

T.C.
NECMETTİN ERBAKAN ÜNİVERSİTESİ
MERAM TIP FAKÜLTESİ
BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

**LOKAL İLERİ EVRE KÜÇÜK HÜCRELİ DIŞI AKCİĞER KANSERİ VE
GLİOBLASTOMA MULTİFORME TANILI HASTALARDA UYGULANAN
RADYOTERAPİYE TÜRÖR CEVABININ, ERİTROSİT ZARI Na⁺/K⁺-ATPaz
ENZİM (E.C.3.1.6.37) AKTİVİTESİ İLE İLİŞKİSİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

Dr. Çiğdem Damla ÇETİNKAYA

UZMANLIK TEZİ

KONYA, 2013

T.C.
NECMETTİN ERBAKAN ÜNİVERSİTESİ
MERAM TIP FAKÜLTESİ
BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

**LOKAL İLERİ EVRE KÜÇÜK HÜCRELİ DIŞI AKCİĞER KANSERİ VE
GLİOBLASTOMA MULTİFORME TANILI HASTALARDA UYGULANAN
RADYOTERAPİYE TÜRÖR CEVABININ, ERİTROSİT ZARI Na⁺/K⁺-ATPaz
ENZİM (E.C.3.1.6.37) AKTİVİTESİ İLE İLİŞKİSİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

Dr. Çiğdem Damla ÇETİNKAYA

UZMANLIK TEZİ

Danışman: PROF. DR. MEHMET GÜRBİLEK

KONYA, 2013

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim süresince mesleki deneyimlerini benden esirgemeyen, tezimin yazımında ilgi ve anlayışından dolayı tez danışmanım Prof. Dr. Mehmet Gürbilek'e en içten saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Tezimin oluşmasında hem hastaları hem de fikirleri ile bana ve tezime büyük katkıları olan Meram Tıp Fakültesi Radyasyon Onkolojisi kliniğinden Prof. Dr. Mehmet Koç'a ve yine Radyasyon Onkolojisi kliniğinden ablam Uzm. Fizikçi Çağla Kılıç, Arş. Gör. Dr. Berrin Benli Yavuz ve tüm klinik çalışanlarına, tezimin istatistiği aşamasında yardımlarını esirgemeyen Yrd. Doç. Dr. Yasemin Durduran'a, manevi desteklerini daima hissettiğim tüm asistan arkadaşlarıma, Merkez Biyokimya Laboratuvarı çalışanlarına teşekkür ederim.

Beni tüm eğitim hayatım boyunca hep destekleyen, gösterdikleri sevgi ve anlayışla bugünlere ulaşmamda en büyük pay sahibi olan sevgili anne ve babama teşekkürlerimi sunarım.

Kasım 2013

Dr. Çiğdem Damla Çetinkaya

ÖZET

LOKAL İLERİ EVRE KÜÇÜK HÜCRELİ DIŞI AKCİĞER KANSERİ VE GLİOBLASTOMA MULTİFORME TANILI HASTALARDA UYGULANAN RADYOTERAPİYE TÜRÖR CEVABININ, ERİTROSİT ZARI Na^+/K^+ -ATPaz ENZİM (E.C.3.1.6.37) AKTİVİTESİ İLE İLİŞKİSİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Dr. Çiğdem Damla ÇETİNKAYA

UZMANLIK TEZİ

KONYA, 2013

Amaç: Biz bu çalışmada, küçük hücreli dışı akciğer kanseri (KHDAK) ve glioblastoma multiforme (GBM) tanılı hastalarda, radyoterapi (RT) uygulanmasının Na^+/K^+ -ATPaz enzim aktivitesi üzerine etkilerini araştırdık. Na^+/K^+ -ATPaz enziminin RT'ye tümör cevabını arttırmak için potansiyel bir hedef ve prognostik bir faktör olarak kullanılabilirliğini araştırmayı amaçladık.

Gereç ve yöntem: Bu çalışma Ocak 2012-Eylül 2012 tarihleri arasında RT ile tedavi edilmiş, KHDAK'lı 20 hasta, Glioblastoma Multiforme'li (GBM) 10 hasta ve 20 sağlıklı kontrol üzerinde gerçekleştirildi. Hastalardan RT öncesi ve RT tamamlandıktan sonra ve kontrol grubundan da bir kez heparinize kan örnekleri alındı ve örneklerden eritrosit membranı izole edilerek Na^+/K^+ -ATPaz enzim aktivitesi ölçümü yapıldı.

Bulgular: Na^+/K^+ -ATPaz enzim aktivitesi düzeyi, RT öncesi hasta grubunda kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksekti, RT sonrası tedavi öncesine göre anlamlı olarak düşük bulundu. Na^+/K^+ -ATPaz enzim aktivitesi düzeyinin RT'den sonra azaldığı ve RT sonrası GBM hastaları ile kontrol grubu arasında anlamlı bir fark olmadığı görüldü. Fakat RT sonrası KHDAK hastaları ile kontrol grubu arasında anlamlı bir fark olduğu görüldü.

Sonuç: KHDAK ve GBM'de artmış Na^+/K^+ -ATPaz enzim aktivitesi düzeylerinin RT'den sonra azaldığı gösterilmiştir. Bu veriler KHDAK ve GBM ile mücadelede Na^+/K^+ -ATPaz'ın hedeflenmesinin yeni anlamlar sunacağını öne sürmektedir. İleri çalışmalar RT ile tedavi edilmiş geniş bir hasta grubunda Na^+/K^+ -ATPaz'ın rolünü aydınlatmak için tasarlanmalıdır.

Anahtar kelimeler: Küçük Hücreli Dışı Akciğer Kanseri, Glioblastoma Multiforme, Eritrosit zarı Na^+/K^+ -ATPaz, Radyoterapi

ABSTRACT

THE EVALUATION OF THE RELATIONSHIP WITH ERYTHROCYTE MEMBRANE Na⁺/K⁺-ATPase ENZYME(E.C.3.1.6.37) ACTIVITY AND TUMOR RESPONSE TO RADIOTHERAPY IN PATIENTS DIAGNOSED WITH LOCAL ADVANCED NONSMALL CELL LUNG CANCER AND GLIOBLASTOMA MULTIFORME

Dr. Çiğdem Damla ÇETİNKAYA

SPECIAL PROJECT

KONYA, 2013

Introduction: In this study; we investigated radiotherapy(RT)'s effects on erythrocyte membrane Na⁺/K⁺-ATPase enzyme activity in patients diagnosed with non-small cell lung cancer (NSCLC) and glioblastoma multiforme (GBM). We aimed to investigate the usefulness of Na⁺/K⁺-ATPase enzyme as a potential target for increasing RT response of tumors and as a prognostic factor.

Materials and Methods: This study was performed on 20 patients with NSCLC, 10 patients with GBM who were treated with RT between January 2012 and September 2012 and 20 healthy controls. Heparinised blood samples were taken from the control group for once and from the patients for twice before RT and after the completion of RT and erythrocyte membranes were isolated and Na⁺/K⁺-ATPase enzyme activities were measured.

Results: Na⁺/K⁺-ATPase enzyme activities were found to be increased in patient group before RT compared to the control group and to be decreased in patient group after RT compared to the patient group before RT. It was observed that Na⁺/K⁺-ATPase enzyme activities were decreased after RT and there was no significant difference between control group and GBM patients after RT. But there was significant difference between control group and NSCLC patients after RT.

Conclusion: We have demonstrated that high levels of Na⁺/K⁺-ATPase enzyme activities in NSCLC and GBM was decreased after the RT. These data suggest that targeting the Na⁺/K⁺-ATPase could represent a novel means to combat NSCLC and GBM. Further studies should be designed to elucidate the role of Na⁺/K⁺-ATPase in a large patients group treated with RT.

Key words: Non-small cell lung cancer, Glioblastoma multiforme, Erythrocyte membrane Na⁺/K⁺-ATPase, Radiotherapy.

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
İÇ KAPAK	ii
TEŞEKKÜR	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT	v
İÇİNDEKİLER	vi
TABLOLAR DİZİNİ	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ	ix
GRAFİKLER DİZİNİ	x
KISALTMALAR	xi
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. KÜÇÜK HÜCRELİ DIŞI AKCİĞER KANSERİ	3
2.1.1. Küçük Hücreli Dışı Akciğer Kanserinde Klinik Özellikler.....	3
2.1.2. Tanı.....	4
2.1.3. Evreleme	7
2.1.4. Tedavi Kararı ve Prognoz.....	11
2.1.4.1. Cerrahi Kararına Etki Eden Faktörler.....	12
2.1.4.2. Radyoterapi Kararına Etki Eden Faktörler	12
2.1.4.3. Kemoterapi Kararına Etki eden ve seçimi etkileyen faktörler	12
2.1.5. Küçük Hücreli Dışı Akciğer Kanserinde Radyoterapi	13
2.1.5.1. İnoperabl Küçük Hücre Dışı Akciğer Kanserinde Radyoterapi	13
2.1.5.1.1. Erken Evrede Definitif Radyoterapi	13
2.1.5.1.2. İleri Evrede Definitif Radyoterapi	14
2.1.5.2. Radyoterapinin Yan Etkileri	15
2.2. GLİOBLASTOMA MULTİFORME	15
2.2.1. Patoloji.....	15
2.2.2. Klinik.....	18
2.2.3. Tanı.....	19
2.2.4. Tedavi Seçimi ve Prognoz.....	20
2.2.5. Tedavi.....	20
	vi

2.2.6. Sağkalım	23
2.3. Na⁺/K⁺-ATPaz ENZİMİ	23
2.3.1. İyonların ve Küçük Moleküllerin Transmembran Taşınımı	23
2.3.2.1. Eritrosit ve Eritrosit Membranının Özellikleri	25
2.3.2.2. Eritrosit Membranının Fonksiyonları	29
2.3.3. ATP Hidroliziyle Desteklenen Aktif Taşıma	29
2.3.4. Plazma Membranı Na ⁺ /K ⁺ -ATPaz 'ı	30
2.3.5. Na ⁺ /K ⁺ -ATPaz 'ın Yapısı	31
2.3.6.1. Na ⁺ /K ⁺ -ATPaz Enziminin Aktivatörleri	35
2.3.6.2. Na ⁺ /K ⁺ -ATPaz Enziminin İnhibitörleri	35
2.3.6.2.1. Digital Glikozidler	35
2.3.6.2.2. Sülfidril Reaktifleri	35
2.3.6.2.3. Oligomisin	35
2.3.6.2.4. Ouabain	35
3. MATERYAL VE METOD	37
3.1. MATERYAL	37
3.1.1. Numunelerin Alınışı ve Hazırlanışı	37
3.1.2. Kullanılan Cihazlar	38
3.1.3. Kullanılan Kimyasal Maddeler	38
3.1.4. Kullanılan Çözeltiler	38
3.2. METOD	39
3.2.1. Na ⁺ /K ⁺ -ATPaz Enzim Aktivitesinin Tayini	39
3.3. İstatistiksel değerlendirme	39
4. BULGULAR	40
5. TARTIŞMA	44
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	53
7. KAYNAKLAR	54

TABLÖLÖR

Tablo 1. Akciğer Kansesinde Tanı Amaçlı Bronkoskopi Endikasyonları	6
Tablo 2. Küçük Hücreli Dışı Akciğer Kanseri TNM Sınıflaması	9
Tablo 3. Küçük Hücreli Dışı Akciğer Kanseri Evreleme Grupları.....	10
Tablo 4. KHDÖK, GBM ve kontrol grubu ortalama yaş ± standart sapma değerleri	37
Tablo 5. Kontrol ile KHDÖK ve GBM'nin radyoterapi öncesi ve sonrası Na ⁺ /K ⁺ -ATPaz enzim aktivitesi bulguları	41
Tablo 6. Gruplar arası karşılaştırma (Grup 1: KHDÖK radyoterapi öncesi, Grup 2: GBM radyoterapi öncesi, Grup 3: Kontrol).....	41
Tablo 7. Gruplar arası karşılaştırma (Grup 1: KHDÖK radyoterapi sonrası, Grup 2: GBM radyoterapi sonrası, Grup 3: Kontrol).....	41

ŞEKİLLER

Şekil 1. Eritrosit membranının yapısı (Agre 1989)	26
Şekil 2. Plazma membranı Na^+/K^+ -ATPaz'ı fonksiyonu (fr.wikipedia.org)	30
Şekil 3. Plazma membranı Na^+/K^+ -ATPaz'ının dimerik yapısı (fr.wikipedia.org)	31
Şekil 4. Na^+/K^+ -ATPaz enzimi alt üniteleri (Blanco 1998).	34

GRAFİKLER

Grafik 1. KHDAK radyoterapi öncesi (Grup 1) ve kontrol (Grup 3) Na^+/K^+ -ATPaz enzim aktivitesi değerleri (Grup 1: $3,61 \pm 0,48$ / Grup 3: $2,54 \pm 0,23$). 42

Grafik 2. GBM radyoterapi öncesi (Grup2) ve kontrol (Grup 3) Na^+/K^+ -ATPaz enzim aktivitesi değerleri (Grup 2: $3,56 \pm 0,44$ / Grup 3: $2,54 \pm 0,23$). 42

Grafik 3. KHDAK radyoterapi öncesi ve sonrası Na^+/K^+ -ATPaz enzim aktivitesi değerleri (KHDAK RT Öncesi: $3,61 \pm 0,48$ / KHDAK RT Sonrası: $3,12 \pm 0,47$)..... 43

Grafik 4. GBM radyoterapi öncesi ve sonrası Na^+/K^+ -ATPaz enzim aktivitesi değerleri (GBM RT Öncesi: $3,56 \pm 0,44$ / GBM RT Sonrası: $3,08 \pm 0,41$). 43

KISALTMALAR

BCNU	: Lomustin
EGFR	: Growth faktör reseptörü
EMT	: Epitelyal-mezenkimal geçiş
ERK1/2	: Extrasellüler sinyal-regulated kinazlar 1 ve 2
HLE	: İnsan lens epitel
HRPE	: İnsan retinal pigment epitelyum
KHAK	: Küçük hücreli akciğer kanseri
KHDAK	: Küçük hücreli dışı akciğer kanseri
KRT	: Kemoradyoterapi
KT	: Kemoterapi
MDCK	: Madin-Darby köpek böbrek hücreleri
NAC	: N-asetil sistein
POH	: Monoterpen perillyl alkol
PTS	: Proximal tübül segment
RCM	: Radyokontrast ortam
RCN	: Radyokontrast nefropati
RT	: Radyoterapi
SSS	: Santral sinir sistemi
TGF- β	: Transforming büyüme faktörü β
TNM	: Tümör-Nod-Metastaz
TTIA	: Transtorasik iğne aspirasyonu
UNBS 1450	: Oxovoruskharin

1.GİRİŞ VE AMAÇ

KHDAK, akciğer kanserlerinin %70-75'lik kısmını oluşturur. Genellikle 50-70 yaşlarında görülür. %70 olguda tümör rezeke edilemeyecek konumdadır. Tedavi edilenlerde medyan sağ kalım 6-12 ay, hiç tedavi verilmeyenlerde 2-3 ay arasında olup, 5 yıllık sağ kalım oranları %3-10 arasında değişmektedir.

GBM; erişkinlerde en sık görülen beyin tümörüdür. Genellikle 45-70 yaş arası erişkinlerde sıktır. Prognozu kötüdür. 1 yıllık sağ kalım oranı %20, 2 yıllık sağ kalım ise %10 civarındadır. Tümörün tamamının cerrahi olarak çıkarılması genellikle mümkün olmamaktadır ancak kitlenin azaltılması açısından yararlıdır. Ek olarak RT ve kemoterapi (KT) yapılır.

Na/K-ATPaz; α katalitik subünitesi ve muhtemelen görevi membrana bağlanmak olan β subünitesi olmak üzere iki subüniteden meydana gelir. α subünitesi 4, β subünitesi 3 izoforma sahiptir. Bu izoformlar doku tipine ve gelişim safhasına bağlı olarak farklı genler tarafından kodlanırlar. α_1 izoformu yaygın olarak periferik sinirlerde ve eritrositlerde bulunur. Membrana yerleşmiş olan enzim, hücre içinde Na^+ , hücre dışında K^+ bağlamaktadır. Na/K-ATPaz enziminin sitozolik bölgesinde 3Na^+ ve ATP bağlayabilen bir bölge bulunmaktadır. Enzimin extrasellüler yüzü ise K^+ bağlayabilen bir bölge içerir. ATP enzimin aspartik asit rezidüsünü fosforiller ve enzimde yapısal değişikliğe yol açar. Bunun neticesinde hücre dışına 3Na^+ hızla salıverilmekte ve 2K^+ bağlanmaktadır. İyonlarının bağlanması aspartik asit yapısından fosforun hidrolizine neden olmaktadır. Bu esnada meydana gelen yapısal değişiklik K^+ iyonlarının sitozole salıverilmesine yol açmaktadır (Vague 1997).

Yapılan çalışmalarda Na/K-ATPaz α_1 subünitinin, glioblastomlarda ve KHDAK'da normal dokuya göre arttığı gösterilmiştir. Na/K-ATPaz enzim kompleksinin bu iki majör hastalığın tedavi ve prognozunda önemi sürekli vurgulanmış ve özellikle KT'ye yanıt vermeyen ve tümör dokusunda Na/K-ATPaz düzeyi artmış olan bu hastaların, Na/K-ATPaz α_1 subünitine affinitesi olan ligandlarla tedaviden fayda görebileceği saptanmıştır (Mijatovic 2007, Lefranc 2008).

Adjuvan KT'de yeni moleküller kullanılmasına ve cerrahi tedaviye rağmen küçük hücreli dışı akciğer kanserinde 5 yıllık sağ kalım %15'den daha azdır. Yeni biyolojik hedefler ve bunlarla ilişkili antikanser ajanlara acil ihtiyaç vardır. Na/K-ATPaz α_1

subünitesinin yeni bir hedef olduğu ve normal akciğer dokusu ile kıyaslandığında KHDAK'de α_1 ekspresyonunun arttığı anlaşılmıştır (Mijatovic 2007).

Malignensinin son evresinde kendisini gösteren malign gliomlardan glioblastomların yönetiminde major ilerlemelere rağmen, hastalar şifa bulamamaktadır. Bugünkü standart tedavi olan büyüklüğü cerrahiye uygun olanlar için rezeksiyon, takiben verilen RT'ye ilave olarak ve sonrasında verilen KT'ye rağmen yaşam beklentisi yaklaşık 14 aydır. Şimdiki yayın tartışmalarına göre, yüksek hücre motilitesi glioblastomaların büyüme ve malignensisi için karakterize olan apoptozis rezistansı; geleneksel tedavinin başarısızlığı ile ilgilidir (Lefranc 2008).

Akciğer kanserinin en sık görülen alt tipi olan KHDAK ile beyin tümörlerinden en sık görülen GBM, mortalitelerinin sıklığı ve uygulanan tedavi rejimlerine yanıt alınamaması nedeniyle ciddi ekonomik ve toplumsal etkileri olan önemli iki major hastalıktır. Biz çalışmamızda bu iki kanserin fizyopatolojisinde önemli role sahip olan Na/K-ATPaz enzim kompleksinin, uygulanan tedavi rejimlerine tümör cevabında nasıl bir seyir gösterdiğini ve burdan hareketle bu iki hastalıktaki yeni tedavi stratejilerinin belirlenebilmesinde Na/K-ATPaz enzim aktivitesinin prognostik bir faktör olarak değerlendirilmesini amaçladık.

Sonuç olarak, Lokal ileri evre KHDAK ve GBM tanılı hastalarda RT uygulanmasının Na/K-ATPaz enzim aktivitesi üzerine etkilerinin araştırılmasını amaçladık.

2.GENEL BİLGİLER

2.1. KÜÇÜK HÜCRELİ DIŞI AKCİĞER KANSERİ

2.1.1. Küçük Hücreli Dışı Akciğer Kanserinde Klinik Özellikler

Akciğer kanseri tüm dünyada görülme sıklığı giderek artan ve yaklaşık yılda 1,2 milyon ölümden sorumlu olan en yaygın kanser tipidir (Kurt 2010). Akciğer kanserine doğal seyri dolayısıyla diğer solid tümörler gibi ileri ya da lokal ileri evrede tanı konulmaktadır. Tanı sırasında cerrahi şansına sahip olmayan hastaların oranı %70'i bulmaktadır. Ülkemizde ise ileri evredeki hastaların oranı Avrupa ve ABD'den bildirilen rakamlara göre daha yüksek (%86,7) olduğu saptanmıştır (Göksel 2002). Tanıdan itibaren beş yıllık mortalitesi %85-90 arasındadır. Yeni tanı konulan 100 akciğer kanser hastasının 80 tanesi inoperabl, 20 tanesi rezeksiyon adaydır ve bunların da 5-10 tanesi beş yıllık sağ kalıma ulaşmaktadır (Beckles 2003). Dünya sağlık örgütü (DSÖ) tarafından önerilen histolojik sınıflamaya göre genel olarak dört tip akciğer kanseri vardır; küçük hücreli akciğer kanseri (KHAK), yassı hücreli karsinom, adenokanser ve büyük hücreli karsinom. Küçük hücreli dışı akciğer kanseri (KHDAK) tüm akciğer kanserlerinin %75-80'nini oluşturur. Son yıllarda hakim olan histolojik tipin yassı hücreli karsinomdan adenokarsinoma doğru değiştiği bildirilmektedir. Akciğer kanserinde etyolojik faktör olarak sigara erkeklerde %90'ından, kadınlarda ise %80'inden sorumludur (Kurt 2010).

Akciğer kanserli hastaların %90'ından fazlası semptomatiktir; sadece %6 civarında asemptomatik hasta olduğu çeşitli araştırmalarda gösterilmiştir. Semptomatik hastaların da %27'sinde primer tümörle ilişkili semptomların görüldüğü anoreksiya, kilo kaybı ve halsizlik gibi nonspesifik semptomların hastaların %34'ünde mevcut olduğu, kalan hastaların da (%32) metastatik hastalığa ilişkin semptomlar ile sağlık kuruluşuna başvurduğu bildirilmektedir (Beckles 2003, Spiro 2007).

Bütün akciğer kanserleri başlangıçta asemptomatiktir. Ancak, ilerleyen zaman içinde çeşitli semptomlar ortaya çıkar. Bu nedenle hastalar teşhis edildiklerinde genellikle ileri evrelerde bulunurlar. Akciğer kanserinde semptomları beş ana grupta incelemek mümkündür;

1. Bronkopulmoner semptomlar: İntrabronşiyal veya intraparakimal olarak tümör kitlesinin artması sonucu bronş içi obstrüksiyon, atelektazi veya bası nedeni ile gelişen semptomlardır. Bunlar öksürük, hemoptizi, balgam çıkarma ve nefes darlığıdır.

2. Sistemik Semptomlar: Ateş, iştahsızlık, kilo kaybı gibi belirtilerdir. Özellikle kilo kaybı kötü prognoza işaretir.

3. Ekstrapulmoner metastatik semptomlar: Tümörün toraks dışı uzak organlara yayılımı sonucu ortaya çıkan belirtilerdir. Semptomlar, metastazların bulunduğu organlara bağlı olarak çeşitlilik gösterir. Beyin metastazı sonucu baş ağrısından, felce kadar değişik nörolojik semptomlarla ortaya çıkar. Kemik metastazlarında ise kemik destrüksiyonuna bağlı şiddetli ağrılar hissedilir, spontan fraktürler görülebilir.

4. Ekstrapulmoner intratorasik semptomlar: Tümörün toraks içindeki çeşitli organlara invaze olması sonucu gelişir. Perikard, plevra ve göğüs duvarına invazyon sonucu plevral ve perikardiyal efüzyon, şiddetli göğüs ağrısı, Vena Kava Superiyor Sendromu, Horner Sendromu, özofagusa infiltrasyonu ile disfaji, frenik sinir invazyonu sonucu hıçkırık ve diyafram felci, nervus rekürrens invazyonu sonucu ses kısıklığı gibi çok çeşitli belirtiler dikkati çeker.

5. Ekstrapulmoner nonmetastatik semptomlar (paraneoplastik sendromlar): Bunların bir kısmı, nöroendokrin tümörlerin salgıladığı hormonlar ve hormon benzeri maddelerle oluşur (Hatipoğlu 2007).

Prognozun, hastalarda semptomlarının varlığı ve yokluğu ile ilişkili olduğu, asemptomatik olanların beş yıllık sağ kalımının primer tümöre ilişkin semptomu olanlara göre (%18'e karşılık %12) daha iyi olduğu belirlenmiştir. Nonspesifik semptomları olanların beş yıllık sağ kalımları %6 iken, metastatik hastalığa ilişkin semptomları olanların ise hiçbiri beş yıllık sağ kalıma ulaşamamıştır (Beckles 2003). Tesadüfen tanı konulan KHDAK histolojik alt tiplerinden adenokanserde daha sık olup, böyle tanı konulan hastaların %10'unda da daha iyi sağ kalım elde edilmektedir (Myridal 2004). Bazı semptomların belli akciğer kanseri tiplerine özgü olabileceği belirtilmektedir. Kanlı balgam daha çok yassı hücreli kanserde görülürken; nefes darlığı, göğüs ağrısı, mediastinal ve/veya uzak metastaz semptomları ise KHAK'lerinde daha çok saptanan özelliklerdendir. Hastaların çoğunluğuna klinikte ileri evrede tanı konulmaktadır. Bu durum, tümörün agresif biyolojisi dolayısıyla lokal ileri veya metastatik evre olana kadar semptom vermemesi ve efektif tarama testlerinin olmamasına bağlanmaktadır (Kurt 2010).

2.1.2. Tanı

Akciğer kanseri olan veya şüphelenilen her hastada sistemik fizik muayene çok dikkatli bir şekilde yapılmalıdır. Hastanın tüm vücudu palpe edilmelidir. Özellikle lenf nodlarının

gruplar halinde bulunduğu anatomik bölgeler (suboksipital, boyun, supraklaviküler, aksiller, parasternal, inguinal) dikkatlice yoklanmalıdır. Zira akciğer kanserinin mediastinal ve supraklaviküler bölge dışı lenf nodlarına da metastaz yapmaları mümkündür. Solunum sistemi muayenesinde, her iki hemitoraksın inspeksiyonu yapılmalı, solunuma eşit katılıp katılmadığı incelenmelidir. Tümör obstrüksiyonu nedeni ile atelektazi veya massif plevral efüzyonu olan hastalarda ilgili hemitoraksın solunuma daha az katıldığı gözlemlenir. Dinlemekle solunum sesleri bu tarafta azalmış veya kaybolmuştur. Akciğer kanseri şüpheli hastaların bütün vücudu inspeksiyonla incelenmelidir. Göğüste jinekomasti, parmaklarda clubbing araştırılmalı, vücut yapısı değerlendirilmelidir. İleri evre kanserli hastalarda vücut genellikle kaşektik yapıdadır. Akciğer kanserinde erken tanı çok önemlidir. Semptomatik veya asemptomatik olan, özellikle 40 yaşını geçmiş, sigara kullanan ve akciğer grafisinde patolojik lezyonu bulunan hastalarda, aksi ispat edilene kadar öncelikle akciğer kanseri düşünülmelidir. Hastalarda tanısal yöntemlerin en basiti, mutlaka ve öncelikle yapılması gerekeni akciğer grafisidir. Akciğer kanserinde görülen radyolojik bulgular; Coin lezyon veya soliter pulmoner nodül, hilus genişlemesi, atelektazi, pnömonik infiltrasyon, nodüler infiltrasyon, kavitasyon ve kistik yapı, kitle, plevral efüzyon veya bunların kombine şekilleri tarzında olabilir (Hatipoğlu 2007).

Akciğer kanseri şüphesi oluşan bir hastada seçilecek tanı yöntemi primer tümörün yeri ve büyüklüğü, potansiyel metastatik yayılım varlığı ve olası tedavi şekline göre değişmektedir. Balgam sitolojisi, bronkoskopik teknikler, transtorasik iğne biyopsileri ve cerrahi biyopsiler başlıca tanı yöntemleridir (Göksel 2010).

1. Balgam sitolojisi: Akciğer kanserinin tanısında kullanılan en az invaziv yöntem balgam sitolojisidir. Schreiber ve McCrory birçok çalışmanın sonuçlarını analiz ederek, akciğer kanserinin tanısında kullanılan yöntemlerin performans karakteristiklerini belirledikleri çalışmalarında balgam sitolojisinin duyarlılığını %66, özgüllüğünü %99 olarak saptamışlardır (Göksel 2010). Tümörün santral ya da periferal, mukozal ya da submukozal yerleşmesi balgam sitolojisinin tanı oranını etkilemektedir. Tanı oranı santral yerleşimli tümörlerde %82,5 iken periferal yerleşimli tümörlerde %48'dir (Rosa 1973). Risse ve arkadaşları yaptığı çalışmada kanlı balgam, düşük FEV₁ (Forced Expiratory Volume) değeri, 24mm'den büyük tümörler, santral yerleşimli tümörler ve muhtemelen daha çok santral yerleşimli olmalarından dolayı skuamöz hücreli kanserler balgamda pozitif sitolojik tanı ile ilişkili bulunmuştur. Yani balgam sitolojisi özellikle santral yerleşimli tümörü olan hastalarda faydalı olmaktadır. Balgam sitolojisinin tanı oranını

hastaya ait faktörler kadar teknik faktörler de etkilemektedir. İyi belirlenmiş balgam analiz teknikleri tanı oranını artırmaktadır (Choi 2008).

Bu son derece basit ve minimal invaziv yöntemin dezavantajı lezyon lokalizasyonunu belirleyememesidir. Nadirde olsa akciğer kanserli bir hastanın akciğer filminde lezyon görülmeyebilir ya da periferik yerleşimli küçük bir lezyon saptanabilir. Bu durumlarda bronkoskopik yöntemler ile lezyonun yerinin ve intrabronşial alandaki yayılımının belirlenmesi, eğer balgam sitolojisi skuamöz hücreli kansere işaret ediyor ise üst havayollarının da değerlendirilmesi gerekir (Göksel 2010).

2. Fiberoptik Bronkoskopi: Fiberoptik Bronkoskopi KHDAK'nin tanısında belkide en önemli tanısal araçtır. Fiberoptik bronkoskopi ile segmental ve subsegmental bronş seviyelerine kadar bronşial alandan kaynaklanan tümörler direkt olarak gözlemlenebilir ve uygun alanlardan gereken örnekler alınabilir. Ayrıca havayollarının dışında kalan akciğer parankimi ve mediastendeki lezyonların tanısında da önemli rol oynar. Nispeten daha az invaziv olan fiberoptik bronkoskopi, tanısal etkinliğine ilave olarak, hasta uyumunun iyi ve komplikasyon oranının düşük olması ile güvenli bir yöntemdir ve ayaktan hastalara rahatlıkla uygulanabilir. Akciğer kanseri şüphesi uyandıran ve bronkoskopi yapılması gereken durumlar Tablo 1'de verilmiştir (Göksel 2010).

Tablo 1. Akciğer Kanserinde Tanı Amaçlı Bronkoskopi Endikasyonları

-Hemoptizi
-Uzun süren, tedaviye cevap vermeyen öksürük
-Akciğer kanseri riski olan bir hastada lokalize wheezing ve stridor
-Ses kısıklığı ve vokal kord paralizi
-Diafragma paralizi
-Tekrarlayan ve rezolüsyonu geciken pnömoniler
-Radyolojik olarak yer kaplayan, atelettaziye ve mediastende yer değişikliğine neden olan lezyon ile etyolojisi bilinmeyen plevral sıvı
-Normal üst havayolu muayenesi ve normal radyolojiye karşın pozitif balgam sitolojisi
-Primeri bilinmeyen metastatik kanser

Santral yerleşimli lezyonlarda fiberoptik bronkoskopinin duyarlılığı %88 civarındadır. Periferik yerleşimli lezyonlarda fiberoptik bronkoskopinin duyarlılığı santral yerleşimli lezyonlardan daha düşüktür ve %78 civarındadır (Rivera 2007).

Bronkonkopskopi güvenli bir yöntemdir. Komplikasyon oranı %0.12, mortalite oranı %0.04 civarındadır (Simpson 1986). En sık görülen komplikasyonlar hemoraji, pnömotoraks, hipoksemi, aritmi, bronkospazm ve ateştir. Gerekli önlemler alınarak bu komplikasyonlar minime indirgenebilir (Göksel 2010).

3. Transtorasik iğne Aspirasyonu/Biyopsisi: KHDAK'nın tanısında kullanılan bir diğer etkin ve güvenilir tanı yöntemi transtorasik iğne aspirasyonu (TTİA)'dur. TTİA KHDAK'dan şüphelenilen, fiberoptik bronkopskopiye tolere edemeyen veya reddeden bazı hastalarda ve cerrahiye uygun olmayan ancak KT planı için doku tanısı gereken hastalarda faydalıdır. Periferik yerleşimli lezyonlarda TTİA'nın duyarlılığı %90 civarındadır ve fiberoptik bronkopskopinin duyarlılığından yüksektir. KHDAK'nın tanısında TTİA ile ilgili en önemli problem yalancı negatif sonuçlardır. Bunun sebebi çoğu zaman yetersiz örnekleme ile tümör nekrozu ya da tümörün etrafındaki inflamasyondur. Yalancı negatiflik oranı yüksektir ve %20-%30 civarındadır. TTİA'ya bağlı en sık görülen komplikasyon pnömotorakstır. TTİA yapılan hastaların yaklaşık %27-%28'inde pnömotoraks gelişmekte ve %2,5'ine pnömotoraks nedeniyle tüp torakostomi uygulanmaktadır (Gerathy 2003, Ohno 2003). Daha nadir olarak hemoptizi, vazovagal yanıt, cilt altı amfizemi, hemotoraks, hava embolisi, cilt altında hematom ve girişim yerine lokal yayım da görülebilir (Göksel 2010).

2.1.3. Evreleme

KHDAK'nin evrelemesi için kullanılan uluslararası kabul görmüş sistem Tümör-Nod-Metastaz (TNM) evreleme sistemidir. Bu sistem primer tümör uzanımı (T), bölgesel lenf nodu tutulumunun varlığı (N) ve uzak metastaz varlığı veya yokluğuna (M) dayanır (Tablo 2). T, N ve M derecelerine göre 1'den 4'e kadar evrelenir (Tablo 3). Eğer T, N veya M'nin durumu değerlendirilemezse sonuna x eklenir (örneğin, Tx, Nx veya Mx). Bu evreleme sistemi tedavi ve prognozun belirlenmesine rehberlik eder.

En son olarak güncellenen 7.TNM evreleme sistemi (Tablo 2) International Association for the Study of Lung Cancer (IASLC) tarafından geliştirildi ve 1 Ocak 2010'da kullanımı için American Joint Committee on Cancer (AJCC) ve International

Union Against Cancer (UICC) tarafından onaylanarak 6. TNM sisteminin yerini aldı (Goldstraw 2007, Compton 2012).

Temel olarak 7. sürümde 6. sürümden farklı olarak;

- T1 lezyonlar T1a (≤ 2 cm) ve T1b (> 2 cm fakat < 3 cm),
- T2 lezyonlar da T2a (> 3 cm fakat < 5 cm) ve T2b (> 5 cm fakat < 7 cm) olarak iki subgruba ayrılmıştır.
- > 7 cm olan T2 tümörler T3 olarak sınıflandırılır.
- Aynı lobda yerleşen satellit nodüller T4 değil T3 hastalık, aynı akciğer fakat farklı lobdaki nodül M1 olarak değil T4 olarak değerlendirilmektedir.
- N evrelemesinde değişiklik olmamıştır.
- T2aN1M0 lezyonlar evre 2B değil evre 2A olarak sınıflanır.
- T2bN0M0 lezyonlar evre 1B olarak değil evre 2A olarak sınıflanır.
- T3 (> 7 cm), N0M0 lezyonlar evre 1B olarak değil evre 2B olarak sınıflanır.
- T3 (> 7 cm), N1M0 lezyonlar evre 2B olarak değil evre 3A olarak sınıflanır.
- T3N0M0 (aynı lobda nodül) lezyonlar evre 3B olarak değil evre 2B olarak sınıflanır.
- T3N1M0 veya T3N2M0 (aynı lobda nodül) evre 3B olarak değil evre 3A olarak sınıflanır.
- T4M0 (aynı akciğerde nodül veya direk invazyon ile) lezyonlar eğer N0-1 ise evre 3A, N2-3 ise evre 3B olarak sınıflanır.
- Malign plevral ve perikardiyal efüzyon veya plevral nodül artık T4 ve evre 3B olarak değil metastatik hastalık olarak değerlendirilmekte ve M1a olarak belirtilmektedir.

Tablo 2. Küçük Hücreli Dışı Akciğer Kanseri TNM Sınıflaması

TX	Primer tümör değerlendirilemiyor
T0	Primer tümör bulgusu yok
Tis	Karsinoma in situ
T1a	En büyük çapı 2 cm veya daha küçük tümör
T1b	En büyük çapı 2 cm'den büyük ancak 3 cm veya daha küçük tümör
T2	Ana bronşta karinadan uzaklık ≥ 2 cm, visseral plevra invazyonu, parsiyel atelettazi
T2a	En büyük çapı 3 cm'den büyük ancak 5 cm veya daha küçük tümör
T2b	En büyük çapı 5 cm'den büyük ancak 7 cm veya daha küçük tümör
T3	>7 cm; göğüs duvarı, diafram, perikardium, mediastinal plevra invazyonu, ana bronşta karinadan uzaklık < 2cm, total atelettazi, aynı lobda farklı tümör nodül(leri)ü
T4	Mediasten, kalp, büyük damar, karina, trakea, özofagus, vertebra invazyonu; aynı akciğerde farklı lobda tümör nodül(leri)ü
NX	Bölgesel lenf nodları değerlendirilemiyor
N0	Bölgesel lenf nodu metastazı yok
N1	Aynı taraf peribronşial veya hiler
N2	Subkarinal veya aynı taraf mediastinal
N3	Kontralateral mediastinal, hiler, ipsilateral veya kontralateral skalen veya supraklavikular lenf nodu metastazı
M0	Uzak metastaz yok
M1	Uzak metastaz var
M1a	Karşı akciğerde tümör nodül(leri)ü; plevral nodüller ya da malign plevral ya da perikardial effüzyon
M1b	Uzak metastaz

Tablo 3. Küçük Hücreli Dışı Akciğer Kanseri Evreleme Grupları

Evreleme Grupları			
Okült karsinom	TX	N0	M0
Evre 0	Tis	N0	M0
Evre IA	T1a,b	N0	M0
Evre IB	T2a	N0	M0
Evre IIA	T2b	N0	M0
	T1a,b	N1	M0
	T2a	N1	M0
Evre IIB	T2b	N1	M0
	T3	N0	M0
Evre IIIA	T1a,b T2a,b	N2	M0
	T3	N1, N2	M0
	T4	N0, N1	M0
Evre IIIB	T4	N2	M0
	Herhangi bir T	N3	M0
Evre IV	Herhangi bir T	Herhangi bir N	M1

2.1.4. Tedavi Kararı ve Prognoz

Akciğer kanserinde prognoza etki eden en önemli 3 temel faktör hastalığın tipi, evresi ve performans durumudur. Akciğer kanserinin en sık gözlenen 4 tipi skuamöz, adeno, büyük ve küçük hücreli tiplerdir. Türkiye’de bu dört tip ya da bunların kombinasyonları tüm akciğer kanserinin %86,5’ini oluşturur (Göksel 2010).

KHDAK ile KHAK’nin prognostik farkına baktığımızda, KHAK hızla ilerleyen oldukça agresif bir tümördür ve hiç tedavi edilmediğinde medyan sağkalım 2-4 ay gibi kısa olmaktadır (Samson 2007). KT ve RT’ye verdiği yanıt KHDAK’dan daha iyi olan KHAK’de ne yazık ki nüksler ve gelişen ilaç direnci sağkalımı belirlemektedir. Optimal tedaviyle sınırlı evre olgularda 5 yıllık sağ kalım %10-15 olurken, yaygın evrede 2 yıllık sağkalım %1 ile 5 arasında değişmektedir (Göksel 2010).

Lokal ileri evre KHDAK’da cerrahi sırasında mediastinal lenf nodunun histolojik değerlendirilmesi yapılmadıkça, postoperatif patolojik evreleme hatalı olacaktır. Her akciğer rezeksiyonu öncesi mediastinal lenf nodu örnekleme veya diseksiyonu yapılması gerekmektedir (Robinson 2003). Klinik duruma göre RT, KT, cerrahi ve kombinasyonları tedavide uygulanabilmektedir. Çoğu hastada RT ile tam yanıt sağlanabilmektedir. 6000cGy standart fraksiyon ile tedavide %5-10 uzun dönem sağ kalım yararı olduğu bildirilmektedir (Komaki 1985).

KHDAK’da erken evrede olmak, iyi performans durumunda olmak, ciddi kilo kaybı olmamak (vücut ağırlığının %5’inden az) ve kadın cinsiyetinde olmak iyi prognostik özelliklerdir. Yaşın bağımsız olarak önemi daha küçük görülmektedir, yaşla artan ek hastalıklar daha belirleyici olmaktadır (Göksel 2010).

IASLC (International Association for the Study of Lung Cancer) datasının üzerinden yapılan prognostik faktör analizinde de evre, performans durumu, yaş ve cinsiyetin aynı şekilde prognostik öneme sahip olduğu anlaşılmaktadır. Bu datada skuamöz histolojiye sahip olmak nispeten daha iyi prognoza neden olmuştur. Sadece ileri evre olgularda serum kalsiyum, albümin, sodyum, lökosit ve hemoglobin düzeyi prognostik değer arz etmiştir (Göksel 2010).

2.1.4.1. Cerrahi Kararına Etki Eden Faktörler

Cerrahi erken evre KHDAK'lu olgularda en iyi tedavi yöntemidir. Hastaların çoğunluğunun ileri yaşlarda olması, sigara içmesi ve sigara ile ilişkili kronik obstrüktif akciğer hastalığı (KOA) ve koroner arter hastalığı (KAH) gibi ek hastalıklara sahip olması cerrahinin mortalite ve morbititesini arttırmaktadır. KHDAK'de cerrahi kararı üzerinde en önemli faktör evredir (Göksel 2010).

2.1.4.2. Radyoterapi Kararına Etki Eden Faktörler

Akciğer kanserinde RT hem küratif ya da hem de palyatif amaçla uygulanmaktadır. Hem KHDAK hem de KHAK 'de toksisiteyi daha da arttıran bir rejim olan eş zamanlı kemoradyoterapi (KRT)'nin günlük pratiğe girmesi daha dikkatli olgu seçimini birlikte getirmektedir. RT'nin kendi doğası dışında komplikasyon riskini arttıran faktörler, %10'dan fazla kilo kaybı, ciddi kardiyopulmoner ek hastalıklardır. Küratif RT uzun dönemde fibroze neden olup, solunum rezervlerinde kısıtlamaya yol açabilmektedir. Özellikle solunum rezervleri kısıtlı hastalarda radikal RT uygulanırken çok dikkatli olunmalıdır. Eş zamanlı KRT performansı skoru 0-1 olan ve %5'den az kilo kaybı olan hastalarda tercih edilmelidir. Lokal ileri KHDAK olgularında yukarıda değindiğimiz medikal nedenlerle küratif dozlarda RT uygulanmıyorsa semptom kontrolü amacıyla palyatif dozlarda RT uygulanabilir (Göksel 2010).

2.1.4.3. Kemoterapi Kararına Etki eden ve seçimi etkileyen faktörler

KHDAK'de KT'nin etkinliğini araştıran makaleleri inceleyen 2008 tarihli son meta-analizde KT sadece destek tedaviye göre sağkalımı uzatmakta ve yaşam kalitesini düzeltmektedir. Ancak mevcut KT protokolleri arasında fark gözlenmemektedir (Göksel 2010). Schiller ve arkadaşlarının yürüttüğü dört kollu randomize çalışmada da benzer şekilde yeni ajanların platin grubu ilaçlarla kombinasyonu benzer etkinlikte bulunmuştur (Schiller 2002). İleri evre akciğer kanserinde KT standart tedavi olarak rutin önerilmektedir (Azoli 2009, Göksel 2010).

Klinik durumun tedavi kararı üzerine etkisine baktığımızda en çok çalışılan konu yaştır. 70 yaş üzeri genellikle toksisite artmaktadır. Bu nedenle önerilen tek ajan KT'sidir. Ancak performans durumu hastadan hastaya değişmektedir. Performans durumu iyi olanlarda kombine KT de önerilmektedir. Ancak 80 yaş üzeri KT'nin etkisi ve yan etkisi konusunda tecrübe olmaması nedeniyle rutin olarak KT önerilmemekte, hastaya göre yaklaşım tavsiye edilmektedir (Socienski 2007).

2.1.5. Küçük Hücreli Dışı Akciğer Kanserinde Radyoterapi

KHDAK'nin tedavisini belirleyen faktörler tümörün evresi, rezektabilitesi ve hastanın medikal operabilitesidir. Evre I/II hastalar standart tedavi cerrahi iken evre III hastalardan ancak seçilmiş olanlara cerrahi uygulanabilmektedir. Ancak ileri evre hastalık, hastanın yaşı, diğer hastalıkları veya operasyonu reddetmesi gibi birçok nedenden dolayı hastaların sadece %30'una cerrahi uygulanabilmektedir. Opere edilebilen evre II ve IIIA hastaların çoğuna neoadjuvan veya adjuvan KT ve endikasyon varsa RT; N2 hastalığı olan evre IIIA ve evre IIIB hastalara ise sıklıkla KRT önerilmektedir. Evre IV hastalara ise sıklıkla palyatif RT; anrezektabl veya inoperabl olan evre I-III hastalara ise KT'li veya KT'siz definitif (küratif) RT verilmektedir (Akmansu 2010).

2.1.5.1. İnoperabl Küçük Hücre Dışı Akciğer Kanserinde Radyoterapi

2.1.5.1.1. Erken Evrede Definitif Radyoterapi

KHDAK'li olguların %30'u cerrahi rezeksiyon için uygundur. Ancak medikal inoperabl olan veya cerrahi reddeden evre I-II hastalarda RT, küratif olarak uygulanır. Cerrahinin sonuçları RT'ye kıyasla daha iyidir. Ancak cerrahi ile RT serilerinin birebir karşılaştırmasını yapmak zordur. Çünkü RT'ye ileri yaşta, performansları kötü olan ve kanser dışı hastalıkları bulunan hastalar gönderilmektedir. Ayrıca hastalık evreleri RT uygulanan hastalık grubunda net değildir. Çünkü detaylı evreleme cerrahiye alınan hasta grubuna yapılırken, RT'ye gönderilen hasta grubuna yapılmaz. Cerrahi seriler evre I hastaların %25-50'sinin cerrahi rezeksiyon sonrası bir üst evreye geçtiklerini göstermektedir. Preoperatif bronkoskopisi pozitif olan hastalarda okült N1/N2 hastalık oranı %56'dır. Erken evre hasta grubu için farklı çalışmalardan elde edilen en iyi 5 yıllık sağkalım oranları %30'larda, 5 yıllık lokal kontrol oranları ise %30-50'lerdedir. Ancak çalışmaların çoğu retrospektiftir ve fraksiyon ile toplam dozlar arasında farklılıklar bulunmaktadır (Akmansu 2010).

Günümüzde tümör boyutu <3cm (T1) olan hastalar için kabul edilen efektif RT dozu ≥ 65 Gy'dir. Fakat en yüksek sağkalım oranı 70,2 Gy gibi yüksek dozun kullanıldığı çalışmada bildirilmiştir (Akmansu 2010).

2.1.5.1.2. İleri Evrede Definitif Radyoterapi

Lokal ileri evre KHDAK'de KRT standart tedavidir. Definitif RT ve KT için hasta seçiminde evre, kilo kaybı ve performans durumu çok önemlidir. Malign plevral ve perikardiyal efüzyonlar RT için kontrendikasyon oluşturur. Evre IIIA/B (plevral efüzyonsuz) tedavisinde küratif RT verilirken plevral efüzyonlu IIIB hastalar evre IV hasta grubu gibi tedavi edilir. Tek başına RT'nin kullanıldığı çalışmalarda medyan sağ kalım oranları düşüktür (Dillman 1996). Bu nedenle tedaviye KT eklenmesi ile ilgili birçok çalışma yürütülmüştür (Akmansu 2010).

2.1.5.2. Radyoterapinin Yan Etkileri

Radyoterapinin amaçlarından biri tümörlü dokuyu tedavi ederken çevredeki kritik organları mümkün olduğunca korumak ve olası yan etkileri en aza indirmektir. Toraks ışınlamalarında kritik organların başında akciğer, özofagus, spinal kord ve kalp gelmektedir. RT'ye bağlı akciğerde oluşan yan etkiler RT'nin tamamlanmasından 1,5-2 ay sonra ortaya çıkan radyasyon pnömonisi ile RT bitiminden aylar sonra başlayan ve kronikleşen radyasyon fibrozisidir. Radyasyon pnömonisinde kuru öksürük, dispne, hipoksi, taşikardi ve ateş gibi belirtiler görülür. Radyografilerde ışınlama alanı ile sınırlı, diffüz opasifikasyonlar izlenir. Semptomatik olan olgularda, günlük 20-60 mg. prednizalon önerilmektedir. İnatçı kuru öksürükleri baskılamak için kodein ve benzonatate kullanılabilir. RT ile KT bir arada kullanıldığında radyasyon pnömonisi riski artmaktadır. Bleomisin, mitomisin, sisplatin, siklofosfamid, adriamisin, aktinomisin D ve metotreksat gibi ajanların kullanımı ile etki artmaktadır. Özellikle her iki tedavi modalitesinin eşzamanlı kullanımında radyasyon pnömonisinin gelişme olasılığı yükselmektedir (Akmansu 2010).

RT'nin 2. haftasından sonra gelişen özofajitte, hastalarda kilo kaybı ve performans düşüklüğüne yol açan disfaji ve odinofaji izlenir. Bu belirtiler RT bitiminden 1 hafta sonra en üst düzeye ulaşabilir. Özellikle eş zamanlı KRT veya akselere RT alan hastalarda hem sıklığı hem de derecesi artmaktadır. Hastalara yarı katı gıdalarla beslenme ve topical (lidokain veya difenhidramin gibi) veya sistemik (opioid narkotikler) analjezik kullanımı önerilir. Orta veya ciddi düzeydeki özofajitli olgularda enteral veya parenteral beslenmeye geçmek gerekir. Akut özofajit nadiren kronik özofajite ilerler. Geç dönemde fibrozise sekonder gelişen striktür, nadiren de perforasyon ve fistül izlenir (Akmansu 2010).

Radyasyon myelitinin görülme sıklığı yeni RT teknikleri ile oldukça azalmıştır. Konvansiyonel fraksiyon-doza şeması ile tolerans dozu (TD5/5) 50Gy olan spinal kordun toleransı gün içerisinde çoklu fraksiyon uygulamaları ile azalmaktadır. Bunun nedeni radyasyona geç yanıt veren bir doku olan spinal kordun kendisini 6 saatlik fraksiyonlar arası sürede tamir edememesidir. Günde üç kez uygulanan RT'li rejimlerde transvers myelit vakaları bildirilmiştir (Saunders 1996). Bu nedenle günde iki-üç fraksiyonlu rejimlerde spinal kord dozunun 42-45 Gy'i geçmemesi önerilir (Akmansu 2010).

2.2.GLİOBLASTOMA MULTİFORME

Astrositomer her yaş grubunda ortaya çıkabilirler ancak en sık 40 ve 60 yaşlar arasındadırlar. Erkek/Kadın oranı 2/1'dir. Frontal, temporal, pariyetal ve talamik bölgelerde eşit insidenste bulunurlar ancak oksipital lobda daha az görülürler. Mikroskopik sınıflama 4 grade tanımlar (Kernohan I-IV) ancak bunun kesinliği sınırlıdır. Klinisyen için daha pratik bir tanımlama tümörleri 'malign' ya da 'düşük grade'li olarak bölümlendirir. Malign astrositom (grade III/IV) ve GBM (grade IV) tüm primer intrakraniyal tümörlerin %40'ından fazlasını oluşturur. En yüksek insidans yaşı 55 yaştır. Bu tümörler komşu beyni geniş bir şekilde infiltre ederler; büyüme çabuktur. Otopside, mikroskopik muayene genellikle çok sayıda uzak yere yayılım ortaya koyar (Lindsay 1997).

2.2.1. Patoloji

Santral sinir sistemi (SSS) tümörleri sadece beyin, medulla spinalis veya meninklerden gelişenleri değil, aynı zamanda vücudun diğer sahalarından kaynaklanıp buraya metastaz yapan tümörleri de kapsar. Primer SSS tümörleri; histolojik olarak iyi huylu olsalar bile hayati sahalara baskı yaparak ölüm nedeni olabildiklerinden dolayı, başka yerlerde oluşan tümörlerden bir dereceye kadar farklılık arz ederler. Dahası, SSS dışında gelişen tümörlerin tersine, primer beyin tümörleri histolojik olarak malign olsalar bile çok nadiren vücudun başka bölgelerine yayılırlar (Kumar 2003).

GBM adlandırması, tümör dokusunun ışık mikroskopunda standart Hematoksilen ve Eosin (H&E) boyaması altında görülen hücre morfolojisi ve doku yapısındaki farklılıklardan kaynaklanmaktadır. Tümör dokusu içindeki hücrelerin büyük çoğunluğu, küçük koyu nükleuslar ve az miktarda pembe görünümlü sitozol içermektedirler; bununla birlikte, hücreler değişik şekillerde ve büyüklüklerde olabilirler ki bu da multiforme terimini açıklamaktadır (Bigner 1981).

Astrositomlar primer SSS tümörlerinin en sık gözlenen grubunu oluşturur. Bunlar pilositik astrositom tarafından örneklendirilen, düzgün sınırlı, yavaş büyüyen tipten, GBM gibi yüksek derecede malign, infiltratif tümörlere kadar heterojen bir grubu kapsar. GBM radyolojik olarak düzensiz, kontrast sıvı artıran lezyon ve komşu beyin dokusunda önemli ölçüde ödemin eşlik ettiği görüntü arz eder. Makroskobik olarak; hemoraji, nekroz ve kistik değişimden ibaret düzensiz sahalara sahip infiltratif lezyonlardır. Bunlar histolojik olarak anaplastik astrositomadan, mikrovasküler proliferasyon ve nekroz sahalarının varlığı ile ayrılırlar. Sıklıkla koyu boyalı tümör hücresi nükleusları tarafından kuşatılan nekrotik sahalara, palizatlaşan (etrafına çit çeviren) nekroz olarak tanımlanan bir modeldir (Kumar 2003).

GBM santral sinir sistemi tümörleri arasında en malign olanıdır. Dünya Sağlık Örgütü'nün sınıflandırmasına göre santral sinir sistemi tümörleri 10 başlık altında incelenmektedir:

HÜCRESEL ORİJİN TÜMÖR:

Nörogliyalardan kaynaklanan tümörler

Astrositler Astrositoma

Pilositik Astrositoma

Anaplastik Astrositoma

Glioblastoma multiforme

Oligodendrositler Oligodendroglioma

Ependimalar Ependimoma

Miksopapiller ependimoma

Subependimoma

Nöronlardan kaynaklanan tümörler

Nöroblastoma

Ganglionöroblastoma

Ganlionöroma

Nöron ve nörogliyalardan kaynaklanan tümör

Ganglioglioma

Primitif diferansiye olmayan hücrelerden kaynaklanan tümör

Medulloblastoma

Pineal hücrelerden kaynaklanan tümörler

Pineoblastoma/Pineositoma

Meninkslerden kaynaklanan tümörler

Menengioma

Menengial hemanjioperisitoma

Menengial sarkoma

Sinir kılıfı hücrelerinden kaynaklanan hücreler

Schwannoma (nörolemmoma)

Nörofibroma

Lenfomalar

Primer Sekonder

Malformatif tümörler

Kraniofarenjioma

Epidermoid kist

Dermoid kist

Kolloid kist

Metastatik tümörler (Lichtenberg FV 1989)

2.2.2. Klinik

Beyin tümörlerinin tanısını koymak zor olabilir. Tümör beyinde az kritik bölgelere yerleşiyorsa, önemli boyutlara ulaşip kişilik değişikliği, kas gücü ve koordinasyonunda değişiklik yapana kadar, başlangıç semptomları gecikebilir. Çok kritik yerlere yerleşmiş tümörlerde konvülzyon, ataksi, sensorimotor kayıp gibi açık semptomlar ile çok erken tanı konulabilir (Tobias 2010).

Generalize semptomlar; sıklıkla beyin tümörlerinde tipik olarak artmış intrakranial basıncı yansıtan baş ağrısı, letarji, kişilik değişikliği, kusma, bulantıyı içeren semptomlardır. Lateralize semptomlar; hemiparezi, duyu kayıp, afazi, görme alanı bozukluğu, nöbetleri içeren, spesifik tümör lokalizasyonunu yansıtan semptomlardır. Sıklıkla hastaların semptomları bir haftadan birkaç aya kadar ilerler (Deangelis 2012).

Beyin tümörü semptomları tümörün beyin parankimi işgaline, tümörün veya ödemin beyin dokusu basısına, serebrospinal sıvı obstruksiyonuna ve herniasyona bağlıdır. İnvazyon ve kompresyon fokal semptomların tipik prosedürüdür. Serebrospinal sıvı akışı obstruksiyonu ve herniasyon sıklıkla artmış intrakranial basıncın sonucudur ve baş ağrısı, kusma, bulantı gibi generalize semptomlara neden olmasına rağmen diffüz intrakranial basınç artışının sonucu olarak abducens sinir felci gibi lokalize belirtilerde sebep olabilir (Deangelis 2012).

Baş ağrısı, uykuya meyil, ense sertliği, 3. ve 6. kranyal sinir tutulumu intrakranial basınç artışına bağlı olarak görülen belirti ve bulgulardır. Ventriküler sistemin tutulumu nadir olduğu için, hidrosefali belirti ve bulguları GBM olgularında genellikle görülmez. Epileptik nöbet, tümör lokalizasyonuna bağlı olarak, olguların yaklaşık % 30'unda görülürken, sıklıkla temporal lobu veya frontoparyetal bölgeyi tutan lezyonlarla ilişkilidir. Kuvvet kaybı ve duyu kaybı genelde frontoparyetal ve talamik bölgeleri tutan lezyonlarda görülürken; hafıza kaybı, kişilik değişikliği, düşünce ve muhakeme bozukluğu bir veya her iki frontal lobu birden etkileyen GBM olgularında görülmektedir. Organik mental sendromla açığa çıkan yaşlı hastalarda ise genelde korpus kallosum tutulumu söz konusudur ve bu hastalarda prognoz belirgin olarak kötüdür. Görme bozuklukları genelde az rastlanılan bulgulardır; bunun nedeni de GBM'in oksipital lobda göreceli olarak daha az görülmesidir. GBM'in klasik triadı olan baş ağrısı, nöbet ve hemiparezi hastaların yarısından daha azında birlikte ortaya çıkmaktadır (Salzman 2001).

Baş ağrısı beyin tümörlerinin %35'inde görülen bir semptomdur. Genç hastalarda ve hızlı büyüyen tümörlerde daha sık görülür. Beyin tümörlü hastaların yaklaşık üçte birinde görülen nöbetler, low grade tümörlerde genellikle tek semptom ve geliş sebebidir. Orjin aldığı tümör tarafında fokal olan nöbetler, sınırlı kalır (fokal motor nöbetler) veya sekonder olarak generalize olabilir (Deangelis 2012).

2.2.3. Tanı

Bilgisayarlı tomografi (BT) ve Manyetik Rezonans Görüntüleme (MRG) tetkikleri, GBM tanısında önemli olan nöroradyolojik incelemelerdir. Homojen veya daha karakteristik olarak lezyon çevresinde halka şeklindeki kontrast madde tutulumu, tamda anlamlıdır. Bununla birlikte, lezyon çevresinde belirgin peritümöral ödem ve tümör dokusunun merkezindeki nekrozla uyumlu hipointens alanlar GBM için karakteristik bulgulardır (Gonzales 2001). Ayrıca, nüks GBM olgularını, radyasyona bağlı nekrozdan ayırmak için Pozitron Emisyon Tomografisi (PET) kullanılmaktadır (Ishikawa1993).

Pek çok hastada, görüntüleme, malign bir tümörü güvenilir bir biçimde tanımak için yetersizdir ve biyopsi doku tanısı koymayı sağlar. Lezyonun natürünü doğrulamaktaki başarısızlık apse, tüberküloz ya da sarkoidoz gibi benign durumlarda tedavinin ihmal edilmesi riskine yol açar. Tümör tipinin ve grade'inin saptanması prognostik bir rehber oluşturur ve daha ileri tedavide yardımcı olur. Ultrason klavuzlu yöntemde, anormal bölgeye sokulan bir beyin kanülü, hemen (yayma ya da frozen kesiti) ve geç (parafin kesiti) muayene için küçük miktarda doku aspirasyonuna izin verir. Hastalar preoperatif steroid aldıkları sürece riskler azdır, ancak biyopsi fokal bir defisit oluşturur ya da olanı artırır ya da fatal bir kanamaya sebep olur. Kafesli ya da kafesiz stereotaktik yöntemlerde tomografi ile önceden saptanmış bir yere ince bir kanülün doğru bir şekilde yerleştirilmesine olanak tanır. Stereotaktik kılavuz uygulaması, küçük ya da derin ulaşılamaz lezyonlar (örn.hipotalamus) için gereklidir. İğne yolunun önceden seçilmiş olması damar ve önemli yapılardan uzak kalabilmeyi mümkün kılar, böylece riskler en aza inmiş olur. Malignite derecesi tek bir lezyon içinde bölgeden bölgeye değiştiği için, kesinlik derecesini arttırabilmek için farklı yerlerden çok sayıda örnek alınır. Eğer bulgular değişiklik gösteriyor ise, en yüksek malignite bölgesi tümör grade'ini belirtir. Düşük mortalite ve morbidite nedeniyle, bu teknikler görece ulaşılabilir lezyonlarda bile, artık sıklıkla kullanılır. Ultrason ve ya kafesli ya da kafesiz stereotaksi ile tümör lokalizasyonu belirlenerek yapılan bir kraniotomide ise cerrah direkt görerek 'açık' biyopsi yapar ya da

duyarlı bölgelere zarar vermeksizin güvenli bir şekilde mümkün olan en fazla tümörü rezeke eder (Lindsay 1997).

2.2.4. Tedavi Seçimi ve Prognoz

Modern tekniklere karşın, bu tümörler, seçilen tedaviye bakmaksızın hala kötü bir prognoz taşırlar. Agresif cerrahi tedaviyi savunan pek çok öncü kişiye karşın, bunun yararlılığı yine de ikna edici değildir. Ekstansif tümör rezeksiyonu, ortalama sürviyi yalnızca 1-2 ay uzatır; 1. yıl sonunda yaşayan hastaların oranı, burr hole biyopsi ya da tümör rezeksiyonunun yapıldığına bakılmaksızın, pek az değişiklik gösterir. Tam rezeksiyon olanaksızdır; ‘hemisferektomi’ bile interhemisferik yayılımın önüne geçemez. RT en büyük etkiye sahip görünür ve ortalama sürviyi 3-4 ay uzatır. Yönetim politikaları çok geniş değişiklikler gösterir, ancak genelde, RT ile birlikte tümör rezeksiyonu; genç, ulaşılır lezyonlu, ağır sakatlığı olmayan, kitle etkisine bağlı yüksek intrakranial basınç belirtileri olan hastalarda düşünülür. Bu hastalardaki tümör rekürrensi KT’ye hak kazandırabilir ya da interstisyel RT ile birlikte ya da olmaksızın yeniden operasyonu gerektirebilir (Lindsay 1997).

GBM'de halen geçerli standart tedavi; hastanın yaşı, Karnofsky Performans Skalası ve tümör yerleşimi göz önüne alınarak yapılan geniş cerrahi rezeksiyon ve sonrasında fraksiyone olarak uygulanan 55-60 Gray konvansiyonel RT’dir. Son yıllarda gen tedavisi, immünoterapi, kök hücre tedavisi, biyolojik tedavi ve brakiterapi gibi alternatif yöntemler denenmekteyse de GBM'de tam remisyon sağlayacak bir tedavi yöntemi henüz mevcut değildir. Cerrahi rezeksiyonda temel amaç, mümkün olan en az yapısal ve fonksiyonel kayıpla olabildiğince çok tümör dokusunun çıkarılmasıdır ve literatürde, cerrahi rezeksiyon miktarı ile sağ kalım süresi arasındaki ilişkiyi gösteren seriler mevcuttur (Salcman 2001).

2.2.5. Tedavi

1. Deksametazon: Beyin tümörlerinde endotelial bileşkeler üzerinden etkiyle vasküler geçirgenliği azaltarak beyin ödemi azaltır. Beyin tümörlerinde nörolojik fonksiyon bozukluğu çoğu kez tümörün kendisinden ziyade etrafındaki ödeme bağlıdır. Bu yüzden, nörolojik düzelmede steroidin etkisi düşünülebilir. Doz şemaları değişkendir, ama tipik başlama dozu 6 saatte bir 4mg (po veya iv) şeklindedir. Kesin tedavinin başlamasından sonra dozlar azaltılabilir (sıklıkla postoperatif veya RT sırasında) veya hastaların çoğunda tamamen kesilebilir. Beyin tümörlü hastalarda steroid ile ilişkili yan etkiler uykusuzluk, kilo alma, hiperglisemi, steroid myopatisi ve afektif bozukluktur (Casciato 2012).

2. Cerrahi Rezeksiyon: Teknik olarak uygun olduğu zaman yapılmalıdır. Cerrahi, patolojik tanı için yeterli doku örneklemesinin yanı sıra kitle etkisinin azaltılarak nörolojik düzelme için de gereklidir. Cerrahi rezeksiyon derecesinin, özellikle yüksek greydli lezyonlarda sağkalım ile korele olduğu gösterilmiştir. ‘Gross total rezeksiyon’ radyolojik olarak görüntülenen tümörün tüm ya da tüme yakın çıkarılmasıdır. Ancak, astrositomların infiltratif özelliğinden dolayı daima rezidü kalır. Cerrahi rezeksiyon genişliğini değerlendirmek için postoperatif MRG cerrahiden sonraki 3-4 gün içinde yapılmalıdır. Rezeksiyon mümkün değilse histolojik tanı için biyopsi yapılabilir (Casciato 2012).

3. Radyoterapi: RT'nin GBM tedavisinde etkili olduğunu gösteren pek çok çalışma mevcuttur ve halen cerrahi rezeksiyon sonrasında etkili olduğu kesin olarak bilinen tek tedavi yöntemi olarak RT kabul edilmektedir (Mornex 1993, Herfarth 2001). İyonize edici radyasyonun tümör hücreleri üzerindeki en önemli etkisi, oluşturduğu serbest radikaller ve elektronlar vasıtasıyla DNA sarmalı üzerinde meydana getirdiği hasardır. Bu etkiyle, tümör hücrelerinin DNA yapısında ayrışmalar meydana gelmekte ve bu hasarlar, hücre içi tamir edici mekanizmaların kapasitesini aştığında hücre ölümü oluşmaktadır. RT'nin tümör hücreleri üzerindeki kalıcı hasarının oluşması için peroksit serbest radikale dolayısıyla belli bir düzeyde oksijen konsantrasyonuna ihtiyaç vardır; oysa GBM dokusunun merkezindeki oksijen seviyeleri genelde yüzeyledeki miktarının altındadır. Sonuç olarak RT'ye direnç kaçınılmazdır; yine de GBM olgularında, teşhisi takip eden bir yıldan daha uzun yaşam sürelerinde RT'nin doğrudan etkisi olduğu gösterilmiştir (Salcman 1980).

RT sağkalımı uzatır ve yüksek greydli tümörlerde 6000cGy'e kadar doz yanıt ilişkisi gösterilmiştir. Astrositomaların tedavisinde tümöre ve etrafındaki dokuya 5000-5400cGy, anaplastik astrositomalarda ve GBM'de ise 6000cGy dozunda RT uygulanır. Nöbetleri antiepileptik ilaçlarla kontrol altında tutulan ve başka nörolojik semptomları olmayan düşük greydli astrositomlarda RT ertelenebilir. Radyasyon duyarlılaştırıcılar astrositoma tedavisinde yararı yoktur. İnterstisyel brakiterapi ve radyocerrahi gibi adjuvan RT malign gliomalı hastalara sağkalım avantajı sağlamaz. Böyle tedavilerin komplikasyonları steroid bağımlılığı ve daha sonra radyonekrozun kontrolü için hastaların yarısında ‘debulking’ cerrahi ihtiyacının ortaya çıkmasıdır (Casciato 2012).

4. Kemoterapi: Nitrozüre grubu alkilleyici ilaçlar, malign gliomların tedavisinde kullanılan en eski ajanlardır. BCNU (lomustin) en eski ve halen en etkili olan KT'dir, tedaviye cevap oranı % 40 civarındadır. Daha sonraki dönemlerde, BCNU'ya ek olarak oral

olarak da verilebilen CCNU ve Prokarbazin de tedavi protokollerine eklenmiştir fakat BCNU kadar etkili olamamışlardır (Salcman 2001). BCNU, RT sonrası tümör kitlesinde azalma olan veya değişmeyen ve genelde yaşı 50'nin altında olan hastalarda etkili olan bir KT'dir (Gerosa 1982).

GBM tedavisinde temozolamid tedavisi standart hale gelmiştir. RT sırasında sürekli olarak (75 mg/m²/gün), ardından adjuvant olarak en az altı kür (150-200 mg/m²/gün, 4 haftada bir ardışık 5 gün) uygulanır. Tedavi genellikle iyi tolere edilir. Anaplastik astrositomada etkinliği tam olarak kanıtlanmış olmamasına rağmen birçok hekim malign gliomalı hastaların tamamında bu rejimi benimsemiştir (Casciato 2012).

5. Rekürrens Tedavisi: GBM de dahil olarak astrositomalar rekürrenste tedaviye yanıt verebilir ve tedavi stratejileri genellikle tanıda uygulanan tedavilere paraleldir. Rekürrenste tedavi kararı ve tedavi tipi hastanın yaşı, performans durumu gibi hasta özelliklerinin yanı sıra histolojik greyd ve cerrahi yapıp yapılmaması gibi tümör özelliklerine göre belirlenir. Nörolojik semptomların kontrolü için deksametazon uygulanabilir. Postoperatif KT uygulanabilir. Nitrozüre, prokarbazin, etoposid ve irinotekan yıllardır kullanılan ajanlardır. Bunlara alternatif olarak antianjiyojenik ajan olan bevasizumab gibi yeni ajanlar umut vericidir. Uygun olan hastalar klinik çalışmalara yönlendirilebilir. Stereotaktik radyocerrahi gibi ek RT uygulamaları yüksek oranda infiltratif özelliği olan bu neoplazilerin rekürrens tedavisinde nadiren yer alır (Casciato 2012).

6. Hasta Takibi: Astrositomalı hastalarda ömür boyu takip gerekir. Düşük greydli astrositomalar tedaviden 20 yıl gibi uzun yıllar sonra da nüks edebilir. Tümör rekürrensi genellikle primer bölgededir, ama astrositomlar nadiren multifokal olabilir ve nöroaksta uzak bölgelerde de nüks edebilir. Sistemik dokulara metastaz oldukça nadirdir. Tümör rekürrensi monitorizasyonu en iyi düzenli olarak nörolojik inceleme ve MRG ile yapılır. Monitorizasyon sıklığı tumor greydine, hastanın performans durumuna ve daha sonra tedavi yapıp yapılmayacağına göre bireyselleştirilebilir (Casciato 2012).

2.2.6. Sağkalım

Ortalama sağkalım süreleri yaklaşık olarak astrositoma için 5 yıl, anaplastik astrositoma için 2,5 yıl ve glioblastoma için 1 yıldır. GBM'li hastaların yaklaşık %5'inin sağkalımı 5 yıl ya da daha uzundur (Casciato 2012). GBM olguların hemen hepsinde nüks kaçınılmazdır, nüks sonrası yaşam süresi 8-32 hafta arasında değişmektedir ve GBM'de 2 yıllık sağkalım oranı % 20'yi geçmezken, beş yıllık sağkalım oranı % 10'nun altındadır (Barker 1998, Guyotat 2000). Barker ve arkadaşlarının geniş serisinde ise, nüks sonrası yapılan ikinci cerrahi rezeksiyonun ortalama yaşam süresini arttırmadığı sadece kaliteli yaşam süresini anlamlı olarak arttırdığı öne sürülmüştür (Barker 1998). Ayrıca, daha önceki çalışmalarda teşhis öncesi 18 aydan fazla süren nöbet aktivitesinin ve 6 aydan fazla süren diğer belirtilerin iyi prognostik kriterleri olduğu bildirilmiştir (Walker 1980). Literatürde, GBM olgularında ortalama yaşam süresi 45-71 hafta arasındayken, ilk cerrahi rezeksiyon sonrası tümör nüksüne kadar geçen zaman ise 12-36 hafta arasında değişmektedir (Durmaz 1997, Guyotat 2000).

2.3. Na⁺/K⁺-ATPaz ENZİMİ

2.3.1. İyonların ve Küçük Moleküllerin Transmembran Taşınımı

Plazma zarı, tüm hücrelerde sitoplazmayı dış ortamdan ayıran, böylece hücreyi topolojik ve biyokimyasal olarak tanımlayan ve onu çevredekilerden soyutlayan bir geçirgenlik seti oluşturur. Plazma zarı, moleküllerin hücre içine veya dışına rastgele girip çıkmasını önleyerek hücre dışı sıvının ve sitoplazmanın bileşimi arasındaki temel farkların korunmasını sağlar (Nodish 2011).

Plazma membranı hücre için gerekli maddelerin girişi ve artık ürünlerin atılmasına izin verirken aynı zamanda hücre içi ve dışı ozmotik ve elektriksel dengeyi de sağlar. Bu fonksiyonları gerçekleştirmek için üç çeşit transport sistemini kullanır. Bunlar: pasif difüzyon, kolaylaştırılmış transport ve aktif transporttur (Murray 2003).

Moleküllerin plazma membranını geçebildiği en basit mekanizma pasif difüzyondur. Burada molekül, herhangi bir proteinin katkısı olmadan, fosfolipid çift tabaka içinde çözünerek, konsantrasyonunun yüksek olduğu taraftan düşük olduğu tarafa doğru geçer (Nelson 2004).

Kolaylaştırılmış difüzyonda da moleküller konsantrasyon farkına bağlı olarak hareket ederler, ancak membrandan geçiş proteinler aracılığı ile gerçekleştirilir.

Kolaylaştırılmış difüzyona aracılık eden proteinler; taşıyıcı proteinler ve kanal proteinleridir. Taşıyıcı proteinler, spesifik molekülleri bağlar ve yapısal bir değişikliğe uğratarak molekülü membranın diğer tarafına bırakır. Kanal proteinleri ise membran içinde açık delikler oluşturarak uygun büyüklük ve yükteki tüm moleküllerin geçişine izin verirler (Cooper 2004).

Konsantrasyon gradiyentine karşı moleküllerin taşınması gerektiği zaman aktif transport gerçekleşir. Aktif transportta moleküller enerji harcanarak taşınır (Brumen 1993).

Aktif transportun en iyi bilinen örneği plazma zarını boyunca Na^+ ve K^+ gradientinin sağlanmasıdır. Hücre dışında Na^+ 145mM ve K^+ 4mM iken; sitoplazmada Na^+ 12mM ve K^+ 140mM'dir. Na^+ 'un hücre dışına atılması konsantrasyon gradiyentine ve elektriksel potansiyel gradiyentine karşı hareketini gerektirir. Bu olay Na/K-ATPaz enzimi aracılığı ile gerçekleştirilir. (Rodriguez 1980, Doucet 1988, Clausen 1998).

Moleküllerin ve iyonların kontrollü ve seçici geçişini, plazma zarına ve diğer hücre içi zarlara çoklu zar geçişli (transmembran) domainleri (belirli yapısal veya işlevsel bölgeler) ile gömülmüş taşıyıcı proteinler olarak adlandırılan integral zar proteinleri sağlar (Nodish 2011). Taşıyıcı proteinlerin aksine kanal proteinleri, uygun büyüklük ve yükteki küçük moleküllerin fosfolipid çift tabakadan serbestçe geçebilmelerine olanak veren açık delikler oluştururlar. En iyi tanımlanmış kanal proteinleri, iyonların plazma zarından geçişlerine aracılık eden iyon kanallarıdır. İyon kanallarının üç özelliği işlevlerinin temelini oluşturur. İlk olarak, kanaldan geçiş son derece hızlıdır. Açık kanallardan saniyede bir milyondan fazla iyon akışı olur, bu akış hızı taşıyıcı proteinlerle taşınım hızının yaklaşık bin katıdır. İkinci olarak, kanalların içindeki dar geçit sadece uygun büyüklük ve yükteki iyonların geçişi ile sınırlı olduğundan, kanallar yüksek düzeyde seçicidir. Üçüncü olarak, iyon kanallarının çoğu sürekli açık değildir. Bazı kanallar (ligand-kapılı kanallar) sinirsel ileticilerin (nörotransmitter) ya da başka uyarıcı moleküllerin bağlanmasına yanıt olarak; diğerleri (voltaj-kapılı kanallar) ise, plazma zarında elektrik potansiyeli değişimlerine yanıt olarak açılırlar (Cooper 2006).

Bazı durumlarda moleküllerin enerji gerektirmeyen ve termodinamik olarak kendiliğinden gerçekleşen bir süreçle yüksek konsantrasyondan düşük konsantrasyona doğru hareketi söz konusudur. Suyun veya glukozun kandan vücut hücrelerinin içine doğru hareketi buna bir örnektir. Diğer bazı durumlarda ise, moleküller zardan 'yokuş yukarı' bir konsantrasyon gradiyentine karşı ancak dışarıdan enerji verilirse gerçekleştirilebilecek

termodinamik olarak elverişsiz bir süreçle taşınmalıdır. Bu enerji, çoğunlukla ATP'de en uça yer alan fosfoanhidrit bağının hidroliziyle açığa çıkan enerjiden sağlanır; bu tip taşıyıcılar ATP ile çalışan pompalar olarak adlandırılır. Bu pompalar, Na^+ ve K^+ gibi iyonları aktardıklarında zarın iki tarafında hem elektriksel gradiyent veya potansiyel, hem de kimyasal konsantrasyon gradiyenti oluştururlar (Nodish 2011).

Voltaj-kapılı Na^+ ve K^+ kanalları çok daha gelişmiş düzeyde bir seçicilik sergilerler. Na^+ kanalları, Na^+ için K^+ 'a göre on kattan daha fazla geçirgen iken, K^+ kanalları K^+ için Na^+ 'a göre bin kattan daha fazla geçirgendir. Na^+ kanalları seçiciliği, büyüklük filtresi görevi yapan dar geçit dayanağıyla kısmen açıklanabilir. Na^+ un iyon çapı K^+ un kinden küçüktür ve Na^+ kanalı geçişinin K^+ 'un veya daha büyük iyonların geçişini engelleyecek kadar dar olduğu düşünülmektedir (Cooper 2006).

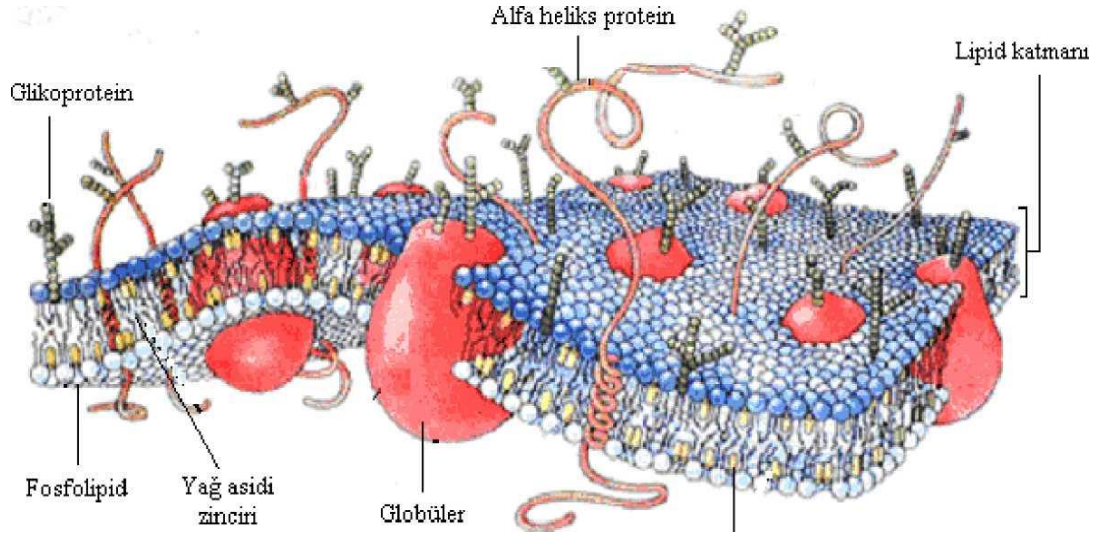
Plazma zarında bulunan ve P-sınıfı iyon pompası Na/K-ATPaz'dır. Bu iyon pompası alt birimi $\alpha_2 \beta_2$ olan bir tetramerdir. Küçük, glikozillenmiş β polipeptidi, iyon pompalamada doğrudan görevli olmayıp, yeni sentezlenen α altbirimlerinin endoplazmik retikulumda doğru şekilde katlanmasına yardım eder. Katalitik α altbiriminin amino asit dizisi ve öngörülen tersiyer yapısı, kastaki sarkoplazmik retikulum Ca^{+2} ATPazına çok benzemektedir. Na/K-ATPaz, sitozole dönük tarafında ATP bağlayan N domainini, P domainindeki fosforillenmiş aspartatı ve A domainini zara gömülü segmente bağlayan segmentler içerir (Nodish 2011).

2.3.2.1. Eritrosit ve Eritrosit Membranının Özellikleri

Eritrosit membranı protein, lipid ve karbonhidratlardan oluşur. Özellikle fosfolipid ve serbest kolesterolden oluşan lipidler membranın yaklaşık % 50' sini oluşturur (Yenerel 2004). Fosfolipidler lipid katmanı içerisine asimetrik bir şekilde dağılmışlardır. Lipid katmanının dış kısmı sfingomyelin, glikolipid ve fosfatidilkolin içerirken, sitoplazmaya bakan iç kısmı ise fosfatidilinositol, fosfatidilserin ve fosfatidiletanolamin gibi lipidlerden oluşmaktadır. Hücre içi ve hücre dışı sıvılarla temas edecek şekilde çift tabakalı olarak dizilmiş olan bu lipid yapısı sayesinde hücre içeriği dış ortamdan korunabilmektedir. Kolesterol ise membranın esnekliğinin ve kararlılığının devam ettirilmesinde görev yapmaktadır (Sadava 1993), (Şekil 1).

Çapı 6-9 mikron olan insan eritrositi, çekirdeksizdir ve bikonkav disk şeklindedir. Birçok hücrede olduğu gibi eritrositlerde de en önemli katyon K^+ 'dur. Diğer katyonlar ise Na^+ , Ca^{++} ve Mg^{+++} 'dur. Önemli anyonlar arasında Cl^- ve COOH^- bulunmaktadır.

Eritrositlerde inorganik fosforun yanısıra 2,3-bisfosfogliserat yer almaktadır. Eritrositlerin iç yapısı enerji tüketilen bir mekanizma ile düzenlenmektedir. Eritrositlerin metabolik aktiviteleri, iyon dengesinin sağlanmasına yönelik enerjinin üretimini gerçekleştirmektedir. Na^+ 'un hücre dışına atılarak K^+ ile değiştirilmesini sağlayan metabolik aktivitede, hemoglobinin oksidatif denatürasyona karşı korunmasında, methemoglobin oluşumunun önlenmesinde ve hücrenin genel şeklinin sürdürülmesinde gerekli olan enerjiyi sağlamaktadır.



Şekil 1. Eritrosit membranının yapısı (Agre 1989)

Yapısında % 49 protein, % 44 lipid ve % 7 karbonhidrat bulunan eritrosit membranı 6 nm kalınlığındadır. Eritrosit membranında iki tür protein bulunmaktadır:

1. Periferik proteinler: İntegral membran proteinlerine kovalent olmayan bağlar ile bağlanırlar. Hücre membranının şeklinin korunması ve düzenlenmesinde görevli olan bu proteinler, membranın sitoplazmik kısmında bulunurlar ve membran elastikiyetini sağlarlar. İsimlendirilmeleri şu şekildedir: α ve β spektrin, ankrin (band 2.1), aktin, protein 4.1, protein 4.2, protein 4.9, band 6.8 (gliseraldehit 3 fosfodehidrogenaz) ve band 7 (tropomyozin).

2. İntegral proteinler: Polipeptid zincir yapısındaki hidrofobik kısımlar yardımı ile ikili lipid tabakasında bulunan fosfolipidlere sıkıca bağlanmakta ve membran proteinlerine eklenmektedirler. Protein 3 (band 3) ve glikoforinler (A,B,C ve D) bu gruptadır. Glikoforinler glukozdan zengin bazları, kan grubu antijenlerini (A,B,O) meydana getirir (Dağlar 2000, Onat 2002).

Eritrositler ile yapılan çalışmalar hem periferik hem de integral membran proteinleriyle ilgili çok sayıda bilgi sağlamıştır. İnsan eritrosit membranları yaklaşık bir

düzine major protein içerir. Bu proteinler membran örneklerinin jel elektroforezi ile tanımlanmıştır. Bunların çoğu hücre iskeletini oluşturarak hücreye şeklini veren periferik membran proteinleridir. Eritrositlerin major hücre iskelet proteini spektrindir. Diğer periferik membran proteinleri de aktin, ankirin ve band 4.1'dir. Spektrin; jel elektroforezinde band 1 ve band 2 olarak görülen polipeptid zincirlerinden oluşmuştur.

Bu zincirler α ve β zincirleri olarak bilinirler. Spektrin, iki heterodimerden oluşan tetramerik bir yapıya sahiptir. Ayrıca yüksek moleküler ağırlıklı oligomerik formlarının da bulunduğu bildirilmiştir (Marchesi 1985). Ankirin; spektrin ve band 3'ü birbirine bağlayarak plazma membranı ve hücre iskeleti arasındaki ilişkiyi sağlar.

Eritrositlerin iki major integral membran proteini olan glikoforin ve band 3 transmembran proteinlerdir. Glikoforin; 131 aminoasit içeren, yarısı protein yarısı karbohidrat olan küçük bir glikoproteindir. Hücre dışında kalan amino terminal ucu, transmembran bölgesi ve hücre içinde kalan karboksil terminal segmenti olmak üzere üç kısımdan oluşur. Membran boyunca uzanan tek bir α heliks ile membranı çaprazlar ve membran yüzeyinde bulunan amino terminal ucu glikozillenmiştir. Glikoforinin aminoasit dizisi ve yapısı iyi bilinmesine karşın fonksiyonu aydınlatılamamıştır. Band 3 proteini, 929 aminoasitten oluşmuş bir polipeptid zinciridir ve membranı boydan boya geçen 14 α heliks bölgesine sahiptir. %5-8 oranında karbohidrat içerir. Bikarbonat (HCO_3^-) ve klor (Cl^-) iyonlarının membrandan geçişinden sorumludur (Cooper 2004).

Eritrosit membranındaki lipidler hücre etrafında dayanıklı bir yapı oluşturmak üzere iki tabakalı bir yapı meydana getirmektedirler. Bu lipidlerin % 60'ı fosfogliseridlerden, % 25'i kolesterolden, % 5-10'u glikolipidlerden oluşmuştur. Daha az oranda kolesterol esterleri, serbest yağ asitleri, sülfatidler ve triaçilgliseroller bulunmaktadır. Fosfogliseridler; sfingomyelin, fosfatidil kolin, fosfatidil etanolamin ve fosfatidil serin fraksiyonlarından oluşmaktadır. Bunlardan fosfatidil kolin ve sfingomyelin dış tarafta; fosfatidil etanolamin, fosfatidil inozitol ve fosfatidil serin iç tarafta bulunmaya meyillidir. Eritrositlerin deformasyonları üç önemli yapısal özelliğe bağlıdır:

- Bikonkav, diskoid şekil sonucu ortaya çıkan özel yüzey alanı-hacim ilişkisi,
- Düşük sitoplazmik viskozite,
- Eritrosit membranının viskoelastik yapısı.

Bu özelliklerden birinde meydana gelen değişim, eritrositlerin deformasyonunu etkiler. Negatif yük ile yüklü olan eritrosit membranı COOH^- ve Cl^- gibi küçük anyonlara

ve H₂O'ya karşı geçirgen, Na⁺ ve K⁺ gibi katyonlara karşı geçirgen değildir. Plazmada Na⁺, K⁺'dan daha fazla miktarda bulunmaktadır. Eritrositlerde bu iki iyonun konsantrasyonları tamamen tersine dönmüş durumdadır. Eritrositlerdeki yüksek K⁺ konsantrasyonunun eritrosit proteinlerinin yapı ve fonksiyonları ile ilişkili olduğu ve Na⁺'un ise böyle bir fonksiyonunun olmadığı belirlenmiştir. Na⁺ ve K⁺ iyonları için eritrosit membranında bir gradient bulunmakta ve bu iyonların membran geçişleri için enerji gerekmektedir. Gerekli olan enerji anaerobik glikoliz ve fosfoglukonat metabolik yollarından sağlanmaktadır. Bu iyonların konsantrasyon farklılıklarının düzenlenmesinde membran ATPaz enzimleri kullanılmakta ve gerekli enerji ATP hidrolizinden elde edilmektedir. ATPaz'ın 4 tipi vardır:

P-Tipi ATPaz: ATP tarafından tersinir olarak fosforillenen (bu nedenle ismi P-tipidir) katyon taşıyıcılarıdır. Fosforillenme zarda katyon hareketinin merkezi olan bir konformasyonel değişikliği zorlamaktadır. Çoğunlukla plazma membranında bulunur. Fosfata benzeyen vanadatın baskılanmasına duyarlıdır.

F-Tipi ATPaz: ATP hidrolizi tarafından yürütülen yukarı doğru proton zar geçişini katalizlemektedir. 'F-tipi' ismi bu ATPazların enerji eşleyen faktörler olarak tanımlanmalarından gelmektedir. Mitokondride lokalizedir. F₀ integral zar protein kompleksi protonlar için zardan geçiş yolunu sağlar ve periferik protein F₁ protonları yukarıya sürmek için ATP enerjisi kullanır.

V-Tipi ATPaz: Çoğu organizmada hücre içi bölmelerin asitliğinden sorumludur. Bu tip proton pompaları kendilerini çevreleyen sitozolden çok düşük pH değerlerine sahip mantar ve daha yüksek bitkilerdeki vakuollerin pH değerini 3 ila 6 arasında tutarlar. Bitki vakuoler membranında ve hayvanların lizozomlarında lokalizedir.

A-Tipi ATPaz: Anyonların transportunun sağlanmasında önemlidir.

Eritrosit membranındaki protein-enzim sistemleri membrandan katyonların geçişinde etkili olur. Bu enzimlerin fonksiyonu ATP'ye bağımlı olup ATP azlığında eritrosit membranından Na⁺, K⁺, Ca⁺⁺ transportu bozulur, hücre içinde Na⁺ ve su artar, eritrosit küre şeklini alır.

Sitozolik Ca⁺⁺ artışı eritrosit membranında sertleşmeye neden olur. Eritrositler yaşlandıkça iyon pompalarının aktiviteleri azalmakta ve intrasellüler iyon konsantrasyonları değişmektedir. Böylece hücrenin iç yapısı değişmekte ve sonunda eritrosit parçalanmaktadır.

İnsan eritrosit membranındaki yüksek affinite-düşük kapasiteli bağlanma ve düşük affinite-yüksek kapasiteli bağlanma bölgelerine insülin bağlanmaktadır. Çeşitli dokularda insülinin biyolojik etkilerinin, spesifik-yüksek affiniteli reseptörlerle etkileşimi aracılığı ile olduğu ve de birçok dokuda insülinle Na/K-ATPaz pompasının stimüle olduğu ifade edilmektedir (Nelson 2013, Moore1983, Dutta-Roy 1985).

2.3.2.2. Eritrosit Membranının Fonksiyonları

Eritrosit membranının kolay elde edilebilirliği, onun, üzerinde en çok çalışma yapılan biyolojik membran olmasına neden olmuştur. Eritrosit membranının birçok görevi vardır: Klorür/bikarbonat değişimi esnasında pH'nın sabit düzeyde tutulması, organik fosfatlar ve indirgenler gibi hayati önem taşıyan bileşiklerin korunması ve çeşitli metabolik artıkların organizma dışına atılması gibi birçok hayati önem taşıyan fonksiyonları yerine getirir (Patrick 2004). Ayrıca glikolitik enzimleri inaktive ederek eritrosit metabolizmasının düzenlenmesini sağlar. Eritrosit membranının dış yüzünün kaygan olması kırmızı kan hücrelerinin endotel hücrelerine yapışmasına engel olmaktadır (Sikorski 2000).

2.3.3. ATP Hidroliziyle Desteklenen Aktif Taşıma

Moleküllerin kolaylaştırılmış difüzyonla, taşıyıcı proteinler veya kanal proteinleri üzerinden net akışı daima, zarın iki yanındaki elektrokimyasal gradientin belirlediği, enerjetik olarak avantajlı yöndedir. Ancak, birçok durumda hücrenin, molekülleri konsantrasyon gradientine karşı taşınması gerekir. Aktif taşımada, eşlenen diğer bir reaksiyondan (ATP hidrolizi gibi) elde edilen enerji, moleküllerin enerjetik olarak tercih edilmeyen yönde yukarı doğru taşınması amacıyla kullanılır.

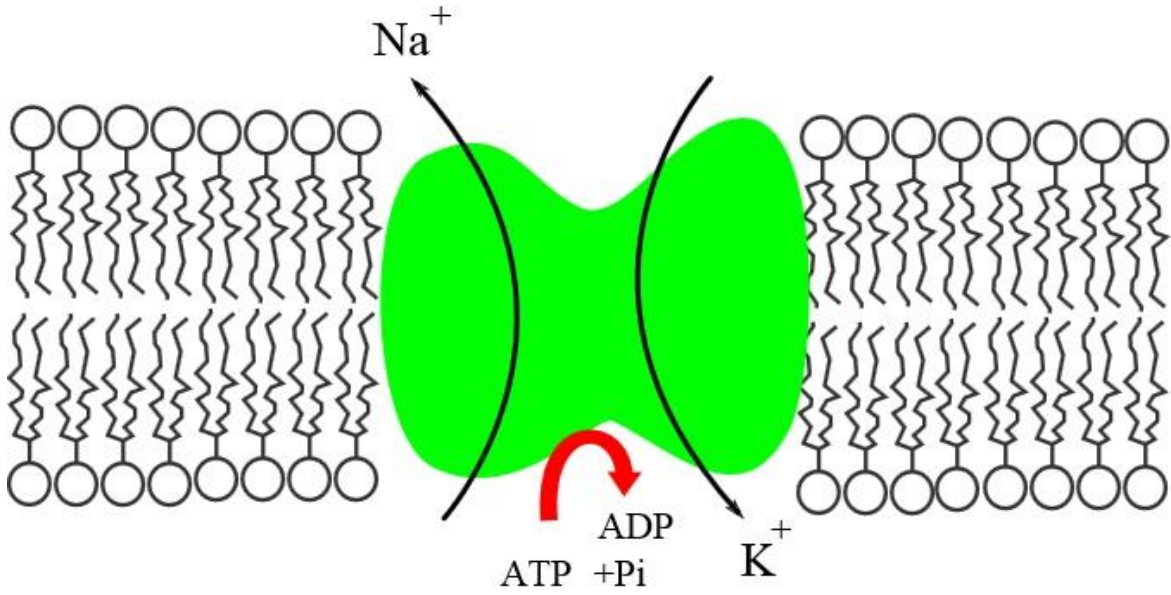
Plazma zarının iki yanında iyon gradiyentlerinin sürekliliğinden sorumlu olan iyon pompaları, direkt olarak ATP hidroliziyle çalışan aktif taşımanın önemli örneklerini oluştururlar. Na^+ konsantrasyonu hücrenin dışında içindekinden yaklaşık on kat fazlayken, K^+ konsantrasyonu içeride dışardakinden fazladır. Bu iyon gradienti, Na^+ ve K^+ 'u elektrokimyasal gradiyentlerine karşı taşımak için ATP hidrolizinden çıkan enerjiyi kullanan Na^+ - K^+ pompası (aynı zamanda Na/K-ATPaz olarak da adlandırılır) tarafından korunur. Bu olay, ATP tarafından pompada oluşturulan yapısal değişikliklerin sonucudur (Cooper 2006).

2.3.4. Plazma Membranı Na⁺/K⁺-ATPaz'ı

1957'de Danimarkalı bir fizyolog Jens Skou yengeç sinir hücrelerinde yalnız sodyum ve potasyum iyonlarının varlığında aktif olan ATP hidrolizleyen bir enzim keşfetti. Bu enzimin çalışmasında Mg²⁺ iyonu, ATP bağlamada bir kofaktör olarak rol oynuyordu. Skou, ATP hidrolizi için uygun olan bu enzimin, Na⁺ ve K⁺ iyonu taşımada aktif olan proteinle aynı olduğunu ileri sürdü ve bu enzime Na/K-ATPaz ya da sodyum potasyum pompası adı verildi.

Yüksük otu bitkisinden elde edilen bir steroid olan Digitalis, Na/K-ATPaz'a bağlanarak, kan ve su toplanması ile ilgili kalp hastalıklarının tedavisinde 200 yıldır kullanılmaktadır. Digitalis, kalpteki kas hücreleri içinde Ca²⁺'u arttıran bir olaylar zincirini başlatan Na/K-ATPaz'ı inhibe ederek, kalbin kasılmasına etki eder (Yıldırım 2007).

Bu enzim genellikle iyon pompası olarak nitelendirilir. Na/K-ATPaz enzimi, çoğu hücre membranında bulunabilen, ATP'den sağlanan enerjiyle gradiente karşı extrasellüler sıvıdan 2 K⁺ iyonu, hücrelerden 3 Na⁺ iyonu transportunu sağlayan bir aktif transport sistemidir (Burtis 1999, Gözükara 2001), (Şekil 2).



Şekil 2. Plazma membranı Na⁺/K⁺-ATPaz'ı fonksiyonu (fr.wikipedia.org)

Na⁺/K⁺-ATPaz'ın ana rolü bu tepkimeye yatırılmış olan enerjiden görülür: dinlenmedeki bir insanın toplam enerji harcamasının yaklaşık %25'idir (Nelson 2013). Pompanın sağladığı Na⁺ ve K⁺ gradientlerinin önemli rollerinden biri, sinir ve kasta elektrik sinyallerinin yayılımıdır. Pompanın geliştirdiği Na⁺ gradientinden, diğer çeşitli

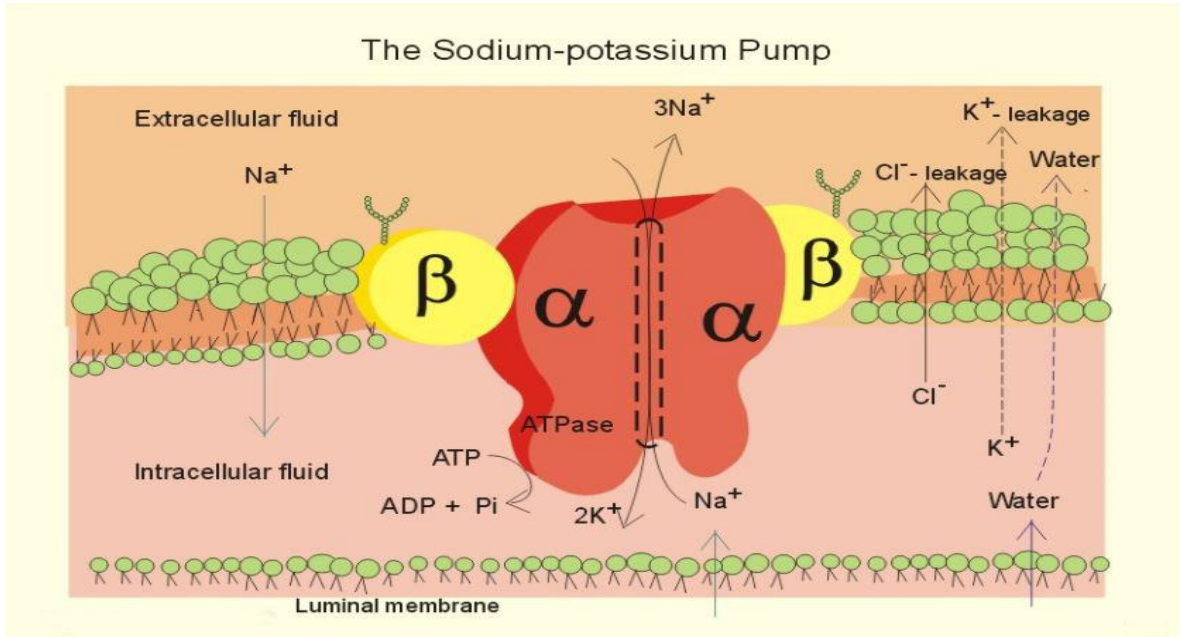
moleküllerin aktif taşınımı için de yararlanır. Hayvan hücrelerinin çoğunda, $\text{Na}^+\text{-K}^+$ pompasının diğer bir önemli görevi de, ozmotik dengenin ve hücre hacminin korunmasıdır. Sitoplazma, makromoleküller, amino asitler, şekerler ve nükleotidler dahil olmak üzere yüksek konsantrasyonda organik molekül içerir. Karşıt denge olmaması halinde bu durum, ozmozla içeri doğru su akışına neden olur ve kontrol edilmediği takdirde hücrenin şişmesi ve sonunda patlamasıyla sonuçlanır. Özellikle, pompa hücre dışında içindekinden daha yüksek Na^+ konsantrasyonu oluşturur. İyon konsantrasyonlarındaki bu farklılık, ozmotik basıncı eşitleyerek ve suyun içeri doğru hareketini önleyerek, hücre içindeki organik moleküllerin yüksek konsantrasyonunu dengeler (Cooper 2006).

2.3.5. $\text{Na}^+\text{/K}^+\text{-ATPaz}$ 'ın Yapısı

Na/K-ATPaz iki ana polipeptid; α , β ve γ alt ünitelerinin sitokiometrik bileşiminden meydana gelen bir oligomerdir (Pedemonte 1990, Mercer 1993, Lingrel 1994, Pressley 1996, Topcu 2001).

Na/K-ATPaz 'ın biyosentezi ile ilgili yapılan deneyler her alt ünitenin kendisine ait bir mRNA'sı olduğunu ve birbirlerinden bağımsız olarak sentez edildiklerini ortaya koymuştur (Geering 1988).

Endoplazmik retikulumda α ve β alt üniteler sentez sırasında veya sentezden hemen sonra birleştirilmektedir (Geering 1996), (Şekil 3). Her iki alt ünitenin endoplazmik retikulumdan dışarı çıkması diğeriyle birleşmiş olmasına bağlıdır (Ackermann 1990). Birleştirilmeyen alt üniteler endoplazmik retikulumda kalır (Beguin 2000).



Şekil 3. Plazma membranı $\text{Na}^+\text{/K}^+\text{-ATPaz}$ 'ının dimerik yapısı (fr.wikipedia.org)

α alt ünitesi, oldukça geniş bir membran proteini'dir. Molekül ağırlığı 90-100 kD'dur ve nonglikoziledir. Bu ünite enzimin katalitik aktivite gösteren ve iyon bağlayan bölgesini oluşturur. α alt ünitesinin katyon, ATP ve inhibitör (ouabain) bağlanma bölgeleri vardır (Pedemonte 1990, Mercer 1993, Lingrel 1994, Pressley 1996, Topcu 2001).

β alt ünitesi membranı bir defa karşıdan karşıya geçen bir polipeptittir. β alt ünitesi enzimin normal aktivitesi için esansiyeldir ve enzimin Na^+ ve K^+ affinitesinin modülasyonu ile ilgili olduğu görülmektedir. Buna ek olarak omurgalı hücrelerde β alt ünitesi α polipeptitinin doğru katlanmasının stabilizasyonunda da rol oynar (McDonough 1990, Blanco 1994, Chow 1995).

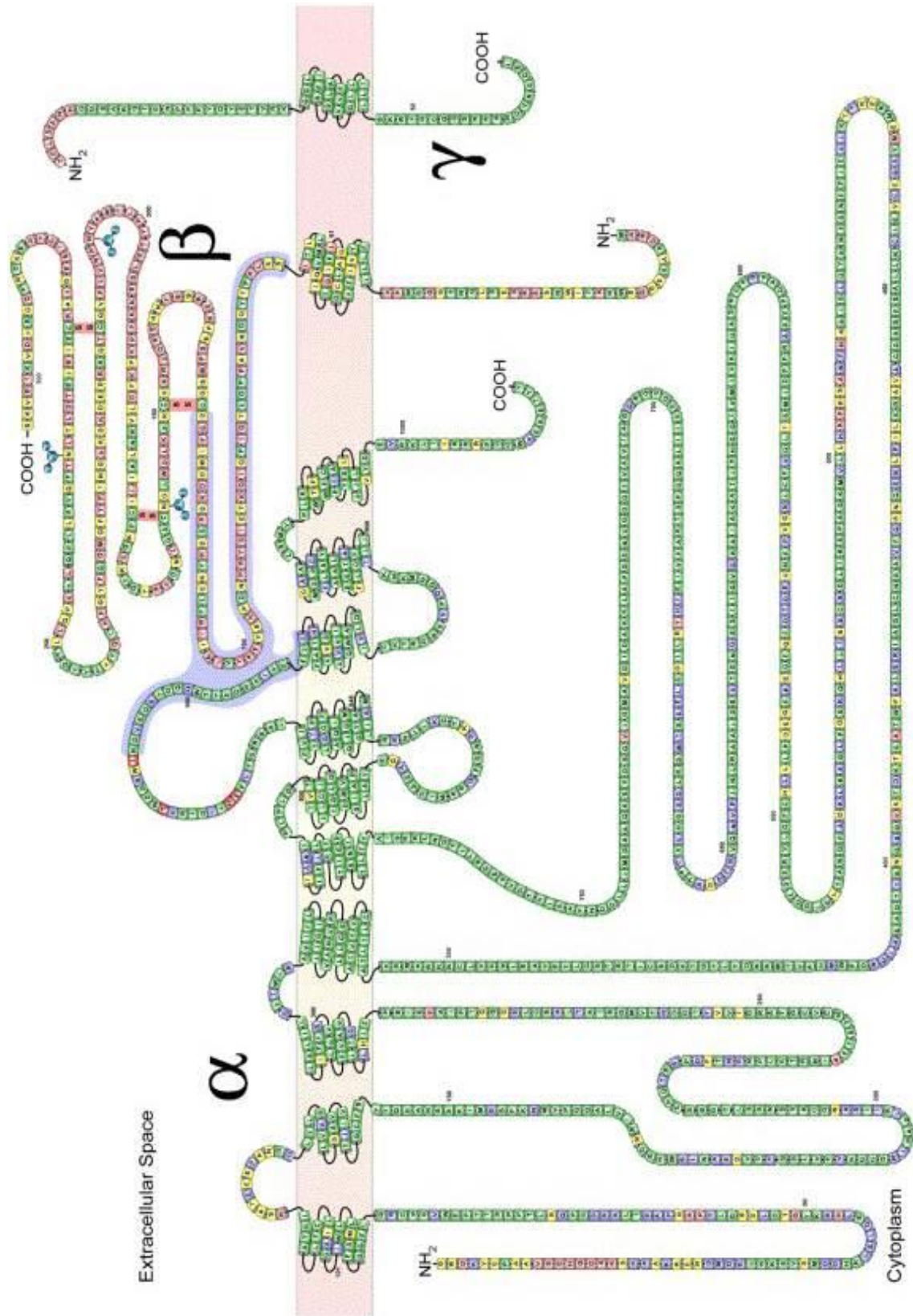
Üçüncü protein γ alt ünitesi olarak adlandırılır. Enzim preparasyonlarının saflaştırılmasında tanımlanmıştır. γ alt ünitesinin; ouabain türevlerinin fotoafinitesi ile kovalent olarak sınıflandığı gösterilinceye kadar purifikasyonun bir kontaminantı olduğu düşünülüyordu. Küçük, 8-14 kDa ağırlığında, hidrofobik bir polipeptit olduğu ifade edilmektedir. γ alt ünitesinin Na/K-ATPaz aktivitesi için gerekli olmadığını gösteren çalışmalar vardır. Ek olarak γ alt ünitesinin enzimin E1 konformasyonunu stabilize edebileceği gösterilmiştir. γ alt ünitesinin Na/K-ATPaz fonksiyonunu modifiye edebildiğine dair deliller vardır. γ alt ünitesinin Na/K-ATPaz fonksiyonundaki kesin rolünü aydınlatmak için daha ileri çalışmalara gereksinim duyulmaktadır (Reeves 1980).

Na/K-ATPaz'ın hücrede birçok esansiyel proteinle birlikte birkaç izozimi olan proteinlerden biri olduğu bilinmektedir. Gerçekten her iki α , β polipeptitlerin farklı moleküler formları farklı genlerle kodlanmıştır. Memelilerde Na/K-ATPaz 'ın ilk olarak doğrudan gösterilmesi Sweadner tarafından başarılmıştır (Sweadner 1979). Sweadner alt ünitenin iki formunu bulmuştur. Bunları renal formu (α) ve beyin formu (α^+) olarak tanımlanmıştır. Enzimin bu alışılmamış katalitik alt ünitesinin SDS-poliakrilamid jelde göçü daha yavaş ve ouabain duyarlılığı daha yüksektir. Bu öncü çalışma her iki izoformun biyokimyasal özelliklerine odaklanmış çalışmalar tarafından takip edilmiştir. Böylece α^+ ; N etilmalemidde karşılık daha yüksek bir reaktivite göstermektedir. Vitamin B türevi pyriithiamine daha yüksek bir duyarlılık ve α 'ya kıyasla tripsine karşı artmış direnç göstermektedir. Bu özellikler izoformlar arasında yapı farklılıkları olduğunu ortaya çıkarmaktadır. Daha sonra α ve α^+ 'nın NH_2 terminalinde farklılıklarının gösterilmesi izoform farklılığı için genetik temeli ortaya koymuştur. Urayama ve ark. ratlarda Na/K-

ATPaz'ları, santral sinir sistemiyle sınırlandırılmış beyin tipi ve çoğu organda bulunan böbrek tipi Na/K-ATPaz olarak iki gruba ayırmışlar. Moleküler biyolojik tekniklerin ulaştığı nokta vertebralılarda en azından 3 α polipeptidin tanımlanmasıyla sonuçlanmıştır. Şimdi bunlar α_1 , α_2 ve α_3 olarak bilinmektedir. Shamraj ve Lingnel rat testislerinde dördüncü bir α izoformunu da tanımlamışlardır. Molekül ağırlıkları doku kaynağına bağlı olarak değişmektedir. Memelilerin %98'nde α alt biriminin sayısı, 8 tane transmembran α helikal segment ve 2 tane büyük sitoplazmik domainden meydana gelmiştir. β alt birimi ise tek bir helikal transmembran ve tek bir extrasellüler domainden oluşmuştur (Urayama 1988).

Na/K-ATPaz'ın izoformları birkaç memeli türünden klonlanmıştır ve bu izoformların bütün memelilerde var olduğu ortaya konmuştur. İleri çalışmalar göstermektedir ki Na pompasının moleküler farklılığı β alt üniteye kadar uzar. Şimdilerde 3 farklı Na/K-ATPaz β izoformu tanımlanmıştır. İzoformlardan ikisi (β_1 ve β_2) kuşlarda ve memelerin farklı dokularında bulunmuştur. Halbuki, β_3 amfibianlarda, farelerde, ratlarda ve insanlarda belirlenmiştir. Na pompasının hem α hem β izoformları, ifade olarak doku-spesifik model sergilemektedir. β_1 alt üniteleri ile birleşmiş α_1 izoformları yaklaşık olarak her dokuda bulunur. İlaveten α_1 β_1 böbreklerin başlıca izozimidir. Klasik olarak Na/K-ATPaz'ın kaynağı olarak kullanılmıştır (Takeyasu 1990, Pressley 1992).

Böbreklerde diğer Na/K-ATPaz izoformlarının mevcudiyeti tartışma konusudur. α_2 ve α_3 izoformları hem RT-PCR ile hem de ouabain titrasyon analizi ile renal korteks, medulla ve papillada tesbit edilmiştir. α_1 ve β_1 'in geniş doku dağılımının aksine, diğer α ve β polipeptitlerin ekspresyonu sınırlanmıştır. Na/K-ATPaz izoformlarının ekspresyon örnekleri hem mRNA hem de protein seviyesinde en çok ratlarda ayrıntılı olarak çalışılmıştır. α_4 izoformu testise özgü bir izoformdur. α_2 izoformları adipositlerde, kaslarda, kalpte ve beyinde, α_3 izoformları ise sinir dokusunda bol olarak bulunur. Sinir sisteminde Na/K-ATPaz izoformlarının ifadesi en karışık duruma ulaşır. Nöron hücreleri tek izozim veya farklı $\alpha\beta$ heterodimer kombinasyonlarından oluşan çoklu izozimleri içermektedir. Halbuki nöronlar α_3 polipeptidin başlıca kaynağıdır. Glial hücreler tercihen α_2 'yi eksprese eder. α izoformları doku-bağlı tarzda dağılmıştır. α_2 izoformu; iskelet kaslarında, pineal bezde ve sinir dokusunda bulunur. Halbuki α_3 testislerde, retina, karaciğer ve akciğerde mevcuttur. Buna ilaveten Na/K-ATPaz izoformlarının ekspresyon örnekleri, gelişimin yanı sıra hormonal regülasyona bağlıdır ve hastalık sürecinde değişebilir (Blanco 1998).



Şekil 4. Na⁺/K⁺-ATPaz enzimi alt üniteleri (Blanco 1998).

2.3.6.1. Na⁺/K⁺-ATPaz Enziminin Aktivatörleri

Na/K-ATPaz enziminin zara bağılı bir enzim olması nedeniyle aktivitesi için fosfolipidlere ihtiyaç duyar (Kimelberg 1972). Hücresel membranların fosfolipidleri genellikle cis çifte bağılı olan en az bir tane doymamış yağ asidi taşırlar. Membran düzleminde bir fosfolipid molekülü, saniyede birkaç mikrometrelik bir hızla hareket edebilir (Murray 1996).

2.3.6.2. Na⁺/K⁺-ATPaz Enziminin İnhibitörleri

2.3.6.2.1. Digital Glikozidler

Digital glikozidler, membran Na/K-ATPaz enzimini inhibe ederek etki gösteren ajanlardır. Digital glikozidler bu etkiyi enzimin alfa alt ünitesine bağlanarak yaparlar. Na/K-ATPaz pompasını inhibe eden bu ajanlar, hücre dışına transfer edilen Na⁺ iyonunda azalmaya ve dolayısıyla intrasellüler sodyum konsantrasyonunun artmasına, potasyumun ise azalmasına neden olurlar (Clausen 1998).

2.3.6.2.2. Sülfidril Reaktifleri

Na/K-ATPaz enziminin sülfidril gruplarına etki eden maddelerle olan reaksiyonları enzim aktivitesini engeller. Değişik sülfidril reaktiflerinin çeşitli enzim aktiviteleri üzerine olan etkileri çeşitlidir. Kloropromazin, ethakrinik asit, 5,5' ditio bis (2-nitro benzoik asit (DTNB) ve N-etil maleimid (NEM) bunlardan bazılarıdır. Bu bileşikler enzimin elzem ve elzem olmayan -SH grupları ile etkileşerek enzim aktivitesini etkilerler (Bilgin 1995).

2.3.6.2.3. Oligomisin

Oligomisin mitokondriyal ATPazlar için zehirli ve dönüşümlü bir inhibitördür. Oligomisin A, B, C olmak üzere 3 türü vardır. ATP ve Na⁺ ile aktive olan Na/K-ATPaz enzimi oligomisin ile yarışmasız olarak inhibe olur. Oligomisin Na⁺ ve ATP bağılı fosforilasyon ve ADP-ATP değişimi reaksiyonlarını inhibe etmez, fakat fosfo enzimin Na⁺ ve ATP varlığında oluşan K⁺ bağılı defosforilasyonu inhibe eder (Bilgin 1995).

2.3.6.2.4. Ouabain

Na/K-ATPaz kardiyak glikozitlerle inhibe olmaktadır. Ouabain; kardiyak glikozitler içinde en önemli olanıdır. Na/K-ATPaz'a son derece hassas bir inhibitör olup, suda çok kolay çözünür. Na/K-ATPaz'ın hücre dışı yüzeyinde ouabaine spesifik bir bağlanma bölgesi mevcuttur. Ouabain bu bölgeye bağlanarak enzimin tüm fonksiyonlarını dönüşümlü olarak inhibe eder (Robinson 1979, Seiler 1985, Pauw 2000, Köksoy 2002).

Serbest radikaller, Na/K-ATPaz aktivitesi için potansiyel inhibitörlerdir. Serbest radikaller lipid peroksidasyonuna sebep olmakta; bu da Na/K-ATPaz etkinliğini olumsuz yönde etkilemektedir (Petronijevic 2003).

Biz bu çalışmamızda; bu genel bilgiler ışığında Lokal ileri evre KHDAK ve GBM tanılı hastalarda RT uygulanmasının Na/K-ATPaz enzim aktivitesi üzerine etkisinin önemini araştırılmasını amaçladık.

3. MATERYAL VE METOD

3.1. MATERYAL

Bu çalışma için N.E.Ü. Meram Tıp Fakültesi Etik Kurulu'nun 21.09.2012 tarih ve 2012/222 sayılı kararıyla onay alınmıştır. Çalışma 50-79 yaşları arasında toplam 20 KHDAK'li hasta (20 erkek), 50-79 yaşları arasında toplam 10 GBM (2 kadın, 8 erkek) ile 50-60 yaşları arasında sağlıklı 20 kontrol (10 erkek, 10 kadın) vakası üzerinde gerçekleştirildi.

Hastalar Konya ili ve çevresinde yaşayan, N.E.Ü. Meram Tıp Fakültesi Radyasyon Onkolojisi kliniğine başvuran, inoperabl KHDAK ve postopere rezidüsü bulunan GBM tanısı almış, RT'ye yeni başlanacak hastalardan seçilmiştir. Her iki hasta grubu da daha önce hiç KT ve RT almamış hastalardan seçildi.

Kontrol vakalarının sigara, ilaç kullanımı, diabet, hipertansiyon, böbrek yetmezliği ve diğer hastalık hikayeleri yoktu.

Tablo 4. KHDAK, GBM ve kontrol grubu ortalama yaş \pm standart sapma değerleri

		Mean\pmSD
YAŞ	KONTROL	56,5\pm13,7
	KHDAK	66,5\pm7,58
	GBM	62,9\pm9,74

3.1.1. Numunelerin Alınışı ve Hazırlanışı

Hasta ve kontrol gruplarındaki bireyler bilgilendirilip onayları alındıktan sonra, rutin tetkikleri için alınan tam kan numunesi çalışma için kullanılmıştır. Hastalardan RT'ye başlamadan önce ve 6 haftalık RT tamamlandıktan sonra 10cc heparinize kan örnekleri alındı. Bu örnekler 4000g'de 5 dakika santrifüj edilerek plazmaları ayrıldı. Alttaki şekilli elemanlar yıkanarak santrifüj edildi. Süpernatantları atılarak yıkama ve santrifüj işlemi üç kez tekrarlandı. Sonuçta elde edilen eritrosit membranında Na/K-ATPaz enzim aktivitesi

ölçümü yapıncaya kadar -80°C 'de saklandı. Daha sonra tüm örnekler aynı anda çözündürülerek Na/K-ATPaz enzim aktivitesi tayini yapıldı. Hasta grubunda ve kontrol grubunda eritrosit membran Na/K-ATPaz enzim aktivitesi ölçümü çalışmaları N.E.Ü. Meram Tıp Fakültesi Biyokimya AD'da yapıldı.

3.1.2. Kullanılan Cihazlar

Soğutmalı Ultra Santrifuj: Beckman Coulter Allegra X-15R

Hassas Terazı: Precisa 125 A

Vorteks: Elektro-Mag

Benmari: Nüve Bath NB 20

Manyetik Karıştırıcı: Elektro-Mag

3.1.3. Kullanılan Kimyasal Maddeler

Tris: Cat No: Sigma T-1378

HCl: Cat No: Merck 109057. 1000

NaCl: Cat No: Merck 106404. 1000

KCl: Cat No: Merck 104936. 1000

MgCl₂: Cat No: Merck 814733. 0100

NazATP: Cat No: Sigma A7699

SDS: Merck 817034. 2500

EDTA: Sigma ED2SS

Heparin: Nevparin 5000 IU/ml

3.1.4. Kullanılan Çözeltiler

0,1 N HCl çözeltisi: Bir miktar distile su üzerine 8,3 ml HCl ilave edildi ve son hacim 1 litreye tamamlandı.

0,08 M Tris çözeltisi: 10,114g Tris tartıldı, bir miktar distile suda çözüldü ve son hacim distile su ile 1 litreye tamamlandı.

Yıkama çözeltisi: Bir miktar distile su üzerine 26,56 ml 0,1 N HCl çözeltisi ilave edildi, üzerine 31,25 ml 0,08 M tris çözeltisi eklendi. 9,125g NaCl tartılıp çözeltiliye ilave edildi. Son hacim distile su ile 1 litreye tamamlandı.

10 mM pH = 7,4 tris tamponu: Bir miktar distile su üzerine 0,1 N HCl çözeltisinden 42,5 ml, 0,08 M tris çözeltisinden 50 ml eklendi. Son hacim distile su ile 800 ml'ye tamamlandı.

Medium Çözeltisi: 5,85 g NaCl, 0,372 g KCl, 0,57 g MgCl₂, 0,037 g EDTA, 0,165 g Na₂ATP tartılıp bir miktar distile suda çözüldü. Üzerine 159,41 ml 0,1 N HCl çözeltisi ve 187,54 ml 0,08 M tris çözeltisi ilave edilip karıştırıldı. Son hacim distile su ile 1litreye tamamlandı.

%10'luk SDS çözeltisi: 10 gr. SDS tartıldı, bir miktar distile suda çözüldü ve son hacim distile su ile 100 ml'ye tamamlandı.

3.2. METOD

3.2.1. Na⁺/K⁺-ATPaz Enzim Aktivitesinin Tayini

Eritrosit membran Na/K-ATPaz enzim aktivitesi ölçümü, modifiye edilmiş Kitao-Hattori metodu ile yapıldı (Kitao 1983). Eritrosit pelletinden elde edilen eritrosit membranı, Na/K-ATPaz enzim aktivitesi ölçümü yapılmaya kadar -80°C'de saklandı. Daha sonra tüm numuneler aynı anda çözülerek çalışmaya başlandı. Temiz bir deney tüpüne hazırlanan numuneden 200µlitre alınıp üzerine 800µlitre medium çözeltisi ilave edilip iyice karıştırıldı. İnkübasyon sonrası numuneye reaksiyonu durdurmak için hiç bekletilmeden 50µlitre %10'luk SDS çözeltisi ilave edildi ve iyice karıştırıldı. Elde edilen bu karışımdan Beckman Coulter Synchron LX marka otoanalizörde Beckman marka inorganik fosfor ve mikroprotein ticari kitleri kullanılarak inorganik fosfor ve mikroprotein ölçümü yapıldı. Sonuç µmolPi. mg. prt⁻¹. 10dk⁻¹ olarak hesaplandı.

3.3. İstatistiksel değerlendirme

Kontrol grubu ile KHDAK ve GBM radyoterapi öncesi ve sonrasına ait elde edilen Na/K-ATPaz enzim aktivitesi değerleri SPSS for Windows 16.0 programı kullanılarak değerlendirildi. Hasta grupları ve kontrol grubu arası Na/K-ATPaz enzim aktivitesi değerleri karşılaştırması için bağımsız *t*-testi ve tek yönlü varyans analizi (ANOVA), hasta grubunun tedavi öncesi ve sonrası Na/K-ATPaz enzim aktivitesi verileri karşılaştırması için paired *t*-testi kullanıldı. P<0,05 olması anlamlı kabul edildi.

4.BULGULAR

Bağımsız *t*-testi ile karşılaştırıldığında KHDAK tedavi öncesi Na/K-ATPaz enzim aktivitesi değerlerinin kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek olduğu bulundu ($p<0,05$). GBM tedavi öncesi Na/K-ATPaz enzim aktivitesi değerleri bağımsız *t*-testi ile karşılaştırıldığında kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek olduğu gözlemlendi ($p<0,05$). Kontrol grubu ile KHDAK ve GBM tedavi öncesi Na/K-ATPaz enzim aktivitesi değerleri için yapılan tek yönlü varyans analizinde; KHDAK ve GBM enzim aktivitesi değerleri kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulunurken ($p<0,05$), KHDAK ve GBM arasında anlamlı fark bulunamadı ($p>0,05$) (Tablo 6).

GBM tedavi sonrası Na/K-ATPaz enzim aktivitesi değerleri bağımsız *t*-testi ile karşılaştırıldığında kontrol grubuna göre anlamlı bir fark olmadığı gözlemlendi ($p>0,05$). KHDAK tedavi sonrası değerleri bağımsız *t*-testi ile karşılaştırıldığında kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulundu ($p<0,05$). Kontrol grubu ile KHDAK ve GBM tedavi sonrası Na/K-ATPaz enzim aktivitesi değerleri için yapılan tek yönlü varyans analizinde; KHDAK ve GBM enzim aktivitesi değerleri kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulunurken ($p<0,05$), KHDAK ve GBM arasında anlamlı fark bulunamadı ($p>0,05$) (Tablo 7).

KHDAK tedavi öncesi ve sonrası Na/K-ATPaz enzim aktivitesi değerleri paired *t*-testi ile karşılaştırıldığında aralarında anlamlı bir fark bulundu ($p<0,05$). GBM tedavi öncesi ve sonrası Na/K-ATPaz enzim aktivitesi değerleri paired *t*-testi ile karşılaştırıldığında aralarında anlamlı bir fark olduğu gözlemlendi ($p<0,05$) (Tablo 5).

KHDAK ve GBM'nin tedavi öncesi Na/K-ATPaz enzim aktivitesi değerleri için yapılan bağımsız *t*-testinde anlamlı bir fark bulunamadı ($p>0,05$). KHDAK ve GBM'nin tedavi sonrası Na/K-ATPaz enzim aktivitesi değerleri için yapılan bağımsız *t*-testinde anlamlı bir fark bulunamadı ($p>0,05$) (Tablo 5).

Tablo 5. Kontrol ile KHDAK ve GBM'nin radyoterapi öncesi ve sonrası Na/K-ATPaz enzim aktivitesi bulguları

Parametre		Radyoterapi Öncesi Mean±SD	Radyoterapi Sonrası Mean±SD
Na⁺/K⁺-ATPaz enzim aktivitesi ($\mu\text{molP}_i.\text{mg.prt}^{-1}.\text{10dk}^{-1}$)	KHDAK	3,61±0,48	3,12±0,47
	GBM	3,56±0,44	3,08±0,41
	KONTROL	2,54±0,23	

Tablo 6. Gruplar arası karşılaştırma

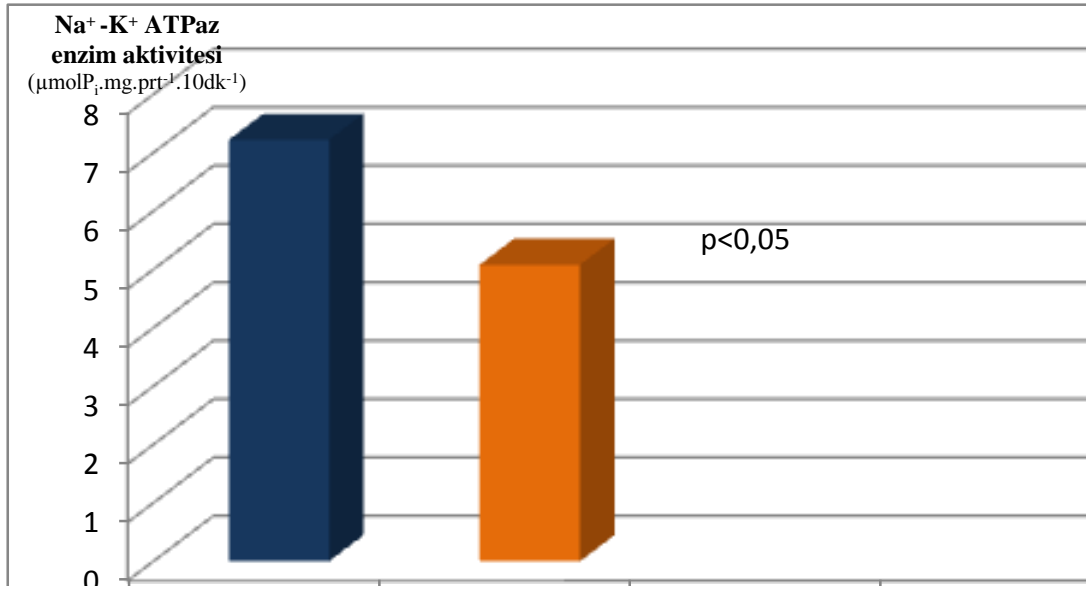
(Grup 1: KHDAK radyoterapi öncesi, Grup 2: GBM radyoterapi öncesi, Grup 3: Kontrol)

Karşılaştırılan Gruplar	Mean±SD	p
Grup 1- Grup 2	3,61±0,48 - 3,56±0,44	p>0,05
Grup 1- Grup 3	3,61±0,48 - 2,54±0,23	p<0,05
Grup 2- Grup 3	3,56±0,44 - 2,54±0,23	p<0,05

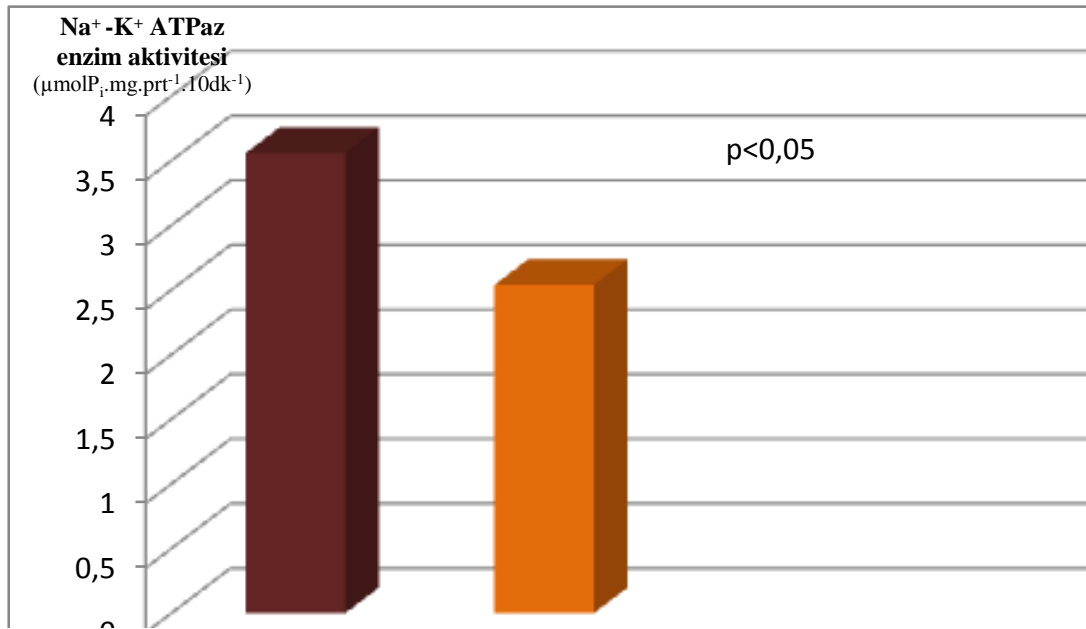
Tablo 7. Gruplar arası karşılaştırma

(Grup 1: KHDAK radyoterapi sonrası, Grup 2: GBM radyoterapi sonrası, Grup 3: Kontrol)

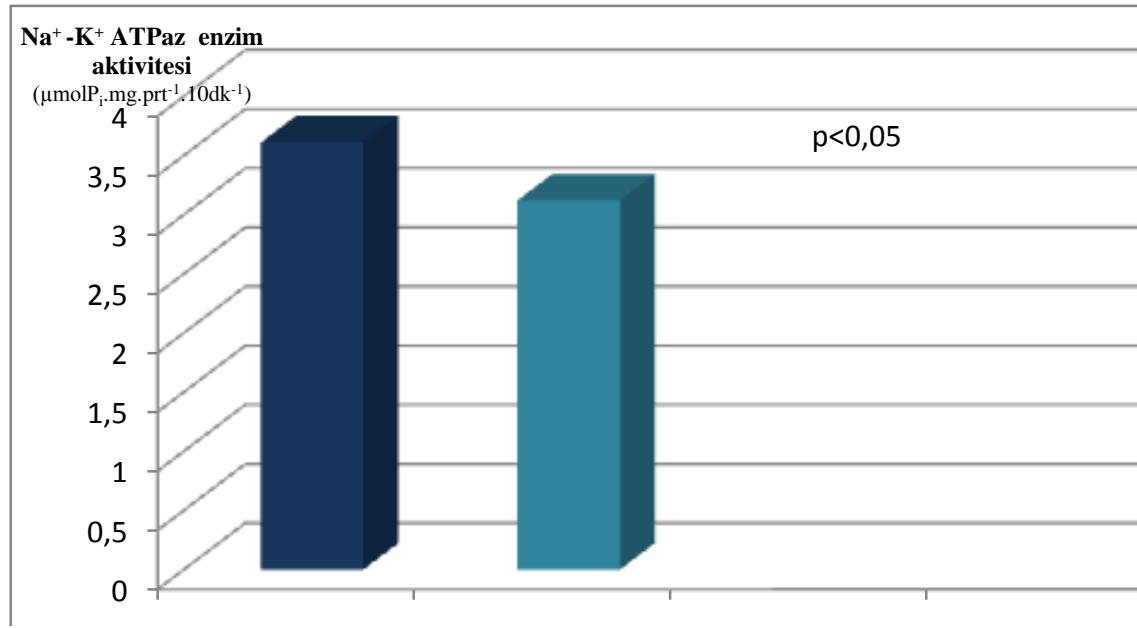
Karşılaştırılan Gruplar	Mean±SD	p
Grup 1- Grup 2	3,12±0,47 - 3,08±0,41	p>0,05
Grup 1- Grup 3	3,12±0,47 - 2,54±0,23	p<0,05
Grup 2- Grup 3	3,08±0,41 - 2,54±0,23	p<0,05



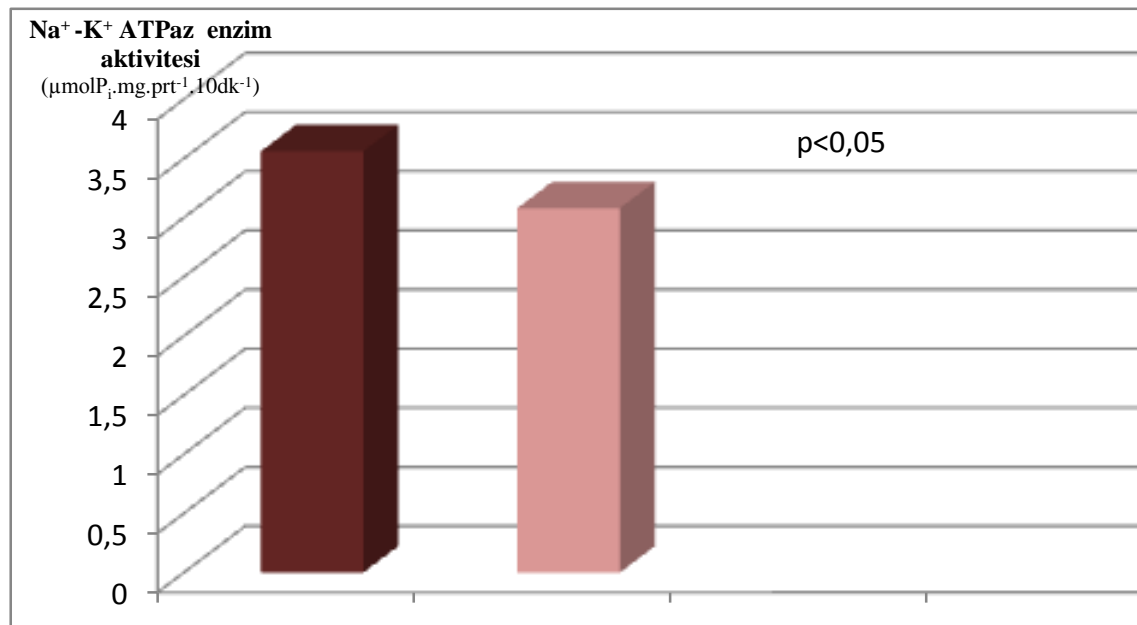
Grafik 1. KHDAK radyoterapi öncesi (Grup 1) ve kontrol (Grup 3) Na⁺/K⁺-ATPaz enzim aktivitesi değerleri (Grup 1: **3,61±0,48** / Grup 3: **2,54±0,23**).



Grafik 2. GBM radyoterapi öncesi (Grup2) ve kontrol (Grup 3) Na⁺/K⁺-ATPaz enzim aktivitesi değerleri (Grup 2: **3,56±0,44** / Grup 3: **2,54±0,23**).



Grafik 3. KHDAK radyoterapi öncesi ve sonrası Na⁺/K⁺-ATPaz enzim aktivitesi değerleri (KHDAK RT Öncesi: **3,61±0,48** / KHDAK RT Sonrası: **3,12±0,47**).



Grafik 4. GBM radyoterapi öncesi ve sonrası Na⁺/K⁺-ATPaz enzim aktivitesi değerleri (GBM RT Öncesi: **3,56±0,44** / GBM RT Sonrası: **3,08±0,41**).

5.TARTIŞMA

Adjuvan KT’de yeni moleküller kullanılmasına ve cerrahi tedaviye rağmen, KHDAK’da 5 yıllık sağ kalım %15’den daha azdır. Yeni biyolojik hedefler ve bunlarla ilişkili antikanser ajanlara acil ihtiyaç vardır. Na/K-ATPaz α_1 subunitinin yeni bir hedef olduğu ve normal akciğer dokusu ile kıyaslandığında KHDAK’de α_1 ekspresyonunun arttığı tesbit edilmiştir (Mijatovic 2007). Lenfranc ve Kiss, glioma hücreleri migrasyon ve proliferasyonunda Na/K-ATPaz taşıyıcısını araştırmayı amaçlamışlardır. Çalışmalar NaK alfa1 subunitinin normal beyin dokusunda değilde glioblastomalarda belli bir oranda arttığını göstermiştir (Lefranc 2008). Bizim çalışmamızda KHDAK ve GBM tanılı hastalarda eritrosit zarı Na/K-ATPaz enzim aktivitesi anlamlı olarak artmış bulundu. Na/K-ATPaz enzim aktivitesindeki bu anlamlı artış her iki kanserinde bu pompaya yönelik tedaviden fayda görebileceğini düşündürmektedir.

Malignansinin son evresinde kendisini gösteren malign gliomlardan glioblastomaların yönetiminde major ilerlemelere rağmen, hastalar şifa bulamamaktadır. Standart tedavi olan büyüklüğü cerrahiye uygun olanlar için rezeksiyon, takiben verilen RT’ye ilave olarak ve sonrasında verilen temozolomid’e rağmen ortalama yaşam beklentisi 14 aydır (Lenfranc 2009). Tedavide cerrahi, RT ve KT uygulanmaktadır (Choucair 1986, Shapiro 1989). Bu tedavi yöntemleri kullanılarak yaşam süresi 14 haftadan 1 yıla kadar uzatılabilmektedir. Bu nedenle son yıllarda tedaviye yönelik yeni yöntemler geliştirilmeye çalışılmaktadır. Bunların içinde en ümit verici yöntemler immünoterapi ve moleküler genetik alanında olanlardır. İmmünoterapinin amacı bazı uyarıcı faktörler yardımıyla hastada daha güçlü bir immün cevabın oluşmasını sağlamaktır. Buna yönelik LAK (lenfokin activated killer) hücreleri ve interlökin-2 kullanılmış, deneysel aşamada önemli başarılar elde edilmesine rağmen uygulamada istenilen sonuçlar henüz alınamamıştır (Kornblith 1993). Şimdiki yayın tartışmalarına göre, yüksek hücre motilitesi ve glioblastomanın büyüme ve malignansisi için karakterize olan apoptozis rezistansı, geleneksel tedavinin başarısızlığı ile ilgilidir. Temozolomid ile apoptozis rezistansının üstesinden gelmek istenmektedir. Yeni bir hedef olan Na pompası α_1 subunitinin inhibisyonu geleneksel tedavide migrasyonu önleyici olarak dikkate değer bir ek olabilir. Dentritik hücre terapisi, kanser kök hücre hedeflenmesi ve final olarak topikal tedaviler, daha fazla radikal rezeksiyon için yeni cerrahi yaklaşımlar ile multidisipliner yaklaşımlar tanımlanabilecektir. Glial tümör gelişiminin, kanserler arası etkileşimin ve mikro çevrenin, moleküler ve hücresel düzeyde anlaşılması sonucu yeni tedaviler geliştirilmiştir.

Noninvazif tanı tümör dokusunun floresan metodlarla görüntülenmesini içerir. İntraoperatif görüntüleme daha fazla tümör rezeksiyonu ve adjuvan tedaviye izin verir. Tüm bunlar bu yıkıcı lezyonlara önemli klinik sonuçlar geliştirmektedir (Lenfranc 2009).

Yaptığımız çalışmada Na/K-ATPaz enzim aktivitesinde tedavi sonrası azalmadan yola çıkarak, rutin tedavide verilen RT ve RT ile eş zamanlı olarak kullanılan kemoterapötik ilaçların (GBM'de Temozolamid, KHDAK'de Paklitaksel, Etoposid, Karboplatin) bu inhibisyona katkı sağladığı sonucuna vardık. Farklı kemoterapötik ajanlar kullanılmasına rağmen tedavi sonrası enzim aktivitesinde azalma olması özellikle RT'nin bu inhibisyona neden olduğunu düşündürmektedir.

Lenfranc ve Kiss yaptıkları çalışmada, migrasyondaki malign glioma hücrelerinin apoptozise doğal direncini, otofajik hücre ölümünün malign gliomalarla mücadelede bir alternatif olduğunu, malign glioma hücre motilitesindeki azalmanın proapoptotik ilaçlara duyarlılaştıran bir faktör olduğunu, Na/K-ATPaz aktivitesi inhibisyonunun glioma hücreleri migrasyon ve proliferasyonunu azalttığını gözlemlemişlerdir. Na/K-ATPaz pompasının doğal ligandı kardiyak steroidlerdir. Hemisentetik türev olan, yeni bir kardenolid, oxovoruskharin (UNBS 1450), benzersiz yapısal özelliklerde rol oynar, Na/K-ATPaz alfa subünitlerine (alfa1'i içeren) affinitesi diğer kardenolidlere göre 10-100 kat daha fazladır. UNBS 1450'nin glioma hücrelerinde hücre içi ATP konsantrasyonunu belirgin olarak azalttığı, aktin iskeletini dağıttığı, alfa 1'i aşırı eksprese eden glioma hücrelerinde otofajik hücre ölümünü yönettiği sonucuna varılmıştır. KT'ye cevap vermeyen ve tümörleri Na/K-ATPaz alfa1 subünitlerini aşırı eksprese eden glioblastoma hastaları Na/K-ATPaz alfa1 subünitlerine affinite gösteren ligantların kullanıldığı tedaviden fayda görebilirler (Lefranc 2008).

KHDAK ve GBM tanılı hastalarda RT'ye başlamadan önce eritrosit zarı Na/K-ATPaz aktivitesinin yüksek olduğunu gözlemlediğimiz çalışmamızda; KHDAK'de enzim aktivitesi değerleri RT ile düşmüş ancak kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. RT sonrası GBM enzim aktivitesinin kontrol seviyesinde olduğu görüldü. GBM'de bu inhibisyon yeterli düzeyde sağlanırken, KHDAK'de tedavi sonrası halen kontrol grubundan yüksek olan enzim aktivitesini düşürmek için KT ve RT'ye ek olarak bu inhibisyonu sağlayan ilaçların kullanımı araştırılmalıdır.

Kronik kardiyovasküler hastalıklarda kullanılan kardiyak glikozidler, klasik Na/K-ATPaz selektif inhibitörleridir. Antikanser özelliklerinin ilk olarak ortaya çıkması,

kardiyovasküler problemlerinden dolayı glikozid ile tedavi edilen kadınlarda meme kanseri mortalitesinin daha az olduğunun saptanması ile olmuştur. Bu gerçekler kardiyak glikozidlere bir antikanser ilaç olarak ilgi duyulmasına sebep olmuştur. Gerçekten, bazı izoformların supresyonu veya aşırı ekspresyonu gibi Na/K-ATPaz ekspresyonundaki değişiklikler tümörögenезin erken evrelerinde saptanmıştır. Monoterpen perillyl alkol (POH) gliomalarında içeren birkaç malign tümörün tedavisinde kullanılan bir ilaçtır. Garcia ve arkadaşları, POH'ın, kobay beyin ve böbrek ekstraktında ve insan glioblastoma hücre dizisinde Na/K-ATPaz'ı inhibe edici etkilerini tanımlamışlardır. Saflaştırılmış enzimle yapılan kinetik çalışmalar Na^+ ve K^+ 'a karşı nonkompetitif ve ATP'ye karşı unkompetitif inhibisyon profili göstermiştir. Dahası, bu saflaştırılmış preparatlarda potasyumun aktive ettiği *p*-nitrofenilfosfataz aktivitesi, klasik inhibitör ouabainden farklı olarak, POH ile inhibe olmamıştır. POH'ın antitümör etkisinin Na/K-ATPaz'a bağlı özellikleri ile bağlantılı olduğunu ileri sürmüşlerdir (Garcia 2010).

Mijatovic ve Roland yaptıkları çalışmada, A549 KHDAK hücrelerinde, anti α_1 siRNA ile α_1 ekspresyonunun azalması sonucunda bu kanser hücrelerinin proliferasyon ve migrasyonu bozulmakta olduğunu göstermişlerdir. Kardenolidlerden, Na/K-ATPaz'a bağlandığı bilinen UNBS 1450, KHDAK deney modellerinde anti-tümör aktivitede rol oynarken; özellikle $\alpha_1 \beta_1$ olmak üzere Na/K-ATPaz izoenzimlerinin ($\alpha_1\beta_1$, $\alpha_2\beta_1$, $\alpha_3\beta_1$) en potent inhibitörüdür. İlk üçü α_1 'i over-exprese eden (A549, Cal-12T, NCI-H727 ve A427) tüm KHDAK hücre serilerinde anti-proliferatif aktiviteye sahiptir. Na/K-ATPaz α_1 subunitinin arttığı gösterilmiş çok sayıda KHDAK klinik örneğinde, α_1 'in potansiyel terapötik hedef olabileceği, dahası α_1 'i over-exprese eden KHDAK hastalarının spesifik dizayn edilmiş kardenolidlerden fayda görebileceği ileri sürülmüştür (Mijatovic 2007).

Genel olarak akciğer kanserlerinin 5 yıllık sağ kalımı %14 düzeyindedir (Jemal 2002). Cerrahi tedavi ile başarı sağlamak için hastalığı mümkün olduğunca erken evrede yakalamak gerekir (Ginsberg 2001, Myrdal 2001). Yaklaşık olarak hastaların yarısı cerrahiye uygun olmayan evrede gelirler. Tirozin kinaz inhibitörleri ile Epidermal growth faktör reseptörleri (EGFR) bloklanması ve monoklonal antikolar terapötik potansiyel sunarlar. Yeni kemoterapötik hedefler için araştırma oldukça önemlidir. Kaveolada lokalize EGFR, Na/K-ATPaz ile yakın bir ilişki göstermektedir. Na/K-ATPaz pompası, ATP'yi hidroliz ederek Na^+ ve K^+ 'u plazma membranının karşı tarafına transport eder. Kaveola, gerçek plazma membran invajinasyonudur. Kaveolin-1, kaveolanın esansiyel yapısal komponentidir. İnsan kanserleri gelişiminde birçok sinyal molekül aktivitesini fonksiyonel

olarak düzenler. Artmış kaveolin-1 zayıf klinik sonuçlu skuamoz hücreli akciğer kanseri ile ilişkili iken kaybı pulmoner adenokarsinoma genişleme ve dediferansiyasyonu için gerekli bulunmuştur. Kaveolin-1 direk olarak EGFR ile ilişkilidir fakat Na/K-ATPaz α_1 subunitinide bağlamaktadır. Sayısız çalışmalar sonucunda Na/K-ATPaz aktivitesinin malign transformasyonlarda değiştiği rapor edilmiştir. Tümör hücrelerinde plazma membranı Na/K-ATPaz yoğunluğu değişikliği ile birlikte izoenzim ekspresyonunda değişmektedir. Gerçektende insan epitelyal kanser hücrelerinde β_1 sıklıkla down regülasyona uğrarken, α -subunitleri malign hücrelerde upregüle olmaktadır (Mijatovic 2007).

Ouabain; mitokondrial yolla kaspas aktivasyonu yaparak anoikisi başlatır. Ek olarak; ouabain ile anoikise duyarlılaştırma esas hedef olan Na/K-ATPaz pompası inhibe edilmesini ve hipoosmotik stresi içerir. Anoikise direnç kanser hücrelerinin dolaşımında kalmasını ve onların uzak organlara metastazını kolaylaştırır. Craig ve Imtiaz, Na/K-ATPaz inhibisyonunun fare modellerinde uzak tümör formasyonundaki etkilerini araştırmışlar. Bu fare modellerinde, ouabainin tümör metastazını inhibe ettiğini fakat subkutanöz tümör büyümesini değiştirmedeğini göstermişlerdir. Böylece rezistan hücreleri anoikise duyarlılaştırmak ve tümör rezistansını azaltmak için yeni bir mekanizma tanımlamışlardır. Sonuçlar kardiyak glikozid tedavisi alınmasının meme kanserli hastaların metastaz ve relapsında azalma sağlayacağını ileri sürmektedir (Craig 2009).

Epidemiyolojik çalışmalarda dijital tedavisinin, meme kanserinde de faydalı etkileri olduğu ileri sürülmüştür. Kometiani ve Liu, yaptıkları çalışmada östrojen reseptör negatif insan meme kanser hücrelerinde bu ilaçların inhibe edici etkilerini araştırmışlardır. Ouabain konsantrasyonları (100nM ve az) %25'den daha az Na/K-ATPaz pompa inhibisyonu yaparak hücre canlılığına etki etmez ama proliferasyonu inhibe eder. Ouabain Src kinazı aktive eder ve Epidermal growth faktör reseptörü ile birlikte Na/K-ATPaz ve Src'yi etkileyerek, extrasellüler sinyal-regulated kinazlar 1 ve 2 (ERK1/2)'nin aktivasyonunu destekler. Böylece P₂₁ ekspresyonu artar fakat P₅₃ azalır. ERK1/2 aktivasyonu öncülüğünde; Src/EGFR'nin Na/K-ATPaz ile aktivasyonunu indükleyen ouabainin, hücre siklus inhibitörü P₂₁ düzeylerini arttırdığını ve büyümede duraklamaya sebep olduğu ileri sürülmüştür. Dijital ilaçlarının meme kanseri tedavisinde kullanılabileceği anlaşılmıştır (Kometiani 2005).

İki gerekli alt birimden oluşan (α , β) Na/K-ATPaz, memeli hücreleri iyon homeostazı regülasyonunda kritik rol oynar. Son çalışmalarda, β_1 izoformunun sıklıkla karsinomada azaldığı ve bununla kanser progresyonu ile ilgili olaylarla ilişkili olduğu

belirtilmiştir. Inge ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada, son derece tümörojenik bir hücre dizisi olan, Moloney sarkom virüs-transforme Madin-Darby köpek böbrek hücreleri (MSV-MDCK)'nde NaK- β_1 'in, bağımsız büyümeyi inhibe ettiği ve immünkompromize farelerde tümör formasyonunu bastırdığı bir kanıt olarak sunulmuştur. Ek olarak, İn vitro hücre-hücre toplama deneyi kullanılarak, NaK- β_1 subüniti exprese eden MSV-MDCK hücrelerinin toplanması, parental MSV-MDCK hücreleri ile kıyaslandığında, ERK 1/2 aktivitesini azalttığı gösterilmiştir. İmmünohistokimya ve tamamen kantitatif analiz yaklaşımları kullanılarak, tümörlerde, fosforile ERK 1/2 ve NaK- β_1 seviyelerinin ters orantılı olduğu gösterilmiştir. Bu bulgular, ilk kez ortaya koymuşturki, NaK- β_1 'in epitel hücrelerinde, potansiyel bir tümör baskılayıcı fonksiyonu vardır (Inge 2008).

Serbest radikaller, Na/K-ATPaz aktivitesi için potansiyel inhibitörlerdir. Serbest radikaller lipid peroksidasyonuna sebep olmakta; bu da Na/K-ATPaz etkinliğini olumsuz yönde etkilemektedir (Petronijevic 2003). Çalışmamızda; KHDAK ve GBM tanıli hastalarda artmış olarak bulunan eritrosit zarı Na/K-ATPaz enzim aktivitesinin 6 haftalık RT'den sonra anlamlı olarak azaldığı gösterilmiştir. Daha fazla azalmanın faydalı olup olmayacağı araştırılmalıdır.

Oral kanserde membran hasarını göstermede eritrositler sıklıkla kullanılmaktadır. Patolojik durumlarda membrandaki değişikliğe ve temel metabolik enzim aktivitesine bağlı olarak Na/K-ATPaz aktivitesi enerji tüketiminin büyük bir kısmından sorumludur. Membran lipid peroksidasyonu membran enzim aktivitesi kaybını başlatır ve membran permeabilitesini ve hücre fonksiyonunu değiştirir. Kırmızı hücre Na/K-ATPaz aktivitesi kırmızı hücrelerde osmotik dengenin sağlanmasında önemli rolü olan, hücre içinde ve dışında normal iyonik konsantrasyonu sağlayan Na⁺ pompa hareketinde bir index olarak kabul edilir (Chitra 2011). Özellikle, pompa hücre dışında içindekinden daha yüksek Na⁺ konsantrasyonu oluşturur. İyon konsantrasyonlarındaki bu farklılık, ozmotik basıncı eşitleyerek ve suyun içeri doğru hareketini önleyerek, hücre içindeki organik moleküllerin yüksek konsantrasyonunu dengeler (Cooper 2006).

Patolojik durumlarda azalmış Na/K-ATPaz aktivitesi membrandaki değişiklikleri başlatır. Azalmış kırmızı hücre Na/K-ATPaz aktivitesi azalmış kırmızı hücre ömrü ile koreledir. Na/K-ATPaz'ın bir protein parçası oral kanser hastalarında RT sırasında serbest radikallerle modifiye edilir. Oksidatif stresin bir sonucu olarak membran kaybına neden olan bu durum, eritrosit deformasyonu ve hücre lizisi ile sonuçlanır (Chitra 2011). Diabette oksidatif stresin eritrosit membranında lipid peroksidasyonuna sebep olduğu ve zar lipid

içeriğinde değişimlere yol açtığı, eritrosit membranında ortaya çıkan tüm bu değişiklikler sonucunda da eritrositlerde Na/K-ATPaz enzim aktivitesinde ve membran akışkanlığında azalma olduğu ileri sürülmüştür (Rabbini 1997).

Deneysel ve klinik araştırmalar oksidan stresin radyokontrast nefropatide (RCN) kritik bir belirleyici olduğunu ve N-asetil sistein (NAC)'in bu hasarı önleyebileceğini ileri sürmektedir. Zager ve arkadaşları yaptıkları çalışma ile bu sorunu direk olarak tübüler hücre düzeyinde ele almışlar ve RCN'nin potansiyel alternatif mekanizmasını da araştırmışlardır. İzole edilen fare proximal tübül segment (PTS) veya kültür proksimal tübül (HK-2) hücreleri, hücresel canlılığın değerlendirilmesini takiben, radyokontrast ortama (RCM) maruz bırakılmıştır. Bu deneyler çeşitli antioksidanların (NAC, GSH, süperoksit dismutaz, katalaz) veya oksidanların (hem oksijenaz inhibisyonu, GSH tüketimi) varlığında ve yokluğunda yürütülmüştür. Mitokondri ve plazma membran bütünlüğüne RCM etkisi de değerlendirilmiştir. RCM'ye maruziyet PTS'de lipid peroksidasyonuna sebep olmamaktadır. Ne antioksidanlara ne de oksidanlara maruziyet RCM'nin neden olduğu tübüler hücre hasarını ne hafifletmekte nede alevlendirmektedir. RCM mitokondri bütünlüğünü bozmaktadır. Na/K-ATPaz, kaveolin gibi anahtar rezistan proteinlerin kaybı ve fosfolipaz A₂'ye hassasiyetin artması RCM'nin plazma membran hasarına da sebep olduğunu göstermektedir. Hiperosmolarite RCM'nin toksik etkilerini açıklayamamaktadır. RCM toksisitesi tübüler hücre oksidan stresinden ayrı tutulabilir. Dolayısıyla bulgular RCM'nin neden olduğu böbrek hasarını NAC'ın önleyemeyeceğini göstermiştir (Zagar 2003).

Chitra ve Shyamaladevi, oral kanser hastalarında yaptıkları çalışmada, eritrosit membran adenozin trifosfat'a karşı radyasyon hasarına α -Tokoferol'ün etkilerini araştırmış, RT (Her biri 6 haftalık periyotlardan oluşan 6000 cGY dozlu 5 fraksiyonda) öncesi, sonrası ve α -Tokoferol(tüm RT periyodunca günlük 400IU) eklendikten sonra adenozin trifosfat aktivitesini oral kanser hastalarında analiz etmişlerdir. Na/K-ATPaz, Ca²⁺ ATPaz, Mg²⁺ ATPaz gibi membran enzimleri ve bazı eser elementler oral kanser hastalarında RT öncesi ve sonrası değişmektedir. α -Tokoferol'ün eklenmesi, oral kanser hastalarında radyasyondan zarar görmüş eritrosit membranını korumaktadır. Na/K-ATPaz, Ca²⁺ ATPaz aktivitelerinin, Mg²⁺ ATPaz ve total ATPaz'ın oral kanser ve radyasyon tedavisi almış hastalarda önemli oranda azaldığını, α -Tokoferol eklenmiş grupta değişiklik olmadığını göstermişlerdir. Na ve Mg düzeylerinin oral kanser hastalarında azaldığı,

halbuki normal sağlıklı bireylerle kıyaslandığında radyasyon tedavisi almış oral kanser hastalarında, potasyum ve kalsiyum düzeylerinin arttığı ileri sürülmüştür (Chitra 2011).

Kültür korneal endotel hücrelerinde, insülin Na/K-ATPaz aktivitesini artırır. Bu etkiler Protein Kinaz C, Protein Fosfat 1 ve 2A inhibitörleri ile bloke edilir. Hatou ve Yamada, insülinin kültür korneal endotel hücrelerinde Na/K-ATPaz aktivitesi ve pompa fonksiyonunu arttırdığını ileri sürmektedir. Western blot analizi ile insülinin inaktif Na/K-ATPaz α_1 subunitinin oranını azalttığı ayırt edilmiş, immünohistokimyasal olarak, Na/K-ATPaz α_1 subunitinin hücre yüzey ekspresyonunu arttırdığı ayırt edilmiştir (Hatou 2010).

Son kanıtlar taurin ve miyoinozitolün, lens ve retinal pigment epitelini içeren bir dizi hücrede organik osmolit olarak hizmet verdiğini ileri sürmektedir fakat hipertonic strese cevap olarak artmış birikim mekanizmaları bilinmemektedir. Yokoyama ve arkadaşları; hipertonic ortama maruz bırakılmış hücrelerde taurin ve miyoinozitol artışına Na/K-ATPaz'ın katkısı olup olmadığını değerlendirmek için, bu maddelerin transportuna karıştığı bilinen Na/K-ATPaz aktivitesini insan lens ve retinal pigment epitel kültürlerinde ölçmüşlerdir. İnsan lens epitel (HLE) ve insan retinal pigment epitel hücreleri (HRPE) kültürleri değişik sürelerle izotonik ve hipertonic ortamda muhafaza edilmiştir. Taurin, miyoinozitol düzeyleri ve Na/K-ATPaz aktivitesi iki farklı durumda kültüre edilmiş hücrelerde ölçülmüştür. Transport enziminin iki maddenin birikimine olan ilgisi de enzimi ouabain ile inhibe ederek incelenmiştir. HRPE hücrelerinde her iki hipertonic ortamda da artmış miyoinozitol düzeyleri artışı taurine göre daha dramatiktir. Her iki hücre tipinde osmolitlerin artışına eşlik eden, Na/K-ATPaz aktivitesi artışı vardır. 24 saat ouabaine maruz bırakılmış HRPE hücrelerinde, hipertonic ortamda, Na/K-ATPaz inhibisyonuyla direkt korele olan taurin ve miyoinozitol azalmış birikimi olduğunu gözlemlenmiştir. Hipertonic strese yanıtta Na/K-ATPaz aktivitesi artışı kesin mekanizması bilinmemesine rağmen, HLE ve HRPE hipertonic hücre kültürlerinde, enzimin artmış aktivitesinin organik osmolit, taurin ve miyoinozitol artmış birikimi ile ilişkili olduğunu göstermişlerdir (Yokoyama 1993).

Kanser en yaygın çalışılan çağımızın hastalığı olmaya devam etmektedir. Yinede malign transformasyonların hücrel ve moleküler patolojisi tam olarak anlaşılammıştır. Malign tümörlerin patolojik ve patofizyolojik olarak sınıflandırılması, malign büyümeledeki kriterlerin belirlenmesi için ne olursa olsun tümörlerin doku kökenleri bilinmelidir. Bu amaca yönelik olarak büyümeyi kontrol eden genlerdeki (onkogenler ve tümör supresör genler) düzensizlik nedeniyle oluşan tümör gelişiminin tanımlanması

onkolojinin anlaşılmasını sağlamıştır. Bununla birlikte, sınırsız hücre bölünmesi kanser özelliklerini tek başına tanımlayamaz. Replikatif yaşlanma eğer aşılamıyorsa hiçbir tümörün büyümesinin sınırlandırılmayacağı anlaşılmıştır. Yaşlanma sürecinde fonksiyon kaybı ya da en önemlisi telomeraz olan tümör supresör genlerdeki abartılı aktivasyon yüzünden malign hücrelerde bu kontrol mekanizması yoktur. Belirli reseptörlerin ligandlarının ve salgılanan proteinlerin abartılı ekspresyonu metastaza sebep olur. İnvazyon için eksprese edilen bu genler tümörün orijin aldığı dokuya göre metastazlarda organ tercihini belirler (Weber 2007).

Hücrel yaşlanma, yaşlılık ve uzun ömürlülükle ilişkili bir biyolojik süreçtir. Sağlıklı yaşlanmanın farklı çevresel streslerle başa çıkma yeteneğiyle ilgili olduğuna inanılmaktadır. Laura ve Cinzia farklı yaşlardaki, belirli monozigotik ikizlerdeki trombosit membran modifikasyonlarını incelendiğinde, hücrel yaşlanmanın, genetik ve çevresel faktörlerden etkilenmiş olabileceğini ileri sürmüşlerdir. Çalışma farklı yaşlardaki 81 monozigotik ikiz çifti üzerinde şekillenmiştir. İkizlerin trombosit membranları göstermiştir ki; bazal lipid peroksit düzeyleri ve membran akışkanlığı yaşlı objelerle kıyaslandığında azalırken, genç grupta değerlendirildiğinde Na/K-ATPaz aktivitesi ve sialik asit içeriğinin benzer olduğu, sağlıklı yaşlanmada önemli rollerinin olduğu ileri sürülmüştür. Yaşlı objelerde trombosit membranlarında derin yapısal ve fonksiyonel değişiklikler olduğu ve bu değişikliklerin oksidatif hasarda koruyucu bir rolü olabileceği sonucuna varmışlardır. İkiz çiftinde de biyokimyasal parametrelerde istatistiksel değişiklik olmaması; yaşla ilişkili membran değişikliklerinde, çevresel faktörlerin (diyet, yaşam tarzı) genetik bileşenden daha az etkili olduğunu göstermiştir. Böylece sağlıklı yaşlanmanın temelinde genetik faktörlerin önemli rol oynadığı anlaşılmıştır (Laura 2005).

Çeşitli çalışmalarda eritrosit membranında Na/K-ATPaz aktivitesi ile peroneal ve tibial sinirlerde kondüsyon hızı arasında korelasyon gözlenmiştir. Cinsiyet ve etnik orjine göre de enzim aktivitesinde varyasyonlar tespit edilmiştir. Na/K-ATPaz aktivitesi; erkeklerde kadınlardan, siyahlarda beyazlardan, Asyalılarda İskandinavyalılardan, Yahudi toplumunda beyaz ırktan daha düşük bulunmuştur. Yahudi toplumu şiddetli ve erken nöropatiye eğilimlidir. Na/K-ATPaz 'ın kontrol edilme mekanizmaları aracılığıyla diabetik nöropatiye genetik bir yatkınlık söz konusudur (Racah 1996).

Hücreler sinyal transdüksiyonuna katılan geniş bir Na/K-ATPaz havuzu içermektedir. Li ve arkadaşları, Na/K-ATPaz'ın α_1 ifadesinin diğer bazı insan kanser dizilerinde olduğu gibi insan prostat karsinomunda anlamlı bir şekilde azaldığını

göstermişlerdir. Bu down regülasyon, Na/K-ATPaz'ın src ilişkili sinyal basamaklarını düzenleme yeteneğini bozmaktadır. Na/K-ATPaz'dan türetilen bir peptid olan pNaKtide'nin tedaviye eklenmesi, src aktivitesini azaltmaktadır. Bu tedavinin apoptozisi uyaracağını ve insan kanser hücrelerindeki büyümeyi inhibe edeceğini ileri sürmüşlerdir. α_1 Na/K-ATPaz'ı taklit eden peptidlerin prostat kanser hücrelerinde apoptozisi azaltmada etkili olduklarını ilk kez rapor etmişlerdir. Na/K-ATPaz aracılı sinyal transdüksiyonundaki defektin yeni antikanser tedavisi geliştirmede hedeflenebileceğini ileri sürmüşlerdir (Li 2011).

Epitelyal-mezenkimal geçiş (EMT), doku tamirine katılan ve tümör invazyonunun patolojik aşamasında ortaya çıkan önemli gelişimsel süreçtir. EMT'ye yol açan mekanizma tam olarak anlaşılamamıştır. EMT'nin indüksiyonunda transforming büyüme faktörü β (TGF- β)'nin santral rol oynadığı belgelenmiş iken, TGF- β sinyali hedefleri tanımlanamamıştır. Rajasekaran ve arkadaşları, Na/K-ATPaz β_1 subuniti düzeylerinin farklılaşmamış böbrek karsinomu kültüründe ve hastaların tümör örneklerinde azaldığını göstermişlerdir. TGF- β_1 ile tedavinin ardından yüzey Na/K-ATPaz β_1 subuniti ifadesi azalmıştır. Çalışmada TGF- β_1 'in indüklediği EMT'nin artmış Na^+ düzeyleri ile ilişkili olduğu ilk kez rapor edilmiştir. TGF- β_1 ile tedavi edilen hücrelerin kontrol grubuna göre daha büyük olduğu gözlemlenmiştir. Na/K-ATPaz'ın böbrek epitel hücrelerinde TGF- β_1 aracılı EMT'de yeni bir hedef olduğu, bunda kanser ve fibroziste EMT'nin ilerlemesiyle ilişkili olduğu kanıtlanmıştır (Rajasekaran 2010).

Sonuç olarak bu çalışmada, KHDAK ve GBM tanılı hastalarda eritrosit zarı Na/K-ATPaz enzim aktivitesindeki anlamlı artış gösterilmiş, tedavisinde büyük zorluklar yaşanan bu iki kanser türünde artmış olan Na/K-ATPaz enzim aktivitesine RT'nin olumlu etkileri kanıtlanmıştır. Bu sonuçlar; RT ile değişiklik gösteren Na/K-ATPaz enzim aktivitesinin prognostik bir belirteç olarak kullanılabileceğini ve Na/K-ATPaz enzim aktivitesi artmış KHDAK ve GBM tanılı hastalarda, Na/K-ATPaz'a yönelik tedavinin hastaya büyük katkı sağlayacağını ortaya koymuştur.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

1. Çalışma 20 KHDAK, 10 GBM tanılı hasta ile sağlıklı 20 kontrol vakası üzerinde gerçekleştirildi.

2. Hasta grubu İnoperabl KHDAK ve postopere rezidüsü bulunan GBM tanısı almış, RT'ye yeni başlanacak hastalardan seçilmiştir. Heriki hasta grubunda daha önce hiç KT ve RT almamış hastalardan oluşturuldu.

3. Hastalardan RT'ye başlamadan önce ve RT tamamlandıktan sonra alınan kanlarda ve kontrol grubunda eritrosit membranı Na/K-ATPaz enzim aktivitesi ölçümü çalışmaları yapıldı.

4. KHDAK ve GBM tanılı hastalarda, RT öncesi eritrosit membranı Na/K-ATPaz enzim aktivitesi anlamlı olarak artmış bulundu.

5. KHDAK'de enzim aktivitesi değerleri RT ile düşmüş ancak kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. RT sonrası GBM enzim aktivitesinin kontrol seviyesinde olduğu görüldü. GBM'de bu inhibisyon yeterli düzeyde sağlanırken, KHDAK'da tedavi sonrası halen kontrol grubundan yüksek olan enzim aktivitesini düşürmek için KT ve RT'ye ek olarak bu inhibisyonu sağlayan ilaçların kullanımı araştırılmalıdır.

6. Na/K-ATPaz enzim aktivitesinde tedavi sonrası azalmadan yola çıkarak, rutin tedavide verilen RT ve RT ile eş zamanlı olarak kullanılan KT ilaçlarının bu inhibisyona katkı sağladığı sonucuna vardık. RT ile birlikte farklı KT ajanları kullanılmasına rağmen tedavi sonrası enzim aktivitesinde azalma olması özellikle RT'nin bu inhibisyonda büyük rolü olduğunu düşündürmektedir.

7. Bu sonuçlar; RT ile değişiklik gösteren Na/K-ATPaz enzim aktivitesinin prognostik bir belirteç olarak kullanılabilceğini ve Na/K-ATPaz enzim aktivitesi artmış KHDAK ve GBM tanılı hastalarda, Na/K-ATPaz'a yönelik tedavinin hastaya büyük fayda sağlayacağını ortaya koymuştur.

8. Literatür taramasında RT ve RT ile eş zamanlı kullanılan rutin KT ajanlarının Na/K-ATPaz enzimi ile ilişkisini gösteren bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bulgularımız KT ve RT'nin Na/K-ATPaz enzim aktivitesi üzerine etkilerini ilk kez ortaya koymuştur.

9. Diğer kanser türlerini de içeren, daha fazla sayıda hasta grubunda doku Na/K-ATPaz enzim aktivitesi ölçümü yapılmasının faydalı olacağını düşünmekteyiz.

7. KAYNAKLAR

- Ackermann U, Geering K: Mutual dependence of Na,K-ATPase alpha-and beta-subunits for correct posttranslational processing and intracellular transport. FEBS Lett, 1990;269:105-8.
- Agre P, Parker JC. 1989. Red blood cell membranes. Marcel dekker inc., New York. p. 687.
- Akmansu M, Erpolat P. Küçük Hücre Dışı Akciğer Kanserinde Radyoterapi. Özlü T, Metintaş M, Karadağ M, Kaya A. Solunum sistemi ve hastalıkları (1.baskı). İstanbul medikal yayıncılık 2010;7:1457-70.
- Azoli CG, Baker S, Temin S.American Society of Clinical Oncology clinical practice guideline update on chemotherapy for stage IV non-small-cell lung cancer. J Clin Oncol 2009;27:6251-66.
- Barker FG 2nd, Chang SM, Gutin PH, Malec MK, McDermott MW, Prados MD, Wilson CB. Survival and functional status after resection of recurrent glioblastoma multiforme. Neurosurgery. 1998;42(4):709-20.
- Beckles MA, Spiro SG, Colice GL, Rudd RM. Initial evaluation of the patient with lung cancer. Chest 2003;123:97-104.
- Beguın P, Hasler U, Staub O, et al: Endoplasmic reticulum quality control of oligomeric membrane proteins: topogenic determinants involved in the degradation of the unassembled Na,K-ATPase alpha subunit and in its stabilization by beta subunit assembly. Mol Biol Cell, 2000;11:1657-72.
- Bigner DD. Biology of gliomas: potential clinical implications of glioma cellular heterogeneity. Neurosurgery. 1981;9(3):320-6.
- Bilgin R. Glukozun Eritrosit Zarlarında Bulunan Na⁺-K⁺ ATPaz ve Ca⁺⁺ ATPaz Enzim Aktivitelerine Etkisinin İn Vitro ve İn Vivo Koşullarda Araştırılması. Adana: Çukurova Üniversitesi; 1995. 100p.
- Blanco G, DeTomaso AW, Koster J, Xie ZJ, Mercer RW. The a-subunit of the Na K-ATPase has catalytic activity independent of the β-subunit. J Biol Chem. 1994;269:23420-23425.
- Blanco G, Mercer RW. Isozymes of the Na-K-ATPase: heterogeneity in structure, diversity in function. Am J Physiol. 1998;275:633-650.
- Brumen M, Heinrich R, Herrmann A, et al: Mathematical modelling of lipid transbilayer movement in the human erythrocyte plasma membrane. Eur Biophys J, 1993;22:213-23.
- Burtis CA, Ashwood ER. Tietz Textbook of Clinical Chemistry. Third Edition Philadelphia: Saunders Company, 1999. p. 1058.
- Casciato DA, Territo MC: Klinik onkoloji el kitabı. Wolters kluwer business lippincott williams&wilkins, 6.baskı. 2012. p. 336-37.

- Chitra S, Shyamaladevi CS. Modulatory action of α -Tocopherol on erythrocyte membrane adenosine triphosphatase against radiation damage in oral cancer, *J Membrane Biol.* 2011;240(2):83-8.
- Choi YD, Han CW, Kim JH, et al. Effectiveness of sputum cytology using ThinPrep method for evaluation of lung cancer. *Diagn Cytopathol* 2008;36:167-71.
- Choucair K A, Levin VA: Development of multiple lesions during radiation therapy and chemotherapy in patients with gliomas. *J Neurosurg.* 1986;65:654-658.
- Chow DC, Forte JG. Functional significance of the β -subunit for heterodimeric P-type ATPases, *J Exp Biol.* 1995;198:1-17.
- Clausen T. Clinical and therapeutic significance of the $\text{Na}^+ \text{K}^+$ pump. *Clinical Science.* 1998. p. 95:3-17.
- Compton C. C. et al. *AJCC Cancer Staging Atlas: A Companion to the Seventh Editions of the AJCC Cancer Staging Manual and Handbook.* 7th ed. New York; 2012.
- Cooper G, Hausman, RE: *The Cell A Molecular Approach* (ed 3). Washington, ASM Press, 2004.
- Cooper GM, Hausman RE, *Hücre moleküler yaklaşım* , İzmir Tıp Kitabevi, 3.baskı, 2006. p. 496-505.
- Craig D.S, Imtiaz A.M, Anyiwe K. Inhibition of the sodium potassium adenosine triphosphatase pump sensitizes cancer cells to anoikis and prevents distant tumor formation, *Published Online First March 17, 2009;69(7): 2739-47.*
- Dağlar C. Diabetes Mellituslu Hastalarda Hastalık Süresinin Eritrosit Membranı Na^+/K^+ ATPaz Enzim Aktivitesi, MDA, DHEA(S), Glukoz ve Lipidler Üzerine Etkisi. Uzmanlık Tez Çalışması 2000.
- Deangelis L.M: Tumors of the central nervous system and Intrakranial hypertension and hypotension, *Golman's Cecil Medicine.* 2012. p. 1246-50.
- Dillman RO, Herndon J, Seagren SL, Eaton WL Jr, Green MR. Improved survival in stage III non-small-cell lung cancer: seven-year follow-up of cancer and leukemia group B (CALGB) 8433 trial. *J Natl Cancer Inst* 1996; 88: 1210-5.
- Doucet A: Function and control of Na^+/K^+ ATPase in single nephron segments of the mammalian kidney. *Kidney Int,* 1988;34:749-60.
- Durmaz R, Erken S, Arslantas A, Atasoy MA, Bai C, Tel E. Management of glioblastoma multiforme: with special reference to recurrence. *Clin Neurol Neurosurg.* 1997;99(2):17-23.
- Garcia DG, Amorim LMF, de Castro Faria MV, Freire AS, Santelli RE, Da Fonseca CO. The anticancer drug perillyl alcohol is a Na^+/K^+ -ATPase inhibitor. *Mol Cell Biochem.* 2010;345(1-2):29-34.

- Geering K, Beggah A, Good P, et al: Oligomerization and maturation of Na,K-ATPase: functional interaction of the cytoplasmic NH₂ terminus of the beta subunit with the alpha subunit. *J Cell Biol.* 1996;133:1193-204.
- Geering K: Biosynthesis, membrane insertion and maturation of Na, K-ATPase. *Prog Clin Biol Res*, 1988;268B:19-33.
- Gerathy PR, Kee ST, McFarlane G, et al. CT – guided transthoracic needle aspiration biopsy of pulmonary nodules: needle size and pneumothorax rate. *Radiology* 2003;229:475-81.
- Gerosa MA, Rosenblum ML, Stevanoni G, Tommasi M, Delia Corte V, Licata C, Bricolo A, Tridente G. Age-related chemosensitivity of stem cells from human malignant brain tumours. *Lancet.* 1982;17;1(8277):885-7.
- Ginsberg RJ, Rubinstein L. For the Lung Cancer Study Group. Randomized trial of lobectomy versus limited resection for patients with T1N0 nonsmall cell lung cancer. *Ann. Thorac Surg.* 1995;60:615-623.
- Goldstraw P, Crowley J, Chansky K, Giroux DJ, Groome PA, Rami-Porta R. The IASLC Lung Cancer Staging Project: Proposals for the Revision of the TNM Stage Groupings in the Forthcoming (Seventh) Edition of the TNM Classification of malignant tumours. *J Thorac Oncol.* 2007;2(8):603-612.
- Gonzales MF, Classification and pathogenesis of brain tumors, Chapter: 3, pp:41-45, Andrew H. Kaye, Edward R. Laws JR, Brain Tumors, An Encyclopedic approach, Churchill Livingstone second edition, 2001.
- Göksel T, Akkoçlu A. Turkish Thoracic Society, Lung and Pleura Malignancies Study Group. Pattern of lung cancer in Turkey 1994-1998. *Respiration* 2002;69: 207-10.
- Göksel T, Tedavi Kararı ve Prognoz. Özlü T, Metintaş M, Karadağ M, Kaya A. Solunum sistemi ve hastalıkları (1.baskı). İstanbul medikal yayıncılık 2010;7:1423-29.
- Gözükara EM. Biyokimya. Cilt 1 İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri 2001;45-46.
- Guyotat J, Signorelli F, Frappaz D, Madarassy G, Ricci AC, Bret P. Is reoperation for recurrence of glioblastoma justified? *Oncol Rep.* 2000;7(4):899-904.
- Hatipoğlu A, Bozer Y. Toraks cerrahisi. Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi 2007;486-88.
- Hatou S, Yamada M, Akune Y, Mochizuki H, Shiraishi A, Joko T, Nishida T, Tsubota K. Role of insulin in regulation of Na⁺ -K⁺ dependent ATPase activity and pump function in corneal endothelial cells. *Invest Ophthalmol Vis Science*, 2010; 51(8):3935-42.
- Herfarth KK, Gutwein S, Debus J. Postoperative radiotherapy of astrocytomas. *Semin Surg Oncol.* 2001;20(1):13-23.
- Inge L.J, Rajasekaran S.A, Yoshimoto K, Mischel P.S, McBride W, Landow E. Evidence for a potential tumor suppressor role for Na,K-ATPase β 1-subunit. *Histol Histopathol.* 2008;23(4):459-67.

- Ishikawa M, Kikuchi H, Miyatake S, Oda Y, Yonekura Y, Nishizawa S. Glucose consumption in recurrent gliomas. *Neurosurgery*. 1993;33(1):28-33.
- Jemal A, Thomas A, Murray T. Cancer statistics 2002. *CA Cancer J Clin*. 2002;52:23-45.
- Kimelberg HK, Papahadjopoulos D. *Biocim. Biophys. Acta*. 1972;282:277-292.
- Kitao T, Hattori K. İnhibition of erythrocyte ATPase activity by aclacynomycin and reverse effect of ascorbate on ATPase activity. *Experientia*. 1983;39:362-364.
- Koksoy AA. 2002. Na⁺ K⁺ ATPase: A review. *Journal of Ankara Medical School*, 24(2):73-82.
- Komaki R, Cox JD, Hartz AJ, et al. Characteristics of long-term survivors after treatment for inoperable carcinoma of the lung. *Am J Clin Oncol*. 1985; 8:362-370.
- Kometiani P, Liu L, Askari A. Digitalis-induced signaling by Na⁺/K⁺-ATPase in human breast cancer cells. *Mol Pharmacol*, 2005; 67(3):929-36.
- Kornblith PK, Welch WC: The Future of Therapy for Glioblastoma. *Surg. Neurol* 39:538-43, 1993.
- Kumar V, Cotran RS, Robbins SL; *Temel Patoloji, (Çev.Edt: Çevikbaş U), 7.baskı, Nobel Tıp Kitabevleri*. 2003. p. 832-33.
- Kurt B. Küçük Hücreli Dışı Akciğer Kanserinde Klinik Özellikler. Özlü T, Metintaş M, Karadağ M, Kaya A. *Solunum sistemi ve hastalıkları (1.baskı). İstanbul medikal yayıncılık* 2010;7:1387-96.
- Laura N, Cinzia M, Arianna V, Patrizia V, Claudio F, Laura M. Age-related changes on platelet membrane: a study on elderly and centenarian monozygotic twins. *Experimental Gerontology* 40/16. 2005;519-525.
- Lefranc F, Kiss R. The Sodium Pump α_1 Subunit as a Potential Target to Combat Apoptosis Resistant Glioblastomas, *Neoplasia*. 2008;10,198-206.
- Lenfranc F. Editorial: on the road to multi-modal and pluri-disciplinary treatment of glioblastomas. *Acta Neurochir*. 2009;151:109-112.
- Li Z, Zhang Z, Xie JX, Li X, Tian J, Cai T. Na/K-ATPase mimetic pNaKtide peptide inhibits the growth of human cancer cells. *J Biol Chem*. 2011;286(37):32394-403.
- Lichtenberg FV: *Robins pathologic basis of disease*. W.B. Saunders company 4 eds, pp. 1989. p. 282-286.
- Lindsay KW, Bone I: *Nöroloji ve Nöroşirürji, nobel tıp kitabevi, 3.baskı.*, 1997. p. 306-309.
- Lingrel JB, Kuntzweiler T. Na⁺,K⁺-ATPase. *J Biol Chem*. 1994;269:19659-19662.
- Marchesi VT: The cytoskeletal system of red blood cells. *Hosp Pract (Off Ed)*, 1985. p. 20:113-8.

- McDonough AA, Geering K, Farley RA. The sodium pump needs its β subunit, *Faseb J*. 1990;4:1598-1605.
- Mercer RW. Structure of the Na^+, K^+ -ATPase. *Int Rev Cytol*. 1993;137:139-168.
- Mijatovic T, Roland I, Van Quaquebeke E, Nilsson B, Mathieu A, Van Vynckt F. The α_1 subunit of the sodium pump could represent a novel target to combat non-small cell lung cancers. *Journal of Pathology*. 2007;212:170-179.
- Mornex F, Nayel H, Taillandier L. Radiation therapy for malignant astrocytomas in adults. *Radiother Oncol*. 1993;27(3):181-92.
- Murray R, Granner DK, Mayes, PA, Rodwell VW: Harper's Biochemistry (ed 26), McGraw-Hill Companies, 2003.
- Murray RK, Granner DK, Mayes RA, Rodwell VW. Fizyolojik öneme sahip lipidler. Dikmen N, Özgünen T. Harper'ın Biyokimyası, Yirmi dördüncü baskı, Barış Kitabevi, İstanbul. 1996. p. 913.
- Myrdal G, Gustafsson G, Lambe M. Outcome after lung cancer surgery. Factors predicting early mortality and major morbidity. *European Journal of cardio-thoracic surgery*. 2001;20:694-699.
- Myrdal G, Lambe M, Hillerdal G, et al. Effect of delays on prognosis in patients with non-small cell lung cancer. *Thorax* 2004;59:45-9.
- Nelson DL, Cox MM. Lehninger Principles of Biochemistry. Çeviri: Kılıç N. Lehninger Biyokimyanın İlkeleri, 5. Baskı, Ankara, Palme Yayıncılık; 2013.
- Nodish H, Berk A, Kaiser CA. Moleküler Hücre Biyolojisi, Palme Yayıncılık, 6. Baskı, 2011. p. 437-53.
- Ohno Y, Hatabu H, Takenaka D, et al. CT- guided transthoracic needle aspiration biopsy of small (<20mm) solitary pulmonary nodules. *AJR Am J Roentgenol* 2003;180:1665-9.
- Onat T, Emerk K, Sözmen EY. 1. Baskı. İnsan Biyokimyası. Ankara: Palme Yayıncılık 2002. p. 642-647.
- Patrick G, Gallagher MD. Update on the clinical spectrum and genetics of red blood cell membrane disorders. *Current hematology reports*. 2004;3:85-91.
- Pauw PG, Kaffer CR, Petersen RJ, Semerad SA, Williams DC. Inhibition of myogenesis by ouabain: effect on protein synthesis. *In Vitro Cellular & Developmental Biology - Animal*. 2000;36(2):133-138.
- Pedemonte CH, Kaplan JH. Chemical modification as an approach to elucidation of sodium pump structure-function relations. *Am J Physiol*. 1990;258:1-23.
- Petronijevic ND, Micić DV, Duricic B, Marinkovic D, Paumovic VR. Substrate kinetics of erythrocyte membrane $\text{Na}^+ \text{K}^+$ ATPase and lipid peroxides in schizophraina. *Progress in Neuro-Psychopharmacology&Biological Psychiatry*, 2003;27:431-440.

- Pressley TA. Phylogenetic conservation of isoform-specific regions within alpha-subunit of Na⁺-K⁺ ATPase. *Am J Physiol.* 1992; 262:743-751.
- Pressley TA. Structure and function of the Na,K pump: ten years of molecular biology. *Miner Electrolyte Metab.* 1996;22:264-271.
- Rabbini RA, Petruzzi E, Staffolani R, Tesei M, Fumelli P, Pazzagli M. Diabetes mellitus and subjects ageing: a study on the ATP content and ATP-related enzyme activity in human erythrocyte. *Eur J Clin Invest.* 1997;27:327-332.
- Racah D, Dadaun F, Coste C, Vague P. Decreased Na/K ATPase ouabain binding sites in red blood cells of patients with insulin-dependent diabetes and healthy north African control subjects: relationship with diabetic neuropathy, *Horm Metab Res,* 1996;28;3,128-32.
- Rajasekaran SA, Huynh TP, Wolle DG, Espineda CE, Inge LJ, Skay A. Na, K-ATPase subunits as markers for epithelial-mesenchymal transition in cancer and fibrosis. *Mol Cancer Ther.* 2010;9(6):1515-24.
- Reeves AS, Collins JH, Schwartz A. Isolation and characterization of (Na K)-ATPase proteolipid. *Biochem Biophys Res Commun.* 1980;95:1591-1598.
- Rivera MP, Mehta AC. Initial diagnosis of lung cancer: ACCP evidence – based clinical practice guidelines (2nd edition). *Chest* 2007;132:131-48.
- Robinson JD, Flashner MS. The Na⁺ K⁺ ATPase, Enzymatic and Transport Properties. *Biochem. Biophys. Acta,* 1979;549:145-176.
- Robinson LA, Wagner H, Ruckdeschel JC. Treatment of stage IIIA non-small cell lung cancer. *Chest,* 2003;123:202S-220S.
- Rodriguez HJ, Hogan WC, Hellman RN, et al: Mechanism of activation of renal Na⁺-K⁺ ATPase in the rat: effects of potassium loading. *Am J Physiol,* 1980;238:315-23.
- Rosa UW, Prolla JC, Gastal ES. Cytology in diagnosis of cancer affecting the lung: result in 1,000 consecutive patients. *Chest* 1973;63- 203-7.
- Sadava DE. *Cell Biology: Organelle structure and function.* Jones and Bartlett Publishers, London, 1993. p. 698.
- Salcman M. Glioblastoma multiforme and anaplastic astrocytoma Chp:26 pp: 495 Andrew H. Kaye, Edward R. Laws JR, *Brain Tumors, An Encyclopedic approach,* Churchill Livingstone second edition, 2001.
- Salcman M. Glioblastoma multiforme. *Am J Med Sci.* 1980; 279(2):84-94.
- Samson DJ, Seidenfield J, Simon GR, et al. Evidence for management of small cell lung. ACCP evidenced-based clinical practice guidelines (2 nd edition). *Chest* 2007;132:314-23.

- Saunders MI, Dische S, Barrett A, Parmar MK, Harvey A, Gibson D. Randomised multicentre trials of CHART vs conventional radiotherapy in head and neck and non-small-cell lung cancer: an interim report. CHART Steering Committee. *Br J Cancer* 1996;73: 1455-62.
- Schiller JH, Harrington D, Belani CP et al. Comparison of four chemotherapy regimens for advanced non-small-cell lung cancer. *New Engl J Med* 2002;346:92-8.
- Seiler N, Bolkenius FN, Knödgen B. The influence of catabolic reactions on polyamine excretion. *Biochem J.* 1985;225: 219-226.
- Shapiro WR: Randomized trial of three chemotherapy regimens and two radiotherapy regimens in postoperative treatment of malignant glioma. *J Neurosurg.* 1989;71:1-9.
- Shull MM, Pugh DG, Lingrel JB. The human Na/K-ATPase alpha 1 gene: characterization of the 5'-flanking region and identification of a restriction fragment length polymorphism. *Genomic*, 1990;6;451-460.
- Sikorski AF, Lorenz BH, Jezierski A, Dłuzewski AR. Interaction of membrane skeletal proteins with membrane lipid domain. *Acta Biochimica Polonica*, 2000;47:565-578.
- Simpson FG, Arnold AG, Purvis A, et al. Postal survey of bronchoscopic practice by physicians in the United Kingdom. *Thorax* 1986;41:311-7.
- Socienski MA, Crowell R, Hensing TE et al. Treatment of nonsmall cell lung cancer stage IV: ACCP evidenced-based clinical practice guidelines (2nd edition). *Chest* 2007;132:277-89.
- Spiro SG, Gould MK, Colice GL. Initial evaluation of the patient with lung cancer: symptoms, signs, laboratory tests, and paraneoplastic syndromes: ACCP evidenced-based clinical practice guidelines (2nd edition). *Chest* 2007;132:149-60.
- Sweadner KJ. Two molecular forms of (Na⁺ + K⁺)-stimulated ATPase in brain. Separation, and difference in affinity for strophanthidin. *J Biol Chem.* 1979; 254: 6060-6067.
- Takeyasu K, Lemas V, Fambrough DM. Stability of Na⁺-K⁺-ATPase alpha-subunit isoforms in evolution. *Am J Physiol.* 1990;259:619-630.
- Tobias J. *Cancer and its Management*, 2010. p. 173-96.
- Topcu C. Manyetik alanların MDA, GSH seviyeleri ve Na-K ATP'az enzim aktivitesi üzerine etkileri. Yüksek Lisans Tezi. Konya, 2001.
- Urayama O, Sweadner KJ. Ouabain sensitivity of the alpha 3 isozyme of rat Na,K-ATPase. *Biochem Biophys Res Commun.* 1988;156:796-800.
- Vague P, Dufayet D, Coste T, Moriscot C, Jannot F, Raccach D. Association of diabetic neuropathy with Na/K-ATPase gene polymorphism. *Diabetologia* 1997;40:506-511.

- Walker MD, Green SB, Byar DP, Alexander E Jr, Batzdorf U, Brooks WH, et al. Randomized comparisons of radiotherapy and nitrosoureas for the treatment of malignant glioma after surgery. *N Engl J Med.* 1980;303(23):1323-9.
- Weber F.G. *Molecular Mechanisms of cancer.* University of Cincinnati Academic Health Center, Springer. 2007:1-3.
- Yenerel MN. Herediter eritrosit membran anomalileri. *Hematoloji,* 2004;2:125-130.
- Yıldırım A, Bardakçı F, Karataş M, Tanyolaç B, *Moleküler Biyoloji,* 1.basım, Nobel yayınevi, 2007. p. 372-73.
- Yokoyama T, Lin LR, Chakrapani B, Reddy VN. Hypertonic stress increases NaK ATPase, taurine, and myoinositol in human lens and retinal pigment epithelial cultures. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 1993;34(7):2352-9.
- Zager RA, Johnson AC, Hanson SY. Radiographic contrast media-induced tubular injury: evaluation of oxidant stress and plasma membrane integrity. *Kidney Int.* 2003;64: 128-39.