



**T.C.
ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ÜROLOJİ ANABİLİM DALI**

**DİYABETİK VE NORMAL HASTALARDA MESANE
KANSERİ DOKUSUNDA AGE (ADVANCED END
GLYCATION PRODUCT) EKSPRESYONU'NUN
GÖSTERİLMESİ VE AGE AKÜMÜLASYONU İLE ER
(ENDOPLAZMİK RETİKULUM) STRESİNİN MESANE
KANSERİ İLE İLİŞKİSİ**

Dr. Kadir KARKİN

UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANI

Prof. Dr. Mustafa Zühtü TANSUĞ

ADANA - 2019



**T.C.
ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ÜROLOJİ ANABİLİM DALI**

**DİYABETİK VE NORMAL HASTALARDA MESANE
KANSERİ DOKUSUNDA AGE (ADVANCED END
GLYCATION PRODUCT) EKSPRESYONU'NUN
GÖSTERİLMESİ VE AGE AKÜMÜLASYONU İLE ER
(ENDOPLAZMİK RETİKULUM) STRESİNİN MESANE
KANSERİ İLE İLİŞKİSİ**

Dr. Kadir KARKİN

UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANI

Prof. Dr. Mustafa Zühtü TANSUĞ

**Bu tez, Çukurova Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri fonu tarafından
TTU-2016-7124 no'lu proje olarak desteklenmiştir.**

ADANA - 2019

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim süresince bilgi ve deneyimlerini esirgemeyen saygıdeğer hocalarım; Prof. Dr. Uğur ERKEN, Prof. Dr. Şaban DORAN, Prof. Dr. Nihat SATAR, Prof. Dr. Yıldırım BAYAZIT, Prof. Dr. İ. Atilla ARIDOĞAN'a, Prof. Dr. Erkan DEMİR, Doç. Dr. Volkan İZOL'a, Dr. Öğr. Üyesi Mutlu DEĞER'e, tez danışmanım sayın Prof. Dr. M. Zühtü Tansuğ'a, bulguların analizi ve istatistiksel değerlendirilmesindeki yardımları için Farmakoloji Anabilim Dalı'ndan Dr. Mahir KAPLAN'a, araştırma görevlisi arkadaşlarıma, saygıdeğer bölüm hemşirelerimize ve bölüm çalışanlarına, tüm ameliyathane ve poliklinik ekibine, desteğini her zaman hissettiğim ve moral kaynağım aileme teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	I
İÇİNDEKİLER	II
TABLolar LİSTESİ	IV
ŞEKİLLER LİSTESİ	V
KISALTMALAR	VI
ÖZET	IX
ABSTRACT.....	X
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Mesanenin Anatomisi ve Histolojisi	3
2.2. Mesane Kanseri	7
2.2.1. Epidemiyoloji ve İnsidans	7
2.2.2. Etiyoloji	8
2.2.3. Moleküler Biyoloji ve Patogenez	11
2.2.3.1 Onkogenler.....	14
2.2.3.2 Tümör Baskılayıcı Genler.....	17
2.2.3.3. Kanserin İlerlemesi	19
2.2.3.4. Kromozom 9’da Meydana Gelen Değişiklikler.....	19
2.2.3.5. Mikrosatellit Kararsızlığı	20
2.2.3.6. Epigenetik Faktörler	20
2.2.3.7. Anjiogenez Gelişimi	21
2.2.3.8. Hücre Dışı Matriks ve Hücre Adezyon Molekülleri.....	22
2.2.3.9. Mesane Kanseri ve Polimorfizm.....	23
2.2.3.10. Karsinojen Metabolize Edici Genler ve Polimorfizm.....	24
2.2.3.11. DNA Onarımı ve Polimorfizm	25
2.2.3.12. Hücre Döngüsü ve Polimorfizm	26
2.2.3.13. İnflamasyonla İlişkili Genler ve Polimorfizm	26
2.2.3.14. Apoptotik Genler ve Polimorfizm	26
2.3. Diyabet ve Kanser	27

2.4. Age (Advanced and Glycation Product)	37
2.5. Endoplazmik Retikulum Stresi	47
3. MATERYAL ve METOD	62
3.1. ELISA deneyleri.....	62
3.2. Homojenizasyon.....	62
3.3. Protein Miktar Tayini	62
3.4. ELİSA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay) Testi	63
3.4.1. ELİSA ERK protein Miktar Tayini	63
3.4.2. ELİSA IRE1 protein miktar tayini	63
3.4.3. ELİSA Endotelyal ATF6 protein Miktar Tayini	64
3.4.4. ELİSA Endotelyal AGE Miktar Tayini	64
3.5. Sonuçların Değerlendirilmesi.....	64
4. BULGULAR.....	65
5. TARTIŞMA.....	69
6. SONUÇ	74
KAYNAKLAR	75
ÖZGEÇMİŞ	89

TABLÖLAR LİSTESİ

Tablo No:

Sayfa No:

Tablo 1. İnvaziv mesane tümöründe ($\geq T2$) bulunan genetik değişiklikler	16
Tablo 2. Diyabet&Cinsiyet&Kanser	28
Tablo 3. Diyabet ve kanser riski	28
Tablo 4. Erken, ara ve ileri glikasyon son ürünlerinin ölçüm yöntemleri	43

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil No:

Sayfa No:

Şekil 1. Erkeklerde mesanenin anatomik pozisyonu	3
Şekil 2. Kadınlarda mesanenin anatomik pozisyonu	4
Şekil 3. Mesane kanseri patogenezi	14
Şekil 3. İnsülin sinyal ağı.....	30
Şekil 4. İnsülin direnci-hiperinsülinemi-mitogenetik etki	30
Şekil 6. Proteinlerin glikasyonu ve AGE oluşumu	38
Şekil 7. Karbonil bileşikler ve AGE'nin oluşum mekanizmaları.....	39
Şekil 8. AGE-RAGE etkileşimi ve NF-κB aktivasyonu sonucu oluşan değişiklikler	41
Şekil 9. Endoplazmik retikulumun 3 boyutlu yapısı	47
Şekil 10. ER stres cevapları.....	49
Şekil 11. GRP 78 şaperon aktivasyonu.....	50
Şekil 12. UPR tepki cevapları.	52
Şekil 13. PERK sinyal yolağı.....	53
Şekil 14. ATF6 sinyal yolu.....	54
Şekil 15. IRE1 sinyal yolu.....	55
Şekil 16. Endoplazmik retikulum stresıyla aktive olan apoptotik mekanizmalar	56
Şekil 17. Kaspaz aktivasyonu sinyal yolakları.....	58
Şekil 18. BCL-2 protein ailesi tarafından apoptozis mekanizması.	59
Şekil 19. Kanserde ER stres yanıtın şematik gösterimi	61
Şekil 20. Non-diyabetik ve diyabetik hastaların AGE ekspresyonları	66
Şekil 21. Non-diyabetik ve Diyabetik hastaların ATF6 ekspresyonları	67
Şekil 22. Non-diyabetik ve Diyabetik hastaların IRE1 ekspresyonları	67
Şekil 23. Non-diyabetik ve Diyabetik hastaların PERK ekspresyonları	68

KISALTMALAR

AGE	: Advanced end Glycation Product
ErbB	: Epidermal Growth Factor Receptor
HER2	: Human epidermal growth factor receptor
EGF	: Epidermal Growth Factor
H-ras	: Harvey Rat Sarkoma Onkogeni
C-myc	: Cellular-Myelocytomatosis
Max	: Myc-associated factor X
Mad	: Max dimerization protein
Bcl-2	: B-cell CLL/lymphoma 2
Bax	: Bcl2 associated protein X)
Bak	: Bcl2 homologous antagonist/killer
Bid	: Bcl2 interacting domain death agonist
Bim	: Bcl2 interacting mediator of cell death
Rb	: Retinoblastoma Geni
VEGF	: Vasküler endotelyal büyüme faktörü
Cdk2	: Cyclin dependent kinase 2
INK4A	: İnhibitör kinaz 4A
ARF	: Alternate reading frame
FGF1	: Asidik fibroblast büyüme faktörü
FGF2	: Fibroblast büyüme faktörü
AMF	: Otokrin hareketlilik faktörü
COX-2	: Siklooksijenaz-2
CA IX	: Karbonik anhidraz
MMP	: Matriks metalloproteinler
HapMap	: Haplotype Map
NAT2	: N-asetil transferaz2
GST	: Glutat yon S-transferaz
NADPH	: Nikotinamid adenin dinükleotid fosfat
NQO1	: Kuinin oksiredüktaz1

EPHX1	: Epoxide hydrolase-1
MPO	: Miyeloperosidaz
SULT	: Sulfotransferazlar
UGT	: UDP-glukoronosiltransferazlar
COMT	: Katekol-o-metiltransferaz
MnSOD	: Manganaz süperoksit dismutaz
GPX1	: Glutation peroksidaz 1
DM	: Diabetes mellitus
IR	: İnsülin reseptörü
IGF 1	: İnsülin-benzeri büyüme faktörü-1
PI3K	: Fosfoinozitol 2 kinaz
mTOR	: Mammalian target of rapamycin
NSAİ	: Non-steroid anti-inflamatuar
HCC	: Hepatosellüler karsinoma
ESRD	: Son dönem böbrek yetmezliği
RAGE	: Receptor for advanced glycation endproducts
sRAGE	: Solubl RAGE
DNAGE	: Dominant negatif RAGE
MAPKs	: Mitojen ile aktive edilen protein kinaz
HbA1c	: Glikozile hemoglobin
TNF-α	: Tümör nekroz faktör- α
HPLC	: Yüksek basınçlı sıvı kromatografisi high performance
GC/MS	: Gaz kromatografi/kütle spektrometri
ER	: Endoplazmik retikulum
ASK1	: Apoptoz sinyal kinaz 1
ATF6	: Aktive edici transkripsiyon faktörü
ARE	: Antioksidan cevap elementi
BCL2	: B hücreli lenfoma 2
bZIP	: Lösün fermuar
eIF	: Ökaryotik başlama faktörü
ERAD	: ER ilişkili protein yıkımı
GRP	: Glikoz regülatör protein

IRE1	:	İnozitol gerektiren kinaz 1
JNK	:	c-Jun N-terminal protein kinaz
NRF2	:	Nükleer faktör eritroid türevi 2
PDI	:	Disülfid izomeraz
PERK	:	Protein kinaz RNA benzeri ER kinaz
PKR	:	Protein kinaz RNA
TNF	:	Tümör nekrozis faktör
TRAF2	:	TNF-reseptör ilişkili faktör 2
UDP	:	Uridin difosfat
UGGT	:	UDP-glukoz glikoprotein glikotransferaz
UPR	:	Katlanmamış protein cevabı
XBP1	:	X-kutu bağlama protein 1

ÖZET

Diyabetik ve Normal Hastalarda Mesane Kanseri Dokusunda AGE (Advanced end glycation product) Ekspresyonu'nun Gösterilmesi ve AGE Akümülayonu ile ER (Endoplazmik Retikulum) Stresinin Mesane Kanseri ile İlişkisi

Amaç: Çalışmamızda, diyabetik ve diyabetik olmayan mesane kanserli hastalardan alınan transüretal rezeksiyon (TUR M) materyalinde AGE ekspresyonu ve akümülayonu ile ER stresinin ilişkisinin gösterilmesi amaçlandı.

Materyal ve Metod: Çukurova üniversitesi tıp fakültesi üroloji A.B.D'na başvuran ve mesane kanseri şüphesiyle patolojiye göndermek için biyopsi yapılan hastaların doku örnekleri alınıp -80°C de dondurulup ELISA deneylerinde kullanılmak üzere saklanmıştır. Doku örnekleri alınan hastaların patoloji sonucuna göre kanserli olanlar diyabetli ve normal olarak 2 gruba ayrılmıştır ve ELISA deneylerinde kullanılmak üzere homojenize edilmiştir.

Patolojik materyalde 2 grupta ELISA yöntemiyle ortalama AGE, IRE1, PERK, ATF6 ekspresyon miktarlarına bakılıp gruplar arasındaki farklılık tespit edilmeye çalışıldı.

Bulgular: Kliniğimizde, Mayıs 2016 ve Eylül 2018 tarihleri arasında mesane kanseri nedeniyle takip edilip transüretal mesane rezeksiyonu (TURB) yapılan 17 hasta çalışmamıza dahil edildi. Ortalama yaşları $69,2 \pm 9,41$ (52-82) yıl olan 17 hastadan 9 (%53)'ü diyabetik 8 (%47)'i non-diyabetik idi. Diyabetik ve normal mesane kanserli hasta grubunda 4 ekspresyon miktarları student t testi ile değerlendirildiğinde istatistiksel olarak anlamlı fark izlenmedi ($p=0,05 \leq$).

Tartışma: Diyabet kanser ilişkisi, AGE birikimi ve ER stresinin kanser mekanizmasındaki rolü birçok çalışmada gösterilmiştir. Mesane kanseri gelişiminde de rolleri vardır.

Anahtar kelimeler: Mesane kanseri, Diyabet, AGE, ER

ABSTRACT

Expression Of Advanced End Glycation Product in Diabetic And Non-Diabetic Patients Bladder Cancer Tissues And Relation Between Bladder Cancer And Advanced End Glycation Product And Endosplamic Reticulum Stress

Objective: In our study, aim of this study was to investigate the relationship between ER stress and expression in diabetic and non-diabetic bladder cancer tissues expression of AGE in transurethral resection (TUR M) material Materials and Methods: Tissue samples were taken from the patients who were admitted to Çukurova University Medical Faculty Urology Department and sent to pathology for suspicion of bladder cancer. Tissue samples were taken and frozen at -80 ° C and stored for use in ELISA experiments. According to the pathology results of patients who received tissue samples, those with cancer were divided into 2 groups with diabetes and normally homogenized for use in ELISA experiments.

In the pathological material, the mean AGE, IRE1, PERK and ATF6 expression levels were determined by ELISA method in two groups.

Results: 17 patients who underwent transurethral bladder resection (TURB) between May 2016 and September 2018 for bladder cancer were included in our study. Of 17 patients with a mean age of 69.2 ± 9.41 (52-82) years, 9 (53%) were diabetic and 8 (47%) were non-diabetic.

There were no statistically significant differences between the groups in the diabetic and normal bladder carcinoma patients ($p < 0.05$).

Discussion: Diabetes cancer relationship, AGE accumulation and ER stress cancer the role in the mechanism has been shown in many studies. They also have a role in the development of bladder cancer.

Key words: Mesane cancer, AGE, ER Stress, diabetes mellitus

1. GİRİŞ

Mesane kanseri olgularının yaklaşık %90-95'i değişici epitel hücreli kanserdir.¹ Dünyada en sık görülen 9. kanserdir ve kanserden dolayı ölümlerin ise 13. en sık sebebidir. Amerika'da 2016 yılında 76,960 hasta yeni MK tanısı alırken, 16,390 hastada MK'ne bağlı ölüm öngörölmüştür.² Hastalık, erkek cinsiyette yaklaşık 3.5 kat (3.2/0.9) daha fazla görölmektedir. Türkiye Sağlık Bakanlığı verilerine göre MK prostat ve akciğer kanserinden sonra erkeklerde en sık görölen 3. kanserdir.³ Mesane kanseri tedavi boyunca bilinen en pahalı maliyete sahiptir ve Türk sağlık ekonomisi üzerinde önemli bir yüke sahiptir.⁴

Mesane kanseri etyolojisi ve risk faktörleri üzerine çok sayıda araştırma vardır. Patogeneizde tümör baskılayıcı genler ve onkogenler, önemli rol oynamakla birlikte; çeşitli metabolizma enzimlerinin polimorfizmlerinin mesane kanseriyle ilişkisini ortaya koyan birçok araştırma yapılmıştır. Normal ürotelyal hücrenin malign hücreye dönüşümü ve sonrasında metastazı, içerisinde birçok farklı genin, proteinin ve diğer moleküllerin etkileşiminin rol oynadığı yolların yer aldığı kompleks bir mekanizmadır.⁵

Diyabet ile kanser arasındaki ilişkiye dair ilk bulgu 1934'te DM'lu hastalarda pankreas kanseri sıklığının DM'u olmayan bireylere kıyasla daha yüksek olduğunun fark edilmesi ile elde edilmiştir. Sonrasında çeşitli klinik ve epidemiyolojik araştırmalarda DM'li bireylerde çeşitli solid ve hematolojik malinitelerin riskinde artış tespit edilmiştir.

Risk artışı pankreas, karaciğer ve endometrium kanserinde en yüksek olmakla birlikte kolorektal kanser, meme kanseri, jinekolojik kanserler, böbrek ve mesane tümörleri sıklığı da DM'li bireylerde daha yüksek bulunmuştur. Diğer kanser türlerinde de olduğu gibi hiperinsülinemi ve diyabetik hastalarda sık görölen üriner infeksiyonlar mesane kanseri riskinin artışından sorumlu tutulan mekanizmalardır. Diyabetli bireylerde mesane kanseri riski %35 daha yüksek bulunmuşur.⁶

Diyabetik hastalarda protein ve lipitlerin nonenzimatik glikozilasyonu sonucu oluşan AGE (Advanced end Glycation Product)'ler diyabetik vaskülopati ve retinopati oluşumunda temel rol oynamaktadırlar.⁷ Ayrıca yapılmış çalışmalarda AGE'lerin

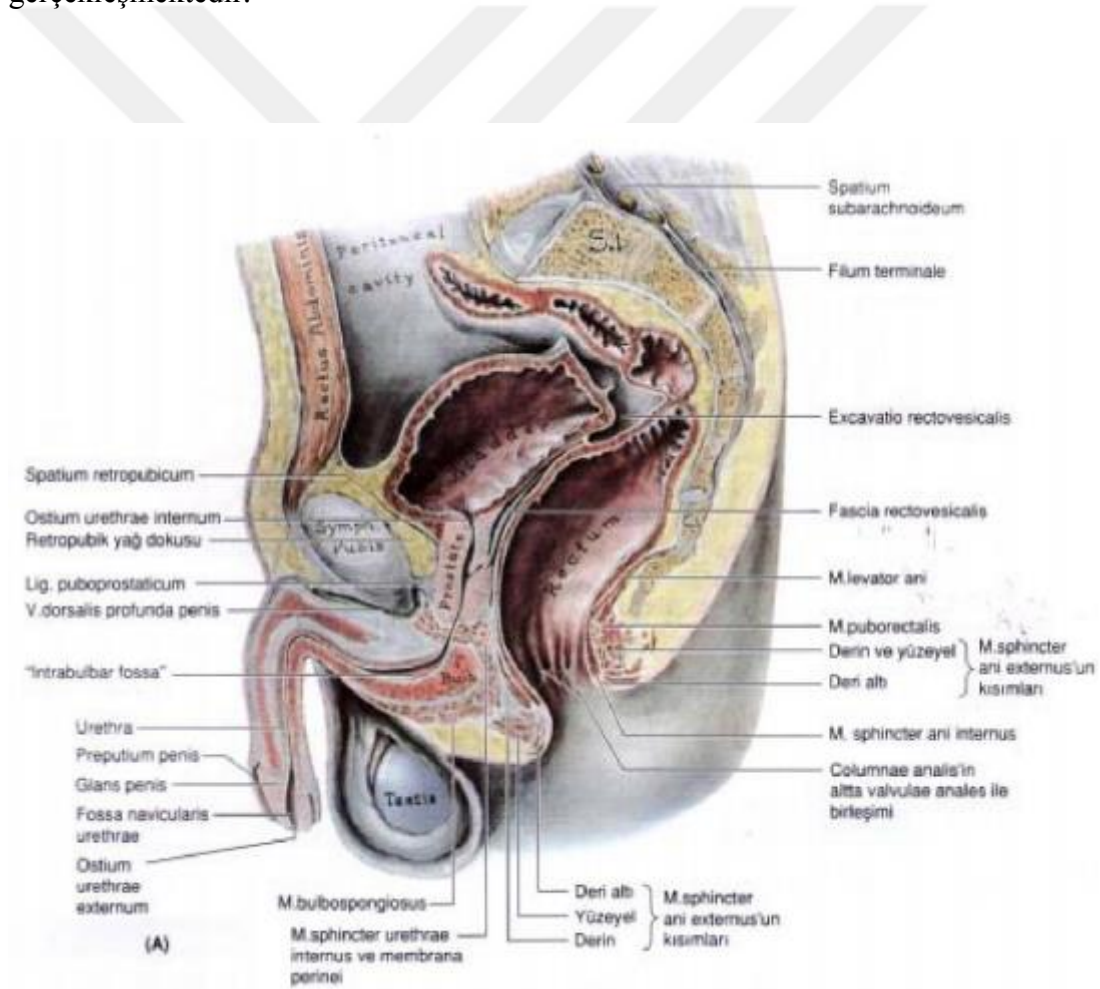
Alzheimer ve kanser oluşumunda rolleri de dikkati çekmektedir.^{8,9} AGE'lerin reseptöre bağlanması (RAGE (Receptor for Advanced Glycation Endproducts)) sonucu aktive olan proinflamatuvar kaskad sonucu transkripsiyon faktörü nuclear factor-kappa B (NF- κ B) artışı görülmektedir.¹⁰ Özellikle RAGE aktivasyonu sonucu oluşan apoptozis nedeni ile diyabetik retinopati (retinal perisitler), keratopati ve nefropati (podosit ve mezengial hücre), mikrovasküler komplikasyonlar (endotelial hücre), osteopenia (kemik stromal hücreleri) gelişimi görülmektedir. Endoplazmik Retikulum (ER) ökaryotik hücrelerde protein sentezinden sorumlu organel olması ile birlikte intrasellüler Ca balansını da sağlamaktadır. Hücre içi oluşan çeşitli antioksidan radikaller sonucu meydana gelen ER stresi katlanmamış ya da yanlış katlanmamış proteinler oluşmaktadır. Özellikle diyabetik hastalarda daha fazla oluşan AGE ekspresyonu sonucu ER stresinin arttığı tartışılmaktadır. Ayrıca endotelial hücrelerde meydana gelen ER stresi sonucu diyabetik mikrovasküler komplikasyonların görüldüğü düşünülmektedir. Hem AGE akümüasyonu hem de ER stresi birlikte diyabetle birlikte hepatosteatoz, ateroskleroz ve iskemi fizyopatolojisinde rol oynamaktadır. Özetle AGE birikimi ve buna gelişen ER stresi sonucu meydana gelen hücre apoptozisi ve inflamatuvar cevap gelişimi bilinmesi gereken en önemli antitedir. Mesane Kanseri hastalarda yaşa bağlı olarak artan ve kansere bağlı ölümlerde sıklığın artmasına neden olan bir hastalıktır. Yapılan sınırlı sayıdaki çalışmalarda AGE/RAGE sinyal yolağının mesane kanseri hücrelerinin proliferasyonunu artırdığı gösterilmiştir. (Yamagishi S ve ark. 2010)

Bu çalışmada, diyabetik ve normal hastalarda mesane kanseri dokusunda AGE ekspresyonu'nun gösterilmesi ve AGE akümüasyonu ile ER stresinin mesane kanseri ile ilişkisi araştırıldı.

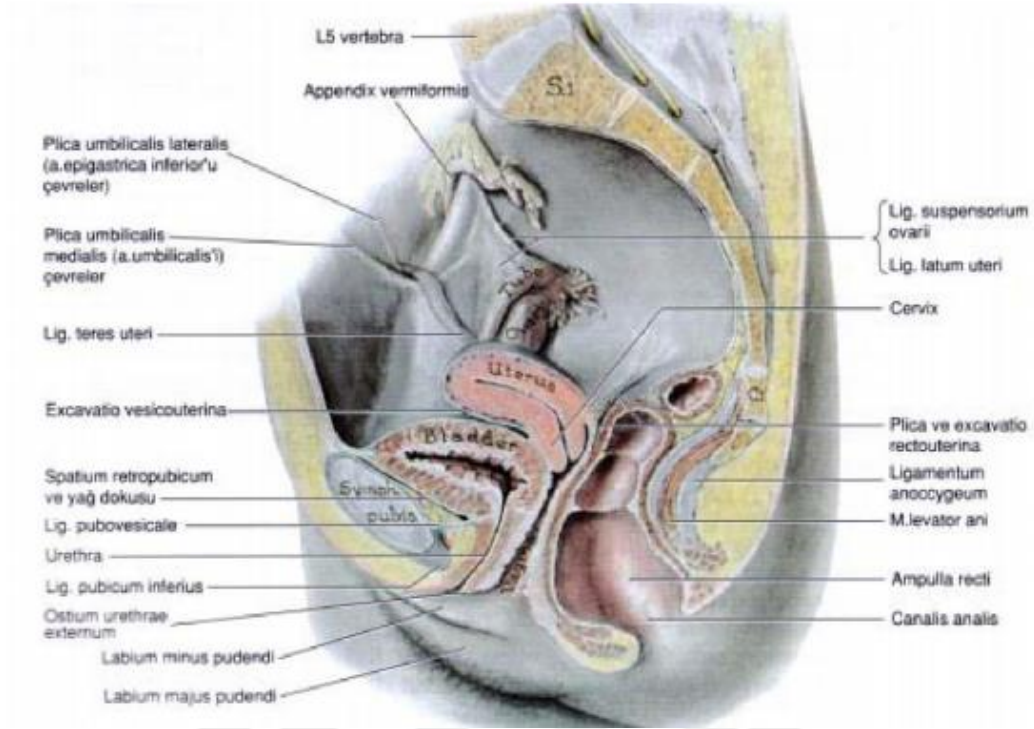
2. GENEL BİLGİLER

2.1. Mesanenin Anatomisi ve Histolojisi

Mesane genişleme yeteneğine sahip güçlü kas yapısında duvarı bulunan içi boş bir organdır. Geçici olarak içerdği idrar miktarı ve komşu olduğu organların durumuna göre şekil, boyut, pozisyonu ve komşulukları değişir.⁷ Doğumda karın ön duvarının alt kesimlerinde ekstrapéritoneal yerleşimli bir karın içi organ iken beş altı yaş civarında yavaş yavaş minör pelvis bölgesine inerek buraya tamamen yerleşmesi pubertede gerçekleşmektedir.^{7,8}



Şekil 1. Erkeklerde mesanenin anatomik pozisyonu



Şekil 2. Kadınlarda mesanenin anatomik pozisyonu

Erişkin mesanesi boşken pelvis minörde os pubisin hafifçe üst ve arka tarafında yer alır. Os pubisten spatium retropubikum ile ayrılır. Peritonun altında ve pelvis döşemesinin üzerinde yerleşir.⁷ (Şekil 1,2) Mesane tepesi önde ve yukarda, tabanında arkada ve aşağıda olan bir üçgen piramit şeklindedir ve apeks, korpus, fundus, kolum ve uvuladan denilen bölümlerden oluşmaktadır.^{6,7} Mesane yanlarda os pubis, muskulus obturatorius internus ve muskulus levator ani, arkada rektum ya da vajinanın oluşturduğu mesane yatağı içerisinde bulunur. Mesane duvarı esas olarak detrüör vezikanın bulunduğu kas tabakasından oluşur.⁶ Erkeklerde kolum vezikaya doğru ilerledikçe kas lifleri istemsiz çalışan iç sfinkteri oluştururlar. Bazı lifler ışınsal tarzda ilerleyerek ostium üretra interniumun açılmasını sağlar. Erkeklerde kolum vezika içerisinde kas lifleri prostatın fibromusküler dokusu ile devam ederken kadında bu lifler üretra duvarı içerisindeki kas lifleri ile devamlıdır. Üreterler mesane içinde oblik olarak alt mediale doğru seyrettiğinden mesane içi basınç artışında duvar içinde seyreden üreterlere bası sonucu mesanedeki idrarın üretere reflüsü önlenir.⁶ Ayrıca mesane tabanında yer alan sağ ve sol üretrovezikal orifisler ve mesane boynundaki internal üretral meatusun oluşturduğu düzgün yüzeyli bölgeye trigon adı verilir.⁷ Mesane üst,

arka ve iki alt dış yan yüzleri olmak üzere dört yüzden oluşur.⁶ Mesane üst yüzü tepesi önde tabanı arkada üçgen piramid şeklindedir.⁸ Erkeklerde mesane üst yüzü tamamen peritonla kaplıdır sigmoid kolon ve ince barsak ile komşuluğu vardır.

Kadınlarda ise arka tarafta kalan az bir kısmı peritonsuzdur. Mesanenin periton ile kaplı büyük bir kısmı uterus ile ön tarafta kalan küçük bir kısmı ince barsak ile komşuluğu vardır.^{6,8,9,10} Mesanenin yan ve alt yüzleri biraz daha ön tarafa bakar ve burada periton örtüsü yoktur.^{8,9} Mesanenin arka üst yüzü periton ile örtülüdür ve mesanenin arka kısmı ekskavasyo rektovezikalis ile rektum, ön kısmı da ince barsak ile komşuluk yapmaktadır. Mesane fundusu ise erkeklerde rektuma fascia rektovezikalis ile tutunur. Bu alan aşağıda prostat, yukarda pilika rektovezikalis, yan taraflarda duktus deferensler ile sınırlandırılmıştır. Peritonun rektumdan mesaneye geçişi ile pilika rektovezikalis, burada oluşan çıkmaza da ekskavasyo rektovezikalis olarak isimlendirilir.⁹ Kadınlarda ise mesane arka üst yüzü uterus ve vajinaya gevşek bir bağ doku aracılığı ile tutunmuş olup burada periton bulunmaz ve uterus ile aralarında ekskavasyo vezikouterina denilen periton çıkmazı vardır.^{9,10}

Mesanenin komşulukları; anteriorda, mesaneden retrius boşluğuyla ayrılan symphysis pubis ve pubik kemikler vardır. Superior yüzeyi (kubbe) ve inferioposterior yüzeyin üst kısmı (fundus) peritonla kaplıdır. Posterior: Seminal vezikül, duktus deferens, rektovezikal boşluk, prostatik fasya, erkekte rektum, kadında ise vajina ön duvarı ve serviks ile komşudur. Laterelde, pubik kemik, obturator internus (sağ ve sol) ve levator ani kasları ile komşu olup mesanenin yan alt yüzlerinde periton örtüsü yoktur.^{7,10} Tabanda, kadınlarda mesanenin tabanı anterior vajinal duvar ve serviksle ilişkilidir. Normal koşullarda antevert ve antefleks uterusun fundusu ve cismi mesanenin tabanında ve superior yüzeyinde durur.⁷

Mesaneyi besleyen 5 ana arter arteria iliaca internanın dallarıdır. A. Vesikalis inferior mesanenin ön üst kısmını besler.⁶ Mesanenin çevresi adventisyanın derinliğinde yerleşmiş çok zengin bir venöz ağ ile sarılıdır. Bu venöz ağ birkaç ven aracılığı ile internal iliak vene drene olur.^{6,7} Mesaneyi inerve eden sinirler hem sempatik hem parasempatik lifler içeren plexus vezikalisten gelmektedir. Sempatik lifler mesaneye torakal 11 ve 12, lumbal 1 ve 2 seviyelerinde spinal sinirler aracılığı ile gelir.⁶ Sempatik sinirler mesane kaslarını inhibe ederler ve musculus sfinkter eksternayı da inerve ederler.⁹ Parasempatik liflerin nn. Splanchnici pelvisi ve mesaneyi inerve ederler.⁶

Mesane iç yüzeyi ürotelyum (transizyonel) epiteli ile döşelidir. Epitelin altında sırası ile lamina propria, muskularis propria ve adventisya (seroza) vardır.^{7,11} Mesane, üreter ve renal pelvis ürotelyal epitelle döşelidir.^{10,11} Ürotelyum nonkeratinize skuamöz epitel ile psödostratifiye kolumnar epitel arasında histolojik görünümüne sahip olduğu için bu şekilde isimlendirilmiştir.^{11,12} Ürotelyumun kalınlığı anatomik lokalizasyonuna ve distansiyon derecesine göre değişmektedir. Minör kaliksler iki veya üç sıralıdır. Kasılmış mesanede 6-7 sıralı iken dolu mesanede üç sıralı görülebilir.^{11,12} Ürotelyum üç bölümden oluşmuştur; süperfisial hücreler, intermedier hücreler, bazal hücreler^{11,12} Süperfisial hücreler, üriner yüzeyi örten, büyük, eliptik, eozinofilik sitoplazmalı bazen binükleuslu olabilen, şemsiye hücresi olarakta bilinen hücrelerdir.¹¹ Dolu mesanede bu hücrelerin düzleştiği görülür. Süperfisial hücreler normal mesane epiteli göstergesi olduğu gibi karsinomda da görülebilir, bu hücrelerin varlığı veya yokluğu malignensiye belirlemez.¹¹ İntermedier hücreler, kontrakte mesanede beş hücre kalınlığında olabilirler. Bol vakuollü sitoplazmalı, nukleusu oval ince kromatinli, nukleolü küçük ya da olmayan hücrelerdir. Sitoplazmaları belirgin bu hücreler birbirlerine desmozomlar ile bağlıdır. Dolu mesanede bu tabaka belirsiz olabilir ya da tek sıralı görülebilir.^{11,12} Bazal hücre tabakası sadece kontrakte mesanede belirgindir ve tek sıralı kübik hücrelerden oluşur. Bütün normal ürotelyal hücreler glikojen içerebilir fakat sadece süperfisial hücreler müsikarminofiliktir.^{11,12}

Submukozal tabaka: Trigon dışında mesanenin her yerinde vardır.⁷ Lamina propria; bazal membran ile muskularis propria arasındadır yer almaktadır. Zengin vasküler ağ, lenfatik kanallar, duysal sinir uçları, birkaç elastik liflerin bulunduğu yoğun bir bağ dokudan oluşmaktadır. Lamina propriadaki orta çaplı arterler ve venlerle birlikte ince düz kas demetleri seyretir, bu düz kas demetleri muskularis propria ile devamlılık göstermemektedir. Bazen bu kas demetleri lamina propriada devamlılık gösterip, patologlar tarafından transizyonel hücreli karsinomda kas invazyonunun yanlış değerlendirilmesine sebep olabilmektedir.¹¹

Musküler propria: Bu tabaka detrüsör kası oluşturur. İçte longitudinal, ortada sirküler, dışta longitudinal olmak üzere üç tabakanın ayırt edildiği; trigon, mesane boynu dışında sarmal şekilde düzenlenmiş bir düz kastır.⁷ Orta tabakadaki lifler mesane boynunda yoğunlaşarak musküler sfinkter üretra internusu oluşturur ve musküler sfinkter eksternus ise muskulus perinei profundusun bir dalıdır ve çizgili kas

yapısındadır.⁹ Kontrakte mesanede kas lifleri kaba bantlar şeklinde olabilir ve bu kas lifleri birbirinden bağ dokusu ile ayrılmaktadır.

Bağ dokusu içinde kan damarları, lenfatikler ve sinirler vardır.¹¹ Bu bağ dokusu içinde paraganglia adaları bulunabilir.^{11,13} Bu hücreler adalar ve kordonlar yapmış, berrak ya da granüler sitoplazmalı, küçük veziküler nükleuslu hücrelerdir ve invaziv karsinom ile karıştırılmamalıdır.¹¹

Seröz tabaka: Mesaneyi kısmen kaplayan peritondur. Mesanenin peritonsuz kısımlarını da fibröz stroma örter.⁷ Erkeklerde mesanenin üst yüzünün tamamı ve arka yüzün üst bölümü, kadınlarda ise mesane üst yüzü periton ile kaplıdır.⁹

2.2. Mesane Kanseri

2.2.1. Epidemiyoloji ve İnsidans

Amerikan Kanser Derneği istatistiklerine göre 2007 yılında Amerika’da 68.810 hastaya mesane kanseri tanısı konulduğu ve tüm kanserler içindeki oranının %7 olduğu belirtilmektedir. Ayrıca yine 2007 yılında mesane kanseri nedeniyle ölenlerin sayısı 14.100 olup kansere bağlı tüm ölümler içinde %3 orana sahip olduğu açıklanmıştır. Ülkemizde nüfus tabanlı kanser kayıt merkezi bulunan sekiz ilin verilerine dayanarak 2006 yılında yapılan çalışmada mesane kanseri yaşa standardize insidansı, erkeklerde yüz binde 19,6 kadınlarda 2,5 olarak tahmin edilmiştir. Çalışmaya göre, erkeklerde görülen en sık 3.kanser türü olup tüm kanserler içindeki oranı % 8,5’tir. Kadınlarda ise tüm kanserler arasında 13. sırada yer almaktadır.¹ Erkeklerde mesane kanseri görülmesi açısından kadınlara göre 3-4 kat daha fazla risk altındadır. Bunun muhtemel sebebi ise erkeklerde sigara kullanımının artmış prevelansı ve çevresel etkenlere maruz kalma olarak kabul edilebilir. Geçmişte hormonal faktörlerin kadınları mesane kanserinden koruduğu düşünülmüşse de, güncel veriler kadınların da karsinojenlerin etkisine en az erkekler kadar duyarlı olduğunu göstermektedir. Mesane kanseri insidansı dünya genelinde coğrafi farklılıklar göstermektedir. Güney ve Doğu Avrupa, Afrika’nın bir kısmı, Ortadoğu ve Kuzey Amerika’da en yüksek insidansa sahipken, Asya ve Afrika’nın geri kalmış bölgelerinde en düşük insidansa sahiptir. Dünya genelinde en sık görülen 9. kanser tipi olup, ölüm nedenleri arasında da 13. sıradadır. Tüm mesane

kanserlerinin %63'ü gelişmiş ülkelerde görülürken % 55'i Kuzey Amerika ve Avrupa'dadır. Bu farklılıklar muhtemelen herediter ve çevresel faktörlerin bir yansımasıdır. Histolojik tip açısından da coğrafi farklılıklar vardır. Kuzey Amerika ve Avrupa'da % 95-97 ürotelyal karsinom görülürken, Afrika'da % 60-90 ürotelyal, % 10-40 yassı hücreli karsinom görülmektedir. Özellikle şistosomiyazisin endemik olduğu Mısır'da yassı hücreli karsinom en yüksek sıklıkta görülmektedir. Mesane kanseri her yaş grubunda görülebilir ancak genellikle orta ve ileri yaş hastalığıdır. Ortanca tanı koyulma yaşı her iki cinsiyet için de 70 olup, insidans ve hastalığa bağlı ölüm yaşla birlikte artar. Yeni tanı konulan hastaların %90'ı 60 yaş ve üstündedir. Yine 60 yaş ve üzeri popülasyonda ikinci en yaygın kanserdir.

Risk faktörleri: Mesane kanserinin gelişiminde sosyal, çevresel, mesleki ve genetik faktörler, beslenme alışkanlıkları gibi birçok risk faktörünün önemli rolü vardır. Bakıldığında mesane kanserlerinin erkeklerde %50'si, kadınlarda %23'ü sigaradan kaynaklanmaktadır.^{2,3,4} Yaklaşık %20'si de mesleki karsinojenlere maruz kalmaktan oluşmaktadır. Aynı zamanda mesane kanseri ile ilişkisi halen araştırılan ve tartışılan pek çok risk faktörü vardır.¹⁴

2.2.2. Etiyoloji

Sigara içimi ve mesane kanseri arasındaki ilişki yaklaşık 50 yıldır bilinmektedir. Ürotelyal kanser gelişiminde tütün kullanımı en iyi bilinen nedenlerdendir. Özellikle sigara dumanındaki aromatik aminlerden 4-aminobifenil, nitrözaminler, 2-naftilamin gibi maddeler etkisi bilinen en önemli potansiyel karsinojenlerdir.⁵ Sigara içenlerde mesane kanseri riski 3-4 kat artar. Ancak, sigara içiciliğinin süresi ve yoğunluğuna göre risk çok daha fazla olabilir. Sigara içiciliğinin süresi ile mesane kanseri arasında doğrudan bir ilişki mevcuttur. Öte yandan, günlük 15-20 sigara içimi riski 4.5 kat arttırır ancak sigara sayısının daha fazla arttırılması riski daha fazla değiştirmemektedir. Sigaraya başlama yaşının mesane kanseri riski üzerine etkisi tartışmalıdır.¹

Erken yaşta sigaraya başlamanın riski artırdığını gösteren çalışmalar vardır. Ancak esas etkinin sigaradaki karsinojenlere daha uzun süre maruz kalınması olduğunu düşündüren bulgular da vardır. Sigaraya erken yaşta başlamanın mı yoksa sigaradaki karsinojenlere uzun süre maruz kalmanın mı riski artırdığı henüz net olarak belli

degildir. Sigaranın bırakılmasıyla relatif kanser riski giderek azalır. Risk, sigarayı bıraktıktan 1-4 yıl sonra %30, 25 yıl sonra %60 azalır, ancak hiçbir zaman hiç sigara içmeyenlerin seviyesine inmez. Halen sigara içenlerin sigarayı bıraktıkları takdirde mesane kanseri vakalarının erkeklerde %42'sinin, kadınlarda %13'ünün önlenebileceği bildirilmektedir. Pasif içicilik de bir risk faktörüdür ancak etkisi aktif sigara içiciliğine göre daha azdır. Bunun maruz kalınan kanserojen dozunun daha az olmasından kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Diyetle alınacak bazı vitaminlerin ve antioksidanların sigaranın karsinojenik etkisini azaltabileceği yönünde yapılan çalışmalarda, yüksek miktarda karotenoid ve vitamin C tüketiminin sigara içenlerde 3 ve 4-aminobifenil-hemoglobin kompleksi düzeyini azaltarak kanser riskini azalttığı gösterilmiştir. Ancak şu ana kadar henüz yeterli veri olmadığı için üzerinde daha fazla çalışma yapılması gerekmektedir. Mesleki hastalık ilişkisi ve çevresel etkenlere maruz kalma: Kanserojen etkili kimyasallara maruz kalma ve mesane kanseri gelişimi arasında neden sonuç ilişkisi ilk kez 19.yy'da sentetik boya sanayi çalışanlarında saptanmıştır. Mesleki karsinojenlerden en çok etkilenen organlar deri, akciğerler ve mesanedir. Çevresel karsinojenler vücuda deri yoluyla ve inhalasyon ile alınır. Genellikle endüstriyel maruziyet ve mesane kanseri oluşumu arasında yaklaşık 10-20 yıllık latent bir dönem mevcuttur. Mesane kanserlerinin %20-27'si ileri derecede kimyasal maddeye maruziyet ile ilişkilidir. İlk suçlanan maddeler özellikle boya ve lastik endüstrisinde kullanılan benzidin ve β -naftilamindir. Diğer karsinojenler arasında 4-aminobifenil, arsenik, benzopiren sayılabilir. Kimya sanayi, petrol, boya, lastik endüstrisi, alüminyum ve demir işletmesi çalışanları yüksek oranda aromatik aminlere maruz kalmaktadır ve risk altındaki grubu oluşturur.¹⁵ Yine son dönemde yapılan çalışmalarda kamyon, otobüs ve taksi şoförlerinde ılımlı bir artış izlenmesi egzoz dumanının da potansiyel risk faktörü olabileceğini düşündürmüştür. Düzenli olarak saç boyamanın da mesane kanseri riskini arttırabileceği düşünülmüşse de son yapılan bir meta analizde etkisinin olmadığı görülmüştür. Beslenme ile ilişkili faktörler: Birçok besin ve metaboliti, idrar yoluyla atılması ve mesanede ürotelyum ile uzun süre etkileşime girmesinden dolayı, mesane kanseri gelişimi ile ilişkili olabilir. Özellikle sebze ve meyveden zengin diyetin mesane tümöründen koruyucu etkisi olduğu bildirilmektedir. Akdeniz tipi beslenmenin en az kanser riski taşımaktadır. Meyve, sebze, narenciye, elma, çilek, domates detoksifikasyonda rol oynayan pek çok aktif bileşik içermektedir. Bu bileşikler arasında

bulunan polifenoller, antioksidanlar ve enzimler, nitrozaminlerin detoksifikasyonunda görev alarak DNA'daki oksidatif hasarın önüne geçmektedir. Yine selenyum, çinko, A, C, D vitaminlerinin de antioksidan etkisinden dolayı ürotelyum hasarından koruyucu özellikleri olduğu bilinmektedir. Mesane kanseri oluşumunda etkisi olabilecek yiyecekler ise tuzlu ve közde et, toplam yağ miktarı, salamura sebze, soya ve baharat olarak sayılabilir. Mesane kanseri görülme riski çay ve kahve tüketiminin fazla olduğu kişilerde yüksek orandadır ancak, bu kişilerde sigara kullanımının da yüksek oranda olması sebebiyle, mesane kanserinin çay ve kahve tüketimi ile ilişkilendirilmesi zordur. Güncel veriler kabul edilebilir miktarda çay ve kahve tüketiminin riski artırmadığını göstermektedir. Yapay tatlandırıcılardan sakarin ve siklamat, deneysel çalışmalarda aşırı yüksek dozlarda mesane kanseri oluşturmaları nedeniyle potansiyel karsinojen olarak suçlanmıştır. Ancak, insanlarda kanserojen etkisi bakımından yeterli veri bulunmamaktadır. Sonuç olarak, beslenme ile ilgili pek çok faktörün etiyojide rolü olabileceği göz önünde bulundurularak, sağlıklı bir beslenmenin mesane kanserinden koruyucu etkisi olacağı söylenebilir. İçme suyu ve toplam sıvı tüketimi: Yüksek miktarda sıvı alımının idrardaki metabolitlerin konsantrasyonlarını düşürdüğü ve idrara çıkma sıklığını artırdığı için ürotelyumun karsinojenlerle temas süresini azalttığı bildirilmektedir. İçme suyunun klorlanmasının mesane kanseri riskini arttırdığı bildirilmiştir.¹⁶

Ayrıca Arjantin, Şili ve Tayvan'da içme suyundaki yüksek arsenik konsantrasyonu ile mesane kanseri insidansının arttığı yönünde bulgular saptanmıştır. Bugün için sıvı alımı ile ilgili bilgiler ve sıvı tüketiminin artırılmasının koruyuculuğu halen tartışmalıdır. İlaç kullanımı: Fenasetin ve fenasetinin aktif metaboliti olan asetominofen içeren analjezik preparatlarından 10 yıllık süre içerisinde 10-15 kg tüketilmesi mesanenin değişici epitelyal karsinomu ve böbrek tümörü ile ilişkilendirilmiştir. Ancak yapılan bu çalışmalar ilaca maruz kalma yerine daha çok sözel olarak ve anket aracılığıyla yapılmıştır. 2001 yılında yapılan vaka kontrollü bir çalışmada asetominofen ve diğer non-steroid antiinflamatuvar ilaçlar arasında ilişki gösterilememiştir. Siklofosfamid, belirgin bir doz-cevap eğrisi şeklinde mesane kanseri riskini artırır. Etki süresi göreceli olarak daha kısa olup 10 yıldan azdır. Siklofosfamid yıkım ürünlerinden akrolein ve fosfamid mustard DNA'da mutajenik etki göstermektedir. MESNA akroleini inaktive eder ve siklofosfamid tedavisi sırasında

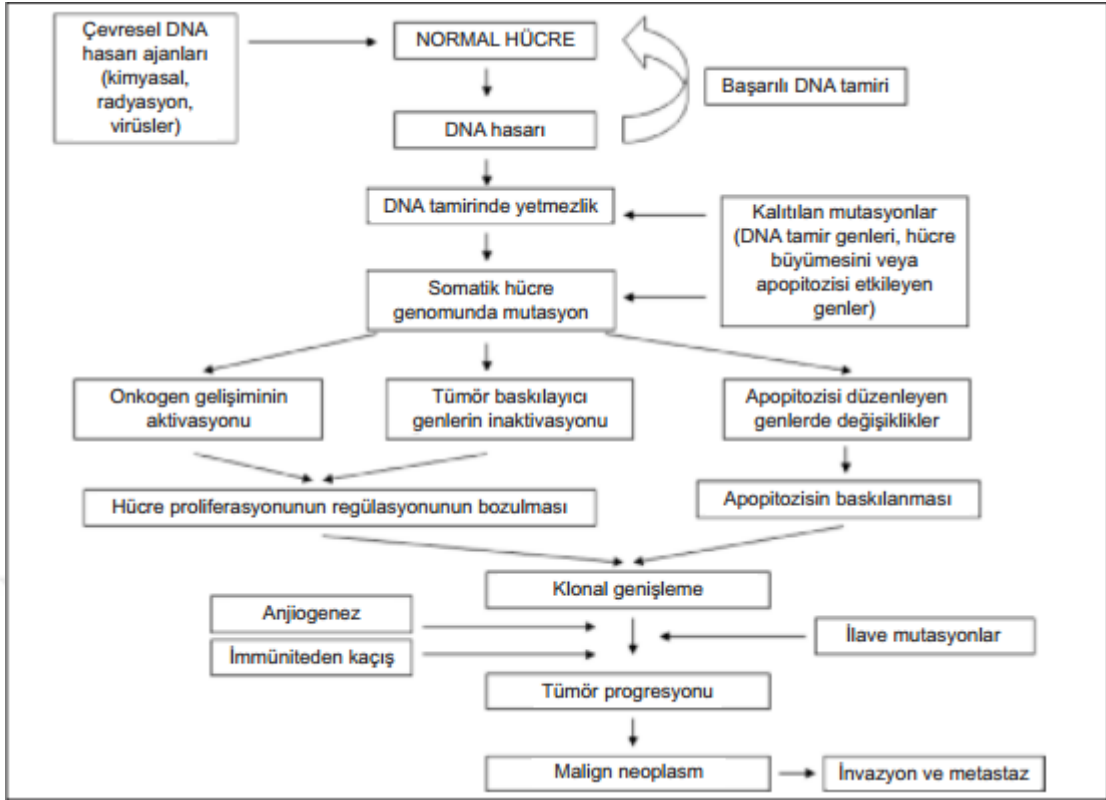
MESNA kullanımı mesane kanseri riskini azaltır. Üriner sistem enfeksiyonları, kalıcı katater ya da taş varlığında mesane kanseri riskinde artış görülmektedir. Sistitle indüklenmiş mesane kanserleri çoğunlukla uzun süreli ciddi enfeksiyonlarla ilişkilidir.¹⁷ Karsinogenez mekanizmaları henüz tam olarak anlaşılamasa da mesanede nitrit ve n-nitroso bileşiklerinin oluşumuyla ilişkili olabileceği düşünülmektedir. Amerikan Ulusal Mesane Kanseri Grubunun yaptığı geniş çaplı vaka kontrollü çalışmada 3 veya daha fazla enfeksiyon gelişenlerde hiç enfeksiyon görülmeyenlere göre riskin 4,8 kat arttığı bildirilmiştir. Kronik şistozomiazis mesanede hiperplazi, metaplazi, displazi ve klinik kanser gelişim ile ilişkilidir. Şistozomiazis ile ilişkili mesane kanserinde baskın histolojik tip yassı hücreli karsinomdur ve kronik inflamasyonun rol oynadığı hatalı genetik değişimler altta yatan sebep olarak gösterilmektedir. Radyasyon: İkinci Dünya Savaşı'nda atılan atom bombası sonrasında yüksek dozda radyasyona maruz kalanlarda çeşitli kanserlere bağlı ölümler görülmüştür. Ürotelyal kanser görülme riskinin erkeklerde 1.63, kadınlarda 1.74 kat arttığı tespit edilmiştir. Ayrıca serviks ya da over kanseri nedeniyle radyoterapi tedavisi alan kadınlarda ve prostat kanseri nedeniyle radyoterapi alan erkeklerde mesane kanseri riskinin arttığı belirtilmektedir.¹⁸

2.2.3. Moleküler Biyoloji ve Patogenez

Kanserin temelinde, hücre döngüsünde rol oynayan mekanizmalarda meydana gelen değişiklikler yatmaktadır. Söz konusu genetik mekanizmalarda meydana gelen değişikliklerden en önemlilerinden biri, genlerin ifadesini değiştiren mutasyonlardır.¹⁹ Kanserlerin birçoğunda mutasyonlar, somatik hücrelerde meydana gelir; dolayısıyla bunlar, gelecek nesillere aktarılmaz. Kanser patogenezinde, zaman içerisinde tek bir somatik hücrede bir ya da birden fazla genin mutasyona uğraması, bunu takiben art arda oluşan mutasyonlar sonucunda kontrolsüz hücre çoğalması görüşü yaygın bir şekilde kabul edilmektedir.^{20,21} DNA hasarına neden olan çeşitli çevresel ajanlar, normal hücre üzerinde karsinojen etkide bulunarak hücre genomunda DNA hasarına ve mutasyonlara neden olmaktadır. Bu şekilde DNA hasarına uğrayan normal hücreler, hasarlı DNA'yı başarılı bir şekilde tamir ederler ve hücre döngüsündeki regülasyon bozulmaz. Ancak karsinojenlere uzun süre ve artan miktarda maruz kalma sonucunda meydana gelen

mutasyonlar veya ailesel olarak kalıtılan çeşitli mutasyonlar gibi nedenlerle hasarlı DNA'nın tamirindeki yetmezlikler, somatik hücre genomunda çok sayıda biriken mutasyonlara neden olmaktadır. Somatik hücre genomunda bu şekilde biriken mutasyonlar; çeşitli onkogenlerin aktivasyonu ile tümör baskılayıcı genlerin inaktivasyonuna ve apoptozisin regülasyonunun bozulmasına neden olmaktadır. Bu gelişmelerden ilk ikisi hücre proliferasyonundaki regülasyonun bozulmasına neden olurken sonuncusu apoptozisin baskılanmasına neden olmaktadır. Bu olaylar sonucunda kontrolsüz hücre çoğalması ve klonal genişleme meydana gelmektedir. Yani, genomunda birçok mutasyon meydana gelmiş bulunan tek bir somatik hücreden, kontrolsüz hücre çoğalması sonrasında, çok sayıda ve atasal tek bir hücre ile aynı mutasyonları taşıyan hücreler ortaya çıkmaktadır. Bu noktadan itibaren kanser hücrelerinde ilave mutasyonlar oluşması, bu hücrelerin immün sistemden kurtulması ve anjiyogeneze yeni damarlar oluşturulması; tümör progresyonuna, malign neoplazm oluşmasına ve sonuçta invazyon ve metastaza neden olmaktadır.²² Hücre döngüsü ile ilişkili olarak kanser gelişiminde rol oynayan genler başlıca iki gruba ayrılmaktadır: Protoonkogenler ve tümör baskılayıcı genler. Birinci grupta bulunan protoonkogenler, çoğunlukla normal hücrelerde de bulunan, hücre siklusu ve proliferasyonu ile ilgili normal hücreler olaylardan sorumlu olan genlerdir. Protoonkogenler; gen amplifikasyonu, kromozomal translokasyon ve nokta mutasyonu gibi çeşitli mutasyonlar sonucu anormal yapıdaki onkogenlere dönüşürler. Onkogenler, aşırı ekspresyon veya mutant onkoproteinlerin üretimi yoluyla kanser gelişimi ve ilerlemesine yol açarlar. Onkogenler hücreler seviyede dominant etkiye sahip genlerdir; yani aktive edildiklerinde veya ekspresyon seviyeleri arttığında tek bir mutant allel, bir hücreyi normal fenotipten malign fenotipe dönüştürmeye yetebilir. Ancak neoplastik transformasyonun ortaya çıkması için genellikle çok sayıda onkogenin ifade edilmesi gerekmektedir. Mesane kanseriyle ilişkili çeşitli onkogenler ve tümör baskılayıcı genler ile çeşitli kromozom bölgeleri tespit edilmiştir.²³ İkinci grupta bulunan tümör baskılayıcı genlerse onkogenlerin tersine hücre çoğalmasını inhibe edici özelliktedir. Bu genler, kanser gelişimine etkileri bakımından resesif özelliktedirler. Yani tümör baskılayıcı genlerin kanser gelişiminde etkili olabilmeleri için, her iki allelinin fonksiyonunu yitirmesi gerekir (çift vuruş hipotezi).²⁴

Kromozom 13q'daki retinoblastoma geni (Rb) ve kromozom 17p'deki p53 geni en iyi çalışılmış tümör baskılayıcı genlerdir. Mesane kanserinin başlangıcında ve ilerlemesinde de bu genlerin önemli rol oynadıkları gösterilmiştir. Mesane kanseriyle ilgili yapılan çalışmalarda özellikle kromozom 9'da delesyon bulunması, bu kromozom üzerinde daha başka tümör baskılayıcı genlerin olduğunu düşündürmektedir.²⁵ Ayrıca, tümör baskılayıcı genlerle ilgili yapılan çalışmalar; 3, 4, 8, 11 ve 14. kromozomlarda da tümör baskılayıcı genlerin olabileceğini göstermiştir. Tümör baskılayıcı genler, son derece heterojendir; hücre büyümesini doğrudan düzenleyebilecekleri gibi DNA hasarının onarımı veya genomik bütünlüğü sağlamada rol alarak dolaylı yoldan da etkili olabilirler. Son yıllarda kanserle ilgili yapılan yoğun araştırmalar hücre çoğalmasını kontrol eden genlerin yanısıra apoptozisi kontrol eden genlerin mutasyonlarının da kanserden sorumlu olduğunu göstermiştir.²⁶ Bu mutasyonlar içinde kromozom ve gen delesyonları, nokta mutasyonları ve insersiyonlar sıklıkla yer almaktadır ve bunların sonucunda, genlerin fonksiyonlarının bozulmasına bağlı olarak hücre proliferasyonunun kontrolü ortadan kalkarak, karsinogenez için uygun koşullar ortaya çıkmaktadır.²⁷ Polimorfik belirteçler kullanılarak yapılan heterozigote kaybı analizi ve karşılaştırmalı genomik hibridizasyon yöntemiyle yapılan çalışmalar, mesane kanserinde normal dokuların DNA'sında gösterilemeyen spesifik allelik delesyonlar olduğunu ortaya koymuştur.²⁸



Şekil 3. Mesane kanseri patogenezi

2.2.3.1 Onkogenler

Epidermal Büyüme Faktörü Reseptörü (ErbB: Epidermal Growth Factor Receptor) Epidermal büyüme faktörü reseptörü ailesi, Ras– MAPK yolağıyla bağlantılı olarak hücre döngüsünü regülasyonunda önemli rol oynar. ErbB gen ailesi, tirozin kinaz reseptörleri süper ailesine ait olan transmembran reseptör proteinleri kodlar. Bunlar, normal hücrelerin çoğalmasında ve farklılaşmasında önemli rol oynarlar. ErbB reseptör gen ailesinin dört üyesi vardır: ErbB1, ErbB2 (HER2: “human epidermal growth factor receptor”), ErbB3 ve ErbB4. Mesane kanserinin başlangıç ve ilerlemesinde ErbB sinyal regülasyonundaki değişikliklerin, reseptörün kendisiyle ve/veya onun ligandı ile ilgili olabileceği bildirilmiştir. Mesane tümörlü hastalarda yapılan çalışmalarda, ErbB2’nin aşırı ifade edilmesiyle tümör derece (grade) ve evresi (stage) arasında ilişki olduğu gösterilmiştir. Ancak bu sonuç diğer bazı çalışmalarda doğrulanamamıştır. Sistoskopik olarak normal ürotelyumlu kişilerde EGFR’nin anormal seviyede ifade edilmesinin, EGFR’nin mesane kanseri tümörögenезisinin erken belirleyicisi olabileceğini

düşündürmektedir. Bu konuda çelişkili sonuçlar alınmış olsa da ErbB reseptörleri malign transformasyonda önemli rol oynamakta ve mesane kanserinde tespit edilmesi prognostik açıdan değer taşımaktadır. Büyüme faktörü reseptörlerinin anormal ekspresyonları ve anormal fonksiyonları malign hücrelerin proliferatif kapasitesini arttırabilir. Epidermal büyüme faktörünün (Epidermal Growth Factor: EGF) biyolojik olarak aktif formu, insan idrarında yüksek konsantrasyonda bulunan potent bir mitojendir. Yapılan çalışmalarda EGF, mesane kanserli hastaların idrarında düşük konsantrasyonda bulunmuş ve bu durumun mesane kanserli hastaların ürotelyumunda ligant bağlayan EGFR'lerdeki artmaya karşı refleks olarak gelişmiş olabileceği değerlendirilmiştir. Ayrıca EGFR'lere bağlanan ligandlar, yalnızca mitojeniteyi uyarmakla kalmaz aynı zamanda hücre motiliteyi ve EGFR'lerin stimülasyonunu da uyarak transepitelyal motiliteyi ve tümör invazyonunu da sağlamaktadırlar. Epidermal Büyüme Faktörü Reseptörü (ErbB: Epidermal Growth Factor Receptor) Epidermal büyüme faktörü reseptörü ailesi, Ras- MAPK yolağıyla bağlantılı olarak hücre döngüsünü regülasyonunda önemli rol oynar. ErbB gen ailesi, tirozin kinaz reseptörleri süper ailesine ait olan transmembran reseptör proteinleri kodlar. Bunlar, normal hücrelerin çoğalmasında ve farklılaşmasında önemli rol oynarlar.²⁹ ErbB reseptör gen ailesinin dört üyesi vardır: ErbB1, ErbB2 (HER2: "human epidermal growth factor receptor"), ErbB3 ve ErbB4. Mesane kanserinin başlangıç ve ilerlemesinde ErbB sinyal regülasyonundaki değişikliklerin, reseptörün kendisiyle ve/veya onun ligandıyla ilgili olabileceği bildirilmiştir. Mesane tümörlü hastalarda yapılan çalışmalarda, ErbB2'nin aşırı ifade edilmesiyle tümör derece (grade) ve evresi (stage) arasında ilişki olduğu gösterilmiştir.³⁰ Ancak bu sonuç diğer bazı çalışmalarda doğrulanamamıştır. Sistoskopik olarak normal ürotelyumlu kişilerde EGFR'nin anormal seviyede ifade edilmesinin, EGFR'nin mesane kanseri tümörögenезisinin erken belirleyicisi olabileceğini düşündürmektedir. Bu konuda çelişkili sonuçlar alınmış olsa da ErbB reseptörleri malign transformasyonda önemli rol oynamakta ve mesane kanserinde tespit edilmesi prognostik açıdan değer taşımaktadır.³¹ Büyüme faktörü reseptörlerinin anormal ekspresyonları ve anormal fonksiyonları malign hücrelerin proliferatif kapasitesini arttırabilir. Epidermal büyüme faktörünün (Epidermal Growth Factor: EGF) biyolojik olarak aktif formu, insan idrarında yüksek konsantrasyonda bulunan potent bir mitojendir. Yapılan çalışmalarda EGF, mesane kanserli hastaların idrarında düşük

konsantrasyonda bulunmuş ve bu durumun mesane kanserli hastaların ürotelyumunda ligant bağlayan EGFR’lerdeki artmaya karşı refleks olarak gelişmiş olabileceği değerlendirilmiştir.³² Ayrıca EGFR’lere bağlanan ligandlar, yalnızca mitojeniteyi uyarmakla kalmaz aynı zamanda hücrel motiliteyi ve EGFR’lerin stimülasyonunu da uyarak transepitelyal motiliteyi ve tümör invazyonunu da sağlamaktadırlar.³³

Tablo 1. İnvaziv mesane tümöründe (≥T2) bulunan genetik değişiklikler

Gen (sitogenetik lokasyon)	Değişiklik	Sıklık
Onkogenler		
<i>HRAS</i> (11p15)/ <i>NRAS</i> (1p13)/ <i>KRAS2</i> (12p12)	Aktive edici mutasyonlar	%10-15
<i>FGFR3</i> (4p16)	Aktive edici mutasyonlar	%0-34
<i>ERBB2</i> (17q)	Amplifikasyon/aşırı ekspresyon	%10-14
<i>CCND1</i> (11q13)	Amplifikasyon/aşırı ekspresyon	%10-20
<i>MDM2</i> (12q13)	Amplifikasyon/aşırı ekspresyon	%4
<i>E2F3</i> (6p22)	Amplifikasyon/aşırı ekspresyon	%9-11
Tümör baskılayıcı genler		
<i>CDKN2A</i> (9p21)	Homozigot delesyon/metilasyon/mutasyon	Homozigot Delesyon %20-30 LOH <% 60
<i>PTCH</i> (9q22)	Delesyon/mutasyon	LOH <%60 Düşük mutasyon sıklığı
<i>DBC1</i> (9q32-33)	Delesyon/metilasyon	LOH <%60
<i>TSC1</i> (9q34)	Delesyon/mutasyon	LOH <%60 Mutasyon <%12
<i>PTEN</i> (10q23)	Homozigot delesyon/mutasyon	LOH %30-35 Mutasyon %17
<i>RB1</i> (13q14)	Delesyon	%37
<i>TP53</i> (17p13)	Delesyon/mutasyon	%70
DNA kopya sayısındaki değişiklikler*, **		
8p	Delesyon	%29-34
9p	Delesyon	%21-30
11p	Delesyon	%18-24
11q	Delesyon	%22
17q	Artış	%30
5p	Artış	%24-37
8q	Artış	%23
20q	Artış	%26-28

Harvey Rat Sarkoma Onkogeni (H-ras)

H-ras geni, hücre zarının sitoplazmik kısmında yer alan ve sinyal aktarımında görev üstlenen bir proteini kodlamaktadır.³⁴ Mesane kanserli hastalarda yapılan çalışmalar, bu genin kanser gelişiminde önemli rol oynadığını ve H-ras mutasyonlarının mesane kanserlerinin %36’sında bulunduğunu göstermiştir. Mutasyonların büyük kısmı, 12. kodondaki nokta mutasyonları (G→A) olmakla birlikte, 13. kodonda (G→T) ve 61. kodonda (A→T) da çeşitli nokta mutasyonları bulunmuştur.³⁵ Bu konuda yapılan çalışmaların bir kısmında, yüzeysel mesane kanserlerinde H-ras’ın aşırı ifade edildiği ve

hastalığın erken tekrarlama arasında ilişki bulunduğu gösterilirken, diğer bazı çalışmalarda bu ilişki gösterilememiştir. Ancak H-ras aktivitesi; mesane kanserinin takibinde kullanılan ve hastalığın ilerlemesini gösteren belirteçlerden biridir.³⁶ Hücresel Myelositomatozis (c-myc: Cellular-Myelocytomatosis) myc gen ailesi, DNA'ya bağlanma aktivitesi gösteren ve hücresel proliferasyonun düzenlenmesinde önemli rol oynayan çeşitli çekirdek fosfoproteinleri kodlar. c-myc gen ailesinde, kromozomal translokasyon ve gen amplifikasyonu nedeniyle oluşan mutasyonlar, hücre çoğalmasındaki kontrolün bozulmasına neden olmaktadır. c-myc aktivitesi; Max (myc-associated factor X) ve Mad (max dimerization protein) adlı diğer bazı proteinlerle birleşerek heterodimerik bir kompleks oluşturmasıyla sağlanır. Yapılan çalışmaların bir kısmında, cmc'nin aşırı ifade edilmesi, mesane kanserini de içeren birçok kanserle ilişkili bulunurken bir kısmında ilişkisiz bulunmuştur. Mesane kanserinde c-myc gen ailesiyle ilgili veriler, tartışmalı olsa da prognostik belirteç olarak kullanılmaktadır.³⁷

2.2.3.2 Tümör Baskılayıcı Genler

p53;

p53 geni, kromozom 17p13'te lokalizedir ve hücre döngüsünün durdurulmasında hayati önemi olan bir protein kodlamaktadır. 63 p53 geni tarafından kodlanan ve bir transkripsiyon faktörü olan p53 proteini, anjiyogenez, DNA onarımı ve apoptoziste önemli bir role sahiptir. Genomu zarar görmüş hücrelerin hayatta kalma süresinin uzaması ve apoptozise direnç gelişmesi; tümör dokusunun genişlemesine ve hücre proliferasyonunun artmasına neden olur.³⁸ Apoptotik yolak, DNA hasarına cevap olarak aktive edilir ve onkogen aktivasyonu ile hipoksi gibi faktörler apoptozisin devreye girmesini engelleyerek, DNA hasarlı hücrelerin kontrolsüz çoğalmasına neden olarak bu dengeyi bozar.³⁹ 26 p53 apoptozisi ve DNA onarımını uyarır; bu nedenle genomun gardiyanı olarak tanımlanır. DNA hasarından sonra p53 proteini seviyesinin yükselmesi, p21'in transkripsiyonel aktivasyonunun artmasına neden olur ve hücre döngüsü durdurulur. Sonuçta preapoptotik sinyal mitokondride sitokrom c'nin salınmasına neden olur ve böylece apoptozisi yöneten kaspazların aktivasyonu sağlanır. Bcl-2 (B-cell CLL/lymphoma 2) protein ailesi, sitokrom c ve kaspazların salınımını kontrol ederek apoptozisin regülasyonunu sağlar. Bax (Bcl2 associated protein X), Bak

(Bcl2 homologous antagonist/killer), Bid (Bcl2 interacting domain death agonist) ve Bim (Bcl2 interacting mediator of cell death) proapoptotik proteinlerdir. Bcl-2, Bcl-XL ve Bcl-W ise antiapoptotik proteinlerdir. Mutant p53 proteinin yarılanma ömrü, yabani tip p53 proteininden daha uzun olduğundan, mutant p53 proteini, immünohistokimyasal olarak kolaylıkla tanımlanabilmektedir.⁴⁰ Mesane kas dokusuna invazyon gösteren transisyonel hücreli karsinomların yaklaşık olarak %50'sinde p53'ün çekirdekte aşırı ifade edilmesine bağlı oluşan mutant proteinin varlığı gösterilmiştir. Mutant proteinin varlığı, tümör dokusunun derecesinin ve klinik evresinin artmasıyla ilişkili bulunmuştur. Yüzeyel kanser türünde mutant p53'ün ifade edilmesi daha azdır ve p53 proteini seviyelerindeki değişiklikler, hastanın prognozu ve sağ kalımın tahmin edilmesiyle ilişkili bulunmuştur. p53 tarafından yapımı uyarılan mdm2 proteinin aşırı üretimi "feed back" mekanizmayla p53'ün kontrolünü sağlamaktadır. Mesane kanserinin tekrarlamasında ve ilerlemesinde p53'ün yanında p21 de önemli rol oynamaktadır. p53, p21'in ifade edilmesini düzenlemek yoluyla da hücre döngüsünü etkilemektedir. p53 değişiklikleri, p21 ifadesinin azalmasına ve sonuçta hücre bölünmesinin düzenlenme mekanizmasının bozulmasına neden olmaktadır. Araştırmacıların bir kısmı, p21'in ekspresyonunun azalmasını, hastalığın tekrarlama hızında artışla ve hayatta kalmanın azalmasıyla ilişkili bulurken⁷⁸ diğerleri bu konunun yeterince açıklıklandığını belirtmişlerdir.⁴¹

Retinoblastoma Geni (Rb)

Rb geni, kromozom 13q14'de lokalizedir ve nükleer bir fosfoprotein olan pRb'yi kodlar. pRb'nin regülasyonu, hücre döngüsünün G1/S kısmında önemli bir kontrol noktası oluşturur. Defosforile haldeki pRb'nin, hücre döngüsündeki fonksiyonu, bir transkripsiyon faktörü olan E2F adlı proteine bağlanarak hücre döngüsünü durdurmaktır. pRb, siklin/Cdk kompleksitaraftan fosfo.⁴² Böylece hücre döngüsünde, DNA sentez fazını (S) yürütecek olan ürünler üretilir. pRb proteininin, Rb geninin mutasyonu ya da delesyonları nedeniyle azalması, pRb'nin ifade edilmemesine neden olur. Ya da bazı tümörlerde pRb'nin yapısal hiperfosforilasyonu Cdk p16'nın ekspresyon kaybından ve/veya siklin D1'in aşırı ekspresyonundan meydana gelmektedir.⁴³ Sonuçta transkripsiyon faktörü E2F-1'in serbest kalması kontrolsüz hücre çoğalmasına neden olmaktadır. Ayrıca Rb lokusundaki heterozigotluk kaybıyla

pRb'nin ifadesinin olmaması arasında kuvvetli bir ilişkili vardır. Mesane kanserlerinin yaklaşık olarak %30'unda Rb geni mutasyonları görülmüştür.⁴⁴ 86 Özellikle kasa invaze tümörlerde pRb'nin immünohistokimyasal olarak tespit edilememesi, tümör derece ve evresinin artmasıyla ilişkili bulunmuştur.⁴⁵

2.2.3.3. Kanserin İlerlemesi

Mesane kanserinin ilerlemesi ve malign fenotip gelişmesi sırasında, hücreler normal hücrelerde olmayan bazı özellikler daha kazanır. Bunlar hücresel hareketlilik, angiogenez gelişmesi, invazyon ve metastazdır.⁴⁶ Malign fenotip gelişimi sırasında kazanılan bu özellikler karsinogenezisin çeşitli evrelerinde ve çeşitli seviyelerde ortaya çıkmaktadır. Malign fenotip, vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF), çeşitli hücresel adezyon moleküllerinin ekspresyon seviyesinin artması/azalmasıyla ve angiogenik faktörlerin aşırı üretilmesiyle kazanılmaktadır.⁴⁷

2.2.3.4. Kromozom 9'da Meydana Gelen Değişiklikler

Mesane kanserlerinin tüm derece ve evrelendirmelerinin %60'ından fazlasında kromozom 9 delesyonları görülmektedir. Yapılan moleküler ve sitogenetik çalışmalara göre kromozom 9 aberasyonları, hastalığın başlangıcında vardır ve hastalığın erken yaşta görülmesiyle ilişkilidir. Yalnız başına kromozom 9 delesyonları, hastalığın ilerlemesiyle nadiren fakat tekrarlamasıyla sıklıkla ilişkilidir.⁴⁸ Mesane kanserli hastalarda yapılan çalışmalarda kromozom 9'un uzun kolunda, en azından bir bölgenin delesyonlu olduğunun bulunması, bu bölgede başka tümör baskılayıcı genler olabileceğini düşündürmektedir.⁴⁹ Çeşitli kanserlerde kromozom 9p21 bölgesinin mutasyona uğramış olması, bir tümör baskılayıcı genin varlığı görüşünü desteklemektedir. Eldeki veriler, bu kromozom üzerindeki siklin bağımlı kinaz 2 (Cdk2: cyclin dependent kinase 2) ya da p16 lokusunu işaret etmektedir ve bu lokuslarda siklin bağımlı kinaz inhibitör proteinleri kodlanmaktadır. Bunlar, pRb'nin fosforilasyonunu önleyerek pRb'nin aktif kalmasını ve hücre döngüsünün G1 fazından çıkışını bloke etmektedir.⁵⁰ pRb fosforilasyonu ile birlikte p16'nın fonksiyon kaybı, hücrenin S fazına geçmesini sağlayarak hücre büyümesindeki düzenlenmenin bozulmasına neden olur.

Ayrıca mesane kanserli hastalarda 9p21’de yer alan INK4A (inhibitör kinaz 4A) /ARF (alternate reading frame) ve INK4B lokuslarında da delesyon olduğu gösterilmiştir. Bu kompleks genomik bölge, hücre döngüsünün negatif kontrolünde görev yapan p16, p14 ARF ve p15 adlı üç farklı proteini kodlamaktadır.⁵¹

2.2.3.5. Mikrosatellit Kararsızlığı

Mikrosatellit kararsızlığı, genom içerisinde yer alan ve belirli sayılarda tekrarlayan küçük nükleotit dizilerinin tekrar sayılarındaki anormal değişikliklere denir. Mikrosatellit dizilerinin tekrar sayılarındaki bireysel farklılıklar, kalıtsal olarak sonraki nesillere aktarılabilir.⁵² Birçok kanser çeşidinde olduğu gibi mesane kanserinde de 1-4 baz uzunluğundaki nükleotit tekrar dizilerinin sayıları genellikle artmıştır. Kanser hücrelerinde birçok gende sıklıkla var olan mikrosatellit değişiklikleri, DNA replikasyon hatalarına neden olmaktadır. Mikrosatellit kararsızlığının neden olduğu DNA replikasyon hatalarının, ekzonların içinde olması halinde, tümör baskılayıcı genler ve onkogenlerde meydana gelen değişiklikler nedeniyle tümör gelişimi ve ilerlemesinde etkili olduğu düşünülmektedir.⁵³ Mikrosatellit kararsızlığının mesane kanserleriyle ilişkisini ortaya koymak amacıyla çeşitli çalışmalar yapılmıştır. Mao ve ark. 96 mesane kanseri tanısı konulan 20 hastanın 19’unda idrarsedimentlerinde mikrosatellit kararsızlığını tanımlamışlardır. Aynı çalışmada, 15 hastada yapılan tümör biyopsisi sonucunda da mikrosatellit kararsızlığı tespit edilmiştir. Ayrıca diğer bazı çalışmalarda, mikrosatellit kararsızlığının kanser gelişiminde ve ilerlemesinde etkili olduğu ortaya konmuştur.⁵⁴

2.2.3.6. Epigenetik Faktörler

Epigenetik düzenlenmeler, aynı gen ve genom dizisine sahip kişilerin hücrelerinin, farklı yapı ve fonksiyon göstermeleri olarak tanımlanabilir. Böylece DNA içeriğinde veya sekansında (genotipte) değişiklik olmaksızın, bireylerde farklı fenotiplerin görülmesi mümkün olabilmektedir.⁵⁵ DNA’nın modifikasyonu (metilasyonu ve histon asetilasyonu), kromatin ve kromozomların düzenlenmesi ve transkripsiyonun kontrol edilmesi epigenetik kontrol mekanizmaları olarak kabul

edilmektedir. Epigenetik düzenlemeler, hücrede gen fonksiyonlarının seçici olarak aktif ya da inaktif edilmesine neden olmaktadır. Bu mekanizmalarda rol oynayan faktörler; DNA metil transferazlar, metil-CpG bağlayan proteinler, histon modifiye eden enzimler, kromatin modelleyen faktörler, transkripsiyon faktörleri ve onların düzenleyicileriyle çeşitli kromozomal proteinlerdir.⁵⁶

2.2.3.7. Anjiyogenez Gelişimi

Tümör büyümesi ve metastaz; “neovaskülarizasyon” veya “anjiyogenez” olarak da ifade edilebilen “yeni damar oluşumu”nu gerektirmektedir. Anjiyogeneizde; vasküler endotelial büyüme faktörü, çeşitli anjiyoproteinler, fibroblast büyüme faktörü, endotelinler, platelet kaynaklı büyüme faktörü, karbonik anhidraz IX, epidermal büyüme faktörü ve “transforming” büyüme faktörü rol oynar. Anjiyogenez, bazal membranın proteolitik enzimlerce yıkılmasıyla başlar; endotel hücre aktivasyonu, proliferasyonu ve göçüyle devam ederek tubul oluşumu, olgunlaşması, damar stabilizasyonu ve ekstrasellüler matriksin yeniden şekillenmesiyle sonuçlanır.⁵⁷ Tümör dokusunun hızlı klonal genişlemesi ve makroskopik olarak büyümesi, tümörün anjiyogenez ve neovaskülarizasyon yeteneğine bağlıdır. Anjiyogenezin gelişimi, anjiyogenezi uyaran ve engelleyen faktörlerin arasındaki dengeye bağlıdır. Anjiyogenezi uyaran faktörler arasında VEGF, asidik fibroblast büyüme faktörü (FGF1) ve temel fibroblast büyüme faktörü (FGF2) vardır.⁵⁸ Yapılan bir çalışmada yüksek VEGF serum seviyelerinin; yüksek tümör derece ve evresi, vasküler invazyonla karsinoma in situ, metastaz ve kötü sağ kalımla önemli derecede ilişkili olduğu gösterilmiştir. Aynı şekilde trombospondin-1 seviyesindeki düşmelerin hastalığın artan tekrarlama hızı, sağ kalma süresinin kısalması ve p53’ün ifadesinin azalmasıyla ilişkili bulunmuştur.⁵⁹ Ayrıca diğer anjiyogenik faktörler olan otokrin hareketlilik faktörü (AMF), AMF reseptörü, siklooksijenaz-2 (COX-2), hyalüronik asit ve bunların parçalanma ürünlerinin üriner salınımı, mesane kanserli hastalarda artmaktadır.

Bu nedenle sözü edilen bu faktörlerin tespit edilmesi, tümörün takibinde önemli olacağını düşündürmektedir. Aynı zamanda, bekleneneği gibi, anjiyogenezin potent inhibitörü olan trombospondin-1’in mesane kanserli hastalarda düşük olduğu görülmüştür. Trombospondin-1, aynı zamanda p53 proteini tarafından pozitif olarak

düzenlenir ve normal p53 fonksiyonunun kaybı, anjiyogenezin inhibisyonunun ortadan kalkmasına neden olur. Bu konuda yapılan bir çalışmada mesane kanserinde, anjiyogenezin normal ürotelyuma göre daha fazla uyarıldığı, mikrodamar yoğunluğunun arttığı ve bu durumun hastalığın ilerlemesiyle ilgili önemli bir belirleyici olduğu gösterilmiştir.⁶⁰ Yapılan bir çalışmada trombospodin-1'in, mesane kanserli hastaların mesanesinde düşük bulunması, hastalığın yüksek tekrarlama hızı ve kısa hayatta kalma süresiyle ilişkili olduğu bulunmuştur. Hipoksi ilişkili protein olan karbonik anhidraz IX (carbonic anhydrase: CA IX), doku pH'sını düzenler ve mesane kanserinde hipoksi belirteci olarak kullanılır.⁶¹ CA IX'in ifadesi, mesane kanserinde VEGF'nin ifadesi ile ilişkilidir ve Ta/T1 tümörlerde, kasa invaze tümörlerden önemli derecede daha fazladır. Ancak yine de CA IX'in önemli bir prognostik değeri yoktur.⁶²

2.2.3.8. Hücre Dışı Matriks ve Hücre Adezyon Molekülleri

Hücre dışı matriks ve hücre adezyon molekülleri, dokularda normalde var olan ve tümör hücrelerinin metastazını önleyen bir çeşit doğal bariyer olarak tanımlanabilir. Hücre adezyon molekülleri ve diğer hücre dışı matriks komponentleri, ürotelyal hücrelerle bazal laminayı birbirine bağladığından buradaki anormallikler, hücresel kümelenmeye ve lokal motilitede değişikliklere neden olabilir. Ayrıca hücrelerarası haberleşmede yer alan birçok molekül, hücre döngüsünün düzenlenmesinde rol oynayan büyüme faktörü reseptörlerinin ifade edilmesini ve işlevlerini etkileyerek ürotelyal karsinogenezde önemli bir yer tutmaktadır.⁶³ Matriks metalloproteinler (MMP), hücre dışı matriksin ve bazal membranın proteolitik olarak parçalanmasını sağlayan ve insan tümörlerinde genellikle fazla ifade edilen bir protein ailesidir.

Yapılan çeşitli çalışmalarda, mesane kanserlerinde MMP-2 ve MMP-9 ifadesinin, tümörün artan derece ve evresiyle birlikte arttığı gösterilmiştir.⁶⁴ CD44, ras aracılığıyla hyalüronik asit cevabı oluşturarak sinyal iletiminde ve hücre-hücre, hücre-matriks etkileşiminde rol oynayan ve hücre yüzeyinde yaygın olarak ifade edilen bir adezyon molekülüdür. CD44 ifadesi, yüzeysel mesane kanserlerinde yüksek olmasına rağmen tümör mesane kas dokusuna invaze olduğunda CD44 seviyesinin düştüğü görülmüş ve bunun alternatif "splicing"e bağlı olduğu değerlendirilmiştir.⁶⁵ Son verilere göre CD44v6- 10'un (alternatif "splicing" ürünü) standart CD44'e oranının, ürotelyal

kanserlerde, açık olarak tümör progresyonuyla ilişkili olduğu görülmüştür. Kaderinler, transmembran glikoprotein ailesidir ve kalsiyuma bağımlı hücre adezyonunda görev yaparlar. Epitel dokuda hücre-hücre adezyonunda önemli rol oynayan kaderinler, hücrelerarası bağlantı ve desmozomların her ikisinin de yapısında yer alır. Hücreler arasındaki birleşme, hücre dışında yer alan E, P ve N kaderinler arasında gerçekleştirilir. E-kaderin, bir tümör baskılayıcıdır ve genel olarak epitelyal tümörlerde ifadesi azalmaktadır. E-kaderinin ifadesinin azalması, mesane kanserli hastaların tamamında; yaşam süresinin kısalması, tümörün tekrarlama riskinin artması ve invazyon yeteneğinin artmasıyla ilişkili bulunmuştur.⁶⁶ Bazı mesane kanserli hastalarda, E-kaderin genindeki mutasyon ve hipermetilasyona bağlı olarak E-kaderin ekspresyonunun azaldığı görülmüştür. Hücre iskeletinde kaderinlere yapışan; alfa, beta ve gama katerinler adlı protein moleküllerinin kaybı da tümörün evre ve derecesinin artmasıyla ilişkili bulunmuştur. İntegrinler, heterodimerik transmembran bir protein ailesidir ve reseptör fonksiyonu görürler. İntegrinler de tıpkı laminin, fibronektin ve kollajen gibi ekstrasellüler matriks komponentleridir.⁶⁷ 1 Alfa-6 beta-4 integrin, normalde ürotelyumun alt membranında yer alır ve hücre göçünde etkili bir bariyer oluşturan hemidesmozomal yapışma kompleksindeki kollojen VII ile ilişkilidir. Mesane tümörü hücrelerinde kollajen VII ile alfa-6 beta-4 integrin ilişkisinin kaybolması belki de kanser dokusunda görülen ürotelyal bariyer fonksiyonun kaybolmasını açıklamaktadır.⁶⁸

2.2.3.9. Mesane Kanseri ve Polimorfizm

Son yirmi yıldır kansere yatkınlık oluşturan genetik faktörleri belirlemeye yönelik yoğun emek sarfedilmiştir. Mesane kanseri oluşumunda çevre, beslenme, yaşam biçimi, cinsiyet gibi faktörlere ek olarak kişinin genetik yapısı da önemli rol oynamaktadır. Toplumda %1'den daha fazla sıklıkla bulunan ve varyasyon (polimorfizm) içeren genlere allel genler denir. Uluslararası İnsan Genomunu Dizileme Projesi ve Uluslararası HapMap (Haplotype Map) Projesi, genetik farklılıkların yeri, sayısı, çeşitleri ve sıklığı konusunda çok sayıda veri kazandırmıştır.⁶⁹ Elde edilen veriler, bireysel genotipik ve fenotipik farklılıktan, genomun %0.1'inin sorumlu olduğunu göstermiştir. Mesane kanserli hastaların genomlarındaki farklılıkların çoğunlukla; tek nükleotit, ikili ve üçlü nükleotit tekrarları, delesyonlar veya insersiyonlar şeklinde

olduğu gösterilmiştir. Hızlı ve ucuz genotiplemeyi sağlayan teknolojilerdeki ilerlemeler sayesinde, çok sayıda aday genlerdeki varyantların kanser riski ile bağlantıları araştırılmaktadır. Mesane kanseri ilişkilendirme çalışmalarında daha çok karsinojen metabolize edici genler, DNA onarım genleri, hücre döngüsünde rol alan genler ve inflamasyon yolağında görevli genler çalışılmıştır.⁷⁰

2.2.3.10. Karsinojen Metabolize Edici Genler ve Polimorfizm

Karsinojenlerin metabolize edilmesi iki fazda oluşmaktadır. Faz I enzimleri genellikle karsinojenleri aktive ederken, Faz II enzimleri genellikle detoksifiye etmektedir. Bu enzimlerin aktivitesi genetik ve çevresel faktörlerce düzenlenmekte olup kanser oluşumunda kişisel farklılıklara neden olmaktadır. Faz I enzimlerinden sitokrom P-450 ailesi polimorfizmleri yoğun olarak çalışılmıştır ancak elde edilen sonuçlar çelişkilidir. Diğer yandan, Faz II genlerinden, N-asetil transferaz2 (NAT2) ve glutat yon S-transferaz (GST) Mu 1 (GSTM1) polimorfizmi ile mesane kanseri arasındaki anlamlı ilişki bildirilmiştir.⁷¹ NAT'lar aromatik ve heterosiklik aminlerin metabolik aktivasyonu katalizler. NAT1 ve NAT2 olmak üzere iki farklı NAT izozimi bulunmaktadır. Genetik varyantlar arasındaki farklılıklar karsinojen metabozmasında bireysel farklılıklara yol açmaktadır. NAT1 polimorfizmi ve mesane kanseri arasında arasındaki ilişkiyi araştıran çalışmalardan anlamlı sonuçlar elde edilememiştir. NAT2 geni çok sayıda polimorfizmi içermekte ve hızlı, orta derece ve yavaş asetilleyiciler olmak üzere üç fenotipe yol açar. Yapılan çalışmalar NAT2 yavaş asetilleyicilerinde mesane kanseri riskinin arttığı ve NAT2 genotipleri ve sigara kullanımı arasında anlamlı bir ilişki bulunduğu bildirilmiştir.⁷² Faz II enzimlerinin önemli bir grubu olan GST'ler; ksenobiyotikler, çevresel kimyasallar ve karsinojen bileşiklerin detoksifikasyonunda önemli role sahiptir.⁷³ GSTM1 benzopüren gibi polisiklik aromatik hidrokarbonların detoksifikasyonunu gerçekleştirir. GSTM1 null genotipli bireylerde, mesane kanseri gelişim riskinin daha yüksek olduğu bildirilmiştir. GSTT1, etilen oksit gibi küçük reaktif hidrokarbonları detoksifiye eder. GSTT1 null genotipi ve mesane kanseri ilişkisini araştıran çalışmalarda çelişkili sonuçlar elde edilmiştir. GSTP1 Ile105Val polimorfizmi, enzimin katalitik aktivitesini değiştirmektedir. Yapılan çalışmalar, GSTP1 Ile105Val polimorfizminin mesane kanseri riskini orta derecede artırdığı

yönündedir.⁷⁴ Nikotinamid adenin dinükleotid fosfat (NADPH) kuinin oksiredüktaz1 (NQO1), kuinoid bileşiklerini daha az zararlı hidrokuoninlere dönüştüren sitozolik bir enzimdir. Pro187Ser tek nükleotit polimorfizmi artan mesane kanseri riski ile ilişkilendirilmiştir. “Epoxide hydrolase-1” (EPHX1) geni polisiklik aromatic hidrokarbonların detoksifikasyon veya aktivasyonunu gerçekleştirir. EPHX1 varyantları uzun sağkalımla ilişkilendirilmiştir. Miyeloperosidaz (MPO), sulfotransferazlar (SULT), UDP-glukoronosiltransferazlar (UGT), katekol-o-metiltransferaz (COMT), manganaz süperoksit dismutaz (MnSOD) ve glutathion peroksidaz 1 (GPX1) gibi karsinojen metabolizmasıyla ilişkilendirilebilecek genlerdeki polimorfizmler de çalışılmıştır.⁷⁵ Ancak elde edilen sonuçlar çelişkilidir ve herhangi bir sonuca götürmemektedir. Bu polimorfizminin mesane kanseri ile ilişkisini tam olarak orta koymak için farklı popülasyonlarda ve daha geniş olgu-kontrol gruplarında çalışılması gerekmektedir.

2.2.3.11. DNA Onarımı ve Polimorfizm

DNA onarımında görevli genlerin polimorfizmlerinin, bireylerin DNA onarım yeteneklerini değiştirebilme kapasiteleri nedeniyle, mesane kanseri riskini modifiye edebilecekleri düşünülmektedir. Son zamanlarda yayınlanan iki meta analizde, nükleotit eksizyon onarımında rol alan Xeroderma pigmentosum C (XPC) geni Ala499Val varyantının mesane kanseri riskini artırdığı bildirilmiştir.⁷⁶ Wu ve ark. 140 XPD Asp312 allelinin, mesane kanseri riskini %28 artırdığını bildirmiştir. Gao ve ark. 141 ise XPD 751 Gln allelinin, mesane kanseri gelişimi ile ilişkisini göstermiştir. Sak ve ark. 142 XRCC1 geni 280His allelinin sigara içenlerde homozigot varyant ile karşılaştırıldığında mesane kanseri riskini artırdığı belirtmiş; ancak, son zamanlarda yayınlanan bir meta analizde, mesane kanseri ve XRCC1 polimorfizmleri arasında anlamlı bir ilişki olmadığı bildirilmiştir. Wang ve ark. 3086 mesane kanserli hasta ve 2140 kontrolün dahil edildiği bir meta analizde, XRCC3 Thr241Met homozigot varyantı ile mesane kanseri arasında anlamlı bir ilişki bulmuşlardır.⁷⁷

2.2.3.12. Hücre Döngüsü ve Polimorfizm

Hücre döngüsü kontrol noktaları, kanser gelişiminde önemli rol almaktadır. Hücre döngüsünün en önemli denetleyicilerinden biri tümör baskılayıcı p53 genidir. DNA hasarına yanıt olarak p53 gen ürünü aktive olur ve hücre döngüsünü durdurur.⁷⁸ p53 Arg72Pro polimorfizmi mesane kanseri riski ilişkisi açısından en yoğun çalışılan hücre döngüsü kontrol geni polimorfizmlerinden biridir ve çelişkili sonuçlar elde edilmiştir. p53 geni 3. intronunda yer alan 16 bp'lik duplikasyon polimorfizminin mesane kanseri riskini azalttığı bildirilmiştir. MDM2 geni p53'e bağlanan ve inhibe eden çekirdek fosfolipoproteindir. Türkiye'de yapılan bir çalışmada MDM2 SNP309 GG genotipinin mesane kanseri riskini önemli derecede artırdığı gösterilmiştir.⁷⁹

2.2.3.13. İnflamasyonla İlişkili Genler ve Polimorfizm

Kronik inflamasyonun bazı kanserlerde rol oynadığı gösterilmiştir. COX/PTGS2 3'UTR bölgesinde yer alan tek nükleotit polimorfizminin mesane kanseri için koruyucu olduğu bildirilmiştir. IL8RB varyantlarının normal varyantlarla karşılaştırıldığında mesane kanserini azalttığı bildirilmiştir.⁸⁰

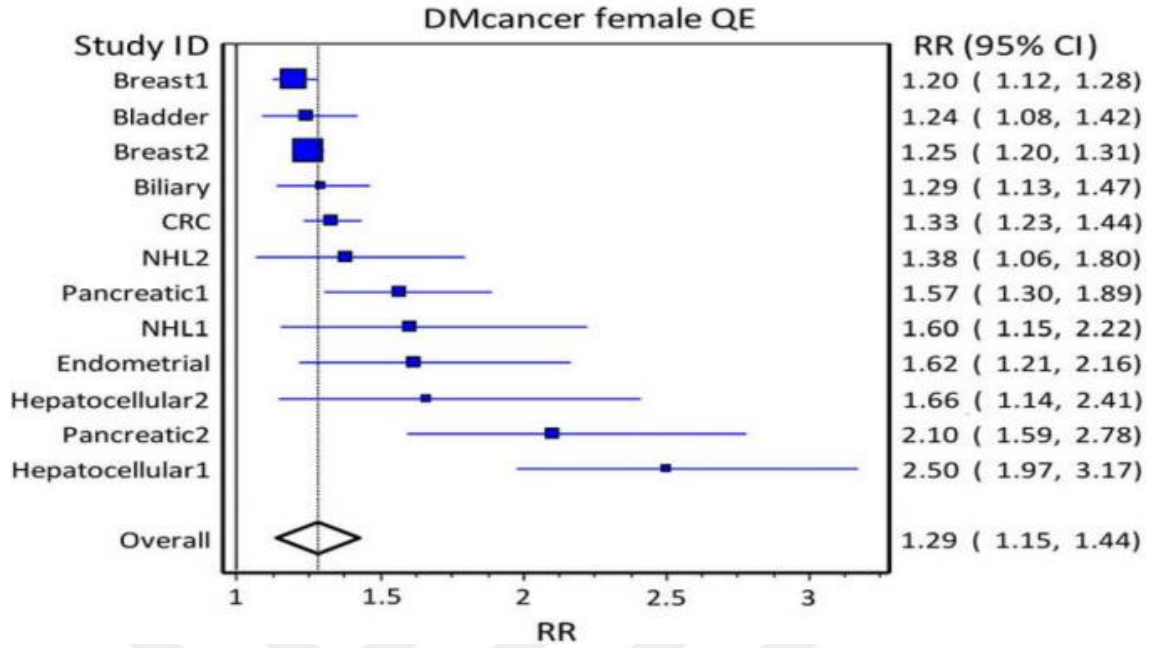
2.2.3.14. Apoptotik Genler ve Polimorfizm

Tümöral hücrelerde apoptozis mekanizmalarındaki denetimin bozulması, malign özellikteki kanser oluşumunda önemli aşamalardan birisidir. Andrew ve arkadaşları yaptığı geniş bir çalışmada, CASP9 gen varyantları ile kısa sağkalım arasında anlamlı bir ilişki olduğunu bulmuşlardır. Özetle, bireylerdeki genetik polimorfizmlere bağlı farklılıklar, mesane kanseri gelişme riskini değiştirebilmektedir.⁸¹ Bazı polimorfik alleler mesane kanseri riskini arttırmakta, bazıları bu riski azaltmakta, bazıları yalnızca çevresel bir faktörün (kimyasal maddeler, sigara vb.) etkisi altında iken bu riski modifiye edebilmekte, bazılarının ise mesane kanseri geliştikten sonra sağkalım üzerine etkisi olabilmektedir. Mesane kanseri gelişimi ve sağkalım üzerine etkili genlerin ve polimorfizmlerinin bilinmesi, erken tanı ve tedavide yol gösterici olabilir.⁸²

2.3. Diyabet ve Kanser

Diabetes mellitus (DM), prevalansı giderek artan ve insan sağlığını ciddi şekilde tehdit eden en önemli kronik hastalıklardan biridir.⁸³ Dünya Sağlık Örgütünün istatistiklerine göre 2000 yılında tüm dünyada 171 milyon olarak bildirilen DM'lu hasta sayısı günümüzde 400 milyona ulaşmıştır ve 2030'da bu rakamın 552 milyona ulaşacağı tahmin edilmektedir. Komplikasyonları ile önemli morbiditeye neden olmasının yanı sıra tüm mortalite nedenleri arasında 7. sıradadır ve görülme sıklığındaki artışın mortalite ve morbidite oranlarını önemli ölçüde etkileyeceğı düşünölmektedir.⁸⁴ DM'a benzer şekilde kanser prevalansı da gün geçtikçe artmaktadır ve mortalite sıralamasında 2. basamakta yer almaktadır. Her iki hastalık arasındaki ilişkiye dair ilk bulgu 1934'te DM'lu hastalarda pankreas kanseri sıklığının DM'u olmayan bireylere kıyasla daha yüksek olduğunun fark edilmesi ile elde edilmiştir. Sonrasında çeşitli klinik ve epidemiyolojik araştırmalarda DM'li bireylerde çeşitli solid ve hematolojik malinitelerin riskinde artış tespit edilmiştir. Risk artışı pankreas, karaciğer ve endometrium kanserinde en yüksek olmakla birlikte, kolorektal kanser, meme kanseri, jinekolojik kanserler, böbrek ve mesane tümörleri sıklığı da DM'li bireylerde daha yüksek bulunmuştur. Buna karşın prostat kanseri riski DM'li hastalarda daha düşüktür.⁸⁵ Çok sayıda epidemiyolojik veri bulunmasına karşın DM ve kanser riski ilişkisinin temel nedenleri konusunda soru işaretleri bulunmaktadır. DM'li hastalarda artmış kanser sıklığı her iki hastalığın benzer patogenetik özellikleri paylaşmasından mı kaynaklanmaktadır, yoksa DM'la birlikte bulunan obezite, hiperlipidemi, insülin direnci gibi metabolik bozukluklar kanser gelişme riskinden asıl sorumlu olan faktörler midir? DM tedavisinde kullanılan bazı ajanların kanser gelişme riski üzerindeki etkileri ve bunun tersi şekilde bazı antitümöral ajanların diyabetojenik etkileri mevcut ilişkinin yorumunu ve etyopatogenezi daha karmaşık hâle getirmektedir.⁸⁶

Tablo 2. Diyabet&Cinsiyet&Kanser



Tablo 3. Diyabet ve kanser riski

Cancer origin	Analyzed studies	RR (95% CI)
Liver	13 case-control studies	2.50 (1.8-3.5)
	7 cohort studies	2.51 (1.9-3.2)
Pancreas	17 case-control studies	1.94 (1.53-2.46)
	19 cohort studies	1.73 (1.59-1.88)
Kidney ^a	1 cohort study	1.50 (1.30-1.70)
	1 cohort study	2.22 (1.04-4.70)
Endometrium	13 case-control studies	2.22 (1.80-2.74)
	3 cohort studies	1.62 (1.21-2.16)
Colon/rectum	6 case-control studies	1.36 (1.23-1.50)
	9 cohort studies	1.29 (1.16-1.43)
Bladder	7 case-control studies	1.37 (1.04-1.80)
	3 cohort studies	1.43 (1.18-1.74)
Non-Hodgkin's lymphoma	11 case-control studies	1.12 (0.95-1.31)
	5 cohort studies	1.41 (1.07-1.88)
Breast	5 case-control studies	1.18 (1.05-1.32)
	15 cohort studies	1.20 (1.11-1.30)
Prostate	9 case-control studies	0.89 (0.72-1.11)
	10 cohort studies	0.81 (0.71-0.92)

Diyabet ve kanser benzer mekanizmaları kullanır:

A) İnsülin Direnci ve Hiperinsülinemi

İnsülin direnci tip 2 DM'lu hastalarda siktır ve hiperinsülinemi bunun bir sonucudur. İnsülinin, sinyal iletimini sağlayan 2 tip reseptörü mevcuttur: İnsülin reseptörü (IR) -A ve IR-B. IR-A'nın IGF-1 ve IGF- 2'ye affinitesi daha yüksektir; IR-B ise başlıca glukoz homeostazının sağlanmasında rol oynamaktadır.⁸⁷ İnsülin hücre büyümesi ve proliferasyonu üzerindeki etkilerini IR-B'ye bağlanarak gerçekleştirmektedir. Ayrıca insülin insülin-benzeri büyüme faktörü-1 (IGF-1) reseptörünün (IGF-1R) hepatik ekspresyonunu ve IGF-bağlayıcı proteinin hepatik klirensini arttırarak kandaki serbest ve dolayısıyla aktif IGF-1 düzeyini arttırır. IGF-1'in IGF-1R'ne bağlanması sonucu hücre büyümesi stimüle olur. Aslında insülin IGF-1 reseptörüne bağlanarak da etki göstermektedir ama IR-A'ya affinitesi, IGF-1 reseptöründen 1000 kat daha fazladır.⁸⁸ IR-A ve IGF-1 tümör hücrelerinde sık eksprese edilmektedir. Deneysel modellerde her iki reseptörün down-regülasyonunun tümöral büyümeyi inhibe ettiği gösterilmiştir. İnsülin/IGF aksının aktivasyonu sonrası 2 önemli sinyal yolağı uyarılır. Bunlardan ilki karsinogenezde, tümöral hücre büyümesinde ve proliferasyonunda rol alan temel sinyal yolağı olan fosfoinozitol 2 kinaz (PI3K) /protein kinaz B (Akt) /Mammalian target of rapamycin (mTOR), fokhead box O ve Ras/MAPK yolağıdır. Diğer ise özellikle kemoterapötiklere dirençden sorumlu olan β -catenin sinyal yolağı aktivasyonudur.⁸⁹ İnsülin direnci ile karakterize tüm durumlarda (tip 2 DM, obezite, metabolik sendrom gibi) ortaya çıkan hiperinsülineminin tüm bu mekanizmalar sonucu kanser gelişimi ve progresyonunda rol oynadığı düşünülmektedir.⁹⁰ İnsülinin direkt etkileri dışında obez ve tip 2 DM'lu bireylerde karsinogeneze katkısı olduğu düşünülen diğer faktörler arasında yağ dokusu kökeni sitokinler [rezistin, tümör nekroz faktör- α (TNF- α), interlökin-6 (IL-6)], serbest yağ asitleri ve bazı vasküler faktörler bulunur.⁹¹



B) Hiperglisemi

Hiperglisemi dolaşımda normalin üstünde glukoz konsantrasyonu olarak tanımlanır ve DM'inkarakteristik bulgusudur.⁹² Tip 2 DM'da hipergliseminin temel nedeni pankreatik β hücrelerinde yetersiz insülin yapımı iken, tip 2 DM'de asıl neden insülin direncidir. Artmış glukoz kullanımı malign hücrelerin iyi bilinen bir özelliğidir. Kanser hücrelerinde artmış glukoz metabolizması "Warburg etkisi" olarak bilinir ve 1956'da Warburg tarafından tümöral hücrelerde anaerobik glikolizin ileri düzeyde arttığının gösterilmesi ile tanımlanmıştır. Bu açıdan bakıldığında hiperglisemi tümöral hücreler için âdeta bir "yakıt pompası" görevi yaparak daha hızlı proliferasyonu uyarmaktadır.⁹³ Bazı deneysel çalışmalarda da hipergliseminin tümöral büyümeyi ve proliferasyonu arttırdığı ve insülin tedavisinin bu durumu tersine çevirdiği görülmüştür. Buna karşın pankreatik β hücre harabiyeti ile tip 1 DM ve buna bağlı hiperglisemi oluşturulmuş deneysel çalışmalarda tümöral büyümenin tersine azaldığı saptanmıştır. Bu durum hipergliseminin tek başına değil, ancak ortamda bulunan insülin varlığında karsinogeneze katkıda bulunduğunu düşündürmektedir, ancak bu hipotez henüz doğrulanmamıştır.⁹⁴ Aşırı miktarda şeker alımının hücre proliferasyonunu arttırdığı ve dolaşımdaki yüksek glukoz düzeylerinin kanserli hastalarda kötü prognostik faktör olduğuna dair veriler mevcuttur.⁹⁵ Buna karşın son yapılan bir metaanaliz, tümör hücrelerinin kandaki glukoz düzeyinden bağımsız olarak yüksek oranda glukoz kullanımına devam ettiklerini ve diyabetik hastalarda daha iyi glisemik kontrolün kanser riskini azaltmadığını ortaya koymuştur. Hipergliseminin karsinogenezde rol oynayan anahtar yollardaki moleküller (epidermal büyüme faktörü, protein kinaz C, peroksizom proliferatör-aktive reseptörler, siklin-bağımlı kinaz 2, siklin A ve E, RET geni), antiapoptotik mekanizmalar (hipoksiyle-uyarılan faktör-1 α , sitokrom-c), hücresel migrasyon ve invazivlik (epitelyal-meekimal transizyon, E-cadherin, reaktif oksijen radikalleri, çinko) ve epigenetik değişiklikler[früktoz 1.6 bifosfataz enziminin epigenetik sessizleşmesi, nuklear faktör- $\kappa\beta$ (NF- $\kappa\beta$) ve "hiperglisemik bellek"] üzerinden kanser biyolojisine katkıda bulunduğu düşünülmektedir.⁹⁶

C) Kronik inflamasyon

İnflamasyonun kanser gelişimini ve progresyonunu tetiklediğine dair bilgiler tutarlıdır. Kronik inflamasyon genetik instabiliteye yol açarak malign transformasyona

eğilimi ve kanser gelişim riskini arttırmaktadır. Non-steroid anti-inflamatuarların (NSAİ) bazı kanserlerin gelişim riskini azalttığına gösterilmesi bu bulguyu desteklemektedir.⁹⁷ İnflamatuar yolların elemanları olan IL-6, TNF- α , siklooksijenaz-2, C-reaktif protein ve NF- κ B tümör baskılayıcı fonksiyonları azaltmakta ve onkogen ekspresyonunu arttırmaktadır. DM kronik inflamasyonla seyreden hastalıkların bir “prototip”idir ve diyabete bağlı komplikasyonların tümünde inflamasyonun rol oynadığı bilinmektedir.⁹⁸ DM’da inflamasyonla yan yana giden bir diğer kronik faktör ise oksidatif strese ve inflamatuvar sürecin tüm evrelerine eşlik etmektedir. Reaktif oksijen radikalleri protein ve lipid yapılarına ve DNA’ya zarar vererek karsinogenezi başlatmaktadır. Tip 2 DM’deki insülin direnci ve hiperinsülinemi subklinik pro-inflamatuar bir kaskadı başlatarak uzun vadede kanser gelişimine eğilimi arttırabilir.⁹⁹

D) Diğer faktörler

Hiperinsülinemi seks hormon-bağlayıcı proteinin hepatik yapımını azaltarak dolaşımdaki biyoaktif östrojen düzeyini arttırabilir. Postmenopozal kadınlarda östrojenin temel yapım yeri yağ dokusudur. Obezite ile birlikte vücut yağ kitlesinin artışı ve gelişen hiperinsülinemi östrojen düzeyini arttırarak kanser gelişimine eğilimi arttırabilir. Ayrıca obezitede artmış adipositlerden açığa çıkan TNF- α ve IL-6 inflamatuvar sürece katkıda bulunur. Obezitede artmış leptin düzeyi hem hiperinsülinemiye yol açarak hem de direkt olarak proliferatif, antiapoptotik ve angiogenik etki göstermektedir. Bir antiinflamatuar molekül olan adiponektin de obez bireylerde sıklıkla düşüktür ve kanser gelişimi ilişkilidir.¹⁰⁰

DM’li hastalarda çeşitli kanserlerin görülme sıklığı artmıştır;

1. Pankreas kanseri:

Yalnızca prospektif çalışmaları içeren bir meta-analizde dolaşımdaki glukoz düzeyindeki her 0.56 mmol/L artışın pankreas kanseri sıklığını %14 arttırdığı bildirilmiştir. DM’un pankreas kanseri için bağımsız bir risk faktörü olduğu birçok çalışmada bildirilmiştir, ancak bu çalışmaların hepsi retrospektiftir.¹⁰¹ Yakın zamandaki bir meta-analizde DM, pankreas kanseri riskinde artışla ilişkili bulunmuştur [rölatif risk (RR) 1.97]. Erken DM’da (tanı sonrası ilk 1 yıl) risk en yüksek iken (RR 6.69) iken, uzun vadede (DM tanısından sonraki 10. yılda) risk azalmaktadır (RR 1.36) Meta-

analizlerdeki temel sorun mevcut çalışmalar arasında ileri derecede heterojenite olmasıdır.¹⁰² Bir diğer önemli sorun ise DM'un pankreas kanserinin nedeni mi yoksa sonucu mu olduğunun netleştirilememesidir ("ters nedensellik") Pankreas kanserinde gelişen DM, pankreatik β hücre yetersizliğine ve en önemlisi de periferik insülin direncine bağlıdır.¹⁰³ Buna karşın tip 2 DM'deki hiperinsülinemi sonucu pankreatik duktal hücreler, adacık hücrelerine yakınlıklarından dolayı yüksek derecede insüline, dolayısıyla da insülinin mitojenik etkisine maruz kalmaktadır. Meta-analizlerin altgrup analizlerinde DM ile pankreatik kanser arasındaki ilişkinin vücut kitle indeksi (BMI) ve insülin direncinden (ve dolayısıyla da metabolik sendromdan) bağımsız olduğu belirtilmiştir. Ancak son bir metaanalizde BMI ile pankreatik kanser riski arasında ilişki saptanmıştır. Öte yandan çalışmalarda daha önceden mevcut olan ve yeni tespit edilen DM'un birbirinden kesin sınırlarla ayırt edilememesi diğer bir karıştırıcı faktördür.¹⁰⁴

Birçok çalışmadaki hasta gruplarında tip 1 DM ve tip 2 DM ayırımı yapılmamıştır. Tüm bu nedenler nedensellik konusunda kesin yorumda bulunmayı güçleştirmektedir.¹⁰⁵

2. Karaciğer kanseri:

DM ile kanser arasındaki ilişkiyi inceleyen çalışmalarda en yüksek risk hepatosellüler karsinoma (HCC) aittir. Birçok epidemiyolojik çalışmada, tip 2 DM'un HCC gelişme riskini 2-3 kat arttırdığı gösterilmiştir.¹⁰⁶ Risk non-alkolik steatohepatit, hepatit C ve hepatit B'li olgularda en yüksektir. Karaciğer portal ven yoluyla endojen insüline en fazla maruz kalan organlardan biridir ve hiperinsülinemi durumunda uyarılan IGF-1'in karaciğerde hücresel proliferasyonu arttırarak apoptozu inhibe ettiği ve karsinogenezi tetiklediği in vitro, in vivo ve epidemiyolojik çalışmalarda gösterilmiştir. Bunun yanında insülin direnci sonucu ortaya çıkan inflamatuvar sitokinler hepatosteatoza yol açarak HCC'ye zemin hazırlamaktadır.¹⁰⁷

3. Kolorektal kanser:

Kohort çalışmaları içeren bir çok meta-analizde tip 2 DM'lu hastalarda kolorektal kanser riskinin arttığı gösterilmiştir (RR 1.2-1.3 arasındadır) İki meta-analizde ise DM'lu hastalarda kolorektal kansere bağlı mortalitenin daha yüksek ve hastalıksız-sağkalımın daha kısa olduğu bildirilmiştir.¹⁰⁸ DM'e bağlı risk artışı cinsiyet, coğrafi

farklılıklar, BMI, fiziksel aktivite, sigara öyküsü, tümör lokalizasyonu ve diyabetin süresinden bağımsız görünmektedir. Buna karşın çalışmaların tümünde ailede kolorektal kanser öyküsü, multivitamin ve NSAİ kullanımı, diyet özellikleri gibi confounding faktörlerin tümüyle dışlanmadığı unutulmamalıdır. Diyabetik hastalarda kolorektal kanser riskinin artışı açıklayan olası nedenler hiperinsülinemi ve IGF-1'in mitojenik etkisi, diyabetik hastalarda sık gözlenen yavaşlamış bağırsak peristaltizmi ve konstipasyona sekonder uzamış bağırsak transit zamanına bağlı olarak bağırsak mukozasına daha fazla karsinojen ve toksin maruziyetidir. Ayrıca çok sayıda gözlemsel çalışma ve metaanaliz DM'lu hastalarda insülin tedavisinin kolorektal kanser riskini arttırdığını bildirmiştir.¹⁰⁹

4. Meme kanseri:

Meme kanseri kadınlarda en sık görülen kanserdir ve kanser ölümlerinin ikinci en sık nedenidir. DM ve meme kanserinin her ikisi de yaş ve obezite gibi risk faktörlerini paylaşmaktadır.⁵³ Bir çok metaanalizde tip 2 DM'un meme kanseri riskini ve kanser-spesifik mortaliteyi arttırdığı bildirilmiştir. Bunlar içerisinde son yayınlanan ve 40 çalışmayı içeren meta-analizde DM'un meme kanseri riskini %20 arttırdığı belirtilmiştir. Çalışmaların çoğunda DM'un tipinin belirtilmemiş olması, antidiyabetik tedavilerin (en önemlisi insülin ve metformin) ve BMI inkarıştırıcı (confounding) etkisinin dışlanamaması kesin ilişkiyi yorumlamayı sınırlandıran faktörlerdir.¹¹⁰ Meme kanseri dokusunda insülin ve IGF ile uyarılan yüksek oranda IR-A eksprese edilmektedir. Gerek in vitro, gerekse in vivo çalışmalarda insülinin normal meme dokusu hücrelerinde ve meme kanseri hücrelerinde proliferasyonu uyardığı gösterilmiştir. Hiperinsülinemi seks hormon bağlayıcı protein düzeyini düşürerek serbest, biyoaktif östrojen düzeyini ve bunun yanında östrojen reseptörü ekspresyonunu arttırmaktadır. İnsülin direnciyle ilişkili medyatörler olan TNFα ve IL-6 da normal ve meme kanseri hücrelerinde proliferasyona yol açmaktadır. Tip 2 DM'lu hastalarda sık görülen bir özellik olan obezite, özellikle postmenopozal kadınlarda yağ dokusu kaynaklı östrojen üretimi yoluyla meme kanseri riskini arttırmaktadır.¹¹¹

5. Prostat kanseri:

DM ile prostat kanseri riski arasında ters orantılı bir ilişki mevcuttur. Son yayınlanan bir metaanalizde 24 olgu-kontrol ve 32 kohort çalışmayı içeren 140.000 prostat kanserli hasta ve 8000000 olgu incelenmiş, DM'lu hastalarda prostat kanseri riski için RR 0.88 bulunmuştur. İlginç olarak risk coğrafi açıdan farklılıklar göstermektedir (Asyalılarda risk yüksek bulunmuş [RR 1.72], buna karşın Amerika ve Avrupalılarda düşük risk [RR sırasıyla 0.82 ve 0.86] saptanmıştır) Bir diğer metaanalizde ise DM'un prostat kanseri için koruyucu etkisinin hastalığın farklı evreleri ve gradları için de geçerli olduğu bildirilmiştir (düşük-gradlı ve lokalize hastalığı olanlarda DM'un koruyucu etkisi biraz daha yüksektir).¹¹² DM'lu hastalarda prostat kanseri riski daha düşük gibi görünmesine karşın, prognoz açısından aynı şeyi söylemek olası değildir. DM'li prostat kanserli hastalarda DM'u olmayan hastalara kıyasla rekürrens, tedavi başarısızlığı, hastalığa spesifik mortalite ve tüm nedenlere bağlı mortalite daha yüksek bulunmuştur. DM'un prostat kanserinden koruyuculuğunu açıklayan olası mekanizmalar:¹ DM'lularda prostat kanseri için bir büyüme faktörü olan testosteron düzeyinin daha düşük olması,² diyabetin prostat taraması ve dolayısıyla prostat boyutu ve PSA üzerindeki etkileri,³ antidiyabetik ajanların (metformin) koruyucu etkisi ve diyabete bağlı vasküler hasarın prostatta kanser gelişimi üzerindeki koruyucu etkisidir.¹¹³

6. Böbrek ve mesane kanseri:

DM ile böbrek kanseri arasındaki ilişkiyi araştıran çalışmaları içeren iki meta-analizin sonuçları, DM'un böbrek kanseri riskini arttırdığını göstermiştir. Bunlardan ilkinde, DM'lu hastalarda böbrek kanseri riski DM'u olmayanlara göre %40 daha yüksek bulunmuştur. Risk azaltımı cinsiyet, BMI, sigara ve alkol kullanımından bağımsızdır (risk azaltımı kadınlarda erkeklerden biraz daha yüksektir) Diğer metaanalizde de benzer şekilde DM'lularda risk %42 daha yüksektir. Pozitif risk renal hücreli karsinoma spesifik değildir ve tüm böbrek kanserleri için geçerlidir. Bununla birlikte, mortalitede artış saptanmamıştır.¹¹⁴ Diğer birçok metaanalizde olduğu gibi burada da DM'lu hastalar arasında tip ayırımı yapılmamış olması, çalışmaların tümünün gözlemsel oluşu ve genellikle renal hücreli karsinoma odaklanması (seçim biası) nedenselliğin yorumunu güçleştirmektedir. DM ile böbrek kanseri riskindeki artışın olasılıkla hiperinsülinemi ve IGF-1'in mitojenik etkisi, DM'da sık görülen

hipertansiyon ve diyabetik nefropati/renal yetersizliğe bağlı olarak artan karsinojen ve reaktif oksijen radikallerinin böbrek üzerindeki karsinojenik etkilerinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Yirmi yedi kohort ve 9 olgu-kontrol çalışmasını içeren bir meta-analizde DM'lu bireylerde mesane kanseri riski %35 daha yüksek bulunmuştur. Pozitif ilişki yalnızca erkeklerde mevcuttur. (RR 1.38) Buna karşın, bir diğer meta-analizde risk yalnızca kadınlarda yüksektir. (RR 1.23) Hiperinsülinemi ve diyabetik hastalarda sık görülen üriner infeksiyonlar mesane kanseri riskinin artışından sorumlu tutulan mekanizmalardır.¹¹⁵

7. Diğer kanserler:

On yedi prospektif ve 12 retrospektif çalışmayı içeren bir meta-analizde DM, endometrial kanser için bağımsız bir risk faktörü olarak bulunmuştur. (RR 1.89) Bir diğer meta-analizde de benzer sonuç bildirilmiştir, buna karşın her iki meta-analizde de DM'un mortalite üzerindeki etkisi tartışmalıdır. DM'un endometrial kanser riskini artırıcı etkisinde meme kanserine benzer mekanizmalar geçerli görünmektedir. Over kanseri riski üzerindeki etkisi ise daha düşüktür. (RR 1.17) DM'un mide kanseri riski üzerindeki etkisine dair çeşitli meta-analizlerde RR 1.14 ile 1.60 arasında değişmektedir.¹¹⁶ Risk kadınlarda ve doğu Asyalılarda daha belirgindir. Mide kanseri özellikle diyetel faktörler, obezite ve en önemlisi *Helicobacter pylori* ile yakın ilişkilidir. DM'lularda *H. pylori* infeksiyonu sağlıklı bireylere göre daha sık görülmektedir ve diyabetiklerde artmış reaktif oksijen radikalleri *H. pilorinin* yol açtığı DNA hasarını ve epitelyal hücre proliferasyonunu arttırmaktadır. Akciğer kanseri açısından değerlendirildiğinde ise son yayınlanan bir meta-analiz DM'un akciğer kanseri için bağımsız bir risk faktörü olduğunu bildirmiştir. (RR 1.11), ancak risk artışı yalnızca kadınlarda mevcuttur. İlginç olarak kadınlarda aynı miktarda sigara içen erkeklere göre risk daha yüksektir, bu da hormonal farklılıkların akciğer kanseri riski üzerindeki etkilerini akla getirmektedir. DM'lu hastalarda hematolojik malinite riski de artmıştır. Meta-analiz sonuçları non-hodgkin lenfoma (özellikle periferik T-hücreli lenfoma), miyelom ve lösemi riskinin arttığını bildirmektedir.¹¹⁷

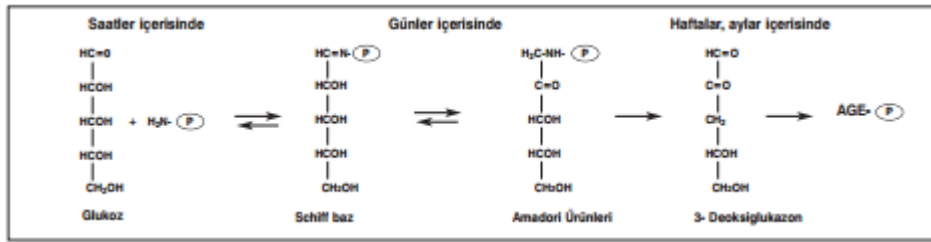
2.4. Age (Advanced and Glycation Product)

Diabetes mellitus (DM)'da gözlenen karbohidrat, yağ ve protein metabolizmasındaki anormalliklerin temelinde insülinin hedef dokulardaki etkilerinin eksikliği vardır. Diyabetin metabolik sorunlarının yanı sıra, bu hastaların uzun dönem hiperglisemiye maruz kalmaları nefropati, nöropati, retinopati ve ateroskleroz gibi mikrovasküler ve makrovasküler komplikasyonların gelişmesine de neden olmaktadır. Komplikasyonlar özellikle glukozun insülininden bağımsız olarak hücre içine girdiği kalp, sinir sistemi, küçük kan damarları gibi dokularda daha sık görülmektedir.¹¹⁸ Kanda yüksek seyreden şeker düzeyleri sonucu oluşan ileri glikasyon son ürünlerinin (advanced glycation end-products↔AGE) bu komplikasyonların gelişiminde rol oynadığı düşünülmektedir. AGE, diyabetin kronik komplikasyonlarının dışında, romatoid artrit gibi konnektif doku hastalıklarında, Alzheimer gibi nörolojik hastalıklarda ve son dönem böbrek yetmezliği (end stage renal disease↔ ESRD) gibi birçok patolojik durumda karşımıza çıkabilmektedir.¹¹⁹

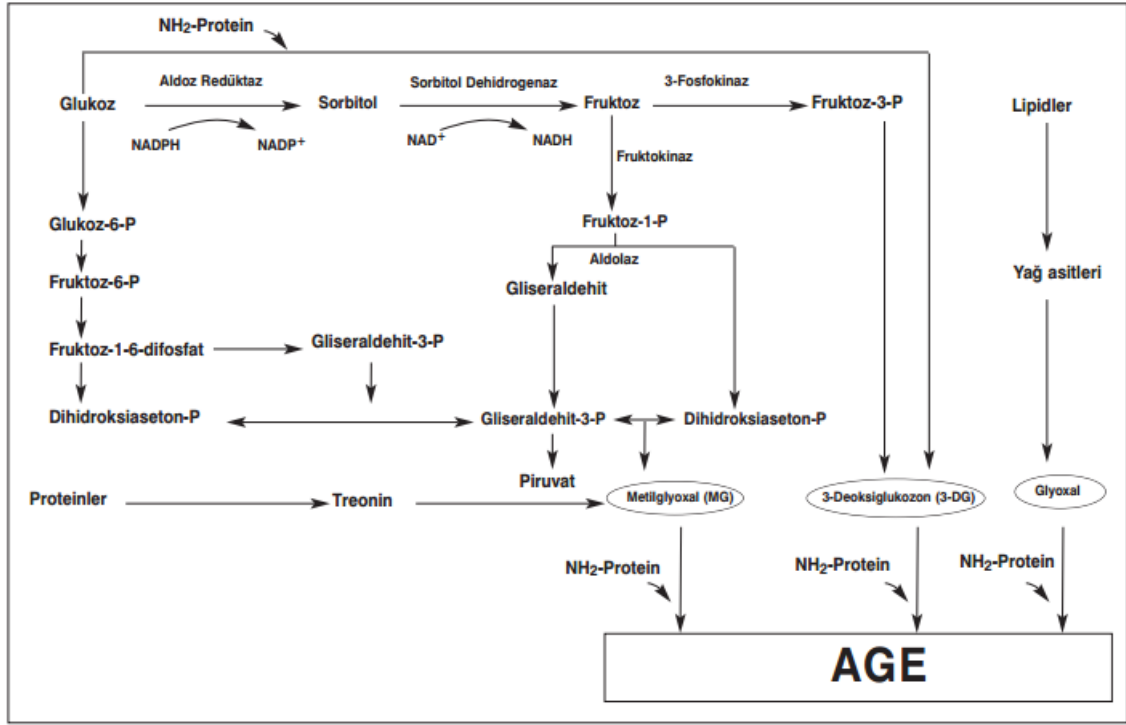
AGE Oluşum Mekanizması:

AGE'ler, proteinler, lipoproteinler ve/veya nükleik asitlerde bulunan azotlu grupların, indirgeyici şekerlerin karbonil grupları ile nonenzimatik glikasyonu sonucu oluşan heterojen bileşiklerdir. AGE ürünleri ilk kez 1912 yılında Louis Camille Maillard tarafından tanımlanmıştır. AGE'ler ilk kez gıda kimyasında kullanılmış, daha sonraları ise 1968 yılında HbA1c'nin diyabetik hastalarda keşfi ile AGE'ler araştırılmaya başlanmıştır. Protein glikasyonu, şekerin karbonil grubu ile proteinin serbest amino grubunun Schiff bazı oluşturmasıyla başlamaktadır. Schiff bazı oluşumu saatler içerisinde gerçekleşmekte ve sonrasında günler içerisinde Amadori ürünlerine dönüşmektedir.¹²⁰ Amadori ürünleri ise daha sonra dikarbonil bileşiklerine ve sonrasında da haftalar içerisinde AGE'lere dönüşmektedir. Amadori ürünlerinin oluşumuna kadar olan bölüm geri dönüşümlü iken, daha sonraki evreler ise geri dönüşümsüzdür. Glikasyon, özellikle erken dönemlerde daha fazla olmak üzere konsantrasyon bağımlıdır, bu sebeple diyabette yapımı artar. AGE oluşumunda diğer bir mekanizma ise diyabette artmış olan oksidatif strese bağlı olarak şeker veya lipidlerin oksidasyonu sonucunda ara ürün olarak reaktivitesi yüksek 3-deoksiglukozon, glyoxal

ve metilglyoxal gibi düşük moleköl ağırlıklı dikarbonil bileşiklerinin oluşumudur.¹²¹ Dikarbonil bileşikler genel olarak glikoliz ara ürünlerinden, glikasyona uğramış proteinlerin degradasyonundan ve lipidlerin peroksidasyonundan oluşabilmektedir. Bu yollara ilave olarak metilglyoxal, keton cisimlerinin metabolizması ve treonin katabolizması yollarıyla da az miktarda oluşabilmektedir. Dikarbonil bileşikler yüksek kimyasal aktiviteye sahiptir ve çok küçük konsantrasyonlarda bile direkt olarak proteinlerin terminal aminoasit rezidüsüyle reaksiyona girerek AGE oluşumuna yol açabilmektedir. AGE oluşumunda önemli diğer bir mekanizma ise polyol yolağıdır. Diyabete bağılı olarak ortaya çıkan yüksek miktarda glukozun bir kısmı önce sorbitole, sonrasında ise bir AGE ara ürünü olan 3-deoksi- glukozon'a dönüşüp AGE oluşumuna katılmaktadır.¹²²



Şekil 6. Proteinlerin glikasyonu ve AGE oluşumu



Şekil 7. Karbonil bileşikler ve AGE'nin oluşum mekanizmaları

Ancak bu reaksiyonlar da NADPH ve glutatyonun tüketimine yol açtığından dolayı dolaylı olarak oksidatif stresin artmasına da yol açmaktadır. AGE oluşumunda bu şekilde pek çok mekanizmanın rol oynaması AGE'lerin heterojen bir yapıya sahip olmasına yol açmaktadır. Bu yollar dışında diyetle aldığımız gıdalar ve tütün ürünleri reaktif AGE prekürsörlerini içermektedir. Gıdalardaki AGE'lere karşılaştırma amacıyla bakıldığında gıdaların yüksek derecede pişirilmesinin (ızgara, kızartma) AGE seviyesini anlamlı olarak artırdığı, düşük derecede, kısa süreli ve bol su ile pişirmenin ise AGE'yi azalttığı gösterilmiştir.¹²³ Heterojen yapıya sahip bu AGE'ler kimyasal yapılarına göre 3'e ayrılır; 1. Floresans çapraz bağlı AGE'ler; 'pentosidine' ve 'crossline' 2. Non-floresans çapraz bağlı AGE'ler; 'glucosepane' ve 'MOLD' 3. Çapraz bağ yapmayan AGE'ler; 'N- Karboksimetil lizin (CML)' ve 'Pyrraline'

AGE'lerin Genel Özellikleri:

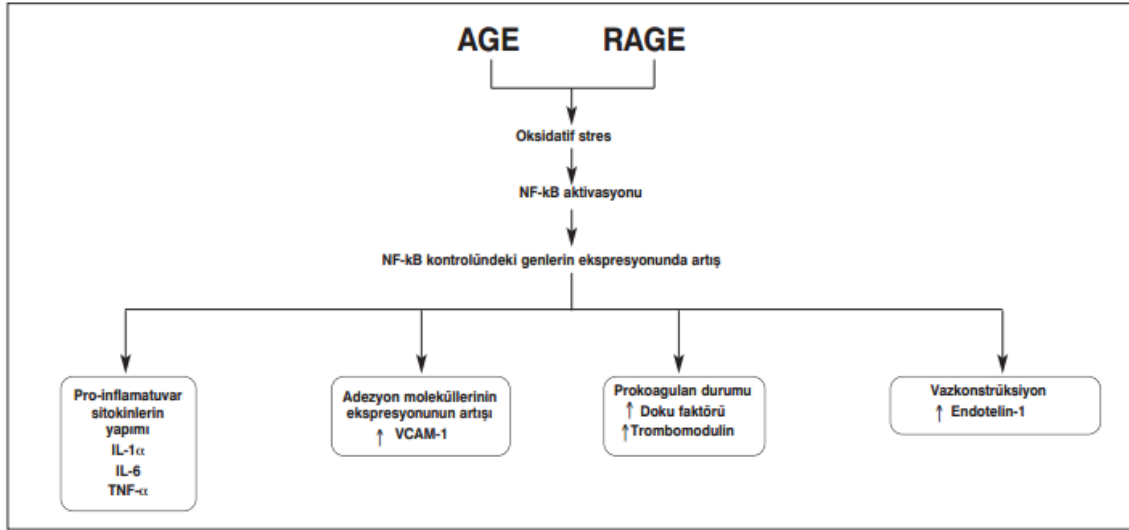
AGE oluşumunda etkili faktörler; proteinlerin yapım yıkım hızı, hiperglisemi derecesi ve çevresel oksidan stresin miktarı ve yaygınlığıdır. AGE oluşumu haftalar süren bir süreç olduğu için genellikle uzun ömürlü proteinleri etkiler. Proteinlerdeki

lizin, histidin, arginin amino asitleri glikasyona daha hassastır. Son dönem böbrek yetmezliği gibi yüksek düzeyde AGE oluşumunun olduğu durumlarda nükleik asit ve lipid bileşenler de AGE oluşumuna katılırlar. Glikasyon miktarı hiperglisemi derecesine bağlı olduğundan hem hücre içinde, hem de hücre dışında oluşabilir. İndirgeyici şekerler içerisinde glukoz en düşük glikasyon yapma oranına sahipken fruktoz, treoz, gliseraldehit-3-fosfat ve glukoz-6- fosfat gibi şekerler daha yüksek glikasyona neden olma oranına sahiptir.¹²⁴

AGE Etki Mekanizmaları ve AGE Reseptörleri:

AGE'ler temelde diyabet komplikasyonlarında iki şekilde rol almaktadır. Bunlardan birincisi; özellikle ekstrasellüler matriksin yapısındaki proteinler arasında çapraz bağlar oluşturarak matriks yapısını ve fonksiyonlarını bozmak, ikincisi ise; AGE'lerin birtakım hücrelerde bulunan reseptörlerine bağlanması sonucunda çeşitli sinyal yollarını aktive ederek çeşitli transkripsiyon faktörlerinin ve sitokinlerin sentezine ve salınımına yol açılmasıyla pek çok metabolik değişikliklere neden olmasıdır.¹²⁵ AGE'ler başlıca; ileri glikasyon son ürünleri için reseptörler (receptor for advanced glycation endproducts↔RAGE), çöpçü reseptörler (Class A, CD36, class B tip1, LOX-1, FEEL-1, FEEL-2), AGE-R1 (oligosakkaril transferaz-48), AGE-R2, AGE-R3 (Galektin-3) isimli reseptörlere bağlanmaktadır. Bu reseptörler içerisinde en çok incelenmiş olanı RAGE'dir ve IgG süperailisinin bir üyesidir. Başlıca mononükleer fagositler, endotel hücresi, düz kas hücresi ve astrositlerde bulunur, ancak normal damar ve dokularda çok az eksprese edilirler. RAGE, AGE'ler dışında inflamatuvar sitokinler, amfoterin, amiloid-β ve diğer fibriler proteinler ile uyarılabilir. RAGE ekspresyonu diyabet ve inflamasyonda artar.¹²⁶ RAGE'nin hücre dışı kısmı V tipi bölge ve C tipi bölge olmak üzere 2 bölgeden oluşur. V tipi bölge, ligand bağlanmasından sorumlu iken C tipi bölge, V tipi bölgenin stabilitesini sağlar. Bu kısmı takip eden transmembran bölge ise reseptörün membrana çapalanmasını sağlar. Transmembran bölgenin ucunda ise küçük bir intrasitoplazmik kuyruk bulunur; bu kısım hücre içi sinyalizasyonu sağlayan kısımdır. 3 farklı RAGE izoformu mevcuttur. Bunlar; full-length RAGE, solubl RAGE (sRAGE) ve dominant negatif RAGE (DNAGE)'dir. Bu 3 tip reseptörün temel farkı full-length RAGE dışındakilerde intrasitoplazmik kuyruğun olmamasıdır. Dolayısıyla hücre içi sinyalizasyonu sadece full-length RAGE yapabilir. Bu özellik

sebebiyle DNRAGE ve sRAGE AGE etkilerini baskılayıcı tarzda etkilidir. AGE'nin reseptörü olan RAGE'ye bağlanması ile NAD (P) H oksidaz, p21ras, mitojen ile aktive edilen protein kinaz (MAPKs), hücre dışı sinyal ile regüle edilen kinaz 1/2, p38, Cdc42 ve Rac gibi GTPazların hücre içi sinyal yollarını uyarması NF κ B'yi aktive eder. NF κ B'nin aktivasyonu ise inflamatuvar sitokinlerin, adezyon moleküllerinin ve çeşitli mediyatörlerin ekspresyonuna sağlar. NF κ B'nin aktivasyonu ile çöpçü reseptörler, AGE-R1, AGE-R2, AGE-R3 reseptörleri de AGE bağlar ancak RAGE gibi sinyal iletimi başlatmaz ve AGE'lerin detoksifikasyon ve klirensini sağlar.¹²⁸



Şekil 8. AGE-RAGE etkileşimi ve NF- κ B aktivasyonu sonucu oluşan değişiklikler

AGE Ölçüm Yöntemleri:

Erken glikasyon ürünlerinin (Amadori ürünleri) ölçümü, diyabetik hastalarda metabolik kontrolü değerlendirmek için kullanılmaktadır.¹²⁹ Bu amaçla en çok kullanılan parametrelerden birisi glikozile hemoglobin (HbA1c) düzeylerinin tesbitidir. HbA1c düzeyleri glukozla maruz kalan son 4-8 haftalık dönemde gerçekleşen glikasyonu temsil etmektedir ve glukoz düzeyleri ile lineer korelasyon göstermektedir. HbA1c ölçümünde çeşitli yöntemler kullanılmıştır. Glikolize hemoglobin düzeylerinin belirlenmesi için kolorimetrik yöntem, elektroforetik yöntem, izo-elektrofokus yöntemi, immünometrik yöntemlerin kullanılması denenmiştir. 1993 yılında American Association for Clinical Chemistry (AACC) tarafından yüksek basınçlı sıvı

kromatografisi high performance liquid chromatography (HPLC) referans metod olarak tavsiye edilmiştir. International Federation of Clinical Chemistry (IFCC) ise kütle spektrometri yöntemi ile referans HbA1c standartları hazırlatılarak rutin HbA1c ölçümünü önermiştir.¹³⁰ Daha erken dönemdeki glikasyon ürünlerinin değerlendirilmesinde glikasyona uğramış serum proteinleri de kullanılmaktadır ve son 2 haftalık dönemdeki glisemik kontrolü yansıtmaktadır. Bu amaçla en sık olarak fruktozamin düzeyleri kullanılmaktadır, ancak bu yöntem askorbik asit ve glutatyon gibi serumdaki diğer indirgeyici ajanlar ile interferans verebilmektedir.¹³¹ Bunun dışında aynı dalga boyunda ölçüm yapılan trigliserid ve bilirubin düzeylerinin yüksek olduğu hastalarda hatalı yüksek sonuçlar verebilmektedir. Ara dönem (intermediate) glikasyon ürünlerinin değerlendirilmesinde metil glioksal, glioksal ve 3-deoksiglukozon düzeylerinin ölçümü kullanılmaktadır. Metil glioksal ve glioksal ölçümleri için HPLC ve gaz kromatografi/kütle spektrometri (gas chromatography/mass spectrometry, GC/MS) yöntemleri kullanılabilir. Ancak reaktivitesinin yüksek olması sebebiyle 3-deoksiglukozonun HPLC yöntemi ile ölçülmesi zordur. AGE düzeylerinin ölçümünde ise, AGE'nin yapısı dolayısıyla ilk zamanlarda spektroskopik ve florometrik yöntemler kullanılmaktaydı. Ancak bu yöntemlerin spesifitesinin düşük olması sebebiyle poliklonal antikorlardan yararlanarak RIA ve ELISA gibi immünometrik yöntemler kullanılmaya başlanmıştır. Kimyasal yapısının karmaşıklığı, AGE'nin net yapısının ortaya konmasını güçleştirmektedir. Yapısı belirlenmiş olan AGE'lerden pentosidinin HPLC ile ölçümü yapılabilmektedir, ancak ticari olarak kullanılabilen bir standartı henüz yoktur.¹³² CML düzeylerinin ise ELISA, immunohistokimya, ve kolorimetrik yöntemlerle ölçümü yapılabilmektedir. Pyrralin düzeyleri ise ELISA yöntemi ile, eğer yüksek konsantrasyonlarda ise HPLC yöntemiyle ölçülebilmektedir. Günümüzde SRAGE düzeylerinin ölçümünde ELISA, CML düzeylerinin ölçümünde ELISA, kolorimetrik yöntem, immunohistokimya ve Western-blot yöntemlerini kullanarak çalışan ticari kitler mevcuttur. Bunlar dışında cilt otofloresans yöntemi gibi dokudaki CML, pentosidin düzeylerinin değerlendirilmesinde kullanılan, invaziv olmayan ve uzun dönem glisemik düzeyleri yansıtan bir yöntem geliştirilmiştir. Cilt otofloresansı diyabet ve ESRD için kardiyovasküler mortalitenin belirtecidir.¹³³

Tablo 4. Erken, ara ve ileri glikasyon son ürünlerinin ölçüm yöntemleri

Dönem	Ölçülen analit	Ölçüm yöntemi
Erken dönem glikasyon ürünleri	Fruktozamin	Kolorimetri
Amadori ürünleri	HbA1c	HPLC, kolorimetri, immünometri, kütle spektrometresi (MS)
Ara dönem ürünleri	Metil glioksal, glioksal ve 3 deoksiglukozon	HPLC ve gaz glikasyon kromatografi/mass spektrometri (GC/MS)
AGE	CML, pentosidin	ELISA, HPLC, RIA, kolorimetri, florometri, immunhistokimya, western blot, otofloresans

AGE Tedavi:

AGE oluşumunun, çapraz bağ oluşumunun ve AGE'nin etkilerinin önlenmesinde çeşitli tedavi seçenekleri denenmiştir. Bunlardan bazıları; AGE yapımının inhibisyonu (Aminoguanidin, OPB-9195, LR türevleri, pridoksamin), Çapraz bağ kırıcılar (PTB, ALT-711, 'Pyridinium-3-[[2- (methylsulfonyl) hydrazino] carbonyl]-1-[2-oxo-2-2-thienyl) ethyl]-chloride' (TRC4186), '3-benzyloxycarbonylmethyl- 4-methyl-thiazol-3-ium bromide' (C36), RAGE blokajı (sRAGE, RAGE antikorları), AGE klirensi (Lizozim), Eksojen AGE maruziyetinin azaltılması (Beslenme alışkanlıklarında değişiklik, AST-120), Antioksidan aktivite ve/veya metal şelasyonu yapanlar (aspirin, ibuprofen, indometazin, D-penisilamin, desferoksamin ve flavonoidler ve piaglitazon), Diğer yöntemler (Aldoz redüktaz inhibitörleri, anjiyotensin reseptör blokerleri, metformin, tiamin ve benfotiamin) Yapılan çalışmalarda ileri glikasyon inhibisyonunun diyabetik nefropati, retinopati ve nöropati komplikasyonlarını azaltıcı etkileri saptanmıştır.¹³⁴ AGE yapımının inhibisyonu için kullanılan ilaçlar içerisinde ilk denenmeye başlanan bir nükleofilik hidrazin bileşiği olan aminoguanidindir (AG) AG, bir hidrazin (-NHNH₂) ve bir guanidin grubundan [-NH-C (=NH)] oluşur ve dikarbonil bileşikleri ve Amadori ürünleri gibi glukozdan türeyen ara ürünlerle reaksiyona girer ve AGE oluşumunu önler. Erken glikasyon ürünlerinin oluşumunu ise engellemez. Bunun yanında başta iNOS olmak üzere ve konsantrasyon arttıkça diğer NOS türlerini de inhibe etmektedir. Ayrıca yüksek dozlarda antioksidan özellik göstermektedir. Bu etkilerine ilave olarak diyabetik hastalarda 1gr/gün dozda AG kullanımının serum kolesterol, trigliserid ve LDL-kolesterol düzeylerini azalttığı gösterilmiştir.¹³⁵ Tip 1 diyabetin hayvan modelinde yapılan çalışmalarda AG'in mezengial genişleme ve

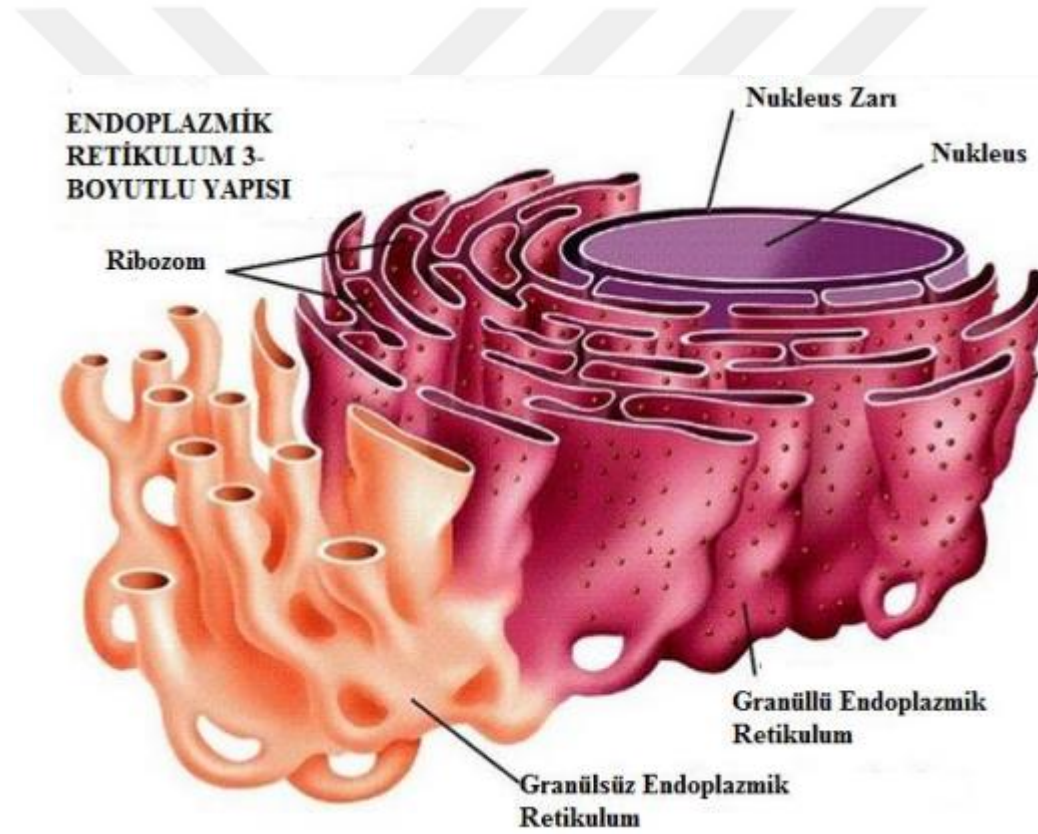
albuminüriyi azalttığı görülmüş. Benzer şekilde tip 2 diyabetin hayvan modellerinde de mezengial genişleme, albuminüri ve bazal membran kalınlaşmasını önlediği gösterilmiştir. Sıçanlarda streptozotosin ile oluşturulan diyabet modelinde ise AG kullanımının üriner albumin atılımını azalttığı ve glomerüler bazal membran kalınlaşmasını önlediği gösterilmiştir. Yine sıçanlarda streptozotosin ile oluşturulan diyabet modelinde cilt yapısında diyabete bağlı oluşan değişikliklerin AG tedavisiyle önlediği gözlenmiştir. Ayrıca yapılan bazı çalışmalarda diyabetik sıçanların böbrek kortekslerindeki artmış lipid peroksidasyonunun AG kullanımıyla azaldığı rapor edilmiştir.¹³⁶ Diyabetik sıçanlarda yapılan çalışmalarda, AG kullanımının retinal damarlardaki anormal endotel hücre proliferasyonunu ve perisit kaybını önlediği, bununla beraber sinirlerdeki kan akımındaki azalma ve sinir iletim hızındaki yavaşlamayı önlediği gösterilmiştir. Tip 1 diyabetli 690 kişide yapılan ACTION I çalışmasında serum kreatinin düzeylerinde artış gözlenmesi sebebiyle çalışma sonlandırılmıştır.¹³⁷ Tip 2 diyabetiklerde yapılan başka bir çalışma da güvenlik endişeleri ve AG'in etkinliğinin görülmemesi sebebiyle sonlandırılmıştır. Ancak grip benzeri semptomlar, glomerülo nefrit, karaciğer fonksiyon testlerinde anormallikler, B6 vitamin eksikliği, nadiren vaskülit ve anemi gibi yan etkilerin yanı sıra bir kısım hastalarda miyeloperoksidaz ve antinötrofil antikorlarının gözlenmesi sebebiyle çalışmalar sekteye uğramıştır. OPB-9195, tiyazolidin türevidir. Mekanizması AG ile aynıdır ancak AG'den çok daha etkili dikarbonil bileşiklerini tutmaktadır. Yapılan çalışmalarda TGF- β ve VEGF ekspresyonunu azaltarak glomerüler sklerozu, glomerülde AGE birikimini ve albuminüriyi azalttığı gösterilmiştir.¹³⁸ Yapılan klinik çalışmalar ise OPB- 9195'nin vitamin B6 eksikliğine yol açması sebebiyle durdurulmuştur. TRC4186 ise bir klorid tuzudur. TRC4186 ile yapılan hayvan çalışmalarında kardiyak disfonksiyon gelişimini yavaşlattığı ve renal disfonksiyonun şiddetini azalttığı gösterilmiştir. TRC4186 ile yapılan çalışmalar faz II aşamasındadır ve umut vericidir.¹³⁹ Bir tiazolyum bileşiği olan C36 ise etkinlik ALT-711 ile aynı iken LD50 değeri ise ALT-711'den çok daha düşüktür ve çalışmalar devam etmektedir³³. Yakın zamanda AGE oluşumu ve glikasyonu inhibe eden 3 aromatik bileşik geliştirildi. LR-90, LR-9, LR-74 birden fazla evrede etkili olan glikasyon inhibitörleridir ve AG'den daha etkilidirler. Diyabetik sıçanlarda membran kalınlaşmasını ve mezengial genişlemeyi önleyerek diyabetik nefropati gelişimini önlemede umut verici sonuçlar

vermişlerdir. Bununla beraber ekstrasellüler dokudaki kollajen içerisindeki protein çapraz bağlarını azalttığı görülmüştür. LR-9 ve LR-74'ün ayrıca cilt kollajenindeki CML miktarlarını azalttığı ve LDL oksidasyonunu azalttığı görülmüştür.¹⁴⁰ Pridoksamin bir B6 vitamin türevidir ve Amadori ürünlerinin AGE ürünlerine degradasyonunu inhibe etmektedir. Sıçan modellerinde renal hipertrofiyi ve retinal lezyonları önleyip hiperlipidemiye azalttığı da görülmüştür. Çapraz bağ kırıcılar içerisinde ise ilk denenen bileşik Phenyl-thiazolium-bromide (PTB)'dir in vitro deneylerde dokularda AGE birikimini azalttığı gözlenirken, proteinüri üzerinde ve ciltteki çapraz bağlı kollajenler üzerinde bir etkisi gözlenmemiştir.¹⁴¹ Ancak bu etkisizlik fizyolojik sıvılardaki dayanıksızlığından kaynaklanmaktadır.³⁶ ALT-711 hipertansiyon ve kalp yetmezliği gibi kardiyovasküler hastalıklar için geliştirilmiş ve hayvan çalışmalarında büyük arterlerdeki rijiditeyi azalttığı, kardiyak outputu artırdığı, ateroskleroz gelişimini azalttığı gösterilmiştir. Bunlara ilave olarak STZ ile diyabet oluşturulmuş farelerde ALT-711 ile tedavi sonucunda RAGE ekspresyonunda, renal CML birikiminde ve TGF- β salınımında azalma tesbit edilmiştir.¹⁴² Hayvan modellerinde diyabetik vaskülopatide RAGE'nin rolü derinlemesine incelenmekte ve diyabetik vaskülopati gelişiminde AGE-RAGE etkileşiminin önemli bir yeri olduğunu ileri sürülmektedir. sRAGE, RAGE'nin ekstrasellüler ligand bağlanma bölgesine sahip formudur ve diyabetik hayvan modellerinde diyabetik aterosklerozda görülen hızlanmış vasküler değişiklikleri baskıladığı görülmüştür. Bununla beraber sRAGE ile yapılan çalışmalarda diyabetteki yara iyileşmesini hızlandırdığı, inflamatuvar hücrelerin migrasyonunu artırırken tümör nekroz faktör- α (tumor necrosis factor alpha, TNF- α), interlökin -6 (interleukin-6, IL-6), matriks metalloproteinaz 2-3-9 (matrix metalloproteinase, MMP) gibi sitokinlerin salınımını azalttığı görülmüştür. sRAGE ile yapılan çalışmalara ilave olarak RAGE antikorlarının db/db farelerde uygulanması ile yapılan çalışmalarda 2 hafta sonunda albuminüri, mezengial genişleme, bazal membran kalınlaşmasında azalma ve kreatinin klirensinde düzelme tesbit edilmiştir.¹⁴³ Buna benzer sonuçlar Tip 1 diyabet modellerinde de tesbit edilmiştir. Ayrıca diyabetik farelerde sRAGE uygulaması sonucunda VCAM-1, TGF- β , fibronektin ve tip IV kollajen ekspresyonunun azaldığı ve damarda AGE birikiminin önlenerek ateroskleroza baskıladığı gösterilmiştir. Diyetle beraber alınan AGE'lerin absorpsiyonunun inhibisyonunda oral adsorbent olan AST-120'nin kullanılması kronik renal yetmezliğin ilerlemesini azaltmaktadır. Kronik renal

yetmezliği olan non-diyabetik bireylerde AST-120 kullanımı AST-120'nin CML'ye bağlanmasına ve serum AGE düzeylerinin azalmasına yol açmaktadır. Birçok in vitro çalışmada aspirin, ibuprofen, indometazin, Dpenisilamin, desferoksamin ve flavonoidlerin kullanımının AGE oluşumunu inhibe ettiği rapor edilmiştir. Bu inhibisyonda olası mekanizma oksidatif stresin bu ajanlar tarafından azaltılmasıdır. Ancak diklofenak aynı zamanda erken glikasyon ürünlerini de inhibe etmektedir.¹⁴⁴ Tiyazolidinedion türevi olan piaglitazon ile yapılan in vitro çalışmalarda ise piaglitazonun dikarbonil bileşikleri tuttuğu ve metal şelasyonu yaptığı görölmüştür. Diyabete bağlı hiperglisemi durumunda fazla glukoz, aldoz redüktaz yolu aracılığı ile fruktoz oluşumu yolağına sapar ve sonrasında glioksal, metilglioksal ve 3-deoksiglukozon türevlerine dönüşür. Diyabetik sıçanlarda epalrestat gibi aldoz redüktaz inhibitörleri (ARI) kullanımı, lenste pentosidin düzeylerini azaltırken ekstrasellüler matrikste çapraz bağlanmış AGE birikimini önlemektedir. Ayrıca diyabetik hemodiyaliz hastalarında lipid peroksidasyonunu azalttığı görölmektedir. Bu hastalarda imidazolon ve CML düzeylerinin azalması hem sorbitol yolunun inhibisyonuna, hem de lipid peroksidasyonunun inhibisyonuna bağlı olabilir çünkü CML'nin bir kısmı lipid peroksidasyonu sonucunda oluşmaktadır.¹⁴⁵ Yapılan bir takım çalışmalarda antihipertansif ajan olan olmesartan (Anjiotensin II reseptör blokeri) ve temocaprilat (angiotensine converting enzyme inhibitörü) kullanımının AGE düşürücü etkler gösterdiği görölmüştür. Bu ajanların karbonil bileşikleri tutarak etki yapabileceği düşünülmektedir. Bu ajanların 2 oksidatif basamağı etkileyerek de yapabileceği düşünülmektedir. Biguanid bileşiği olan metforminin Tip 2 diyabetlilerde kullanımının kandaki metilglioksal düzeylerini azalttığı tesbit edilmiştir. STZ ile diyabet oluşturulmuş sıçan modelinde ise metformin kullanımının lens, siyatik sinir ve renal korteksde artamış AGE düzeylerinin plazma haricinde azaldığı tesbit edilmiştir.¹⁴⁶ Metforminin bu etkiyi metilglioksal ve diğer dikarbonil bileşikleri tutarak yapabileceği düşünülmektedir. Benfotiamin B1 vitamini türevi olup kullanımı transketolaz aktivitesini artırarak pentoz fosfat yolunu stimüle eder. Bu yolağın aktivasyonu ise vasküler hasardan sorumlu tutulan heksosamin yolağı, hücre içi AGE oluşum yolu ve DAG/Protein kinaz C yolaklarının etkilerinin azalmasına yol açar. Hayvan deneylerinde yüksek doz tiamin ve benfotiamin kullanımının ise transketolaz aktivitesini artırırken albuminüriyi azalttığı gösterilmiştir.¹⁴⁷

2.5. Endoplazmik Retikulum Stresi

Endoplazmik retikulum (ER), hücre dışına gönderilecek salgı ve sentez proteinlerin ve membran yapısındaki proteinlerin sentezinin ve katlanmasının gerçekleştiği membrandan köken alan ağ yapısında bir organeldir. Protein sentezi için kalite kontrol merkezidir. ER, Granüllü ve Granülsüz olmak üzere iki yapıdan oluşmaktadır. Granüllü ER, üzerinde bol miktarda yer alan ribozomlardan dolayı bu ismi almaktadır. Hücre dışına gönderilecek olan ve bazı organellerde görev alan proteinleri sentezler. Granülsüz ER de yapısında az miktarda ribozoma sahiptir. Lipit sentezi ve hücre içi kalsiyum deposu olarak işlev görmektedir.¹⁴⁸

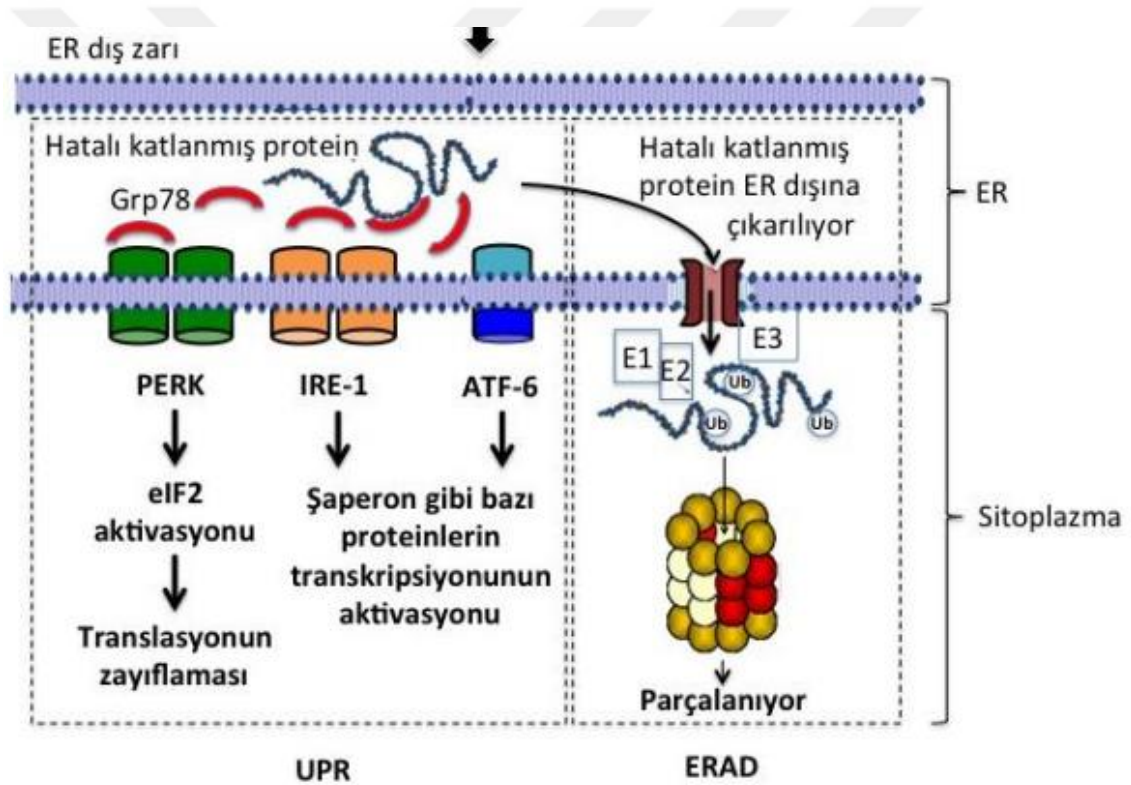


Şekil 9. Endoplazmik retikulumun 3 boyutlu yapısı

ER'ye gelen yeni sentezlenmiş protein çeşitli değişimlere uğramadan katlanamaz. Bu sebeple posttranslasyonel değişimlerin bazıları (N glikozilasyon, disülfid oluşumu, hidroksilasyon, oligomerizasyon) ER'de meydana gelir¹⁴⁹ Ca²⁺ deposu olan ER protein katlanması ve transportundaki işlevi sebebiyle aynı zamanda Ca²⁺ bağımlı 3 moleküler

şaperonlara (GRP78, GRP94, kalretikülin) sahiptir.¹⁵⁰ ER’de proteinlerin düzgün katlanmasına yardımcı eden moleküler şaperonlar bulunmaktadır. Proteinlerin doğru katlanmasına yardımcı eden bu moleküller ayrıca çok iyi kalsiyum tamponlayıcı proteinlerdir ve işlevleri için de kalsiyuma ihtiyaç duymaktadırlar.¹⁵¹ Protein katlanmasının hatalı olup olmadığını, hatalı katlama olduysa düzeltilmesi, eğer düzeltilemezse hatalı katlanan proteinlerin yıkıma gönderilmesi ER’nin. ER stresi adı verilen bu stresler ER’nin protein katlama kapasitesini azaltmaktadır ve katlanmamış proteinlerin lümende birikmesine sebep olmaktadır. Proteinlerin lümende birikimi hücreler için zararlı etkiye yol açar ve hücreye zarar verir.¹⁵² Sonuç olarak ER stresıyla bağlı olarak çeşitli hastalıklar yani; tip 2 diyabet ve obezite gibi metabolik hastalıklar, parkinson, alzheimer, hungtungton gibi nörodejeneratif hastalıklar gibi çeşitli patofizyolojik durumları meydana gelmektedir. Bir hücrenin stresi anlaması, buna cevap vermesi ve stresi en aza indirmesi homeostazın sağlanması için önemlidir. ER stresini düzenlemek için hücreler UPR diye isimlendirilen sinyal yollarından oluşan kaskadı işleve sokmaktadır.¹⁵³ UPR katlanmamış proteinlerin lümende birikimini en aza indirmek için buna yanıt meydana getirir ve ER’nin normal işlevini düzenler. Eğer adaptif yanıt sağlanamazsa ve katlanmamış protein birikimi devam ederse çevredeki dokuya zarar vermemek için hücre apoptozise yönlendirilir yani hücre ölüme terk edilir.¹⁵⁴ Endoplazmik retikulum ökaryotlarda protein katlanmasına sebep olan en önemli organeldir. Kompleks yapıdaki proteinler ER’de katlanırken sitoplazmada daha basit yapıdaki proteinlerde katlanma görülür.¹⁵⁵ Endoplazmik retikuluma gelen yeni sentezlenmiş protein farklı modifikasyonlar geçirmeden katlanmaz. ER, protein sentezi için denetim merkezi olarak tanımlanabilir. Protein katlanmasının doğru olup olmadığı, yanlış katlanmalar olduysa düzeltilmesi, eğer düzeltilemezse yanlış katlanan proteinlerin yıkıma gönderilmesi ER’nin işlevidir.¹⁵⁶ ER üzerinde artan metabolik etki, organelin işlevini düzgün yerine getirememesine neden olabilir. Enfeksiyon, hipoksi, kimyasal toksinlere maruz kalma, aşırı lipid birikimi, besin yetmezliği ve çeşitli genetik bozukluklar gibi biyolojik koşullar ER homeostazisini bozabilir ve katlanmamış ya da hatalı katlanmış proteinlerin lümende birikmesi sonucunda ortaya çıkan hücresel cevaba ER stresi denir.¹⁵⁷ ER stresi meydana geldikten sonra, hücrede homeostazi yeniden sağlamak ve stresten en az zararla kurtulmak için katlanmamış protein cevabını (UPR) ve bir takım hücre içi sinyal yollarını etkinleştirmektedir. UPR üç farklı yoldan

meydana gelir. ER stresine karşı cevabı başlatan üç farklı ER transmembran proteini (IRE1, PERK ve ATF6) bu yollarda görev alır.¹⁵⁸ ER Stresinin Moleküler Mekanizması; UPR sinyal yolu, ER’de katlanmamış ya da yanlış katlanmış proteinlerin lümende birikmesi sonucunda meydana gelen bir cevaptır. UPR aktivasyonunu etkileyen etmenler şunlardır; Normal ER mekanizmasını yeniden düzenlemek ve değişen çevreye adaptif yanıtı sağlamak, ER lümenine gelecek yeni sentezlenen proteinlerin miktarını en aza indirmek, ER’de proteinlerin katlanma miktarını arttırmak, ER’de bulunan katlanmamış ya da hatalı katlanmış proteinlerin ERAD ile yıkılması ve tekrar sitoplazmaya dönüşünü sağlamaktır.¹⁵⁹

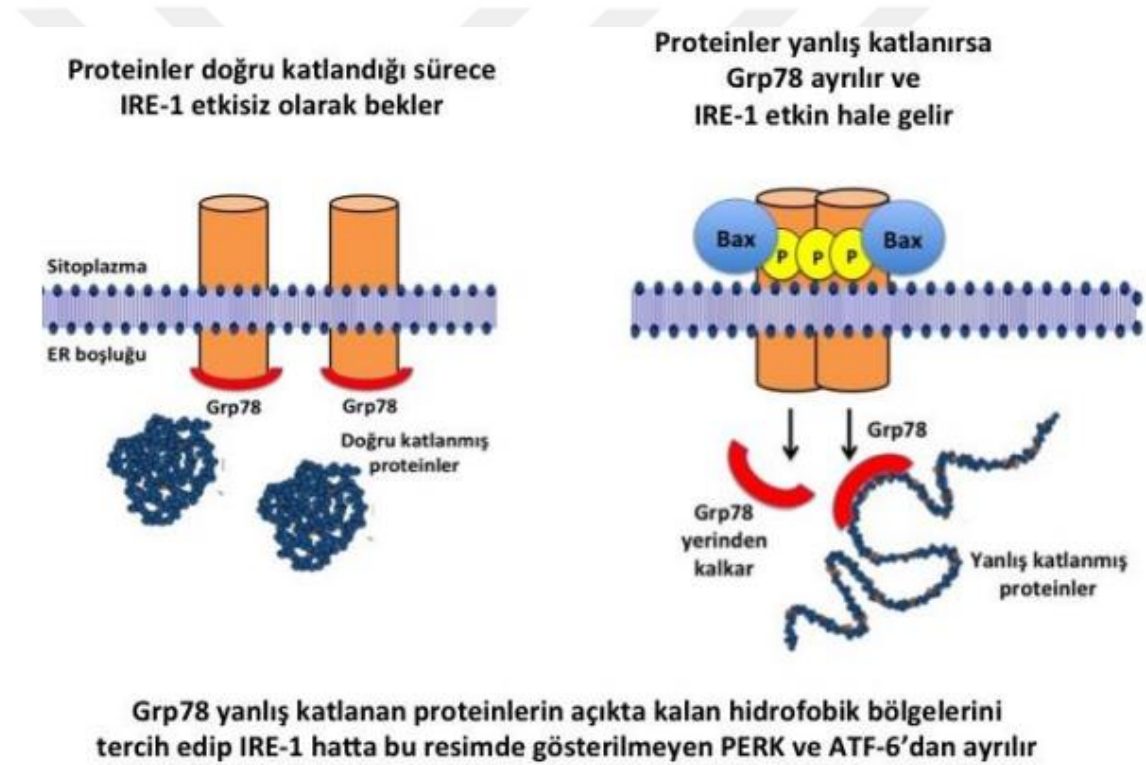


Şekil 10. ER stres cevapları

Protein Katlanmasında Rol Oynayan Moleküller

ER’de proteinlerin doğru katlanmasına yardımcı olan şaperon denilen moleküller yer almaktadır. Protein katlanmasına yardım eden bu moleküller bununla birlikte iyi birer kalsiyum tamponlayıcı proteinlerdir ve aktiviteleri için de kalsiyuma ihtiyaç duyarlar. Ca^{+2} deposu olan ER protein katlanması ve transportundaki işlevinden dolayı

Ca²⁺ bağımlı moleküler şaperonlara (GRP78, GRP94, kalretikülin).¹⁶⁰ Glukozla düzenlenen protein 78 (Grp78) monomerik veya dimerik formdadır. Oligomerik form depo şeklindedir. Monomerik formu ise şaperon işlevi görmektedir. Grp78, ER dışında nukleus ve mitokondride de yer almaktadır.¹⁶¹ Proteinin ER’de translokasyonunun düzenlenmesi, protein katlanması, kalsiyum bağlanması, apoptozisin düzenlenmesi, UPR cevabının düzenlenmesi, protein kalite kontrolünün sağlanması, protein yıkılmasının sağlanması Grp78’in UPR’de başlıca görevleridir. ER’de kalsiyum miktarının azalması ve glikozillenmemiş proteinlerin birikmesinde meydana gelen stres durumlarında hücre yaşamının devam edebilmesinde Grp78 rol oynamaktadır.¹⁶²



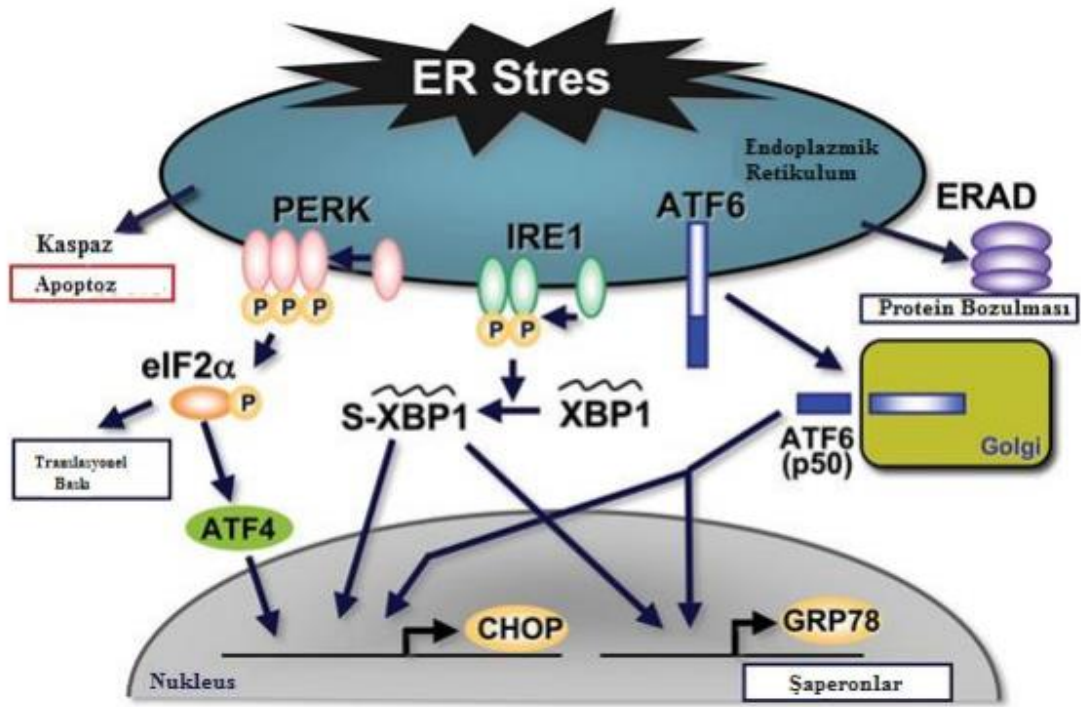
Şekil 11. GRP 78 şaperon aktivasyonu

Protein katlanmasından sorumlu olan diğer protein glukozla düzenlenen dimerik protein 94'dur (Grp94) ER'de en fazla bulunan proteindir. Protein katlanmasını meydana getiren ve katlanamayan proteinler varsa yıkıma gönderilmesi Grp94'ün görevleridir. Bunların dışında ayrıca kalsiyum bağlanması, apoptozisin düzenlenmesi, immünite (antijen sunumu) gibi hücre içi olaylarda meydana gelir. Kalneksin ve

kalretikulin, glikoproteinlerin denetiminden sorumludur. Glikoproteinlere bağlanan kalneksin ve kalretikulin, disülfid izomerazlar ve foldazlar için substrat oluşturur. Bu da proteinin tersiyer yapısında şekillenmeye sebep olur. Ayrıca, UDP-glukoz; glikoprotein glikoziltransferaz (UGGT) ile tekrar glikozillenme kalneksinle iletişimi sağlayarak ER degradation enhancing α -annosidase-like protein (EDEEM)'e yönlendirilmesine yardımcı olur.¹⁶³ Olgunlaşmamış protein endoplazmik retikuluma girdiği zaman N-bağlı glikanlarla (iki N-asetilglukozamin, dokuz 7 mannoz ve üç glukoz molekülünden oluşur) modifiye edilir. Protein doğru katlanmışsa son glukozun uzaklaştırılması ile şaperonların bağlandığı bölge ortadan kaldırılarak olgun protein golgiye geçer. Ancak protein doğru katlanamamışsa UGGT katlanmamış kısma bağlanır ve deglikozile glikana glukoz ekler. Dolayısıyla kalneksin, kalretikulin için bağlanma bölgesi oluşturulur. Bu süreçte doğru bağlanma sağlanmışsa UGGT tekrar aktive olmaz ve protein golgiye gider. Bu durum sağlanamamışsa UGGT'nin rol aldığı sikluslar protein yıkım oluşana kadar tekrarlanır. Foldazlar, ER'de lokalize şaperon benzeri enzimlerdir. Disülfid bağ oluşumu, protein katlanması ve katlanmamış proteinlerin tanınmasında ve yıkımlanmaya gidişinde görev alırlar.¹⁶⁴

Katlanmamış Protein Cevabı (UPR)

Bir hücrede, farklılaşma işlemlerinden sonra ya da fizyolojik şartlarda değişiklikler sonucu ER protein birikiminde bir artış görülür. Eğer ER protein yükü ER katlama işleviyle ilgili olarak artıyorsa, ER stresine sebep olan ER'de hatalı katlanmış proteinlerin birikimiyle sonuçlanır.¹⁶⁵ Bir hücre ER stresinin düzeltmek için UPR adı verilen sinyal yolağını aktive etmektedir. UPR'nin aktivasyonu PERK, ATF6 ve IRE1 olarak adlandırılan 3 farklı ER stres sinyal yolları yardımıyla düzenlenmektedir. Bu yardımcıları integral proteinlerdir, hatalı katlanan proteinlerin birikmesiyle meydana gelen ER stresine hassas ER lümeninde bir domaine ve sinyal efektörlerini aktive eden sitozolik bir domaine sahiptirler. UPR'nin aktivasyonu; translasyonu en aza indirme, protein sentez yükünün azalması ve ER'de katlanmamış proteinlerin birikimini önleme, ER şaperonları ve katlama enzimlerini kodlayan genlerin translasyonun artırılması gibi çeşitli hücresel yanıtları sağlamaktır.¹⁶⁶

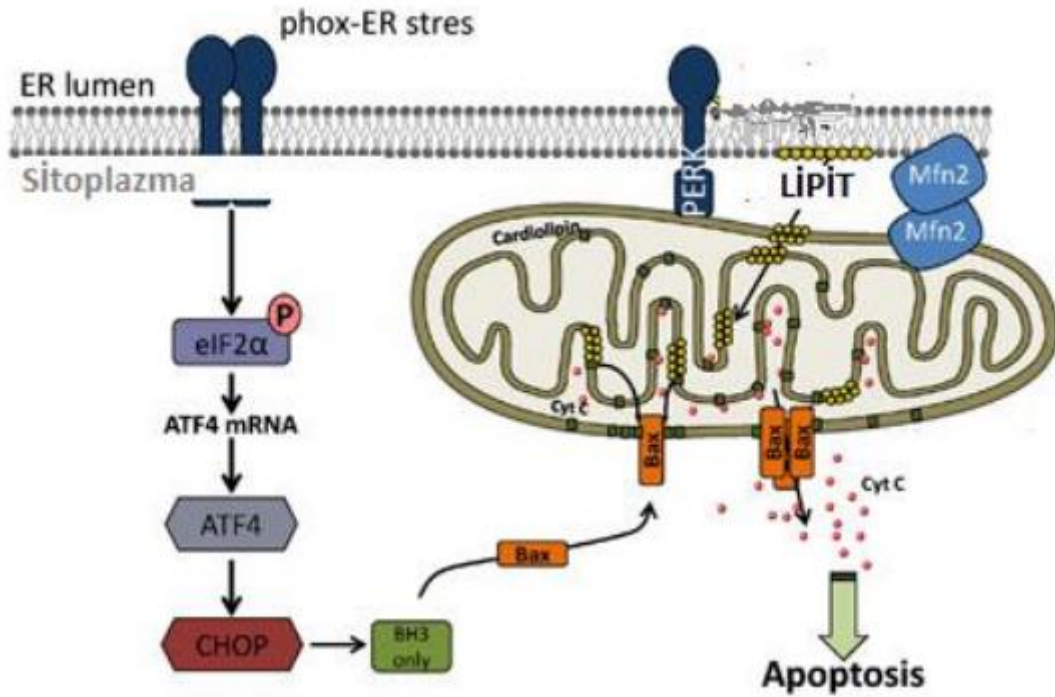


Şekil 12. UPR tepki cevapları. UPR'nin 3 fonksiyonu var; adaptif yanıt, geri bildirim kontrol ve hücre kaderi. UPR şaperonların yardımıyla proteinlerin katlanma kapasitesini arttırılması, eIF2α ile translasyonun engellenmesi, ERAD yoluyla ER stresini hafifletmeye yönelik katlanmış proteinlerin bozunmasının teşvik edilmesi. Fakat ER stres cevabı hücreleri kurtaramıyorsa, hücre apoptoza sürüklenir.

Protein Kinaz RNA (PKR) Benzeri ER Kinaz (PERK) Sinyal Yolu

PERK, ökaryotik başlama faktörü 2 (eIF2α)'yı fosforilleyerek aktif hale getiren ve translasyonu yavaşlatan, kinaz bağımlı olan sitozolik domainli tip I transmembran proteinidir. PERK, ER lümeninde protein katlanmasında rol oynayan bir şaperon olan GRP78/BiP proteini ile bağlanma bölgesine sahiptir. Normal koşullarda Grp78 ile birlikte molekülün inaktif monomerik durumda kalmasını sağlar.¹⁶⁷ ER işlevini aşan birikimle ya da stresle karşılaştığı zaman birlikte bulunan Grp78 lümende katlanmaya yardımcı olması için gönderilirken PERK homodimerize olarak fosforillenir. Aktive olan PERK daha sonra ökaryotik başlama faktörü (eIF2α) nü fosforiller. Fosforillenen eIF2α, genel translasyonu hücre içinde durdurur. Ancak bazı spesifik proteinlerin translasyonu devam eder ve miktarlarının artmasını sağlar. Bu nedenle PERK aktivasyonu ile ER strese karşı 9 hücrenin protein yükü azaltılarak katlanmamış proteinlerin düzeltilmesi sağlanır.¹⁶² PERK, ayrıca antioksidanları, enzimlerin detoksifikasyonunu, immün sinyali, hücre büyümesini kapsayan genleri aktif eden bir

transkripsiyon faktörü olan NRF2'yi (nuclear factor-erythroid 2-related factor 2) de fosforillemektedir. NRF2, normal koşullarda sitoplazmada keap1 ile kompleks halde ve inaktif durumdadır. ER stres sonucunda fosforillenen molekül kompleksinden ayrılır ve aktifleşir. Nukleusa giden aktif NRF2 antioksidan response elementle (ARE) etkileşime girer.¹⁶⁴

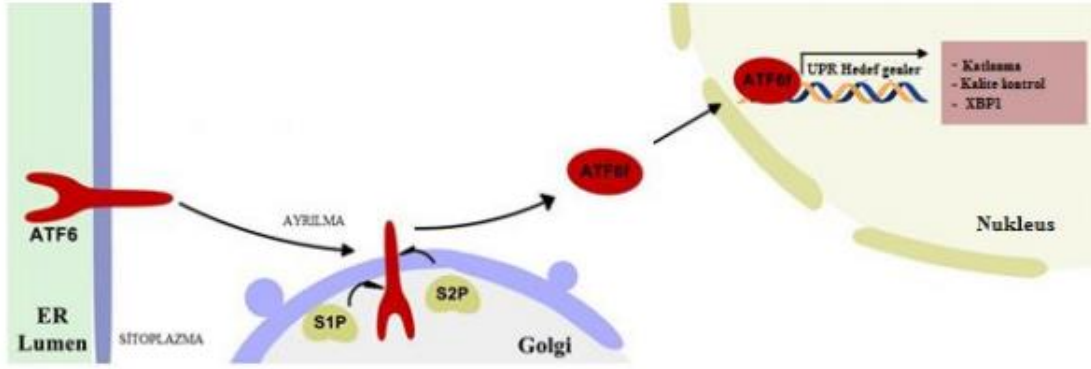


Şekil 13. PERK sinyal yolağı. PERK, ER stres sinyalizasyonunda önemli role sahiptir. PERK-eIF2a ile UPR -ATF4 yoluyla Bax aktivasyonuna, proteinlerin üretimindeki artış üzerinden mitokondriyal Apoptozu idare eden pro-apoptotik transkripsiyon faktörü CHOP, neden olur.

Aktive Edici Transkripsiyon Faktörü 6 (ATF6) Sinyal Yolu

ATF-6, sitozolik bölgesi bZIP transkripsiyon faktörü olarak işleve sahip tip II ER transmembran proteinidir. Memelilerde ATF-6α ve ATF-6β olmak üzere iki formu bulunur. Hücre normalde ER membranında Grp78 ile birlikte inaktif formdadır. ER strese durumunda Grp78 lümene katlanmaya yardımcı olmak için ayrılır. GRP78'in ayrılmasıyla birlikte, ATF6 golgiye gider ve orada site 1 ve site 2 proteazlarla 10 kesilerek aktif forma dönüşür. ATF6 aktifleşince nükleusa taşınır ve hedef genleri aktifleştirir. Grp78, Grp94 gibi ER şaperonlarının ekspresyonunu artırır. Sonuç olarak

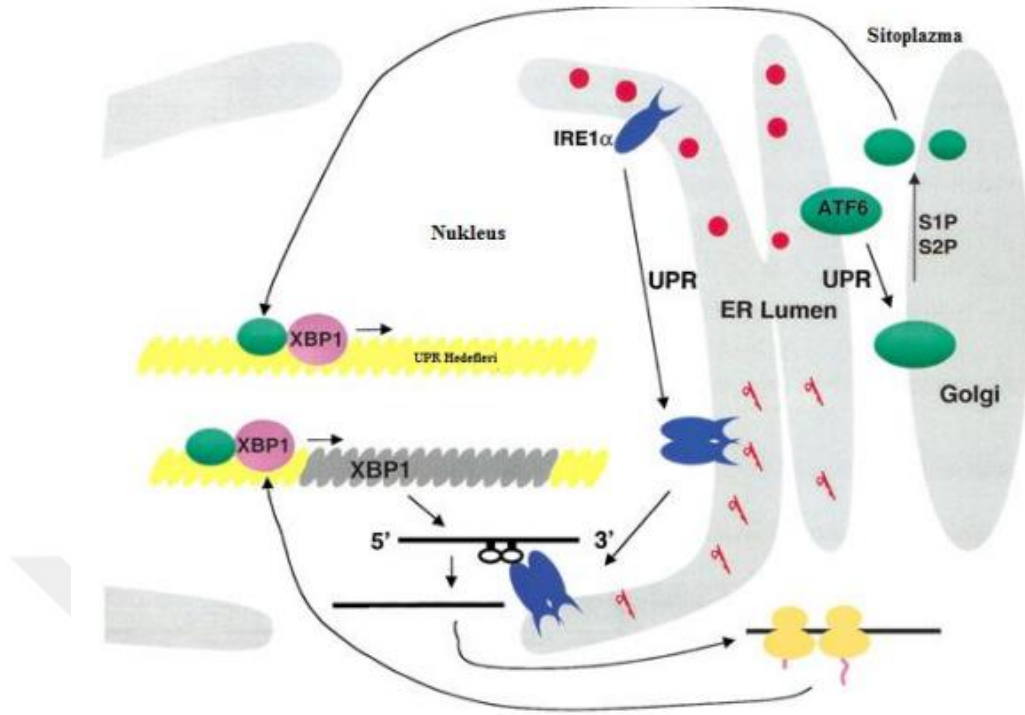
bu proteinlerin sentezlenmesi çoğalır ve ER katlama işlevi yükselerek strese karşı cevap oluşturma korunmaya alınmış olur.¹⁶⁶



Şekil 14. ATF6 sinyal yolu. ATF6 sitoplazma alanında bazı ER şaperonları, ERAD ile ilişkili genleri ve XBP1 ekspresyonunu arttırarak çekirdeğe sitoplazmik alanda Golgiye işlenmeye yollar.

İnositol Gerektiren Kinaz 1 (IRE1) Sinyal Yolu

IRE1, tipI ER transmembran kinazıdır. N-terminal luminal etki alanı ile ER stresini hissederek katlanmamış ve katlanmış proteinlerin varlığını algılanmasının üzerine IRE1'in iki izoformu bulunur. Bunlar; IRE1 α ve IRE1 β . IRE1 α tüm hücre tiplerinde ifade edebilir ve kapsamlı bir şekilde incelenmiştir. Aktifleşmiş IRE1 α X-Box bağlayıcı protein 1 (XBP1) mRNA'yı birleştirir.¹⁶³ Birleşmiş XBP1 mRNA UPR hedef genlerini düzenleyecek basit bir lörin fermuar (b-ZIP) transkripsiyon faktörlerini kodlar, ERAD fonksiyonundaki gibi ER yıkımı, değişimi, α mannidose (EDEME) gibi proteinler içeren genler, ayrıca protein disülfid izomeras (PDI) gibi katlanma proteinleri fonksiyonlarındaki genlerdir. Yüksek seviyeli ER stres TNF-reseptör ilişkili faktör 2 (TRAF2)'nin IRE1 tarafından iyileştirilmesi ve apoptoz sinyal kinaz 1 (ASK1)'in aktivasyonunu yönetebilir. Aktifleşmiş ASK1 apoptozda rolü olan BCL2 protein ailesi tarafından düzenlenen c-Jun Nterminal protein kinaz (JNK)'ı aktifleştirir.¹⁶⁵



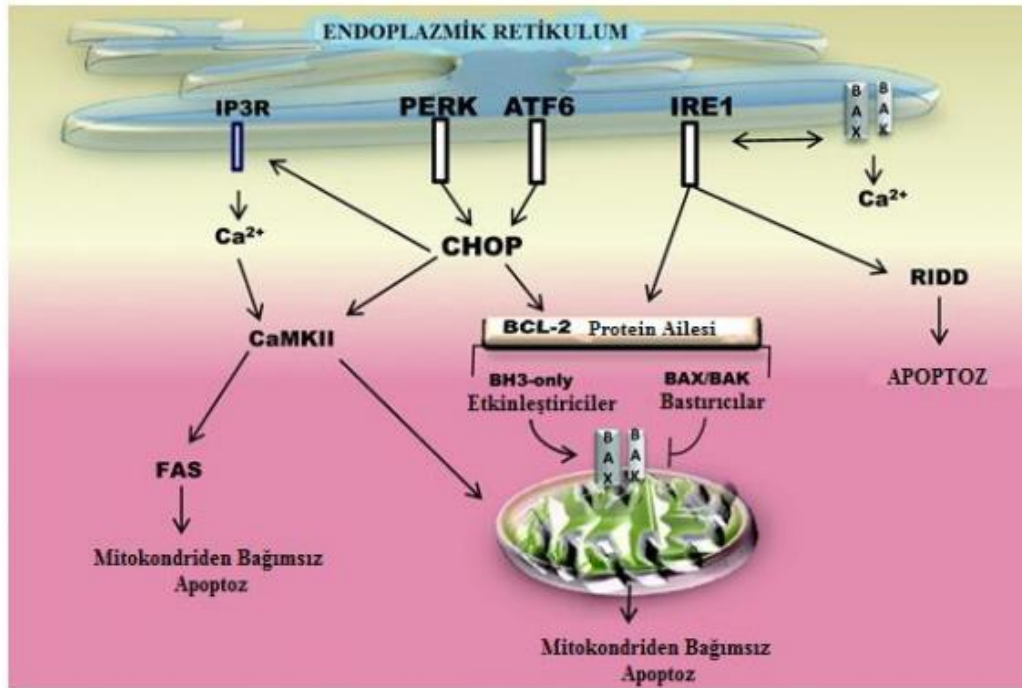
Şekil 15. IRE1 sinyal yolu. IRE1α XBP1 eklenmesini başlatır. IRE1 endoribonukleaz aktivitesi ile XBP1 mRNA'sının nukleusta hedef genlere bağlanmasını tetikler. XBP1 de; ERAD, lipid biyosentezi, antioksidan etki ve protein katlanmasında görev alan pek çok proteini kodlayan genlerin transkripsiyon faktörü olarak fonksiyon görür.

ER Stres ve Apoptoz

Programlı hücre ölümü (apoptosis) hücrelerin çeşitli sinyal yollarıyla genlerde var olan intihar programını aktive ederek, patofizyolojik şartlarda ve oksidatif stres gibi olaylarla meydana gelir. Apoptosis birçok fizyolojik ve patolojik olaylarda önemlidir. Fizyolojik olay olarak hücre yapım-yıkımı oluşur. Deri, barsak epiteli, kan hücreleri gibi hücre yapım yıkımının aktif olduğu dokularda yaşlanan hücreler apoptosis mekanizmasıyla yok edilir ve yeni hücrelere ortam oluşturulur. Patolojik olaylarda ise; tümörlerde hem regresyon hem de büyüme aşamasında önemli rolü vardır. Ayrıca kanserde apoptosisin önemi büyüktür ve kanser tedavilerinde büyük bir araştırma alanını apoptotik süreç mekanizması oluşturmaktadır. Bu sebeple apoptosis mekanizmasının iyi öğrenilmesi bu hastalıkların tedavisini de mümkün hale getirebilecektir.¹⁶⁸

ER Stresiyle İndüklenen Apoptosis Yolakları

Yanlış katlanmış proteinlerin lümende birikimi ve ER stresini düzeltmek için UPR sinyal yolağı aktive olmaktadır. Eğer yanlış katlanmış protein miktarı çok fazlaysa ve stres düzeltilmediyse, UPR sinyalinin aktivasyonu ER stresini düzeltmek için yeterli olamazsa ve bu durumda ER stresi apoptozise (programlı hücre ölümü) meydana getirir. Apoptozis ER stresinde hücreyi ölüme getiren bir mekanizmadır ama ER stresiyile indüklenen apoptozis mekanizmaları tam olarak bilinmemektedir.¹⁶⁶ PERK, ATF6 ve IRE1 sinyal yolakları sadece hücrenin yaşama işlevlerini sağlayan yolları başlatmazlar aynı zamanda apoptozis yolaklarını da aktive ederler. ER stresi aktive olduğunda proapoptotik sinyal yollarını tetiklemektedir. Ama direk olarak hücreyi ölüme yollamazlar. CHOP ya da JNK gibi sinyal yolaklarını devreye sokarlar. (Şekil 8) ER stresiyile aktive olan apoptozis transkripsiyonel uyarı yolağını (CHOP), BCL2 ailesinin üyelerini, kinazların (JNK) yolaklarını ve kaspazların sebep olduğu hücre ölüm yolaklarını aktive ederler.¹⁶⁹



Şekil 16. Endoplazmik retikulum stresiyile aktive olan apoptotik mekanizmalar

Transkripsiyonel Uyarı Yolağı

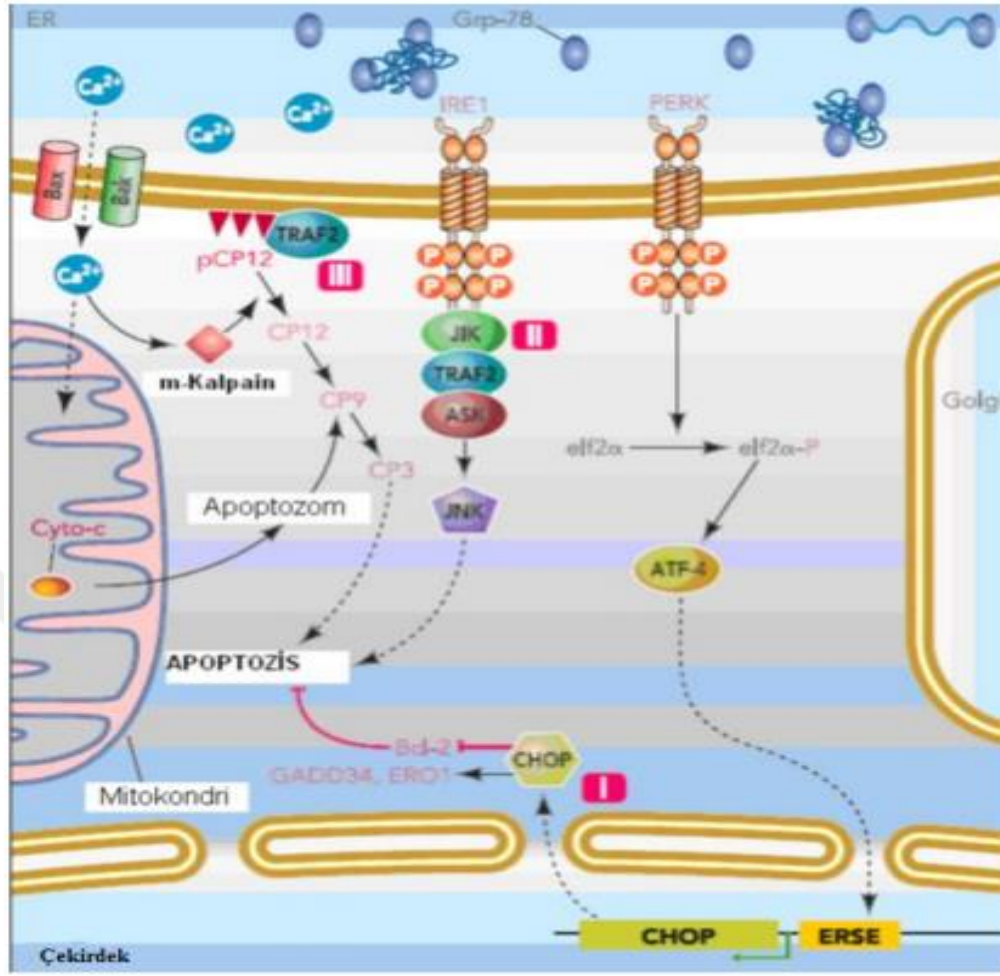
Transkripsiyon faktör ailesi olan CHOP/GADD153 geninin transkripsiyonel düzeyde aktive olmasıdır. CHOP, fizyolojik şartlarda ya sentezlenmez ya da düşük düzeyde sentezlenir. Ama ER stresine yanıt olarak, transkripsiyon düzeyinde güçlü bir şekilde uyarılır.¹⁶³ CHOP'un güçlü uyarılması büyümede duraklamaya ve apoptosise sebep olmaktadır. Bu sebeple, CHOP ER stres bağımlı apoptosisin aktive olmasında önemli rol oynar. UPR yanıtında ER şaperon molekülleri gibi CHOP geninin transkripsiyonu hem IRE1 yolu hem de ATF6 yolu ile uyarılır. Ayrıca, CHOP PERK yolağında transkripsiyon faktörü ATF4'ün tranlasyonel aktivasyonu ile de uyarılır.¹⁷⁰

c –JUN NH2 – Terminal Kinaz (JNK) Yolağı

ER stresinde diğer apoptotik yol c-JUN NH2-terminal kinazın (JNK) uyarılmasıdır. JNK'lar gen ifadesini düzenleyen ve stres durumunda apoptosis ile hayatta kalma arasında verilecek karara katılan sinyal ileti proteinlerinin bir ailesidir. ER stresi JNK'ları IRE1 α ve IRE1 β üzerinden aktive edilip uyarılır. JNK aktivasyonunun ve p38 yolunun devamlılığı apoptosis sinyal düzenleyici kinaz (ASK1)'in aktivasyonunu gerektirir ki bu, hücreyi apoptosise gitmesine yol açar.¹⁷¹

Kaspaz Aktivasyonu

Kaspazlar, ER ile ilişkili sistein proteaz ailesidir. Hücrelerin içinde inaktif formda bulunmaktadır ve apoptozisin uyarılmasından sonra aktifleşerek işlem görürler. Kaspaz 12, ER stresıyla aktif olan apoptozisin önem taşımaktadır.¹⁷¹ Kaspaz 12, pek çok yollardan ER stresi tarafından indüklenebilir. Bunlardan birincisi; kalsiyum tarafından indüklenen sitoplazmik proteaz olan kalpainler tarafından uyarılır. İkincisi; IRE1 ve adaptör protein olan TRAF2 ile uyarılır. Üçüncüsü ise; Kaspaz 7 çeşitli apoptotik yollarla uyarılarak ER'da transloke olur ve direk olarak kaspaz 12'i aktifleştirir.¹⁶⁶



Şekil 18. BCL-2 protein ailesi tarafından apoptozis mekanizması. Bcl-2 ifadesini aşağı doğru CHOP (CHOP CCAAT / güçlendirici bağlayıcı protein (C / EBP) ailesi transkripsiyon faktörüdür.) indüksiyona yol açar. Aktif IRE1 bağlanır ve ASK1 ve JNK aktivasyonu yol açar. TRAF2 (Tümör Nekroz Faktörü Reseptörü İlişkili Faktör 2) fonksiyon gösterir. Aktif kaspaz-12 (CP12), kaspaz-9'u parçalayıp aktive eder ve bu da kaspaz-3 de dahil olmak üzere aşağı doğru kaspazları harekete geçirir. Bu, apoptozomun (Apaf-1, sitokrom c, ATP ve kaspaz-9'dan) oluşmasına, kaspaz-9'un aktivasyonuna ve ardından hücre apoptosise yol açan kaspazların oluşumuna izin verir.

Er Stres İle Hastalıkların Arasındaki İlişki

ER işlevini ve sentez kapasitesindeki dengeyi korumak için homeostatik bir sistem vardır. Organizmaların daha karmaşık durumlarında bu sistem özellikle uzun ömürlü salgı hücrelerinde büyük ölçüde rol oynamaktadır. Çünkü bu sistemdeki bozuklukların ER strese sebep olduğu ve ER stres durumunda insanlarda birçok hastalıklara yol açtığı bilinmektedir. Çeşitli hastalıklara katlanmamış protein cevabı (UPR) adı verilen ve ER'deki katlanmamış protein birikimleri sebep olur. Bu birikimler glukoz yokluğunda Nbağımlı glikolizasyonun etkisiyle ER strese sebep olurlar. Ayrıca ER'de şaperonların düzgün çalışmasını tetikler ve Ca^{+2} düzenlenmesi anormal duruma

sokar. Böylece hücrede oluşan hatalı işlevden dolayı UPR'yi uyarır ve bu durum hücrenin apoptoza gitmesine yol açar. Bu sebeple proteinlerin katlanması, protein üretimi ve taşınmasını bozulacağından vücutta çeşitli hastalığa sebep olabilir.¹⁷³ Bu hastalıklar diyabet, obezite, nörodejeneratif hastalıklar ve kanser olarak sayılabilir.

Kanserde Er Stresi ve UPR'nin Terapatik Hedefleri

UPR, ER lümeninde katlanmamış veya hatalı katlanmış proteinlerin birikimine yanıt olarak oluşan hücre içi sinyal kaskatıdır. Hipoksi, besinsel açlık, oksidatif stres ve diğer metabolik bozuklukların etkisiyle kanser hücreleri ER stresine ve UPR aktivasyonuna sebep olur. ER stresinin durumuna ve şiddetine bağlı olarak, UPR ya antiapoptotik yolları aktive ederek yaşam sinyalleri gönderir ya da hücre ölüm yollarını aktive ederek ölüm sinyallerini uyarır. UPR'nin aktivasyonu ya da baskılanması kansere karşı yararlı ve terapatik bir etki gösterebilmektedir.¹⁷⁴

ER stresi ve UPR birçok tümörü çoğunlukla aktive eder. Son yapılan çalışmalar, maligniteyi korumak ve tedaviyi olumlu duruma getirmek için UPR'nin önemli bir sistem olduğunu belirtmektedir. ER stresi kanser gelişiminin çeşitli aşamalarında görülmektedir. Önerilen sistem; tümörün erken evresinde ve anjiogenez oluşmadan önce, UPR'nin işlevini duran G1 hücre döngüsünü ve p38'in aktivasyonunu aktive etmektir. Her iki sistemde sessiz durumu etkilemektedir. Eğer apoptotik sinyaller tümör gelişiminin bu aşaması sırasında UPR tarafından baskılanırsa, apoptotik süreç mutasyona uğramış elemanları ile birlikte kanser hücreleri alternatif ölüm yolağından kaçabilirler.¹⁷⁵

3. MATERİYAL ve METOD

Çukurova Üniversitesi tıp fakültesi üroloji A.B.D'na başvuran ve mesane kanseri şüphesiyle transüretal mesane rezeksiyonu (TUR M) yapılan hastaların doku örnekleri alınmıştır. Bu dokular -80°C de dondurulup ELISA deneylerinde kullanılmak üzere saklanmıştır.

Alınan doku örneklerine göre patoloji sonucu mesane kanseri gelenler diyabeti olan ve olmayan olarak 2 gruba ayrılmıştır ve ELISA deneylerinde kullanılmak üzere homojenize edilmiştir.

3.1. ELISA deneyleri

ELISA testleri Rayto firmasından temin edilen ELISA mikropate okuyucu ve yıkayıcı ile yapılmıştır.

3.2. Homojenizasyon

Eppendorf içinde -20°C dondurulmuş dokuların üzerine gram başına 3ml RIPA (Radio-Immunoprecipitation Assay) buffer, 30µl PMSF (fenylmetanesulfonylfluoride), 30µl sodyum vanadat, 30µl proteaz inhibitörü eklendi ve ultrasonic parçalama cihazıyla buz üzerinde dokuların parçalanarak homojenatlar elde edildi. Homojenatlar 10.000 RPM'de 10 dakika santrifüj edildi. Altta çökelti (pelletler) atıldı. Üstte ayrılan kısımlar (süpernatantlar) ELISA testlerinde kullanılmak üzere saklandı.

3.3. Protein Miktar Tayini

Homojenizasyon yapılarak elde edilen homojenatların total protein miktarının tayini için Bradford yöntemi kullanıldı.

Sığır serum albumini (1µg/ml) kullanılarak 1,2,3,5,7,8,10 (µg/ml) konsantrasyonlarda standart hazırlandı. Her bir örnekten 10 µl alınarak distile su ile 100 µl'ye tamamlandı. Standart ve örneklerin üzerine 1ml bradford solüsyonu eklendi ve

vorteksle karıştırıldıktan sonra spektrofotometrede 595 nanometre dalga boyunda absorbans miktarları manuel olarak ölçüldü. Prism programında çizilen standart eğriye göre homojenatların protein miktar tayini $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ cinsinden yapıldı.

3.4. ELİSA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay) Testi

3.4.1. ELİSA ERK protein Miktar Tayini

Homojenatlardan 100'er μl eliza kuyucuklarına eklendi. Kuyucukların üstü aliminyum folyo ile kapatılıp 2 saat 37°C'de inkübe edildikten sonra kuyucuklardaki sıvı boşaltılıp üzerine 100 μl reaktif A solüsyonu eklenip 1 saat 37°C'de inkübe edildi. İnkübasyonun sonunda kuyucuklar 3 kez yıkama tamponuyla yıkanıp yıkama sonunda kuyucuklara 100 μl reaktif B solüsyonu eklenip 1 saat 37°C'de inkübe edildikten sonra 5 kez yıkama tamponuyla yıkanarak içerisine 90 μl substrat solüsyonu eklenip üstü kapatılarak 30 dakika inkübe edildi. Sonra 50 μl stop solüsyonu eklenip 450 nm'de mikropate okuyucuda kuyucukların optik dansiteleri belirlenerek COX-2 enziminin miktarları tayin edildi.

3.4.2. ELİSA IRE1 protein miktar tayini

Homojenatlardan 100'er μl eliza kuyucuklarına eklendi. Kuyucukların üstü aliminyum folyo ile kapatılıp 2 saat 37°C'de inkübe edildikten sonra kuyucuklardaki sıvı boşaltılıp üzerine 100 μl reaktif A solüsyonu eklenip 1 saat 37°C'de inkübe edildi. İnkübasyonun sonunda kuyucuklar 3 kez yıkama tamponuyla yıkanıp yıkama sonunda kuyucuklara 100 μl reaktif B solüsyonu eklenip 1 saat 37°C'de inkübe edildikten sonra 5 kez yıkama tamponuyla yıkanarak içerisine 90 μl substrat solüsyonu eklenip üstü kapatılarak 30 dakika inkübe edildi. Sonra 50 μl stop solüsyonu eklenip 450 nm'de mikropate okuyucuda kuyucukların optik dansiteleri belirlenerek fosfolipaz A2 enziminin miktarları tayin edildi.

3.4.3. ELİSA Endotelial ATF6 protein Miktar Tayini

Homojenatlardan 100'er µl eliza kuyucuklarına eklendi. Kuyucukların üstü aliminyum folyo ile kapatılıp 2 saat 37°C'de inkübe edildikten sonra kuyucuklardaki sıvı boşaltılıp üzerine 100 µl reaktif A solüsyonu eklenip 1 saat 37°C'de inkübe edildi. İnkübasyonun sonunda kuyucuklar 3 kez yıkama tamponuyla yıkanıp yıkama sonunda kuyucuklara 100 µl reaktif B solüsyonu eklenip 1 saat 37°C'de inkübe edildikten sonra 5 kez yıkama tamponuyla yıkanarak içerisine 90 µl substrat solüsyonu eklenip üstü kapatılarak 30 dakika inkübe edildi. Sonra 50 µl stop solüsyonu eklenip 450 nm'de mikropate okuyucuda kuyucukların optik dansiteleri belirlenerek endotelial nitrikoksit sentaz enziminin miktarları tayin edildi.

3.4.4. ELİSA Endotelial AGE Miktar Tayini

Homojenatlardan 100'er µl eliza kuyucuklarına eklendi. Kuyucukların üstü aliminyum folyo ile kapatılıp 2 saat 37°C'de inkübe edildikten sonra kuyucuklardaki sıvı boşaltılıp üzerine 100 µl reaktif A solüsyonu eklenip 1 saat 37°C'de inkübe edildi. İnkübasyonun sonunda kuyucuklar 3 kez yıkama tamponuyla yıkanıp yıkama sonunda kuyucuklara 100 µl reaktif B solüsyonu eklenip 1 saat 37°C'de inkübe edildikten sonra 5 kez yıkama tamponuyla yıkanarak içerisine 90 µl substrat solüsyonu eklenip üstü kapatılarak 30 dakika inkübe edildi. Sonra 50 µl stop solüsyonu eklenip 450 nm'de mikropate okuyucuda kuyucukların optik dansiteleri belirlenerek endotelial nitrikoksit sentaz enziminin miktarları tayin edildi.

3.5. Sonuçların Değerlendirilmesi

Standart hataları ile birlikte ($\pm$ SEM) gösterildi. İstatistiksel karşılaştırmalar için student t testi kullanıldı. Grafiklerin çizimi ve istatistiksel analiz için bilgisayar ortamında Graph-Pad Prism (CA, USA) programı kullanıldı. 0.05'den küçük P değerleri anlamlı olarak kabul edildi.

4. BULGULAR

Kliniğimize Mayıs 2016 ve Eylül 2018 tarihleri arasında mesane kanseri ön tanısı ile başvuran ve mesanede tümör tespit edilip transüretal mesane rezeksiyonu (TUR M) yapılan diyabetik ve diyabetik olmayan olarak 2 gruba ayrılan 17 hasta çalışmamıza dahil edildi.

Olgulardan işlem öncesi detaylı anamnez, fizik muayene, görüntüleme tetkikleri, sitoloji, labarotuar tetkikleri yapıp aydınlatılmış detaylı onam alındı. Hastalar diyabetik ve nondiyabetik 2 grupta; açlık kan glukozu, HbA1c düzeylerine bakılıp, primer veya sekonder olanlar, daha önce BCG tedavisi almış ve almamış olanlar olarak ayrılmış, patoloji sonuçlarına göre evrelendirilmiş, yaklaşık 2.5 yıllık izlemle, progresyon ve nüks oranlarına bakılarak hasta dataları oluşturulmuştur. Bu datalardan elde edilen veriler;

Ortalama yaşları $69,2 \pm 9,41$ (52-82) yıl olan 17 hastadan 9 (%53)'ü diyabetik 8 (%47)'i non-diyabetik idi.

Diyabetik hasta grubunda yaş ortalaması $70,44 \pm 7,09$ (70-82) idi. Açlık kan glukoz düzeyi $150 \pm 42,33$ (110-220) ve HbA1c ortalama değeri ise $7,62 \pm 2,0$ (5.9-12.3) idi. Hastaların 3 (%33,3)'ü insülin kullanırken 6 (%66,7)'si oral antidiyabetik kullanıyordu. Hastalardan 5 (% 62,5)'i primer (daha önce TUR M hiç yapılmamış) ve 4 (% 37,5)'ü sekonder (TUR M yapılmış) hastalardı. Hastalardan 4 (%37,5)'i BCG (Bacillus Calmette-Guerin) tedavisi daha önce almıştır.

Non-diyabetik hasta grubunda ise yaş ortalaması $67,8 \pm 11,87$ (52-68) idi. Açlık kan glukoz düzeyi $87 \pm 15,61$ (65-109) ve HbA1c ortalama değeri ise $5,24 \pm 0,294$ (4.8-5.6) idi. Hastalardan 4 (% 50)'ü primer ve 4 (% 50)'ü sekonder hastalardı. Sadece 2 (% 25)'si işlem öncesi BCG tedavisi almıştı.

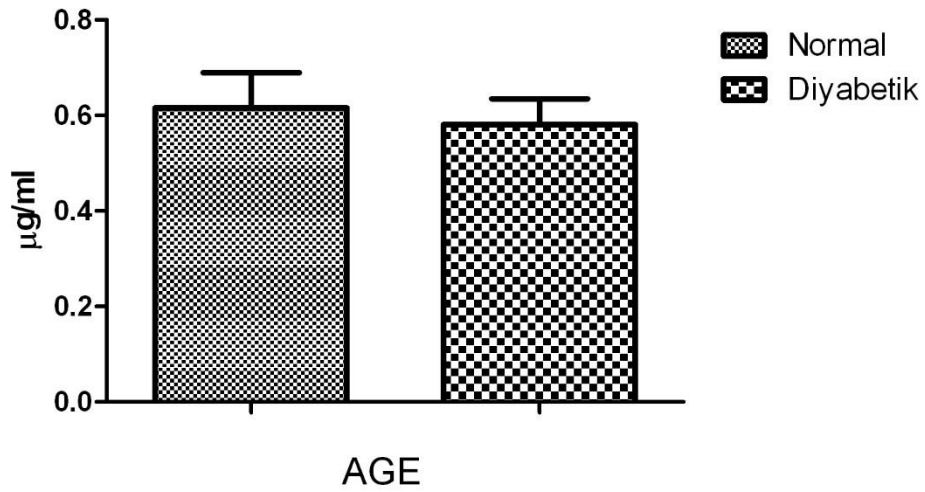
Diyabetik hasta grubunda TURB patoloji materyalinde 5 (% 62,5) hastanın patolojik evresi T1G3, 2 (% 22) hastanın T1G1, 2 (% 22) hastanında T2G3 (kasa invaze) olarak gelmiştir. Non-diyabetik grupta ise 2 (% 25) hastanın patolojisi T1G3, 3 (% 37,5) hastanın T1G1, 3 (% 37,5) hastanın ise T2G3 gelmiştir.

Diyabetik hasta grubunda 9 hastanın tamamında nüks görülmüş olup 5 (% 55) inde progresyon görülmüştür. 2 T1G1 hasta T1G3'e, T1G3 3 hasta takiplerde T2G3 e ilerlemiştir.

Non-diyabetik hasta grubunda ise 8 hastanın 6 (% 75)'sında nüks görülmüş olup 3 (% 37)'ünde progresyon görülmüştür. 2 T1G1 hasta T1G3'e, 1 T1G3 hasta takiplerde T2G3'e ilerlemiştir.

Patolojik materyalde 2 grupta ELISA yöntemiyle ortalama AGE, IRE1, PERK, ATF6 ekspresyon miktarlarına bakılıp gruplar arasındaki farklılık tespit edildi.

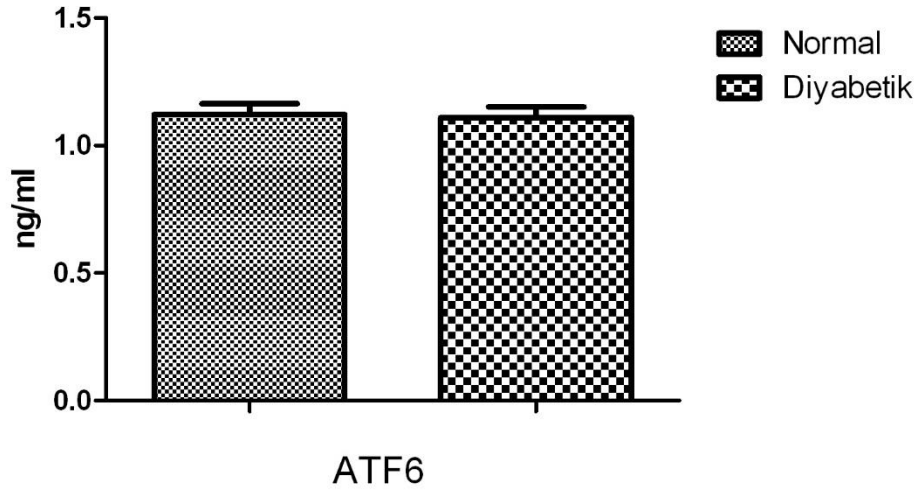
Non-diyabetik ve diyabetik hastaların AGE ekspresyonları sırası ile $0,6160 \pm 0,07358$ ve $0,5810 \pm 0,05370$ $\mu\text{g/ml}$ olarak bulunmuştur ($p=0,05 \leq$) (Şekil 1.) ►►



(Non-diyabetik ve diyabetik hastaların AGE ekspresyonları sırası ile $0,6160 \pm 0,07358$ ve $0,5810 \pm 0,05370$ $\mu\text{g/ml}$ $p=0,05 \leq$)

Şekil 20. Non-diyabetik ve diyabetik hastaların AGE ekspresyonları

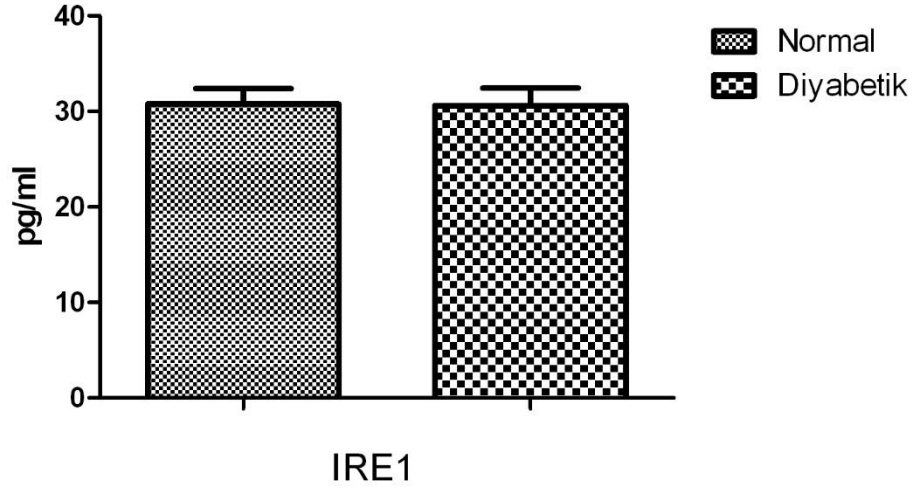
Non-diyabetik ve Diyabetik hastaların ATF6 ekspresyonları sırası ile $1,122 \pm 0,04242$ ve $1,109 \pm 0,04231$ $\mu\text{g/ml}$ olarak bulunmuştur ($p=0,05 \leq$) (Şekil 2.) ►►



(Non-diyabetik ve Diyabetik hastaların ATF6 ekspresyonları sırası ile $1,122 \pm 0,04242$ ve $1,109 \pm 0,04231 \mu\text{g/ml}$ $p=0,05 \leq$)

Şekil 21. Non-diyabetik ve Diyabetik hastaların ATF6 ekspresyonları

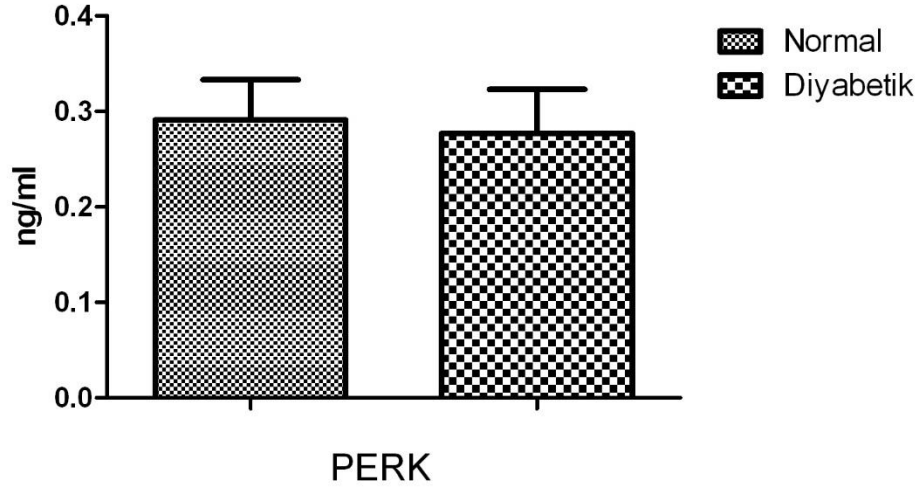
Non-diyabetik ve Diyabetik hastaların IRE1 ekspresyonları sırası ile $30,80 \pm 1,583$ ve $30,60 \pm 1,863 \text{ ng/ml}$ olarak bulunmuştur ($p=0,05 \leq$) (Şekil 3.) ►►



(Non-diyabetik ve Diyabetik hastaların IRE1 ekspresyonları sırası ile $30,80 \pm 1,583$ ve $30,60 \pm 1,863 \text{ ng/ml}$ $p=0,05 \leq$)

Şekil 22. Non-diyabetik ve Diyabetik hastaların IRE1 ekspresyonları

Non-diyabetik ve Diyabetik hastaların PERK ekspresyonları sırası ile $0,2910 \pm 0,04210$ ve $0,2770 \pm 0,04624$ ng/ml olarak bulunmuştur ($p=0,05 \leq$) (Şekil 4.)



(Non-diyabetik ve Diyabetik hastaların PERK ekspresyonları sırası ile $0,2910 \pm 0,04210$ ve $0,2770 \pm 0,04624$ ng/ml $p=0,05 \leq$)

Şekil 23. Non-diyabetik ve Diyabetik hastaların PERK ekspresyonları

Diyabetik ve normal mesane kanserli hasta grubunda 4 ekspresyon miktarları student t testi ile değerlendirildiğinde istatistiksel olarak anlamlı fark izlenmedi ($p=0,05 \leq$)

5. TARTIŞMA

Mesane kanseri olgularının yaklaşık %90-95'i değişici epitel hücreli kanserdir. Dünyada en sık görülen 9. kanserdir ve kanserden dolayı ölümlerin ise 13. en sık sebebidir. Amerika'da 2016 yılında 76,960 hasta yeni MK tanısı alırken, 16,390 hastada MK'ne bağlı ölüm öngörölmüştür. Hastalık, erkek cinsiyette yaklaşık 3.5 kat (3.2/0.9) daha fazla görölmektedir. Türkiye Sağlık Bakanlığı verilerine göre MK prostat ve akciğer kanserinden sonra erkeklerde en sık görülen 3. Kanserdir. Mesane kanseri tedavi boyunca bilinen en pahalı maliyete sahiptir ve Türk sağlık ekonomisi üzerinde önemli bir yüke sahiptir.¹⁴

Mesane kanseri gelişiminde birçok etyolojik faktör vardır. Sigara (tütün) tüm vakaların yarısından sorumlu tutulmuştur.¹ Mesane kanser olgularının yaklaşık %20'sinde mesleksi maruziyet bulunmaktadır.¹⁵ Uzun süre kanserojenlere mesleki maruziyet mesane kanser riskini artırmaktadır. Analizlere göre sanayi bölgelerinde boya, kauçuk, petrol ürünleri ve boyaları, elektrik ve kimya sanayi işçilerinde MK riski artmıştır. Mesane DEHK karsinogenezisinde birçok moleküler çalışma bulunmaktadır.¹⁹

Dişabet ile kanser arasındaki ilişkiye dair ilk bulgu 1934'te DM'lu hastalarda pankreas kanseri sıklığının DM'u olmayan bireylere kıyasla daha yüksek olduğunun fark edilmesi ile elde edilmiştir. Sonrasında çeşitli klinik ve epidemiyolojik araştırmalarda DM'li bireylerde çeşitli solid ve hematolojik malinitelerin riskinde artış tespit edilmiştir. Risk artışı pankreas, karaciğer ve endometrium kanserinde en yüksek olmakla birlikte, kolorektal kanser, meme kanseri, jinekolojik kanserler, böbrek ve mesane tümörleri sıklığı da DM'li bireylerde daha yüksek bulunmuştur.⁸⁵ Çok sayıda epidemiyolojik veri bulunmasına karşın DM ve kanser riski ilişkisinin temel nedenleri konusunda soru işaretleri bulunmaktadır. DM'li hastalarda artmış kanser sıklığı her iki hastalığın benzer patogenetik özellikleri paylaşmasından mı kaynaklanmaktadır, yoksa DM'la birlikte bulunan obezite, hiperlipidemi, insülin direnci gibi metabolik bozukluklar kanser gelişme riskinden asıl sorumlu olan faktörler midir?. DM tedavisinde kullanılan bazı ajanların kanser gelişme riski üzerindeki etkileri ve bunun tersi şekilde bazı antitümöral ajanların diyabetojenik etkileri mevcut ilişkinin yorumunu ve etyopatogenezi daha karmaşık hâle getirmektedir. Diğer kanser türlerinde de

olduğu gibi hiperinsülinemi ve diyabetik hastalarda sık görülen üriner infeksiyonlar mesane kanseri riskinin artışından sorumlu tutulan mekanizmalardır. Diyabetli bireylerde mesane kanseri riski %35 daha yüksek bulunmuştur.⁸⁵

Diyabetik hastalarda protein ve lipitlerin nonenzimatik glikozilasyonu sonucu oluşan AGE'ler diyabetik vaskülopati ve retinopati oluşumunda temel rol oynamaktadırlar. Ayrıca yapılmış çalışmalarda AGE'lerin Alzheimer ve kanser oluşumunda rolleride dikkat çekmektedir. AGE'ler temelde diyabet komplikasyonlarında iki şekilde rol almaktadır. Bunlardan birincisi; özellikle ekstrasellüler matriksin yapısındaki proteinler arasında çapraz bağlar oluşturarak matriks yapısını ve fonksiyonlarını bozmak, ikincisi ise; AGE'lerin birtakım hücrelerde bulunan reseptörlerine bağlanması sonucunda çeşitli sinyal yollarını aktive ederek çeşitli transkripsiyon faktörlerinin ve sitokinlerin sentezine ve salınımına yol açılmasıyla pek çok metabolik değişikliklere neden olmasıdır.¹²⁵ AGE'ler, esas olarak, şeker keton veya aldehit gruplarının proteinler üzerinde serbest amino grupları ile enzimatik olmayan reaksiyonu yoluyla oluşur. Lizin glikasyonundan kaynaklanan Nε-(karboksimetil) lisin (CML), doku proteinlerinde esas AGE olarak bilinir ve AGE reseptöre (RAGE) bağlanarak çeşitli vasküler ve enflamatuar komplikasyonlara neden olabilir. Glikozun yanı sıra, glikoliz sırasında bir yan ürün olarak üretilen reaktif dikarbonil bileşiği olan metilglikoksit de AGE'ler için önemli bir öncüdür. AGE'lerin oluşumu, yaşlanma ile ilişkili çeşitli zararlı süreçlerle ilişkilendirilmiştir: Alzheimer hastalığı, ateroskleroz, diyabet ve kalp yetmezliği.¹¹⁸

AGE / RAGE etkileşimi temel olarak ERK, JNK ve p38'in üç mitojenle aktive olan protein kinaz (MAPK) sinyal yollarını, endotelial hücreler, monositler, nöronal hücreler ve vasküler düz kas hücreleri gibi çoklu hücre tiplerinde aktive eder. Bunu takiben, proinflamatuar transkripsiyon faktörleri NF-κB ve AP-1'in oksidatif strese ve inflammatuar süreçlere yol açması takip eder. AGE / RAGE sinyalinin yakın zamanda, pankreatik β-hücrelerinde, nöronal hücrelerde ve renal podositlerde, kronik karaciğer hasarı ve fibrozisin patogeneze katkıda bulunan apoptotik yolları tetiklediği gösterilmiştir. Bununla birlikte, AGE ile indüklenen apoptoz gelişmesinin altında yatan mekanizmalar hala belirsizdir.¹²⁶ Yapılan çalışmalarda, farklı ekspresyon seviyelerinde de olsa, AGE ekspresyonları çeşitli kanser dokularındaki varlığını gösterilmiştir. En yüksek AGE ekspresyonu, kolon ve leiomyosarkomların adenokarsinomlarında

bulunmuştur. Ayrıca tümör hücrelerinde, AGE, fibroblastlar, makrofajlar ve kılcal damarlar gibi stromal bileşenlerde de bulunmuştur. Makrofajların pozitif CML boyaması, CML'nin makrofaj tutucu reseptöründen makrofajlara bağlanabildiğini gösteren önceki çalışmalarla desteklenmiştir. Bunun yanında, CML ayrıca RAGE'ye bağlanabilir. Bu etkileşim yoluyla, CML-modifiye proteinler dahil olabilir transkripsiyon faktörü NF- κ B, 3'ün aktivasyonu yoluyla tümörlerin biyolojisinde, vasküler endotelial büyüme faktörünün (VEGF), vasküler hücre adezyon molekülünün (VCAM-1) doku faktörünün artmasını düzenler. kılcal damarlar) ve hücre içi reaktif oksijen türlerinin indüksiyonunda görev alır. Ayrıca, CML'nin varlığı, DNA hasarını indükleyerek kanser ilerlemesinin artmasına yol açabilir. Ayrıca RAGE ekspresyonunun, pankreatik ve gastrik karsinomların metastatik aktivitesi ile kuvvetli bir şekilde ilişkili olduğu da bulunmuştur.¹⁷⁶ Bununla birlikte, bu AGE modifikasyonunun inhibisyonunun, tümör hücrelerinin cisplatin kaynaklı apoptosise duyarlılaşmasına neden olduğu gösterilmiştir. 2015 yılında yayımlanmış bir çalışmada AGE artışı ile hücrenin G1den S fazına geçişinin indüklendiği ve hücre siklusunun devamının sağlandığı savunulmuştur. Bu hipotezi 383 prostat kanserli fetal sığır hücresinde göstermişlerdir. 2014 yılında yapılmış başka bir çalışmada sıçanlarda prostat epitelyal dokuda bazal lamina kalınlığının AGE artışı ile paralel olarak arttığı ve bu durumun kanser davranışında invazivliği arttırdığı görülmüştür. (Rodriguez-Teja M ve ark) Yine 2014 yılında yapılmış 85 prostat kanseri hastayı içeren çalışmada hastaların kanserli dokularında RAGE ve HMGB1 (high mobility group box 1) antikorları (Abcam, Cambridge, UK) 1/300 ve 1/250 dilüsyonda sulandırılarak çalışılmış ve boyanmış sonuç olarak kontrol grubuna göre İHK boyanma prostat kanserli hastalarda daha çok görülmüş. Ayrıca bu hastalardan da gleason skoru daha yüksek, TNM evresi daha ileri ve daha yüksek PSA seviyesi olan hastalarda daha kuvvetli boyanma görülmüş.¹⁷⁷

ER stres ise özellikle metabolik hastalıklar, özellikle diyabet ve obezite bağlamında çalışılmıştır. ER stresine bağlı olarak çeşitli hastalıklar yani; tip 2 diyabet ve obezite gibi metabolik hastalıklar, parkinson, alzheimer, hungtungton gibi nörodejeneratif hastalıklar gibi çeşitli patofizyolojik durumları meydana gelmektedir. Bir hücrenin stresi anlaması, buna cevap vermesi ve stresi en aza indirmesi homeostazın sağlanması için önemlidir. ER stresini düzenlemek için hücreler UPR diye

isimlendirilen sinyal yollarından oluşan kaskadı işleve sokmaktadır.¹⁵³ UPR sinyal yolu, ER’de katlanmamış ya da yanlış katlanmış proteinlerin lümende birikmesi sonucunda meydana gelen bir cevaptır. UPR aktivasyonunu etkileyen etmenler şunlardır; Normal ER mekanizmasını yeniden düzenlemek ve değişen çevreye adaptif yanıtı sağlamak, ER lümenine gelecek yeni sentezlenen proteinlerin miktarını en aza indirmek, ER’de proteinlerin katlanma miktarını arttırmak, ER’de bulunan katlanmamış ya da hatalı katlanmış proteinlerin ERAD ile yıkılması ve tekrar sitoplazmaya dönüşünü sağlamaktır.¹⁵⁹ UPR katlanmamış proteinlerin lümende birikimini en aza indirmek için buna yanıt meydana getirir ve ER’nin normal işlevini düzenler. Eğer adaptif yanıt sağlanamazsa ve katlanmamış protein birikimi devam ederse çevredeki dokuya zarar vermemek için hücre apoptoza yönlendirilir yani hücre ölüme terk edilir.¹⁵⁴

Özellikle diyabetik hastalarda daha fazla oluşan AGE ekspresyonu sonucu ER stresinin arttığı tartışılmaktadır (Yamagishi S ve ark. 2010) Çalışmalar genetik olarak obez veya yüksek yağlı diyet (HFD) ile beslenen farelerin karaciğerde PERK, IRE1α ve JNK’nin yüksek aktivasyonuna sahip patolojik ER stres koşullarını geliştirdiğini göstermiştir. HFD’nin neden olduğu ER baskısı, tip 2 diyabetes mellitus (T2DM) ile ilgili insülin direnç mekanizmalarında da rol oynamaktadır. Son çalışmalar, AGE aracılı UPR yollarının çoklu bozukluklara neden olduğu, AGE sinyal yollarının ve çeşitli hücre tiplerinde ER stres cevabı arasındaki olası çapraz ilişkiyi göstermekte ve AGE aracılı UPR yollarının çoklu bozukluklara neden olduğunu göstermektedir. Endoplazmik retikulum (ER), protein katlanması, translokasyon ve post-translasyon modifikasyonundan sorumlu başlıca hücre içi organelidir. ER ortamında biyokimyasal, fizyolojik ve patolojik uyarılara bağlı olarak, besin yoksunluğuna, değiştirilmiş glikozilasyona, kalsiyum tükenmesine, oksidatif strese, DNA hasarına ve enerji bozukluğuna neden olur, bu da ER’de ortaya çıkan katlanmamış veya yanlış katlanmış proteinlerin daha sonra birikmesiyle sonuçlanır. Bu hücreler, ER fonksiyonundaki pertürbasyonların ve hayatta kalmak için ER stresinin üstesinden gelmelidir. Çözümlememiş ER stresi apoptosise yol açabilir.^{157,158}

Bizim çalışmamızda diyabetik ve diyabetik olmayan mesane kanserli hastalardan alınan transüretral rezeksiyon mesane (TUR M) materyalinde AGE ekspresyonu ve akümüasyonu ile ER stresinin ilişkisi gösterilmiştir. Tüm hastaların uzun dönemde progresyon ve nüks takipleri yapılmıştır. 2 grupta da kanserle ilişkili olarak ekspresyon

artışı vardır. Ancak diyabetli olan ve olmayan grupta diyabete bağı ekspresyon miktarları arasında anlamlı farklılık yoktu. Bunda kanserlerin sürvivalının yüksek olması ER stresine ve AGE akümülyasyonuna karşı direnç oluşturmuş olması en önemli faktör olarak düşünölmektedir. Bir diğör neden olarak hasta sayısının yetersiz olması gösterilerebilir; bunda özellikle bazı hastaların işleme onay vermemesi hasta sayısının yetersiz kalmasına neden olmuştur. Başka bir neden olarakta mesane kanser dokusuyla normal mesane dokusunun karşılaştırılamaması söylenebilir. Çünkü normal mesane dokusunun alınmasının hem komplikasyon riski hem de etik açıdan doğru olmadığı düşünölmüştür.

Son olarak taranan literatürlerde diyabetik veya normal mesane kanser dokusunda AGE birikimi ve ER stresi üzerine yeterli çalışma yoktur. Çalışmamız bu bakımdan önemli yer tutacaktır.

6. SONUÇ

Diyabet kanser ilişkisi, AGE birikimi ve ER stresinin kanser mekanizmasındaki rolü birçok çalışmada gösterilmiştir. Mesane kanseri gelişiminde de rolleri vardır. Ancak literatürde bunu destekleyecek yeterli çalışma yoktur. Bu mekanizmaların mesane kanseriyle ilişkisinin net ortaya konulabilmesi ve ayrıntılı şekilde incelenmesi için gerek in vivo gerekse in vitro çeşitli çalışmaların yapılması gerekmektedir.



KAYNAKLAR

1. Tekin A., Üroonkoloji kitabı. Ankara 2007; Cilt 1:12;s.152-157
2. İnci O., Ürogenital tümörler. İstanbul: Nobel Tıp Kitapevleri,1995;s51-105
3. Özen H., Türkeri L., Üroonkoloji kitabı. Ertem Basım Yayın, Ankara. 2007;s.151-257.
4. Messing E.M. (çeviri: Baltacı S., Zümrütbaş A.E., Akand M., Gülpınar Ö.). Üriner traktın ürotelyal tümörleri. Walsh P.C., Retik A.B., Vaughan E.D., Wein A.J. (Editörler).. Campbell Üroloji. 8. Baskı. 4. Cilt. Ankara: Güneş Kitabevi; 2005;s.2732-65
5. Özdemir R., Dünya ve Türkiye de mesane kanserleri epidemiyolojisi üroonkoloji bülteni. 2012;sayı 1.cilt11; s.1-9
6. Baffy G, Brunt EM, Caldwell SH. Hepatocellular carcinoma in non-alcoholic fatty liver disease: an emerging menace. J Hepatol 2012;56:1384-1391
7. Başaklar A.C., Skandalakis Cerrahi Anatomi Modern Cerrahinin Embriyolojik ve Anatomik Temelleri II, Bölüm: 24, Palme Yayıncılık, Ankara. 2008; s.1345-1377
8. Anafarta K., Bedük Y., Arıdan N., Temel Üroloji. 3. bölüm. Güneş Kitabevi, Ankara, 2010;s.7-14,725-740
9. Arıncı K., Elhan H., Anatomi cilt I, Güneş Kitabevi. Ankara. 1997;s.400-6
10. Williams P.L., Bannister L.H., Berry M.M., Collis P., Dyson M., Dussek J.E., Ferguson M.W.J., Gay's Anatomy Churchill Livingstone. 1995; p.1837-1845
11. Stacy E.M., Lippincott William & Wilkins, Histopathology for Ptahologists. 3 nd Ed. Phliadelphia. 2007; p.910-921
12. Sternberg Stephen S., Mills Stacey E., Carter Darryl, Greenson Joel K., Reuter Victor E., Stoler Mark H., Sternberg's Diagnostic Surgical Pathology. Volum II, 4 nd Ed, Chapter: 14, Philadelphia.2004; p.2035-2066
13. Rosai J., Bladder in Rosai and Ackerman's Surgical Pathology. Volum I, Chapter 17, 9 nd Ed, Mosby. China. 2004; p.1317-1359

14. David P, Wood, Jr.,MD. Urothelial Tumors of the Bladder. In: Kavoussi LR, Partin AW, Novick AC, Peters CA, eds. Campbell's Urology. Philadelphia: WB Saunders, 10th Ed, 2012, pp.2309-2334.
15. Eser S, Özdemir R. Dünya ve Türkiye'de Mesane Kanseri Epidemiyolojisi. Üroonkoloji Bülteni 2012, Sayı 1, Cilt 11; 1-9.
16. Zorlu F, Eser S, Fidaner C. İzmir İlinde Ürogenital Kanserlerin İnsidans Hızları. Üroonkoloji Bülteni 2004, Sayı 1, 1-9
17. Eser S, Yakut C, Özdemir R, et al. Cancer Incidence Rates in Turkey in 2006: A Detailed Registry Based Estimation. Asian Pacific J Cancer Prev 2010; 11, 1731-1739
18. Eser S, Zorlu F, Divrik RT, Cal C, et al. Incidence and epidemiological features of cancers of the genitourinary tract in Izmir between 1993-2002 Asian Pacific J Cancer Prev, 10, 491-96.
19. Hanahan D, Weinberg RA. The hallmarks of cancer. Cell 2000;100(1):57-70.
20. Nussbaum RL, Roderick RM, Huntington FW, Cornelius FB. Genetics and cancer. Thompson & Thompson Genetics in Medicine. 6th ed. Revised Reprint. Philadelphia: Saunders; 2004. p.311-3.
21. Çal Ç, Şimşir A. [Molecular genetics in urogenital system tumours]. Türkiye Klinikleri J Surg Med Sci 2005;1(9):1-11
22. Robbins SL, Kumar V, Abbas AK, Cotran RS, Fausto N. The lower urinary tract and male genital system. Robbins and Cotran Pathologic Basis of Disease. 8th ed. Philadelphia: Saunders Elsevier; 2010. p.971-1004
23. Knowles MA. Molecular pathogenesis of bladder cancer. Int J Clin Oncol 2008;13(4):287-97.
24. Knudson AG Jr. Mutation and cancer: statistical study of retinoblastoma. Proc Natl Acad Sci U S A 1971;68(4):820-3.
25. Body mass index and risk of prostate cancer in U.S. health professionals. *J Natl Cancer Inst.* **2003**; 95:1240-4. Cairns P, Shaw ME, Knowles MA. Initiation of bladder cancer may involve deletion of a tumour-suppressor gene on chromosome 9. *Oncogene* 1993;8(4):1083-5
26. Jung I, Messing E. Molecular mechanisms and pathways in bladder cancer development and progression. *Cancer Control* 2000;7(4):325-34.
27. Quek ML, Quinn DI, Daneshmand S, Stein JP. Molecular prognostication in bladder cancer- -a current perspective. *Eur J Cancer* 2003;39(11):1501-10..

28. Louhelainen J, Wijkström H, Hemminki K. Initiation-development modelling of allelic losses on chromosome 9 in multifocal bladder cancer. *Eur J Cancer* 2000;36(11):1441-51
29. Youssef RF, Mitra AP, Bartsch G Jr, Jones PA, Skinner DG, Cote RJ. Molecular targets and targeted therapies in bladder cancer management. *World J Urol* 2009;27(1):9-20.
30. Amsellem-Ouazana D, Bièche I, Tozlu S, Botto H, Debré B, Lidereau R. Gene expression profiling of ERBB receptors and ligands in human transitional cell carcinoma of the bladder. *J Urol* 2006;175(3 Pt 1):1127-32.
31. Thøgersen VB, Sørensen BS, Poulsen SS, Orntoft TF, Wolf H, Nexø E. A subclass of HER1 ligands are prognostic markers for survival in bladder cancer patients. *Cancer Res* 2001;61(16):6227-33
32. Kramer C, Klasmeier K, Bojar H, Schulz WA, Ackermann R, Grimm MO. Heparin-binding epidermal growth factor-like growth factor isoforms and epidermal growth factor receptor/ErbB1 expression in bladder cancer and their relation to clinical outcome. *Cancer* 2007;109(10):2016-24.
33. Krüger S, Weitsch G, Büttner H, Matthiensen A, Böhmer T, Marquardt T, et al. HER2 overexpression in muscle-invasive urothelial carcinoma of the bladder: prognostic implications. *Int J Cancer* 2002;102(5):514-8
34. Messing EM. Clinical implications of the expression of epidermal growth factor receptors in human transitional cell carcinoma. *Cancer Res* 1990;50(8):2530-7.
35. Messing EM, Czerniak B, Deitch D, Simmons H, Etkind P, Herz F, Koss LG. Ha-ras gene codon 12 mutation and DNA ploidy in urinary bladder carcinoma. *Br J Cancer* 1990;62(5):762-3
36. Kroft SH, Oyasu R. Urinary bladder cancer: mechanisms of development and progression. *Lab Invest* 1994;71(2):158-74
37. Habuchi T, Marberger M, Droller MJ, Hemstreet GP 3rd, Grossman HB, Schalken JA, et al. Prognostic markers for bladder cancer: International Consensus Panel on bladder tumor markers. *Urology* 2005;66(6 Suppl 1):64-74
38. Agarwal ML, Taylor WR, Chernov MV, Chernova OB, Stark GR. The p53 network. *J Biol Chem* 1998;273(1):1-4.
39. Mitra AP, Lin H, Datar RH, Cote RJ. Molecular biology of bladder cancer: prognostic and clinical implications. *Clin Genitourin Cancer* 2006;5(1):67-77.
40. Bryan RT, Hussain SA, James ND, Jankowski JA, Wallace DM. Molecular pathways in bladder cancer: part 1. *BJU Int* 2005;95(4):485-90

41. Kelly JD, Williamson KE, Irvine AE, Hamilton PW, Weir HP, Anderson NH, et al. Apoptosis and its clinical significance for bladder cancer therapy. *BJU Int* 1999;83(1):1-10..
42. Chatterjee SJ, George B, Goebell PJ, AlaviTafreshi M, Shi SR, Fung YK, et al. Hyperphosphorylation of pRb: a mechanism for RB tumour suppressor pathway inactivation in bladder cancer. *J Pathol* 2004;203(3):762-70.
43. Cordon-Cardo C, Wartinger D, Petrylak D, Dalbagni G, Fair WR, Fuks Z, et al. Altered expression of the retinoblastoma gene product: prognostic indicator in bladder cancer. *J Natl Cancer Inst* 1992;84(16):1251-6.
44. Grossman HB, Liebert M, Antelo M, Dinney CP, Hu SX, Palmer JL, et al. p53 and RB expression predict progression in T1 bladder cancer. *Clin Cancer Res* 1998;4(4):829-34
45. Cote RJ, Dunn MD, Chatterjee SJ, Stein JP, Shi SR, Tran QC, et al. Elevated and absent pRb expression is associated with bladder cancer progression and has cooperative effects with p53. *Cancer Res* 1998;58(6):1090-4.
46. Tsai YC, Nichols PW, Hiti AL, Williams Z, Skinner DG, Jones PA. Allelic losses of chromosomes 9, 11, and 17 in human bladder cancer. *Cancer Res* 1990;50(1):44-7.
47. Keen AJ, Knowles MA. Definition of two regions of deletion on chromosome 9 in carcinoma of the bladder. *Oncogene* 1994;9(7):2083-8.
48. Gonzalgo ML, Hayashida T, Bender CM, Pao MM, Tsai YC, Gonzales FA, et al. The role of DNA methylation in expression of the p19/p16 locus in human bladder cancer cell lines. *Cancer Res* 1998;58(6):1245-52
49. Hopman AH, Kamps MA, Speel EJ, Schapers RF, Sauter G, Ramaekers FC. Identification of chromosome 9 alterations and p53 accumulation in isolated carcinoma in situ of the urinary bladder versus carcinoma in situ associated with carcinoma. *Am J Pathol* 2002;161(4):1119-25
50. Kim WY, Sharpless NE. The regulation of INK4/ARF in cancer and aging. *Cell* 2006;127(2):265-75..
51. Mao L, Schoenberg MP, Scicchitano M, Erozan YS, Merlo A, Schwab D, et al. Molecular detection of primary bladder cancer by microsatellite analysis. *Science* 1996;271(5249):659-62.
52. Gylling AH, Nieminen TT, Abdel-Rahman WM, Nuorva K, Juhola M, Joensuu EI, et al. Differential cancer predisposition in Lynch syndrome: insights from molecular analysis of brain and urinary tract tumors. *Carcinogenesis* 2008;29(7):1351-9
53. van Oers JM, Zwarthoff EC, Rehman I, Azzouzi AR, Cussenot O, Meuth M, et al. FGFR3 mutations indicate better survival in invasive upper urinary tract and bladder tumours *Eur Urol* 2009;55(3):650-7.

54. Nakao M. Epigenetics: interaction of DNA methylation and chromatin. *Gene* 2001;278(1- 2):25-31.
55. Yavaş Ata Ö. [Histon deasetilaz inhibitors and demethylating agents]. *Turkiye Klinikleri J Med Oncol-Special Topics* 2009;2(1):44-7..
56. Ataergin AS, Özet A, Arpacı F. [The place of angiogenesis inhibitors in cancer therapy]. *Turkiye Klinikleri J Med Sci* 1999;19(2):100-5.
57. Saygılı Ö, Gültekin F. [Intercellular adhesion molecules]. *Turkiye Klinikleri J Med Sci* 1999;19(6):362-5.
58. Kanayama H. Matrix metalloproteinases and bladder cancer. *J Med Invest* 2001;48(1-2):31- 43..
59. Vihinen P, Kähäri VM. Matrix metalloproteinases in cancer: prognostic markers and therapeutic targets. *Int J Cancer* 2002;99(2):157-66
60. Naor D, Sionov RV, Ish-Shalom D. CD44: structure, function, and association with the malignant process. *Adv Cancer Res* 1997;71:241-319.
61. Takada S, Namiki M, Matsumiya K, Park N, Kondoh N, Uchida K, et al. Expression of CD44 splice variants in human transitional cell carcinoma. *Eur Urol* 1996;29(3):370-3.
62. Matsumura Y, Sugiyama M, Matsumura S, Hayle AJ, Robinson P, Smith JC, et al. Unusual retention of introns in CD44 gene transcripts in bladder cancer provides new diagnostic and clinical oncological opportunities. *J Pathol* 1995;177(1):11-20.
63. Miyake H, Eto H, Arakawa S, Kamidono S, Hara I. Over expression of CD44V8-10 in urinary exfoliated cells as an independent prognostic predictor in patients with urothelial cancer. *J Urol* 2002;167(3):1282-7..
64. Miyake H, Eto H, Arakawa S, Kamidono S, Hara I. Over expression of CD44V8-10 in urinary exfoliated cells as an independent prognostic predictor in patients with urothelial cancer. *J Urol* 2002;167(3):1282-7.
65. Takeichi M. Cadherin cell adhesion receptors as a morphogenetic regulator. *Science* 1991;251(5000):1451-5
66. Shapiro L, Fannon AM, Kwong PD, Thompson A, Lehmann MS, Grubel G, et al. Structural basis of cell-cell adhesion by cadherins. *Nature* 1995;374(6520):327-37
67. Popov Z, Gil-Diez de Medina S, Lefrere-Belda MA, Hoznek A, Bastuji-Garin S, Abbou CC, et al. Low E-cadherin expression in bladder cancer at the transcriptional and protein level provides prognostic information. *Br J Cancer* 2000;83(2):209-14.

68. Byrne RR, Shariat SF, Brown R, Kattan MW, Morton RA JR, Wheeler TM, et al. E-cadherin immunostaining of bladder transitional cell carcinoma, carcinoma in situ and lymph node metastases with long-term followup. *J Urol* 2001;165(5):1473-9
69. Ribeiro-Filho LA, Franks J, Sasaki M, Shiina H, Li LC, Nojima D, et al. CpG hypermethylation of promoter region and inactivation of Ecadherin gene in human bladder cancer. *Mol Carcinog* 2002;34(4):187-98
70. Shimazui T, Schalken JA, Girolodi LA, Jansen CF, Akaza H, Koiso K, et al. Prognostic value of cadherin-associated molecules (alpha-, beta-, and gamma-catenins and p120cas) in bladder tumors. *Cancer Res* 1996;56(18):4154-8
71. Lin BK, Clyne M, Walsh M, Gomez O, Yu W, Gwinn M, et al. Tracking the epidemiology of human genes in the literature: the HuGE Published Literature database. *Am J Epidemiol* 2006;164(1):1-4.
72. Horikawa Y, Gu J, Wu X. Genetic susceptibility to bladder cancer with an emphasis on gene-gene and gene-environmental interactions. *Curr Opin Urol* 2008;18(5):493-8.
73. Wu X, Lin X, Dinney CP, Gu J, Grossman HB. Genetic polymorphism in bladder cancer. *Front Biosci* 2007;12:192-213.
74. Gu J, Liang D, Wang Y, Lu C, Wu X. Effects of N-acetyl transferase 1 and 2 polymorphisms on bladder cancer risk in Caucasians. *Mutat Res* 2005;581(1-2):97-104.
75. García-Closas M, Malats N, Silverman D, Dosemeci M, Kogevinas M, Hein DW, et al. NAT2 slow acetylation, GSTM1 null genotype, and risk of bladder cancer: results from the Spanish Bladder Cancer Study and metaanalyses. *Lancet* 2005;366(9486):649-59
76. Vineis P, Veglia F, Garte S, Malaveille C, Matullo G, Dunning A, et al. Genetic susceptibility according to three metabolic pathways in cancers of the lung and bladder and in myeloid leukemias in nonsmokers. *Ann Oncol* 2007;18(7):1230-42.
77. Park SJ, Zhao H, Spitz MR, Grossman HB, Wu X. An association between NQO1 genetic polymorphism and risk of bladder cancer. *Mutat Res* 2003;536(1-2):131-7.
78. Chao C, Zhang ZF, Berthiller J, Boffetta P, Hashibe M. NAD(P)H:quinone oxidoreductase 1 (NQO1) Pro187Ser polymorphism and the risk of lung, bladder, and colorectal cancers: a meta-analysis. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2006;15(5):979-87.
79. Zhang D, Chen C, Fu X, Gu S, Mao Y, Xie Y, et al. A meta-analysis of DNA repair gene XPC polymorphisms and cancer risk. *J Hum Genet* 2008;53(1):18-33.
80. Francisco G, Menezes PR, Eluf-Neto J, Chammas R. XPC polymorphisms play a role in tissue-specific carcinogenesis: a metaanalysis. *Eur J Hum Genet* 2008;16(6):724- 34.

81. Wu X, Gu J, Grossman HB, Amos CI, Etzel C, Huang M, et al. Bladder cancer predisposition: a multigenic approach to DNA-repair and cellcycle-control genes. *Am J Hum Genet* 2006;78(3):464-79
82. Gao W, Romkes M, Zhong S, Nukui T, Persad RA, Smith PJ, et al. Genetic polymorphisms in the DNA repair genes XPD and XRCC1, p53 gene mutations and bladder cancer risk. *Oncol Rep* 2010;24(1):257-62.
83. Rathmann W, Giani G, Wild SH, et al. Global prevalence of diabetes: estimates for the year 2000 and projections for 2030. *Diabetes Care* 2004;27(10):2568– 2569.
84. Tsilidis KK, Kasimis JC, Lopez DS, Ntzani EE, Ioannidis JP. Type 2 diabetes and cancer: umbrella review of meta-analyses of observational studies. *BMJ* 2015;350:g7607.
85. Whiting DR, Guariguata L, Weil C, Shaw J. IDF diabetes atlas: global estimates of the prevalence of diabetes for 2011 and 2030. *Diabetes Res Clin Pract* 2011;94(3):311-321.
86. Noto H, Goto A, Tsujimoto T, Osame K, Noda M. Latest insights into the risk of cancer in diabetes. *J Diabetes Investig* 2013;4:225-232.
87. Marble A. Diabetes and cancer. *N Engl J Med* 1934;211:339-349.
88. Joost HG. Diabetes and cancer: Epidemiology and potential mechanisms. *Diab Vasc Dis Res* 2014;11: 390-394.
89. Gristina V, Cupri MG, Torchio M, et al. Diabetes and cancer: A critical appraisal of the pathogenetic and therapeutic links. *Biomed Rep* 2015;3(2):131-136
90. Zhang H, Fagan DH, Zeng X, et al. Inhibition of cancer cell proliferation and metastasis by insulin receptor downregulation. *Oncogene* 2010;29(17):2517- 2527.
91. Heuson JC, Legros N. Influence of insulin deprivation on growth of the 7,12 dimethylbenz(a)anthracene-induced mammary carcinoma in rats subjected to alloxan diabetes and food restriction. *Cancer Research* 1972;32:226-232
92. Alvino CL, Ong SC, McNeil KA, et al. Understanding the mechanism of insulin and insulin-like growth factor (IGF) receptor activation by IGF-II. *PLoS One* 2011;6(11):e27488.
93. Xu CX, Zhu HH, Zhu YM. Diabetes and cancer: Associations, mechanisms, and implications for medical practice. *World J Diabetes* 2014;5:372-80. <http://dx.doi.org/10.4239/wjd.v5.i3.372>
94. Vigneri P, Frasca F, Sciacca L, Pandini G, Vigneri R. Diabetes and cancer. *Endocr Relat Cancer* 2009;16: 1103-1123

95. Johnson JA, Bowker SL. Intensive glycaemic control and cancer risk in type 2 diabetes: a meta-analysis of major trials. *Diabetologia* 2011;54:25-31. <http://dx.doi.org/10.1007/s00125-010-1933-3>
96. Moore MM, Chua W, Charles KA, Clarke SJ. Inflammation and cancer: causes and consequences. *Clin Pharmacol Ther* 2010;87:504-508.
97. Del Prete A, Allavena P, Santoro G, et al. Molecular pathways in cancer-related inflammation. *Biochem Med (Zagreb)* 2011;21:264-275
98. Brasky TM, Potter JD, Kristal AR, et al. Non-steroidal antiinflammatory drugs and cancer incidence by sex in the VITamins And Lifestyle (VITAL) cohort. *Cancer Causes Control* 2012;23:431-444.
99. Setiawan VW, Matsuno RK, Lurie G, et al. Use of nonsteroidal anti-inflammatory drugs and risk of ovarian and endometrial cancer: the Multiethnic Cohort. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2012;21:1441- 1449.
100. Silva MT, Galvao TF, Zimmerman IR, Pereira MG, Lopes LC. Non-aspirin non-steroidal anti-inflammatory drugs for the primary chemoprevention of nongastrointestinal cancer: summary of evidence. *Curr Pharm Des* 2012;18:4047-4070.
101. Fernandes JV, Cobucci RN, Jatobá CA, et al. The Role of the Mediators of Inflammation in Cancer Development. *Pathol Oncol Res* 2015 Mar 5.
102. Sciacca L, Vigneri R, Tumminia A, et al. Clinical and molecular mechanisms favoring cancer initiation and progression in diabetic patients. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 2013;23(9):808-815.
103. Le TN, Nestler JE, Strauss JF, Wickham EP. Sex hormone-binding globulin and type 2 diabetes mellitus. *Trends Endocrinol Metab* 2012;23(1):32-40.
104. Rose DP, Komninou D, Stephenson GD. Obesity, adipocytokines, and insulin resistance in breast cancer. *Obesity Reviews* 2004;5:153-165.
105. Boonyaratanakornkit V, Pateetin P. The Role of Ovarian Sex Steroids in Metabolic Homeostasis, Obesity, and Postmenopausal Breast Cancer: Molecular Mechanisms and Therapeutic Implications. *Biomed Res Int* 2015;2015:140196. Epub 2015 Mar 19.
106. Magnuson A, Fouts J, Foster M. Adipose tissue, obesity and adipokines: role in cancer promotion. *Horm Mol Biol Clin Investig* 2015;21:57-74
107. Liao WC, Tu YK, Wu MS, et al. Blood glucose concentration and risk of pancreatic cancer: systematic review and dose-response meta-analysis. *BMJ* 2015;349:g7371.
108. Chow WH, Gridley G, Nyrén O, et al. Risk of pancreatic cancer following diabetes mellitus: a nationwide cohort study in Sweden. *J Natl Cancer Inst* 1995;87:930-931.

109. Grote VA, Rohrmann S, Nieters A, et al. Diabetes mellitus, glycated haemoglobin and C-peptide levels in relation to pancreatic cancer risk: a study within the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC) cohort. *Diabetologia* 2011;54:3037- 3046.
110. Larsson SC, Orsini N and Wolk A. Body mass index and pancreatic cancer risk: a meta-analysis of prospective studies. *Int J Cancer* 2007;120:1993-1998
111. Wang P, Kang D, Cao W, Wang Y, Liu Z. Diabetes mellitus and risk of hepatocellular carcinoma: a systematic review and meta-analysis. *Diabetes Metab Res Rev* 2012;28:109-122.
112. Yang WS, Va P, Bray F, et al. The role of pre-existing diabetes mellitus on hepatocellular carcinoma occurrence and prognosis: a meta-analysis of prospective cohort studies. *PLoS One* 2011;6:e27326
113. Wang C, Wang X, Gong G, et al. Increased risk of hepatocellular carcinoma in patients with diabetes mellitus: a systematic review and meta-analysis of cohort studies. *Int J Cancer* 2012;130:1639-1648.
114. Balbi M, Donadon V, Gheretti M, et al: Alcohol and HCV chronic infection are risk cofactors of type 2 diabetes mellitus for hepatocellular carcinoma in Italy. *Int J Environ Res Public Health* 2010;7:1366-1378
115. Şahinoğlu K., *Kliniğe Yönelik Anatomi*, 4. Baskı, Bölüm 3, Nobel Tıp Kitabevi, 2007; s.358-363
116. Wiencke JK. Impact of race/ethnicity on molecular pathways in human cancer. *Nat Rev Cancer* 2004;4: 79-84
117. Papa S, Bubici C, Zazzeroni F, Franzoso G. Mechanisms of liver disease: cross-talk between the NFkappaB and JNK pathways. *Biol Chem* 2009;390:965- 976
118. Maillard, L. C. (1912). “Action des acidesamines sur les sucres: formation des melanoidines par voie methodique”. *CR Acad. Sci.(Paris)*, 154, 66-68.
119. Parmaksiz, I. (2011). “Advanced glycation end-products in complications of diabetes mellitus”. *Marmara Med J* 2011; 24: 141-8.
120. Dyer, D. G., Dunn, J. A., Thorpe, S. R., Bailie, K. E., Lyons, T. J., McCance, D. R., et al (1993). “Accumulation of Maillard reaction products in skin collagen in diabetes and aging”. *Journal of Clinical Investigation*, 91(6), 2463.
121. Miyata, T., Ueda, Y., Shinzato, T., Iida, Y., Tanaka, S., Kurokawa, K., et al. (1996). “Accumulation of albumin-linked and free-form pentosidine in the circulation of uremic patients with end-stage renal failure: renal implications in the pathophysiology of pentosidine”. *Journal of the American Society of Nephrology*, 7(8), 1198-1206.

122. Münch, G., Gerlach, M., Sian, J., Wong, A., and Riederer, P. (1998). "Advanced glycation end products in neurodegeneration: more than early markers of oxidative stress?" *Annals of Neurology*, 44(S1)
123. Nowotny, K., Jung, T., Höhn, A., Weber, D., and Grune, T. (2015). "Advanced glycation end products and oxidative stress in type 2 diabetes mellitus". *Biomolecules*, 5(1), 194-222.
124. Miyata, T., Ueda, Y., Horie, K., Nangaku, M., Tanaka, S., Strihou, C., et al (1998). "Renal catabolism of advanced glycation end products: the fate of pentosidine". *Kidney International*, 53(2), 416-422.
125. Verzijl, N., DeGroot, J., Thorpe, S. R., Bank, R. A., Shaw, J. N., Lyons, T., et al (2000). "Effect of collagen turnover on the accumulation of advanced glycation end products." *Journal of Biological Chemistry*, 275(50), 39027-39031.
126. Vlassara, H., and Uribarri, J. (2004). "Glycoxidation and diabetic complications: modern lessons and a warning? Reviews in endocrine and metabolic disorders". 5(3), 181-188.
127. Aronson, D. (2003). "Cross-linking of glycated collagen in the pathogenesis of arterial and myocardial stiffening of aging and diabetes. *Journal of Hypertension*". 21(1), 3-12
128. Himmelfarb, J., Stenvinkel, P., Ikizler, T. A., and Hakim, R. M. (2002). "The elephant in uremia: oxidant stress as a unifying concept of cardiovascular disease in uremia". *Kidney International*, 62(5), 1524-1538.
129. Miyata, T., Strihou, C. Y., Kurokawa, K., and Baynes, J. W. (1999). "Alterations in nonenzymatic biochemistry in uremia: origin and significance of "carbonyl stress" in long-term uremic complications". *Kidney International*, 55(2), 389-399.
130. Singh, R., Barden, A., Mori, T., and Beilin, L. (2001). "Advanced glycation end-products: a review. *Diabetologia*". 44(2), 129-146
131. Cai, W., He, J. C., Zhu, L., Peppas, M., Lu, C., Uribarri, J., et al. (2004). "High levels of dietary advanced glycation end products transform low-density lipoprotein into a potent redox-sensitive mitogen-activated protein kinase stimulant in diabetic patients". *Circulation*, 110(3), 285-291..
132. Lin, R.-Y., Choudhury, R. P., Cai, W., Lu, M., Fallon, J. T., Fisher, E. A., et al (2003). "Dietary glycotoxins promote diabetic atherosclerosis in apolipoprotein E-deficient mice". *Atherosclerosis*, 168(2), 213-220.
133. Goldberg, T., Cai, W., Peppas, M., Dardaine, V., Baliga, B. S., Uribarri, J., et al. (2004). "Advanced glycoxidation end products in commonly consumed foods". *Journal of the American Dietetic Association*, 104(8), 1287-1291.
134. Levi, B., and Werman, M. J. (2003). "Fructose and related phosphate derivatives impose DNA

- damage and apoptosis in L5178Y mouse lymphoma cells". *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 14(1), 49-60
135. Ahmed, N., Mirshekar-Syahkal, B., Kennish, L., Karachalias, N., Babaei-Jadidi, R., and Thornalley, P. J. (2005). "Assay of advanced glycation endproducts in selected beverages and food by liquid chromatography with tandem mass spectrometric detection". *Molecular Nutrition and Food Research*, 49(7), 691- 699..
 136. Uribarri, J., Woodruff, S., Goodman, S., Cai, W., Chen, X., Pyzik, R., et al. (2010). "Advanced glycation end products in foods and a practical guide to their reduction in the diet". *Journal of the American Dietetic Association*, 110(6), 911-916.
 137. Cai, W., He, J.C., Zhu, L., Chen, X., Zheng, F., Striker, G.E., et al. (2008). "Oral glycotoxins determine the effects of calorie restriction on oxidant stress, age-related diseases, and lifespan". *The American Journal of Pathology*, 173(2), 327-336.
 138. Baynes, J. W. (2002). "The Maillard hypothesis on aging: time to focus on DNA". *Annals of the New York Academy of Sciences*, 959(1), 360-367.
 139. Raj, D. S., Choudhury, D., Welbourne, T. C., and Levi, M. (2000). Advanced glycation end products: a Nephrologist's perspective. *American Journal of Kidney Diseases*, 35(3), 365- 380.
 140. Ramasamy, R., Yan, S. F., and Schmidt, A. M. (2012). "Advanced glycation endproducts: from precursors to RAGE: round and round we go". *Amino acids*, 42(4), 1151-1161.
 141. Bierhaus, A., Humpert, P.M., Morcos, M., Wendt, T., Chavakis, T., Arnold, B., et al. (2005). "Understanding RAGE, the receptor for advanced glycation end products". *Journal of Molecular Medicine*, 83(11), 876-886
 142. Peppia, M., Brem, H., Ehrlich, P., Zhang, J.G., Cai, W., Li, Z., et al. (2003). "Adverse effects of dietary glycotoxins on wound healing in genetically diabetic mice". *Diabetes*, 52(11), 2805- 2813.
 143. Wautier, J.L., and Schmidt, A. M. (2004). "Protein glycation". *Circulation Research*, 95(3), 233-238.
 144. Van Dijk, P.C., Jager, K.J., Stengel, B., Gronhagen-Riska, C., Feest, T.G., and Briggs, J. D. (2005). "Renal replacement therapy for diabetic end-stage renal disease: data from 10 registries in Europe (1991–2000)". *Kidney International*, 67(4), 1489-1499.
 145. Wendt, T., Tanji, N., Guo, J., Hudson, B. I., Bierhaus, A., Ramasamy, R., et al. (2003). "Glucose, glycation, and RAGE: implications for amplification of cellular dysfunction in diabetic nephropathy". *Journal of the American Society of Nephrology*, 14(5), 1383-1395.
 146. Kanauchi, M., Nishioka, H., and Dohi, K. (2001). "Serum levels of advanced glycosylation end products in diabetic nephropathy". *Nephron*, 89(2), 228-230.

147. Lutgers, H.L., Graaff, R., Links, T.P., Ubink-Veltmaat, L.J., Bilo, H.J., Gans, R. O., et al. (2006). "Skin autofluorescence as a noninvasive marker of vascular damage in patients with type 2 diabetes". *Diabetes Care*, 29(12), 2654-2659
148. Lutgers, H.L., Graaff, R., Links, T.P., Ubink-Veltmaat, L.J., Bilo, H.J., Gans, R. O., et al. (2006). "Skin autofluorescence as a noninvasive marker of vascular damage in patients with type 2 diabetes". *Diabetes Care*, 29(12), 2654-2659
149. Agarwal, R., Campbell, R.C., and Warnock, D. G. (2004). "Oxidative stress in hypertension and chronic kidney disease: role of angiotensin II. Paper presented at the Seminars in nephrology". *Seminars in Nephrology*, 24(2), 101-114.
150. Hudson, B.I., Stickland, M.H., Futers, T. S., and Grant, P.J. (2001). "Study of the- 429 T/C and- 374 T/A receptor for advanced glycation end products promoter polymorphisms in diabetic and nondiabetic subjects with macrovascular disease". *Diabetes Care*, 24(11), 2004-2004.
151. Miyata, T., Ueda, Y., Yamada, Y., Izuhara, Y., Wada, T., Jadoul, M., et al. (1998). "Accumulation of carbonyls accelerates the formation of pentosidine, an advanced glycation end product: carbonyl stress in uremia". *Journal of the American Society of Nephrology*, 9(12), 2349-2356
152. Bohlender, J.M., Franke, S., Stein, G., and Wolf, G. (2005). "Advanced glycation end products and the kidney. *American Journal of Physiology-Renal Physiology*, 289(4), F645-F659.
153. Kalousova, M., Zima, T., Tesař, V., Štípek, S., and Sulkova, S. (2004). "Advanced glycation end products in clinical nephrology". *Kidney and Blood Pressure Research*, 27(1), 18- 28.
154. Tauer, A., Zhang, X., Schaub, T.P., Zimmeck, T., Niwa, T., Passlick-Deetjen, J., et al. (2003). "Formation of advanced glycation end products during CAPD". *American Journal of Kidney Diseases*, 41(3), S57-S60.
155. Baragetti, I., Furiani, S., Vettoretti, S., Raselli, S., Maggi, F., Galli, F., et al. (2006). "Role of vitamin E-coated membrane in reducing advanced glycation end products in hemodialysis patients: a pilot study". *Blood Purification*, 24(4), 369-376.
156. Hartog, J.W., de Vries, A. P., Bakker, S. J., Graaff, R., van Son, W. J., van der Heide, J.J.H., et al. (2006). "Risk factors for chronic transplant dysfunction and cardiovascular disease are related to accumulation of advanced glycation end-products in renal transplant recipients". *Nephrology Dialysis Transplantation*, 21(8), 2263-2269
157. Bakris, G.L., Bank, A.J., Kass, D.A., Neutel, J.M., Preston, R.A., and Oparil, S. (2004). "Advanced glycation end-product cross-link breakers: a novel approach to cardiovascular pathologies related to the aging process". *American Journal of Hypertension*, 17(12), S23-S30
158. Hammes, H.P., Du, X., Edelstein, D., Taguchi, T., Matsumura, T., Ju, Q., et al. (2003). "Benfotiamine blocks three major pathways of hyperglycemic damage and prevents experimental diabetic retinopathy". *Nature Medicine*, 9(3), 294-299.

159. Uribarri, J., Cai, W., Peppia, M., Goodman, S., Ferrucci, L., Striker, G., et al. (2007). "Circulating glycotoxins and dietary advanced glycation endproducts: two links to inflammatory response, oxidative stress, and aging". *The Journals of Gerontology Series A: Biological Sciences and Medical Sciences*, 62(4), 427-433.
160. Uribarri, J., Peppia, M., Cai, W., Goldberg, T., Lu, M., and Vlassara, H. (2003). "Restriction of glycotoxins markedly reduces AGE toxins in renal failure patients". *J Am Soc Nephrol*, 14, 728-731.
161. AICR. (2008). World Cancer Research Fund/American Institute for Cancer Research. Food, nutrition, physical activity, and the prevention of cancer: A Global perspective: American Institute for Cancer Research Washington DC Washington DC
162. Bantle, J. P., Wylie-Rosett, J., Albright, A. L., Apovian, C. M., Clark, N. G., Franz, M. J., et al. (2008). "Nutrition recommendations and interventions for diabetes: a position statement of the American Diabetes Association". *Diabetes Care*, 31, S61-S78.
163. Lichtenstein, A. H., Appel, L. J., Brands, M., Carnethon, M., Daniels, S., Franch, H. A., et al. (2006). "Diet and lifestyle recommendations revision 2006". *Circulation*, 114(1), 82-96.
164. Kanauchi, M., Nishioka, H., and Dohi, K. (2001). "Serum levels of advanced glycosylation end products in diabetic nephropathy". *Nephron*, 89(2), 228-230.
165. Lutgers, H.L. Graaff, R. Links, T.P. Ubink-Veltmaat, L.J., Bilo, H.J., Gans, R. O., et al. (2006). "Skin autofluorescence as a noninvasive marker of vascular damage in patients with type 2 diabetes". *Diabetes Care*, 29(12), 2654-2659
166. Cai, W. He, J. C. Zhu, L. Peppia, M. Lu, C. Uribarri, J. et al. (2004). "High levels of dietary advanced glycation end products transform low-density lipoprotein into a potent redox-sensitive mitogen-activated protein kinase stimulant in diabetic patients". *Circulation*, 110(3), 285-291
167. Lin, R.-Y. Choudhury, R. P. Cai, W. Lu, M. Fallon, J. T. Fisher, E. A. et al (2003). "Dietary glycotoxins promote diabetic atherosclerosis in apolipoprotein E-deficient mice". *Atherosclerosis*, 168(2), 213-220.
168. Zheng, F. He, C. Cai, W. Hattori, M. Steffes, M. and Vlassara, H. (2002). "Prevention of diabetic nephropathy in mice by a diet low in glycoxidation products". *Diabetes/Metabolism Research and Reviews*, 18(3), 224-237
169. Goldberg, T. Cai, W. Peppia, M. Dardaine, V. Baliga, B. S. Uribarri, J. et al. (2004). "Advanced glycoxidation end products in commonly consumed foods". *Journal of the American Dietetic Association*, 104(8), 1287-1291
170. Levi, B. and Werman, M. J. (2003). "Fructose and related phosphate derivatives impose DNA damage and apoptosis in L5178Y mouse lymphoma cells". *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 14(1), 49-60.

171. Ahmed, N. Mirshekar-Syahkal, B. Kennish, L. Karachalias, N. Babaei-Jadidi, R. and Thornalley, P. J. (2005). "Assay of advanced glycation endproducts in selected beverages and food by liquid chromatography with tandem mass spectrometric detection". *Molecular Nutrition and Food Research*, 49(7), 691- 699.
172. Verzijl, N. DeGroot, J. Thorpe, S. R. Bank, R. A. Shaw, J. N. Lyons, T. et al (2000). "Effect of collagen turnover on the accumulation of advanced glycation end products." *Journal of Biological Chemistry*, 275(50), 39027-39031.
173. Dyer, D. G. Dunn, J. A. Thorpe, S. R. Bailie, K. E. Lyons, T. J. McCance, D. R. et al (1993). "Accumulation of Maillard reaction products in skin collagen in diabetes and aging". *Journal of Clinical Investigation*, 91(6), 2463.
174. Verzijl, N. DeGroot, J. Thorpe, S. R. Bank, R. A. Shaw, J. N. Lyons, T. et al (2000). "Effect of collagen turnover on the accumulation of advanced glycation end products." *Journal of Biological Chemistry*, 275(50), 39027-39031
175. Vlassara, H. and Uribarri, J. (2004). "Glycoxidation and diabetic complications: modern lessons and a warning? *Reviews in endocrine and metabolic disorders*". 5(3), 181-188
176. Reuter S, Subash C. Gupta, Madan M. Chaturvedi, Bharat B. Aggarwal, Oxidative stress, inflammation, and cancer: How are they linked? *Free Radical Biology and Medicine* Volume 49, Issue 11, 1 December 2010, Pages 1603–1616
177. Zhao CB1, Bao JM1, Lu YJ2, Zhao T3, Zhou XH3, Zheng DY4, Zhao SC1 Coexpression of RAGE and HMGB1 is associated with cancer progression and poor patient outcome of prostate cancer. *Am J Cancer Res*. 2014 Jul 16;4(4):369-77

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Kadir KARKİN

Doğum Tarih ve Yeri : 25.05.1987-ADANA

Medeni Durumu : Evli

Adres : Güzelyalı mah. 80201 sok. No 24 Altın Apt.
Kat 9-18, Çukurova/ADANA

Telefon : 0 542 315 82 32

E-Mail : kadir_karkin@msn.com

Mezun Olduğu Tıp Fakültesi : Sütçü İmam Üniversitesi Tıp Fakültesi

Görev Yerleri : Van Çaldıran/İpek Yolu Devlet Hastanesi

Dernek Üyelikleri : Ürolojik Cerrahi Derneği, Avrupa Üroloji Derneği

Yabancı Dil : İngilizce