



**T.C
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**



YÜKSEK LİSANS TEZİ

**RANOLAZİNE'İN DUNNING MODELİ SIÇAN PROSTAT
KANSERİ ÜZERİNDEKİ ROLÜ:PRİMER TÜMÖR VE
METASTAZLAR**

Zeynep KARAGÖZ

Biyoloji Anabilim Dalı

Radyobiyoloji Programı

Danışman

Prof. Dr. Seyhan ALTUN

Mart, 2015

İSTANBUL

Bu çalışma 16/03/2015 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Biyoloji Anabilim Dalı Genel Biyoloji programında Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Jürisi:



Prof.Dr. Seyhan ALTUN (Danışman)
İstanbul Üniversitesi
Fen Fakültesi



Prof.Dr.Aysın COTUK
İstanbul Üniversitesi
Fen Fakültesi



Doç.Dr. Ömür BULAN
İstanbul Üniversitesi
Fen Fakültesi



Doç.Dr. Pelin ARDA-PIRİNÇÇİ
İstanbul Üniversitesi
Fen Fakültesi



Yrd.Doç.Dr.Suna ÖZBAŞ-TURAN
Marmara Üniversitesi
Eczacılık Fakültesi

Bu alışma İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yürütücü Sekreterliğinin 39488 numaralı projesi ile desteklenmiştir.

ÖNSÖZ

Yüksek lisans eğitimim boyunca bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım, birlikte çalışmaktan onur duyduğum danışman hocam Prof. Dr. Seyhan ALTUN'a,

Tez konumun şekillenmesindeki desteklerinden dolayı Imperial College of Science, Technology and Medicine, Biological Science Department (Londra, İngiltere)'dan Prof. Dr. Mustafa B. A. DJAMGOZ'e,

İstatistik değerlendirmelerle ilgili desteklerinden dolayı Prof. Dr. Ömer ALTUN'a,

Laboratuvar çalışmaları esnasında maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen çalışma arkadaşlarım Araş. Gör. Dr. İlknur BUGAN'a, yüksek lisans öğrencileri Selma KÜÇÜK ve Gökçe ERDEMİR'e,

Her zaman olduğu gibi hayatımın bu döneminde de beni yalnız bırakmayan, dostlukları ve manevi destekleriyle güç bulduğum arkadaşlarım, Burcu AYDIN AYDEMİR'e ve Serap AKKAYA'ya teşekkür ederim.

En büyük teşekkür, beni bu günlere getiren, verdiğim her kararın arkasında duran ve her şeyi borçlu olduğum annem, babam ve kardeşlerimdir.

Bu çalışma aynı zamanda TÜBİTAK'ın 110T890 numaralı projesi ile desteklenmiştir.

Mart, 2015

Zeynep KARAGÖZ

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

ÖNSÖZ.....	i
İÇİNDEKİLER	ii
ŞEKİL LİSTESİ.....	iv
TABLO LİSTESİ	vi
SİMGE VE KISALTIMA LİSTESİ	vii
ÖZET.....	viii
SUMMARY	x
1. GİRİŞ	1
2. GENEL KISIMLAR	4
2.1. KANSER	4
2.2. PROSTAT BEZİ.....	5
2.2.1. Prostat Bezi Patolojileri	7
2.3. PROSTAT KANSERİ	8
2.3.1. Prostat Kanseri Risk Faktörleri	8
2.3.2. Prostat Kanserinin Evreleri	9
2.3.4. Prostat Kanserinin Metastatik Yayılımı	11
2.3.5. Prostat Kanserinde Tanı ve Tedavi	11
2.4. PROSTAT KANSERİNDE DENEYSEL MODELLER.....	13
2.5. İYON KANALLARI	14
2.6. RANOLAZİNE (RNL)	18
3. MALZEME VE YÖNTEM	21
3.1. MAT-LYLU HÜCRELERİNİN YETİŞTİRİLMESİ.....	21
3.2. HAYVANLAR VE PROSTAT TÜMÖRÜNÜN OLUŞTURULMASI	21
3.3. RANOLAZİNE'İN HAZIRLANMASI VE UYGULANMASI	22
3.4. PRİMER TÜMÖR.....	23
3.5. PRİMER TÜMÖR GELİŞİMİNİN İZLENMESİ	23
3.6. AKCİĞER METASTAZLARI.....	23
3.7. HAYVANLARIN YAŞAM SÜRESİNİN İNCELENMESİ.....	24
3.8. İSTATİSTİK DEĞERLENDİRME.....	24

4. BULGULAR	25
4.1. VÜCUT AĞIRLIĞI VE PRİMER TÜRÖR	25
4.2. PRİMER TÜRÖR GELİŞİMİNİN İZLENMESİ	29
4.3. AKCİĞER METASTAZLARI.....	32
4.3.1. Metastaz Sayısı	32
4.3.2. Metastaz Büyüklüğü	35
4.3.3. Metastaz Taşıyan Akciğer AĞırlığı.....	40
4.4. HAYVANLARIN YAŞAM SÜRÉSİ (SAĞ KALIM).....	41
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	45
KAYNAKLAR	52
ÖZGEĐMİŐ	60

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa No

Şekil 2.1: Kanserin metastatik yayılımı.....	5
Şekil 2.2: Prostatın bölgesel anatomisi.....	7
Şekil 2.3: Prostat kanserinin evreleri.....	10
Şekil 2.4: Prostat kanserinin metastaz yaptığı organlar.....	11
Şekil 2.5: Dunning modeline ait MAT-LyLu hücrelerinin orijini.....	14
Şekil 2.6: Voltaj kapılı sodyum kanalının (VGSC) yapısı.....	15
Şekil 2.7: VGSC membran bileşenleri ve hipoksianın etkisi.....	16
Şekil 2.8: Na ⁺ , Ca ⁺² ve K ⁺ kanallarındaki artışın, çeşitli kanserlerdeki hücrenel süreçlere etkisi.....	17
Şekil 2.9: Ranolazine'in kimyasal formülü.....	18
Şekil 3.1: <i>În vitro</i> olarak yetiştirilen Mat-LyLu sıçan prostat kanser hücreleri.....	21
Şekil 3.2: Mat-LyLu hücrelerinin, Copenhagen ırkı erkek sıçanların deri altına inokülasyonu..	22
Şekil 4.1: 22. günde Dunning modeli sıçan prostat kanseri.....	27
Şekil 4.2: 22. günde çıkarılan farklı büyüklükteki primer prostat tümörleri.....	27
Şekil 4.3: RNL (2,5 µM, 5 µM ve 10 µM) tedavi grubundaki sıçanların primer tümör ağırlıkları.....	28
Şekil 4.4: FTS ve RNL (2,5 µM) gruplarında rölatif tümör hacmi yöntemiyle primer tümör gelişimi.....	30
Şekil 4.5: FTS ve RNL (5 µM) gruplarında rölatif tümör hacmi yöntemiyle primer tümör gelişimi.....	31
Şekil 4.6: FTS ve RNL (10 µM) gruplarında rölatif tümör hacmi yöntemiyle primer tümör gelişimi.....	32
Şekil 4.7: Mat-LyLu hücrelerinin inokülasyonu ile oluşturulan deneysel prostat kanseri modelinde hayvanların akciğerlerinde 22. günde gözlenen metastazlar.....	33
Şekil 4.8: FTS ve RNL gruplarındaki sıçanların akciğer yüzeyinde tespit edilen metastaz sayısı.....	34

Şekil 4.9: FTS ve RNL (2,5 µM, 5 µM, 10 µM) gruplarındaki hayvanların primer tümör ağırlığı ile metastaz sayısı arasındaki ilişki.	35
Şekil 4.10: FTS ve RNL (2,5 µM) gruplarında akciğerdeki metastaz büyüklükleri.	37
Şekil 4.11: FTS ve RNL (5 µM) gruplarında akciğerdeki metastaz büyüklükleri.	38
Şekil 4.12: FTS ve RNL (10 µM) gruplarında akciğerdeki metastaz büyüklükleri.	40
Şekil 4.13: Mat-LyLu hücrelerinin inokülasyonu ile prostat kanserli hale getirilen Copenhagen sıçanların Kaplan-Meier analizi ile belirlenen sağ kalım eğrileri.	42
Şekil 4.14: RNL'nin yaşam süresi üzerine etkisinin değerlendirilmesinde rölatif tümör hacmi yöntemiyle primer tümör gelişimi.	43
Şekil 4.15: FTS ve 5 µM RNL grupları sağkalım değerlendirmesindeki hayvanların primer tümörleri	44
Şekil 4.16: FTS ve RNL (5 µM) gruplarındaki hayvanların akciğerleri	44

TABLO LİSTESİ

Sayfa No

Tablo 4.1: FTS ve RNL grubundaki hayvanların başlangıç ve 22. gündeki vücut ağırlıkları ...	26
Tablo 4.2: Farklı dozlarda RNL ile tedavi edilen sıçanların primer tümör ağırlıkları	28
Tablo 4.3: FTS ve 2,5 µM RNL gruplarındaki sıçanların akciğerlerindeki metastazların, çaplarına göre sınıflandırılması sonucu elde edilen ortalama metastaz sayıları.	36
Tablo 4.4: FTS ve 5 µM RNL gruplarındaki sıçanların akciğerlerindeki metastazların, çaplarına göre sınıflandırılması sonucu elde edilen ortalama metastaz sayıları.	38
Tablo 4.5: FTS ve 10 µM RNL gruplarındaki sıçanların akciğerlerindeki metastazların çaplarına göre sınıflandırılması sonucu elde edilen ortalama metastaz sayıları.	39
Tablo 4.6: FTS ve RNL gruplarındaki hayvanların toplam metastaz yükünü belirlemek üzere ortalama akciğer ağırlıkları.....	41

SİMGE VE KISALTMA LİSTESİ

Simgeler Açıklama

Ca^{+2}	: Kalsiyum
K^{+}	: Potasyum
Na^{+}	: Sodyum
α	: Alfa
β	: Beta

Kısaltmalar Açıklama

ABD	: Amerika Birleşik Devletleri
BPH	: Selim prostat hiperplazisi
Cmax	: Maksimum plazma konsantrasyonu
EC50	: Etkili konsantrasyon
FDA	: Amerikan İlaç ve Besin Birliği
FTS	: Fizyolojik tuzlu su
HEK293	: İnsan embriyonik böbrek hücreleri
IARC	: Uluslararası Kanser Ajansı
INa_(P)	: Israrlı sodyum kanal akımı
INa_(T)	: Geçici sodyum kanal akımı
PRM	: Parmakla rektal muayene
PSA	: Prostat spesifik antijen
RNL	: Ranolazine
TRUS	: Transrektal ultrasonografi
TTX	: Tetrodotoksin
VGSC	: Voltaj kapılı sodyum kanalı

ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

RANOLAZİNE'İN DUNNING MODELİ SIÇAN PROSTAT KANSERİ ÜZERİNDEKİ ROLÜ:PRİMER TÜMÖR VE METASTAZLAR

Zeynep KARAGÖZ

İstanbul Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Seyhan ALTUN

Prostat kanseri, özellikle elli yaşın üzerindeki erkeklerde yaygın olarak görülen kanserlerden biridir. Prostat kanserinin tedavisi için çeşitli yöntemler bulunmakla birlikte, hastalığın ilerleyerek vücudun diğer bölümlerine yayılması (metastaz) kaçınılmaz olur ve kısa zaman sonra ölüm meydana gelir. On yılı aşan bir süredir tümör hücrelerinde bulunan voltaj kapılı iyon kanalları ile metastaz arasında bir ilişki bulunduğu ve bu kanalların bazı ajan ve/veya ilaçlarla bloke edilmesiyle metastazın engellenebileceği hipotezi prostat ve meme kanserlerinde test edilmektedir.

Sıklıkla egzersiz ya da yüksek aktivite ile vücudun üst yarısında karnın üst kısmı ile boyun arasında kalan bölgede herhangi bir yerde rahatsızlık ya da göğüs ağrısı şeklinde kendini gösteren anjina pectoris (kalbi besleyen damarların daralması/tıkanması ile ortaya çıkan göğüs ağrısı) tedavisinde kullanılmaya başlayan Ranolazine (RNL) etkisini hücrelerin iyon kanalları üzerinde göstermekte ve ısrarlı akım inhibitörü olarak Na^+ akımını bloke etmektedir.

Çalışmamızda, yüksek metastatik karakterli Mat-LyLu sıçan prostat kanser hücrelerinin, Copenhagen ırkı erkek sıçanlara deri altına inokülasyonu ile oluşturulan deneysel prostat kanseri modelinde, sıçanların ısrarlı akım inhibitörü olarak Na^+ akımını bloke eden RNL ile tedavi edilmesi sonucunda; primer tümör, akciğer yüzeyindeki metastaz sayısı ve metastaz boyutu üzerindeki etkisi ile sağ kalımın araştırılması amaçlanmıştır.

Bu amaçla, kontrol grubundaki hayvanlar fizyolojik tuzlu su (FTS) ile deney grubundaki hayvanlar ise, RNL (2,5 μ M, 5 μ M, 10 μ M) ile iki günde bir, 1 ml olmak üzere 22. güne kadar gavaj yoluyla tedavi edilmişlerdir. 22. günde hayvanların primer

tümör ağırlıkları, akciğerlerindeki metastaz sayıları ve metastaz boyutları tespit edilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre; kullanılan tüm dozlarda RNL'nin primer tümör üzerinde anlamlı bir etki meydana getirmediği saptanmıştır. 5 µM RNL'nin metastaz sayısını % 46,56 oranında anlamlı (P<0,05) olarak inhibe ettiği belirlenmiştir. 2,5 µM ve 5 µM RNL'nin 0,1-1 mm çapa sahip metastaz sayısını sırasıyla % 54,6 ve % 57,27 oranında anlamlı (P<0,05) olarak inhibe ederken, 10 µM RNL stimülasyona (P<0,05) neden olmuştur. Ayrıca 5 µM RNL, prostat kanserli sıçanların sağ kalımını artırıcı yönde etki göstermiştir.

Sonuç olarak, ısrarlı akım blokeri olan RNL'nin (5 µM) prostat kanseri metastazını azalttığı ve sağ kalımı artırdığı ilk kez ortaya konmuştur.

Mart, 2015, 72 sayfa.

Anahtar kelimeler: Prostat kanseri, Dunning modeli, Voltaj kapılı sodyum kanalı (VGSC), Metastaz, Ranolazine.

SUMMARY

M.Sc. THESIS

THE ROLE OF RANOLAZINE ON THE DUNNING MODEL RAT PROSTATE CANCER: PRIMER TUMOR AND METASTASIS

Zeynep KARAGÖZ

İstanbul University

Institute of Graduate Studies in Science and Engineering

Department of Biology

Supervisor: Prof. Dr. Seyhan ALTUN

Prostate cancer is one of the most frequent malignancy especially in men over the age of fifty. Although there are a variety of methods for the treatment of prostate cancer, the disease is inevitable spread to other parts of the body (metastasis) , and the death occurs after shortly. For more than years, in found a relationship between voltage-gated ion channels in the cells of the tumor and metastasis and of these channels being tested hypothesis that can be prevented metastasis with blocking by agent and / or drugs of prostate and breast cancer.

Angina pectoris showing itself in the form of pain discomfort or chest pain in anywhere in between the neck and the upper abdomen the upper half of body with often exercise or high activity (chest pain associated with the arteries that nourish the heart narrowing /obstruction) beginning Ranolazine (RNL) to use in the treatment shows the effect on ion channels of the cells and as inhibitors block the Na⁺ persistent current flows.

In our study, our aim is to investigate that on experimental prostate cancer model which is generated by inoculation under the skin Copenhagen breed male rats of high metastatic character Mat-LyLu rat prostate cancer cells, as a result of rats treatment with RNL blocking the Na⁺ current which is persistent current inhibitor; effect on primary tumors, the number of lung surface metastases and metastasis size with survival.

For this purpose, the animals in the control group with physiological saline (PBS), the animals in the experimental group with RNL (2.5 µM, 5 µM, 10 µM) and once in two days, they were treated by gavage to 22 days, including 1 ml. Primary tumor weight of the animals the metastases size and number of metastases of the lung was determined on day 22. According to the obtained results; RNL's in all doses used been found to not produce a significant effect on the primers tumor. 5 µM RNL's was determined to inhibit 46.56 % of the number of metastases by significantly (P <0,05). While 2.5 µM

and 5 μM RNL's were inhibiting by significantly the number of metastases with of 0.1-1 mm in diameter 54.6 % and 57.27 % ($P<0,05$) respectively, 10 μM RNL stimulation ($P<0,05$) as well. In addition, 5 μM RNL showed the effect of increasing direction on the survival of rat prostate cancer.

As a result, it is demonstrated that RNL (5 μM)'s of the persistent current blockers to reduce prostate cancer metastasis and increased survival for the first time.

March, 2015, 72 pages.

Keywords: Prostate cancer, Dunning model, voltage-gated sodium channel (VGSC), metastasis, Ranolazine.

1. GİRİŞ

Gelişimi ve sonuçları açısından bir kişiden diğerine çok değişkenlik gösteren kanser, kompleks bir hastalık olup, aynı çeşitliliği, hücresel ve moleküler düzeyde de göstermektedir. Kanser, hücrelerin aşırı ve zamansız çoğalmalarına, immün sistemin gözetiminden kaçmalarına ve son olarak da uzaktaki dokuları istila ederek metastazlar oluşturmalarına yol açan metabolik ve davranış değişikliklerini kapsayan, çok basamaklı bir süreç olarak tanımlanmaktadır (Merlo ve diğ., 2006).

Uluslararası Kanser Ajansı (IARC) tarafından yayınlanan GLOBOCAN 2012 verilerine göre, 2012 yılında tüm Dünya’da 14,1 milyon yeni kanser vakası gelişmiş ve 8,2 milyon kansere bağlı ölüm gerçekleşmiştir. Ülkemizde ise, Türkiye Halk Sağlığı Kurumu Kanser Daire Başkanlığı 2009 yılı kanser istatistiklerine göre her yıl yaklaşık 98 bin erkek ve 63 bin kadın kansere yakalanmaktadır (Gültekin ve Boztaş, 2014). Kanser günümüzde bu kadar geniş yer tutarken, kanserin tanı ve tedavisine yönelik çalışmalar da hız kazanmıştır.

Kanser hastalığının ölümlerle son bulmasındaki temel sebep, çoğu kez primer tümör değil, metastazlardır. Metastatik süreç; primer tümör kitlesinden ayrılan invaziv karakterli hücrelerin lenf veya kan damarlarının duvarına yapışarak dolaşıma girmesi ve uzak doku veya organlarda tutunarak ikincil tümör odaklarını, metastazları meydana getirmelerini kapsar (Khanna ve Hunter, 2005; Tapon ve Ziebold, 2008).

Prostat kanseri Amerika Birleşik Devletleri (ABD)’nde erkeklerde en sık teşhis edilen kanser türlerinden biridir ve kanserden meydana gelen ölüm nedenleri arasında ikinci sırada yer almaktadır (Siegel ve diğ. 2012). Prostat kanserinin gelişmesinde rol alan spesifik nedenler henüz tam olarak bilinmemekle beraber, genetik ve çevresel faktörlerin, hastalığın gelişiminde önemli rol oynadığı bildirilmiştir. Prostat kanserinin başlıca risk faktörleri arasında; yaş, ırk, ailesel faktörler, androjenler ve diyet sayılabilir. Tanı konulan prostat kanserinde tedavi şekilleri hastalığın lokalize veya metastatik evrede oluşuna göre değişiklik göstermektedir. Hastalık lokalize evredeyken; cerrahi

(radikal prostatektomi), radyoterapi ve izleyerek bekleme yöntemleri (Heidenreich ve diğ., 2011); metastatik evrede ise, hormon tedavisi kullanılmaktadır.

İyon kanalları, hücre zarında yer alan ve açılıp kapanarak partiküler iyonların zardan geçişini sağlayan transmembran proteinlerdir (Foster ve diğ., 1999; Denac ve diğ., 2000). Son yıllarda diğer kanser türlerinde olduğu gibi, prostat kanserinin tanı ve tedavisine yönelik çalışmalarda da araştırmacılar ümit vadeden bir saha olarak “iyon kanallarının kanserin gelişimi ve ilerlemedeki rolleri “ konusunda yoğunlaşmaktadır. Voltaj kapılı sodyum kanalı (VGSC) ile yapılan *in vitro* çalışmalar, bu kanalların fonksiyonunun, kanser hücrelerinin metastazıyla ilişkili olduğunu ve kanalın fonksiyonu inhibe edildiğinde metastatik aktivitede de inhibisyon meydana geldiğini ortaya koymuştur (Grimes ve diğ., 1995; Onganer ve Djamgoz 2005; Fulgenzi ve diğ., 2006; Roger ve diğ., 2007; Gao ve diğ., 2009; Nakajima ve diğ., 2009; House ve diğ., 2010; Hernandez-Plata ve diğ., 2011).

Klinikte anjina pektoris tedavisi için kullanılan antianjinal ilaçlardan Ranolazine (RNL) ile yapılan çalışmalar, diastolik ve sistolik kalp yetmezliği veya iskemi esnasında iyon kanallarının (Na^+) paralel olarak da hücrede Na^+ 'nın arttığı, pozitif feedback yolu ile Ca^{+2} artışı sonucu kalpte oluşan ağrı, kasılma, fonksiyon bozuklukları üzerine ilacın terapötik bir etki gösterdiğini ortaya koymuştur (Sossalla ve diğ., 2008). Na^+ iyon kanallarını bloke ederek etki gösteren RNL kalpteki diastolik fonksiyonları iyileştirmekte ve iskemi sonrasındaki bozuklukları azaltmaktadır (Filardi, 2011).

Çalışmamız, “VGSC’lerin, prostat kanserinin metastatik potansiyelinde kuvvetlendirici bir role sahip olduğu ve kanalların bloklanmasıyla metastatik yayılmanın baskılanabileceği” hipotezine dayanmaktadır. Çalışmamızın amacı, genel olarak kanser ve metastatik hastalıklara karşı geliştirilen bu iyon kanalı hipotezi ile *in vitro* dan temel olarak RNL’nin Dunning modeli sıçan prostat kanseri üzerindeki etkisinin *in vivo* olarak belirlenmesidir.

Bu amaca yönelik olarak yüksek metastatik karakterli Mat-LyLu hücreleri ile Copenhagen ırkı erkek sıçanlarda oluşturulan *in vivo* modelde, günümüzde anjina pektoris için kullanılan RNL’nin temel hedefinden farklı yeni bir alan olan prostat

kanserinde, primer tümör, akciğerdeki metastaz sayısı ve metastaz boyutu üzerindeki etkisi ilk kez ortaya çıkarılacaktır.

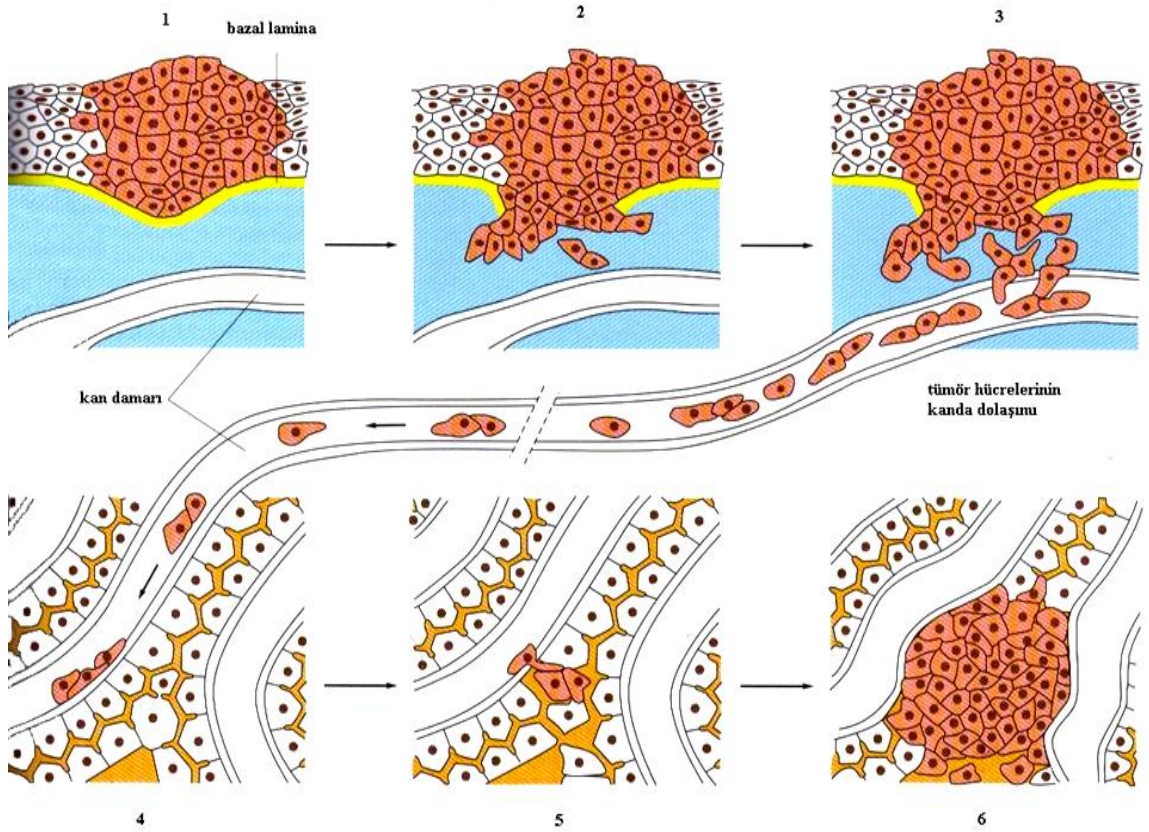
2. GENEL KISIMLAR

2.1. KANSER

Kanser, çevresel faktörlerin de etkisi ile hücrenin çoğalmasını, farklılaşmasını ve sağ kalımını kontrol eden genlerdeki mutasyonlar sonucu ortaya çıkan, bir hastalık olarak kabul edilmektedir (Hoang ve diğ., 2007). Kanser lokalize evrede iken, tanı konulması ile birlikte merak edilen en önemli soru, tümörün metastatik yayılım gösterip göstermeyeceğidir. Çünkü kanserden meydana gelen ölümlerde yaygın olan temel sebep, primer tümör değil, metastazlardır (Djamgoz ve diğ., 2014).

Metastatik sürecin gerçekleşebilmesi için, hücrelerin primer tümör kitlesinden ayrılarak, konak doku stromasına yayılım göstermesi, bölgesel lenf veya kan damarını kullanarak dolaşıma girmesi, dolaşımda yaşamını devam ettirmesi, metastaz yapacağı hedef organın kapillerini aşarak dokuya geçmesi ve yeni ortama adapte olarak çoğalabilmesini sağlayacak olan anjiyogenezi de uyararak, sekonder tümörü oluşturması gerekir (Şekil 2.1) (Bacac ve Stamenkovic, 2007; Lunt ve diğ., 2009).

Uluslararası Kanser Ajansı (IARC) tarafından yayınlanan GLOBOCAN 2012 verilerine göre 2012 yılında tüm Dünya'da 14,1 milyon yeni kanser vakası gelişmiş olup, kanser artış hızının devam etmesi durumunda, Dünya nüfusunun artışına ve nüfustaki yaşlanmaya bağlı olarak 2025 yılında toplam 19,3 milyon yeni kanser vakasının gerçekleşmesi beklenmektedir. Dikkat çeken bir diğer nokta ise, gerek kanser vakalarına (% 56,8) gerekse kansere bağlı ölümlerin (% 64,9) yarısından fazlasının az gelişmiş ülkelerde karşılaşıyor olmasıdır. Prostat kanseri insidansına bakıldığında, sağlıkla ilgili istatistiklerin iyi tutulduğu Amerika Birleşik Devletleri'nde (ABD) en sık rastlanılan katı tümördür ve kanserden meydana gelen ölümlerde ikinci sırada yer almaktadır. ABD'de 2012 yılında yaklaşık olarak 240.000 yeni prostat kanseri tanısı konmuş ve 28.000'in üzerinde ölümün gerçekleştiği belirtilmiştir (Siegel ve diğ., 2012).



Şekil 2.1: Kanserin metastatik yayılımı.

1. Değişikliğe uğramış tek bir hücrenin oluşturduğu primer tümör 2. Tümör hücrelerinin bazal laminadan geçerek hücre dışı matrikse çıkışı 3. Hücrelerin kan damarına girişi 4. Dolaşımdaki hücrelerin endotele yapışması 5. Hücrelerin damar dışına çıkması 6. Hedef organda oluşan sekonder tümör (Alberts ve diğ., 2002).

2.2. PROSTAT BEZİ

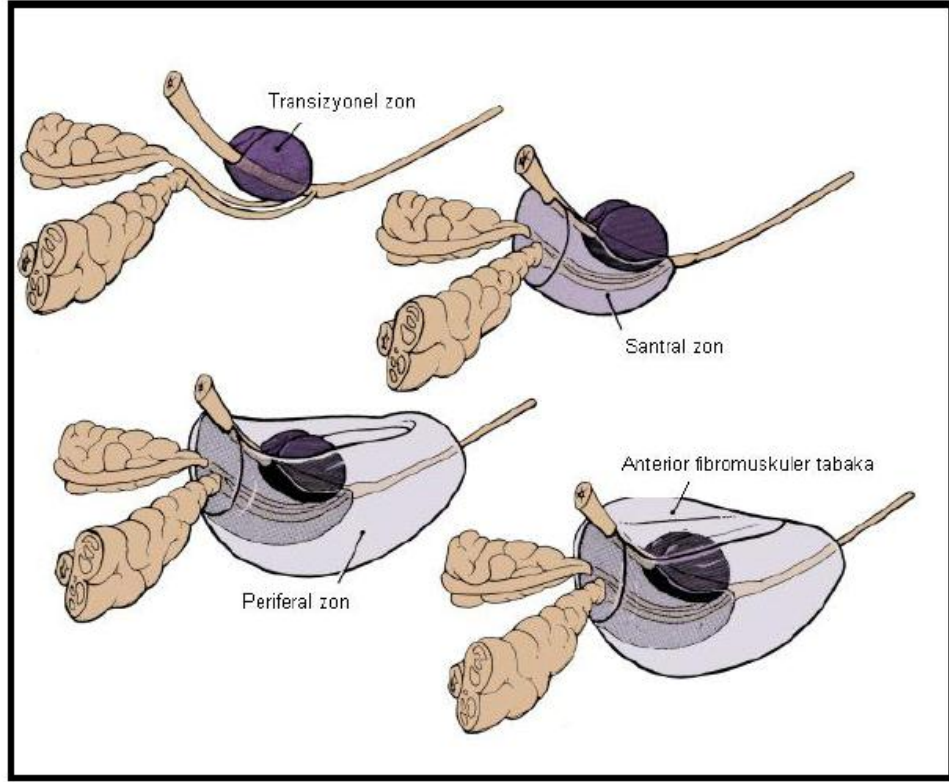
Prostat bezi erkeklerde bulunan bir dış salgı bezi olarak idrar kesesinin (mesane) hemen altında, bağırsağın son kısmı olan rektumun önünde yer alır. Prostat bezi 3 cm yüksekliğinde, 4 cm genişliğinde ve 2 cm kalınlığında iri bir ceviz büyüklüğünde olup yaklaşık 18-20 gr ağırlığındadır. Klasik olarak ters çevrilmiş koni şeklinde tarif edilen prostat bezinin tabanı (mesaneye bakan yüzü) yukarıda, arkaya yönelmiş olan tepesi ise, aşağıda bulunur (Erkoçak, 1982; Arıncı, 1993).

Embriyonik gelişim esnasında mezonefrik kanal girişinin altında ve üstünde bulunan üretral epitel tomurcuklarından köken alan prostat, 11. haftanın sonunda 5 ayrı grup halinde gelişir ve 16. haftada gelişmesi tamamlanır. Bu tübüler oluşumlar dallanmakta ve ürogenital sinüsün etrafında farklılaşan mezenkimal hücrelerle karışan karmaşık bir

kanal sistemiyle sonuçlanmaktadır. Sözü edilen mezenkimal hücreler 16. haftada tübüllerin çevresinde gelişmeye başlar ve daha da yoğunlaşarak prostatik kapsülü oluşturur (Tanagho ve diğ., 2004).

Prostat bezi salgısı baziktir. Prostat salgısının bazik oluşu fertilizasyonda önem taşımaktadır. Spermilerin vajinanın asidik ortamında tahrip olmasını, ortamı alkali hale getirerek önler. Prostat bezi içerisinde, su, çinko, asit fosfotaz, sitrik asit, kalsiyum, kolesterol, amilaz, tamponlayıcı tuzlar, fosfolipitler, prostoglandinler, fibrinojen, seminaplazmin adı verilen antibiyotik, β -mikroseminoprotein ve prostat spesifik antijen (PSA) içeren bir sıvı salgılar (Şakul, 2001; Drake ve diğ., 2005; Standring, 2005).

Anatomik diseksiyon çalışmaları ile ilk olarak 1968 yılında McNeal tarafından ortaya konulan, prostat dokusunun prostatik üretra ile olan ilişkisine dayanan sınıflandırmaya göre, prostat; periferal zon, santral zon, transisyonel zon, anterior veya ventral fibromuskuler stroma ve preprostatik sfinkterik zondan meydana gelmektedir (Crawford, 2009). Periferal zon, santral zon ve transisyonel zon, prostatın glanduler kısmına karşılık gelirken, anterior veya ventral fibromuskuler stroma ile preprostatik sfinkterik bölge, prostat dokusunun non-glanduler kısmını oluşturmaktadır (Şekil 2.2).



Şekil 2.2: Prostatın bölgesel anatomisi.

2.2.1. Prostat Bezi Patolojileri

Benign (selim) prostat hiperplazisi (BPH), prostat bezinin iyi huylu büyümesi olup, prostat bezi patolojileri arasında en sık karşılaşılan patolojik durumdur. BPH, genellikle 40 yaş üstündeki erkeklerde görülmekte ve 50 yaş üstü erkeklerin % 50'sinde, 60-70 yaş arasındaki erkeklerin % 65'inde ve 80 yaş üstünde ise, % 90 oranında gelişim gösterir (Logan ve diğ., 2005; Mark, 2008).

Prostatit, çeşitli faktörler nedeniyle prostatın iltihaplanması durumuna verilen isimdir. Prostat kanseri ve BPH genellikle 50 yaş üstü erkeklerde görülürken, 50 yaş altı erkeklerde daha çok prostatit sendromlarıyla karşılaşılmaktadır. *E. coli*, *K. pneumoniae*, *R. mirabilis*, *P. aeruginosa*, *E. faecalis* prostatite sebep olduğu kabul edilen mikroorganizmalardır (Metel, 2005).

2.3. PROSTAT KANSERİ

Erkek bireylerde görülen kanserler arasında önemini korumaya devam eden prostat kanseri, özellikle, elli yaşın üzerindeki kişilerde yaygın olarak görülen ve ölüm oranı yüksek bir hastalıktır (Edwards, 2010; Fizazi ve diğ., 2010). Prostat kanseri Avrupa'da en sık rastlanılan katı tümördür (insidansı 214/1000) ve kanserden meydana gelen ölümlerde ikinci sırada yer almaktadır (Jemal ve diğ., 2008). Prostat kanseri Türkiye'de erkekler arasında kanserden meydana gelen ölümler arasında ikinci sıradadır ve görülme sıklığı 2009 yılı için 100.000'de 36,1'dir (Gültekin ve Boztaş, 2014).

Dünya geneline bakıldığında prostat kanserinin insidansı ve mortalite oranı değişiklik gösterir (Ferlay ve diğ., 2010; Center, 2012). Prostat kanserinde en yüksek insidansa Amerika Birleşik Devletleri (ABD) ve Yeni Zelanda'da rastlanırken, en düşük insidans, Doğu Asya'da gözlenmiştir. Prostat kanserinin en yüksek mortalitesi Karayipler'de ve en düşük mortalitesinin ise, yine Asya ülkelerinde olduğu belirlenmiştir.

ABD'de yaşayan Asyalı erkekler prostat kanseri bakımından siyah ve beyaz ırk ile karşılaştırıldığında daha düşük insidansa sahiptirler. Ancak, yapılan göç araştırmalarında ABD'ye göç eden Asyalı erkeklerin prostat kanseri oranının yükseldiği görülmüştür (Whittemore ve diğ., 1995; Cook ve diğ., 1999).

2.3.1. Prostat Kanseri Risk Faktörleri

Prostat kanserinin gelişmesinde rol alan spesifik etkenler henüz tam olarak bilinmemekle beraber, genetik ve çevresel faktörlerin, hastalığın gelişmesinde önemli rol oynadığı bildirilmiştir. Prostat kanserinin başlıca risk faktörleri arasında; yaş, ırk, ailesel faktörler, androjenler ve diyet sayılabilir (Knudsen ve Vasioukhin, 2010).

Prostat kanseri için önde gelen risk faktörlerinden biri yaşlanmadır ve artan yaşla prostat kanseri gelişimi arasında doğru orantılı bir ilişki vardır. Prostat kanserinin % 0,6'sı 45 yaşın altında görülürken, % 62-85'i 85 yaşın üzerindeki erkeklerde gözlenmektedir (Fournier ve diğ., 2004). Prostat kanserinin ortaya çıkışında ırk oldukça önemli bir faktör olup, en yüksek insidansa siyah ırktaki erkeklerde rastlanmaktadır ve ABD'de beyaz ırktaki erkeklere oranla 2,4 kat daha fazla ölüm gerçekleşmektedir (Siegel ve diğ., 2011).

Yaş faktörü ve ırkın yanısıra, ailede prostat kanseri öyküsünün bulunması kanserin gelişiminde önemli risk faktörleri arasında yer almaktadır. Hastalık teşhisi konulan birey sayısı ve akrabalık derecesi arttıkça, risk de artmaktadır. Birinci derece akrabalarından birine prostat kanseri tanısı konulmuşsa, risk iki kat iken, iki veya üç akrabada daha prostat kanseri görüldüğünde bu risk 5-11 kat artış göstermektedir (Bratt, 2002).

Androjenler prostatın büyümesi ve gelişmesini sağlayan başlıca hormonlar olmalarına rağmen, prostat kanseri ve seks hormon seviyesi çalışmalarında, yüksek androjen seviyesinin, özellikle testosteronun, prostat kanseri riskini arttırdığı gösterilmiştir (Platz ve Giovannucci, 2004; Imamoto ve diğ., 2008).

Beslenme rejimlerinde, süt ürünleri ve et gibi hayvansal kaynaklı yiyecekler prostat kanseri risk faktörleri arasında gösterilirken, taze meyve sebzeler gibi bitkisel kaynaklı yiyecekler, kepekli tahıllar, balık, çay ve fındık prostat kanserine karşı koruyuculuk göstermektedir (Stacewicz-Sapuntzakis ve diğ., 2008).

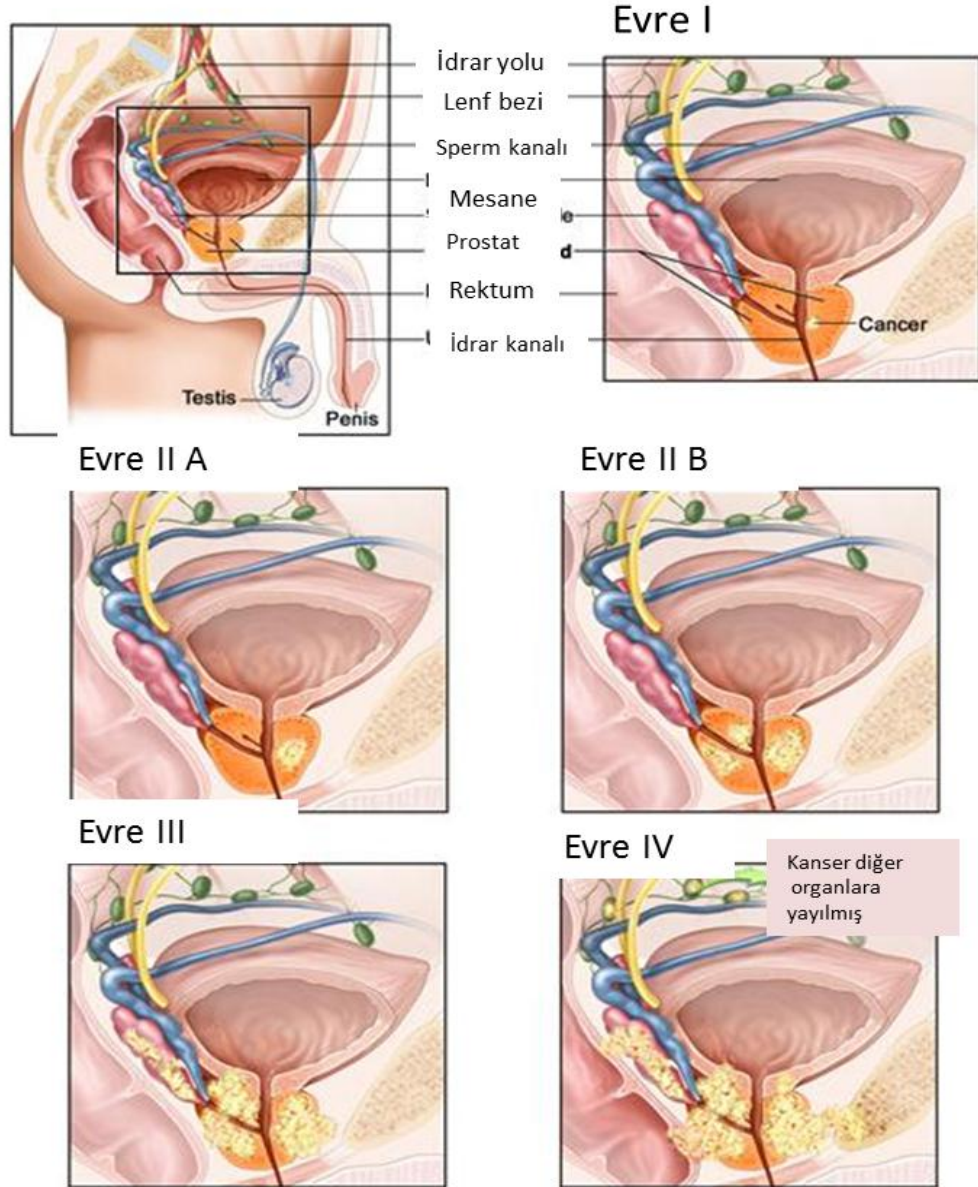
2.3.2. Prostat Kanserinin Evreleri

Evre I: Parmak ile yapılan rektum muayenesinde kanser, hissedilemeyebilir ve prostatın dışına yayıldığını gösteren herhangi bir kanıt yoktur. Genellikle benign prostat hiperplazisi şüphesiyle yapılan cerrahi işlem sırasında tesadüfen bulunurlar.

Evre II: Tümör evre I'den daha büyüktür ve parmakla rektum muayenesinde hissedilebilir. Bu evrede de prostatın dışına yayıldığını gösteren bir kanıt yoktur. Bu tümörler genellikle PSA düzeyi yüksek olan erkeklerde biyopsi yapıldığı zaman teşhis edilebilirler.

Evre III: Kanser prostata komşu organları tutmuştur.

Evre IV: Kanser lenf nodlarına yada diğer organlara yayılmıştır (Şekil 2.3).

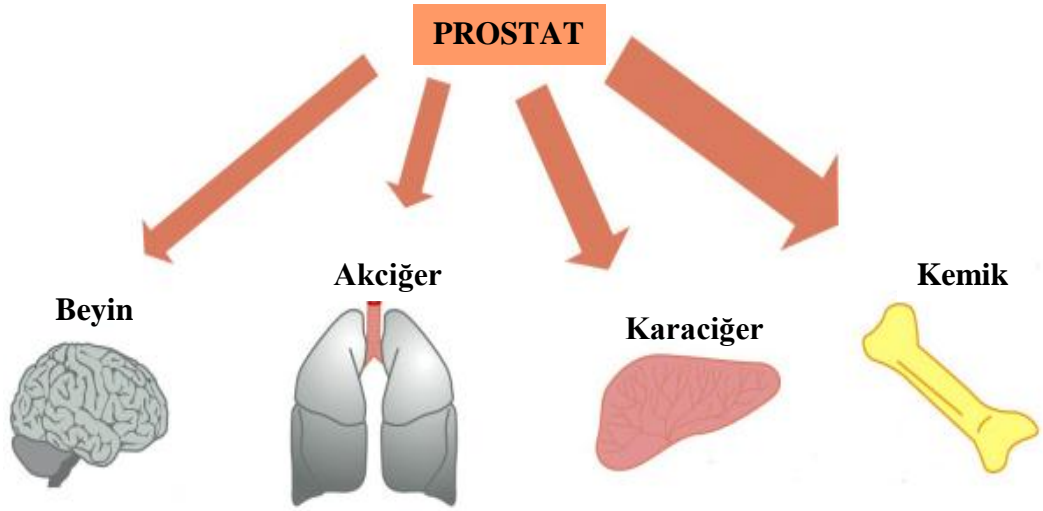


Şekil 2.3: Prostat kanserinin evreleri.

[http://www.kanserdanismanlik.com/assets/js/ckeditor/kcfinder/upload
/images/prostat5\(2\).png](http://www.kanserdanismanlik.com/assets/js/ckeditor/kcfinder/upload/images/prostat5(2).png)

2.3.4. Prostat Kanserinin Metastatik Yayılımı

1967-1995 yılları arasında 40 yaşının üzerindeki erkeklerin gerçekleştirilen rutin otopsi sonuçlarına göre, 19.316 erkek bireyin 1.589 (% 8.2)'unun prostat kanseri olduğu ve prostat kanserinin sıklıkla kemikler (%90), akciğer (%46), karaciğer (%25), plevra (%21) ve adrenal bezlere (%13) metastaz yaptığı rapor edilmiştir (Şekil 2.4) (Bubendorf ve diğ., 2000).



Şekil 2.4: Prostat kanserinin metastaz yaptığı organlar.

2.3.5. Prostat Kanserinde Tanı ve Tedavi

Prostat kanserinin başlıca belirtileri arasında, idrar yapmada zorluk, mesanenin boşaltılmadığı hissi, idrarın başlangıcında ya da sonunda kan görülmesi, pelvik bölgede ağrı sayılabilir. Ancak prostat kanserinde genellikle belirtiler geç dönemde ortaya çıkar ve nonspesifiktir. Prostat kanserinin erken tanısında parmakla rektal muayene (PRM), serum prostat spesifik antijen (PSA) seviyesi ve transrektal ultrasonografi (TRUS) eşliğinde biyopsi yöntemleri kullanılmaktadır. PRM ve serum PSA seviyesi prostat kanserinin değerlendirilmesinde ilk basamağı oluşturmaktadır (Bangma ve diğ., 1995). Bu testlerin tek tek veya birlikte kullanılması, erken evredeki tedavi edilebilir bir prostat kanserinin tanınmasına olanak sağlar.

Bilinen en eski tanı yöntemi olan parmakla rektal muayenenin (PRM), erken tanı ve/veya tarama testi olarak kullanımını sınırlıdır. Çünkü PRM lokalize prostat kanseri vakalarını tanımlamada düşük duyarlılığa sahiptir.

Prostat bezinin salgılayıcı epitel hücrelerinden salgılanan PSA, günümüzde prostat kanseri tanısında, evrelemesinde ve hastaların izleminde kullanılan önemli bir tümör belirleyicisidir. 1979'da Wang tarafından keşfedilen PSA, kallikrein gen ailesinden olup, 33 kDa ağırlığında % 93 aminoasit, % 7 karbohidrat içeren tek zincirli glikopeptid yapıda bir serin proteazdır (McCormack ve diğ.,1995). PSA, prostat dokusuna spesifik olmasına rağmen, prostat kanseri için spesifik bir tarama testi şeklinde kullanılamayacağı bilinmektedir. Prostatın benign büyümesi ve enflamasyonu gibi çeşitli faktörler kanser dışında kandaki PSA düzeyini arttıran durumlardır. Kişide prostat kanseri bulunmadığını kesin bir şekilde gösterecek bir PSA düzeyi olmamasına karşın, prostat kanserinden şüphelenilen hastalarda çok yüksek düzeylerde (>50 ng/ml) PSA saptandığında, tek başına kanser için spesifik kabul edilmektedir (Christensson ve diğ., 1993).

TRUS, prostat kanserinin tanısında ve prostat bezinin anatomik yapısının değerlendirilmesinde kullanılan önemli bir görüntüleme yöntemidir. TRUS ve beraberinde alınan prostat biyopsileri ile yüksek oranlarda prostat kanseri tanısının konulması olanaklı hale gelmiştir. İlk olarak, 1955 yılında Wild ve Reid transrektal ultrasonografiyi kullanmışlar ve 1968 yılında Watanabe'nin pratik uygulamaları ile TRUS klinikte kullanılmaya başlanmıştır.

Tanı konulan prostat kanserinde tedavi şekilleri hastalığın lokalize veya metastatik evrede oluşuna göre değişiklik göstermektedir. Hastalık lokalize evredeyken; cerrahi (radikal prostatektomi), radyoterapi ve izleyerek bekleme yöntemleri (Heidenreich ve diğ., 2011), metastatik evrede ise, hormon tedavisi kullanılmaktadır.

Prostatın tümüyle çıkarılması anlamına gelen prostatektomi, günümüzde prostat kanserinde en yaygın olarak uygulanan tedavi şekillerinden birisidir. Prostat kanseri lokalize evredeyken uygulanan bir diğer tedavi şekli ise, radyoterapidir. Radyasyon tedavisi kanser hücrelerini öldürmek ve tümörleri küçültmek için elektromanyetik veya

partiküler ışınların kullanılmasıdır. Eksternal ve internal olmak üzere iki tür radyasyon tedavisi vardır. Bunlar; eksternal ışın tedavisi (eksternal radyoterapi) ve brakiterapidir (internal tedavi). Radyasyon, vücudun dışındaki bir kaynaktan yayınlanır (eksternal) veya kanser hücrelerinin bulunduğu boşluğa yerleştirilen ince tüpler yardımıyla (brakiterapi) uygulanır.

İzleyerek bekleme ise, prostat kanserinde ilk tedaviye alternatif olarak kullanılan özellikle lokalize evrede ve düşük riskli hastalarda bir alternatiftir (Heidenreich ve diğ., 2014). İzleyerek beklemedeki hastaların olası bir yüksek risk durumuna göre biyopsileri ve PSA düzeyleri takip edilerek hastalar kontrol altında tutulurlar. İzleyerek beklemedeki temel amaç hastanın yaşam süresi ve kalitesini etkilemeden radikal tedaviyi ertelemek ve radikal tedavinin olası yan etkilerinden hastayı korumaktır.

2.4. PROSTAT KANSERİNDE DENEYSEL MODELLER

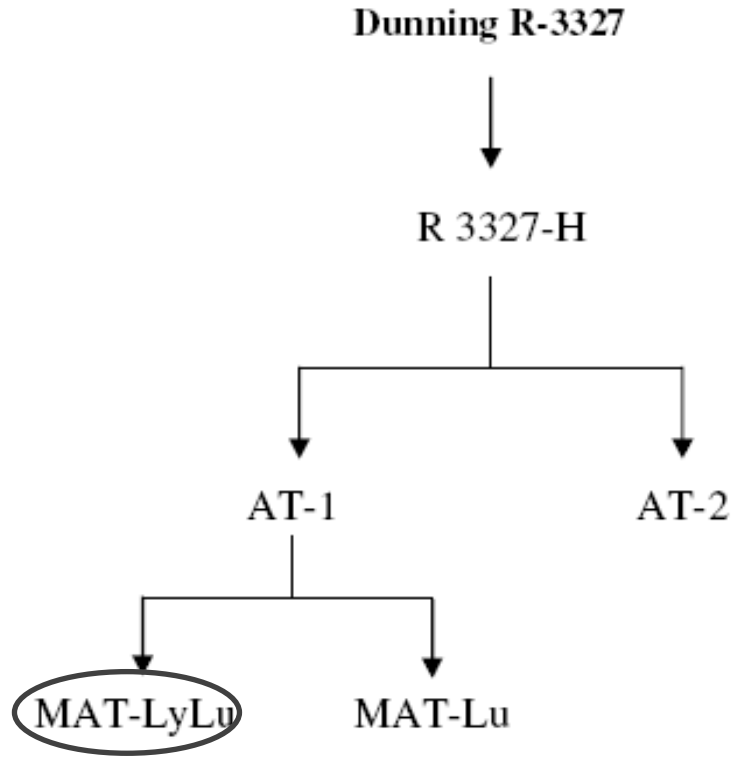
Kanser hastalığının önlenmesi ve yeni tedavi yöntemlerinin geliştirilmesi amacıyla, kanser araştırmalarında yaygın olarak fare, sıçan gibi deney hayvanlarında oluşturulabilen deneysel modeller kullanılmaktadır.

Diğer kanser türlerinde olduğu gibi, prostat kanseri araştırmalarında da, laboratuvarlarda hücre soyları ile gerçekleştirilen *in vitro* çalışmaların yanı sıra, *in vivo* olarak deney hayvanlarında oluşturulan deneysel tümör modelleri de kullanılmaktadır. Prostat kanseri çalışmaları için sıçanlarda Dunning, Noble, ACI ve Pollard olmak üzere 4 model sistem geliştirilmiştir (Pollard, 1980).

Prostat kanseri araştırmalarında kullanılan etkili ve önemli modellerden biri Dunning sıçan prostat kanser modelidir. Geniş kullanım alanına sahip olan bu model, 1961 yılında W. F. Dunning tarafından, Copenhagen yaşlı bir erkek sıçanın dorsal prostat epitelinde spontan tümör olarak keşfedilen bir prostat adenokarsinomudur. Spontan olarak elde edilen bu adenokarsinomunun Copenhagen sıçanlarda ve *in vitro* olarak yapılan seri pasajları sonucunda metastatik yeteneği farklı olan altsoyları elde edilmiştir (Şekil 2.5). Bu altsoylardan yüksek metastatik Mat-LyLu hücreleri, Copenhagen ırkı sıçanlara deri altı olarak inoküle edildiğinde, hem akciğer hem de lenf sistemine metastaz yapmaktadır (Isaacs ve diğ., 1981). Dunning sıçan prostat kanser modeli

yüksek metastatik Mat-LyLu hücreleri % 90'dan fazla metastaz yapabilme kapasitesine sahiptir (Fraser ve diğ., 1999).

Morfolojik olarak ince, uzun, iğ şeklinde ve büyük bir nukleusa sahip olan yüksek metastatik karakterli Mat-LyLu hücrelerinin *in vitro* ortamda iki kat olma süreleri 19,7 saat olarak tespit edilmiş ve kromozom sayılarının 58 olduğu belirlenmiştir (Wenger ve diğ., 1984).



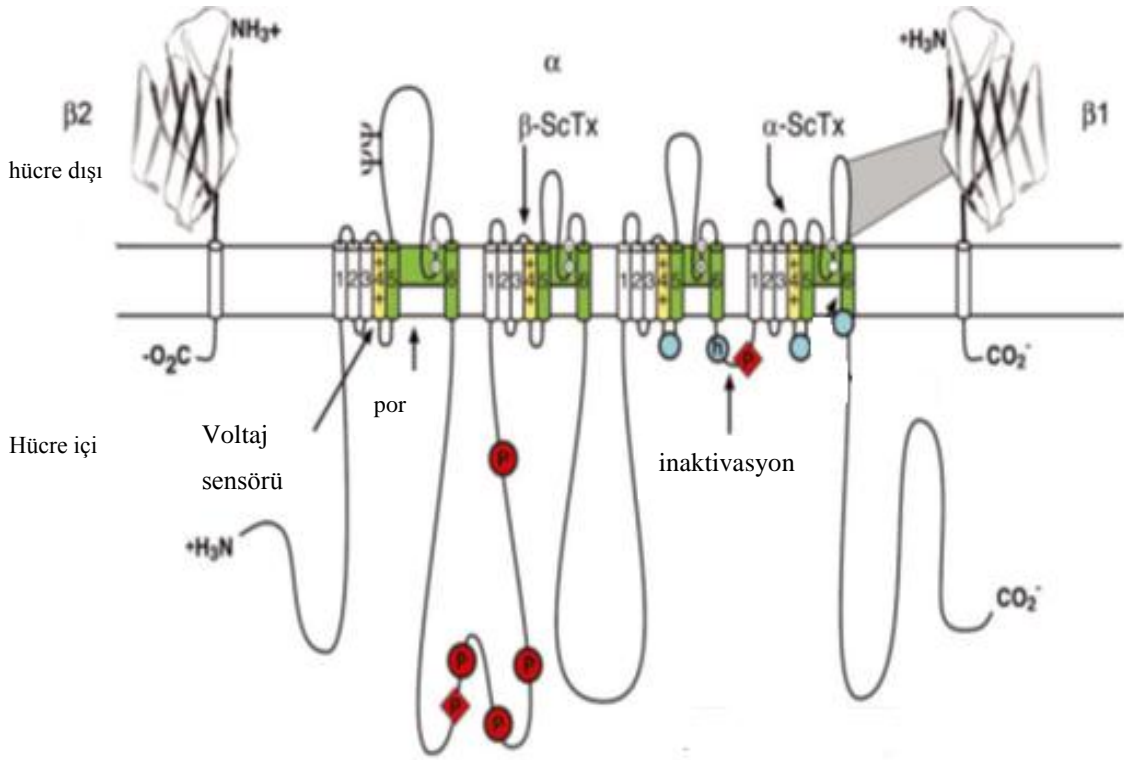
Şekil 2.5: Dunning modeline ait MAT-LyLu hücrelerinin orijini.

2.5. İYON KANALLARI

İyon kanalları, hücre zarında yer alan ve açılıp kapanarak partiküler iyonların zardan geçişini sağlayan transmembran proteinlerdir (Foster ve diğ., 1999; Denac ve diğ., 2000).

İyon kanalları, sürekli açık olan kanallar ve kapı kontrollü kanallar olmak üzere ikiye ayrılır. Kapı kontrollü kanalların açılıp kapanması özel sinyallerce düzenlenir ve kapı kontrollü kanallar kendi içinde voltaj kapılı kanallar ile ligand kapılı kanallara ayrılırlar. Na⁺, K⁺, Ca²⁺ kanallarını içine alan voltaj kapılı iyon kanalları, birbirleriyle ilişkili

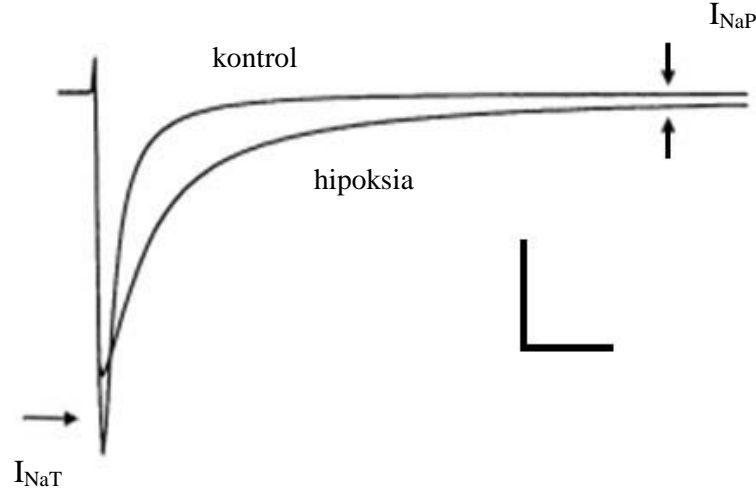
büyük bir protein ailesi olup, bu kanalların aralarında yapısal olarak benzerlikler vardır ve belli bir zar potansiyelinde spesifik oldukları iyonun zardan geçişini sağlarlar (Terlau ve Stühmer, 1998). Voltaj kapılı kanallardan, voltaj kapılı sodyum kanalları (VGSC), 220-260 kDa ağırlığında bir alfa (α) alt ünitesi ve 30-40 kDa ağırlığında bir yada daha fazla sayıdaki beta (β) alt ünitelerinden oluşan multimerik bir komplekstir (Şekil 2.6) (Catteral ve diğ., 2007).



Şekil 2.6: Voltaj kapılı sodyum kanalının (VGSC) yapısı.

VGSC'lerin α alt ünitesini kodlayan 10 adet gen bulunmaktadır ($Na_v1.1$ - $Na_v1.9$ ve Na_x) ve bu genlerden dokuz tanesi fonksiyonel olarak aktif durumdadır ($Na_v1.1$ - $Na_v1.9$). Yapılan çalışmalarda sodyum kanallarının (Na_v) hücrenin proliferasyon, migrasyon, adezyon, sinir iletimi ve kas kasılmasında rolleri olduğu belirlenmiştir (Smith, P. ve diğ., 1998).

VGSC aktivitesi ile oluşan membran akımı iki farklı bileşenden meydana gelmektedir (Şekil 2.7). Membran akımının ilk bileşeni 1 ms'n kadar süren geçici akım yani I_{NaT} , ikinci bileşeni ise, 100 ms'n den 1 dakikaya kadar devam eden ısrarlı akım(I_{NaP})dır.



Şekil 2.7: VGSC membran bileşenleri ve hipoksianın etkisi.

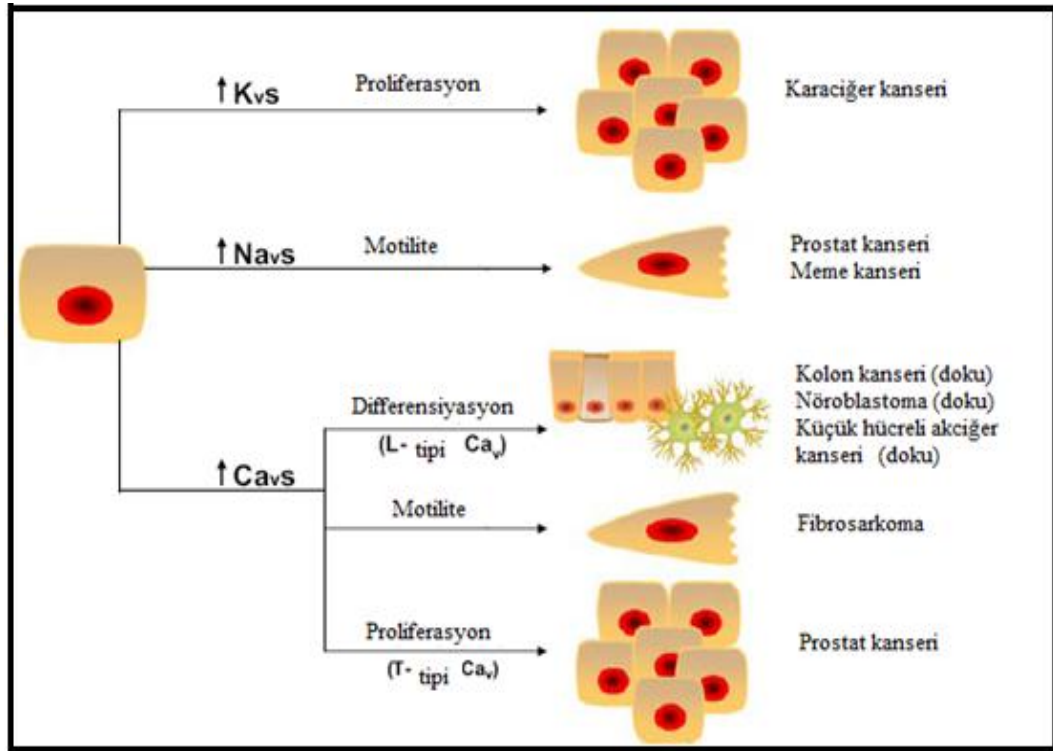
Biyofiziksel olarak, ısrarlı sodyum kanal akımı (I_{NaP}) inaktivasyon bileşeni eksik ya da büyük oranda yavaş olması haricinde, geçici sodyum kanal akımına (I_{NaT}) benzer özellikler taşımaktadır. I_{NaP} repolarizasyonda çok hızlı deaktive olur (Saint ve diğ., 1992) ve makroskopik düzeyde I_{NaT} ile çok az farklı aktivasyon özellikleri vardır. Kardiyak hücrelerde I_{NaP} , I_{NaT} gibi aynı iyonik seçiciliğe sahiptir ve tek kanallar geçici akım gibi aynı iletkenliğe, ortalama açık süre ve ters potansiyele sahiptir (Gintang ve diğ., 1984). I_{NaP} , lidocaine ve TTX gibi ajanlar tarafından bloklanmaya daha duyarlıdır (Saint ve diğ., 1992). I_{NaP} 'ın hipoksizde geliştiği Hammarstrom ve Gage, (2002) tarafından gösterilmiştir.

Hipoksi olarak adlandırılan oksijen eksikliği durumu, katı tümörlerin bir çok formunun yaygın bir özelliğidir (Kaur ve diğ., 2005). *In vivo* sağlıklı memeli dokularında oksijen seviyesi hafif hipoksi % 2-9 (ortalama olarak % 5,6) (Brahimi-Horn ve Pouysségur, 2009) görülmesine rağmen, tümör hücrelerinde genellikle yetersiz tümör damarlanması nedeniyle akut hipoksi (< % 2 O_2) izlenmektedir (Brahimi-Horn ve Pouysségur, 2007). İsrarlı akım özellikle kanseri de kapsayan pek çok durumda büyük bir öneme sahiptir.

Tümör büyüdükçe merkezi kısmında giderek artan oranda görülen hipoksi, ısrarlı akımın artmasına neden olmaktadır (Djamgoz ve Onkal, 2013).

Prostat kanserinin metastatik potansiyelini oluşturan birçok hücresel faaliyette VGSC ekspresyonu/aktivitesinin, güçlendirici bir faktör olarak rol oynadığı *in vitro* çalışmalar ile gösterilmiştir.

Prostat, meme, kolon, glioma gibi çeşitli kanserlerin proliferasyon ve metastatik süreçlerinde voltaj kapılı iyon kanallarının rol aldığı belirlenmiştir (Laniado ve diğ., 1997; Fraser ve diğ., 2005; Fiske ve diğ., 2006). Yapılan çalışmalardan elde edilen bilgiler VGSC'lerin, özellikle Nav1.7 izoformunun, insan ve sıçan prostat kanser hücrelerinin metastatik potansiyellerinde tamamlayıcı bir unsur olduğunu ortaya koymuştur (Şekil 2.8) (Grimes ve diğ., 1995; Laniado ve diğ., 1997; Diss ve diğ., 2001).



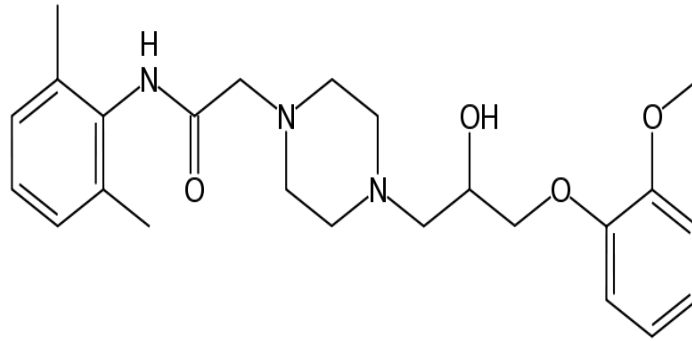
Şekil 2.8: Na⁺, Ca²⁺ ve K⁺ kanallarındaki artışın, çeşitli kanserlerdeki hücresel süreçlere etkisi (Fiske ve diğ., 2006).

VGSC üzerinde etkili olduğu tanımlanmış çeşitli maddeler bulunmakta ve bu maddeler kendi içerisinde farklı gruplar altında toplanmaktadır. Bunlar; lidocaine gibi lokal

anestetikler, fenitoin, lamotrijin ve okskarbazepin (Erol, 2011) gibi antiepileptikler, RNL, meksiletin gibi antianjinal ve antiaritmik ilaçlar ile Tetrodotoksin (TTX), veratridin gibi nörotoksinlerdir.

2.6. RANOLAZİNE (RNL)

Yeni nesil antianjinal ilaçlardan Ranolazine (RNL) ([®]Latixa), (N-(2,6-dimetilfenil)-2-[4-[2-hidroksi-3-(2-metoksifenoksi)-propil]-piperazin-1-il] asetamid dihidroklorid) (C₂₄H₃₃N₃O₄) 427,537 g/mol molekül ğırlığına sahiptir (Şekil 2.9). RNL yaklaşık olarak % 65'i plazma proteinine (esas olarak α -1 asit glikoproteinine) bağlanır ve çoğunlukla RNL'nin biyotransformasyonu sitokrom P450 (CYP) 3A4 aracılı yol ile sağlanmaktadır (Jerling ve Abdallah, 2005). Sıklıkla egzersiz ya da yüksek aktivite ile vücudun üst yarısında rahatsızlık ya da göğüs ağrısı şeklinde kendini gösteren anjina pektoris (kalbi besleyen damarların daralması/tıkanması ile ortaya çıkan göğüs ağrısı) tedavisinde kullanılan bir ilaçtır. RNL, 2006 yılında Amerikan İlaç ve Besin Birliği (FDA) onayı almıştır (Pham ve Mehta, 2007). RNL ile yapılan çalışmalar, diastolik ve sistolik kalp yetmezliği veya iskemi esnasında Na⁺ iyon kanallarının ve buna paralel olarak da hücrede Na⁺'ın arttığı, pozitif feedback yolu ile meydana gelen Ca⁺² artışı sonucu kalpte oluşan ağrı, kasılma, fonksiyon bozuklukları üzerine ilacın terapötik bir etki gösterdiğini ortaya koymuştur (Sossalla ve diğ., 2008). Na⁺ iyon kanallarını bloke ederek etki gösteren RNL kalpteki diastolik fonksiyonları iyileştirmekte ve iskemi sonrasındaki bozuklukları azaltmaktadır (Filardi, 2011).



Şekil 2.9: Ranolazine'in kimyasal formülü.

İlacın farmakokinetiği sıçanlarda araştırılmış ve plazma ve doku konsantrasyonu gibi farmokokinetik özelliklerini dişi bireylerde erkeklerinkinden bariz bir farklılık gösterdiği (2-3 misli fazla) tespit edilmiştir. Erkek ve dişiler arasındaki farklardan bir diğerinin de ilacın vücuttaki yarı ömrü olduğu ve erkeklerde kısa olduğudur (Liu ve diğ., 2003). RNL maksimum plazma konsantrasyonuna (C_{max}) genellikle uygulandıktan 4-6 saat sonra ulaşmakta ve 3 gün boyunca günde iki kez kullanıldığında kararlı duruma geçmektedir. Plazma konsantrasyonu 2-6 μM doz aralığında olan RNL, kronik angina için tedavi edici etki gösterdiği (Chaitman ve diğ., 2004) belirlenen klinik çalışmalarda, kalp atım hızını ya da sistemik kan basıncını etkilemeksizin RNL'nin antiiskemik ve antianjinal etkilere sahip olduğu gösterilmiştir. Antiiskemik etkilerinin yanı sıra klinik öncesi çalışmalarında antiiskemik aktiviteye de sahip olduğu tanımlanmıştır (Antzelevich ve diğ., 2004; Song ve diğ., 2004). Antzelevich ve diğ., (2004) kardiyak iyon akımı üzerinde etkili olan RNL'nin geç sodyum akımı (I_{NaP}) üzerindeki IC_{50} değerinin 5,9 μM olduğunu, voltaj clamp testi ve depolarizasyon frekansına göre 5-21 μM arasında değişim gösterdiğini, günlük 20 μM 'lık dozu aşmayan bir tedavinin planlanması gerektiğini belirtmektedir. Ayrıca hızlı potasyum akımını (I_{Kr}) (12 μM), geç kalsiyum akımını (I_{Ca}) (50 μM), pik I_{Ca} (296 μM), sodyum kalsiyum değiştirici akımını (I_{Na-Ca}) (91 μM) ve yavaş potasyum akımını (I_{Ks}) (30 μM da % 17) da içeren diğer iyon akımlarını da inhibe ettiği gösterilmiştir (Antzelevitch ve diğ., 2004).

% 2 oksijen içeren akut hipoksik ortamda yetiştirilen MDA-MB231 meme kanseri hücrelerinin artan invazyonunu hem TTX (10 μM) hem de, RNL (300 μM)'nin tamamen baskıladığı ve bu baskılamanın Na^+ kanallarını bloke ederek gerçekleştiği tespit edilmiştir (Djamgoz ve Onkal, 2013).

Meme kanserinin *in vivo* ve *in vitro* olarak araştırıldığı bir çalışmada, RNL (50 μM)'nin meme kanseri hücrelerinde $Na_v1.5$ akımını inhibe ettiği ve $Na_v1.5$ ile ilişkili kanser hücrelerinin invazivliğini azalttığı belirlenmiştir. Aynı çalışmanın *in vivo* uygulamasında RNL (50 mg/kg/gün) enjeksiyonunun $Na_v1.5$ ekspresse edilen insan meme kanseri hücrelerinin akciğer kolonizasyonunu anlamlı olarak azalttığı tespit edilmiştir (Driffort ve diğ., 2014).

İnsan embriyonik böbrek hücrelerinden (HEK 293) ekspresse edilen $Na_v1.7$ ($hNa_v1.7$) ve sıçan ND7/23 hücre hattından ekspresse edilen $Nav1.8$ ($rNa_v1.8$) iyon kanallarında tüm hücre patch-clamp tekniği kullanılarak RNL'nin etkisinin belirlendiği bir çalışmada; RNL'nin kliniğe uygun konsantrasyonlarda (2-8 μM) $Na_v1.7$ ve $Na_v1.8$ blokladığı tespit edilmiştir (Rajamani ve diğ., 2008). Wang ve diğ., (2008) tarafından yürütülen bir çalışmada ise, insan embriyonik böbrek hücrelerinden (HEK293) ekspresse edilen nöronal $Na_v1.7$, iskelet kası $Na_v1.4$ ve kalp kası $Na_v1.5$ izoformları üzerinde RNL'nin Na^+ akımını bloklayarak etki gösterdiği belirlenmiştir.

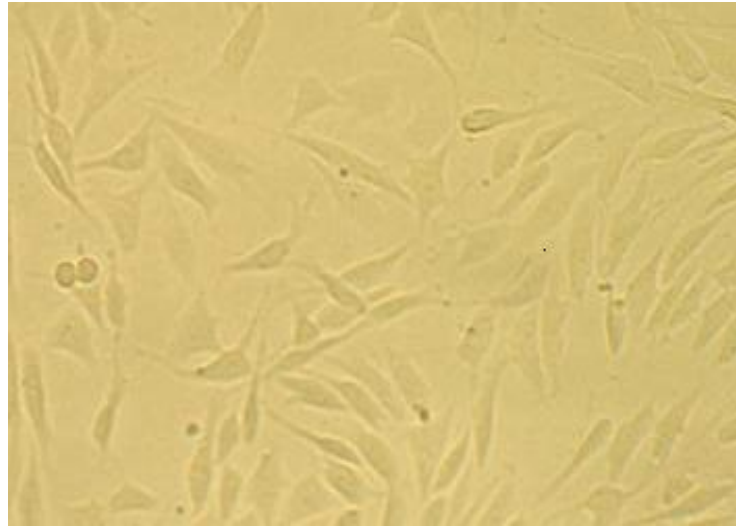
RNL'nin genetik epilepsi ve ailesel hemilejik migren ile ilişkili insan $Na_v1.1$ mutasyonları tarafından üretilmiş ısrarlı akımı baskıladığı Kahlig ve diğ., (2010) tarafından bildirilmiştir. Bir başka çalışmada ise, Epileptik $Scn2\alpha^{Q54}$ fare modeli kullanılarak RNL'nin (40 mg/kg) ısrarlı sodyum akımı üzerindeki etkisinin araştırıldığı *in vivo* bir çalışmada, mutant $Na_v1.2$ transgeni tarafından üretilmiş anormal nöronal ısrarlı sodyum akımının baskılanması sonucu nöbet sıklığının yaklaşık olarak % 50'ye kadar azaldığı belirlenmiştir (Anderson, 2014).

In vivo olarak yürütülen bir çalışmada ise spontan ince bağırsak tümörögenез modeli olan APC (Min⁺) farelerine yüksek doz RNL (30 mg/kg) uygulanması ile neoplastik lezyonların gelişiminde stimülasyon meydana getirdiği Suckow ve diğ., (2004) tarafından saptanmıştır.

3. MALZEME VE YÖNTEM

3.1. MAT-LYLU HÜCRELERİNİN YETİŞTİRİLMESİ

Çalışmada, laboratuvarımızda *in vitro* koşullarda düzenli olarak pasajları yapılan Dunning sıçan prostat adenokarsinoma modeline ait Mat-LyLu hücre soyu kullanılmıştır (Şekil 3.1). Hücreler % 1 Foetal Bovine Serum (Gibco), 2 mM L-glutamin (Gibco), ilave edilmiş Roswell Park Memorial Institute 1640 (RPMI-1640, Gibco) kültür medyumunda, 37 °C'de ve % 5 CO₂'li etüvde yaşatılmıştır (Grimes ve diğ., 1995; Fraser ve diğ., 1999).



Şekil 3.1: *In vitro* olarak yetiştirilen Mat-LyLu sıçan prostat kanser hücreleri.

3.2. HAYVANLAR VE PROSTAT TÜMÖRÜNÜN OLUŞTURULMASI

Çalışmada deney hayvanı olarak 2,5-3 aylık (150-270 g) Copenhagen ırkı erişkin erkek sıçanlar kullanılmıştır. Hayvanlar TÜBİTAK MAM, Gen Mühendisliği ve Biyoteknoloji Enstitüsü'nden temin edilmiştir. Deney süresince sıçanlar 22-25 °C sıcaklıkta, gece-gündüz ayırımının yapabildiği bir ortamda, plastik kafesler içerisinde pellet yem (MBD Ticaret, Kocaeli) ve musluk suyu ile beslenmiştir. Çalışmalar süresince, İstanbul Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu (İ.Ü HADYEK) ilkelerine (karar no:116) bağlı kalınmıştır.

Çalışmada kullanılan sıçanların her birinin vücut ağırlıkları hassas terazide (Sartorius) tartılmış ve kontrol ile deney grupları oluşturulmuştur.

Primer tümör oluşturmak amacıyla her bir sıçanın sağ ön ekstremitésinin üst tarafına *in vitro* olarak yetiştirilen 2×10^4 Mat-LyLu hücresi deri altı olarak inoküle edilmiştir (Şekil 3.2) (Lokeshwar ve diğ., 1999; Gaddipati ve diğ., 2004).



Şekil 3.2: Mat-LyLu hücrelerinin, Copenhagen ırkı erkek sıçanların deri altına inokülasyonu.

3.3. RANOLAZİNE'İN HAZIRLANMASI VE UYGULANMASI

Farmakolojik ajan olarak kullanılan Ranolazine (RNL), üretici firma (Sigma) tarafından önerilen şekilde, steril saf su içerisinde çözünerek 100 mM'lık stok solüsyon elde edilmiş ve -21°C 'de saklanmıştır. Deneyle esnasında bu stok solüsyon % 0,9'luk steril fizyolojik tuzlu su (FTS) ile sulandırılarak 2,5 μM , 5 μM , 10 μM konsantrasyonlarında RNL hazırlanmıştır. Prostat tümörlü hayvanlar 2,5 μM , 5 μM , 10 μM dozlarında RNL ile, kontrol grubundaki hayvanlar ise % 0,9'luk steril FTS ile tedavi edilmiştir.

Günümüzde anjina pektoris tedavisinde kullanılmak üzere onaylanmış bir ilaç olması ve toksik etki göstermemesi sebebiyle RNL, hayvanlara sistemik yol (gavaj) ile verilmiştir. Dunning sıçan prostat tümörüne, belirlenen konsantrasyonlarda RNL tedavisi, hücre enjeksiyonundan 48 saat sonra başlamış ve iki günde bir, 1 ml hacim içerisinde uygulanmıştır.

3.4. PRİMER TÜMÖR

Kontrol grubundaki hayvanlar % 0,9'luk steril FTS ile deney grubundaki hayvanlar ise, RNL (2,5 µM, 5 µM, 10 µM) ile iki günde bir, 1 ml olmak üzere 22. güne kadar gavaj yoluyla tedavi edilmişlerdir.

Tedavi süresince primer tümör gelişimi palpasyon yoluyla izlenmiş ve tümör oluşumunun tespit edildiği günden itibaren, her tedavi gününde tümör büyüklüğü dijital kaliper ile ölçülmüştür. 22. günde hayvanlar izofluran (Abbott) anestezisi altında disekte edilmeden önce vücut ağırlıkları saptanmış, tümör büyüklüğü ölçülmüş ve kaydedilmiştir. Ardından kontrol ve deney gruplarındaki hayvanların sağ ön ekstremitelerinin üst kısmında oluşan primer tümörleri kıllı deri açılarak çıkartılmış ve tümör sıvısı olmaksızın primer tümör ağırlıkları tartılarak belirlenmiştir.

3.5. PRİMER TÜMÖR GELİŞİMİNİN İZLENMESİ

Primer tümör gelişimi, rölatif tümör hacmi ölçülerek de değerlendirilmiştir. Bu amaçla, 2×10^4 Mat-LyLu hücresi inoküle edilen kontrol ve RNL gruplarındaki hayvanların primer tümör gelişimi palpasyon yoluyla izlenmiş ve tümör oluşumunun tespit edildiği günden itibaren, tedavi süresince tümör büyüklükleri en ve boy olarak ölçülmüştür. Elde edilen veriler 3.1 numaralı formülde yerine konularak rölatif tümör hacimleri hesaplanmıştır (Wang, 2008).

$$\text{Tümör hacmi} = (en^2 \times \text{boy}) \frac{1}{2} \quad (3.1)$$

3.6. AKCİĞER METASTAZLARI

22. günde hayvanların göğüs kafesleri açılarak göğüs ve periton boşlukları makroskopik olarak incelenmiş, akciğerleri çıkartılmıştır. RNL'nin metastatik gelişim üzerindeki etkisini belirleyebilmek amacıyla, kontrol ve RNL gruplarındaki hayvanların akciğerleri bouin fiksatif ile tespit edilmiş ve tartılarak akciğer ağırlıkları (g) kaydedilmiştir. Hayvanların akciğerlerinde gelişen metastaz sayıları bir stereomikroskop (Leitz Wetzlar Germany) altında sayılmış, çapları ise, mikrometrik oküler yardımı ile ölçülmüştür. Tüm sayım ve ölçüm işlemleri kör olarak yapılmıştır (Altun ve Djamgoz, 2008; Yıldırım ve diğ., 2012).

3.7. HAYVANLARIN YAŞAM SÜRESİNİN İNCELENMESİ

RNL'nin hayvanların yaşam süreleri üzerindeki etkisini belirlemek amacıyla yapılan çalışmada, Bölüm 3.4'de belirtilen deney programı aynı şekilde uygulanmış ancak 22. günden sonra, aynı şekilde kaliper ile tümör ölçümüne devam edilmiş ve her iki gruptaki hayvanlar sadece izlenmiştir. Ölüm zamanları kaydedilerek RNL'nin hayvanların yaşam süresi üzerinde bir etkisinin bulunup bulunmadığı saptanmıştır.

3.8. İSTATİSTİK DEĞERLENDİRME

FTS uygulaması yapılan kontrol grubu ile RNL uygulanan deney grubundan elde edilen veriler, grupların aritmetik ortalamaları ve her bir ortalama değerin standart hatası (\pm SE) olarak verilmiştir. Kontrol ve RNL gruplarındaki hayvanların vücut ağırlıkları, akciğer ağırlıkları ve akciğerdeki metastazların çapları arasındaki farkların anlamlılığı, student t-testi kullanılarak değerlendirilmiştir. Kontrol ve RNL'nin farklı dozlarının uygulandığı gruplar arasındaki primer tümör ağırlıkları farkının anlamlılığı Dunnett testi ile akciğerlerindeki metastaz sayıları ise, Anova ve Dunnett testi ile araştırılmıştır. RNL'nin yaşam süresine etkisi ise Kaplan-Meier analizi ve log-rank testi ile belirlenmiştir. Çalışmada $P < 0,05$ istatistik bakımdan anlamlı kabul edilmiştir.

4. BULGULAR

Çalışmada, yüksek metastatik karakterli Mat-LyLu sıçan prostat kanser hücrelerinin, Copenhagen ırkı erkek sıçanlara deri altına inokülasyonu ile oluşturulan deneysel prostat kanserli sıçanların ısrarlı akım inhibitörü olarak Na⁺ akımını bloke eden RNL ile tedavi edilmesi sonucunda; primer tümör, akciğer yüzeyindeki metastaz sayısı, metastaz boyutu ve tümörlü hayvanların yaşam süresi yani sağ kalımları araştırılmıştır.

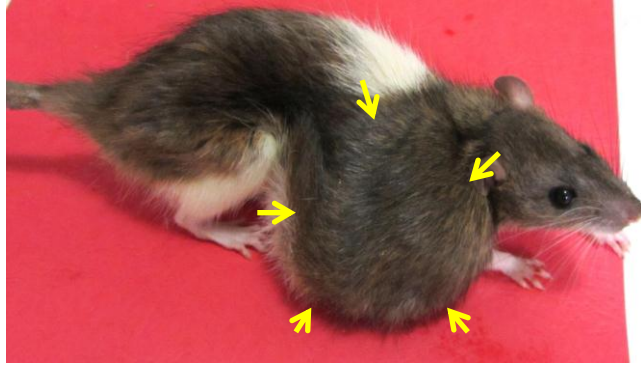
4.1. VÜCUT AĞIRLIĞI VE PRİMER TÜMÖR

Deneyin başlangıcında (0. gün) ve deneyin sonlandırıldığı 22. günde hayvanların vücut ağırlıkları tespit edilmiş ve Tablo.1'de verilmiştir. Tablo 4.1 incelendiğinde, 2,5 µM RNL tedavi grubunda kontrol hayvanlarının başlangıçta 194,82 g olan vücut ağırlıkları 22. günde 215,62 g olmuştur. RNL tedavisi alan deney grubunda ise, vücut ağırlıkları başlangıçta 195,83 g, deney sonlandırıldığı günde, 214,65 g olarak bulunmuştur. 5 µM RNL tedavi grubunda vücut ağırlıkları FTS grubunda sırasıyla 207,87 ve 229,14 g iken, RNL grubunda 204,22 ve 218,22 g'dir. 10 µM RNL tedavi grubunda, vücut ağırlıkları FTS grubunda sırasıyla, 252,34 ve 242,81 g olduğu belirlenmiştir. RNL verilen grupta ise, 252,31 g olan vücut ağırlığı deneyin sonunda 255,25 g olarak saptanmıştır. Yapılan istatistik değerlendirme sonucunda kontrol ve deney gruplarındaki hayvanların vücut ağırlıkları arasında anlamlı bir fark belirlenememiştir (P>0,05).

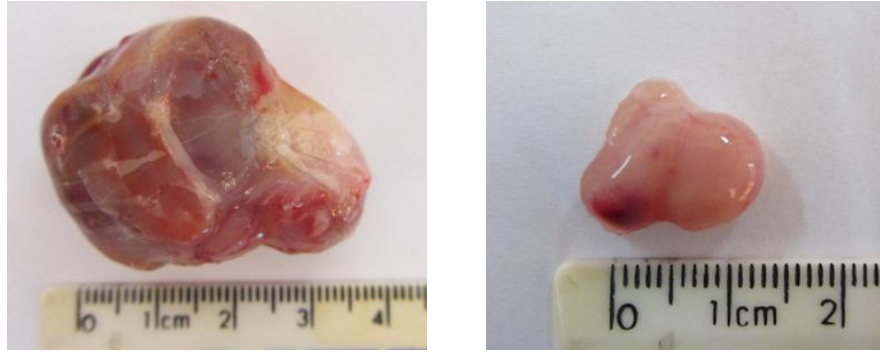
Tablo 4.1: FTS ve RNL grubundaki hayvanların başlangıç ve 22. gündeki vücut ağırlıkları (\pm SE)
(Parantez içindeki rakamlar n sayısını göstermektedir).

Vücut Ağırlığı (g)						
İnokülasyondan önce			22. günde			
	FTS	RNL	İstatistiksel Anlamlılık	FTS	RNL	İstatistiksel Anlamlılık
2,5 μ M	194,82 \pm 3,52 (28)	195,83 \pm 2,93 (33)	P>0,05	215,62 \pm 3,32 (27)	214,65 \pm 2,96 (32)	P>0,05
5 μ M	207,87 \pm 6,77 (29)	204,22 \pm 5,82 (33)	P>0,05	229,14 \pm 6,21 (28)	218,22 \pm 6,03 (33)	P>0,05
10 μ M	252,34 \pm 7,46 (8)	252,31 \pm 3,40 (7)	P>0,05	242,81 \pm 8,17 (8)	255,25 \pm 5,42 (7)	P>0,05

İn vitro olarak yetiştirilen 2×10^4 Mat-LyLu hücresinin sıçanlara deri altı inoküle edilmesi ile oluşturulan Dunning modeli sıçan prostat kanserinde, RNL'nin, primer tümör üzerindeki etkisi, 22. gündeki primer tümör ağırlıkları incelenerek değerlendirilmiştir (Şekil 4.1, Şekil 4.2).



Şekil 4.1: 22. günde Dunning modeli sıçan prostat kanseri. (Oklar primer tümörü göstermektedir).



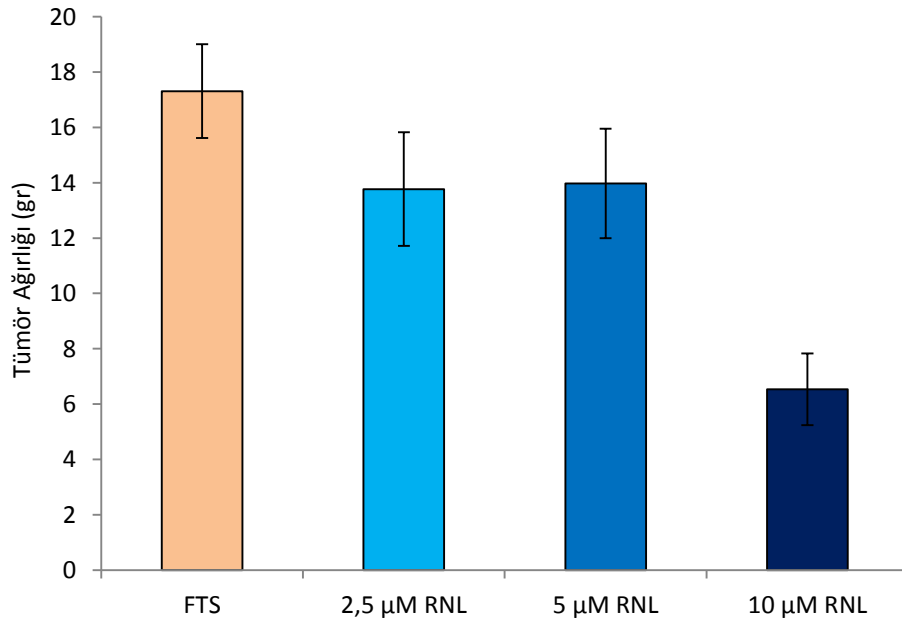
Şekil 4.2: 22. günde çıkarılan farklı büyüklükteki primer prostat tümörleri.

FTS ve RNL gruplarındaki hayvanlardan elde edilen primer tümör ağırlıkları Tablo 4.2'de ve bu tablodaki verilere göre çizilen tümör ağırlıkları grafiği ise, Şekil 4.3'de gösterilmiştir. 2,5 μ M RNL tedavi grubunda, kontrol hayvanlarının tümör ağırlıkları 17,31 g iken, RNL ile tedavi edilen hayvanların tümör ağırlıklarınının 13,77 g olduğu

belirlenmiştir (Şekil 4.3). 2,5 μM RNL'nin, primer tümör ağırlığı üzerinde istatistik bakımdan bir etki göstermediği tespit edilmiştir.

Tablo 4.2: Farklı dozlarda RNL ile tedavi edilen sıçanların primer tümör ağırlıkları ($\pm\text{SE}$).

Tümör Ağırlığı (g)						
FTS (n=53)	2,5 μM RNL (n=32)	İstatistiksel Anlamlılık	5 μM RNL (n=33)	İstatistiksel Anlamlılık	10 μM RNL (n=7)	İstatistiksel Anlamlılık
17,31 \pm 1,70	13,77 \pm 2,05	P>0,05	13,97 \pm 1,98	P>0,05	6,53 \pm 1,30	P>0,05



Şekil 4.3: RNL (2,5 μM , 5 μM ve 10 μM) tedavi grubundaki sıçanların primer tümör ağırlıkları.

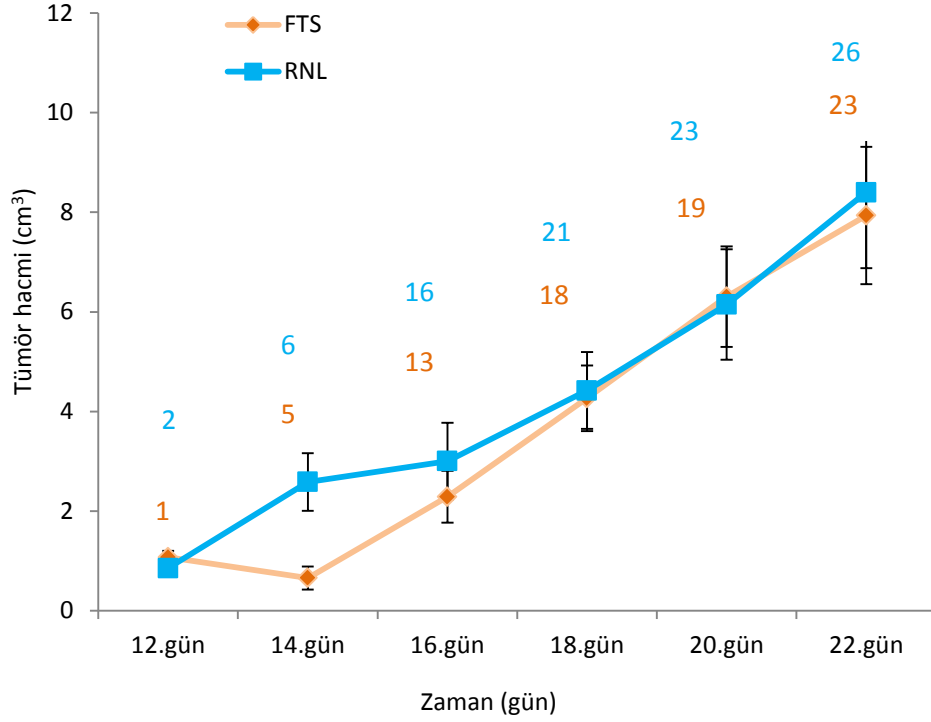
5 μM RNL tedavi grubunda FTS verilen kontrol hayvanlarının tümör ağırlığı 17,31 g, RNL verilen sıçanlarda ise, tümör ağırlığının biraz azalarak 13,97 g (Tablo 4.2) olduğu

belirlenmiştir (Şekil 4.3). 5 µM RNL tedavi grubundan elde edilen sonuçların istatistik bakımdan anlamlı bir fark göstermediği saptanmıştır ($P>0,05$).

10 µM RNL tedavi grubunda, FTS verilen kontrol grubu sıçanların tümör ağırlıkları 17,31 g iken, RNL ile tedavi edilen sıçanlarda kontrol grubuna oranla daha küçük tümörlerin oluştuğu ve tümör ağırlığının 6,53 g olduğu saptanmıştır (Tablo 4.2, Şekil 4.3). RNL'nin, primer tümör ağırlığı üzerinde bir etki meydana getirmekle birlikte, tümör büyümesini azaltan bu etkinin istatistik bakımdan anlamlı ($P>0,05$) olmadığı bulunmuştur.

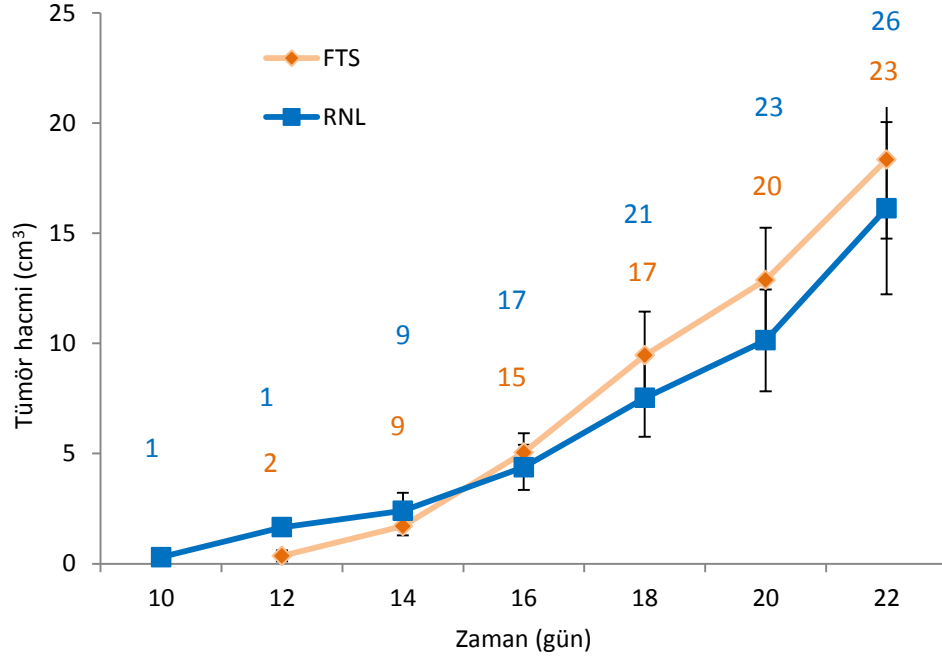
4.2. PRİMER TÜMÖR GELİŞİMİNİN İZLENMESİ

Hücre inokülasyon yerinde katı bir kitlenin palpe edilmesiyle tümör varlığı ilk olarak kaydedilmiş ve primer tümör gelişimi rölatif tümör hacmi ölçülerek belirlenmiştir. Bu amaçla tümörden alınan iki farklı ölçü yardımıyla primer tümör hacmi hesaplanarak, zaman ile hacim arası ilişki grafik ile gösterilmiştir (Şekil 4.4 – 4.6). 2,5 µM RNL tedavi grubunda, FTS verilen hayvanlardan bir bireyde ölçülebilir tümör ilk defa 12. günde tespit edilmiş ve ilerleyen günlerde tümörlü hayvan sayısı ve tümör hacmi hızla artarak 22. günde 23 hayvanda primer tümörün bulunduğu gözlenmiştir (Şekil 4.4). 2,5 µM RNL verilen hayvanlardan iki tanesinde ise, tümör ilk defa 12. günde kaydedilmiş ve tedavi alan hayvanlarda da hem tümör hacmi hem de, tümörlü hayvan sayısı hızla artarak 22. günde 26 sıçanda tümör bulunduğu saptanmıştır. Şekil 4.4'daki grafik incelendiğinde, kontrol ve deney grubundaki hayvanların tümör hacimlerinin 12. günden 22. güne kadar benzer bir gelişim seyri izlediği görülmektedir. Elde edilen bu veriler 2,5 µM RNL ile tedavi edilen hayvanların primer tümör ağırlığı sonuçları ile de paraleldir.



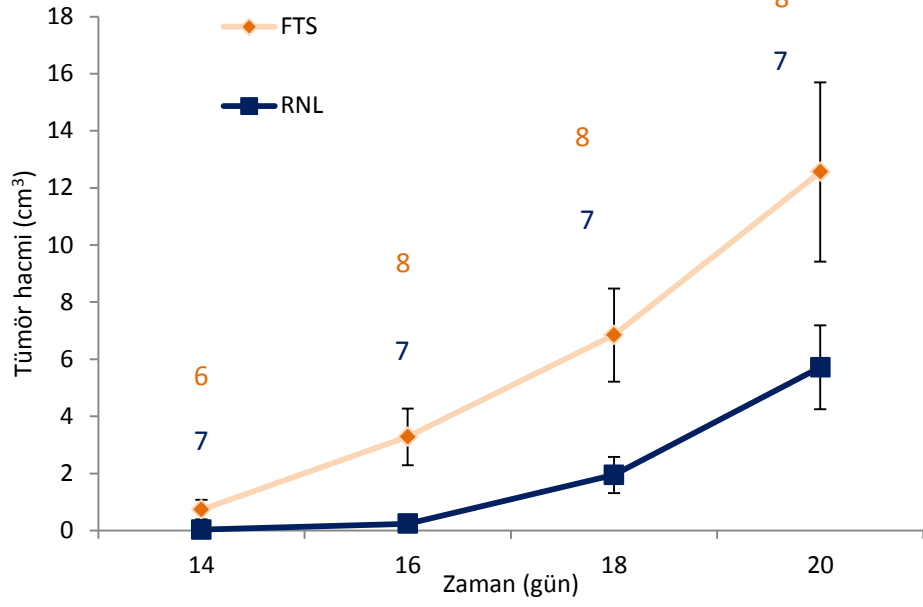
Şekil 4.4: FTS ve RNL (2,5 μ M) gruplarında rölatif tümör hacmi yöntemiyle primer tümör gelişimi (Rakamlar, grupların n sayılarını göstermektedir).

RNL'nin 5 μ M olarak kullanıldığı grupta, ilk olarak RNL grubundaki bir hayvanda 10. günde primer tümör tespit edilirken, kontrol grubundaki hayvanların iki tanesinde 12. günde tümör kaydedilmiştir (Şekil 4.5). Devam eden günlerde her iki grupta da tümörlü hayvan sayısında ve tümör hacminde hızlı bir artış görülmüştür. Dolayısıyla tümör gelişimi ilk olarak 5 μ M RNL tedavisi alan hayvanlarda başlamakla birlikte, her iki grupta da tümör gelişimi 22. güne kadar tamamen paralel bir seyir izlemiştir. 22. günde, kontrol grubunda 23 hayvanda, RNL grubunda ise, 26 hayvanda tümörün bulunduğu belirlenmiştir. Rölatif tümör hacmi değerlendirilerek elde edilen sonuçlar ile 22. gündeki tümör ağırlıkları benzerlik göstermektedir.



Şekil 4.5: FTS ve RNL (5 µM) gruplarında rölâtif tümör hacmi yöntemiyle primer tümör gelişimi (Rakamlar, grupların n sayılarını göstermektedir).

Primer tümör gelişiminin rölâtif tümör hacmi yöntemiyle araştırıldığı 10 µM RNL tedavi grubunda ilk olarak 14. günde FTS grubunda 6 hayvanda, aynı gün RNL grubunda 7 hayvanda yani, gruptaki tüm hayvanlarda tümör ölçümü yapılabilmektedir (Şekil 4.6). Deneyin sonlandırıldığı 22. güne kadar kontrol grubunda, tümörlü hayvan sayısında ve özellikle tümör hacminde dikkat çekici bir artış görülürken, RNL grubundaki tümörlü hayvanlarda tümör hacminin FTS grubundaki kadar artmadığı görülmüştür. Şekilde de izlendiği gibi 20. günde kontrol grubunda 8, RNL grubunda ise 7 sayıda tümör kaydedilmiş olup, her iki grubun tümör hacimleri arasında önemli derecede bir fark bulunmakta ve bu durum, tümör ağırlığı sonuçlarında da izlenmektedir.

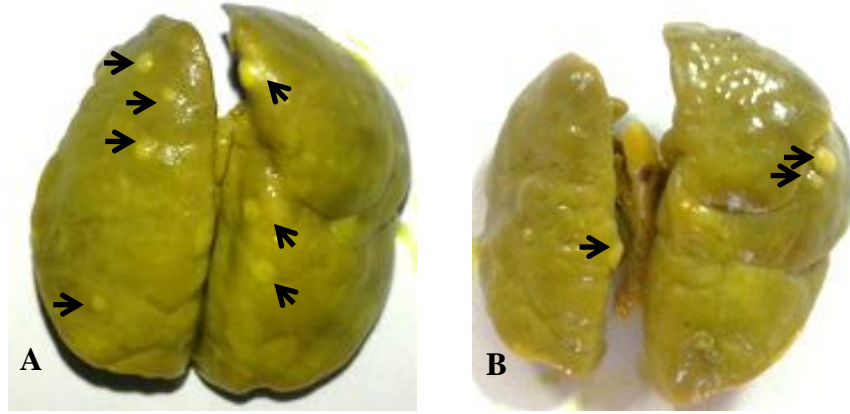


Şekil 4.6: FTS ve RNL (10 μ M) gruplarında rölative tümör hacmi yöntemiyle primer tümör gelişimi (Rakamlar, grupların n sayılarını göstermektedir).

4.3. AKCİĞER METASTAZLARI

4.3.1. Metastaz Sayısı

Sodyum kanal blokeri olan RNL tedavisinin akciğerdeki metastaz gelişimi üzerinde nasıl bir etki gösterdiği, kontrol ve RNL gruplarındaki hayvanların akciğer yüzeyinde tespit edilen metastaz sayıları (Şekil 4.7) karşılaştırılarak yapılmıştır. 2×10^4 Mat-LyLu hücresinin inokülasyonu sonucunda gerek kontrol gerekse, RNL gruplarındaki hayvanların akciğerlerinde metastaz gelişimi gözlenmiştir (Tablo 4.3).

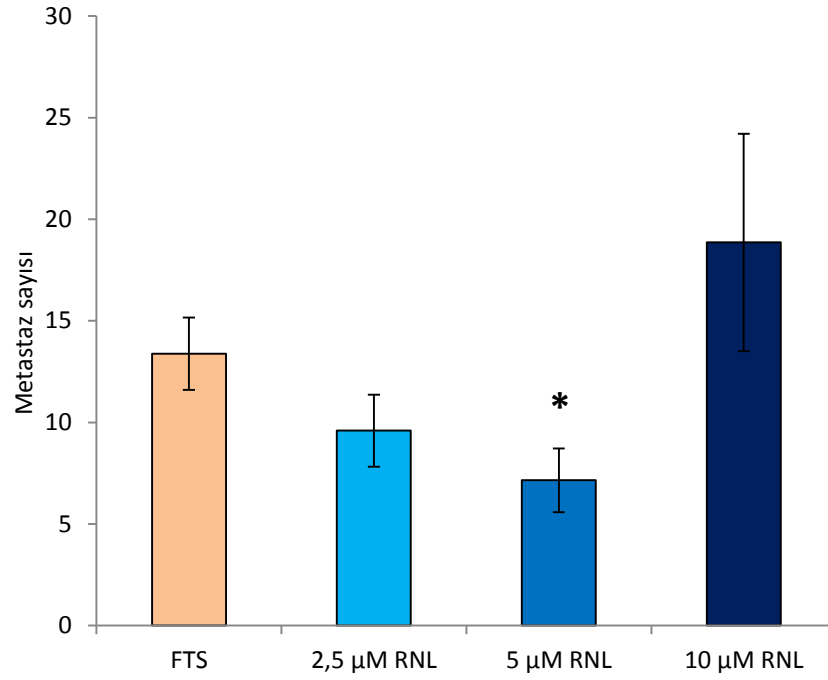


Şekil 4.7: Mat-LyLu hücrelerinin inokülasyonu ile oluşturulan deneysel prostat kanseri modelinde hayvanların akciğerlerinde 22.Günde gözlenen metastazlar
A) FTS grubu, B) RNL grubu (→ metastazları göstermektedir).

2,5 μ M RNL tedavi grubunda, kontrol grubundaki hayvanların akciğerlerinde tespit edilen metastaz sayıları 13,38 iken, RNL uygulanan grupta yer alan hayvanların metastaz sayıları 9,59 olarak tespit edilmiştir (Tablo 4.3). Akciğer yüzeyinde gelişen metastaz sayısı üzerinde 2,5 μ M RNL'nin % 28,33 civarında bir azalma meydana gelmekle beraber istatistiksel olarak anlamlı bir etki göstermediği belirlenmiştir ($P>0,05$).

Tablo 4.3: FTS ve RNL gruplarındaki sıçanların akciğer yüzeyinde tespit edilen metastaz sayıları (\pm SE).

Metastaz Sayısı						
FTS (n=53)	2,5 μ M RNL (n=32)	İstatistiksel Anlamlılık	5 μ M RNL (n=33)	İstatistiksel Anlamlılık	10 μ M RNL (n=7)	İstatistiksel Anlamlılık
13,38 \pm 1,78	9,59 \pm 1,77	$P>0,05$	7,15 \pm 1,57	$P<0,05$	18,86 \pm 5,35	$P>0,05$



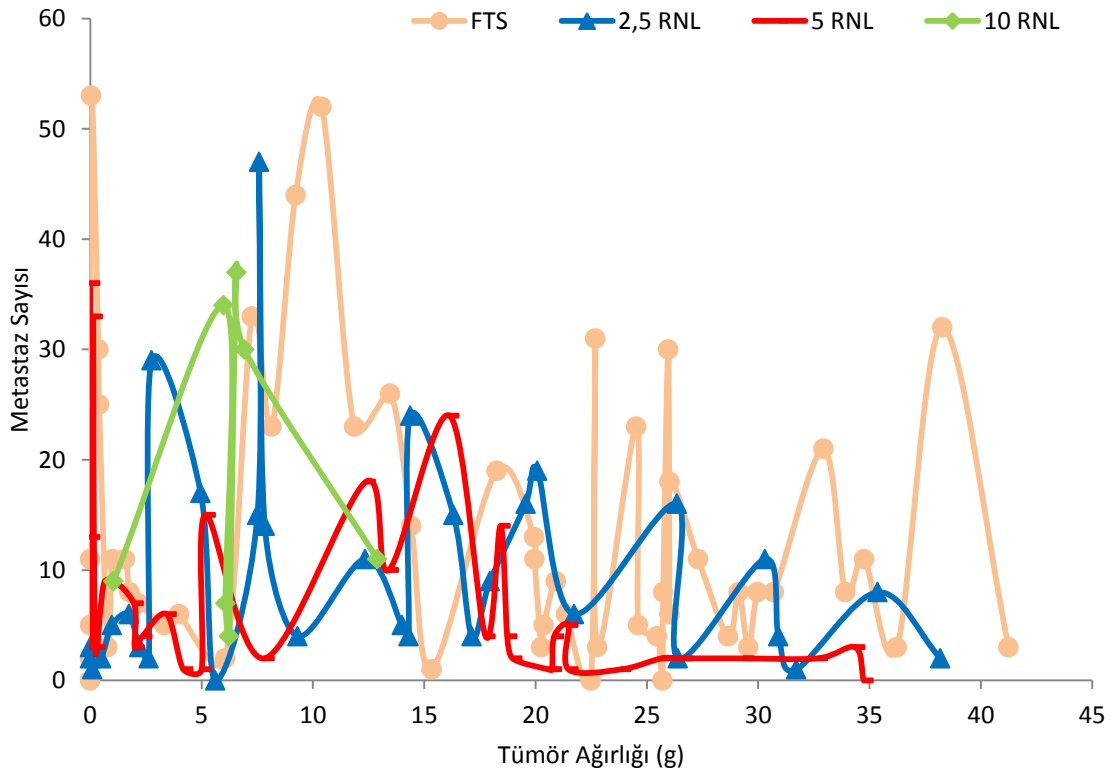
Şekil 4.8: FTS ve RNL gruplarındaki sıçanların akciğer yüzeyinde tespit edilen metastaz sayısı.

Akciğer metastaz sayısı üzerine 5 µM RNL'nin etkisi değerlendirildiğinde, kontrol grubundaki hayvanların akciğerlerinde ortalama 13,38 metastaz saptanırken, RNL grubunda metastaz sayısı 7,15 olarak belirlenmiştir (Tablo 4.3, Şekil 4.8). 5 µM RNL'nin akciğerde gelişen metastaz sayısı üzerinde etki gösterdiği ve metastaz sayısının % 46,56 oranında azaldığı bulunmuştur. Bu inhibe edici etkinin istatistiksel olarak anlamlı ($p < 0,05$) olduğu saptanmıştır.

10 µM RNL tedavi grubunda, FTS verilen hayvanların akciğerlerindeki metastaz sayısı 13,38 olarak tespit edilmiştir. 10 µM RNL tedavisi alan hayvanların akciğerlerindeki metastaz sayısı ise, artış göstermiş ve 18,86 olarak saptanmıştır (Tablo 4.3 ve Şekil 4.8). Elde edilen bu verilerin istatistik olarak değerlendirilmesi sonucunda, kontrol ve RNL grubu arasındaki farkın anlamlı ($P > 0,05$) olmadığı tespit edilmiştir.

Akciğer yüzeyindeki metastaz sayılarının yanı sıra metastaz sayısı ile primer tümör ağırlığı arasındaki ilişki de değerlendirilmiştir. FTS verilen kontrol grubu ile RNL (2,5 µM, 5 µM, 10 µM) grubu metastaz sayılarının geniş bir varyasyonu içermekte ve primer tümör büyüklüğünün akciğerdeki metastaz sayısını doğrudan etkilemediği saptanmıştır (Şekil 4.9). Kontrol ve RNL grubu sıçanların küçük primer tümör taşıyanları, daha

büyük primer tümör taşıyanlara oranla daha fazla metastaz bulundurma eğiliminde oldukları belirlenmiştir. Ayrıca metastaz sayılarının azalmasına etki eden 2,5 μM ve 5 μM RNL tedavi gruplarında tümör büyüdükçe metastaz sayısının kontrole göre daha az olduğu ve özellikle 5 μM RNL’de bu azalmanın dikkat çekici olduğu izlenmektedir.



Şekil 4.9: FTS ve RNL (2,5 μM , 5 μM , 10 μM) gruplarındaki hayvanların primer tümör ağırlığı ile metastaz sayısı arasındaki ilişki.

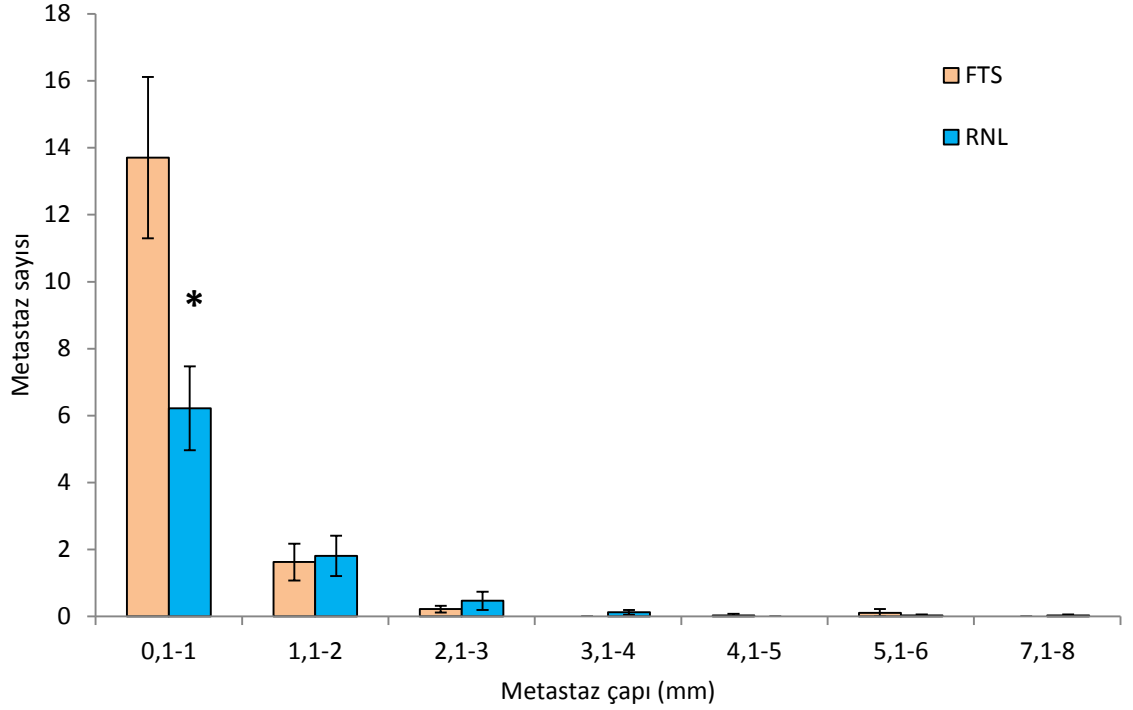
4.3.2. Metastaz Büyüklüğü

Sodyum kanal blokörü olarak RNL'nin metastatik ilerleme üzerine olan etkileri, FTS verilen kontrol ve 2,5 μM RNL gruplarındaki hayvanlardan elde edilen metastaz büyüklükleri arasında karşılaştırma yapılarak belirlenmiştir. Her iki gruptaki bireylerin akciğerlerinden elde edilen metastazlar 0,1-1 mm, 1,1-2 mm, 2,1-3 mm, 3,1-4 mm, 4,1-5 mm, 5,1-6 mm ve 7,1-8 mm olmak üzere yedi farklı çap aralığında sınıflandırılmış ve FTS ile RNL gruplarının metastaz ortalamaları karşılaştırılmıştır (Tablo 4.4 ve Şekil 4.10). 0,1-1 mm çap aralığında büyüklüğe sahip ortalama metastaz sayısı kontrol

grubunda 13,70 iken, RNL grubunda 6,22 olarak belirlenmiştir. RNL'nin, 0,1-1 mm grubundaki metastaz sayısında % 54,6 oranında bir azalma meydana getirdiği ve bu azalmanın, istatistiksel olarak anlamlı ($P<0,05$) olduğu görülmüştür. Çapları 1,1-2 mm, 2,1-3 mm, 3,1-4 mm, 4,1-5 mm, 5,1-6 mm ve 7,1-8 mm olan metastaz sayılarının oldukça az olması nedeniyle sağlıklı bir değerlendirme yapmak mümkün olmamış ve istatistiksel bakımdan iki grup arasında fark görülmemiştir.

Tablo 4.3: FTS ve 2,5 μ M RNL gruplarındaki sıçanların akciğerlerindeki metastazların, çaplarına göre sınıflandırılması sonucu elde edilen ortalama metastaz sayıları (\pm SE).

Metastaz çapı (mm)	Metastaz Sayısı		İstatistiksel Anlamlılık
	FTS (n=27)	RNL (2,5 μ M) (n=32)	
0,1-1	13,70 \pm 2,41	6,22 \pm 1,25	$P<0,05$
1,1-2	1,63 \pm 0,55	1,81 \pm 0,60	$P>0,05$
2,1-3	0,22 \pm 0,10	0,47 \pm 0,27	$P>0,05$
3,1-4	0	0,13 \pm 0,07	$P>0,05$
4,1-5	0,04 \pm 0,04	0	$P>0,05$
5,1-6	0,11 \pm 0,11	0,03 \pm 0,03	$P>0,05$
7,1-8	0	0,03 \pm 0,03	$P>0,05$

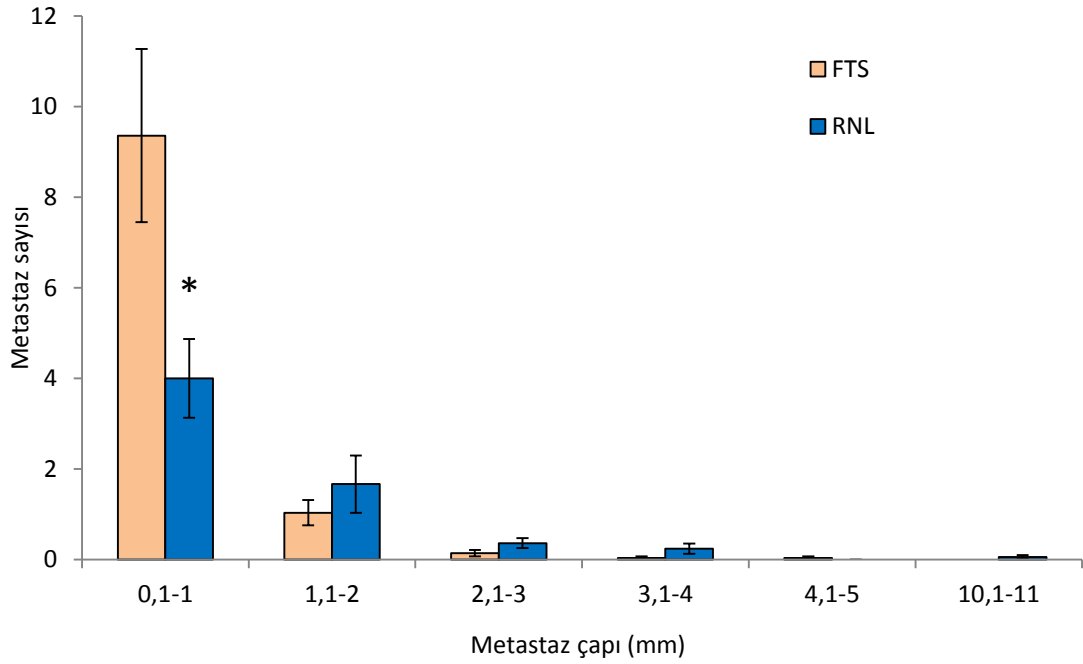


Şekil 4.10: FTS ve RNL (2,5 μ M) gruplarında akciğerdeki metastaz büyüklükleri.
*:FTS grubuna göre istatistik bakımından anlamlı fark (P<0,05).

FTS ve 5 μ M RNL gruplarındaki hayvanlardan elde edilen metastaz büyüklükleri 0,1-1 mm, 1,1-2 mm, 2,1-3 mm, 3,1-4 mm, 4,1-5 mm ve 10,1-11 mm olmak üzere altı farklı çap aralığında sınıflandırılmıştır (Tablo 4.5 ve Şekil 4.11). FTS grubunda çapı 0,1-1 mm aralığında olan ortalama metastaz sayısı 9,36 iken, RNL grubunda metastaz sayısının 4,00 olduğu bulunmuştur. RNL'nin 0,1-1 mm çapa sahip metastazlar üzerinde % 57,27 oranında azalma meydana getirdiği ve bu azalmanın, istatistik açıdan anlamlı (P<0,05) olduğu bulunmuştur. Çapları 1,1-2 mm, 2,1-3 mm, 3,1-4 mm, 4,1-5 mm ve 10,1-11mm olan metastaz sayılarının az olması nedeniyle sağlıklı bir değerlendirme yapılamamıştır.

Tablo 4.4: FTS ve 5 μ M RNL gruplarındaki sıçanların akciğerlerindeki metastazların, çaplarına göre sınıflandırılması sonucu elde edilen ortalama metastaz sayıları (\pm SE).

Metastaz çapı (mm)	Metastaz Sayısı		İstatistiksel Anlamlılık
	FTS (n=28)	RNL (5 μ M) (n=33)	
0,1-1	9,36 \pm 1,91	4,00 \pm 0,89	P<0,05
1,1-2	1,04 \pm 0,28	1,67 \pm 0,63	P>0,05
2,1-3	0,14 \pm 0,07	0,36 \pm 0,11	P>0,05
3,1-4	0,04 \pm 0,04	0,24 \pm 0,11	P>0,05
4,1-5	0,04 \pm 0,04	0	P>0,05
10,1-11	0	0,06 \pm 0,04	P>0,05

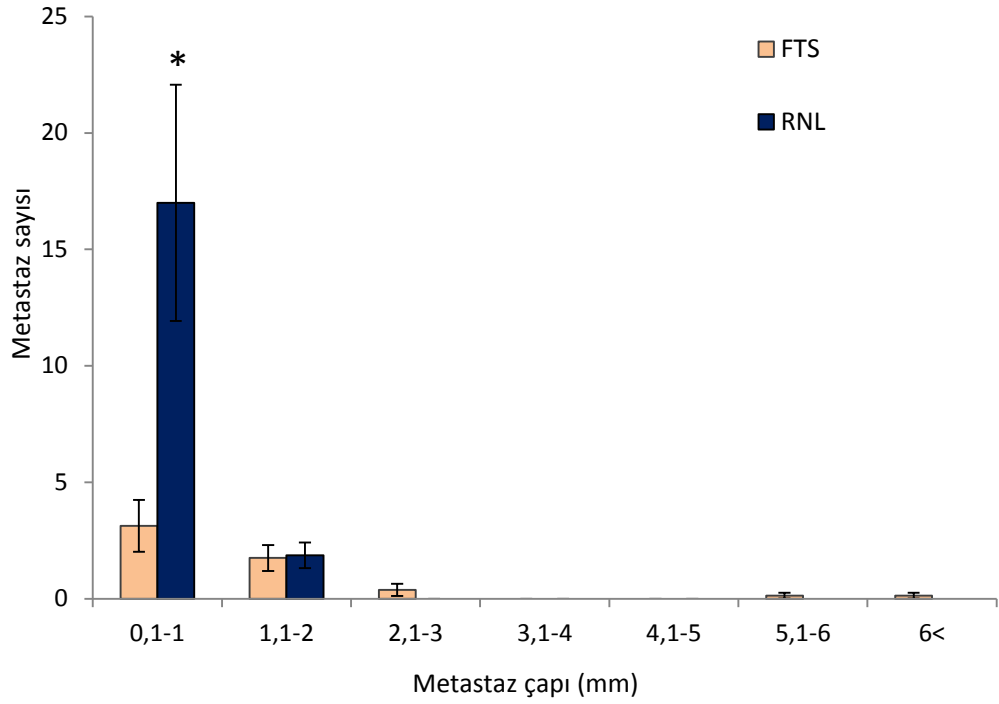


Şekil 4.11: FTS ve RNL (5 μ M) gruplarında akciğerdeki metastaz büyüklükleri.
*:FTS grubuna göre istatistik bakımından anlamlı fark (P<0,05).

FTS ve 10 μ M RNL gruplarındaki hayvanların akciğer yüzey metastazları büyüklüklerine göre altı farklı çap aralığında sınıflandırılmıştır (Tablo 4.6 ve Şekil 4.12). Çapı 0,1-1 mm aralığında büyüklüğe sahip FTS grubu metastaz sayıları 3,13 ve RNL grubu metastaz sayıları ise, 17,00 olarak belirlenmiştir. 1,1-2 mm çap aralığındaki metastaz sayısı 1,75 ve RNL tedavisi alan grupta 1,86 olmaktadır. İstatistiksel değerlendirme sonucunda RNL'nin 10 μ M olarak uygulanmasının çapı 0,1-1 mm aralığında olan metastazlar üzerinde belirgin bir artış meydana getirdiği ve % 100den fazla olan bu artışın istatistiksel olarak anlamlı ($P<0,05$) fark oluşturduğu saptanmıştır. 1,1-2 mm, 2,1-3 mm, 5,1-6 mm ve 6 < mm çaplara sahip metastaz sayıları burada da oldukça az olduğundan istatistik değerlendirme yapılamamıştır.

Tablo 4.5: FTS ve 10 μ M RNL gruplarındaki sıçanların akciğerlerindeki metastazların çaplarına göre sınıflandırılması sonucu elde edilen ortalama metastaz sayıları (\pm SE).

Metastaz çapı (mm)	Metastaz Sayısı		İstatistiksel Anlamlılık
	FTS (n=8)	RNL (10 μ M) (n=7)	
0,1-1	3,13 \pm 1,11	17,00 \pm 5,07	$P<0,05$
1,1-2	1,75 \pm 0,56	1,86 \pm 0,55	$P>0,05$
2,1-3	0,38 \pm 0,26	0	$P>0,05$
5,1-6	0,13 \pm 0,12	0	$P>0,05$
6<	0,13 \pm 0,12	0	$P>0,05$



Şekil 4.12: FTS ve RNL (10 μ M) gruplarında akciğerdeki metastaz büyüklükleri.
*: FTS grubuna göre istatistik bakımından anlamlı fark (P<0,05).

4.3.3. Metastaz Taşıyan Akciğer Ağırlığı

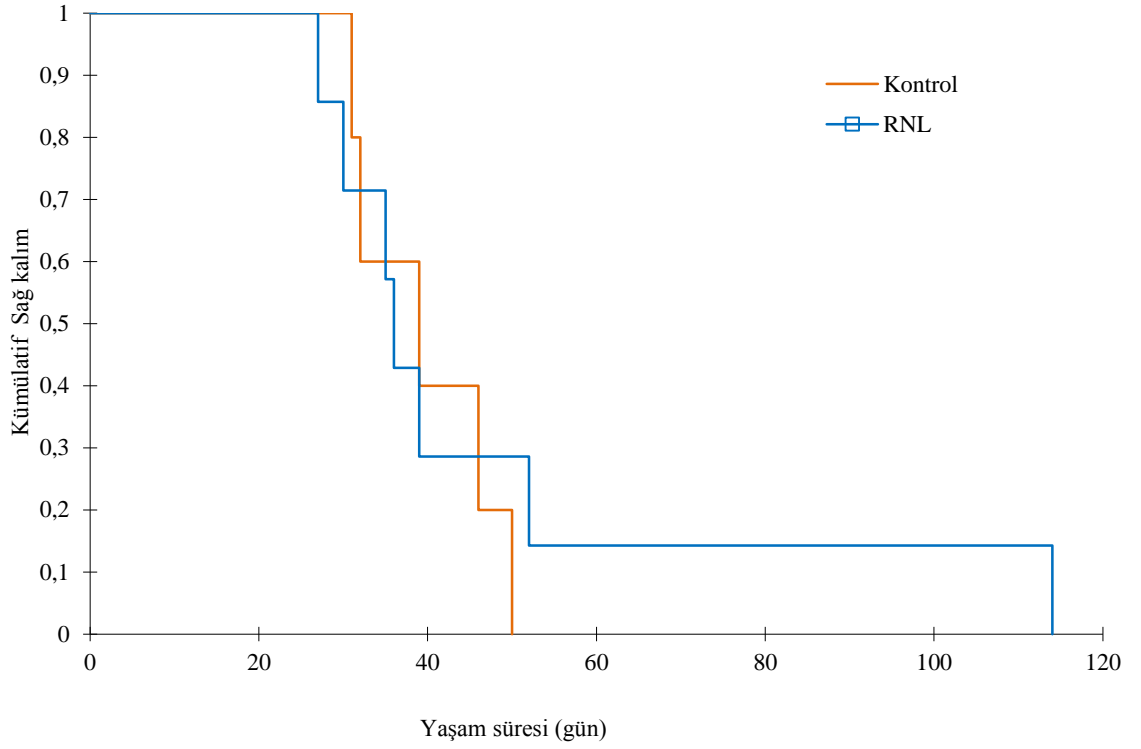
Akciğerde oluşan metastazların belli bir hacime sahip oldukları ve toplam olarak akciğerin ağırlığı üzerinde bir etki yapabilecekleri ihtimalinden yola çıkarak, RNL'nin toplam metastaz yükü üzerindeki etkisi, akciğer ağırlıkları üzerinden değerlendirilmiştir. Bu amaçla elde edilen ortalama akciğer ağırlıkları Tablo 4.6'da verilmiştir. 2,5 μ M RNL tedavi grubunda, FTS verilen hayvanların akciğer ağırlıkları 1,38 g iken, RNL (2,5 μ M) verilen hayvanların akciğer ağırlıkları 1,39 g bulunmuştur. 5 μ M RNL tedavi grubunda, FTS ve RNL verilen sıçanların akciğer ağırlıkları sırasıyla, 1,48 g ve 1,53 g olarak belirlenmiştir. Bir diğer tedavi grubunda ise, kontrol grubundaki hayvanların 1,73 g akciğer ağırlığı elde edilirken, RNL (10 μ M) grubunda 1,46 g olmaktadır. Bu verilerin istatistiksel açıdan değerlendirilmesi sonucunda, tüm dozlarda kontrol ile deney gruplarındaki hayvanların akciğer ağırlıkları arasında anlamlı bir farkın bulunmadığı saptanmıştır.

Tablo 4.6: FTS ve RNL gruplarındaki hayvanların toplam metastaz yükünü belirlemek üzere ortalama akciğer ağırlıkları (\pm SE).

	Akciğer Ağırlığı (g)		İstatistiksel Anlamlılık
	FTS	RNL	
2,5 μ M	1,38 \pm 0,27 (27)	1,39 \pm 0,04 (32)	P>0,05
5 μ M	1,48 \pm 0,29 (28)	1,53 \pm 0,27 (33)	P>0,05
10 μ M	1,73 \pm 0,31 (8)	1,46 \pm 0,07 (7)	P>0,05

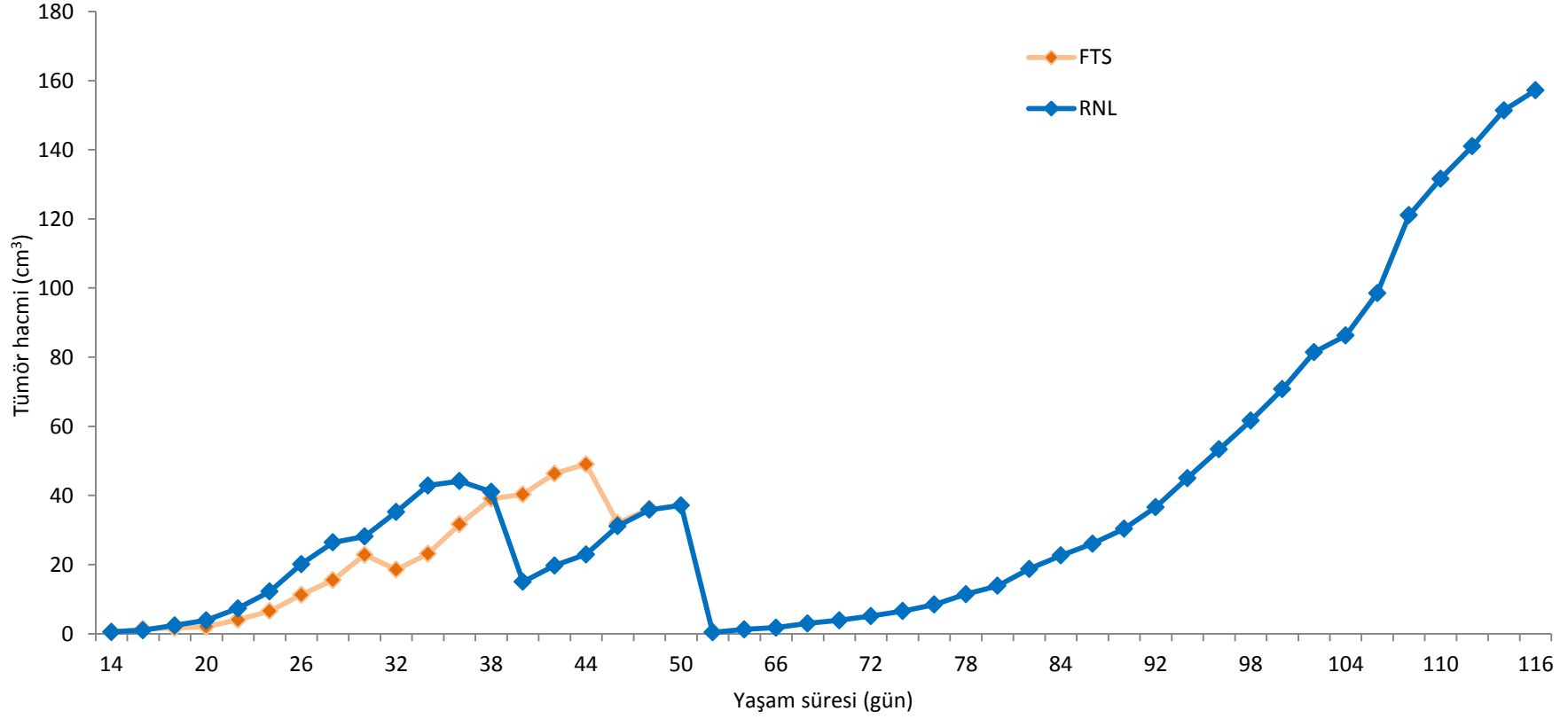
4.4. HAYVANLARIN YAŞAM SÜRESİ (SAĞ KALIM)

Yüksek metastatik karakterli Mat-LyLu hücreleri ile *in vivo* olarak oluşturulan prostat kanseri modelinde, 5 μ M RNL'nin metastaz üzerinde görülen inhibe edici etkisinin sıçanların yaşam süreleri yani, sağ kalımda etkisinin olup olmadığı da araştırılmıştır. Deneyin sonlandırıldığı 22. günden sonra en erken ölüm RNL grubundaki bir bireyde 27. günde gerçekleşmiştir. FTS grubunda ilk ölüm 31. günde başlamış ve 50. güne ulaşıldığında FTS grubundaki (n=6) tüm sıçanlar hayatlarını kaybetmişlerdir. Buna karşılık RNL grubunda (n=7) sağ kalım 114. güne kadar devam etmiştir. Kaplan-Meier analizi 5 μ M RNL tedavisinin prostat kanserli hayvanların sağ kalımını arttırdığını göstermiştir. Ancak, birey sayısının azlığından dolayı yaşam süresi üzerine yapılan istatistik değerlendirmede anlamlı bir fark belirlemek mümkün olamamıştır (Şekil 4.13).



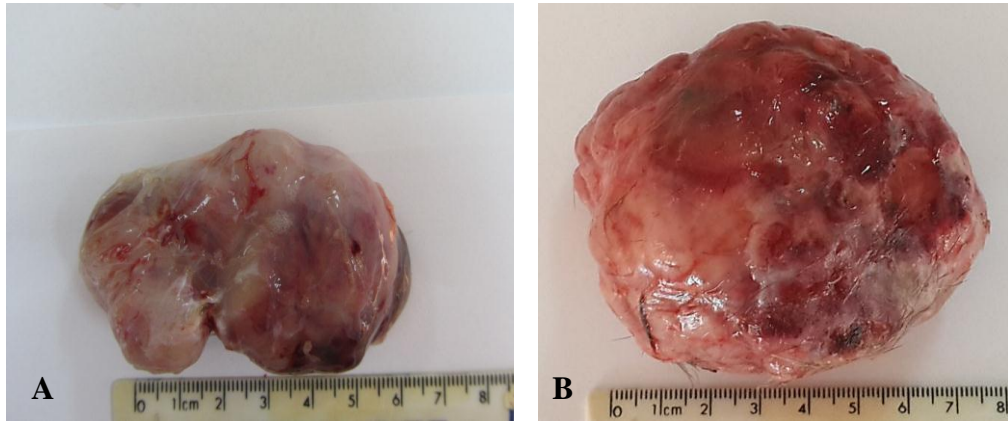
Şekil 4.13: Mat-LyLu hücrelerinin inokülasyonu ile prostat kanserli hale getirilen Copenhagen sıçanların Kaplan-Meier analizi ile belirlenen sağ kalım eğrileri.

Rölatif tümör hacmi ile primer tümör gelişimi değerlendirildiğinde, ilk tümör varlığı FTS grubunda iki, 5 μ M RNL grubunda bir sıçan ile 14. günde kaydedilmiştir (Şekil 4.14). Şekilde de görüldüğü gibi, günlere bağlı olarak her iki grupta da tümör hacmi artmış ancak, farklı günlerde yaşanan ölümler, tümör hacminde keskin düşüşler ile kendini göstermiştir.



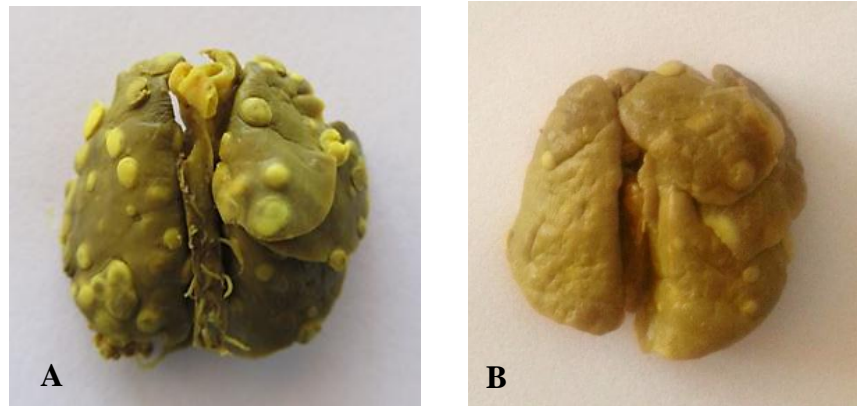
Şekil 4.14: RNL'nin yaşam süresi üzerine etkisinin değerlendirilmesinde rölatif tümör hacmi yöntemiyle primer tümör gelişimi.

Sağ kalımın araştırıldığı deneyde FTS ve RNL gruplarında sırasıyla 50. ve 114. günde ölen sıçanlara otopsi yapılmış, primer tümör; tümör ağırlığı ve rölatif tümör hacmi ile, metastazlar ise, akciğerdeki metastaz sayıları ile değerlendirilmiştir. FTS grubunda tümör sıvısı olmaksızın 46,47 g ağırlığında bir primer tümör çıkarılırken, RNL grubunda 48. günde tümör varlığı kaydedilmiş, tümör ölçülebilir boyuta 62. günde ulaşmış ve 114. günde ağırlığı 156,83 g olan yoğun, sert ve nekrotik bölge içermeyen primer tümör çıkarılmıştır (Şekil 4.15).



Şekil 4.15: FTS ve 5 µM RNL grupları sağkalım değerlendirmesindeki hayvanların primer tümörleri A) FTS grubu 50. günde 46,47 g, B) 5 µM RNL grubunda 114. günde 156,83 g.

RNL tedavisinin etkinliğini belirlemede akciğer metastaz sayısının FTS grubundaki 50. günde ölen bireyde, çoğu büyük olmak üzere farklı boyutta 151 metastaz tespit edilirken, 114. günde ölen RNL grubu sıçanda farklı çaplarda 27 adet metastazın olduğu saptanmıştır (Şekil 4.16).



Şekil 4.16: FTS ve RNL (5 µM) gruplarındaki hayvanların akciğerleri A) FTS grubu (50. gün), B) RNL grubu (114. gün).

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Son yıllarda diğerkanser türlerinde olduğu gibi prostat kanserinin tanı ve tedavisine yönelik çalışmalarda da araştırmacılar ümit vaadeden bir saha olarak ‐ıyon kanallarının kanserin gelişimi ve ilerlemedeki rolleri‐ konusunda yoğunlaşmaktadır. Prostat, meme, kolon, glioma gibi çeşitli kanserlerin proliferasyon ve metastatik süreçlerinde voltaj kapılı iyon kanallarının rol aldığı belirlenmiştir. (Laniado ve diğ.,1997; Fiske ve diğ., 2006).

Çalışmamız ‐VGSC’lerin, prostat kanserinin metastatik potansiyelinde kuvvetlendirici bir role sahip olduğu ve kanalların bloklanmasıyla metastatik yayılımının baskılanabileceği‐ hipotezine dayanmaktadır. Bu amaçla, Dunning sıçan prostat tümör modeline ait, yüksek metastatik karakterli Mat-LyLu hücrelerinin Copenhagen ırkı erkek sıçanlara deri altı inokülasyonu ile oluşturulan deneysel prostat kanseri modelinde, sıçanların, ısrarlı akım inhibitörü olarak Na⁺ akımını bloke eden RNL ile tedavi edilmesi sonucunda; primer tümör, akciğerdaki metastaz sayısı, metastaz boyutu ve tümörlü hayvanların sağ kalımları araştırılmıştır.

Mat-LyLu metastatik sıçan prostat kanser hücre soyunun deri altı inokülasyonu ile Copenhagen ırkı sıçanlarda oluşturulan prostat kanser modelinde, sistemik olarak (gavaj ile) RNL’nin 2,5 µM, 5 µM, 10 µM konsantrasyonları uygulanmış ve primer tümör gelişimi üzerindeki etkisi 22. gündeki primer tümör ağırlıkları ve rölatif tümör hacmi ile değerlendirilmiştir. 2,5 µM, 5 µM ve 10 µM RNL’nin primer tümör ağırlığı üzerinde anlamlı bir etki meydana getirmediği saptanmıştır. Kontrol ve RNL gruplarındaki hayvanlarda rölatif tümör hacminin değerlendirilmesiyle incelenen primer tümör gelişimi ile tümör ağırlığı sonuçları paralellik göstermiştir.

Literatürde yüksek metastatik Mat-LyLu hücreleriyle oluşturulan Dunning modeli prostat tümörü üzerine RNL’nin etkisini araştıran *in vivo* bir çalışmaya rastlanmamıştır. Farklı bir tümör modelinde *in vivo* olarak yürütölen çalışmada yüksek doz (30 mg/kg) RNL’nin spontan ince bağırsak tümörigenez modeli olan APC (Min⁺) farelerine

uygulanması ile neoplastik lezyonların gelişiminde stimülasyon meydana getirdiği Suckow ve diğ., (2004) tarafından saptanmıştır. Bunların dışında meme kanser hücreleri MDA-MB231 ile *in vitro* olarak yürütülen çalışmada, RNL hücre proliferasyonunu etkilemeksizin, hücrelerin invazyonu üzerinde inhibisyon meydana getirdiği belirlenmiştir (Djamgoz ve Onkal, 2013). Bunlardan başka RNL'nin antianjinal etkilerine yönelik veya epilepsi üzerindeki cevapları hakkında yapılmış *in vivo* ve *in vitro* çalışmalar bulunmaktadır (Antzelevich, 2004; Anderson, 2014).

Literatürde sıçanların Mat-LyLu hücreleri ile oluşturulan prostat tümörü üzerine VGSC blokerlerinden TTX'in etkisini araştıran *in vivo* çalışmada, 200 nM TTX'in prostat tümörleri üzerinde inhibe edici bir etkisi görülmüştür (Altun ve Djamgoz, 2008). *In vitro* da elde edilen sonuçlardan farklı olan bu durumu TTX'e uzun süreli maruz kalmadan kaynaklanmış olabileceği ileri sürülmüştür. Mat-LyLu hücreleri ile oluşturulan prostat tümörü üzerine bazı maddelerin etkilerinin araştırıldığı *in vivo* çalışmalar bulunmaktadır.

Mat-LyLu hücreleri ile oluşturulan deri altı prostat tümörü üzerine kalsitrol (1,25 Dihidroksivitamin D) ve sentetik analogunun (6760) etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada, yirmi birinci günde kontrol grubundaki tümör hacminin 32 cm^3 , ağırlığının ise ortalama 28,6 g olduğu belirlenmiştir (Getzenberg ve diğ., 1997). Mat-LyLu hücreleri ile oluşturulan prostat tümörü üzerine kalsitrol ile analogunun (EB1089) etkilerini araştıran Lokeshwar ve diğ., (1999), on dokuzuncu günde kontrol grubundaki tümör ağırlıkları ortalamasının 15 cm^3 olduğunu tespit etmişlerdir. Oades ve diğ., (2002) tarafından 1×10^5 Mat-LyLu hücrelerinin Copenhagen ırkı sıçanların deri altına enjekte edildiği ve kalsitrol ve analogları EB1089 ve CB1093'ün etkilerinin araştırıldığı çalışmada, on dördüncü günde kontrol grubundaki tümör hacminin $4,2 \text{ cm}^3$ olduğu saptanmıştır. Benzer her üç çalışmada da kalsitrol ve analoglarının prostat büyümesini inhibe ettiği belirlenmiştir. Sıçanlarda Mat-LyLu hücreleri ile oluşturulan prostat tümöründe, antimikrobiyal özelliği kaldırılmış tetrasiklin analogu olan COL-3'ün etkileri araştırılmış ve her gün sindirim sistemi yoluyla verilen COL-3'ün, yedi gün sonunda tümör büyümesini % 27-35 oranında azalttığı tespit edilmiştir (Lokeshwar ve diğ., 2002). Bitkisel karışım olan *Brahma rasayana*'nın etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada, 1×10^4 Mat-LyLu hücreleri ile Copenhagen ırkı sıçanlarda oluşturdukları

intradermal prostat tümörünün yirmi beşinci gününde 25 g ağırlığında olduğunu belirlenmiştir (Gaddipati ve diğ., 2004). Bitkisel kökenli bir madde olan Indol-3-karbinol (I3C)'ün prostat tümörü üzerindeki etkisi *in vivo* olarak incelendiği bir çalışmada, i.p ve i.v olarak verilen I3C'nin tümör büyümesi üzerinde inhibe edici bir etki meydana getirdiği Garikapaty ve diğ., (2005) tarafından tespit edilmiştir.

Yüksek metastatik Mat-LyLu hücrelerinin Copenhagen ırkı sıçanlara deri altı inokülasyonu sonucu akciğerler ve lenf nodüllerinde metastatik odaklar oluşturan bir prostat kanser modeli olduğu Isaacs ve diğ., (1981) tarafından bildirilmiştir. Dunning sıçan prostat kanser modeli yüksek metastatik Mat-LyLu hücreleri % 90'ın üzerinde metastaz kapasitesine sahiptir (Fraser ve diğ., 1999). Çalışmamızda da RNL'nin metastatik gelişim üzerindeki etkisi, kontrol ve RNL gruplarındaki hayvanların akciğer yüzeylerinde tespit edilen metastaz sayıları ve büyüklükleri karşılaştırılarak değerlendirilmiş ve aşağıdaki sonuçlar elde edilmiştir;

2×10^4 Mat-LyLu hücresi ile oluşturulan çalışmada gerek kontrol, gerekse RNL (2,5 μ M, 5 μ M, 10 μ M) gruplarındaki hayvanların akciğerlerinde metastazlar gelişmiştir. Akciğer yüzeyinde gelişen metastaz sayısı üzerinde 2,5 μ M ve 10 μ M RNL tedavisi istatistiksel olarak anlamlı bir etki meydana getirmezken, 5 μ M RNL'nin akciğerde gelişen metastaz sayısını % 46,56 oranında anlamlı ($P > 0,05$) olarak inhibe ettiği saptanmıştır

Ayrıca, RNL'nin metastatik ilerleme üzerine olan etkileri, FTS verilen ve RNL tedavisi alan hayvanlardan elde edilen metastaz büyüklükleri yani çaplarının değerlendirilmesiyle saptanmıştır. 2,5 μ M ve 5 μ M RNL'nin, 0,1-1 mm çapa sahip metastazların sayısında kontrol grubuna kıyasla sırasıyla % 54,6 ve % 57,27 oranında anlamlı ($P < 0,05$) inhibisyon meydana getirdiği görülmüştür. 10 μ M RNL ise, çapı 0,1-1 mm olan metastazların sayısında, % 100'ün üzerinde anlamlı ($P < 0,05$) bir stimülasyon oluşturmuştur.

Literatürde, sıçan prostat kanseri hücrelerinden yüksek metastatik Mat-LyLu hücrelerinin metastatik davranışı üzerine RNL'nin etkisini araştıran *in vivo* bir çalışmaya rastlanmamıştır. Literatürde RNL'nin prostat veya başka bir kanser metastazına karşı etkilerinin araştırıldığı *in vivo* bir çalışmaya rastlanmamakla beraber,

metastaz ile paralel olarak *in vitro* ortamda hücre hareketleri üzerine RNL'nin etkilerinin incelendiği az sayıda çalışma bulunmaktadır. % 2 oksijen içeren akut hipoksik ortamda yetiştirilen MDA-MB231 meme kanseri hücrelerinin transvers hareketini hem TTX (10 μ M) hem de RNL (300 μ M)'nin tamamen baskıladığı ve bu baskılamanın Na⁺ kanallarını bloke ederek gerçekleştirdiği tespit edilmiştir (Djamgoz ve Onkal, 2013). Meme kanserinin hem *in vitro* hem de *in vivo* olarak araştırıldığı bir çalışmada, RNL'nin MDA-MB-231 meme kanseri hücrelerinin *in vitro*daki giriciliğini azaltmasının yanısıra 50 mg/kg/gün dozunun meme kanserli farelerdeki akciğer metastaz kolonizasyonunu anlamlı olarak azalttığını bildirmişlerdir. Na_v 1.5'in aşırı ekspresyonunun gözleendiği bu meme kanseri hücrelerinde VGSC'lerin RNL ile bloke edildiğini belirten Driffort ve diğ., (2014) RNL'nin kanser tedavisinde kullanılabilecek güçlü bir bloker olduğunu ileri sürmüşlerdir.

VGSC'lere karşı yüksek spesifiteye sahip bir nörotoksin olan TTX'in yüksek metastatik Mat-LyLu hücreleri ile oluşturulan Dunning modeli prostat kanserinin metastatik gelişimi üzerine etkisi araştırılan *in vivo* bir çalışmada ise, TTX ile intratümöral bir tedavi uygulanması sonucunda akciğer metastazlarını % 44 oranında anlamlı derecede baskıladığı tespit edilmiştir (Altun ve Djamgoz 2008; Yıldırım ve diğ., 2012).

Bunlardan başka, bazı maddelerin prostat kanseri metastazları üzerindeki etkisinin incelendiği *in vivo* çalışmalara rastlanmıştır. Kalsitrol ve analogu EB1089'un, prostat tümörü oluşturulan Copenhagen ırkı sıçanların akciğer metastazlarını anlamlı olarak inhibe ettiği gösterilmiştir (Getzenberg ve diğ., 1997; Lokeshwar ve diğ., 1999). Lokeshwar ve diğ., (2002), tetrasiklin analogu COL-3'ün akciğer metastazları üzerinde inhibe edici bir etki meydana getirdiğini saptamıştır. Bitkisel kökenli I3C'nin, prostat kanseri akciğer metastazlarının oluşumu üzerinde inhibe edici bir etki meydana getirdiği Garikapaty ve diğ., (2005) tarafından belirlenmiştir.

Mat-LyLu hücrelerinin metastatik yetenekleri ile VGSC'ler arasındaki ilişkiyi ortaya koyan çok sayıda *in vitro* çalışma mevcuttur. VGSC'lerin Mat-LyLu hücrelerinin giricilik yetenekleri üzerindeki etkisinin "Matrigel Invasion Chamber assay" yöntemi ile araştırıldığı çalışmada, TTX'in 600 nM konsantrasyonunun uygulanması ile, hücrelerin giriciliğinin % 33 oranında azaltıldığı saptanmıştır (Grimes ve diğ., 1995). PC-3 hücreleriyle yapılan bir çalışmada Laniado ve diğ., (1997) benzer sonuçlar elde

etmişlerdir. İnsan ve sıçan prostat kanser hücreleri ile yapılan bir çalışmada, VGSC ekspresyonu ile hücrelerin girciliği arasında pozitif bir ilişkinin olduğu saptanmıştır (Smith ve diğ., 1998). Yüksek metastatik C4 ile C4-2 prostat kanseri hücrelerinin gircilik yeteneklerinin, metastatik olmayan LNCaP hücrelerinden daha fazla olduğunu ve bu hücrelerde daha yüksek değerlerde VGSC'nin ekspresse edildiğini ve hücreler TTX uyguladıklarında gircilik yeteneklerinin azaldığını tespit etmişlerdir (Bennet ve diğ., 2004). Aynı hücrelerde geçici olarak, insan iskelet kası Na^+ kanalı olan $\text{Na}_v 1.4$ 'ün ekspresse edilmesini sağlayan Bennett ve diğ., (2004), hücrelerin gircilik yeteneklerinin arttığını, ancak bu hücrelere TTX uygulandığında bu değerlerin yeniden kontrol seviyesine düştüğünü belirtmişlerdir. Bu çalışmanın sonucunda araştırmacılar, hücrelerin gircilik potansiyellerinin artışında VGSC ekspresyonunun gerekli ve yeterli olduğu sonucuna ulaşmışlardır. Fraser ve diğ., (2014) tarafından, TTX ve resveratrol'ün ayrı ayrı ve birlikte etkisinin araştırıldığı çalışmada, 20 μM resveratrol, yüksek metastatik Mat-LyLu hücrelerinin proliferasyonunu etkilemeksizin, hücrelerin VGSC'lerini bloke ederek, lateral ve transvers hareketleri ile invazyonunu inhibe ettiği ve doğal bir antimetastatik ajan olabileceği ortaya konmuştur.

Roger ve diğ., (2006), hücrelerin metastaz yapabilmeleri için hareket etmeleri ve bazı proteolitik enzimleri salgılamaları gerektiğini bildirmişlerdir. Bir çok çalışmada, hücrelerin hareketi sırasında, hücre morfolojisinde meydana gelen dinamik değişimler üzerine VGSC'lerin rolü araştırılmıştır. Fraser ve diğ., (1999), 6 μM TTX uygulamasının Mat-LyLu hücrelerinde morfolojik genişlemeyi azalttığını ve hücrelerin düşük metastatik AT-2 hücrelerine benzer morfoloji kazandıklarını saptamışlardır. Yine Fraser ve diğ., (2003) tarafından, TTX ile Mat-LyLu hücrelerinin lateral hareketinin azaltıldığı tespit edilmiştir. Metastaz gelişimi üzerine elde ettiğimiz bu sonuçlar ile literatürdeki sonuçlar arasında paralellik bulunmakta ve ısrarlı akım blokeri olan RNL'nin 5 MM olarak uygulanması sonucunda tümör hücrelerinin Na^+ kanalları bloke olarak hem metastaz sayısının hemde küçük metastazların inhibisyonu sonucu organizmadaki tümör yükü azalmıştır.

Na^+ kanallarını bloke ederek etki gösteren RNL'nin metastazı inhibe edici etkisinin, hayvanların yaşam süreleri üzerinde bir yansımalarının olup olmadığının araştırılması sonucu, RNL ile tedavi edilen hayvanlar, tedavi edilmeyen kontrol hayvanlarına göre

daha uzun yaşamışlardır. Bu durum deney hayvanlarında gözlenen tümör yükünü azaltıcı rol ile uyum içerisinde. 22 günlük deney sürecinde kontrol grubunda 50. günde tüm hayvanlar öldüğü halde RNL grubu sıçanları 114. güne kadar yaşamışlardır. Ancak, yaşam süresi üzerine yapılan istatistik değerlendirmede anlamlı bir farkın ortaya çıkmaması, etik kurallar gereğince hayvan sayısının sınırlı tutulması koşulundan dolayı çalışmada sınırlı sayıda birey kullanılmasından kaynaklanmıştır.

Literatürde yüksek metastatik Mat-LyLu hücreleriyle oluşturulan Dunning modeli prostat kanserinde RNL'nin hayvanların yaşam süresi üzerindeki etkisini araştıran *in vivo* bir çalışmaya rastlanmamıştır. VGSC'lere karşı yüksek spesifiteye sahip bir nörotoksin olan TTX'in yüksek metastatik Mat-LyLu hücreleri ile oluşturulan Dunning modeli prostat kanserinin metastatik gelişimi üzerine etkisinin araştırıldığı *in vivo* çalışmada, TTX ile intratümöral bir tedavi uygulanması sonucunda, hayvanların yaşam süresini % 22 oranında anlamlı olarak arttırdığı saptanmıştır (Altun ve Djamgoz 2008; Yıldırım ve diğ., 2012). Dolayısıyla metastaz yükü üzerinde etki gösteren 5 μ M RNL, hayvanların sağ kalımı üzerindeki ilk araştırma olma özelliğini taşımaktadır.

RNL ile yapılan çalışmalar, diastolik ve sistolik kalp yetmezliği veya iskemi esnasında iyon kanallarının (Na^+) paralel olarak da hücrede Na^+ 'ın arttığı, pozitif feedback yolu ile Ca^{+2} artışı sonucu kalpte oluşan ağrı, kasılma, fonksiyon bozuklukları üzerine ilacın terapötik bir etki gösterdiğini ortaya koymuştur (Sossalla ve diğ., 2008). Na^+ iyon kanallarını bloke ederek etki gösteren RNL, kalpteki diastolik fonksiyonları iyileştirmekte ve iskemi sonrasındaki bozuklukları azaltmaktadır (Filardi, 2011).

İnsan embriyonik böbrek hücrelerinden (HEK 293) ekspresse edilen Nav1.7 (hNav 1.7) ve sıçan ND7/23 hücre hattından ekspresse edilen Nav 1.8 (rNav 1.8) iyon kanallarında tüm hücre patch-clamp tekniği kullanılarak RNL'nin etkisinin belirlendiği bir çalışmada; RNL'nin kliniğe uygun konsantrasyonlarda (2-8 μ M) Nav 1.7 ve Nav1.8 blokladığı tespit edilmiştir (Rajamani ve diğ., 2008). Wang ve diğ., (2008) tarafından yürütülen bir çalışmada ise, insan embriyonik böbrek hücrelerinden (HEK293) ekspresse edilen nöronal Nav 1.7, iskelet kası Nav 1.4 ve kalp kası Nav 1.5 izoformları üzerinde RNL'nin Na^+ akımını bloklayarak etki gösterdiği belirlenmiştir. Antzelevich ve diğ., (2004) kardiyak iyon akımı üzerinde etkili olan RNL'nin geç sodyum akımı (I_{NaP}) üzerindeki IC_{50} değerinin 5,9 μ M olduğunu, voltaj clamp testi ve depolarizasyon

frekansına göre 5-21 μM arasında değişim gösterdiğini, günlük 20 μM 'lik dozu aşmayan bir tedavinin planlanması gerektiğini belirtmektedir. Ayrıca, hızlı potasyum akımını (IKr) (12 μM), geç kalsiyum akımını (ICa) (50 μM), pik ICa (296 μM), sodyum kalsiyum değiştirici akımını (INa-Ca) (91 μM) ve yavaş potasyum akımını (IKs) (30 μM 'da % 17) da içeren diğer iyon akımlarını da inhibe ettiği gösterilmiştir (Antzelevitch ve diğ., 2004). Literatürde VGSC'lerden Nav1.7 için tanımlanan 2-8 μM ve 5,9 μM dozlar, çalışmada kullandığımız doz ile paralellik göstermektedir.

Sonuç olarak, ısrarlı sodyum kanal blokeri olan RNL'in Dunning modeli sıçan prostat kanseri üzerindeki etkisinin *in vivo* olarak; primer tümör, akciğer yüzeyindeki metastaz sayısı ve metastaz boyutu bakımından sonuçlarının ilk kez araştırıldığı bu çalışmada, 5 μM RNL'nin metastaz sayısını anlamlı olarak azalttığı tespit edilmiştir. Sağ kalıma bakıldığında ise, 5 μM RNL'nin prostat kanseri metastazını azalttığı ve paralel olarak sağ kalımı arttırdığı ilk kez ortaya konmuş olup, Djamgoz ve diğ., (2014) belirttiği gibi, kanserden meydana gelen ölümlerin çoğu kez primer tümörden değil metastazlardan kaynaklandığı gerçeği göz önüne alındığında, günümüzde anjina pectoris için kullanılan RNL'nin temel hedefinden farklı yeni bir alan olan prostat kanserinde kullanılması ile metastazı azaltarak ömrü uzatabilmesi umut vericidir. Gelecekte klinik uygulamaya geçebilmek için, araştırmaların insan hücreleri ve ksenograft modeller üzerinde derinleştirilmesi gerekmektedir.

KAYNAKLAR

- Altun, S., Djamgoz, M.B.A., Na⁺ kanalını bloke eden ajanların anormal karakterli sıçan prostat hücreleri üzerindeki etkisinin *in vivo* olarak araştırılması, TUBITAK Proje Raporu, Proje No: 104T031, (2008).
- Anderson, L.L., Thompson, C.H., Hawkins, NA., Nath, RD., Petersohn, AA., Rajamani, S., Bush, WS., Frankel, WN., Vanoye, CG., Kearney JA., and George, AL., 2014, Antiepileptic activity of preferential inhibitors of persistent sodium current, *Epilepsia*, 55(8):1274-83.
- Antzelevitch, C., Belardinelli, L., Zygmunt, AC., Burashnikov, A., Di Diego, JM., Fish, JM., et al., 2004, Electrophysiological effects of ranolazine, a novel antianginal agent with antiarrhythmic properties. *Circulation*;110:904–10.
- Arıncı, K., 1993, *Uygulamalı Anatomi*, Türkiye Klinikleri Yayınevi, Ankara.
- Bacac, M., Stamenkovic, I., 2007, Metastatic cancer cell. *Annual review of pathology mechanisms of disease*, 3, 221-247.
- Bangma, C.H., Blijenberg, B.G., Schröder, F.H., 1995, Prostate-specific antigen: its clinical use and application in screening for prostate cancer, *Scandinavian journal of clinical & laboratory investigation*. 221:35-44.
- Bennett, E.S., Smith, B.A., Harper, J.M., 2004, Voltage-gated Na⁺ channels confer invasive properties on human prostate cancer cells, *Pflügers archiv - european journal of physiology*, 447, 908-914.
- Brahimi-Horn M, Pouysségur J. Oxygen, a source of life and stress. *FEBS letters*, 2007; 581: 3582-91.
- Brahimi-Horn MC, Pouysségur J. HIF at a glance. *Journal of Cell Science*, 2009; 122: 1055-7.
- Bratt, O., 2002, Hereditary prostate cancer: clinical aspects. *Journal of urology*, 168(3):906–13.
- Bubendorf, L., Schöpfer, A., Wagner, U., Sauter, G., Moch, H., Willi, N., Gasser, T.C., Mihatsch, M.J., 2000. Metastatic patterns of prostate cancer: an autopsy study of 1,589 patients, *Human pathology*, 5, 578-583.
- Catteral, W.A., Cestele, S., Yarov-Yarovoy, V., Yu, F., Konoki, K., Scheuer, T., 2007, Voltage-gated ion channels and gating modifier toxins, *Toxicon*, 49, 124-141.

- Center, M.M, Jemal, A., Lortet-Tieulent, J., Ward, E., Ferlay, J., Brawley, O., et al. 2012, International variation in prostate cancer incidence and mortality rates. *European urology*, 61(6):1079–92.
- Chaitman, B.R, Pepine, C.J, Parker, J.O., Skopal, J., Chumakova, G., Kuch, J., Wang, W., Skettino, S.L., Wolff, A.A., 2004, for the Combination Assessment of Ranolazine In Stable Angina (CARISA) Investigators. Effects of ranolazine with atenolol, amlodipine, or diltiazem on exercise tolerance and angina frequency in patients with severe chronic angina. *The journal of the american medical association*, 291:309 –316.
- Chaitman, B.R., Skettino, S.L., Parker, J.O., et al, 2004, for the MARISA Investigators. Antiischemic effects and long-term survival during ranolazine monotherapy in patients with chronic severe angina. *Journal of the american college of cardiology*, 43:1375–82.
- Christensson, A., Björk, T., Nilsson, O., Dahlén, U., Matikainen, M.T., Cockett, A.T., Abrahamsson, P.A., Lilja, H., 1993, Serum prostate specific antigen complexed to alpha 1-antichymotrypsin as an indicator of prostate cancer, *Journal of urology*, 150(1):100-5.
- Cook, L.S., Goldoft, M., Schwartz, S.M., Weiss, N.S., 1999, Incidence of adenocarcinoma of the prostate in Asian immigrants to the United States and their descendants. *Journal of urology*, 161(1):152–5.
- Crawford, E. D., 2009, Understanding the Epidemiology, Natural History, and Key Pathways Involved in Prostate Cancer, *Urology*, 76(3):771.
- Denac, H., Mavissen, M., Scholtysik, G., 2000, Structure, function and pharmacology of voltage-gated sodium channels, *Naunyn- schmeideberg's archives. pharmacology*, 362, 453-479.
- Diss, J.K., Archer, S.N., Hirano, J., Fraser, S.P., Djamgoz, M.B.A., 2001, Expression profiles voltage gated Na⁺ channel alpha-subunit genes in rat and human prostate cancer cell lines, *Prostate*, 48, 165-178.
- Djamgoz, M.B.A., Onkal, R., 2013, Persistent current blockers of voltage-gated sodium channels: a clinical opportunity for controlling metastatic disease, *Recent patents anticancer drug discovery*.1;8(1):66-84.
- Djamgoz, M.B.A., Coombes, R.C., Schwab, A., Ion transport and cancer: from initiation to metastasis, 2014, *Philosophical transactions of the royal society of london biological sciences*, 369(1638):20130092.
- Drake, R.I., Vogl, W., Mitchell, AWM., 2005, Gray's Anatomy for student, Churchill Livingstone.
- Driffort, V., Gillet, L., Bon, E., Marionneau-Lambot, S., Oullier, T., Joulin, V., Collin, C., Pagès, J.C., Jourdan, M.L., Chevalier, S., Bougnoux, P., Le Guennec, J.Y., Besson, P1, Roger, S., 2014, Ranolazine inhibits NaV1.5-mediated breast cancer cell invasiveness and lung colonization, *Molecular cancer*, 11;13(1):264.

- Edwards, J., 2010, Src kinase inhibitors: an emerging therapeutic treatment option for prostate cancer, *Expert opinion on investigational drugs*, 19(5), 605-614.
- Erkoçak, A., Özel Histoloji, 1982, 4. Baskı, Ankara Tıp Yayını, Ankara.
- Erol, Z. 2011, *Antiepileptiklerin (Lamotrijin ve Okskarbazepin) sıçan prostat kanser hücreleri (Mat-LyLu) üzerine etkileri: Proliferasyon ve migrasyon*, yüksek lisans tezi, İstanbul Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü.
- 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):2893–917.
- Fiske, J. L., Fomin, V. P., Brown, M. L., Duncan, R. L., Sikes, R.A., 2006, Voltage sensitive ion channels and cancer, *Cancer metastasis reviews*, 25, 493-500.
- Fitzpatrick, J.M., Schulman, C., Zlotta, A.R., Schröder, F. H., 2008, Prostate cancer: a serious disease suitable for prevention, *BJU International*, 103 (7), 864-870.
- Fızazı, K., Sternberg, N.C., Fitzpatrick, J.M., Watson, R.W., Tabesh, M., 2010, Role of targeted therapy in the treatment of advanced prostate cancer, *BJU International*, 105(6), 748-767.
- Filardi, P.P., 2011, Ranolazine a new drug with a class action, *Eleven international symposium heart failure & co.*
- Foster, C.S., Cornford, P., Forsyth, L., Djamgoz, M.B.A., Ke, Y., 1999, The cellular and molecular basis of prostate cancer, *British journal of urology*, 83, 171-194.
- Fournier, G., Valei, A., Mangin, P., Cussenot, O., 2004, Prostate cancer. Epidemiology. Riskfactors. Pathology. *Annales d urologie.*, 187-206.
- Fraser, S.P., Ding, Y., Liu, A., Foster, C.S., Djamgoz, M.B.A., 1999, Tetrodotoxin suppresses morphological enhancement of the metastatic Mat-LyLu rat prostat cancer cell line, *Cell and tissue research*, 295, 505-512.
- Fraser, S.P., Salvador, V., Manning, E., Mizal, J., Altun, S., Raza, M., Berridge, R., Djamgoz, M.B.A., 2003. Contribution of functional voltage-gated Na⁺ channel expression to cell behaviours involved in the metastatic cascade in rat prostate cancer: I. Lateral motility. *Journal cell physiology*, 195, 479-487.
- Fraser, S.P., Diss, J.K.J., Chioni, A-M., Mycielska, M.E., Pan H., Yamacı, R.F., Panı, F., Siwy, Z., Krasowska, M., Grzywna, Z., Brackenbury, W.J., Theodorou, D., Koyuturk, M., Kaya, H., Battaloglu, E., Bella, M.T., Slade, M.J., Tolhurst, R., Palmieri, C., Jiang, J., Latchman, D.S., Coombes, R.C., Djamgoz, M.B.A., 2005; Voltage-gated sodium channel expression and potential of human breast cancer metastasis, *Clinical cancer research*, 11, 5381-5389.
- Fraser, S.P., Peters, A., Fleming-Jones, S., Mukhey, D., Djamgoz, M.B.A., 2014. Resveratrol: Inhibitory effects on metastatic cell behaviors and voltage-gated Na⁺

channel activity in rat prostate cancer *in vitro*, *Nutrition and cancer*, 66(6), 1047-1058. DOI:10.1080/01635581.2014.939291.

- Fulgenzi, G., Graciotti, L., Faronato, M., Soldovieri, M. V., Micelli, F., Amoroso, S., Annunziato, L., Procopio, A., Tagliatela, M., 2006, Human neoplastic mesothelial cells express voltage-gated sodium channels involved in cell motility, *The international journal of biochemistry & cell biology*, 38, 1146-1159.
- Gaddipati, JP., Rajeshkumar, NV., Thangapazham, RL., Sharma, A., Warren, J., Mog, SR., Singh, AK. and Maheshwari, RK. , 2004, Protective effect of a polyherbal preparation, Brahma rasayana against tumor growth and lung metastasis in rat prostate model system, *Journal of experimental therapeutics and oncology*, Vol:4, 203-212.
- Garikapaty, V. P. S., Ashok, B.T., Chen, Y. G., Mittelman, A., Latropoulos, M., Tivari, R.K., 2005. Anti-carcinogenic and anti-metastatic properties of indole-3 carbinol in prostate cancer, *Oncology reports*, 13, 89-83.
- Gao, R., Wang, J., Shen, Y., Lei, M., Wang, Z., 2009, Functional expression of voltage-gated sodium channels Nav 1.5 in human breast cancer cell line MDA-MB-231, *Journal of Huazhong University of Science and Technology [Medical Sciences]*, 29(1), 64-67.
- Getzenberg, R. H., Light, B. W., Lapco, P. E., Konety, B.R., Nangia, A. K., Acierno, J. S., Dhir, R., Shurin, Z., R.S., Trump, D. L., Johnson, C. S., 1997. Vitamin D inhibition of prostate adenocarcinoma growth and metastasis in the Dunning rat prostate model system, *Urology*, 50, 999-1006.
- Gintant, GA, Datyner, NB, Cohen, IS, 1984. Slow inactivation of a tetrodotoxin-sensitive current in canine cardiac Purkinje fibers. *Biophys journal*, 45: 509–512.
- Grimes, J.A., Fraser, S.P., Stephens, G.J., Downing, J.E.G., Laniado, M.E., Foster, C.S., Abel, P.D., Djamgoz, M.B.A., 1995, Differential expression of voltage-activated Na currents in two prostatic tumour cell lines: contribution to invasiveness *in vitro*, *FEBS letters*, 369, 290-294.
- Gültekin, M., Boztaş, G., Türkiye Kanser İstatistikleri, Ocak 2014. kanser.gov.tr/Dosya/ca_istatistik/2009kanseraporu.pdf
- Hammarstrom AK, Gage PW (2002). Hypoxia and persistent sodium current. *European Biophysics Journal*, 31: 323–330.
- Heidenreich, A., Bellmunt, J., Bolla, M., et al. 2011, EAU guidelines on prostate cancer. Part 1: screening, diagnosis, and treatment of clinically localised disease. *European Urology*, 59:61–71.
- Heidenreich, A., Bastian, P.J., Bellmunt, J., et al., 2014, EAU guidelines on prostate cancer. Part 1: screening, diagnosis, and local treatment with curative intent-update 2013. *European urology*, 65:124–37.
- Hernandez-Plata, E., Ortiz, C.S., Marquina-Castillo, B., Medina-Martinez, I., Alfaro, I., Berumen, J., Rivera, M., Gomora, J. C., 2011, Over expression of Nav 1.6 channels in

- associated with the invasion capacity of human cervical cancer, *International journal of gynecological cancer*, Doi: 10.1002/ijc.26210.
- Hoang, B.X., Levine, S.S., Pham, P., Shaw, D.G., 2007, Hypothesis of the cause and development of neoplasms, *European journal of cancer prevention*, 16, 55-61.
- House, C.D., Vaske, C.D., Schwartz, A.M., Obias, V., Frank, B., Luu, T., Sarvazyan, N., Irby, R., Strausberg, R.L., Hales, T.G., Stuart, J. M., Lee, N.H., 2010, Voltage-gated Na⁺ channel SCN5A is a key regulator of a gene transcriptional network that controls colon cancer invasion, *Cancer research*, 70(17), 6957-6967.
- [http://www.kanserdanismanlik.com/assets/js/ckeditor/kcfinder/upload/images/prostat5\(2\).png](http://www.kanserdanismanlik.com/assets/js/ckeditor/kcfinder/upload/images/prostat5(2).png) [Internet] Erişim=15 Kasım 2014.
- Imamoto, T., Suzuki, H., Yano, M., Kawamura, K., et al., 2008, The role of testosterone in the pathogenesis of prostate cancer, *International journal of urology*, 15, 472 – 480.
- Isaacs, J.T; Yu, G.W., Coffey, D.S., 1981, The characterization of a newly identified, highly metastatic variety of dunning r 3327 rat prostatic adenocarcinoma system: the Mat-LyLu tumor, *Investigative urology*, (1), 20-23.
- Jemal, A., Siegel, R., Ward, E., Hao, Y., Xu, J., Murray, T., Thun, M.J., 2008, Cancer Statistics, *CA: a cancer journal for clinicians*, 58:71–96.
- Jerling, M., Abdallah, H., 2005, Effect of renal impairment on multiple-dose pharmacokinetics of extended-release ranolazine. *Clinical pharmacology & therapeutics*. 78:288 –297.
- Kahlig, K.M., Lepist, I., Leung, K., Rajamani, S. and George, AL., 2010, Ranolazine selectively blocks persistent current evoked by epilepsy-associated Nav 1.1 mutations. *British journal of pharmacology*, 161(6):1414-26.
- Kaur, B., Khwaja F. W., Severson, E. A., Matheny, S. L., Brat, D. J., Van Meir, E. G. 2005. Hypoxia and hypoxia –inducible-factor pathway in glioma growth and angiogenesis. *Neuro-oncology*. 7(2):134-53.
- Khanna, C., Hunter, K., 2005; Modeling metastasis *in vivo*, *Carcinogenesis*, 26, (3), 513-523.
- Knudsen, B.S, Vasioukhin, V., 2010, Mechanisms of prostate cancer initiation and progression. *Advances in cancer research*, 109: 1-50.
- Laniado, M.E., Lalani, E.N., Fraser, S.P., Grimes. J.A., Bhargal, G., Djamgoz, M.B., Abel, P.D., 1997, Expression and functional analysis of voltage-activated Na⁺ channels in human prostate cancer cell lines and their contribution to invasion *in vitro*, *American journal of pathology*, 150(4), 1213-1221.
- Liu, X., Xie, L., Liang, Y., Lu, T., 2003, Gender difference in ranolazine pharmacokinetics in rats, *European journal of drug metabolism and pharmacokinetics*, 28(29), 119-123.

- Logan, Y.T., Belgeri, M.T., 2005, Monotherapy versus combination drug therapy for the treatment of benign prostatic hyperplasia, *The american journal of geriatric pharmacotherapy*, 3(2):103-114.
- Lokeshwar, B.L., Schwartz, G.G., Selzer, M.G., Burnstein, K.L., Zhuang, S., Block, N.L., Binderup, L., 1999, Inhibition of prostate cancer metastasis *in vivo*: A comparison of 1,25-dihydroxyvitamin D (Calcitriol) and EB1089, *Cancer epidemiology, biomarkers & prevention*, vol. 8, 241-248.
- Lokeshwar, B. L., Selzer, M.G., Zhu B.Q., Block, N.L., Golub, L.M., 2002. Inhibition of cell proliferation, invasion, tumor growth and metastasis by an oral non-antimicrobial tetracycline analog (COL-3) in a metastatic prostate cancer model, *International journal of cancer research*, 98(2), 297-309.
- Lunt, S.J., Chaudary, N., Hill, R.P., 2009, The tumor microenvironment and metastatic disease, *Clinical and experimental metastasis*, 26, 19-34.
- Mark, J., Speakman, 2008, Lower urinary tract symptoms suggestive of benign prostatic hyperplasia (LUTS/BPH): More than treating symptoms, *European urology*, 7: 680-689.
- Mccormack, R.T, Rittenhouse, H.G., Finlay, J.A., Sokoloff, R.L., Wang, T.J., Wolfert, R.L., Lilja, H., Oesterling, J.E., 1995, Molecular forms of prostate-specific antigen and the human kallikrein gene family: a new era, *Urology*, 45(5):729-44.
- Merlo, L.M., Pepper, J.W., Reid, B.J., ve Maley, C.C., 2006, Cancer as an evolutionary and ecological process. *Nature reviews cancer*, 6: 924-935.
- Mete, Ç., 2005, Kronik prostatit/ Kronik pelvik ağrı sendromu, *Türk üroloji dergisi*, 31:569-573.
- Nakajima, T., Kubota, N., Tsutsumi, T., Oguri, A., Imuta, H., Jo, T., Oonuma, H., Soma, M., Meguro, K., Takano, H., Nagase, T., Nagata, T., 2009, Eicosapentaenoic acid inhibits voltage-gated sodium channels and invasiveness in prostate cancer cells, *British journal pharmacology*, 156(3), 420-431.
- Oades, G.M., Dredge, K., Kirby, R.S., Colston, K.W., 2002. "Vitamin D receptor-dependent antitumour effect of 1,25-dihydroxyvitamin D₃ and two synthetic analogues in three *in vivo* models of prostate cancer", *British journal of urology international*, 90, 607-616.
- Onganer, P.U., Djamgoz, M.B.A., 2005, Small-cell lung cancer (human): Potentiation of endocytic membrane activity by voltage-gated Na⁺ channel expression *in vitro*, *Journal of membrane biology*, 204, 67-75.
- Pham, D.Q., Mehta, M., 2007, Ranolazine: a novel agent that improves dysfunctional sodium channels. *International journal of clinical practice*, 61:864-872.
- Platz, E. A., Giovannucci, E., 2004, The epidemiology of sex steroid hormones and their signaling and metabolic pathways in the etiology of prostate cancer, *The journal of steroid biochemistry and molecular biology*, 92, 237 - 253.

- Pollard, M., 1980, Animal models for prostate cancer, *Prostate.*, 1(2), 207-13.
- Rajamani, S., Shryock, J.C., Belardinelli, L., 2008, Block of tetrodotoxin-sensitive, Nav 1.7, and tetrodotoxin-resistant, Nav 1.8, Na⁺ Nav channels by ranolazine. *Channels*, 2: 449-60.
- Roger, S., Potier, M., Vandier, C., Besson, P., Guennec, J.L., 2006. Voltage-gated sodium channels: New targets in cancer therapy?, *Current pharmaceutical design*, 12, 3681-3695.
- Roger, S., Rollin, J., Barascu, A., Besson, P., Raynal, P., Iochman, S., Lei, M., Bougnoux, P., Gruel, Y., Le Guennec, J.Y., 2007, Voltage-gated sodium channels potentiate the invasive capacities of human non-small-cell lung cancer cell lines, *International journal of biochemistry & cell biology*, 39, 774-786.
- Saint, D.A., Ju, Y.K., Gage, P.W. (1992). A persistent sodium current in rat ventricular myocytes. *The journal of physiology*, 453: 219–231.
- Siegel, R., Naishadham, D., Jemal, A., 2012, Cancer statistics, 2012. *CA: a cancer journal for clinicians*, 62(1):10–29.
- Siegel, R., Ward, E., Brawley, O., Jemal, A., 2011, Cancer statistics, 2011: the impact of eliminating socioeconomic and racial disparities on premature cancer deaths. *CA cancer journal for clinicians*, 61(4):212–236.
- Smith, P., Rhodes, N. P., Shortland, A. P., Fraser, S. P., Djamgoz, M. B., Ke, Y., Foster, C.S., 1998, Sodium channel protein expression enhances the invasiveness of rat and human prostate cancer cells. *FEBS letters*, 13;423(1):19-24.
- Song, Y., Shryock, J.C., Wu, L., Belardinelli, L., 2004, Antagonism by Ranolazine of the pro-arrhythmic effects of increasing late I_{Na} in guinea pig ventricular myocytes. *Journal of cardiovascular pharmacology and therapeutics*, 44:192–9.
- Sossalla, S., Wagner, S., Rasenack, E.C., Ruff, H., Weber, S.L., Schöndube, F.A., Tirilomis, T., Tenderich, G., Hasenfuss, G., Belardinelli, L., Maier, L.S., 2008, Ranolazine improves diastolic dysfunction in isolated myocardium from failing human hearts-role of late sodium current and intracellular ion accumulation. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*, 45: 32-43.
- Stacewicz-sapuntzakis, M., Borthakur, G., Burns, J. L., Bowen, P. E., 2008, Correlations of dietary patterns with prostate health, *Molecular nutrition & food research*, 52, 624.
- Standring, S., 2005, Gray's Anatomy. *The anatomy basis of clinical practise*, 38. ed., Churchill Livingstone, New York.
- Suckow, M.A., Gutierrez, L.S., Risatti, C.A., Wolter, W.R., Taylor, R.E., Pollard, M., Navari, R.M., Castellino, F.J., Paoni, N.F., 2004, The anti-ischemia agent ranolazine promotes the development of intestinal tumors in APC (Min/+) mice, *Cancer letters.*, 209(2):165-9.
- Şakul, B.U., 2001, TUS için Anatomi. Ankara Üniversitesi Basımevi, Ankara.

- Tanagho, EA., 2004, Embryology of the genitourinary system. In: TanaghoEA, Mc Aninch JW, Eds. *Smith's general urology*. 16th Ed., New York: Lange Medical Books, 18 -30.
- Tapon, N., Ziebold, U., 2008; Invasion and metastasis: stem cels, screens and survival, *EMBO reports*, 9, 8119, 1078-1083.
- Terlau, H., Stuhmer, W., 1998, Structure and function of voltage-gated ion channels, *Naturwissenschaften*, 85,437-444.
- Wang, GK., Calderon, J., Wang S-Y., 2008, State-and use-dependent block of muscle Nav 1.4, and neuronal Nav 1.7 voltage-gated Na⁺ channel isoforms by ranolazine. *Molecular pharmacology*, 73: 940-8.
- Wang, T., Huang, W., Chen, F., 2008, Baclofen, a GABAB receptor agonist, inhibits human hepatocellular carcinoma cell growth *in vitro* and *in vivo*, *Life sciences.*, 82(9-10):536-41.
- Wenger, A.S., Mickey, D.D., Hall, M., Silverman, M., Mickey, G.H., Fried, F.A., 1984, In vitro characterization of Mat-LyLu: Dunning rat prostate adenocarcinoma tumor subline, *The journal of urology*, 131, 86), 1232-1236.
- Whittemore, AS., Kolonel, LN., Wu, AH., John, EM., Gallagher, RP., Howe, GR., Burch, JD., Hankin, J., Dreon, DM., West, DW., et al, 1995, Prostate cancer in relation to diet, physical activity, and body size in blacks, whites, and Asians in the United States and Canada. *J natl cancer inst.*, 87(9):652-61.
- Yildirim, S., Altun, S., Gumushan, H., Patel, A., Djamgoz, M.B.A., 2012, Voltage-gated sodium channel activity promotes prostate cancer metastasis *in vivo*, *Cancer letters*, 323(1):58-61.

ÖZGEÇMİŞ



Kişisel Bilgiler

Adı Soyadı	Zeynep KARAGÖZ
Uyruğu	T.C.
Doğum tarihi, Yeri	10.05.1989/ Bağcılar
Telefon	0534 312 66 24
E-mail	zeyno_34_75@hotmail.com

Eğitim

Derece	Kurum/Anabilim Dalı/Programı	Yılı
Yüksek Lisans	İ.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü/ Biyoloji Anabilim Dalı / Radyobiyojoloji programı	2015
Lisans	İstanbul Üniversitesi	2011
Lise	Akşemsettin Lisesi	2006

Makaleler / Bildiriler

ALTUN, S., GUMUSHAN, H., BUGAN, I., **KARAGOZ, Z.**, DJAMGOZ, M.B.A., Prostat kanseri metastazına karşı, voltaj kapılı sodyum kanal blokeri olarak gabapentin, *21. Ulusal Biyoloji Kongresi, Ege Üniversitesi, 3-7 Eylül 2012, İzmir.* (Sözlü bildiri)

KARAGOZ, Z., ALTUN, S., BUGAN, I., DJAMGOZ, M.B.A., Prostat Kanseri Metastazı Üzerine Gabapentinin Etkisi, IV. Multidisipliner Kanser Araştırmaları Kongresi, Uludağ Üniversitesi, 13-16 Aralık 2012, Bursa. (Sözlü bildiri)

BUGAN, I., GUMUSHAN AKTAŞ, H., ALTUN, S., **KARAGOZ, Z.**, DJAMGOZ, M.B.A., “Bazı İyon Kanal Blokerlerinin Antiproliferatif Özellikleri ve Lateral Motilite”, V. Multidisipliner Kanser Araştırma Kongresi, 23-27 Nisan 2014, Muğla. (Poster bildiri)