






İnsan Akciğer Kanserlerinde TRPM Gen ve Piezo İyon Kanallarının Ekspresyonu

Expression of TRPM Gene and Piezo Ion Channels in Human Lung Cancers

 Suna POLATOĞLU^a,
 Akın Eraslan BALCI^a,
 Ebru ÖNALAN^b,
 Ahmet TEKTEMUR^a,
 Muharrem ÇAKMAK^a

^aGöğüs Cerrahisi AD,
^bTıbbi Biyoloji ve Genetik AD,
 Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi,
 Elazığ, TÜRKİYE

Received: 20.06.2018
 Received in revised form: 14.11.2018
 Accepted: 06.12.2018
 Available online: 14.01.2019

Correspondence:
 Muharrem ÇAKMAK
 Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi,
 Göğüs Cerrahisi AD, Elazığ,
 TÜRKİYE/TURKEY
 drcakmak@gmail.com

ÖZET Amaç: İyon kanalları apoptozis, proliferasyon, farklılaşma gibi hücre süreçlerinde görevli olup, transient reseptör potansiyel melastatin (TRPM) katyon kanalları ve kalsiyum homeostazi tarafından kontrol edilirler. İyon kanallarının aktivasyonu, otofajik aktiviteyi bloke, blokajı ise otofajik aktiviteyi artırarak kanser hücresi gelişimini engeller. Çalışmamızda, kanserli akciğer dokusunda, TRPM 2, 4, 5, 7, 8 ve Piezo 1, 2 iyon kanallarının ekspresyonlarında artış olup olmadığı ve bunun otofajik aktivite üzerindeki etkisini göstermeyi amaçladık. Böylece, aktive olan iyon kanalları bloke edilerek, otofajik aktivite artışının sağlanabileceğini ve akciğer kanserli hastalarda bir tedavi seçeneği olabileceğini düşünmekteyiz. **Gereç ve Yöntemler:** Kırk adet kanserli, 10 adet normal akciğer dokusu çalışılmaya alındı. Sırasıyla, total RNA izolasyonu, spektrofotometrik RNA ölçümü, komplementer DNA sentezi, high-capacity cDNA rivörs transkripsiyonla elde edilen cDNA'lar, spesifik primerlerin varlığında real time-polimeraz zincir reaksiyonuyla amplifiye edildi. Gliseraldehit 3-fosfat dehidrogenaz, TRPM 2, 4, 5, 7, 8, Piezo1, 2 genleri belirlendi. Seviyeleri ölçüldü. **Bulgular:** Kanserli hastaların 29'u erkek, 8'i kadın, yaş ortalaması 60, 21 yıl idi. Kontrol grubunun 8'i erkek, 2'si kadın, yaş ortalaması 63,42 yıl idi. Kontrol grubuna göre adenokarsinom, epidermoid, küçük hücreli kanser gruplarında TRPM5 mRNA'nın; epidermoid karsinom, küçük hücreli kanser gruplarında ise TRPM7 mRNA'nın arttığı belirlendi. Piezo1 mRNA'nın adenokarsinomların %20'sinde, epidermoid karsinomların %15'inde, küçük hücreli kanserlerin sadece 1'inde pozitif olduğu görüldü. Piezo2 mRNA'nın adenokarsinom, epidermoid ve küçük hücreli akciğer kanserlerinde anlamlı düzeyde arttığı saptandı. **Sonuç:** Akciğer kanserinde, otofajik aktivite kaybı TRPM, Piezo iyon kanalları ile ilişkilidir. Bu kanallar terapötik bir hedef olarak alındığında, akciğer kanseri tedavisinde önemli bir süreç başlatacaktır.

Anahtar Kelimeler: Akciğer kanseri; TRPM kanalları; Piezo 1; Piezo 2

ABSTRACT Objective: Ions channels are responsible for cell processes such as apoptosis, proliferation, differentiation and are controlled by transient receptor potential melastatin (TRPM) cation channels and calcium homeostasis. Activation of ion channels facilitates cancer cell development by blocking autophagic activity. Blockage increases the autophagic activity and prevents cancer cell development. In our study, we aimed to show whether there is an increase in the expression of TRPM 2, 4, 5, 7, 8 and Piezo 1, 2 ion channels in cancerous lung tissue and its effect on autophagic activity. Thus, these channels can be considered as a therapeutic target for increased autophagic activity. **Material and Methods:** Forty cancers and 10 normal lung tissues were taken into work. cDNAs obtained by total RNA isolation, spectrophotometric RNA measurement, complementary DNA synthesis, high-capacity cDNA reverse transcription were amplified by real time-polymerase chain reaction in the presence of sequence-specific primers. Glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase, TRPM 2, 4, 5, 7, 8, Piezo1, 2 genes were identified. **Results:** Twenty-nine of the cancer patients were male, 8 were female. Eight of the control group were male, 2 were female. 15 of the cancer patients have epidermoid, 16 adeno, 3 large cell, 3 small cell carcinoma. According to the control group, TRPM5 mRNA increased was seen in adenocarcinoma, epidermoid, small cell cancer groups. In the epidermoid carcinoma and small cell carcinoma groups, increase in TRPM7 mRNA was determined. Piezo1 mRNA was found to be positive in 20% of adenocarcinomas, 15% of epidermoid carcinomas and only 1 of small cell cancers. Piezo2 mRNA was significantly increased in adenocarcinoma, epidermoid, and small cell lung cancer. **Conclusion:** The loss of autophagic activity in lung cancer is associated with TRPM and piezo ion channels. When these channels are taken as a therapeutic target, they will initiate an important process in lung cancer treatment.

Keywords: Lung cancer; TRPM channels; Piezo 1; Piezo 2

Karsinogenez, normal hücrenin, kanser hücrelerine dönüşümü için geçen bir süreçtir. Hücrenin sürekli olarak bölünmeye başlaması, hücre döngüsünü kontrol eden genlerde oluşan mutasyonlara bağlıdır. Bir hücrede oluşan genetik mutasyon düzeltilmeden hücre çoğalmaya başlar ve apoptozise uğramaz ise oluşan transforme hücre bölünerek çoğalmaya devam eder. Hücre proliferasyonu indüklenir. Kontrolsüz büyüyen hücrenin yeni mutasyonlar geçirmesiyle tamamen farklı bir hücre oluşur.¹

Plazma membranında yer alan iyon kanalları ise hücrel elektrogenez ve elektrik iletiminden sorumludur. Bu kanallar apoptozis, proliferasyon ve farklılaşma gibi doku homeostazisinin korunması için gerekli olan tüm temel hücre davranışlarının yerine getirilmesinde görev alır. Hücre proliferasyonu, apoptoz, migrasyon, invazyon ve anjiogenez gibi fizyolojik süreçler, transient reseptör potansiyel melastatin (TRPM) katyon kanalları ve kalsiyum homeostazı kontrolü altındadır. İyon kanallarının bu kritik süreçlere katkısında birkaç ana mekanizma vardır. Bunlar, membran potansiyelinin korunması, hücre volümünün düzenlenmesi ve temel sinyal iletimini sağlayan iyonların girişidir.²

Otofajik yollar ise, akciğer kanseri etiopatogenezinde önemli bir yere sahiptir. Otofaji, hücre içi kalsiyum seviyeleri ve kalsiyum iyon kanalları tarafından kontrol edilir. İyon kanallarının aktivasyonu ya da blokajı, hücreler üzerindeki otofajik aktivite üzerinde önemli etkiye sahiptir. İyon kanallarının aktivasyonu, otofajik aktiviteyi bloke ederek kanser hücresi gelişimini kolaylaştırırken, blokajı otofajik aktiviteyi arttırarak kanser hücresi gelişimini engeller. Özellikle kolon, prostat ve pankreas kanseri gibi birçok kanser türünde bu iyon kanallarının ekspresyon düzeyleri çalışılmıştır.² Akciğer kanserli hastalarda ise bu çalışmalar geri planda kalmıştır.

Çalışmamızda, kanserli akciğer dokusunda, TRPM 2, 4, 5, 7, 8 ve Piezo 1, 2 iyon kanallarının ekspresyonlarında artış olup olmadığı ve bunun otofajik aktivite üzerindeki etkisini göstermeyi amaçladık. Böylece, aktive olan iyon kanalları bloke edilerek, otofajik aktivite artışının sağlanabi-

leceğini ve akciğer kanserli hastalarda bir tedavi seçeneği olabileceğini düşünmekteyiz.

GEREÇ VE YÖNTEMLER

Kırk adet akciğer kanserli doku örneği çalışmaya alındı (çalışma grubu). Üç hasta hücrelerin bozulması nedeniyle çalışma dışı bırakıldı. Hastaların yaşları, kanser tipleri ve kanser tiplerinin diferansiyasyon durumları değerlendirildi. Karşılaştırma amaçlı 10 adet normal akciğer dokusu içeren kontrol grubu oluşturuldu (Etik kurul onay tarihi: 27.12.2012, sayı/no: 21/04).

Çalışmada, kanserli ve normal akciğer dokularındaki iyon kanalı olan Transient Receptor Potential Melastatin (TRPM) grubu TRPM 2, 4, 5, 7, 8 ile Piezo 1 ve 2'nin ekspresyon düzeyleri ölçülerek, otofajik aktiviteyi engelleyen iyon kanalı ekspresyon düzeyleri artışı tespit edildi.

ÇALIŞMA PLANI

Otuz yedi adet akciğer kanserli, 10 adet normal akciğer dokusu değerlendirmeye alındı.

1. Aşamada; Total RNA izolasyonu için Pure-Link™ RNA mini kiti kullanıldı. Kit içerisindeki lizis buffer'den 1ml ve 2-merkaptolanol'dan 10 µl, falkon tüpüne alınıp karıştırılarak lizis tampon çözeltisi elde edildi. Akciğer dokusu, doku ile eşit miktarda homojenizatör boncuğu ve hazırladığımız çözüldüden 600 µl alınarak kilitli eppendorf tüplere bırakıldı. Homojenizatörde 3 dakika (dk), 8. hızda parçalama işlemi yapıldı.

Örnekler 12,000 xg'de 2 dk oda sıcaklığında santrifüj edildi. RNA içeren sıvı fazın hepsi yeni bir eppendorfa alınarak üzerine 500 µl %70'lik etanol eklendi ve vorteksle çalkalandı. Örneklerden 700 µl alınarak kit içerisindeki kolonlara aktarıldı ve 12,000 xg'de 15 saniye (sn) oda sıcaklığında santrifüj edildi. Kalan örnekler de kolonlara aktarılarak aynı şekilde santrifüj edildi.

Santrifüj sonrası toplama tüpünün altında biriken sıvı boşaltıldı. Yıkama işlemleri kitin içindeki Wash I ve Wash II ile yapıldı. Örnekler 700 µl Wash I eklenerek 12,000 xg'de 15 sn santrifüj edildi. Toplama tüpü değiştirildi. Örnekler 500 µl Wash II eklenerek 12,000xg'de 15 sn santrifüj

edildi ve bu işlem iki defa tekrarlandı. Tüpün altındaki sıvı boşaltılarak hiçbir şey eklenmeden 12,000 xg'de 2 dk santrifüj edildi. Kolonlar alınarak yeni eppendorf tüplere bırakıldı ve üstüne 30 µl RNaz içermeyen su eklenerek oda sıcaklığında 1 dk bekletildi ve 12,000 xg'de 2 dk oda sıcaklığında santrifüj edildi. Eppendorf tüpün dibindeki sıvı kısım bu aşamadan sonra RNA'dan arındırıldı. RNA örnekleri kullanılıncaya kadar -80°C'de saklandı.

2. Aşamada; Spektrofotometrik RNA ölçümü için Qubit® RNA Assay Kit For Use With The Qubit® 2,0 Fluorometer (İnvitrogen/Molecular Probes) kullanıldı. RNA miktarı µg/ml olarak ölçüldü. Komplementer DNA (cDNA) sentezi için RNA miktarlarının eşitlenmesi amacıyla okunan en düşük RNA değeri standart alındı. cDNA için her bir gruptaki örneklerden RNA havuzu hazırlandı ve 1. grup: kontrol, 2. grup: Beta-amiloid, 3. grup: amiloid+beta-amiloid ve 4. grup: sham olmak üzere toplam dört RNA havuzu elde edildi.

3. Aşamada; Komplementer DNA Sentezi için High-Capacity cDNA Reverse Transcription çözelti kiti ve RNA örneklerinden 10 µl kullanıldı. cDNA sentezi toplam 20µl hacimde gerçekleştirildi. Sentez için 10µl RNA örneği, 2 µl 10XRT random primer, 2 µl 10XRT buffer, 0,8 µl 25XdNTP mix, 4,2 µl nükleaz içermeyen su ve en son olarak 1µl MultiScribe™ Reverse Transcriptase enzimi kullanıldı. Örnekler termal döngü cihazına yerleştirildi. 25°C'de 10 dk, 37°C'de 120 dk, 85°C'de 5 dk ve 4°C'de ∞ olacak şekilde cihazda bekletildi. Oluşan cDNA örnekleri -20°C'de saklandı.

4. Aşamada; High-Capacity cDNA Reverse Transcription ile elde edilen cDNA'lar sekans spesifik primerlerin varlığında real time-polimeraz zincir reaksiyonu (RT-PZR) ile amplifiye edildi. Gliseraldehit 3-fosfat dehidrogenaz (GAPDH), TRPM2, TRPM4, TRPM5, TRPM7, TRPM8, Piezo1 ve Piezo2 genleri belirlendi. RT-PZR analizleri sonucunda gen ekspresyonundaki farklılıkların hesaplanmasında $2^{-\Delta\Delta CT}$ metodu kullanıldı.

Real Time-PZR üç tekrarlı olarak gerçekleştirildi. RT-PZR plate hazırlanırken cDNA örneklerinden her bir kuyucuğa 2µl kondu. Buz üzerinde

her bir örnek için 5µl TaqMan Master Mix, 2,5 µl nükleaz içermeyen su ve 0,5 µl primer hibridizasyon probu olacak şekilde örnek sayısına göre hesaplanan bileşen miktarları eppendorflara bırakıldı ve vorteksle çalkalandı. Plate'deki cDNA örneklerinin üzerine 8µl hazırlanan karışımdan bırakılarak plate'in üzeri optik yapıştırıcı filmle kapatıldı. Plate, örneklerin tamamen dibe çökmesi ve oluşan kabarcıkların yok edilmesi amacıyla mini plate spin cihazında 1 dakika santrifüj edildi.

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

İSTATİSTİKSEL ANALİZ

Çalışmada, IBM SPSS 21,0 paket program kullanıldı. İstatistiksel değerlendirmede $p < 0,05$ anlamlı kabul edildi. Gruplar arasındaki ekspresyon düzeyleri arasındaki farklılıkların belirlenmesinde Student t testi kullanıldı.

BULGULAR

Akciğer kanserli hastaların 29'u erkek, 8'i kadın, yaş ortalaması 60,21 yıl; normal akciğer dokusuna sahip kontrol grubunun 8'i erkek, 2'si kadın, yaş ortalaması 63,42 yıl idi. Kanser grubundaki hastaların 15'i epidermoid karsinom, 16'sı adenokarsinom, 3'ü büyük hücreli karsinom, 3'ü küçük hücreli karsinom idi (Tablo 1).

RT-PZR analiz sonuçlarımıza göre hem kontrol hem de kanser gruplarının hiçbirinde TRPM2, TRPM4 pozitifliği tespit edilmedi.

Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında adenokarsinom ($p=0,00$), epidermoid ($p=0,01$) ve küçük hücreli ($p=0,00$) kanser gruplarında TRPM5 mRNA ifadesinin istatistiki olarak anlamlı düzeyde arttığı belirlendi. TRPM5 düzeyleri ve kanserin farklılaşması düzeyleri arasında istatistiki olarak anlamlı bir farklılık bulunmadı ($p=0,45$).

Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında epidermoid karsinom ($p=0,01$) ve küçük hücreli ($p=0,00$) kanser gruplarında TRPM7 mRNA ifadesinin ista-

TABLO 1: Akciğer kanserli hastaların demografik dağılımı.

Kanser türü	Sayı	Ort yaş±SS	İyi dif	Az dif	Orta dif	Undif
Adenokanser	16	56,12±17,49	1	2	3	4
Epidermoid	15	63,6±9,50	0	0	6	0
Büyük hücreli	3	68,33±9,50	0	0	0	0
Küçük hücreli	3	60,21±13,72	1	2	9	3

Ort: Ortalama; SS: Standart sapma; Dif: Diferansiyasyon; Undif: Andiferansiyasyon.

tistiki olarak anlamlı düzeyde arttığı belirlendi. Ancak kontrol grubuna göre adenokarsinom grubunda istatistiki anlamlı düzeyde bir artış gözlenmedi. TRPM7 mRNA miktarı ve kanserin farklılaşma düzeyleri arasında istatistiki olarak anlamlı bir farklılık bulunmadı ($p=0,09$).

Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında adenokarsinom ($p=0,68$), epidermoid ($p=0,57$) ve küçük hücreli ($p=0,49$) kanser gruplarında TRPM8 mRNA ifadesinin istatistiki açıdan anlamlı düzeyde değişmediği belirlendi. TRPM8 düzeyleri ve kanserin farklılaşması düzeyleri arasında istatistiki olarak anlamlı bir farklılık bulunmadı ($p=0,89$).

Kontrol grubunda Piezo 1 mRNA pozitifliği bulunmadı. Ancak kanser gruplarında pozitiflikler belirlendi. Adenokarsinom grubunun %20'sinde, Epidermoid kansinomların %15'inde ve küçük hücreli kanserlerden sadece 1'inde pozitiflik bulundu. Piezo2 için, RT-PZR analizi sonuçlarına göre kontrol grubu ile karşılaştırıldığında adenokarsinom ($p=0,00$), epidermoid ($p=0,00$) ve küçük hücreli ($p=0,00$) akciğer kanserlerinde Piezo2 gen ekspresyonlarındaki değişimin istatistiki olarak anlamlı düzeyde olduğu belirlendi. Kanser grubunda Piezo2 geninin mRNA düzeyleri ve kanserin farklılaşma düzeyleri arasında anlamlı bir farklılık bulunmadı ($p=1,02$) (Tablo 2, Tablo 3) (Şekil 1, Şekil 2).

TARTIŞMA

Pek çok hücre tipinde ısı, kimyasal ve mekanik cevapları da içeren birçok fizyolojik olayda kritik görevler alan katyon kanalları olan TRPM ailesi üzerinde yapılan çalışmalar, kimyasal maruziyet, ısı, pH ve mekanik stres gibi pek çok çevresel faktörün spesifik TRPM kanalları ile ilişkili oldu-

ğunu göstermektedir. Proliferasyon, farklılaşma, apoptoz ve onkogenез süreçlerinde bu spesifik TRPM kanallarının önemli olduğu bildirilmektedir.³⁻⁶

TRPM ailesinin kalsiyum ve sodyum geçirgen kanallarının bazı üyelerinin, kanser hücrelerinde farklı düzeyde ekspresyonları olmasına rağmen şu ana kadar bu bilgi çok ilgi çekmemiştir. Bunun nedenlerinden birisi kanser evresine göre normal TRPM proteinlerinin artmış ya da azalmış ekspresyon seviyelerinin bulunması ve TRPM proteinlerini de içeren değişikliklerin içinde TRPM genlerindeki mutasyonların olmaması olabilir.⁷ Çalışmamızda, kanserli ve normal akciğer dokusundaki Transient Receptor Potential Melastatin (TRPM) grubu TRPM 2, 4, 5, 7, 8 ile Piezo 1 ve 2 mRNA'nın ekspresyon düzeyleri ölçülerek, otofajik aktiviteyi engelleyen, iyon kanalı ekspresyon düzeyleri hedef olarak alındı.

Özellikle meme ve pankreas kanseri başta olmak üzere, diğer kanserlerde de aşırı ekspresyonu olan TRPM7 kanalları her dokuda bulunurken, pek çok dokuda ise düşük oranda ekspresyon olmaktadır.⁸⁻¹⁰ TRPM7 genindeki bir polimorfizmin, kolorektal neoplazi için artmış risk ile ilişkili olduğunu ortaya koyan epidemiyolojik bir çalışma, TRPM7 ile kanser arasındaki ilişkiyi ilk tanımlayan çalışmalardan biridir.¹¹ Serum kalsiyum/magnezyum oranındaki artışın, TRPM7 kanallarını aktive ederek, prostat kanseri proliferasyonunu desteklediği daha sonraları yapılan bir çalışmada saptanmıştır. Aynı çalışma, prostat kanserinde TRPM7'nin önemli rolü olduğunu, tümör başlangıç ve progresyonunda kalsiyum/magnezyum oranının esas teşkil ettiğini vurgulamıştır.¹² Başka bir çalışmada, gastrik adenokanser hücrelerinin büyümesi

TABLO 2: Kanser ve kontrol gruplarındaki TRPM 5, 7 ve 8'lerin dağılımı.

	TRPM5	TRPM7	TRPM8	TRPM5ss	TRPM7ss	TRPM8ss
Kontrol	1	1	1	0,2	0,14	0,099
Adenokarsinom	4,52	1,08	0,99	0,11	0,21	0,123
Epidermoid karsinom	3,18	2,72	0,8	0,04	0,12	0,22
Küçük hücreli karsinom	6,81	5,93	0,75	0,09	0,23	0,24

TRPM: Transient reseptör potansiyel melastatin, ss: Standart sapma.

TABLO 3: Kanser ve kontrol grupları dokularındaki Piezo 2'nin istatistiksel değişimi.

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

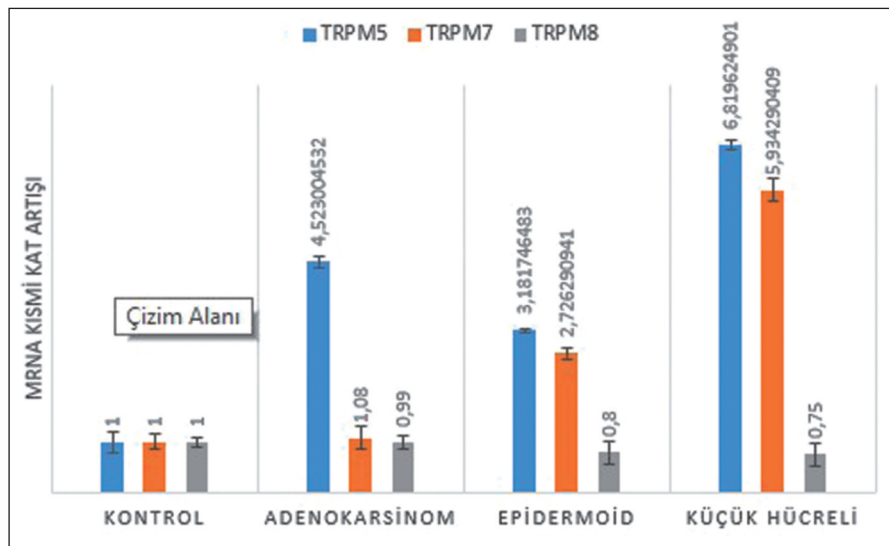
ss: Standart sapma.

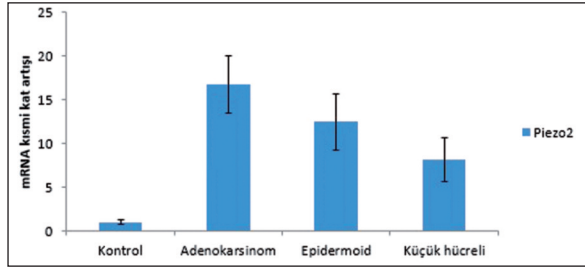
ve canlılığının, TRPM7 kanalı aktivitesinin blokajı ile inhibe edildiği bildirilmiştir.¹³ Çalışmamızda da, akciğer kanserli dokularda, TRPM7'nin kontrol grubuna göre arttığı tespit edildi. TRPM7'nin blokajı ile akciğer kanseri hücrelerinin de büyümesinin ve canlılıklarının azaltılabileceğini düşünmekteyiz.

Oldukça yaygın oranda eksprese olan kalsiyuma geçirgen TRPM8 kanalları özellikle prostat

kanserinde potansiyel bir prognostik ve tanısal bir belirteçdir.¹⁴ TRPM8 mRNA'sı (diğer bir kalsiyuma geçirgen kanal) sağlıklı kolonda eksprese olmazken, kolorektal adenokarsinomda eksprese olur. Diğerlerine göre TRPM8, daha geç bulunan bir TRPM aile üyesidir.¹⁵ Tümör hücrelerindeki potansiyel aktivasyon mekanizması henüz tam olarak anlaşılabilen TRPM8'in, soğuk sensörü olarak fizyolojik bir görev yerine getirdiği bilinmektedir.¹⁶ Ancak, biz bu çalışmamızda akciğer kanserli dokularda TRPM8'in değişmediğini bulduk.

Özellikle tat reseptör hücrelerinde eksprese olan TRPM5 kanalları akciğer, testis, dil, sindirim sistemi ve beyinde sentezlenmektedir.³ Bazı kanserlerde TRPM4 ve TRPM5 ekspresyonlarının arttığı bilinmektedir.¹⁷ Tümörögenезisin TRPM5'in değişmiş ekspresyon seviyeleriyle ilişkili olduğu düşünülmektedir. Özellikle TRPM5 mRNA ekspresyonunun Wilms tümörlerinin birçoğunda ve

**ŞEKİL 1:** Kontrol ve kanser dokularındaki TRPM5 ve TRPM7 genlerindeki anlamlı artış.



ŞEKİL 2: Kontrol ve kanser dokularındaki Piezo2 iyon kanalının mRNA kat artışı grafiği.

rabdomiyosarkomda artmış olduğu saptanmıştır.¹⁸ Çalışmamızda da, akciğer kanserli dokularda TRPM 5'in artmış olduğunu bulduk. Bu da, TRPM 5'in akciğer kanseri tedavisinde, terapötik bir hedef olarak değerlendirilebileceğini göstermektedir.

Özellikle pankreas, kalp ve plasentada sentezlenen TRPM4 kanalları hemen her dokuda ekspresyondadır. Ancak üriner mesane detrusor düz kasında (DSM) tanımlanan ve DSM eksitabilitesi ve kontraktilesinden sorumlu olduğu düşünülen TRPM4 kanalının ürotelyumdaki fizyolojik önemi halen belirsizdir.¹⁹ TRPM4 iyon kanalı ekspresyonunun tanısal bir belirteç olarak kullanılabileceğini, TRPM4 mRNA ekspresyonunun lenfomalarda artmış olması göstermektedir. Ayrıca, kanserde uygun bir terapötik yaklaşım olarak TRPM4 inhibisyonunun olabileceği ifade edilmektedir. Fakat biz, çalışmamızda kanserli akciğer dokuları ve kontrol grubunda TRPM 4 pozitifliği saptamadık.²⁰

TRPM2 sessizleştirilmesi, sağlıklı hücreleri etkilemeden prostat kanser hücreleri proliferasyonunu ortadan kaldırır. TRPM2 mRNA seviyesi, CpG adacık metilasyonu ile artmış aktiviteye sahip olan melanomlarda yükselmektedir.²⁰ Bu bulgu, TRPM2 aktivitesinin artışının düzenlenmesinin melanom hücrelerinde kanser progresyonuna karşı mantıklı bir tedavi stratejisi olacağını göstermektedir.²⁰ Ancak, çalışmamızda kanserli akciğer dokuları ve kontrol grubunda TRPM2 pozitifliği saptamadık.

Mesane, kolon, böbrek, akciğer ve deride Piezo1 ekspresyonu elde edilmiştir. Bu pattern ratlarda nortern blot analizleriyle de doğrulanmıştır. Piezo1 ayrıca deride de ekspresyondadır. Kolon,

mesane ve akciğerde yoğun olarak ekspresyona olan Piezo 2'nin ayrıca dorsal rat iletim nöronlarında da güçlü bir ekspresyonu elde edilmiştir. Yapısal olarak 6 transmembran unitinin 4 defa tekrarını içeren 24 transmembran alanlı voltajla aktive olan sodyum kanallarına benzemektedir. Endoplazmik retikulumda (ER) da Piezo1 proteini bulunduğundan piezo proteinleri hem intrasellüler kompartimanlarda hem de hücre membranında rol oynayabilirler.^{21,22} Çalışmamızda akciğer kanserli dokularda Piezo2'yi artmış olarak bulduk. Bu da, Piezo1'in akciğer kanseri tedavisinde, terapötik bir hedef olarak değerlendirilebileceğini göstermektedir.

Gelecekte her bir bireye ait tümör bilgisi kullanılarak kanser tedavisinin yapılabileceği düşünülmektedir. Böylelikle, standart terapötik strateji yerini, hasta ilişkili veriler kullanılarak bireye yönelik tedavi protokolüne bırakacaktır. Bu konuda hem yüksek oranda kişiselleştirilmiş tanıyı hem de hasta spesifik ve hedeflenmiş kanser tedavisini iyon kanalları güçlendirmektedir.¹⁶ Son yapılan çalışmalar, kanser tedavisinde TRP kanallarının önemli hedefler olduğunu göstermektedir. Kanser gelişimi ve progresyonunda bu kanalların ekspresyonu ve aktivitesi spesifik evreleri düzenlemektedir.³ Bu çalışmada amacımız, ülkemizde ve dünyada oldukça sık görülen akciğer kanserinin, TRPM ve piezo iyon kanalları ile ilişkili olup olmadığını ortaya çıkarmak ve terapötik bir hedef olarak belirlemektir. Bunun sonucunda kanser tedavisinde önemli bir süreç başlatılacaktır.

Finansal Kaynak

Bu çalışma sırasında, yapılan araştırma konusu ile ilgili doğrudan bağlantısı bulunan herhangi bir ilaç firmasından, tıbbi alet, gereç ve malzeme sağlayan ve/veya üreten bir firma veya herhangi bir ticari firmadan, çalışmanın değerlendirme sürecinde, çalışma ile ilgili verilecek kararı olumsuz etkileyebilecek maddi ve/veya manevi herhangi bir destek alınmamıştır.

Çıkar Çatışması

Bu çalışma ile ilgili olarak yazarların ve/veya aile bireylerinin çıkar çatışması potansiyeli olabilecek bilimsel ve tıbbi komite üyeliği veya üyeleri ile ilişkisi, danışmanlık, bilirkişilik, her-

hangi bir firmada çalışma durumu, hissedarlık ve benzer durumları yoktur.

Yazar Katkıları

Fikir/Kavram: Suna Polatoğlu, Akın Eraslan Balcı, Ebru Önalın, Ahmet Tektemur, Muharrem Çakmak; **Tasarım:** Suna Polatoğlu, Akın Eraslan Balcı, Ebru Önalın, Ahmet Tektemur, Muharrem Çakmak; **Denetleme/Danışmanlık:** Akın Eraslan Balcı, Mu-

harrem Çakmak; **Veri Toplama ve/veya İşleme:** Suna Polatoğlu, Ebru Önalın, Ahmet Tektemur; **Analiz ve/veya Yorum:** Muharrem Çakmak, Suna Polatoğlu; **Kaynak Tara-ması:** Ebru Önalın, Ahmet Tektemur, Suna Polatoğlu; **Ma-kalenin Yazımı:** Muharrem Çakmak, Suna Polatoğlu; **Eleştirel İnceleme:** Akın Eraslan Balcı, Ebru Önalın; **Kaynaklar ve Fon Sağlama:** Suna Polatoğlu, Ebru Önalın, Ahmet Tektemur; **Malzemeler:** Suna Polatoğlu.

KAYNAKLAR

- Jiang BH, Liu LZ. PI3K/PTEN signaling in tumorigenesis and angiogenesis. *Biochem Biophys Acta*. 2008;1784(1):150-8. [Crossref]
- Gautier M, Dhennin-Duthille I, Ay AS, Rybarczyk P, Korichneva I, Ouadid-Ahidouch H. New insights into pharmacological tools to TRP cancer up. *Br J Pharmacol*. 2014;171(10):2582-92. [Crossref] [PMC]
- Santoni G, Farfariello V, Amantini C. TRPV channels in tumor growth and progression. *Adv Exp Med Biol*. 2011;704(4):947-67. [Crossref]
- Shapovalov G, Lehen'kyi V, Skryma R, Prevarskaya N. TRP channels in cell survival and cell death in normal and transformed cells. *Cell Calcium*. 2011;50(3):295-302. [Crossref]
- Lazzeri M, Costantini E, Porena M. TRP family proteins in the lower urinary tract: translating basic science into new clinical prospective. *Ther Adv Urol*. 2009;1(1):33-42. [Crossref] [PMC]
- Guilbert A, Gautier M, Dhennin-Duthille I, Rybarczyk P, Sahni J, Sevestre H, et al. Transient receptor potential melastatin 7 is involved in oestrogen receptor-negative metastatic breast cancer cells migration through its kinase domain. *Eur J Cancer*. 2013;49(17):3694-707. [Crossref]
- Middelbeek J, Kuipers AJ, Henneman L, Visser D, Eindhoven I, van Horsen R, et al. TRPM7 is required for breast tumor cell metastasis. *Cancer Res*. 2012;72(16):4250-61. [Crossref]
- Trapani V, Arduini D, Cittadini A, Wolf FI. From magnesium to magnesium transporters in cancer: TRPM7, a novel signature in tumour development. *Magn Res*. 2013;26(4):149-55.
- Baldoli E, Maier JA. Silencing TRPM7 mimics the effects of magnesium deficiency in human microvascular endothelial cells. *Angiogenesis*. 2012;15(1):47-57. [Crossref]
- Kim BJ, Nah SY, Jeon JH, So I, Kim SJ. Transient receptor potential melastatin 7 channels are involved in ginsenoside Rg3-induced apoptosis in gastric cancer cells. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*. 2011;109(4):233-9. [Crossref]
- Zhang L, Barritt GJ. TRPM8 in prostate cancer cells: a potential diagnostic and prognostic marker with a secretory function? *Endocr Relat Cancer*. 2006;13(1):27-38. [Crossref]
- Clapham DE, Montell C, Schultz G, Julius D; International Union of Pharmacology. XLIII. Compendium of voltage-gated ion channels: transient receptor potential channels. *Pharmacol Rev*. 2003;55(4):591-6. [Crossref]
- Schönherr R. Clinical relevance of ion channels for diagnosis and therapy of cancer. *J Membr Biol*. 2005;205(3):175-84. [Crossref]
- Prevarskaya N, Zhang L, Barritt G. TRP channels in cancer. *Biochim Biophys Acta*. 2007;1772(8):937-46. [Crossref]
- Prawitt D, Enklaar T, Klemm G, Gärtner B, Spangenberg C, Winterpacht A, et al. Identification and characterization of MTR1, a novel gene with homology to melastatin (MLSN1) and the TRP gene family located in the BWS-WT2 critical region on chromosome 11p15.5 and showing allele-specific expression. *Hum Mol Genet*. 2000;9(2):203-16. [Crossref]
- Parajuli SP, Hristov KL, Sullivan MN, Xin W, Smith AC, Earley S, et al. Control of urinary bladder smooth muscle excitability by the TRPM4 channel modulator 9-phenanthrol. *Channels (Austin)*. 2013;7(2):537-40. [Crossref] [PMC]
- Suguro M, Tagawa H, Kagami Y, Okamoto M, Ohshima K, Shiku H, et al. Expression profiling analysis of the CD5+ diffuse large B-cell lymphoma subgroup: development of a CD5 signature. *Cancer Sci*. 2006;97(9):868-74. [Crossref]
- Simon F, Varela D, Cabello-Verrugio C. Oxidative stress-modulated TRPM ion channels in cell dysfunction and pathological conditions in humans. *Cell Signal*. 2013;25(7):1614-24. [Crossref]
- Orfanelli U, Wenke AK, Doglioni C, Russo V, Bosserhoff AK, Lavorgna G. Identification of novel sense and antisense transcription at the TRPM2 locus in cancer. *Cell Res*. 2008;18(11):1128-40. [Crossref]
- Xiao R, Xu XZ. Mechanosensitive channels: in touch with Piezo. *Curr Biol*. 2010;20(21):R936-8. [Crossref] [PMC]
- McHugh BJ, Buttery R, Lad Y, Banks S, Haslett C, Sethi T. Integrin activation by Fam38A uses a novel mechanism of R-Ras targeting to the endoplasmic reticulum. *J Cell Sci*. 2010;123(Pt 1):51-61. [Crossref]