth, tumor growth, metastasis and apoptosis in cancer cells. It is considered as a potential target for cancer therapy due to the ion current resulting from ion channel activity is an effective molecule in the mentioned basic mechanisms. In consequence, we are aimed to investigate the ion channel expression levels in prostate cancer tissues by comparison normal prostate tissues.

A total of 165 cases that are formalin fixed paraffin embedded 105 patients that was diagnosed prostate adenocarcinoma [n=105], 30 benign prostatic hyperplasia [BPH] patient tissues [n=30] and 30 being normal prostate tissue [n=30] evaluated in our research. Quantitative Real Time-PCR method was used for mRNA expression analysis after RNA isolation. TRPC1, TRPC3, TRPC4, TRPC5, TRPC6, TRPC7, TRPV2, TRPV3, TRPV4, TRPV5, TRPA1, Cav3.1, Cav3.2, Cav3.3, Kv1.3, Kv1.4, Kv1.6, Kv4.3, Kv11.1, KCa1.1, KCa3.1, TASK-3 [KCNK9] and Clcn-3 ion channels expressions were analyzed in all samples.

The quantitative RT-PCR results showed that there was no significant change in the KCNA3 gene expression in the other groups except for a significant decrease in gleason scores 6 and 7. When KCNA6, KCNK9, KCNMA1, and KCNN4 gene mRNA expressions were compared to controls, it was found that this ion channel has a significant decrease in all cancer tissues except for BPH in KCNA6. While TRPC3 mRNA expression compared with control's has a significant increase in only gleason score 10, it was found that important increases in TRPC3 and TRPC4 mRNA expressions in all groups. It was established that meaningful decreases in the mRNA expressions of TRPC5, TRPA1, TRPV3 and TRPV4. As compared with control, while CIC-3 gene expression has a significant increase in gleason score 7, there was a significant decrease in gleason score 10.

Prostate cancer groups compared with controls were not found meaningful difference in TRPC7, CACNA1G and KCNA4 mRNA expressions.

Alterations in ion channel mRNA expressions may lead to prostate carcinogenesis by contributing to many transformation processes such as increased proliferation, apoptosis resistance, metastasis, and invasion. The data we obtain are preliminary findings and the contribution of each channel to the cell transformation process needs to be examined and verified with further researches.

Key words: Prostate Cancer, Ion channel



1. GİRİŞ

Kanser dünya çapında en çok ölüme sebebiyet veren hastalıkların başında gelmektedir. Ülkemizde prostat kanser tanısı ve kanserle ilgili ölümler ikinci sırada yer alırken önemli derecede değişiklik gösteren insidans ve mortalite oranları ile farklı ülkelerde erkekler arasında en sık görülen dördüncü kanser tipidir [1].

Progresif bir hastalık olarak düşünülen Benign Prostat Hiperplazisi [BPH], yaşlanan erkek bireylerde alt üriner sistem semptomlarına [AÜSS] yol açan patolojik bir durumdur. Adenokarsinomun aksine ölümcül bir hastalık olmamasına rağmen yaşam kalitesini önemli ölçüde düşüren semptomlara neden olduğundan BPH erkekler için en önemli hastalıklardan biridir [2].

Kanser hücresinin ortaya çıkmasında temel faktör, normal hücre genetik yapısının transformasyonundaki bozulma olarak bilinmektedir ki bunun sonucunda hücreler kontrolsüz olarak çoğalmaya başlar [3]. Prostat kanserinin başlamasına ve ilerlemesine neden olan spesifik nedenler tam olarak bilinmemekle beraber çevresel ve genetik etmenlerin, hastalığın ilerlemesinde rol oynadığına dair önemli bulgular elde edilmiştir [1,4].

Sık rastlanılan bu karsinogenezin moleküler temelleri konusunda çok az bilgi mevcuttur. Fakat çeşitli iyon kanalların kanser hücrelerinde proliferasyon, anjiyogenez, invazyon, hücre farklılaşması, hücre hacmi büyümesi, tümör büyümesi, metastaz ve apoptoz mekanizmasına etki ettiği tespit edilmiştir [5]. İyon kanalları aktivitesi sonucu oluşan iyon akımı, bahsedilen temel mekanizmalarda etkili moleküller olduğundan dolayı kanser tedavisi için potansiyel hedefler olarak düşünülmektedir.

Bu çalışma ile prostat kanseri hücrelerinin invazivitesi ve metastazında bahsedilen iyon kanallarının ekspresyon/aktivitesinin potansiyel rolü değerlendirilecektir. Beklenen sonuçlar, iyon kanallarını, hücre biyolojisini ve kanser patofizyolojisini içeren araştırma alanlarının geniş bir kısmını doğrudan ilgilendirecektir. Uzun vadede, sonuçlar kanserde iyon kanal ekspresyonunun klinikte hastaların metastatik potansiyeli ve tedaviye [kemoterapi ve radyasyon] verdikleri cevapları veya dirençli oluşları ile hastaların yaşam süre beklentileri ve prognoz ilişkisini amaçlayan daha büyük bir araştırmanın temelini

oluşturacaktır. Ayrıca metastatik potansiyelle ilişkisi bulunduğu takdirde bu kanalları bloke etmek suretiyle yeni hedefe yönelik tedavi yöntemlerinin geliştirilmesi mümkün olacaktır.

Çalışmamızda insan prostat kanseri, BPH ve sağlıklı prostat kontrol örneklerinde TRPC1, TRPC3, TRPC4, TRPC5, TRPC6, TRPC7, TRPV2, TRPV3, TRPV4, TRPV5, TRPA1, Ca_v3.1, Ca_v3.2, Ca_v3.3, Kv1.3, Kv1.4, Kv1.6, Kv4.3, Kv11.1, KCa1.1, KCa3.1, TASK-3 [KCNK9] ve Clcn-3 iyon kanal mRNA ifadelerinin kontrol örnekleriyle karşılaştırılarak araştırılması ve elde edilen verilerin prostat kanserli hasta preparatlarının prognozunu önemli şekilde etkileyen gleason skorları ile ilişkilendirilmesi amaçlanmıştır.



2. GENEL BİLGİLER

2.1.Prostat

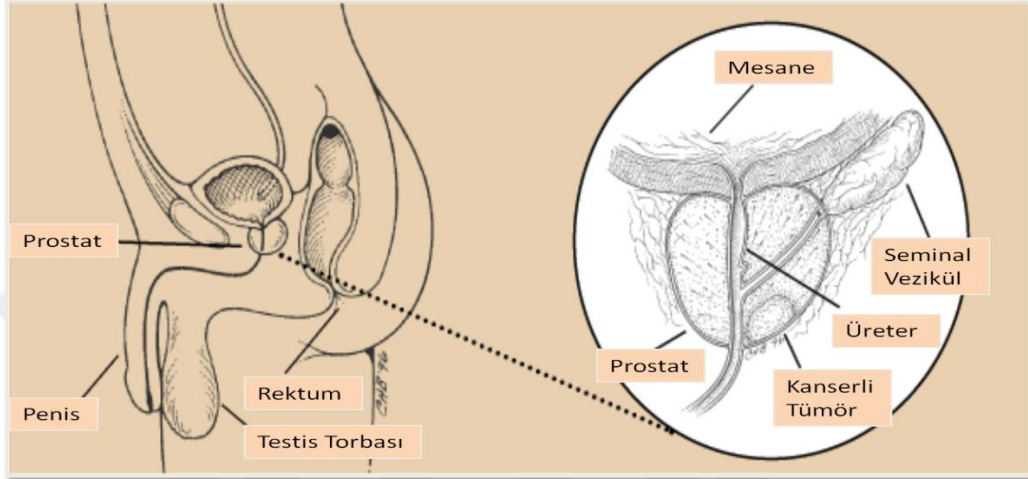
Yalnızca erkek üreme sisteminde bulunan ve temel işlevi semen üretimine yardımcı olmak olan prostat, her erkekte bulunan küçük bir salgı bezidir. Sperm hücrelerini barındıran ve taşınmasını sağlayan semen sıvısının %15-20'sini üreten bu organ üretra kanalının başlangıç kısmında yer almaktadır ve içerisinden idrar yolu geçmektedir [6]. Ekzokrin bir bez olarak prostat tüm memeli erkeklerinde korunmuştur. Bu durum bireyin hayatta kalması açısından çok önemli olmasa da türlerin üremesinde hayati bir rol oynamaktadır [7]. Yaşın ilerlemesine bağlı olarak genellikle 50 yaş üstü erkek bireylerde görülen prostat bezini etkileyen benign ve malign hastalıklar en önemli patolojik bulgulardandır.

Lokal olarak yavaş gelişme gösteren ve ilerlemesi uzun yıllar alan bu hastalık sonuçta prostatın dışında bulunan komşu dokulara ya da kan yoluyla farklı dokulara geçebilir [8]. Özellikle yaşlı erkek bireyler arasında önemli bir sağlık tehdidi olan prostat kanseri için henüz çözüm sağlayacak bir tedavi geliştirilememiştir [9]. Hastalık sonucu meydana gelen değişimler, uygulanan tedaviler ve tedaviler sonucu ortaya çıkan yan etkiler psikolojik [anksiyete, depresyon vb.] ve fonksiyonel [cinsel işlev bozuklukları] problemlere neden olabilmektedir [10]. Erken evrede teşhis ve tedavi uygulanması halinde prostat kanserinin tam olarak tedavisi mümkün olabilir ya da hastaların 5 yıllık sağ kalım olasılığı %99'lara ulaşabilmektedir [11,12]. Genellikle 60-70 yaşlarında teşhis edilen [13] prostat kanserinin başlangıcı ve ilerlemesi ile ilgili birçok teori önerilmiş ve araştırılmış olsa da moleküler temeli tam olarak bilinmemektedir [14]. Bu amaç için; günümüzde biyokimyasal belirteçlerde dâhil olmak üzere pek çok farklı molekül, çeşitli araştırmalarda prostat kanseri için tümör markerı olarak kullanılmaktadır[15].

2.1.1. Anatomisi

Mesane boynundan başlayarak hemen altında ve prostatik üretrayı çevreleyen prostat [**Şekil 1**]; fibromüsküler kapsül ve tubulo-alveoler özellik gösteren glandüler bir yapıdan oluşmuştur. Kestane şeklinde olup 4x3x2cm boyutlarında bir genital bezdir. Normal prostat ortalama olarak 8-20 gr ağırlığında olup ortalama 2,5 cm uzunluğundaki

posterior üretrayı içermektedir [16]. Boyutu yaşla birlikte değişiklik göstermekle beraber genç bireylerde yaklaşık ceviz büyüklüğündeyken yaşlı bireylerde daha büyük olabilmektedir ve büyümesi, testosteron gibi erkeklik hormonları [androjenler] tarafından tetiklenmektedir [17].



Şekil 1. Prostat Lokalizasyonu [17].

Endopelvik fasya kökenli alan diğer bir prostatik kılıfın örttüğü kollajen, elastin ve yoğun düz kas yapısından oluşmuş prostat kapsülüyle sarılıdır ve ön cepheden puboprostatik bağlarla alt yüzeydense ürogenital diyaframla desteklenmektedir. Lowsley sınıflandırmasına göre prostat anterior, posterior, median, sağ lateral ve sol lateral olmak üzere 5 lob içermektedir. Prostat kanseri genellikle orta veya dış yan loplardaki periüretral bezlerden kaynaklanmaktadır [16,6].

2.1.2. Prostatın Zonal Anatomisi

2.1.2.1. Glandüler Prostat Dokusu

Prostatın glandüler kısımları; üretrada yer alan kanallarının farklı lokalizasyonları, çeşitli patolojik lezyonlara neden olmaları ve farklı embriyolojik kökenlerinden dolayı farklı zonlara ayrılmıştır. Normal bir prostat bezi Şekil 2’de de gösterildiği gibi **anatomik açıdan** üç farklı zona ayrılmıştır. Bunlar;

- 1) **Periferik Zon:** Prostat glandüler dokunun büyük kısmını [%70] oluşturmaktadır. Prostat kanserlerinin %70’i bu zondan kaynaklanmaktadır.
- 2) **Santral Zon:** Prostat bezinin glandüler dokusunun yaklaşık olarak %25’ini oluşturmaktadır ve ejakülatör kanallardan mesane alt tabanına kadar koni şeklinde

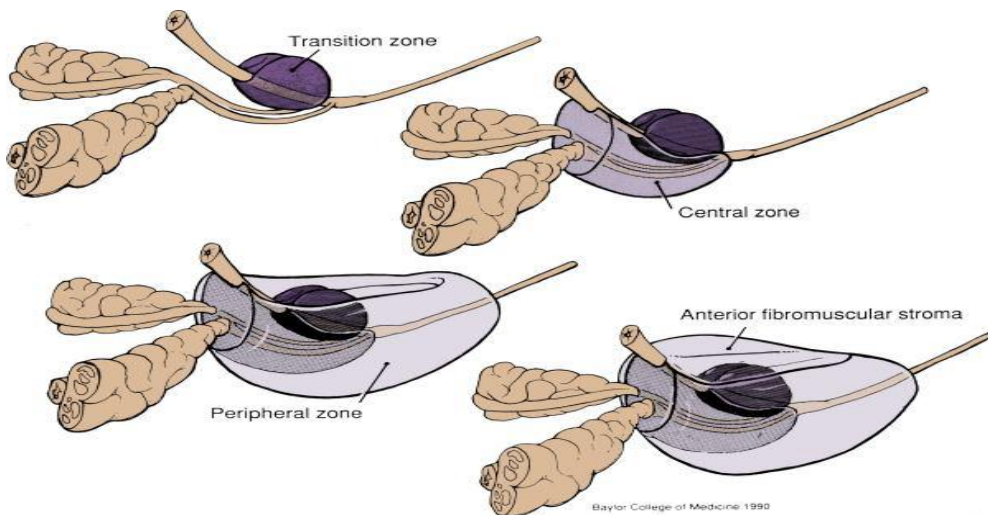
uzanmaktadır. Adenokarsinomların %1-5'inin bu zondan köken aldığı düşünülmektedir [18].

- 3) **Transizyonel Zon:** Prostatın bazal kısmını oluşturmakta ve genç erkek bireylerde prostat hacminin %5-10'unu oluşturan prostatik üretrayı sarmaktadır. Bu kısım yaşlı erkek bireylerde diğer yapıları ve üriner fonksiyonu tehlikeye sokan Benign Prostat Hiperplazisi [BPH]'nden sorumludur ve yaklaşık olarak prostat kanserinin %20'sinin bu zondan kaynaklandığı belirlenmiştir [18,19].

2.1.2.2. Nonglandüler Prostat Dokusu

Tüm prostat dokusunun 3'te 1'ini oluşturan en büyük parçasıdır. Preprostatik sfinkter, çizgili sfinkter, anterior fibromusküler stroma ve prostat kapsülünden oluşur.

- a) **Proksimal [preprostatik] sfinkter:** Proksimal üretra çevresinde düz kas liflerinden meydana gelen yapıdır. Ejakülasyon esnasında proksimal segmenti kapatarak semen sıvısının ters yönde akışını engellemektedir.
- b) **Çizgili sfinkter:** Verumontanum ve prostat apeksi arasında bulunmaktadır
- c) **Anterior fibromusküler stroma:** Prostatın orta yüzeyinde yer almaktadır. Yoğun fibröz doku ve düz kas liflerinden oluşmuştur, çok az bez yapısı içerir.
- d) **Prostat kapsülü:** Fibromusküler stromanın periferde yoğunlaşmasıyla meydana gelir ve prostatın üst yüzeyinin büyük kısmını çevreler [20-22].



Şekil 2. Prostat Bezinin Zonal Anatomisi [23]

2.1.3.Histolojisi

Prostat, dairesel düz kas lifleri ve kollejen doku içeren ince fibröz bir kapsülle çevrelenmiştir. Bu katmanın altında, üretra tabanına açılan ve yaklaşık 25 ana salgı kanalıyla boşalan epitelyal bezlerin içinde yer aldığı bağ dokusu, elastik doku ve düz kas liflerinin meydana getirdiği prostatik stroma bulunmaktadır. Prostatik üretranın transizyonel epitelinin hemen altında periüretral bezler yer almaktadır [6]. Malignite düzeyine göre farklı büyüklükte olan prostat bezi basık ters bir koni şeklindedir ve BPH'da 2 ya da 3 misli büyüyebilir. Yapısal olarak glandüler epitelyal hücrelerden [%50-70] ile fibromüsküler doku [%30-50]'da oluşmaktadır. Glandüler prostat epiteli; sekretuar, bazal ve nöroendokrin hücrelerden oluşur.

Kanser vakalarında prostatın kabuğu büyürken iyi huylu büyüme olarak adlandırılan Benign Prostat Hiperplasi [BPH] vakalarında prostat içindeki bezler büyümektedir. Histopatolojik olarak BPH, prostatın periüretral alanında bulunan epitelyal ve stromal hücrelerin progresyonuyla ilişkilidir [24,25].

Prostat kanserindeyse genellikle [%70] periferik zon kökenlidir ve olguların yaklaşık %5-15'i santral zondan, geri kalanı ise transizyonel zondan kaynaklanmaktadır [15].

2.1.4.Prostat Bezinin Fonksiyonu

Prostat bezi Ca, sitrat, P iyonları, pıhtılaşma enzimi ve fibrinolizin içeren akışkan, süt benzeri bir salgı üretir. Ejakulasyon sırasında prostat bezinin kapsülü, vasa deferensle eş zamanlı kasılarak prostat sekresyonunu semen hacmine ekler. Prostat sıvısının bazik özellikte olması fertilizasyon için çok önemlidir çünkü vasa deferens sıvısı spermin metabolik ürünleri ve sitrik asit içerdiğinden dolayı hafif asidik özelliktedir. Bu asidik ortamdan ötürü spermin fertilite özelliği baskılanabilir. Buna ek olarak kadın vajina salgıları da asidiktir. Sperm ortam pH'sı 6,0 ila 6,5'a ulaşana kadar yeterli motiliteyi kazanamaz. Sonuç olarak, prostat sıvısı sayesinde diğer ejakülat sıvılarının asiditesi nötralize olur ve sperm hareket ve fertilizasyon yeteneği kazanır. Prostat salgısı, içindeki spermin denilen maddeden dolayı spesifik keskin bir kokuya sahiptir [26].

2.2. Prostat Bezi Hastalıkları

Yıllarca sadece sekretuar bir bez olduğu düşünülen prostat bezinin oldukça ciddi düzeyde sağlık ve ekonomik sorunlara yol açan başlıca üç hastalığı vardır; prostatit [prostat bezi iltihabı], BPH ve PK.

2.2.1. Prostatit

Prostatit tanı ve tedavi tam olarak belirlenememiş bir hastalık olup hastaların %5-10'ununda bir enfeksiyon sonucu oluşan akut ve kronik bakteriyel prostatit belirlenmiştir. %90'ında ise herhangi bir bakteriyel etyoloji belirlenememiştir ve birçok faktörün etkili olduğu ve vakaların büyük bir kısmında belirsiz olan “prostatit sendromu” olarak isimlendirilmiştir [27,28]. Yaygın olarak 50 yaşın altındaki erkeklerde çok sık görülen ve güçten düşüren bir hastalıktır. En sık rastlanan inflamatuvar ürolojik hastalıklardan biri olan prostatit, etiyolojisine göre tedavi edilebilmektedir [29].

2.2.2. Benign Prostat Hiperplazisi [BPH]

BPH erkeklerde yaşlanmayla beraber alt üriner sistem semptomuna yol açan patolojik bir olgudur. Yaşı ilerleyen erkeklerde prostatın idrar yolunun yanındaki iç kısmında parmakla dokunulduğunda hissedilebilecek büyüklükte iyi huylu bir tümör meydana gelir. Bu iyi huylu ve prostat hiperplazisi [aşırı büyüme] adı verilen büyüme idrar yolunu daraltarak idrar yapmada zorluklara sebep olabilir. Uzun yıllar yapılan araştırmalara rağmen erkeklerdeki prostat büyümesinin etiyolojisi ve neden-sonuç ilişkisi tam olarak belirlenememiştir. Fakat hastalığın yaşlanma sürecindeki hormonal değişimlere prostatın verdiği tepki neticesinde ortaya çıktığı kabul edilmiştir. Prostatın transizyonel zonunda bulunan düz kas ve epitel hücrelerinin artması ile meydana gelen BPH yaşlı erkeklerde idrar depolama, boşaltma, işeme sonrası semptomlara yol açan ve hastaların yaşam kalitesini yüksek oranda düşüren bir hastalıktır [30,31].

Hastalık 60'lı yaşlarda %50 ye ulaşırken bu yüzde 70'li yaşlarda % 80'lere varmaktadır. Amerikan Üroloji Birliği [AUA] ve Avrupa Üroloji Birliği [EAU] BPH'nin tedavi sürecini izlem, medikal tedavi, minimal invaziv cerrahi ve cerrahi tedavi olmak dört başlıkta incelenmektedir [32]. Tedavi tarzı hasta tercihinin yanı sıra tedavinin verimliliğine, etkinin başlangıç ve ortadan kalkma sürecine göre değişim göstermektedir [33]. Genellikle medikal tedavi ve minimal invaziv cerrahi en çok tercih edilen tedavilerdir ve medikal tedavi verim ve güvenilirlik bakımından daha etkili olmasına rağmen refrakter üriner retansiyon, geçmeyen kanlı idrar ve mesane taşı gibi problemlerin varlığında cerrahi tedavi teknikleri tercih edilmektedir [34].

2.2.3. Prostat Kanseri [PK]

Kanser; organizmada kontrolsüz olarak çoğalan malign hücrelerin normal işlevdeki diğer hücrelerin yapısını ve işlevini tahribiyle oluşup hücre çoğalması sonucu solid bir kütle [neoplazi] meydana getirmesidir ve 200'den fazla tanımlanmış türü vardır [35].

Prostat kanseri diğer kanser türleriyle karşılaştırıldığında yaşla birlikte en hızlı artış gösteren kanser türüdür ve biyolojik davranışı değişkenlik göstermektedir ki bu durum bazı hastalarda agresif klinik seyir ve yüksek ölüm oranları ile seyrederken büyük oranda hastalık klinik belirtiler vermeden gelişmektedir ve otopsiyle anlaşılmaktadır. Ayrıca önümüzdeki 15 yılda en sık görülen kanser türünün, PK olacağı ön görülmektedir [36].

PK; prostat bezinde bulunan kanalcıklarda meydana gelmektedir ve ilk aşamaları genç erkeklerde sıklıkla ortaya çıkmaktadır. Ancak hayatları boyunca birçok erkekte bu ön aşamalar karsinom haline gelmeden durağan kalırlar. Bazı vakalarda ise ön aşamalardaki bu hücreler kanser hücrelerine dönüşerek düğüm oluştururlar. Prostat kanserindeki hücrelerin üreme hızları farklıdır örneğin malign hücreler normal prostat hücrelerine yakın yapıda iseler düşük üreme hızına sahiptirler. Farklılaşma düzeyi arttıkça büyüme hızı da paralel olarak artmaktadır. Kanser düğümü boyutu büyüdükçe ve düğüm saldırgan hücrelerden meydana gelmişse hücrelerin bazıları damarlar veya lenf yoluyla prostattan çıkıp yayılım yaparlar. PK özellikle lenf bezleri üstünden kemiklere metastaz gerçekleştirmektedir [37].

Kesin sebebi belirlenemeyen PK'de yaş, ırk ve genetik faktörler gibi risk faktörleri tespit edilmiştir. Fakat günümüzde bu hastalık için kabul gören temel risk faktörü yaşlanmadır ve gelişme riski 50 yaşın üstünde artış göstermektedir. PK gelişiminde oksidatif stres, inflamasyon, hipoksi ve sıklıkla DNA baz lezyonları etkili olmaktadır [38]. Ayrıca hastalığın gelişiminde hormonal faktörlerde rol oynamaktadır örneğin hadım edilenlerde hastalık oluşmamaktadır [39].

2.2.3.1. İnsidansı

PK tespit edilen tüm kanser türlerinin %14'ünü [899000] kapsayarak sıralamada ikincidir [40]. Ancak insidansı Yeni Zelanda ve Avustralya, Avrupa ve Kuzey Amerika gibi insidans oranının aşırı derecede artış yaptığı yerlerde 25 kat değişim gösterir. Ayrıca insidans Afrika kökenli merkezlerde yüksekken Güney–Orta Asya'da oldukça düşüktür [4.1/100000]. Prostat kanserinden kaynaklanan ölümlerinin yüzdesi; Asya'da %0.6-%4.8,

Kuzey, Orta ve Güney Amerika, Avrupa ve Avustralya'da %9.7-%16 arasında farklılık göstermektedir [41].

Ülkemizde PK insidans verilerini içeren ilk ve tek araştırma Üroonkoloji Derneği'nin Temmuz 2008-Haziran 2009 tarihlerini kapsayan 12 ilde yapılan "ProstatTURK" çalışmasıdır. IX. Üroonkoloji Kongresinde bu çalışmayla ilgili sunulan verilere göre 1 yıl içinde 4150 yeni PK vakası belirlenmiştir ve insidans 35/100.000 olarak hesaplanmıştır. 43.7/100.000 oranıyla en yüksek insidans İstanbul'a aitken en düşük insidans 17.7/100.000 oranıyla Edirne'nindir. Yine çalışmanın verilerine göre 45 yaş altı erkek bireylerin PK insidansı 1/100.000 ve 70 yaş üstündeyse bu oran 300/100.000 ulaşmıştır. Prostat kanserinin sık görülme yaş aralığı %21.32 ile 65-69 olarak belirlenmiştir [42].

2.2.4.Etyolojisi

Epidemiyolojik olarak PK'inde risk faktörleri endojen ve eksojen olmak üzere gruplandırılabilir. Çevresel etkenler ve kirlilik eksojen etmenler kapsamındayken endojen etkenler yaş, aile hikâyesi, hormonlar, ırk, diyet ve oksidatif streştir [18,43]

1. **Yaş:** PK sıklığı yaş artışıyla orantılı olarak belirgin bir şekilde artmaktadır. Özellikle elli yaş üstü erkeklerde morbitide hızının yanı sıra mortalite oranında yaşa bağlı olarak artış göstermektedir [44].
2. **Aile Hikâyesi:** Yapılan çalışmalarda aile hikâyesinin PK ile yakın ilişki olduğu saptanmıştır ve özellikle 1. derece akrabalarında prostat kanseri bulunan bireylerde bu hastalığın görülme riski 2 kattır [45].
3. **İrk:** Farklı etnik gruplarda PK görülme sıklığı geniş bir skalaya sahiptir. İskandinav ülkelerinde görülme ölüm oranları yüksekken Japon ırkında çok düşük bir insidansa sahiptir. Yine ABD'deki siyahî erkeklerde görülme oranı çok yüksekken aynı bölgede ve aynı şartlara sahip beyaz erkeklerde oran oldukça düşüktür [24]. İrsal farklılıklar kirlilik oranındaki farklılık derecesi, hastalığın tespit edilmesindeki farklılıklar ve biyolojik farklılıklar olmak üzere üç faktörün etkisi altındadır [46].
4. **Diyet:** PK ile yüksek oranda yağ tüketimi arasında pozitif bir korelasyon tespit edilmiştir. Diyetle beraber alınan yüksek miktarda yağ ki özellikle çoklu doymamış yağ, seks hormon üretimini artırarak PK riskini tetiklemektedir. Ayrıca yağda eriyen vitaminler [A, D, K] ve eser elementler [çinko]' de etkili olmaktadır [25].

Yapılan çalışmaların bazılarında yüksek miktarda kalsiyum tüketiminin de riski arttırdığı yönünde bulgular elde edilmiştir [47].

5. Genetik Polimorfizm: PK'nın hemen hemen %10'unun nadir yüksek penetran genlerle aktarıldığı düşünülse de sık bulunan düşük penetran genlerinde hastalığın gelişimine katkıda bulunması ihtimali göz ardı edilemez. Bu genler, diğer genlerle kombine hareketle ya da bazı çevresel etmenlerin etkisiyle PK gelişimine neden olmaktadır [48,49].

6. Hormonal Etkiler: PK gelişiminde androjenik hormonlar oldukça önemli etkiye sahipken östrojenler ve peptid hormonlar da [büyüme hormonu, prolaktin ve doku büyüme faktörleri] hastalığı tetiklemektedir.

Testosteron ve prostat: Prostat dokusunun meydana gelmesi ve büyümesi için androjenle androjen reseptörü olmazsa olmazdır [50]. Erişkin bireyde prostat büyümesinin devam etmesi içinde kan testosteron düzeyinin sürekliliği gerekmektedir ve saf androjen 5α -DHT'ye dönüşümü için tip 2 5α -redüktaz sentezlenmelidir [51]. Adrenal androjenler prostatın büyümesine destek sağlamazlar bunun için testis kaynaklı testosteron gerekmektedir. Yaşın ilerlemesiyle maruz kalınan bu sürekli testosteron konsantrasyonu BPH ve PK oluşmasına neden olur [52].

Testosteron ve BPH: BPH'nin ortaya çıkmasında intraprostatik 5α -DHT mevcudiyeti ve östrojenik etkiler rol oynamaktadır ve prostatta büyüme meydana gelir [53].

Testosteron ve prostat kanseri: Androjen bağımlı bir bez olan prostat, yapısındaki prostat epitelinin büyümesi için testosterona ihtiyaç duyar ve erken evre PK endokrin bağımlıdır. Hormon metabolizmasında meydana gelen değişimler PK'ın meydana gelmesi için zemin hazırlar [25].

2.3. Prostat kanserinde TNM evrelendirme kriterleri

PK'da anatomik sınıflandırma TNM evrelendirmede tümör yayılmasını 'T', lenf düğümleri hastalanmasını 'N' ve hastalığın başka organlara yayılım yapmasını 'M' temsil etmektedir. PK derecelendirilmesi şu şekildedir:

T evreleri

T0; tespit edilen herhangi bir tümör yoktur.

T1; tümör rektal muayenede tespit edilememiştir ancak biyopsi veya prostatektomi numunelerinin incelenmesinde kanserli hücre tespit edilmiştir. T1; T1a, T1b ve T1c olmak üzere sınıflandırılır.

T1a; TURP [transurethral resection of the prostate] iyi huylu prostat büyümesini tedavi için uygulanan ameliyattır ve bu esnasa tesadüf sonucu tespit edilen PK tarif etmektedir. Alınan prostat dokusunun mikroskopta incelenmesiyle herhangi bir şüphe ya da tahmin olmamasına karşın kanser bulgularına rastlanabilir. T1a incelenen dokunun %5'inin kanserli ve %95'inin iyi huylu olduğunu belirtmektedir.

T1b; yine TURP sırasında tespit edilen kanseri tanımlamaktadır ve bu aşamada kanserli hücreler %5'ten fazladır.

T1c; Prostat Spesifik Antijen [PSA] test sonuçlarındaki yükseklikten dolayı kanserden şüphelenildiğinde iğne biyopsi numunelerinin mikroskopla incelenerek kanser tespit edildiği aşamadır.

T2; DRM [dijital rektal muayene] ile prostat kanseri varlığının belirlenmesi ve kanserin hala prostat içinde bulunduğu durumdur. Bu kategoride; T2a, T2b ve T2c olarak sınıflandırılmaktadır.

T2a; kanserin prostatın her iki tarafından ziyade yarısında, ya sağ ya da sol tarafında bulunduğu anlamına gelmektedir. [Gleason skoru 7 ve üzerinde olanlar].

T2b; kanser tek tarafta bulunmaktadır fakat bulunduğu kısmın yarısından fazlasını kaplamıştır.

T2c; bu aşamada kanser her iki tarafta da mevcuttur.

T3; kanser hücreleri prostat bezini sarmalayan kapsülün dışına çıkmıştır. Prostat ve seminal keseciklere komşu olan dokulara yayılım yapsada diğer bir organa bulaşmamıştır. Bu aşamada T3a ve T3b olmak üzere ikiye ayrılmıştır.

T3a; kanser hücreleri prostat bezinin dışına çıkmıştır ancak seminal keseciklere henüz ulaşmamıştır.

T3b; kanser hücreleri bu aşamada seminal keseciklere ulaşmıştır.

T4; kanser hücrelerinin seminal keseciklerin yanı sıra diğer bazı komşu dokularada ulaştığı evredir.

N evreleri

Nx; kanserin lenf bezlerine ulaşp ulaşmadığını tespit etmek için herhangi bir testin yapılmadığı anlamına gelir.

N0; kanser hücrelerinin doku yakınındaki lenf bezlerine ulaşmadığı anlamına gelir.

N1; bu evre pelvisteki lenf bezlerine yayılım olduğunu belirtmektedir

M evreleri

Mx; tümör hücrelerinin daha uzak dokulara yayılım yapıp yapmadığını belirlemek amacıyla herhangi bir test yapılmadığını belirtmektedir.

M0; kanserin bölgesel bezlerin dışına bulaşmadığını belirtmektedir.

M1; kanser hücrelerinin uzakta bulunan organlara yayılım yaptığını belirtmektedir.

M1a; kanser hücrelerinin uzakta bulunan lenf bezlerine ulaştığını belirtmektedir.

M1b; kanserin kemiklere metastaz yaptığını belirtmektedir.

M1c; kanserin beyin, karaciğer, akciğer gibi prostata uzak organlara yayılım yaptığını belirtmektedir [54]. Prostat Kanseri TNM Evrelemesi **Tablo 1.**'de gösterilmiştir.



Tablo 1. Prostat Kanseri 2002 TNM Evrelemesi [54].

Primer Tümör [T]	
Tx	Primer tümör değerlendirilemiyor.
T0	Primer tümör varlığına dair bir belirti yok.
T1	Tümör klinik olarak saptanamıyor; palpe edilemiyor ya da görüntülenemiyor.
T1a	Tümör rezeke edilen dokunun % 5'inden azında insidental olarak mevcut.
T1b	Tümör rezeke edilen dokunun % 5'inden fazlasında insidental olarak mevcut.
T1c	Tümör ancak iğne biopsisi ile belirlenebiliyor[Örneğin, PSA'nın yüksek bulunması nedeniyle biyopsi istenmesi sonucu]
T2	Tümör palpabl ve prostat dışına çıkmamış.
T2a	Tümör tek bir lobun yarısında ya da daha azında sınırlı
T2b	Tümör tek bir lobun yarısında daha fazla yer kaplıyor.
T2c	Tümör her iki lobu da kaplıyor.
T3	Tümör kapsülden prostat dışına çıkıyor.
T3a	Kapsül dışına taşma [tek taraflı ya da çift taraflı].
T3b	Tümör seminal vezikülleri invaze ediyor.
T4	Tümör fikse ya da seminal veziküller dışındaki dokuları invaze ediyor [Mesane boynu, eksternal sfinkter, rektum, levator kaları ve / veya pelvis duvarı].
Bölgesel Lenf Düğümleri [N]	
Nx	Bölgesel lenf düğümleri değerlendirilemiyor.
N0	Bölgesel lenf düğümlerinde metastaz yok.
N1	Bölgesel lenf düğüm/lerinde metastaz var.
Uzak Metastaz [M]***	
Mx	Uzak metastaz değerlendirilemiyor [hiç bir şekilde değerlendirilmemiş].
M0	Uzak metastaz yok.
M1	Uzak metastaz var.
M1a	Bölgesel olmayan lenf düğüm/lerinde metastaz.
M1b	Kemik/lerde metastaz var.
M1c	Kemik metastazı olsun / olmasın başka bölgelerde metastaz var.
*** Birden çok lokalizasyonda metastaz durumunda en ileri kategori tayin edilir. En ileri kategori pM1c'dir.	

2.3.1. Patolojik evreleme

Patolojik evreleme prognoz tayini için çok önemlidir çünkü tümör hacmi, cerrahi sınır, ekstrakapsüler yayılımın boyutu, veziküla seminalis ve pelvik lenf nodu tutulumu ile ilgili veriler sunar [55-57]. Patolojik evreleme **Tablo 2.**'deki gibidir.

Tablo 2. Prostat Kanseri Patolojik Evreleme [55].

Patolojik [pT]	
pT2*	Organa sınırlı
pT2a	Tek taraflı, bir lobun yarısını veya daha azını tutan
pT2b	Bir lobun yarısından fazlasını tek taraflı tutan fakat her iki lobu tutmayan
pT2c	Tümör her iki lobu da kaplıyor
pT3	Kapsül dışına yayılım
pT3a	Kapsül dışına yayılım
pT3b	V. seminalis invazyonu
pT4	Mesane, rektum invazyonu
* Patolojik T1 evrelemesi yoktur	

2.3.2. Gleason Skorlama Sistemi

PK'da en yaygın derecelendirme sistemi gleason skorlamadır. Derecelendirmede sitolojik özelliklerin öneminin bulunmamasının yanı sıra mikroskoptaki mikro küçültme alanında gözlemlenen tümöral gland yapıları temel alınarak yapılır. Skoru oluşturan sayılar **Tablo 3.**'te de gösterildiği gibi tümörün büyüklüğüne göre 2'den 10'a kadar derecelendirilmiştir ve iyi [gleason skoru 2-4 olanlar], orta [gleason skoru 5-6 olanlar] ve kötü [gleason skoru 7-10 olanlar] diferansiye olarak sınıflandırılmaktadır. [58].

Tablo 3. Prostat Kanseri Gleason Dereceleme Sistemi [58].

Derece Açıklama	
1	Uniform, tek, ayrı, sırt sırta vermiş, orta hacimli glandların oluşturduğu, nisbeten iyi sınırlı nodül.
2	Çok az miktardaki stroma ile ayrılan tek, ayrı, daha az uniform glandlar. Tümörün kenarı daha düzensizdir.
3A	Genellikle düzensiz olarak ayrılan tek tek, ayrı ve daha fazla değişken boyutta olan glandlar. Sırt sırta vermiş olabilir.
3B	3a gibidir. Fakat çok küçük glandlar veya küçük hücre kümeleri.
3C	Papiller veya kribriform yapıdaki tümörün keskin ve düzgün sınırlı yuvarlak kitlesi [papiller intraduktal tümör].
4A	Düzensiz kenarlı, düzensiz infiltran, birleşmiş glandüler tümör.
4B	4a gibi, daha büyük soluk hücrelerle birlikte [hiper nefroid].
5A	Genellikle santral nekrozla birlikte olan, keskin sınırlı kribriform patern ve solid tümör kitleleri [komedokarsinom].
5B	Anaplastik karsinomun düzensiz kitlesi [Adenokarsinom olarak yeterli gland oluşumu veya vakuoller tesbit edilir.].

2.4. İyon Kanalları

İyon kanalları membrana ait çift lipid tabakasını kesen ve bu katman boyunca iyonların geçişini kolaylaştıran makromoleküler protein kompleksleridir. İyon kanalları membranda 3-5Å çapta delikler oluşturmak suretiyle iyonların hareketini mümkün kılar ve bu kanallar boyunca oluşan iyon akımı membran potansiyelinin kaynağını oluşturur ki bu hücrenin elektriksel uyarılabilirliği için olmazsa olmazdır [59].

İyon kanalları hemen hemen her dokuda eksprese olmaktadır ve sinyal iletiminde önemli anahtar moleküllerdir. Ayrıca dokularda proliferasyon, transport, volüm kontrolü, enzim aktivitesi, sekresyon, invazyon, gen ekspresyonu, uyarı ve kasılma, hücre içi iletişim gibi hücresel fonksiyonun belirlenmesinde önemli rollere sahiptir [60].

Artan deliller çeşitli kanal tiplerinin sadece plazma membranında değil aynı zamanda hücre içi organellerde de bulunduklarını ve neoplastik ilerlemeye katkıda bulunduklarını göstermiştir. Neoplastik ilerlemede iyon kanalları metabolik yeniden programlanma, sınırsız bölünme potansiyeli, apoptozise direnç, anjiyogenezisin uyarılması, hücre göçü ve invazyonu olaylarına da katkı sağlamaktadırlar. Kanseri gelişimine ve ilerlemesine katkıda bulunan bu kanallar onkojenik kanallar olarak tanımlanmaktadır. Bu bağlamda farklı kanser tiplerinde iyon kanallarının ekspresyon düzeylerinin ve tiplerinin belirlenerek kanser spesifik 'kanalomların' tanımlanması oldukça önemlidir. Çünkü iyon kanalları sadece malignan ilerlemeye katkıda bulunmaz aynı zamanda teröpatik hedefler olarak da iş görürler [61].

İyon kanal ailesini dört ana gruba ayırmak mümkündür.

1. Ligand kapılı iyon kanalları; Belli bir kimyasal molekül varlığında açılan iyon kanallardır.
2. Voltaj kapılı iyon kanalları; İyon kanalının açılıp kapanması membran potansiyeline bağlı olarak gerçekleşir.
3. Mekanik uyarıyla çalışan iyon kanalları; İyon kanalı ancak membranın mekanik olarak gerilip/büzüldüğünde açılır.
4. Enzime bağlı iyon kanalları; Kanalın kapanması belli bir enzim aktivitesi sonucunda kanal proteinin fosforile veya defosforile olması ile kontrol edilir.

Hücre membranı periferik ve integral olmak üzere iki tip fonksiyonel protein içermektedir. İntegral membran protein kanalları; taşıyıcıları, reseptörleri, ekstrasellüler ve intrasellüler ortamlar arasında bilgi ve malzeme akışına arabuluculuk eden enzimlerden oluşmaktadır. Bu taşıyıcılar iyon kanalları gibi biyolojik hücre membranlarında

transmembran gözenekleri oluşturan proteinlerdir. İyon kanal ailesi, sinyal iletimiyle ilişkili protein aileleri içinde G-proteinleri ve protein kinazlardan sonra üçüncü en büyük aileyi oluştururlar. İyon kanalları çok farklı uyarılara cevap olarak açılıp kapanırlar.

Tablo 4.'te çalışmamızda değerlendirilmesi planlanan iyon kanal genlerinin kısaltma listesi verilmiştir.

Tablo 4. Prostat kanserinde etkili olduğu düşünülen iyon kanalları

İYON KANALI	İYON KANALI
TRPC1	Kv1.3 [KCNA3]
TRPC3	Kv1.4 [KCNA4]
TRPC4	Kv1.6 [KCNA6]
TRPC5	Kv4.3 [KCND3]
TRPC6	Kv11.1 [KCNH2]
TRPC7	Ca _v 3.1 [CACNA1G]
TRPV2	Ca _v 3.2 [CACNA1H]
TRPV3	Ca _v 3.3 [CACNA1I]
TRPV4	KCa3.1 [KCNN4]
TRPV5	KCa1.1 [KCNMA1]
TRPA1	TASK-3[KCNK9]
CIC-3	

2.4.1.Voltaj Kapılı Potasyum Kanalları [VKPK] ve Kalsiyum Aktiviteli Potasyum Kanalları

Voltaj bağımlı potasyum kanalları α ve β olmak üzere iki alt birimden meydana gelmektedirler ve α subuniti [Kv α] 12 farklı gruba ayrılmaktadır. Bunlar yavaş aktive olan rektifiye edici potasyum kanalları [Kv7.1-5 kanalları da bu gruptadır], hızlı aktive olan A tipi potasyum kanalları, dışa doğru rektifiye edici potasyum kanalları, içe doğru rektifiye edici potasyum kanalları, yavaş aktive olan potasyum kanalları ve susturucu [silencer] potasyum kanallarıdır [62]. B subuniti ise α altbirimiyle beraber çalışır ve bu alt birim daha çok potasyum kanal aktivitesinin düzenlenmesinde görevlidir [63].

Kanserin çevre dokular dışında uzak organlara yayılması [metastaz] çoğu kanser hastasında ölüme yol açan en önemli unsurdur. Metastaz gelişiminde primer tümörden

kanser hücreleri kan ve lenf dolaşımını kullanarak başka dokulara göç ederler ve uygun mikro ortama yerleşerek yeni tümör odakları meydana getirirler. Voltaj kapılı potasyum kanalları differensiasyon, proliferasyon, apoptoz, adezyon ve migrasyon, volüm kontrolü gibi birçok fizyolojik fonksiyona hizmet etmektedir. Bu fonksiyonlar primer ve metastatik tümör oluşumu ile de ilişkilidir. Bu nedenle voltaj kapılı potasyum kanallarının fonksiyonlarındaki değişiklik ya da artışın hücrelerde onkojenik etki yaptığı öne sürülmektedir.

Uyarılabilir hücrelerde VKPK, kanser hücrelerinde hücre proliferasyonunu artırdığı böylece kanser ilerlemesine neden olduğu, hücre içi kalsiyum [Ca^{+2}] düzenlemesinde, hücre hacminin kontrolünde, tümör büyümesinde etkili olduğu ve apoptozis mekanizmasına etki ettiği tespit edilmiştir. Potasyum kanallarının 70'in üstünde tipi olmasına rağmen, bunlardan sadece bir kaçının onkojenik potansiyele sahip olduğu belirlenmiştir. Prostat kanserlerinde değerlendirilmesi planlanan voltaj bağımlı potasyum kanalları insan prostat dokusunda tespit edilen iyon kanallarıdır ve bunlar Kv1.3, Kv1.4, Kv1.6, Kv4.3, Kv11.1 voltaj bağımlı potasyum kanallarıdır.

Pek çok tümörün Ca^{+2} aktivesiyle K kanallarını eksprese ettiği gösterilmiştir. Bunlar arasında prostat, uterus, mide, pankreas, hipofiz bezi ve meme kanser türleri bulunmaktadır. Bu kanalların hücre döngüsüne bağımlı çalıştıkları gösterilmiştir. Meme kanserinin S fazında tespit edilip bu kanalların hücre çoğalması üzerine etkisi olabileceği henüz araştırılmaktadır. $K_{Ca1.1}$ ve $K_{Ca3.1}$ kanalları ise kalsiyum aktiviteli potasyum kanalıdır.

Diğer potasyum kanalı da art arda iki por alanının bulunmasıyla oluşur. Bu kanal ailesinin bir üyesi olan aside duyarlı K kanalı TASK-3'ün meme, akciğer ve prostat kanserlerinde genomik çoğalma sırasında etkili olduğu tespit edilmiştir. TASK3'ün onkojenik ve proliferatif etkilerini K kanalı fonksiyonu üzerinden gerçekleştirdiği yapılan çalışmalarla belirlenmiştir [64-68].

2.4.1.1. KCNA3 [Voltaj Bağımlı Potasyum Kanalı, A altfamilya, 3. Üyesi]

Kv1.3 olarak isimlendirilen KCNA3; voltaj bağımlı potasyum kanallarının A alt ailesinin 3. üyesidir ve insanlarda 1. kromozom üzerinde lokalize olan KCNA3 geni tarafından kodlanan bir proteindir [69].

Potasyum kanalları; hem işlevsel hem de yapısal olarak en kompleks voltaj kapılı iyon kanal ailesidir. Nöronal uyarılabilirlik, nörotransmitter maddelerin salınımı, kalp atım

hızı, insülin salınımı, epitelyal elektrolit taşınımı, düz kas kasılması ve hücre hacminin düzenlenmesi gibi farklı fonksiyonlara sahiptir [70].

Apoptotik protein Bax'in dış mitokondriyal membrana yerleşmesi ve bir lizin rezidüsüyle Kv1.3 gözeneklerini tıkadığı ileri sürülmüştür ve bu durum Kv1.3 düzenlenmesinin apoptozise katkıda bulunan mekanizmalardan biri olabileceğini akla getirmektedir [71].

2.4.1.2. Kv1.4 [KCNA4] [Voltaj Bağımlı Potasyum Kanalı, A altfamilya, 4. Üyesi]

Kv1.4 voltaj kapılı potasyum kanalının A alt familyasının 4. üyesidir ve insanlarda KCNA4 geni tarafından kodlanan bir proteindir. Bu gen intronsuz bir kodlama bölgesine sahiptir ve insanlarda kromozom 1'de yer almaktadır [72].

2.4.1.3. Kv1.6 [KCNA6] [Voltaj Bağımlı Potasyum Kanalı, A altfamilya, 6. Üyesi]

Kv1.6 olarak da bilinen voltaj bağımlı potasyum kanalı A alt ailesinin 6. üyesi olan protein insanlarda KCNA6 geni tarafından kodlanmaktadır [62].

2.4.1.4. Kv4.3 [KCND3] [Voltaj Bağımlı Potasyum Kanalı, D altfamilya, 3. Üyesi]

İnsanlarda KCND3 geni tarafından kodlanan protein potasyum voltaj bağımlı kanallarının D alt ailesinin 3. üyesidir. Kv4.3 olarak isimlendirilen KCND3 geni alternatif olarak kırılmış transkript varyantları tarafından kodlanan farklı boyutlarda iki izoforma sahiptir [73].

2.4.1.5. Kv11.1 [KCNH2] [Voltaj Bağımlı Potasyum Kanalı, H altfamilya, 2. Üyesi]

Kv11.1 olarak isimlendirilen KCNH2 geni eag ailesine ait voltajla aktive olan potasyum kanalını kodlamaktadır. Drozofila eter-a-go-go [eag] geni ile sekans benzerliğine sahiptir. Bu gene ait farklı izoformları kodlayan transkript varyantları tanımlanmıştır [74]. Kalbin elektriksel aktivitesinin düzenlenmesinde en çok etkili olan kanal olarak belirtilmektedir [75]. Ayrıca bu kanal lösemik hücrelerde kanser benzeri özelliklerin oluşturulması ve sürdürülmesi ile ilişkilendirilmiştir [76].

2.4.1.6.Kca3.1 [KCNN4] [Kalsiyum-Aktiviteli Potasyum Kanalı, N altaile, 4. üyesi]

Kca3.1 olarak da bilinen KCNN4; düşük iletkenliğe sahip kalsiyum ile aktive olan potasyum kanallarının N alt ailesinin 4. üyesi olup KCa3.1 proteinini kodlayan bir gendir.

Kca3.1 proteini; hücre içi kalsiyum tarafından aktive edilen potansiyel heterotetramerik voltaj bağımsız potasyum kanalının bir parçasıdır. Kanalin aktivasyonu kalsiyum akışını teşvik eden membran hiperpolarizasyonu izler. Kodlanan protein, T-lenfositlerde baskın olan kalsiyum aktiviteli potasyum kanalının bir parçası olabilir. Bu gen, diğer KCNN potasyum kanalı ailesindeki genlere benzemektedir [77].

2.4.1.7.Kca1.1 [KCNMA1] [Kalsiyum-Aktiviteli Potasyum Kanalı, M altaile, 1. Üyesi]

Kalsiyum aktiviteli potasyum kanal subunit alfa-1 aynı zamanda yüksek iletkenli kalsiyum aktiviteli potasyum kanalı M altailesi alfa-1 üyesi [Kca1.1] olarak bilinmektedir. KCNMA1 geni tarafından kodlanan voltaj kapılı potasyum kanalıdır ve hücre membranı boyunca potasyum iyonlarının yüksek iletiminden sorumludur [78].

Kalsiyum aktiviteli voltaj kapılı potasyum kanalları kısaca BK olarak isimlendirilirler. BK kanalları membran elektrik potansiyelindeki değişikliklerle veya hücre içi kalsiyum iyonu $[Ca_2^+]$ konsantrasyonunda ki artışlarla aktive olurlar. BK kanallarının açılması düşük elektrokimyasal gradyan altında pasif olarak K iyonlarının kanaldan geçmesine olanak sağlar. Tipik fizyolojik koşullar altında hücrede hücre zarının hiperpolarizasyonunda ve hücre uyarılabilirliğinde azalmaya yol açan K⁺ akışı meydana gelmektedir. BK kanalları düz kas tonusu ve nöronal uyarılma gibi bazı önemli fizyolojik süreçlerin düzenlenmesi için gereklidir [79,80].

2.4.1.8. TASK-3[KCNK9]

Bu gen TASK-3 olarak bilinen, iki gözenek oluşturan P alanı ve birden fazla transmembran bölge içeren pH-bağımlı potasyum kanalı olarak işlev gören potasyum kanal süper ailesinin üyelerinden biri olan KCNK9 proteinini kodlamaktadır. Bu genin alternatif kırılmadan dolayı birden fazla transkript varyantı mevcuttur [81].

Fizyolojik membran potansiyellerinde sürekli olarak açıktır ve böylece dinlenme anındaki membran potansiyelinin ayarlanmasına yardımcı olurlar. Bu açık kanal, serebellumda oldukça yüksek oranda ifade edilmektedir [82].

Çeşitli insan karsinomlarında bu genin aşırı ifadesi ve amplifikasyonu tespit edilmiştir [83].

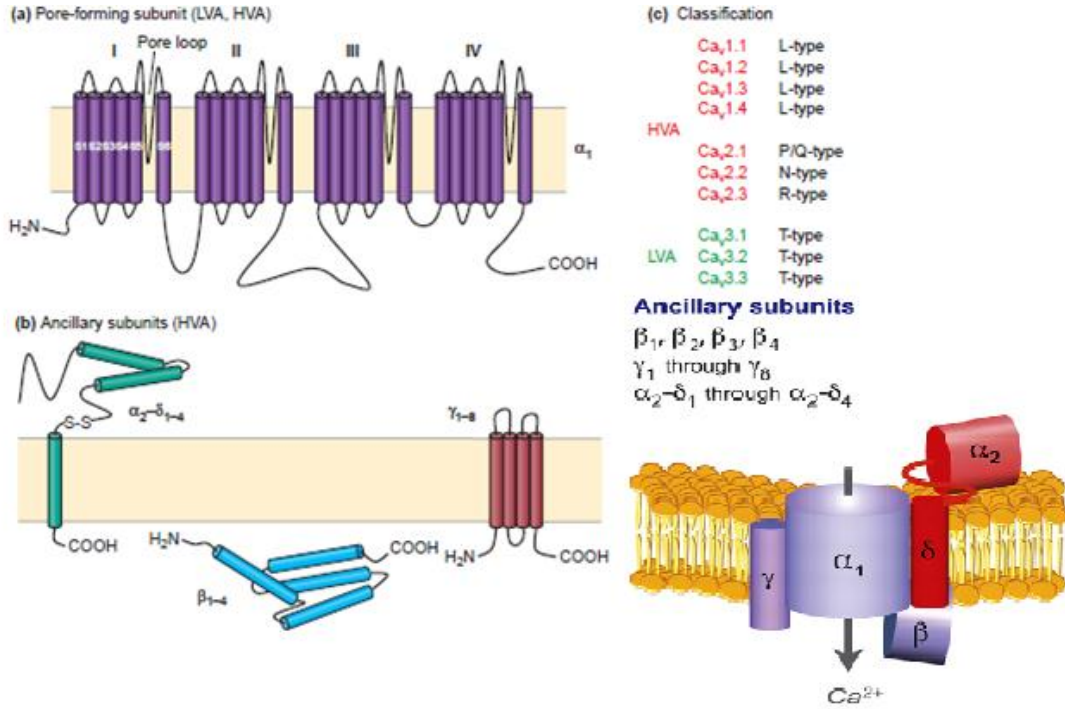
2.4.2. Voltaj Bağımlı Kalsiyum Kanalları [VKKK]

Kalsiyum, kas kasılması için gerekli olan nörotransmitter salınımında etkili olan ve bir dizi fizyolojik fonksiyonları düzenleyen önemli bir sinyal molekülüdür. Voltaj kapılı kalsiyum kanalı [VKKK] özellikle uyarılabilen hücrelerde hücre içi Ca^{+2} girişi için önemli bir görev üstlenmiştir.

Voltaj bağımlı kalsiyum kanalları impuls oluşumu, duyuşal işlemler, kas kasılması, hormonların ve nörotransmitterlerin salgılanması, hücre farklılaşması ve gen ifadesi gibi çeşitli fizyolojik olaylarda anahtar rol oynamaktadır [84,85].

Ayrıca, kalsiyum iyonları ikincil haberci olduklarından dolayı membran potansiyelini etkileyebilecek başka hücre içi kontrol mekanizmaları da kontrol etme özelliğine sahiptirler.

Kalsiyum kanalları çeşitlilik göstermektedir. VKKK'nın moleküler olarak on üyesi bulunmaktadır. Fakat yüksek voltaj ile aktive olan VKKK ve düşük voltaj ile aktive olan VKKK olmak üzere temel olarak iki gruba ayrılırlar. Düşük voltaj ile aktive VKKK üç α üniteden oluşan T-tipi kanallardır [CACNA1G, CACNA1H ve CACNA1I]. Diğer yedi VKKK üyesi ise yüksek voltaj ile aktive olan kanallardır. Bunlar L-tipi [$Ca_v1.1$, $Ca_v1.2$, $Ca_v1.3$ ve $Ca_v1.4$], P/Q-tipi [$Ca_v2.1$], N-tipi [$Ca_v2.2$], ve R-tipi [CACNA1E] kanallardır. Yüksek voltaj ile aktive VKKK'nın hetero-oligomerik kompleksleri vardır. **Şekil 3.**'te gösterildiği gibi kanal açıklığını oluşturan α_1 alt biriminin yanı sıra, yardımcı β , α_2 - δ , ve γ alt birimlerine de benzer fonksiyonel kanallar oluşturmak üzere ihtiyaç vardır [85,86].



Şekil 3. Voltaj kapılı kalsiyum kanallarının alt türleri ve alt birim kompleksi [87].

VKKK apoptoza teşvik, DNA sentezi, hücre proliferasyonu, hücre farklılaşması ve gen ekspresyonu gibi çeşitli fizyolojik olaylarda anahtar rol oynar. Hücre döngüsünde vazgeçilmez bir öneme sahiptir, bu nedenle karsinogenezde dikkat çeken iyon kanallarındandır.

2.4.2.1. CACNA1G [Kalsiyum Kanalı, Voltaj-Bağımlı, T tipi, alfa-1G alt birimi]

CACNA1G [Ca_v3.1] düşük voltajla aktive olan bir kalsiyum kanalıdır. İnsanlarda 17q22 yer almaktadır. T tipi alfa 1G alt birimine sahip, voltaj bağımlı kalsiyum kanalı insanlarda yer alan CACNA1G geni tarafından kodlanan bir proteindir. Bu gen için farklı izoform kodlayan pek çok alternatif transkript varyantları tespit edilmiştir [88].

T türü kanallar hem hızlı inaktivasyon nedeniyle geçici hemde küçük iletkenlik nedeniyle küçük akımları meydana getirirler. T türü kanalların pacemaker aktivitesinde, düşük eşikli kalsiyumun ani artışların, nöronal salınımların ve rezonansın dâhil olduğu düşünülmektedir [89].

2.4.2.2. CACNA1H [Kalsiyum Kanalı, Voltaj-Bağımlı, T tipi, alfa-1H alt ünitesi]

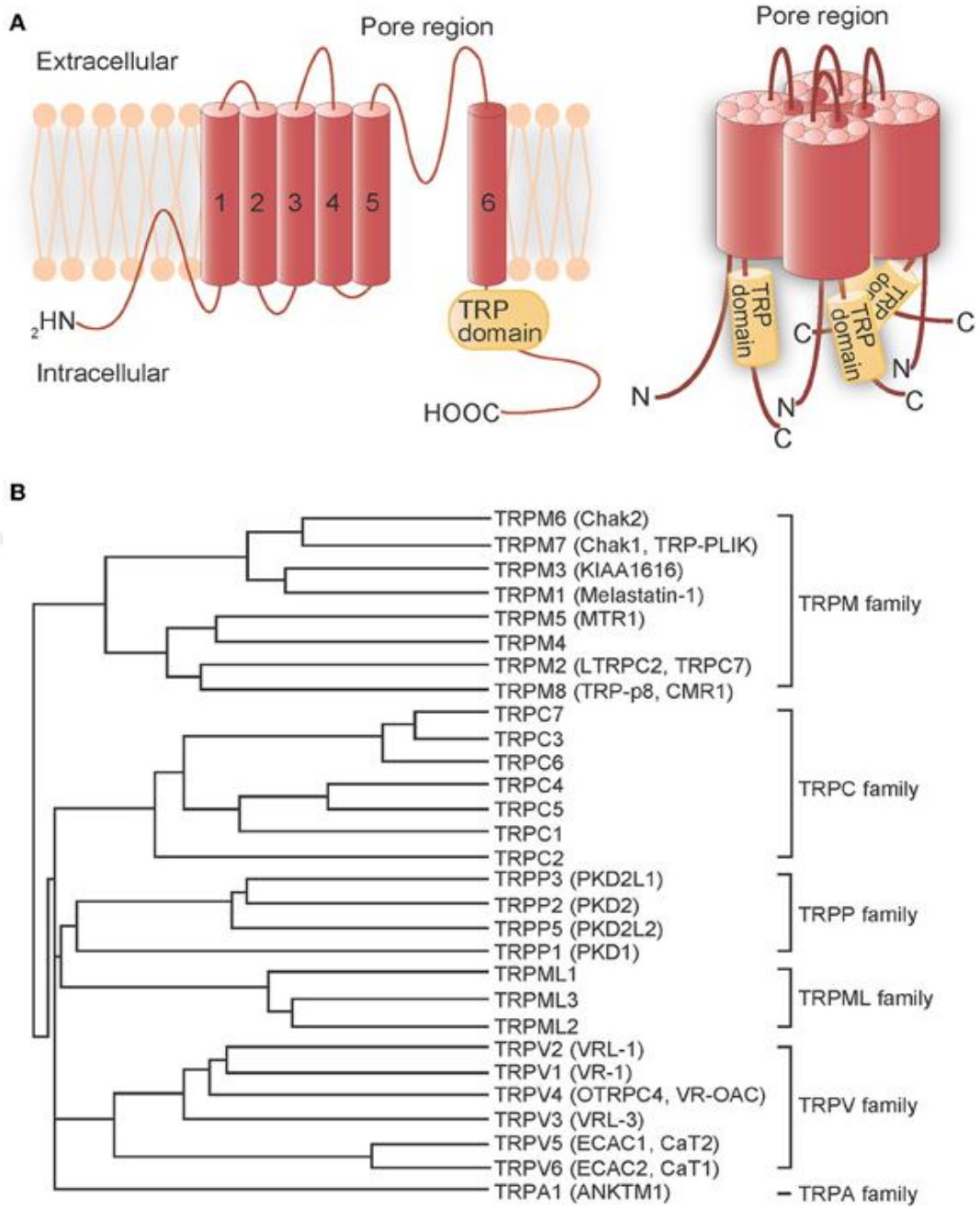
CACNA1H [$Ca_v3.2$] düşük voltajla aktive olan bir kalsiyum kanalıdır. İnsanlarda 16. kromozomda [16p13.3] yer almaktadır. CACNA1H gibi Ca^{2+} kanalları alfa-1 alt birimleri ile 4 homolog tekrar alanı içermektedir, bunların her biri 6 transmembran segmentine, yüksek oranda korunmuş bir gözenek lop ve ayırt edici bir voltaj sensörüne sahiptirler. Jagannathan ve arkadaşları. [2002] CACNA1H geninin, en az 27 ekson ihtiva ettiğini tespit etmiştir. Aynı araştırmacılar bu genin testiste birden fazla izoformunun olduğunu göstermişlerdir. Bunlara ek olarak hem germ hücrelerinde hem de diğer testis hücrelerinde transkriptleri insitu hibridizasyon yöntemiyle tespit edilmiştir [89].

2.4.2.3. CACNA1I [Kalsiyum Kanalı, Voltaj-Bağımlı, T tipi, alfa-1I alt birimi]

CACNA1I [$Ca_v3.3$] düşük voltajla aktive olan T tipi voltaja bağımlı bir kalsiyum kanalıdır. İnsanlarda 22. kromozomda [22q13.1] lokalizedir. 2016 aminoasitten oluşan protein her biri 6 membran geçişli segmentten oluşan 4 alan, bir gözenek boşluğu ile sitoplazmik ve ekstrasellüler lop bağlantıları içerir. N ve C uçları sitoplazmiktir. CACNA1I membrana-yayılan segmentleri CACNA1G ve CACNA1H'nin membrana-yayılan segmentleri ile % 84 özdeştir [90].

2.4.3. Geçici [Transient] Reseptör Potansiyel Kanalları [TRP]

TRP “Transient Receptor Potential” geninin ilk defa *Drosophila melanogaster* [meyve sineği] fotoreseptörlerinde ışıkla aktive olan Ca^{2+} kanalının önemli bir bileşeni olduğunun keşfedilmesiyle birlikte günümüze kadar TRP iyon kanalı süper ailesinin memelilerde yaklaşık 30 kadar üyesi belirlenmiştir [Şekil 4]. Amino asid benzerliğine göre TRP kanalları 7 alt aileye ayrılmıştır: TRPC [Canonical], TRPM [Melastatin], TRPV [Vanilloid], TRPA [Ankyrin], TRPP [Polycystin] ve TRPML [Mucolipin], TRPN [NO mechano potential] [91].



Şekil 4. Memeli TRP kanallarının transmembran filogenetik ve topoloji ağacı [92].

TRP kanallarının tat, sıcaklık ve koku algılama ile ilgili duyuşal nöronlarda ince ayar işlevine katılmaları ile birlikte vasküler bariyer, oksidatif stres aktivasyonu, vazokonstriksiyon/vazodilatasyon, vasküler proliferasyon, vasküler yeniden modelleme “vascular remodelling” ve anjiyojenez gibi birçok süreçte işlevsel oldukları bilinmektedir. TRP kanalları fizyolojik önemlerinin yanında kanser [akciğer, prostat, meme kanseri gibi], nörodejeneratif [Alzheimer, epilepsi] ve kardiyovasküler hastalıklar [pulmoner

hipertansiyon, kardiyak hipertrofi] gibi birçok patolojik durumla da ilişkilendirilmiştir [93-95].

Son on yılda yapılan çalışmalarda TRP iyon kanallarının kanser hücrelerinde hücre proliferasyonu, hücre göçü ve apoptoz gibi merkezi mekanizmalarda önemli etkileri olduğu belirlenmiştir. Özellikle prostat kanserinde TRPM8, TRPV6, TRPC6 ve TRPV2 kanallarının hormon tedavisine dirençli vakalarda prostat kanserinin ilerlemesine neden olduğu tespit edilmiştir [96].

TRPC1, TRPC3, TRPC5, TRPC4 ve TRPC6 protein ifadesi düz kas adaptasyonu ve proliferasyonunu başlatan koşullarda artmaktadır [97]. TRPV3, TRPV5, TRPV6 Ca^{+2} seçimli katyon kanalı olup prostat adenokarsinoma, metastatik ve androjen-duyarlı prostat lezyonlarında belirlenmiştir. Fakat tümör oluşumu sonrasında mı yoksa başlangıcında mı etkili olduğu henüz bilinmemektedir [98].

2.4.3.1. Kanonikal Geçici Reseptör Potansiyel Kanalları [TRPC] Alt Ailesi

Kanonikal geçici reseptör potansiyel kanalları [TRPC], Ca_2^{+} geçirgen geçici reseptör potansiyel süper ailesi katyon kanallarının alt ailelerinden biridir [99]. TRPC kanalları seçici olmayan Ca_2^{+} kanalları olarak işlev görürler ve spesifik olarak uyarılırlar. Drosophila TRP kanalları ile hemen hemen %40 oranında aminoasit benzerliğine sahiptirler [100]. Bu aileye ait tanımlanmış 7 üye bulunmaktadır ve insanlarda psödogen olan TRPC2 haricinde memeli dokularında yaygın bir şekilde eksprese olmaktadır [99]. 7 adet TRPC kanalı iki alt gruba ayrılmıştır ve bunlar depo tükenmesi [store-depletion] ile aktiveleşen C1, C4, C5 kanalları ve reseptör uyarımı [receptor stimulation] ile aktive edilen C3, C6, C7 [45] kanallarıdır [101].

2.4.3.1.1. TRPC1 [Geçici Reseptör Potansiyel Katyon Kanalı, C Altfamilya, 1. Üyesi]

TRPC1 katyon kanalı geçici reseptör potansiyel [TRP] süper ailesine aittir ve Geçici Reseptör Potansiyel Kanal 1 [TRPC1] insanlarda 3. kromozomda [3q23] yer alan TRPC1 geni tarafından kodlanmaktadır. Bu gen tarafından kodlanan protein; kalsiyum ve diğer katyonları geçiren, seçici olmayan bir kanal oluşturulabilen bir membran proteinidir. TRPC1 insan ve hayvan hücre tiplerinin pek çoğunda plazma membranında yer alan bir iyon kanalıdır. Kodlanan proteinin, bir reseptör tirozin kinaz aktivieli fosfatidilinositol ikinci haberci sistemi veya G-proteinleri tarafından ve aynı zamanda hücre içi kalsiyum

stoklarının azalması ile indüklediği bilinmektedir. Bu gen için farklı izoform kodlayan iki transkript varyant tespit edilmiştir.

Yapılan çalışmalar insan fetüs ve erişkin beyinde, yetişkin kalp, testis ve overde yüksek miktarda ve fetal karaciğer ve böbrekte daha düşük seviyelerde genin transkriptini ihtiva ettiğini göstermektedir [102,103].

2.4.3.1.2. TRPC3 [Geçici Reseptör Potansiyel Katyon Kanalı, C Altfamilya, 3. Üyesi]

Geçici reseptör potansiyeli katyon kanalı [TRPC], C altfamilyasının 3. üyesidir. İnsanlarda 4. kromozomda [4q27] yer alan TRPC3 geni tarafından kodlanmaktadır. Reseptör ile aktive olan seçici olmayan ve Ca geçirgen bir kanaldır. TRPC3 geni metabotropik glutamat reseptör bağımlı sinaptik iletim de dâhil olmak üzere hücre içi sinyal yolları ile bağlantılı, kalsiyum ve diğer katyonları geçiren non selektif bir katyon kanalını kodlar. Diaçilgliserol [DAG] ve hücre içi kalsiyum stokların azalması ile aktive edilirler. Bu gen için farklı izoform kodlayan iki transkript varyant tespit edilmiştir [104].

2.4.3.1.3. TRPC4 [Geçici Reseptör Potansiyel Katyon Kanalı, C Altfamilya, 4. Üyesi]

Geçici Reseptör Potansiyel Kanal 4 [TRPC4] geni, geçici reseptör potansiyel katyon kanallarının kanonik alt ailesinin bir üyesini kodlar. İnsanlarda 13. kromozomda [13q13.3] yer almaktadır. Kodlanan protein, reseptör G proteinleri ve tirozin kinazlar tarafından aktive olan ve endotel geçirgenliği, damar genişlemesi, nörotransmitterlerin serbest bırakılması ve hücre çoğalması da dâhil olmak üzere pek çok süreçte rol oynayan, seçici olmayan bir kalsiyum geçirgen iyon kanalını oluşturur. TRPC4; 6 transmembran bölge, bir por bölgesi, bir kaveolin-bağlama alanı ve C terminalinde bir PDZ [Primary Decidual Zone] alanı bağlanma bölgesi içerir.

Schaefer ve ark. [2002] insan testisinin total RNA'sında TRPC4'ün bir splice varyantını belirlemişlerdir. TRPC4- alfa ve TRPC4-beta varyantları mevcuttur [105].

2.4.3.1.4. TRPC5 [Geçici Reseptör Potansiyel Katyon Kanalı, C Altfamilya, 5. Üyesi]

Geçici reseptör protein 5 [TRPC5] olarak da bilinen kısa geçici reseptör potansiyeli kanal 5 [TRPC5] insanlarda Xq23 lokalize olan TRPC5 geni tarafından kodlanan bir proteindir [106]. TRPC5 çok geçişli bir zar proteindir ve reseptör aracılı aktive edilen

seçici olmayan bir kalsiyum geçirgen katyon kanalı olarak tanımlanmaktadır. Reseptör tirozin kinazlar veya G-proteinleri ile ve hücre içi kalsiyum stokların azalması ile aktive edilirler. Protein tek başına ya da TRPC1, TRPC3 ve TRPC4 ile heteromultimerik olarak etkindir. Ayrıca kalmodulin, CABP1, enkurin, Na^+/H^+ değişim düzenleyici faktör [NHERF], interferona bağlı GTP bağlayıcı protein [MX1], ring finger protein 24 [RNF24] ve SEC14 alanı ve spektrin tekrar içeren Protein 1[SESTD1]'i kapsayan pek çok proteinle etkileşir [107].

2.4.3.1.5. TRPC6 [Geçici Reseptör Potansiyel Katyon Kanalı, C Altfamilya, 6. Üyesi]

TRPC6; Geçici Reseptör Potansiyeli Katyon Kanalı [TRPC] C altfamilyasının 6. üyesidir. Aynı adı taşıyan insanlarda 11. [11q22.1] kromozomda yer alan gen tarafından kodlanmaktadır. Bu gen tarafından kodlanan protein, hücre zarında bir reseptör-bağımlı kalsiyum kanalını oluşturur. Kanal diaçilgliserol tarafından aktive edilmekte ve kanalın fosfatidil inositol ikinci mesajcı sisteminin kontrolü altında olduğu düşünülmektedir. Bu kanalın aktivasyonu protein kinaz C'den bağımsız olarak meydana gelir ve reseptör tirozin kinazlar veya G-proteinleri ile Diaçilgliserol [DAG] ve hücre içi kalsiyum stoklarının azalması ile aktive edilirler [108].

2.4.3.1.6. TRPC7 [Geçici Reseptör Potansiyel Katyon Kanalı, C Altfamilya, 7. Üyesi]

TRPC7; Geçici Reseptör Potansiyeli Katyon Kanalı [TRPC] C altfamilyasının 7. üyesidir ve aynı adı taşıyan ve insanlarda 5q31.1'de lokalize olan gen tarafından kodlanan bir proteindir. Reseptör ile aktive seçici olmayan, kalsiyum geçirgen katyon kanalıdır. Reseptör tirozin kinazlar veya G-proteinleri ile Diaçilgliserol [DAG] ve hücre içi kalsiyum stoklarının azalması ile aktive edilirler. Alternatif kırılma sonucu birden fazla transkript varyantı olduğu belirlenmiştir [109].

2.4.3.1.7. TRPV2 [Geçici Reseptör Potansiyel Katyon Kanalı, V Altfamilya, 2. Üyesi]

Geçici reseptör potansiyel katyon kanalı Vanilloid alt ailesinin 2. üyesidir ve insanlarda 17p11.2'de bulunan TRPV2 geni tarafından kodlanan 6 transmembran alanı içeren bir proteindir. Bu gen, 52 C°'nin üzerindeki yüksek sıcaklıklarla aktive edilen bir iyon kanalını kodlar. Protein, duyuşal gangliyonlarda yüksek sıcaklıkta ısı tepkilerinin

iletiminde görev almaktadır. Diğer dokularda kanalın ısı haricindeki uyarılar tarafından aktive edilebileceği düşünülmektedir [110].

2.4.3.1.8. TRPV3 [Geçici Reseptör Potansiyel Katyon Kanalı, V Altfamilya, 3. Üyesi]

Geçici reseptör potansiyel katyon kanalı Vanilloid alt ailesinin 3. üyesidir ve aynı adı taşıyan 17p13.2'de bulunan gen tarafından kodlanan bir protein olup sıcaklık hissi ve vazoregülasyon da dâhil olmak üzere çeşitli süreçlerde işlev gören seçici olmayan katyon kanallarından oluşan bir ailenin üyesidir. Bu ailenin termo duyarlı üyeleri deride sonlanan duysal nöronların alt gruplarında ifade edilir ve farklı fizyolojik sıcaklıklarda aktive olmaktadır. Bu kanal, 22 ile 40 C sıcaklıklarında aktive olmaktadır. Gen, kromozom 17'deki bir başka aile üyesi [TRPV1] genine çok yakın bir yerde bulunur ve iki kodlanmış proteinin heteromerik kanallar oluşturmak için birbiriyle ilişkili olduğu düşünülmektedir [111].

2.4.1.3.9. TRPV4 [Geçici Reseptör Potansiyel Katyon Kanalı, V Altfamilya, 4. Üyesi]

Geçici reseptör potansiyeli katyon kanalı alt ailesinin Vanilloid alt ailesine ait olup insanlarda TRPV4 geni tarafından kodlanan ve Ca sinyali oluşumuna veya membran depolarizasyonuna katılan bir iyon kanalı proteindir. İnsanlarda lokalizasyonu 12q24.11'dir. Bu genin farklı izoformlarda kodlanan birden fazla transkripti tanımlanmıştır.

TRPV4'ün osmo- ve mekano-iletme katılımı, hücrel ve sistemik hacim düzenlenmesi, arteriyel dilatasyon, nosisepsiyon, epitelyal hidroelektrolit taşınımı, mesane boşaltımı ve siliyer atış sıklığının düzenlemesi gibi önemli fonksiyonlara katkıda bulunur. Kanal, ozmotik, mekanik ve kimyasal uyarılarla etkinleştirilir. Aynı zamandasıcaklık değişikliklerine de tepki verir. Kanal aktivasyonu iltihaplanma ve yaralanma ile duyarlı hale gelebilmektedir [112].

2.4.1.3.10. TRPV5 [Geçici Reseptör Potansiyel Katyon Kanalı, V Altfamilya, 5. Üyesi]

Geçici reseptör potansiyel katyon kanalı Vanilloid alt ailesinin 5. üyesidir ve insanlarda 7q34'te yer alan aynı isme sahip TRPV5 geni tarafından kodlanan bir proteindir. Bu gen tarafından kodlanan kalsiyum geçirgen kanal; 6 transmembran geçişli

bölge, çoklu potansiyel fosforilasyon bölgesi, bir N-bağlı glikozilasyon alanı ve 5 ANK [Ankyrin] tekrarlarından meydana gelmektedir. Bu protein homotetramerler veya heterotetramerler oluşturur ve düşük hücre içi kalsiyum seviyesi ile aktive olmaktadır.

TRPV5 esas olarak böbrek epitel hücrelerinde ifade edilir ve burada Ca^{+2} 'nın yeniden emiliminde önemli bir rol oynar [113].

2.4.1.3.11. TRPA1 [Geçici Reseptör Potansiyel Katyon Kanalı, A Altfamilya, 1. Üyesi]

TRPA1 olarak da bilinen kanal geçici reseptör potansiyeli katyon kanal ailesinin Ankyrin alt ailesinin 1. üyesidir ve insanlarda TRPA1 geni tarafından kodlanan bir proteindir. TRPA1, birçok insan ve hayvan hücresinin plazma zarında bulunan bir iyon kanalıdır. TRPA1, 14 N-terminal ankirin tekrar içerir ve mekanik ve kimyasal stres sensörü olarak işlev gördüğü düşünülür.

TRPA1 iyon kanalının en çok ağrı, soğuk ve kaşıntıya neden olan çevresel uyaranlar için bir sensör olarak aktivite gösterdiği düşünülmektedir. Bu proteinin spesifik fonksiyonu henüz belirlenmemiştir; ancak yapılan çalışmalar sinyal iletimi ve büyüme kontrolünde rol oynayabileceğini göstermektedir [114].

2.4.4. Cl KANALLARI

Klor bitki ve hayvanlarda çok miktarda bulunan bir anyondur. Elektriksel eksitabilitenin düzenlenmesi, kas kontraksiyonu, sekresyon ve duyuşal işaret dönüştürülmesi gibi birçok anahtar role sahip fizyolojik mekanizmayı düzenler [115]. Ayrıca bu kanallar insan hücrelerinin plazma ve hücre içi organel membranlarında da yer almaktadır. Hücre içi pH değeri, hücre hacmi, sinir uyarılabilirliği ve dinlenti potansiyelin düzenlenmesinde de çok önemli roller oynamaktadır [116].

Klor kanalları hücrelerde yoğun biçimde ifade olmaktadır. Bu kanalların hücre proliferasyonu üzerinde etkisi pek çok çalışmayla gösterilmiştir. Ayrıca klor kanalları antiapoptotik bir protein olan Bcl-2 etkilemektedir. Klor kanallarının karsinogenezis mekanizmalarından birinde apoptotik bir yolak olabileceği düşünülmektedir [14,117].

2.4.4.1. CLCN3 [Voltaja Duyarlı Klorür Kanalı 3]

CLCN3 geni voltaj bağımlı klorür kanalı [CIC] ailesinin bir üyesini kodlar. Voltaja duyarlı klorür kanalı 3 insanlarda 4. kromozomda [4q33] yer alan CLCN3 geni tarafından kodlanan bir proteindir. Kodlanan protein tüm hücre tiplerinde mevcuttur ve plazma

zarlarında ve hücre içi veziküllerde lokalizedir. Protein bir CIC alanı ve iki ek C-terminali CBS [Sistatyonin Beta-Sintaz] alanı içeren çok-geçişli bir zar proteinidir. CIC alanı hücre zarları arasında Cl⁻ iyonlarının seçici geçişini kataliz eder ve CBS alanı bir düzenleyici fonksiyona sahip olabilir. Bu protein, hem asidifikasyon ve GABA benzeri sinaptik veziküllerin transmitter yüklenmesinde hem de düz kas hücre aktivasyonu ve neointima oluşumunda rol oynar. Bu protein lizofosfatidik asit [LPA]- aktiviteli Cl⁻ akımı aktivitesi ve fibroblasttan miyofibroblast farklılaşması için gereklidir. Protein aktivitesi, glioma hücrelerinde Ca₂⁺ / kalmodulin bağımlı protein kinaz II [CaMKII] tarafından düzenlenir. Farklı izoformlarını kodlayan birden fazla alternatif kırpılmış transkript varyantları tanımlanmıştır [118,119].



3. GEREÇ VE YÖNTEMLER

3.1. Vakaların Seçimi

Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi etik kurulunca onaylanan çalışmada Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Patoloji AD arşivinden prostat adeno karsinom, BPH ve normal prostat dokularının bulunduğu parafin bloklar mikroskopik olarak onaylandıktan sonra temin edildi.

Hastalar değerlendirilirken yaş, gelason skor sonuçları ve TNM değerlendirmeleri istatistiksel değerlendirilmeler için rapor edildi.

Çalışmaya dâhil edilen 165 hasta 9 gruba ayrıldı.

1) Normal prostat dokusu [kontrol grubu] [n=30]

2) Prostat kanseri [n=105] [Gleason skor 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 olmak üzere eşit sayıda gruplandırılmıştır.]

3) BPH[n=30]

3.2.İyon Kanallarını Tespit Etmede Kullanılan Aletler

- -20°C derin dondurucu: Arçelik, Türkiye
- -80°C derin dondurucu: Nuaire, Meksika
- Etüv: Gallenkamp, Economy Incubator Size, Ukrayna
- Falkon Tüp: Corning® 430766, 15 mL Centri füge Tube, Meksika
- 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: Invitrogen by life technologies, Avusturalya

- Real Time- PCR: AB Applied Biosystems, ABI Prism 7500 Fast Real Time PCR Instrument, Foster City, CA

- Santrifüj: Sigma, Almanya
- Spin: Labnet International, Katalog No:C1031B-230V, Kore
- Vorteks: Elektro-Mag, Türkiye

3.3. İyon Kanallarını Tespit Etmede Kullanılan Kimyasal Maddeler

- cDNA Kiti: AB Applied Biosystems, High- Capacity cDNA Reverse Trancription Kits, Part No:437522 REVB, Foster City, CA

- 5 x HOT FIREPol® EvaGreen® qPCR Mix Plus [ROX]: Solis Biodyne, Riia 185a, 51014 Tartu, Estonia

- Temizleme Solüsyonu: Bioshop, Nuclease Removal Reagent [500 mL], Kanada
- Tri Reagent, Molecular Research Center, Cat No: TR 118, Montgomery Road Cincinnati, OH, USA

3.4. İyon Kanallarını Tespit Etmede Kullanılan Yöntemler

3.4.1. Parafin Blok Kesitlerden RNA İzolasyonu

Temin edilen parafin bloklardan 0,2mm kalınlığında kesitler alınarak ependorflarda istiflenip izolasyon için -80 C’de saklandı. Parafin bloktan RNA izolasyonu Trizol kullanılarak gerçekleştirildi. Yöntem Sharma ve arkadaşlarından modifiye edilmiş olup daha önce laboratuarda denenmiştir.

1. Parafin erimesi için 20 µm 5 adet kesit ependorf tüplere konularak 65°C ısı bloğunda 1 saat bekletildi.
2. Parafinin uzaklaştırılması için ependorflara 1000 µl ksilol [65°C etüvde ısıtılacaktır] konup 65°C’de 5 dk. inkübasyonu takiben 14.000 rpm’de 2 dk. santrifüj yapıldı. Santrifüj sonrası süpernatant atılacaktır. Ksilol eklendikten sonraki işlemler 3 kez tekrar edildi.
3. Ependorflara 1000 µl %100’lük etanol konup vorteks yapıldı. Etüvde 37°C’de 15 dakika bekletildikten sonra 14.000 rpm’de 2 dk. santrifüj yapıp süpernatant uzaklaştırıldı. Ependorflara 1000 µl %70’lik etanol konup vorteks yapıldı. Etüvde 37°C’de 15 dakika bekletildi. 14.000 rpm’de 2 dk. antrifüj yapıp ve süpernatant atıldı. Ependorflara 1000 µl %50’lik etanol konulup ve vorteks yapıldı. Etüvde

- 37°C’de 15 dakika bekletilip 14.000 rpm 2 dk. santrifüj yapıldı ve süpernatant kısım atıldı.
4. Ependorflara; 750 µl Trizol, 60 µl Proteinaz K ve 2 µl RNase inhibitör ilave edilerek 60°C’de ayarlanmış çalkalamalı su banyosunda 1 gece bekletildi.
 5. Örneklerin oda ısısına düşmesi beklendi. Ependorflara 300 µl kloroform eklenip ve 15 saniye vorteks yapıldı. 20.000 rpm’de 20 dk. +4 °C’de santrifüj edilip üstte kalan faz yeni tüplere aktarıldı.
 6. Üzerlerine 800 µl izopropil alkol eklendi ve oda sıcaklığında tüpler alt üst edilip -20°C’de 1 gece beklemeye alındı.
 7. 13.500 rpm’de 10 dk. +4°C’de santrifüj edilip üst faz atıldı. %75’lik etil alkol ile yıkama yapıldı. Tüpler altüst edilip 7500 rpm’de 5 dk. +4°C’de santrifüj edilip 10 dk. etanolün uçması için tüpler kapakları açık şekilde bekletildi.
 8. Dipte kalan beyaz RNA pelletinin büyüklüğüne göre DNase, RNase ve pirojen içermeyen su eklendi [120].

3.5. Spektrofotometrik RNA Ölçümü

RNA ölçümü için Qubit® RNA Assay Kit For Use With The Qubit®2.0 Fluorometer [İnvitrogen/Molecular Probes] kullanıldı. İşleme geçmeden önce DNAaz-RNAaz içermeyen steril su ile kör ölçüm yapıldı. BioSpec-nano [Shimadzu] cihazının ölçüm alanına 1 µl RNA konularak RNA miktarı ng/µl olarak ölçüldü. Bu işlem her bir örnek için tekrarlandı. cDNA sentezi için RNA miktarlarının eşitlenmesi amacıyla okunan en düşük RNA değeri standart alındı.

3.6. Komplementer DNA [cDNA] Sentezi

3.6.1. Kullanılan Çözeltiler ve Gereçler

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

PCR Cihazı

500/1500 µl Ependorf Tüp

Nükleaz İçermeyen Steril Su

3.6.2. Komplementer DNA Sentezi

cDNA sentezi için RNA örneklerinden 10 µl kullanılarak cDNA sentezi toplam 20µl hacim üzerinden gerçekleştirildi. Sentez için 10µl RNA örneği, 2 µl 10XRT buffer, 2 µl 10XRT random primer, 0.8 µl 25XdNTP mix, 4.2 µl nükleaz içermeyen su ve en son olarak 1µl MultiScribe™Reverse Transcriptase enzimi kullanıldı [Tablo 5]. 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 [Tablo 6]. Oluşan cDNA örnekleri -80°C’de saklandı.

Tablo 5. 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 H ₂ O	4.2	
Reaksiyon toplamı	10.0	

Tablo 6. 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	∞

3.7. 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-PCR] ile amplifiye edildi. Genlerin ifadelerinin belirlenmesi için tabloda verilen primerler kullanıldı. Gliseraldehit 3-fosfat dehidrogenaz [GAPDH [Qiagen [Kat. No: OT00079247]], Realtimeprimers Gen Panelinde yer alan TRPC1, TRPC3, TRPC4, TRPC5, TRPC6, TRPC7, TRPV2, TRPV3, TRPV4, TRPA1, TRPV5, Ca_v3.1, Ca_v3.2, Ca_v3.3, ClC-3, K_v1.3, K_v1.4, K_v1.6, K_v4.3, K_v11.1, K_{Ca}3.1, K_{Ca}1.1, TASK-3[KCNK9] genlerinin ekspresyonları belirlendi. Gen ekspresyonları arasındaki farklılıkların hesaplanmasında $2^{-\Delta\Delta CT}$ metodu kullanıldı.

Real Time PCR 3 tekrarlı olarak gerçekleştirildi. RT-PCR Plate hazırlanırken cDNA örneklerinde her bir kuyucuğa 0,5µl kondu. Her bir örnek için 1 µl qPCR mix, 0,5 µl primer ve 3 µl DNAaz ve RNAaz içermeyen steril su olacak şekilde örnek sayısına göre hesaplanan bileşen miktarları ependorflara kondu ve vortekslendi [Tablo 7]. Pleytteki cDNA örneklerinin üzerine 4,5 µl hazırlanan karışımdan bırakılarak pleytin üzeri optik yapıştırıcı filmle kapatıldı. Pleyt örneklerin tamamen dibe çökmesi ve oluşan kabarcıkların yok edilmesi amacıyla Mini plate spin cihazında 1 dakika santrifüj edildi.

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

Bileşikler	Hacim[µl]X Örnek Sayısı
cDNA	0,5
Primer	0,5
qPCR Mix	1
Nükleaz içermeyen H ₂ O	3
Toplam	5

Gen ekspresyon seviyeleri, Applied Biosystems 7500 Real-Time PCR sistemi ile ölçüldü. Çalışmada GAPDH kontrol gen [housekeeping] olarak kullanıldı. Isı koşulları 1 kez 95 °C'de, 15 dk ve 40 kez 95 °C'de 15 sn, 60 °C'de 30 sn, 72 °C'de 30 sn olacak şekilde ayarlandı [Tablo 8].

Tablo 8. Uygulanan RT-PCR programı

Döngü Basamağı	Sıcaklık	Zaman	Döngü Sayısı
Başlangıç aktivasyonu	95°C	15 dk	1
Denatürasyon	95°C	15 sn	
Annealing	60°C	30 sn	40
Uzama	72°C	30 dk	

3.8. İstatistiksel Değerlendirme

Bu tez çalışmasında istatistiksel değerlendirme; Fırat Üniversitesi Lisanslı [193.255.124.131] IBM SPSS 22.0 paket program kullanılarak yapılmıştır. Hasta ve tümör özellikleriyle, ilgili gen ekspresyon pozitifliği arasındaki korelasyonun belirlenmesi için çift yönlü “Fisher testi” kullanılmıştır. Normal ve tümörlü dokulardaki ilgili gen ifadelerinin

belirlenmesi için “Spearman Korelasyon testi”, normal ve tümörlü dokulardaki ilgili gen ifade pozitifliklerinin karşılaştırılması için “ki kare analizleri” kullanıldı. $p<0,05$ değeri istatistiksel açıdan anlamlı kabul edildi.



4. BULGULAR

Çalışmaya dâhil edilen hastaların tanı, gleason skor ve TNM evreleri **tablo 9 ve 10'** da özetlenmiştir.

Tablo 9. Tanıya göre yaş ortalaması

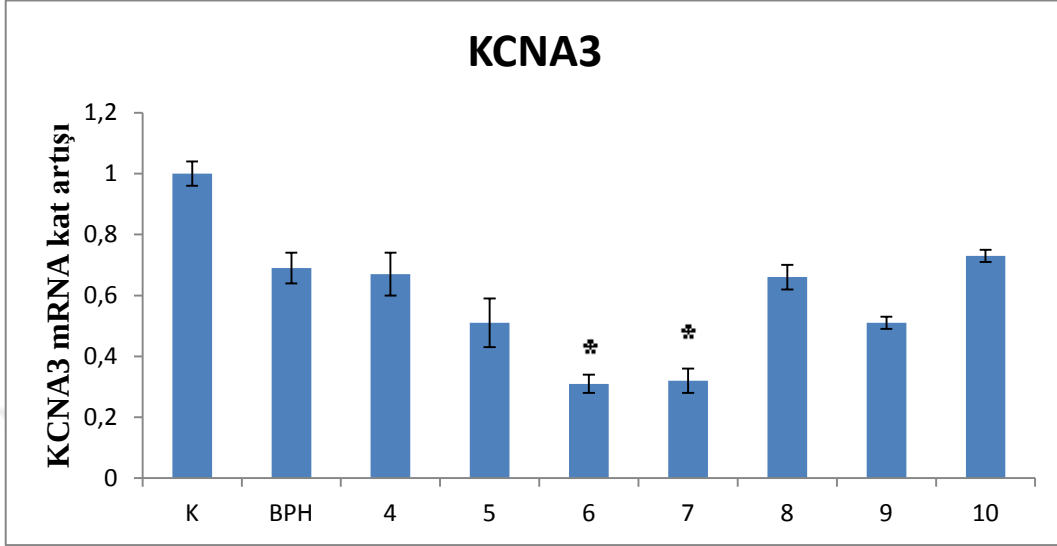
TANI	YAŞ ORTALAMASI
Gleason skor >7	69,4
Gleason skor 7 ve 7 >	72,8
BPH	71,6

Tablo 10. TNM evrelerine göre hasta dağılımı

TNM	ORTALAMA
pT2c	%12
T2cNxMx	%36
pT3a	%6
pT3b	%8
pT3aNxMx	%22
pT4NxMx	%16

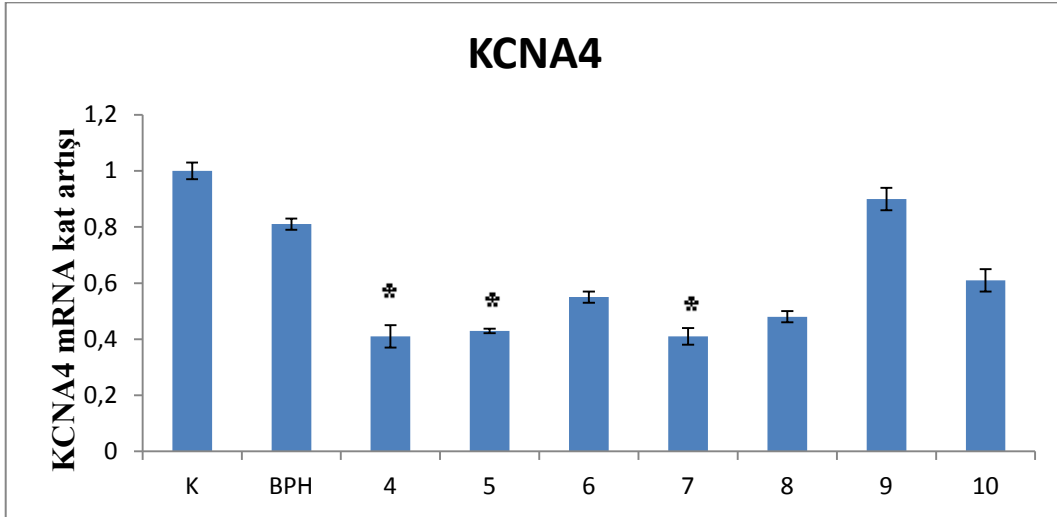
* tüm gruplarla kontrol grubunun $p<0,5$ anlamlılığını, ** tüm gruplarla kontrol grubunun $p<0,1$ anlamlılığını ve *** tüm gruplarla kontrol grubunun $p<0,01$ anlamlılığını göstermektedir.

RT-PCR tekniği kullanılarak yapılan alışmamızda KCNA3 gen ifadesinin kanser dokularında gleason skor 6 ve 7'deki anlamlı azalma dışında diğer gruplarda anlamlı bir değişiklik olmadığı tespit edildi [şekil 5].



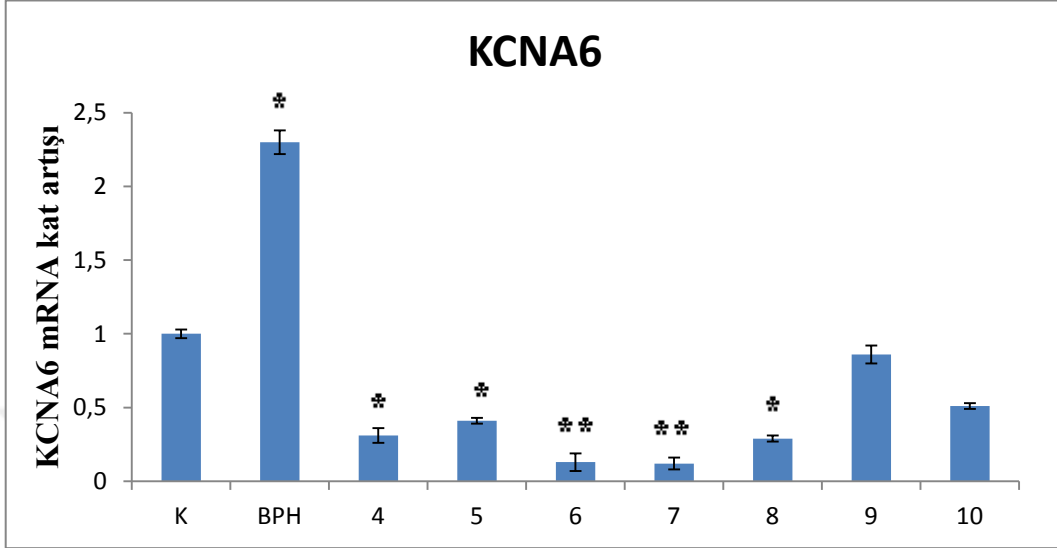
şekil 5. KCNA3 mRNA ifadesi RT-PCR grafiği

RT-PCR tekniği kullanılarak yapılan alışmamızda KCNA4 gen mRNA ifadesinin tüm kanser dokularında kontrole karşılaştırıldığında anlamlı bir farklılık olmadığı görüldü [şekil 6].



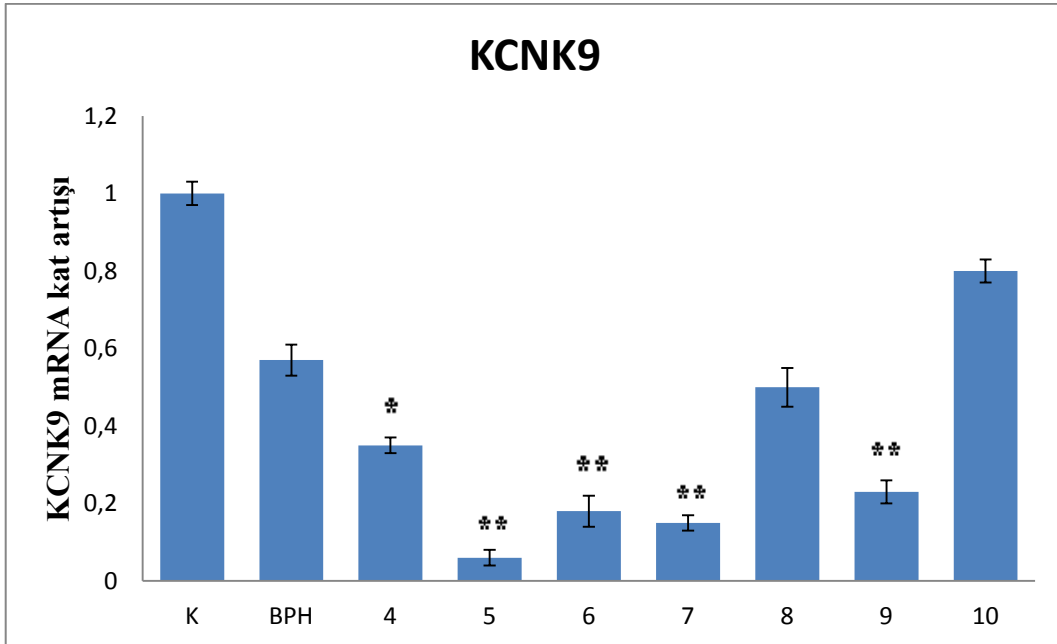
şekil 6. KCNA4 mRNA ifadesi RT-PCR grafiği

RT-PCR tekniği kullanılarak yapılan alışmamızda KCNA6 gen mRNA ifadesinin kontrolle karşılaştırıldığında BPH dışında tüm kanser dokularında anlamlı bir azalma olduğu bulundu [şekil 7].



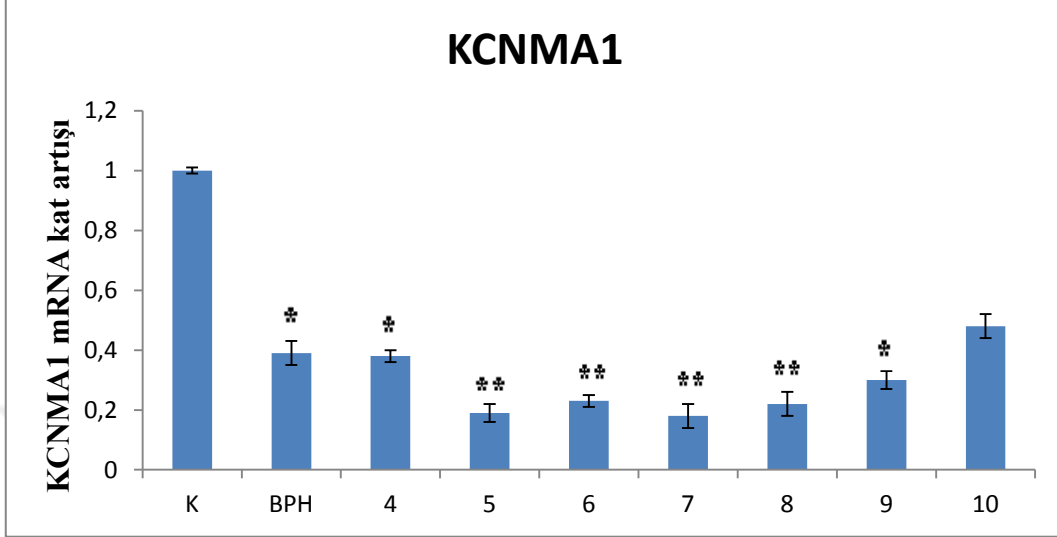
şekil 7. KCNA6 mRNA ifadesi RT-PCR grafiği

RT-PCR tekniği kullanılarak yapılan alışmamızda KCNK9 gen mRNA ifadesinin kontrolle karşılaştırıldığında tüm kanser dokularında anlamlı bir azalmaya sahip olduğu saptandı [şekil 8].



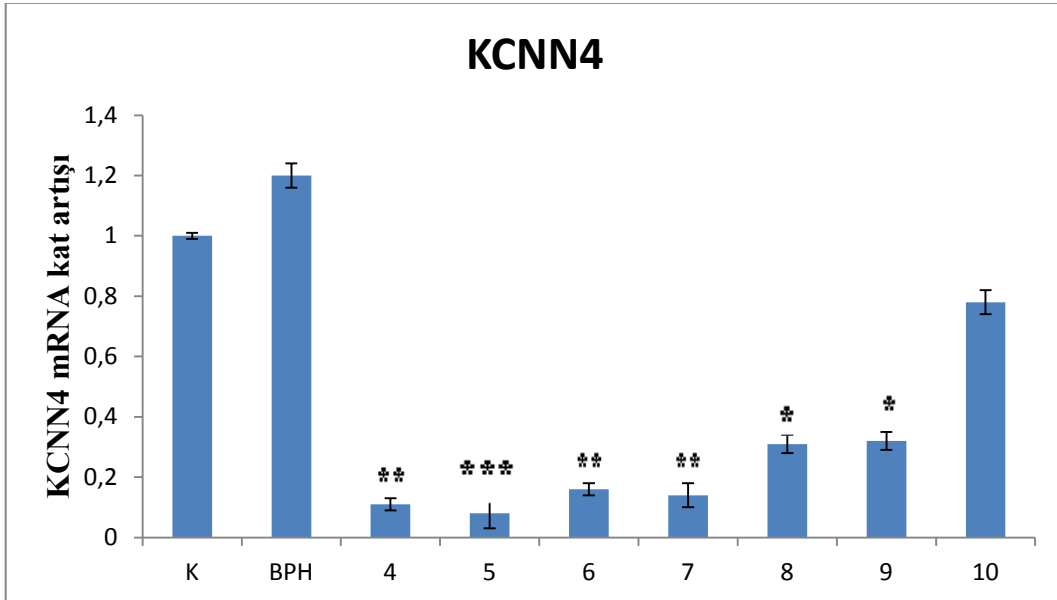
şekil 8. KCNA9 mRNA ifadesi RT-PCR grafiği

RT-PCR tekniği kullanılarak yapılan alışmamızda KCNMA1 gen mRNA ifadesinin kontrolle karşılaştırıldığında tüm kanser dokularında anlamlı bir azalma gösterdiği tespit edildi [şekil 9].



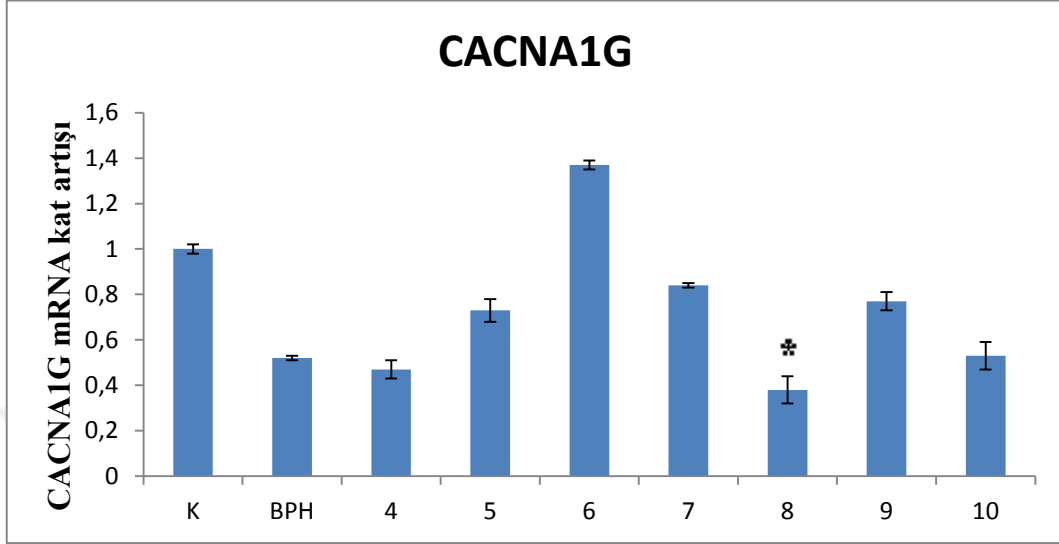
şekil 9. KCNMA1 mRNA ifadesi RT-PCR grafiği

RT-PCR tekniği kullanılarak yapılan alışmamızda KCNN4 gen mRNA ifadesinin kontrolle karşılaştırıldığında prostat kanser hücrelerinde anlamlı düzeyde azaldığı ortaya kondu [şekil 10].



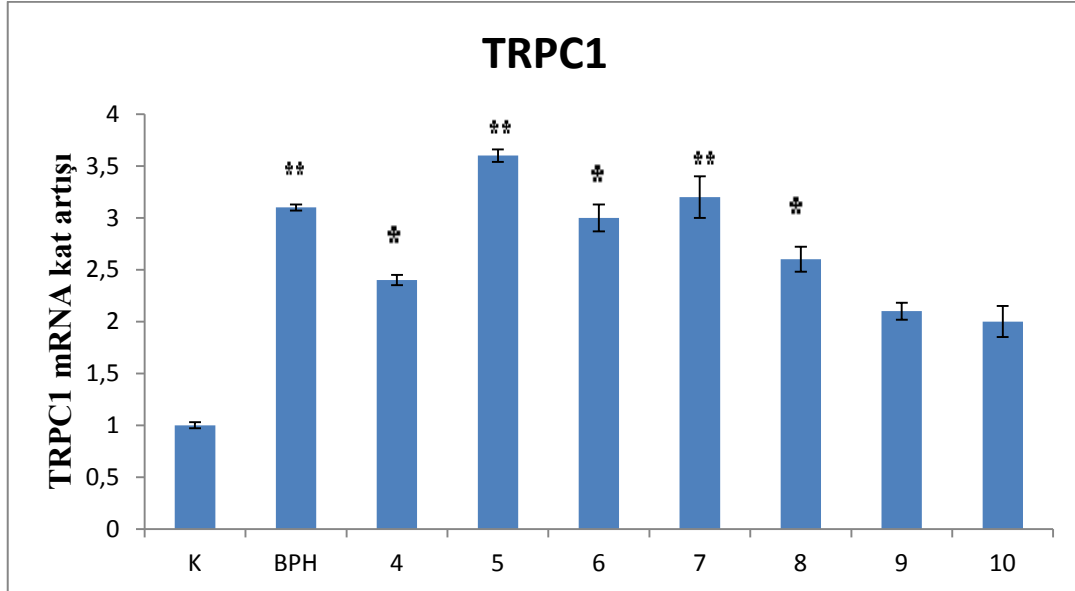
şekil 10. KCNN4 mRNA ifadesi RT-PCR grafiği

RT-PCR tekniği kullanılarak yapılan alışmamızda CACNA1G gen mRNA ifadesinin kontrolle karşılaştırıldığında prostat kanserli dokularda anlamlı bir farklılık olmadığı belirlendi [şekil 11].



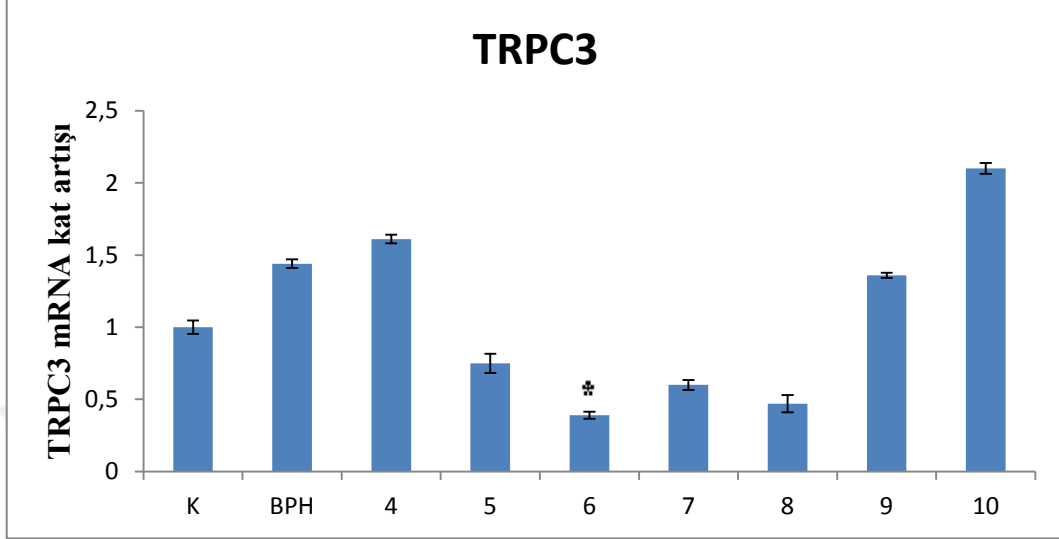
şekil 11. CACNA1G mRNA ifadesi RT-PCR grafiği

RT-PCR tekniği kullanılarak yapılan alışmamızda; TRPC1 gen mRNA ifadesinin kontrolle karşılaştırıldığında prostat kanser hücrelerinde anlamlı düzeyde arttığı saptandı [şekil 12].



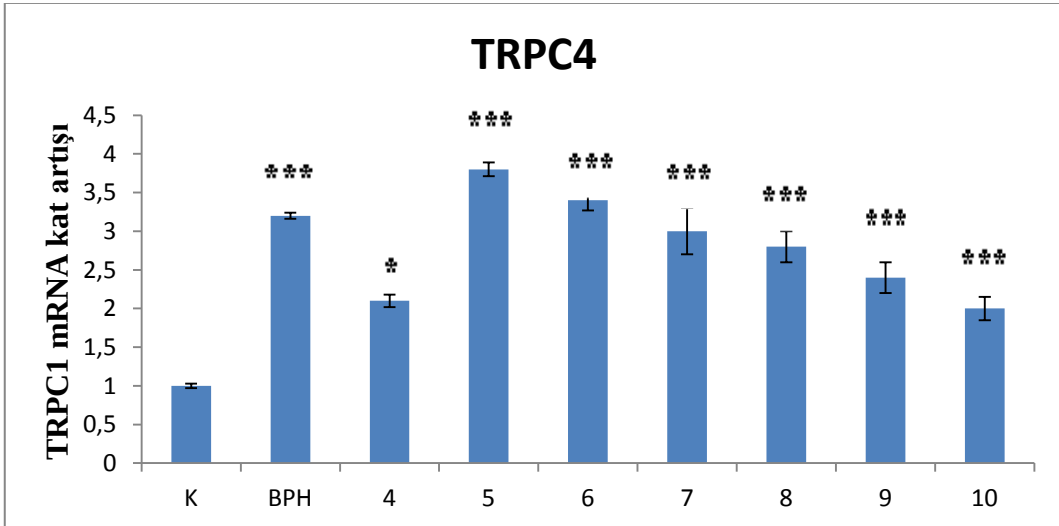
şekil 12. TRPC1 mRNA ifadesi RT-PCR grafiği

RT-PCR tekniği kullanılarak yapılan alışmamızda TRPC3 gen mRNA ifadesinin kontrolle karşılaştırıldığında prostat kanserli dokularda yalnızca gleason skor 10’da anlamlı bir artışa sahip olduğu bulundu [şekil 13].



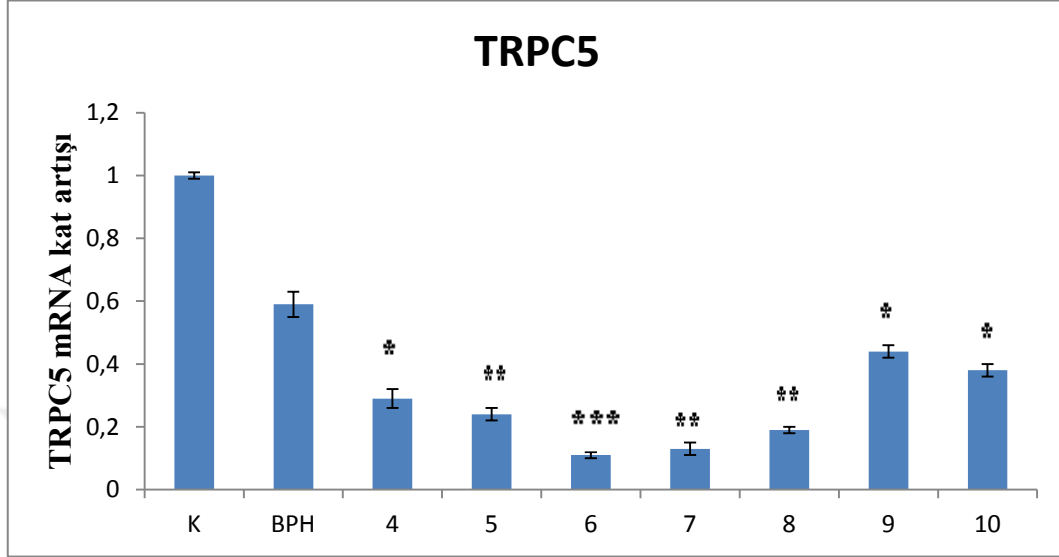
şekil 13. TRPC3 mRNA ifadesi RT-PCR grafiği

RT-PCR tekniği kullanılarak yapılan alışmamızda; TRPC4 gen mRNA ifadesinin kontrolle karşılaştırıldığında prostat kanser hücrelerinde anlamlı düzeyde arttığı tespit edildi [şekil 14].



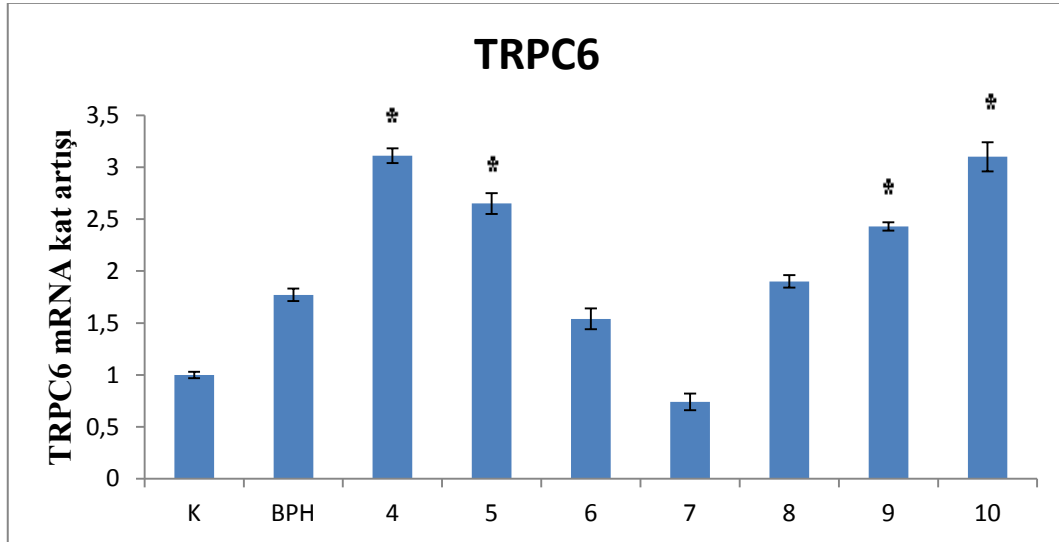
şekil 14. TRPC4 mRNA ifadesi RT-PCR grafiği

RT-PCR tekniği kullanılarak yapılan alışmamızda; TRPC5 gen mRNA ifadesinin kontrolle karşılaştırıldığında tüm prostat kanser hücrelerinde anlamlı düzeyde azalmaya sahip olduğu saptandı [şekil 15].



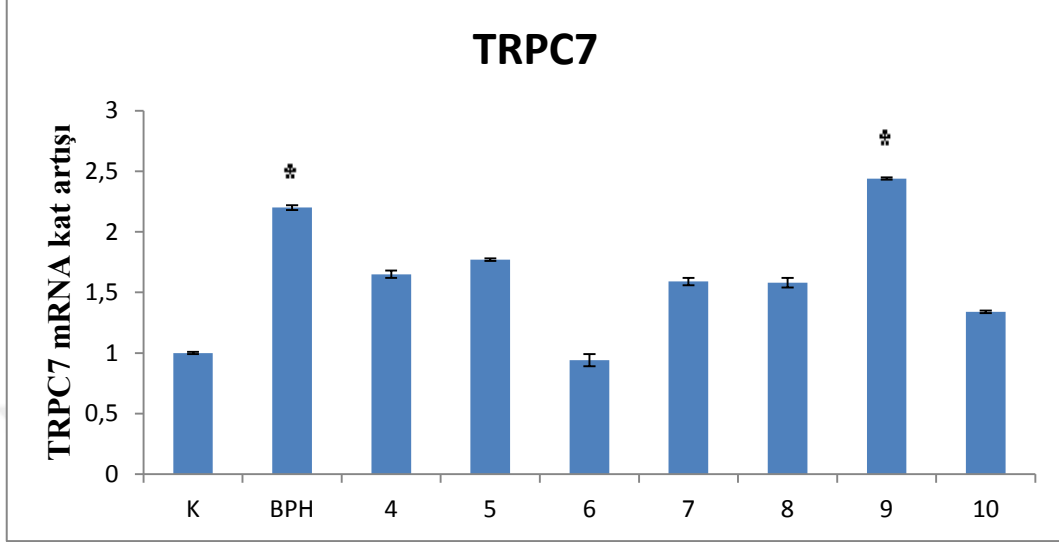
şekil 15. TRPC5 mRNA ifadesi RT-PCR grafiği

RT-PCR tekniği kullanılarak yapılan alışmamızda; TRPC6 gen mRNA ifadesinin kontrolle karşılaştırıldığında prostat kanser hücrelerinde anlamlı düzeyde arttığı belirlendi [şekil 16].



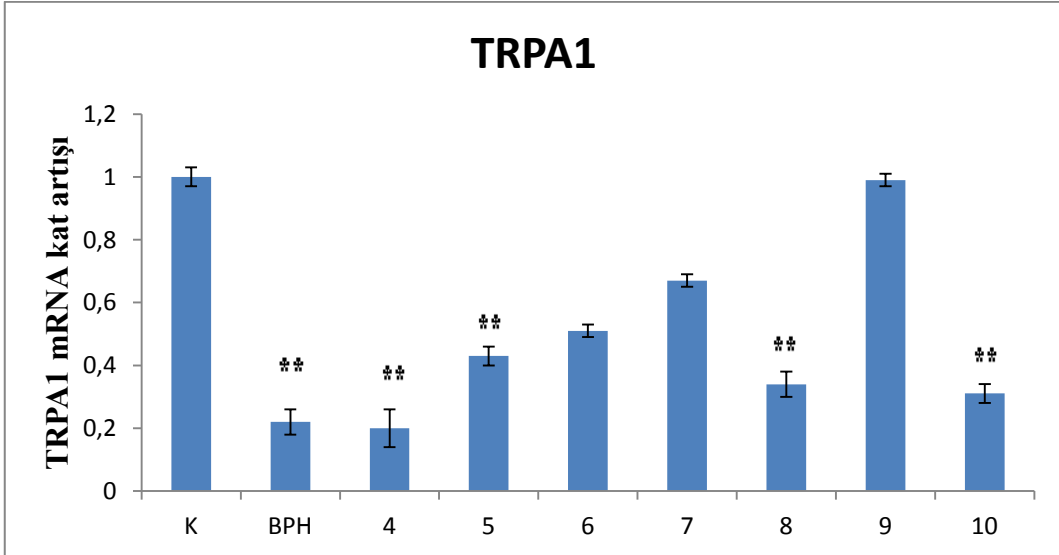
şekil 16. TRPC6 mRNA ifadesi RT-PCR grafiği

RT-PCR tekniği kullanılarak yapılan alışmamızda; TRPC7 gen mRNA ifadesinin kontrolle karşılaştırıldığında prostat kanser hücrelerinde anlamlı bir farklılık olmadığı tespit edildi [şekil 17].



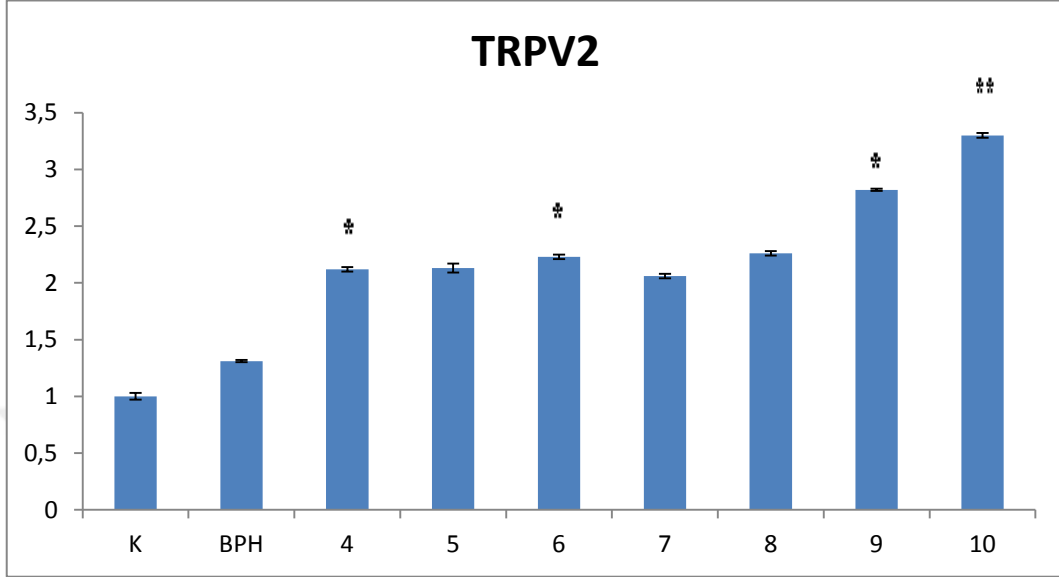
şekil 17. TRPC7 mRNA ifadesi RT-PCR grafiği

RT-PCR tekniği kullanılarak yapılan alışmamızda; TRPA1 gen mRNA ifadesinin kontrolle karşılaştırıldığında prostat kanser hücrelerinde anlamlı düzeyde azaldığı saptandı [şekil 18].



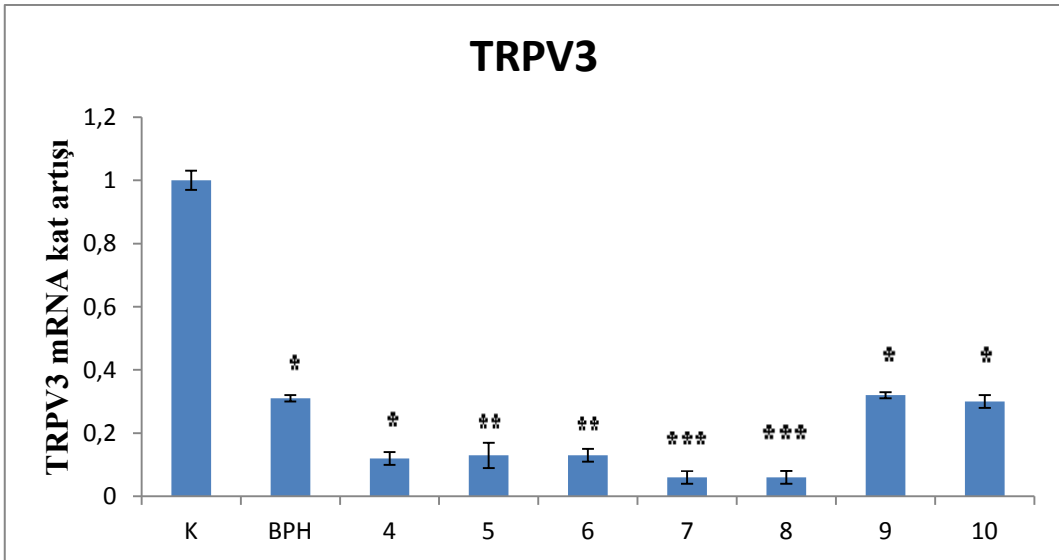
şekil 18. TRPA1 mRNA ifadesi RT-PCR grafiği

RT-PCR tekniği kullanılarak yapılan alışmamızda; TRPV2 gen mRNA ifadesinin kontrolle karşılaştırıldığında prostat kanser hücrelerinde anlamlı düzeyde arttığı bulundu [şekil 19].



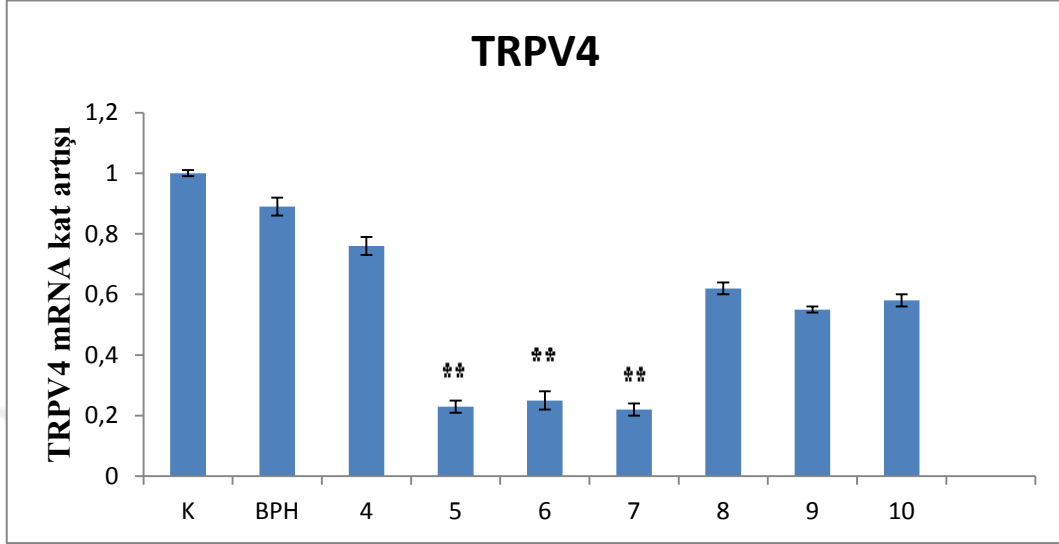
şekil 19. TRPV2 mRNA ifadesi RT-PCR grafiği

RT-PCR tekniği kullanılarak yapılan alışmamızda; TRPV3 gen mRNA ifadesinin kontrolle karşılaştırıldığında prostat kanser hücrelerinde anlamlı düzeyde azaldığı görüldü [şekil 20].



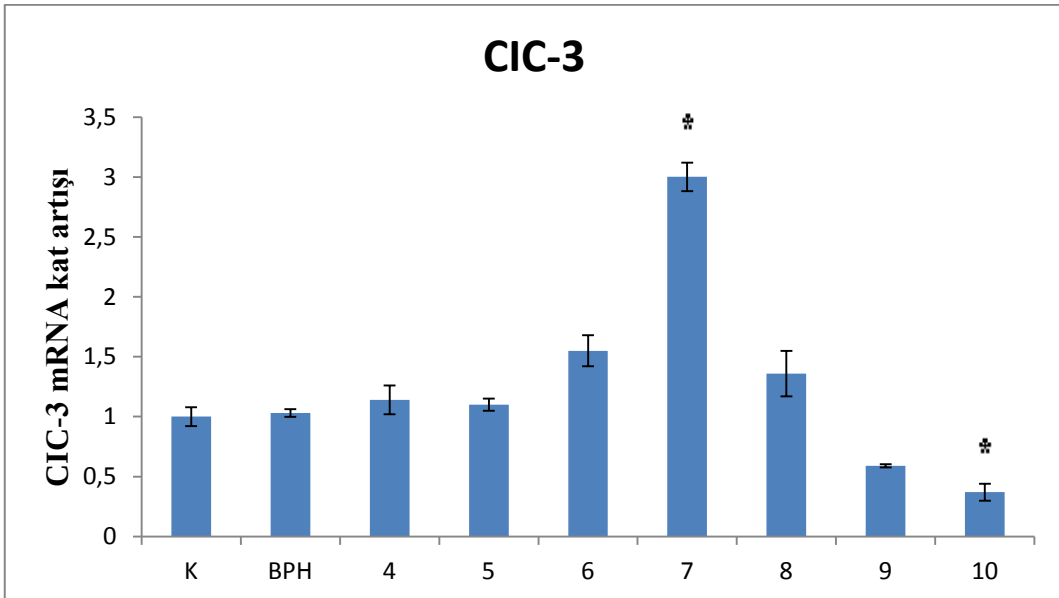
şekil 20. TRPV3 mRNA ifadesi RT-PCR grafiği

RT-PCR tekniği kullanılarak yapılan alışmamızda; TRPV4 gen mRNA ifadesinin kontrolle karşılaştırıldığında prostat kanser hücrelerinde anlamlı düzeyde azalma tespit edildi [şekil 21].



şekil 21. TRPV4 mRNA ifadesi RT-PCR grafiği

RT-PCR tekniği kullanılarak yapılan alışmamızda; CIC-3 gen mRNA ifadesinin kontrolle karşılaştırıldığında gleason skor 7’de anlamlı bir artış ve gleason skor 10’da ise ciddi bir azalma olduğu belirlendi [şekil 22].



şekil 22. CIC-3 mRNA ifadesi RT-PCR grafiği

5. TARTIŞMA

Sitoplazmik kalsiyum konsantrasyonlarının sıkı kontrolü hücre yaşamı ve normal hücre fonksiyonları için temeldir. Hücreler dinlenme safhasında 100 nM 'lık düşük düzeyde sitoplazmik Ca sahiplerdir. Membran iyon kanalları, taşıyıcıları, sitoplazmik Ca tamponları ve Ca tamponlayan organeller, Ca akışı depolanması sitoplazmik Ca konsantrasyonlarının korunmasını düzenler. Sitoplazmik Ca kontrolü metabolizma, bölünme, ölüm, gen transkripsiyonu, göç, egzozitoz ve kontraksiyon gibi hücresel süreçleri düzenlemektedir. TRP kanalları içerisinde yer alan TRPM 4 ve 5 hariç diğer tüm kanallar Ca'uda içeren katyonlara geçirgendirler. Bu kanallar çeşitli uyarılarla aktive olabilmektedirler. Bu uyarılar içerisinde intra ve ekstrasellüler habercilerin bağlanması, sıcaklık değişimi, kimyasal ajanlar, mekanik uyarılar ve osmotik stres sayılabilir.

Tüm memeli TRPC kanalları seçici olmayan Ca geçirgen katyon kanallarıdır. Ekstrasellüler ligandlar tarafından transmembran reseptörlerin aktivasyonu fosfolipaz-C 'yi uyararak ve di-açilgliserol üretimini sağlayarak TRPC bağımlı akımını ve Ca girişini aktive eder. Son zamanlarda yapılan çalışmalar TRPC kanallarının bazal Ca girişinde bir role sahip olabileceğini göstermiştir [121]. TRPC1 ve 4 kanallarının ATP-uyarımli ve SOCE yoluyla Ca girişinde görevli olduğu bulunmuştur. TRPC6'nın SOCE bağımsız yollarlada aktive olduğu belirlenmiştir [122].

Çalışmamızda TRPC 1-7 kanallarının tümü değerlendirilmiştir. İncelediğimiz kanallar içerisinde TRPC1, 3, 4 ve 6 kanallarının mRNA ifadelerinde anlamlı artışlar tespit ettik. Anlamlı azalma sadece TRPC5 kanalında belirlendi. TRPC7 kanalında ise anlamlı bir değişim bulunmadı.

Riccio ve arkadaşları TRPC1, 4, 5, 6 ve 7 mRNA larının normal insan prostat dokularında tespit etmiştir. TRPC kanalları yoluyla Ca'un hücreye store-operated girişinin apoptozisi arttırdığı belirlenmiştir. Yine proapoptotik bir ajan olan thapsigargin [TG]'nin prostat kanser hücre hatlarında TRPC1, 3 ve 6 'nın ifadesini mRNA ve protein düzeyinde arttırdığı belirlenmiştir. Bu belirli TRP kanallarının aşırı ifadesinin apoptotik süreçleri hızlandırdığını göstermektedir. Özellikle TRPC1, 2, 3 ve 4'ün store-operated Ca girişinde görevli oldukları belirlenmiştir [123].

Verbe ve arkadaşları normal prostat dokularında, prostatik intraepitalyal neoplazi [PIN] ve prostat kanseri dokularında yaptıkları çalışmada TRPC1 ve 4'ün mRNA ekspresyonun normal dokularla kıyaslandığında prostat kanserinde arttığını

göstermişlerdir. TRPC1'in aynı zamanda PIN'lerin erken safhalarında arttığı belirlenmiştir. Bizde çalışmamızda benzer şekilde TRPC1 ve 4'ün mRNA ifadesinde kontrolle karşılaştırıldığında kanser dokularında anlamlı artış olduğunu belirledik [124].

Dan Yue ve arkadaşları benign ve malign insan prostat dokularında ve prostat kanser hücre hatlarında TRPC6 ifadesini araştırmışlardır. TRPC6'nın daha yüksek dereceli tümörlerde daha yüksek düzeyde ifade olduğunu belirlemişlerdir. Yine TRPC6'nın prostat kanser hücre hatlarında da ifade olduğunu belirlemişlerdir. TRPC6'nın androjene duyarlı priostat kanser epitelyal hücrelerinde proliferasyona katkıda bulunduğu belirlenmiştir. TRPC6 Ca seçici bir katyon kanalıdır [125].

Wang ve arkadaşları hepatosit büyüme faktörünün [HGF] DU145 ve PC3 hücre proliferasyonunda etkili olduğunu belirlemişlerdir. HGF'nin prostat kanser hücre proliferasyonunu artırmada TRPC6 kanallarının aracılık ettiğini göstermişlerdir. Yine aynı çalışmada TRPC6 kanallarının inhibisyonunun HGF'nin uyardığı hücre bölünmesini baskıladığını ve bölünmenin G₂/M fazında durduğunu bulmuşlardır.

Ca zengin diyetlerin prostat kanser riskini arttırdığı belirtilmektedir. Farelerde yapılan bir çalışmada prostat tümörögenезisinin yüksek Ca diyetiyle hızlandığı belirlenmiştir. Diyetle beraber alınan vitamin D'nin Ca'un başlattığı tümörojenik etkileri durdurduğu gösterilmiştir. Ekstrasellüler Ca ile PC3 hücrelerinin uyarılması hücre proliferasyon oranında store-operated Ca giriş [SOCE] amplitudünde katyonik kanal TRPC6'da, Ca duyarlı reseptör [CaSR] ifadesinde bir artışa neden olmuştur. Aktif vitamin D alınınının tüm bu etkileri düzettiği belirlenmiştir. Ca uyarılmış PC3 hücrelerinde CaSR veya TRPC6 ifadesinin susturulması hücre bölünmesi ve SOCE'yi azaltmaktadır [126].

TRPC5 store-operated mekanizmayla aktive olmaktadır. Büyüme faktörleri, stres, lizofosfolipidler, NO [nitrik oksit] gibi fizyolojik uyarılara cevapta aktive olan Ca yollarında TRPC5 aktif olarak rol almaktadır. Kanalin damar oluşumunda da görevi olduğu belirtilmektedir. Wang ve arkadaşlarının kolorektal kanserlerle ilgili yaptıkları çalışmalarda TRPC5/GLUT1 artmış ifadesinin kemoterapiye direnç neden olduğunu belirtmişlerdir. Prostat kanserlerinde TRPC5 ifadesinin değerlendirildiği çalışmalara rastlanmamıştır. Çalışmamızda TRPC5 ifadesinin anlamlı derecede azaldığı belirlenmiştir. Özellikle TRPC1, 3, 4 ve 6 kanallarındaki ifade artışının proliferasyonu artırarak prostat kanser gelişimine katkıda bulunduğunu düşünmekteyiz.

TRPA1 bir kemoosensör olarak kabul edilmektedir ve ağrı ilişkili TRP kanalopatilerinde gösterilmiştir. TRPA1 saç, deri ve nöron hücrelerinde ifade olmaktadır.

Bununla birlikte gut ve damarlarda da ifade olduğu belirlenmiştir. TRPA1 şu ana kadar kanserle doğrudan ilişkilendirilmemiştir. Ancak kolon kanseriyle ilişkili olduğu bilinen barsak inflamasyonunda görev aldığı ortaya konmuştur. TRPA1 antagonistinin deneysel kolitleri iyileştirdiği ve inflame gutta ifadesinin arttığı belirlenmiştir. Antagonisti olan HC-030031 tarafından TRPA1 blokajının kemoterapinin indüklediği periferik nöropatiyi engellediği tespit edilmiştir. Buna karşın izotiyosonat gibi TRPA1 inhale aktivatörlerinin insan küçük hücreli akciğer kanserlerinin hücre yaşamı ve bölünmesini uyardığı gösterilmiştir [127].

Prostat kanserinde TRPA1'in ifadesinin değerlendirildiği sınırlı sayıda çalışma mevcuttur. Çevresel bir kirlenici olan Triclosan [TCS]'nin kültüre alınmış insan prostat kanser stromal hücrelerinde TRPA1'i aktive ettiği gösterilmiştir. TCS uyarılmış TRPA1 aktivasyonu stromal hücrelerde bazal Ca arttırmaktadır. Vasküler endotelial büyüme faktör sekresyonunu uyarmakta ve epitelium hücre bölünmesini arttırmaktadır. Ayrıca TRPA1'nin formalinle fiske edilip parafine gömülmüş prostat dokularında immün foleks olarak sadece prostat kanser stromal hücrelerinde ifade olduğu belirlenmiştir [128].

Vancauwenberghe ve arkadaşları Resveratrovun [RES] insan prostat kanser ilişkili fibroblastlarda neden olduğu kanser hücre apoptozisinin TRPA1 kanal inhibitörlerinin varlığında %40 oranında azaldığını göstermişlerdir. Çalışmamızda TRPA1'in kontrolle karşılaştırıldığında tüm kanser gruplarında anlamlı düzeyde azaldığı belirlenmiştir. TRPA1 azalmasının apoptozise direnç oluşumunu sağlayarak prostat karsinogenezine katkıda bulunduğunu düşünmekteyiz.

Çalışmamızda TRPV ailesinin üyeleri [2, 3, 4 ve 5] değerlendirilmiştir. Bu kanallar içerisinde kontrolle karşılaştırıldığında prostat kanser dokularında TRPV3 ve 4 mRNA ifadelerinde anlamlı azalma ve TRPV2 mRNA ifadesinde ise anlamlı bir artış tespit edildi.

Bu ailenin TRPV1-6 olmak üzere altı üyesi vardır. Dizi benzerliklerine ve Ca seçiciliklerine göre iki aileye ayrılırlar. Bu aileler V1/V2/V3/V4 ve V5/V6'dır. TRPV1-4 subgrubu düşük düzeyde Ca seçiciliğine sahiptir ve yüksek ısıya oldukça duyarlıdır. Aynı zamanda Termo-TRP kanalları olarak da adlandırılmaktadırlar. TRPV kanallarının rolü genel olarak ağrı ile ilişki olarak çalışılmıştır. TRPV1 ve 3 antagonistleri analjezik hedefler olarak klinik tedavilerde kullanılmaktadır. TRPV5 ve 6 kanalları yüksek Ca seçiciliklerine sahip olup ısıya duyarlı değildirler. TRPV2 aktivasyonunun hücre apoptozisine neden olduğu belirlenmiştir [129].

TRPV2 hücre membran gerilmelerine ve osmolarite değişimlerine cevapta görevli bir kanaldır. TRPV2'nin büyüme faktörleri tarafından uyarıldığı rapor edilmiştir. Gen ifadesinin normal meme dokularıyla kıyaslandığında meme tümör örneklerinde arttığı belirlenmiştir [130]. TRPV2 transkript düzeylerinin primer solid tümörlerle karşılaştırıldığında metastazik prostat kanserlerinde daha yüksek düzeyde olduğu bulunmuştur. Androjen bağımlı LNCaP hücrelerinde TRPV2 over ekspresyonun matriksmetanoproteinaz-9 ve katepsin-B gibi invazyon markerlerinin ifadesini arttırarak hücre göçüne neden olduğu ortaya konmuştur. Mevcut çalışmada TRPV2 kanser dokularında artmış bir ifadeye sahip olduğu belirlenmiştir. TRPV2'nin bazal intrasellüler Ca düzeylerini etkileyerek kanser hücresi agresifliğini etkileyebileceği ve invazyonunu arttırarak karsinogeneze katkıda bulunabileceği düşünülmektedir [131].

Kastrasyona dirençli C4-2B androjen bağımlı LNCaP hücre hatlarında dehidrotestosteron TRPV3 gen ifadesini anlamlı olarak arttırmaktadır [132]. Ancak biz çalışmamızda TRPV3 kanalında kontrole göre kanser örneklerinde anlamlı düzeyde azalma tespit ettik. Prostat kanserinde TRPV kanal ifadelerinin değerlendirildiği çalışma bulunmamaktadır ancak kolorektal kanserlerde yapılan bir çalışmada kontrole kıyaslandığında tümör örneklerinde TRPV3 ve 4 iyon kanal ifadelerinin anlamlı düzeyde azaldığı belirlenmiştir [133]. Bizde benzer şekilde kontrol örnekleriyle karşılaştırdığımızda TRPV3 ve 4'ün mRNA ekspresyonunda anlamlı düzeyde azalma tespit ettik.

Memelilerde T tipi Ca kanallarının por oluşturan α -1 subüniti üç farklı gen tarafından kodlanmaktadır. Bunlar Cav3.1 [CACNA1G], Cav3.2 [CACNA1H] ve Cav3.3 [CACNA1I]'dir. T tipi Ca kanalları subeşik membran depolarizasyonlarına cevapta hızlıca inaktive olan akımlar meydana getirirler ve intrasellüler Ca konsantrasyonlarını arttırırlar. Farklı alt ünite bileşenleri ve alternatif kırılma farklı hücre populasyonlarında fonksiyonel T tipi Ca kanallarının çeşitliliğini sağlamaktadır. Voltaj bağımlı Ca kanalları yoluyla Ca akışı nörosekresyon, hücre bölünmesi ve farklılaşmayı içeren hücre fonksiyonlarını düzenlemektedir [134]. Weaver ve arkadaşları yaptıkları çalışmada LNCaP hücre hatlarının İnterlökin-6 ile dört günlük muamelesinin Cav3.2 kanalının transkriptlerini arttırdığını belirlemişlerdir. Bu artışın Cav3.1 ve Cav3.3'te olmadığını göstermişlerdir. Çalışmamızda CACNA1I ve CACNA1H ifadesi tespit edilememiştir. CACNA1G ifadesi açısından kontrole karşılaştırıldığında prostat kanserli dokularda anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir. Şu ana kadar Cav3.2 ifadesinin prostat kanserli dokularda

değerlendirildiği çalışmalara rastlanmamıştır. Bu iyon kanalının kanser gelişimine önemli katkılar sağlamadığı ön görülmektedir.

Potasyum kanallarının onkogenez sürecinde çeşitli roller oynadıkları bilinmektedir. BK kanal aktivasyonunun tümör hücre bölünmesinin sürdürülmesine yardımcı olduğu ifade edilmektedir. Daha önce yapılan çalışmalarda K kanallarının prostat kanser hücre bölünmesinde rolü olduğu ifade edilmiştir.

Bloch ve arkadaşlarının Floreasan İn-Situ Hibridizasyon [FISH] yöntemiyle ileri dereceli insan prostat kanserlerinin %16'sında KCNMA1 geninin amplifiye olduğunu göstermişlerdir. Bu amplifikasyon benign kontrollerde, prekürsör lezyonlarda ve organ sınırlı prostat kanserlerinde tespit edilmemiştir. Amplifikasyonun mRNA ve protein artışıyla beraberlik gösterdiği amplifikasyonun görülmediği kontrol hücre hatlarıyla karşılaştırıldığında PC3- hücrelerinde BK kanal proteinin ve β -estradiol duyarsız BK akımında artış olduğu gösterilmiştir. BK kanallarının spesifik blokajının PC3 hücrelerinde K mevcudiyetini ve gelişimini inhibe ettiği gösterilmiştir. Ancak yapılan çalışmada tüm örneklerde mRNA ifadesi değerlendirilmemiştir sadece amplifikasyon gösterilmiştir. 17- β -estradiol'ün vasküler düz kas hücrelerinde β 1 düzenleyici subünite bağlanarak BK kanallarını aktive ettiği gösterilmiştir. Bu veri 17- β -estradiol'ün BK kanallarının aktivasyonu yoluyla prostat hücrelerinin gelişimini uyarabileceği fikrini desteklemektedir. 17- β -estradiol'ün büyümeyi uyarması BPH-1 ve LNCaP için ileri sürülebilir ancak PC3 hücrelerinde bu durum geçerli değildir. 17- β -estradiol BPH-1 ve LNCaP hücre hatlarında bulunan reseptörlere bağlanarak büyümeyi uyarabilir. BK kanallarının aktivasyonu KCNMA1 amplifikasyonunu veya aşırı ifadesinin yokluğunda prostat kanserinde 17- β -estradiol'ün majör hedefi olabilir. Biz çalışmamızda KCNMA1'in kontrolle karşılaştırıldığında tümör örneklerinde azalmış ifadesinin olduğunu tespit ettik. KCNMA1'in ifadesindeki artışın hücre siklus kontrolü, proliferasyon ve göç ile korele olduğu ifade edilmesine rağmen genin kontrol ettiği hücresel mekanizmalar hala tam olarak bilinmemektedir. BK kanalları işlevini yerine getirirken pek çok protein düzenleyici faktör ve ikincil mesaj yollarında görevli moleküllerle etkileşmektedirler [135]. KCNMA1 kanalının prostat kanser gelişimine katkısının tam olarak belirlenebilmesi için çok sayıda çalışmaya ihtiyaç vardır.

Kanser gelişimiyle ilişkilendirilmiş olan Kv kanalları içerisinde EAG1, KCNH1 ve Kv10.1 vardır. EAG1'in over ekspresyonunun kontrolsüz hücre bölünmesine neden olduğu ortaya konmuştur. Tümörlerin %70 inde EAG1 in over ekspresyonu tespit edilmiştir. EAG

kanallarına ilaveten Kv1.3 potasyum kanallarının meme kanser hücrelerinde ifade olduğu rapor edilmiştir. Kv 1.3'ün spesifik inhibitörlerinin A549 insan akciğer adenokarsinom hücre hattında hücre bölünmesini durdurduğu gösterilmiştir. Kv1.3'ün inhibisyonunun p21 'in ifadesini arttırdığı belirlenmiştir. Kv1.3 inhibitörlerinin farklı kanser hücre hatlarında apoptozisi de indüklediği bildirilmiştir. Kv1.3 ifadesinin kronik lenfositik lösemili hastaların B hücrelerinde anlamlı düzeyde arttığı gösterilmiştir [61]. Kv1.3, Kv1.4 ve Kv1.6 kanallarının insan prostat dokularında ifade olduğu bulunmuştur. Kv1.3'ün ise insan ve sıçan prostat dokusunda en çok sentezlenen K kanalı olduğu belirlenmiştir [14]. Ancak bu kanal ifadesinin prostat kanser dokularında kontrolle karşılaştırılarak değerlendirildiği çalışmalara rastlanmamıştır. Mevcut çalışmada Kv1.3'ün kanser dokularında gleason skor 6 ve 7'deki anlamlı azalma hariç anlamlı olarak değişmediği bulunmuştur.

Kv1.4 kanallarının ifadesinde kontrolle karşılaştırıldığında anlamlı bir farklılık bulunamamıştır. Kv1.6 kanallarında ise tüm kanser dokularında kontrole göre anlamlı azalma olduğu görülmüştür. Yukarıda adı geçen üç iyon kanalı invitro veya hasta örneklerinde değerlendirilmemiştir. Bu nedenle bu kanalların prostat kanserindeki rolleriyle ilgili yorum yapmak yada mekanizmalarla ilişkilendirmek oldukça güçtür. Ancak özellikle Kv1.6 kanalındaki anlamlı azalmanın karsinogeneze katkıda bulunabileceği muhtemeldir.

Kca3.1 natural-killer lenfositlerin kanser hücrelerini öldürmesinde önemli bir role sahiptir. Kca3.1'in spesifik inhibitörlerinin lösemik K562 hücrelerinin invivo tümör gelişimini azalttığı ve natural-killer hücrelerin proliferasyonunu ise arttırdığı gösterilmiştir. Çalışmamızda Kca3.1'de kontrolle karşılaştırıldığında tüm kanser gruplarında anlamlı azalma olduğu gösterilmiştir [61]. Kca3.1 meme kanserli hastalarda yüksek Kca3.1 mRNA ifadesinin kötü prognozla ilişkili olduğu belirlenmiştir [136]. Çalışmamızda Kca3.1'in kontrolle karşılaştırıldığında prostat kanser hücrelerinde anlamlı düzeyde azaldığı gösterilmiştir. Bu azalmanın prostat kanser gelişimine katkısının daha detaylı olarak araştırılması gerekmektedir.

Ca bağımlı K kanalları içerisinde yer alan TASK-3 iyon kanalı onkolojik hedef olarak tanımlanmıştır. Ancak TASK-3'ün spesifik farmakolojik hedeflenmesiyle ilgili in vivo deliller hala mevcut değildir. Ancak çalışmamızda ilginç şekilde TASK-3 ifadesinde kontrolle karşılaştırıldığında tüm kanser gruplarında anlamlı düzeyde azaldığı tespit edilmiştir.

K kanalları genel olarak değerlendirildiğinde özellikle Kv1.6, Kca3.1 v TASK-3'ün kanser dokularında ciddi düzeyde azalmasının prostat kanser gelişiminin önemli katkılar sağlayacağı muhtemeldir.

Hücre bölünmesi sırasında premitotik kondenzasyonun CIC-3 kanal fonksiyonuna bağlı olduğu gösterilmiştir [137]. Hücre hacim artışına cevapta klorid akımının aktivasyonu hipo-osmotik stresten sonra hücre volümünün kontrol altına alınması için majör mekanizmalardan birisidir. Normal dinlenme potansiyellerinde klor akımı intrasellüler Cl'un kaybına neden olur. Böylece intrasellüler osmolarite azalır. Bu süreç düzenleyici hacim azalması olarak bilinir. Ekstrasellüler osmotik değişimler hücre hacmindeki değişimlerin tek nedeni değildir. Sabit ekstrasellüler osmolarite aktif solüt alımı, hormonal aktivite, proliferasyon ve farklılaşma gibi süreçlerde Cl kanallarının aktivasyonunu içeren hücre volümünde ki değişikliklerle ilişkilidir. Bozulmuş veya değişmiş hücre volüm düzenlenmesi apoptozis ile ilişkilidir. Son zamanlarda apoptozise direnç ve intrasellüler Cl artışı yoluyla hücre volüm düzenleme kapasitesinin artışı arasında doğrudan bir bağlantı gösterilmiştir. Andorjen bağımlı prostat kanser epitelyal hücrelerin nöroendokrin farklılaşması intrasellüler Cl artışını, artmış hücre hacim düzenleme kapasitesini ve CIC-3 proteinin artmış ifadesini ortaya çıkartır [117]. Gleason skor 4-5-6 ve BPH CIC-3 düzeylerinin kontrolle karşılaştırıldığında anlamlı olarak artmadığı belirlenmiştir. İlginç şekilde gelason skor 7'de anlamlı bir artış belirlenmiş ve gelason skor 10'da ise ciddi bir azalma olduğu bulunmuştur. Buda prostat kanserinin ileri düzeyde farklılaşması sürecinde volüm düzenlenme mekanizmalarının bozulduğunu göstermektedir.

Çalışmamız pek çok açıdan ilk olma özelliğine sahiptir. Şu ana kadar iyon kanal ifadelerinin bu denli geniş kapsamlı araştırıldığı çalışmalara rastlanmamıştır. Çok az sayıda çalışma olduğu için çalışmamızın bulgularının yorumlanması güçleşmiştir. Ancak çalışmamızda bariz bir şekilde özellikle potasyum iyon kanlarında anlamlı azalmalar, kalsiyum kanalların da ise anlamlı artışlar ve incelenen tek klor kanalı olan CIC-3 kanalında ise değişimler olduğu gözlenmiştir. Bu bulgular prostat krsinogenezis sürecinde iyon kanal ifadelerindeki anlamlı değişimlerin önemli katkılar sağladığının en önemli göstergesidir. Hücrelerin transformasyon süreçlerinde özellikle çalışmamızda anlamlı değişim olduğu gözlemlenen tüm kanalların teker teker detaylı bir şekilde değerlendirilmesi gerekmektedir. Bu değerlendirmeler her bir kanalın karsinogenez sürecindeki rollerini ortaya koyacaktır.

KAYNAKLAR

1. Bostwick, D. G., Burke, H. B., Djakiew, D., Euling, S., Ho, S. M., Landolph, J., ... & Timms, B., 2004. Human prostate cancer risk factors. *Cancer*, 101(S10), 2371-2490.
2. Donovan, J. L., Kay, H. E., Peters, T. J., Abrams, P., Coast, J., MATOS- FERREIRA, A., ... & Barbalias, G., 1997. Using the ICSQoL to measure the impact of lower urinary tract symptoms on quality of life: Evidence from the ICS-‘BPH’ study. *BJU International*, 80(5), 712-721.
3. Aktas H., Cai H., Cooper G.M., 1997. Ras links growth factor signalling to the cell cycle machinery via regulation of cyclin D1 and the Cdk inhibitor 27KIP1. *Mol. Cell. Biol.*, 17 , pp. 3850-3857
4. Bratt, O., 2002. Hereditary prostate cancer: clinical aspects. *The Journal of urology*, 168(3), 906-913.
5. Campbell, T. M., Main, M. J., & Fitzgerald, E. M., 2013. Functional expression of the voltage-gated sodium channel, Nav1. 7, underlies epidermal growth factor-mediated invasion in human [R1. S1] non-small cell lung cancer cells. *J Cell Sci*, jcs-130013.
6. Tanagho EA, McAninch W., 1995.Smith Genel Üroloji. Kazancı G [Çeviri Editörü].Nobel Tıp Kitabevleri Ltd Şti, İstanbul.
7. Huggins C., 1945. The Physiology of the Prostate Gland. *Physiol. Rev.* 25: 281-295.
8. Ziparo, E., Petrungaro, S., Marini, E. S., Starace, D., Conti, S., Facchiano, A., ... & Giampietri, C., 2013. Autophagy in prostate cancer and androgen suppression therapy. *International journal of molecular sciences*, 14(6), 12090-12106.
9. Abbas, A., & Gupta, S., 2008. The role of histone deacetylases in prostate cancer. *Epigenetics*, 3(6), 300-309.
10. Steineck, G., Helgesen, F., Adolfsson, J., Dickman, P. W., Johansson, J. E., Norlén, B. J., & Holmberg, L. (2002). Quality of life after radical prostatectomy or watchful waiting. *New England Journal of Medicine*, 347(11), 790-796.
11. Kirby RS, McConnell JD., 1999. Benign Prostatic Hyperplasia. Health press, Oxford.

12. Badger, T. A., Segrin, C., Figueredo, A. J., Harrington, J., Sheppard, K., Passalacqua, S., ... & Bishop, M. (2011). Psychosocial interventions to improve quality of life in prostate cancer survivors and their intimate or family partners. *Quality of Life Research*, 20(6), 833-844.
13. Verhoeven, D. T., Goldbohm, R. A., van Poppel, G., Verhagen, H., & van den Brandt, P. A. (1996). Epidemiological studies on brassica vegetables and cancer risk. *Cancer Epidemiology and Prevention Biomarkers*, 5(9), 733-748.
14. Prevarskaya, N., Flourakis, M., Bidaux, G., Thebault, S., & Skryma, R. (2007). Differential role of TRP channels in prostate cancer.
15. Pienta KJ., 1998. Etiology, epidemiology, and prevention of the carcinoma of the prostate. "Campbell's Urology" Walsh PC, Retik AB, Vaughan ED, Wein AJ (editöder). W.B.Saunders Company, Philadelphia. 2489-2496.
16. Aktümsek, A., 2004. *Anatomi ve fizyoloji:(insan biyolojisi)*. Nobel Yayın Dağıtım.
17. <http://www.cancer.org/acs/groups/cid/documents/webcontent/003072-pdf.pdf>
18. McNeal, J. E. (1988). Normal histology of the prostate. *The American journal of surgical pathology*, 12(8), 619-633.
19. Kirby RS, Christmas TJ, Brawer M., 1998. Prostate cancer. In: Anatomical and pathological considerations. Mosby Times Mirror International,2-21.
20. Dixon, J. S., & Gosling, J. A., 2005. Macro-anatomy of the prostate. *Textbook of Benign Prostatic Hyperplasia*, 2-10.
21. Sternberg, S. S., 1997. *Histology for pathologists*. Lippincott-Raven., Ed. 997-1018.
22. Brooks James, D., 2004. Alt üriner sistem ve erkek genital sistem anatomisi. Jr, Wein AJ [eds]: Campbell Üroloji, Sekizinci baskı, Günes Kitabevi, 1, 42-79.
23. http://www.aboutcancer.com/zonal_anatomy_0608.jpg
24. Ross, R. K., Bernstein, L., Pike, M. C., Henderson, B. E., Lobo, R. A., Stanczyk, F. Z., & Shimizu, H., 1992. 5-alpha-reductase activity and risk of prostate cancer among Japanese and US white and black males. *The Lancet*, 339(8798), 887-889.
25. Walsh, P. C., Retik, A. B., Darracott Vaughan Jr, E., Wein, A. J., & Albala, D. M. (1998). Campbell's Urology. *Journal of the American College of Surgeons*, 186(4), 497-497. Volüm 3;2489-2625.
26. Hall JE., 2011. Guyton and Hall textbook of medical physiology. 12th ed. Jackson: Elsevier Saunders.,313-16.

27. De la Rosette, J. J. M. C. H., Hubregtse, M. R., Meuleman, E. J. H., Stolk-Engelaar, M. V. M., & Debruyne, F. M. J., 1993. Diagnosis and treatment of 409 patients with prostatitis syndromes. *Urology*, 41(4), 301-307.
28. Meares, E. M., 1991. Prostatitis. *Medical Clinics of North America*, 75(2), 405-424.
29. CANATAN, H., HALİFEOĞLU, İ., GÜRSU, M. F., ARDIÇOĞLU, A., DİNÇOĞLU, D., & BAKAN, İ., 2004. Serum leptin düzeylerinin prostat kanserli ve benign prostat hiperplazili hastalarda ve sağlıklı kontrollerde [genç ve yaşlı] saptanması. *Fırat Tıp Dergisi*, 9[4], 112-115.
30. Lee, C., Kozlowski, J. M., & Grayhack, J. T. (1997). Intrinsic and extrinsic factors controlling benign prostatic growth. *The Prostate*, 31(2), 131-138.
31. Andersson, K. E. (2003). Storage and voiding symptoms: pathophysiologic aspects. *Urology*, 62(5), 3-10.
32. Kumar, V. L., & Dewan, S. (2000). Alpha adrenergic blockers in the treatment of benign hyperplasia of the prostate. *International urology and nephrology*, 32(1), 67-71.
33. Hutchison, A., Farmer, R., Verhamme, K., Berges, R., & Navarrete, R. V. (2007). The efficacy of drugs for the treatment of LUTS/BPH, a study in 6 European countries. *European urology*, 51(1), 207-216.
34. Başok, E., & Tokuç, R. (2009). Benign Prostat Hiperplazisi tedavisinde minimal invaziv yöntemler medikal tedavinin yerini alabilir mi. *Üroonkoloji Bülteni, Aralık*, 38-43.
35. Bilir, N., 2008. Sigara ve Kanser, Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Halk Sağlığı A.B.D.
36. Jemal, A., Siegel, R., Ward, E., Murray, T., Xu, J., & Thun, M. J., 2007. Cancer statistics, 2007. *CA: a cancer journal for clinicians*, 57(1), 43-66.
37. Drago, J. R., Goldman, L. B., & Gershwin, M. E., 1980. Evaluation of nonhormonal cytotoxic chemotherapy in the Nb rat prostate adenocarcinoma. Autonomous tumor (18- pr and 13- pr). *Cancer*, 46(2), 273-278.
38. De Marzo, A. M., Platz, E. A., Sutcliffe, S., Xu, J., Grönberg, H., Drake, C. G., ... & Nelson, W. G., 2007. Inflammation in prostate carcinogenesis. *Nature Reviews Cancer*, 7(4), 256-269.
39. Rosai, J., 2004. Gastrointestinal tract-stomach. *Rosai and Ackerman's Surgical Pathology*, 648-711.

40. Ferlay, J., Shin, H. R., Bray, F., Forman, D., Mathers, C., & Parkin, D. M., 2010. Estimates of worldwide burden of cancer in 2008: GLOBOCAN 2008. *International journal of cancer*, 127(12), 2893-2917.
41. Sim, H. G., & Cheng, C. W., 2005. Changing demography of prostate cancer in Asia. *European Journal of Cancer*, 41(6), 834-845.
42. Zorlu F. IX. Üroonkoloji Kongresi webcast. 4-8 Kasım 2008, Ankara.
43. Zuckerkandl, E., 1901. Ueber Nebenorgane des Sympathicus im Retroperitonealraum des Menschen. *Anat. Anz*, 19, 95-107.
44. Stephenson, R. A., Smart, C. R., James, B. C., Mineau, G., Janerich, D. T., & Dibble, R., 1995. The fall in incidence of prostate cancer (CaP): On the down side of a PSA detection/screening induced peak in incidence—data from the Utah Tumor registry. *J Urol*, 153, 416A.
45. Crundwell, M., 2004. Pathology and genetics of tumours of the urinary system and male genital organs. *Bju International*, 94(4), 675-675.
46. Bostwick, D. G., & Cheng, L., 2008. *Urologic surgical pathology*. Elsevier Health Sciences.
47. Chan, J. M., Giovannucci, E., Andersson, S. O., Yuen, J., Adami, H. O., & Wolk, A. (1998). Dairy products, calcium, phosphorous, vitamin D, and risk of prostate cancer (Sweden). *Cancer Causes & Control*, 9(6), 559-566.
48. Ross, R. K., Pike, M. C., Coetzee, G. A., Reichardt, J. K., Mimi, C. Y., Feigelson, H., ... & Henderson, B. E. (1998). Androgen metabolism and prostate cancer: establishing a model of genetic susceptibility. *Cancer Research*, 58(20), 4497-4504.
49. Henderson, B. E., & Feigelson, H. S. (2000). Hormonal carcinogenesis. *Carcinogenesis*, 21(3), 427-433.
50. Taplin, M. E., Bubley, G. J., Shuster, T. D., Frantz, M. E., Spooner, A. E., Ogata, G. K., ... & Balk, S. P. (1995). Mutation of the androgen-receptor gene in metastatic androgen-independent prostate cancer. *New England Journal of Medicine*, 332(21), 1393-1398.
51. Cunha, G. R., Donjacour, A. A., Cooke, P. S., Mee, H., Bigsby, R. M., Higgins, S. J., & Sugimura, Y. (1987). The endocrinology and developmental biology of the prostate. *Endocrine reviews*, 8(3), 338-362.

52. Imperato-McGinley, J., Gautier, T., Zirinsky, K., Hom, T., Palomo, O., Stein, E., ... & Kazam, E. (1992). Prostate visualization studies in males homozygous and heterozygous for 5 alpha-reductase deficiency. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 75(4), 1022-1026.
53. Bakanlığı, S., & Kırdar, K. D. L. Prostat Kanseri Şüphesi Olan Psa'sı Yüksek Hastalarda Serum Androjen Düzeylerinin Longitudinal İncelenmesi ve Prostat Kanseri Riski.
54. TNM, U., 2002. Classification of malignant tumours. *New York, Sobin, LH, Witterkind*, 108-180.
55. Carter, H. B., & Partin, A. W., 2002. Diagnosis and staging of prostate cancer In: Walsh, Retik, Vaughan, Wein (eds): Campbell's Urology.
56. Aus, G., Abbou, C. C., Bolla, M., Heidenreich, A., Schmid, H. P., Van Poppel, H., ... & Zattoni, F., 2005. EAU guidelines on prostate cancer. *European urology*, 48(4), 546-551.
57. Grignon, D. J., & Hammond, E. H., 1995. College of American Pathologists Conference XXVI on clinical relevance of prognostic markers in solid tumors. Report of the Prostate Cancer Working Group. *Archives of pathology & laboratory medicine*, 119(12), 1122-1126.
58. Sogani, P. C., Israel, A., Lieberman, P. H., Lesser, M. L., & Whitmore, W. F. (1985). Gleason grading of prostate cancer: a predictor of survival. *Urology*, 25(3), 223-227.
59. Cannon, S. C., 2007. Physiologic principles underlying ion channelopathies. *Neurotherapeutics*, 4(2), 174-183.
60. Hille, B., 1992. Ionic Channels of Excitable Membranes [Sinauer Assoc. Inc. Sunderland, Massachussets]. Google Scholar.
61. Leanza, L., Managò, A., Zoratti, M., Gulbins, E., & Szabo, I., 2016. Pharmacological targeting of ion channels for cancer therapy: in vivo evidences. *Biochimica et Biophysica Acta [BBA]-Molecular Cell Research*, 1863[6], 1385-1397
62. Gutman, G. A., Chandy, K. G., Grissmer, S., Lazdunski, M., Mckinnon, D., Pardo, L. A., ... & Wang, X., 2005. International Union of Pharmacology. LIII. Nomenclature and molecular relationships of voltage-gated potassium channels. *Pharmacological reviews*, 57[4], 473-508.

63. Li, C. Y., Zhang, X. L., Matthews, E. A., Li, K. W., Kurwa, A., Boroujerdi, A., ... & Luo, Z. D., 2006. Calcium channel $\alpha_2\delta_1$ subunit mediates spinal hyperexcitability in pain modulation. *Pain*, 125[1], 20-34.
64. Teisseyre, A., Duarte, N., Ferreira, M. U., & Michalak, K., 2009. Influence of the multidrug transporter inhibitors on the activity of Kv1.3 voltage-gated potassium channels. *Journal of physiology and pharmacology*, 60[1], 69-76.
65. Ohya, S., Kimura, K., Niwa, S., Ohno, A., Kojima, Y., Sasaki, S., ... & Imaizumi, Y., 2009. Malignancy Grade-Dependent Expression of K⁺-Channel Subtypes in Human Prostate Cancer. *Journal of pharmacological sciences*, 109[1], 148-151.
66. Abdul, M., & Hoosein, N., 2006. Reduced Kv1.3 potassium channel expression in human prostate cancer. *The Journal of membrane biology*, 214[1-2], 99-102.
67. Fraser, S. P., Grimes, J. A., Diss, J. K. J., Stewart, D., Dolly, J. O., & Djamgoz, M. B. A., 2003. Predominant expression of Kv1.3 voltage-gated K⁺ channel subunit in rat prostate cancer cell lines: electrophysiological, pharmacological and molecular characterisation. *Pflügers Archiv*, 446[5], 559-571.
68. Pardo, L. A., Contreras-Jurado, C., Zientkowska, M., Alves, F., & Stühmer, W., 2005. Role of voltage-gated potassium channels in cancer. *The Journal of membrane biology*, 205[3], 115-124.
69. Grissmer, S., Dethlefs, B., Wasmuth, J. J., Goldin, A. L., Gutman, G. A., Cahalan, M. D., & Chandy, K. G., 1990. Expression and chromosomal localization of a lymphocyte K⁺ channel gene. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 87(23), 9411-9415.
70. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez?Db=gene&Cmd=ShowDetailView&TermToSearch=3738>
71. Szabó, I., Bock, J., Grassmé, H., Soddemann, M., Wilker, B., Lang, F., ... & Gulbins, E., 2008. Mitochondrial potassium channel Kv1.3 mediates Bax-induced apoptosis in lymphocytes. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 105(39), 14861-14866.
72. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez?Db=gene&Cmd=ShowDetailView&TermToSearch=3739>
73. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez?Db=gene&Cmd=ShowDetailView&TermToSearch=3752>
74. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/3757>

75. Hedley, P. L., Jørgensen, P., Schlamowitz, S., Wangari, R., Moolman- Smook, J., Brink, P. A., ... & Christiansen, M. (2009). The genetic basis of long QT and short QT syndromes: a mutation update. *Human mutation*, 30(11), 1486-1511.
76. Arcangeli A, 2005. "Expression and role of hERG channels in cancer cells". Novartis Found. Symp. 266: 225–32; discussion 232–4.
77. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez?Db=gene&Cmd=ShowDetailView&TermToSearch=3783>
78. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez?Db=gene&Cmd=ShowDetailView&TermToSearch=3778>
79. Miller, C., 2000. An overview of the potassium channel family. *Genome biology*, 1[4], reviews0004-1.
80. Yuan, P., Leonetti, M. D., Pico, A. R., Hsiung, Y., & MacKinnon, R., 2010. Structure of the human BK channel Ca_2^+ -activation apparatus at 3.0 Å resolution. *Science*, 329[5988], 182-186.]
81. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/51305>
82. Bayliss D.A., Sirois J.E., and Talley E.M., 2003. The TASK family: two-pore domain background K^+ channels. *Molecular Interventions*, 205-252.
83. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/51305>
84. Lozovaya, N., Min, R., Tsintsadze, V., & Burnashev, N., 2009. Dual modulation of CNS voltage-gated calcium channels by cannabinoids: Focus on CB1 receptor-independent effects. *Cell calcium*, 46(3), 154-162.
85. Catterall, W. A., 2000. Structure and regulation of voltage-gated Ca_2^+ channels. *Annual review of cell and developmental biology*, 16(1), 521-555.
86. Catterall, W. A., & Few, A. P., 2008. Calcium channel regulation and presynaptic plasticity. *Neuron*, 59(6), 882-901.
87. Khosravani, H., & Zamponi, G. W., 2006. Voltage-gated calcium channels and idiopathic generalized epilepsies. *Physiological reviews*, 86(3), 941-966.
88. Perez-Reyes, E., Cribbs, L. L., Daud, A., Lacerda, A. E., Barclay, J., Williamson, M. P., ... & Lee, J. H., 1998. Molecular characterization of a neuronal low-voltage-activated T-type calcium channel. *Nature*, 391(6670), 896-900.
89. Jagannathan, S., Punt, E. L., Gu, Y., Arnoult, C., Sakkas, D., Barratt, C. L., & Publicover, S. J., 2002. Identification and Localization of T-type Voltage-operated

- Calcium Channel Subunits in Human Male Germ Cells EXPRESSION OF MULTIPLE ISOFORMS. *Journal of Biological Chemistry*, 277(10), 8449-8456.
90. Monteil, A., Chemin, J., Leuranguer, V., Altier, C., Mennessier, G., Bourinet, E., ... & Nargeot, J., 2000. Specific properties of T-type calcium channels generated by the human $\alpha 1I$ subunit. *Journal of Biological Chemistry*, 275(22), 16530-16535.
 91. Nilius, B., & Owsianik, G., 2011. The transient receptor potential family of ion channels. *Genome biology*, 12(3), 218.
 92. Takahashi, N., Kozai, D., & Mori, Y., 2012. TRP channels: sensors and transducers of gasotransmitter signals. *Frontiers in physiology*, 3.
 93. Nilius, B., Owsianik, G., Voets, T., & Peters, J. A., 2007. Transient receptor potential cation channels in disease. *Physiological reviews*, 87(1), 165-217.
 94. Di, A. And Malik, A. B., 2010. TRP channels and the control of vascular function, *Curr Opin Pharmacol*, 10:127-32
 95. Pinton, P., Ferrari, D., Rapizzi, E., Di Virgilio, F., Pozzan, T., and Rizzuto, R., 2001. The Ca_2^+ concentration of the endoplasmic reticulum is a key determinant of ceramide-induced apoptosis: significance for the molecular mechanism of Bcl-2 action, *Embo J*, 20:2690-701
 96. Gkika, D., & Prevarskaya, N., 2011. TRP channels in prostate cancer: the good, the bad and the ugly?. *Asian journal of andrology*, 13[5], 673.
 97. Bergdahl, A., Gomez, M. F., Wihlborg, A. K., Erlinge, D., Eyjolfson, A., Xu, S. Z., ... & Hellstrand, P., 2005. Plasticity of TRPC expression in arterial smooth muscle: correlation with store-operated Ca^{2+} entry. *American Journal of Physiology-Cell Physiology*, 288(4), C872-C880.
 98. Kessler, T., Wissenbach, U., Grobholz, R., & Flockerzi, V., 2009. TRPV6 alleles do not influence prostate cancer progression. *BMC cancer*, 9[1], 380.
 99. Vazquez, G., Wedel, B. J., Aziz, O., Trebak, M., & Putney, J. W., 2004. The mammalian TRPC cation channels. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Cell Research*, 1742(1), 21-36.
 100. Montell, C. (2005). The TRP superfamily of cation channels. *Science Signaling*, 2005(272), re3-re3.
 101. Minke, B., & Cook, B. (2002). TRP channel proteins and signal transduction. *Physiological reviews*, 82(2), 429-472.

102. Zhu, X., Chu, P. B., Peyton, M., & Birnbaumer, L. (1995). Molecular cloning of a widely expressed human homologue for the *Drosophila* trp gene. *FEBS letters*, 373(3), 193-198.
103. Wes, P. D., Chevesich, J., Jeromin, A., Rosenberg, C., Stetten, G., & Montell, C., 1995. TRPC1, a human homolog of a *Drosophila* store-operated channel. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 92(21), 9652-9656.
104. Becker, E. B., Fogel, B. L., Rajakulendran, S., Dulneva, A., Hanna, M. G., Perlman, S. L., ... & Davies, K. E., 2011. Candidate screening of the TRPC3 gene in cerebellar ataxia. *The Cerebellum*, 10(2), 296-299.
105. Schaefer, M., Plant, T. D., Stresow, N., Albrecht, N., & Schultz, G., 2002. Functional differences between TRPC4 splice variants. *Journal of Biological Chemistry*, 277(5), 3752-3759.
106. Clapham, D. E., Julius, D., Montell, C., & Schultz, G., 2005. International Union of Pharmacology. XLIX. Nomenclature and structure-function relationships of transient receptor potential channels. *Pharmacological Reviews*, 57(4), 427-450.
107. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez?Db=gene&Cmd=ShowDetailView&TermToSearch=7224>
108. Winn, M. P., Conlon, P. J., Lynn, K. L., Farrington, M. K., Creazzo, T., Hawkins, A. F., ... & Pericak-Vance, M. A., 2005. A mutation in the TRPC6 cation channel causes familial focal segmental glomerulosclerosis. *Science*, 308(5729), 1801-1804.
109. Caterina, M. J., & Julius, D., 2001. The vanilloid receptor: a molecular gateway to the pain pathway. *Annual review of neuroscience*, 24(1), 487-517.
110. Caterina, M. J., & Pang, Z., 2016. TRP channels in skin biology and pathophysiology. *Pharmaceuticals*, 9(4), 77.
111. Wang, G., & Wang, K., 2017. The Ca²⁺-permeable cation TRPV3 channel: an emerging pivotal target for itch and skin diseases. *Molecular Pharmacology*, mol-116.
112. Shin, S. H., Lee, E. J., Chun, J., Hyun, S., & Kang, S. S., 2015. Phosphorylation on TRPV4 serine 824 regulates interaction with STIM1. *The open biochemistry journal*, 9, 24.

113. Mensenkamp, A. R., Hoenderop, J. G. J., & Bindels, R. J. M., 2007. TRPV5, the gateway to Ca^{2+} homeostasis. In *Transient Receptor Potential (TRP) Channels* (pp. 207-220). Springer Berlin Heidelberg.
114. Kheradpezhough, E., Choy, J. M., Daria, V. R., & Arabzadeh, E., 2017. TRPA1 expression and its functional activation in rodent cortex. *Open biology*, 7(4), 160314.
115. Barish, M. E., 1983. A transient calcium- dependent chloride current in the immature *Xenopus* oocyte. *The Journal of Physiology*, 342(1), 309-325.
116. Brown, C. D., & Dudley, A. J., 1996. Chloride channel blockers decrease intracellular pH in cultured renal epithelial LLC- PK1 cells. *British journal of pharmacology*, 118(3), 443-444.
117. Lemonnier, L., Lazarenko, R., Shuba, Y., Thébault, S., Roudbaraki, M., Lepage, G., ... & Skryma, R., 2005. Alterations in the regulatory volume decrease (RVD) and swelling-activated Cl^- current associated with neuroendocrine differentiation of prostate cancer epithelial cells. *Endocrine-related cancer*, 12(2), 335-349.
118. Borsani, G., Rugarli, E. I., Taglialatela, M., Wong, C., & Ballabio, A., 1995. Characterization of a human and murine gene (CLCN3) sharing similarities to voltage-gated chloride channels and to a yeast integral membrane protein. *Genomics*, 27(1), 131-141.
119. Taine, L., Couprie, I., Boisseau, P., Saura, R., Lacombe, D., & Arveiler, B., 1998. Refined localisation of the voltage-gated chloride channel, CLCN3, to 4q33. *Human genetics*, 102(2), 178-181.
120. Sharma, M., Mishra, B., Saikia, U. N., Bahl, A., Ratho, R. K., & Talwar, K. K., 2012. Ribonucleic acid extraction from archival formalin fixed paraffin embedded myocardial tissues for gene expression and pathogen detection. *Journal of clinical laboratory analysis*, 26(4), 279-285.
121. Maroto, R., Raso, A., Wood, T. G., Kurosky, A., Martinac, B., & Hamill, O. P., 2005. TRPC1 forms the stretch-activated cation channel in vertebrate cells. *Nature cell biology*, 7(2), 179-185.
122. Van Haute, C., De Ridder, D., & Nilius, B., 2010. TRP channels in human prostate. *The Scientific World Journal*, 10, 1597-1611.

123. Pigozzi, D., Ducret, T., Tajeddine, N., Gala, J. L., Tombal, B., & Gailly, P., 2006. Calcium store contents control the expression of TRPC1, TRPC3 and TRPV6 proteins in LNCaP prostate cancer cell line. *Cell calcium*, 39(5), 401-415.
124. Verbe, M. A. P., Bruyere, F., Rozet, F., Vandier, C., & Fromont, G., 2016. Expression of store-operated channel components in prostate cancer: the prognostic paradox. *Human pathology*, 49, 77-82.
125. Yue, D., Wang, Y., Xiao, J. Y., Wang, P., & Ren, C. S., 2009. Expression of TRPC6 in benign and malignant human prostate tissues. *Asian journal of andrology*, 11(5), 541.
126. Bernichtein, S., Pigat, N., Delongchamps, N. B., Boutillon, F., Verkarre, V., Camparo, P., ... & Viltard, M., 2017. Vitamin D3 prevents calcium-induced progression of early-stage prostate tumors by counteracting TRPC6 and calcium sensing receptor upregulation. *Cancer research*, 77(2), 355-365.
127. Gautier, M., Dhennin- Duthille, I., Ay, A. S., Rybarczyk, P., Korichneva, I., & Ouadid- Ahidouch, H., 2014. New insights into pharmacological tools to TR (i) P cancer up. *British journal of pharmacology*, 171(10), 2582-2592.
128. Derouiche, S., Mariot, P., Warnier, M., Vancauwenberghe, E., Bidaux, G., Gosset, P., ... & Dewailly, E. (2017). Activation of TRPA1 channel by antibacterial agent triclosan induces VEGF secretion in human prostate cancer stromal cells. *Cancer Prevention Research*, 10(3), 177-187.
129. Gauthier, M. L., Beaudry, F., & Vachon, P., 2013. Intrathecal [6]- Gingerol Administration Alleviates Peripherally induced Neuropathic Pain in Male Sprague–Dawley Rats. *Phytotherapy Research*, 27(8), 1251-1254.
130. Elbaz, M., Ahirwar, D., Xiaoli, Z., Zhou, X., Lustberg, M., Nasser, M. W., ... & Ganju, R. K., 2016. TRPV2 is a novel biomarker and therapeutic target in triple negative breast cancer. *Oncotarget*, 5.
131. Monet, M., Lehen'kyi, V. Y., Gackiere, F., Firlej, V., Vandenberghe, M., Roudbaraki, M., ... & Delcourt, P., 2010. Role of cationic channel TRPV2 in promoting prostate cancer migration and progression to androgen resistance. *Cancer research*, 70(3), 1225-1235.
132. Jariwala, U., Prescott, J., Jia, L., Barski, A., Pregizer, S., Cogan, J. P., ... & Buchanan, G., 2007. Identification of novel androgen receptor target genes in prostate cancer. *Molecular cancer*, 6(1), 39.

133. Sozucan, Y., Kalender, M. E., Sari, I., Suner, A., Oztuzcu, S., Arman, K., ... & Balakan, O., 2015. TRP genes family expression in colorectal cancer. *Experimental oncology*, (37, № 3), 208-212.
134. Weaver, E. M., Zamora, F. J., Puplampu-Dove, Y. A., Kiessu, E., Hearne, J. L., & Martin-Caraballo, M., 2015. Regulation of T-type calcium channel expression by sodium butyrate in prostate cancer cells. *European journal of pharmacology*, 749, 20-31.
135. Oeggerli, M., Tian, Y., Ruiz, C., Wijker, B., Sauter, G., Obermann, E., ... & Bubendorf, L., 2012. Role of KCNMA1 in breast cancer. *PloS one*, 7(8), e41664.
136. Faouzi, M., Hague, F., Geerts, D., Ay, A. S., Potier-Cartereau, M., Ahidouch, A., & Ouadid-Ahidouch, H., 2016. Functional cooperation between KCa3. 1 and TRPC1 channels in human breast cancer: Role in cell proliferation and patient prognosis. *Oncotarget*, 7(24), 36419.
137. Habela, C. W., Olsen, M. L., & Sontheimer, H., 2008. ClC3 is a critical regulator of the cell cycle in normal and malignant glial cells. *Journal of Neuroscience*, 28(37), 9205-9217.

ÖZGEÇMİŞ

Elazığ-1988 İlkokul, Ortaokul-Tuncay Küçüközer İlköğretim Okulu [1993-2001]

Lise-Korgeneral Hulusi Sayin Lisesi [2001-2004]

Lisans-Firat Üniversitesi Eğitim Fakültesi İlköğretim Fen Bilgisi Öğretmenliği
[2005-2009]

Yüksek Lisans-Firat Üniversitesi Biyoloji Bölümü Moleküler Biyoloji Anabilim
Dalı [2011-2017]

Lisans-Firat Üniversitesi Biyomühendislik Bölümü [2011-2014]

Yüksek Lisans-Firat Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı [2012
-2017]

Milli Eğitim Bakanlığı Resmi Burslu Öğrenci [2015-]

Yüksek Lisans-Newcastle University-Biyoinformatik [2017-]

SEDA ÖZAYDIN