

Hücre İçi Kalsiyum Sinyali, Apoptoz ve Kanser Progresyonunda Kalsiyum Kanallarının (Voc, Trp ve Soc Kanalları) Rolü

Nihal Çiftçi¹

Gönderim Tarihi / Received: 12.06.2017

Kabul Tarihi / Accepted: 08.08.2017

¹Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya, Tokat, Türkiye

*Sorumlu Yazar / Corresponding Author: Nihal ÇİFTÇİ, e-mail: nihalciftci@hotmail.com

ÖZ

Hücre içi Ca^{+2} sinyali kardiyovasküler ve nörolojik hastalıklarla ve daha pek çok hastalıkla ilişkilidir. Ca^{+2} giriş kanallarının değişmiş ekspresyonları da meme, kolon, prostat, over, beyin gibi çeşitli kanser tipleri ile ilişkilendirilmektedir. Hücre içi Ca^{+2} artışları pek çok hücrel proste önemli iken, kanserli bir olguda hücre proliferasyonu ve migrasyonu dahil olmak üzere tümör progresyonu ile ilişkili olan pek çok proses için de önemli ve etkilidir. Kanser ve kanser kökenli olmayan hücreleri karşılaştıran çalışmalar, kalsiyum kanal ailesinin (Voc, Trp ve Soc kanalları) bazı üyelerinin aracılık ettiği Ca^{+2} -aracılı değişiklikleri ortaya koymaktadır. Kanser progresyonunda kalsiyum kanallarının değişmiş ekspresyonunun rol oynadığı dikkat çekmektedir. Bu derlemede kanser hücrelerinin plazma zarında bulunan kalsiyum kanallarının protein ekspresyonlarındaki değişiklikler ve sonuçları son yapılan çalışmalarla ifade edilmektedir.

Anahtar Kelimeler: Kalsiyum iyonu (Ca^{+2}), Kalsiyum Kanalları, Kanser

ABSTRACT

Intracellular calcium signaling is associated with cardiovascular and neurological diseases and many other diseases. Altered expression of calcium influx channels is associated with various types of cancer including breast, colon, prostate, ovary, brain. While important for regulating many normal, cellular processes, increases in intracellular Ca^{+2} have been implicated in a variety of processes associated with tumour progression, including breast cancer cell migration and proliferation. Studies comparing cancer tissues with noncancerous tissues have revealed changes in calcium signaling mediated by some members of the calcium channel family (voc, trp and soc channels). As we pointed out, altered expression of calcium channels plays a role in cancer progression. This review focuses on the recent studies regarding the differences in protein expression of calcium channels found in plasma membrane of cancer cells.

Keywords: Calcium ion (Ca^{+2}), Calcium Channels, Cancer

GİRİŞ

Hücrede Ca^{+2} Fonksiyonu

Kalsiyum (Ca), +2 değerlikli kimyasal bir element olmasının yanında, organizmalarda bulunan esansiyel bir iz elementtir. İz elementler; biyolojik, kimyasal ve moleküler seviyelerde hücre fonksiyonları için çok önemlidir (1). Kalsiyumun sitoplazmanın içine veya dışına hareketi, hücrel proste bir sinyale karşı verilen yanıtı göre değişmektedir. Dolayısıyla Ca^{+2} , sinyal iletimi için önemli bir araçtır. Nasıl ki bağlanan proteinlerin fosforilasyonu negatif yüklenmelerine ve şeklinin değişmesine sebep oluyorsa, Ca^{+2} iyonunun proteine bağlanması da proteinin konformasyonunu ve etkileşimlerini değiştirir. Hücre içi (~100 nM) ve hücre dışı (mM) arasındaki yüksek orandaki Ca^{+2} konsantrasyon farkı, +2 değerlikli Ca^{+2} 'un +2 değerlikli Mg^{2+} 'dan ayrılması ve hücre içinde sinyal molekülü görevi görmesi açısından son derece önemlidir (2). Hücre içi Ca^{+2} derişiminin yüksek kalması öldürücü olabilirken, hücre içi Ca^{+2} derişiminin makul artışları nöroprotektif sinyalleri aktive eder (3). Bu yüzden Ca^{+2} üzerinde kontrolün sağlanması için hücrelerin seçtiği yöntemlerden biri de Ca^{+2} iyonları ile şelat oluşturmaktır. Bu şekilde Ca^{+2} düzeylerini tamponlamak veya düşürmek için

proteinlere bağlanabilirken, hücrel işlemleri tetiklemek için de bağlanabilir. Kalsiyum bağlama proteinlerinin büyük bir bölümünde bulunan EF-el motifleri 'sarmal-dönüş-sarmal' yapısal domainlerdir (2).

Ana proteine yardımcı ve daha büyük sinyal komplekslerinin oluşturulmasını kolaylaştıran (4) adaptör proteinlerden biri de kalmodulindir. Kalmoduline Ca^{+2} bağlanması, hidrofobik yüzeylerin açığa çıkmasını sağlar. Genellikle metionin içeren hidrofobik kalıntılar, hedef proteinin etrafını sarar ve hedef proteinin fonksiyonunu regüle eden intramoleküler etkileşime neden olur (2).

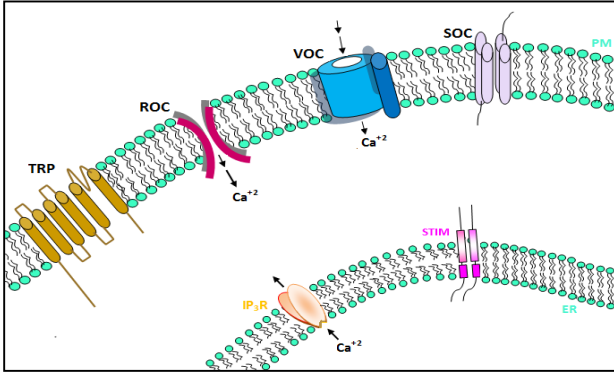
Hücreden veya Hücre İçi Depolardan Ca^{+2} Salverilişi

Hücre içi ve hücre dışı Ca^{+2} konsantrasyonunu düzenleyen membranlar üzerinde Ca^{+2} pompaları bulunur. Sarko(endo)plazmik retikulum Ca^{+2} -ATPaz (SERCA) pompaları ile kalsiyumu sitoplazmadan SR-ER lümenine pompalar. Plazma membranı Ca^{+2} -ATPaz (PMCA) pompaları ile kalsiyumun hücre dışına atılmasını sağlar. İkinci bir mekanizma olan Na^{+}/Ca^{+2} (NCX) deşitiricisi veya Na^{+}/Ca^{+2} -K⁺ deşitiricisi ile de hücrelerdeki kalsiyum iyonu dengelenir. PMCA'nın Ca^{+2} afinitesi yüksek ancak taşıma kapasitesi düşüktür. Kalsiyum ekstrüzyonundan sorumlu NCX'in ise Ca^{+2}

afinitesi düşük ancak Ca^{+2} taşınması için kapasitesi yüksektir (5).

Ca^{+2} Giriş Kanalları

Kalsiyum; interstisyel alandan hücreye plazma membranı üzerinde bulunan voltaja duyarlı kalsiyum (VOC) kanalları, ligand/reseptör kontrollü kalsiyum (L/ROC) kanalları, depo-kontrollü kalsiyum (SOC) kanalları ve geçici reseptör potansiyeli (TRP) kanal proteinleri aracılığıyla girer. Ayrıca ER membranı üzerinde bulunan IP3R'ler de sitoplazmik Ca^{+2} konsantrasyon artışına katkıda bulunur (Şekil 1).



Şekil 1. Plazma membranı üzerindeki Ca^{+2} kanalları ve ER membran üzerindeki IP3 reseptörü ve STIM proteini. Hücre içi Ca^{+2} dinamiği bir dizi protein ile sağlanır.

Voltaja duyarlı Ca^{+2} Kanalları (VOC Kanalları)

Voltaja duyarlı Ca^{+2} kanalları (CaV), biyolojik sistemlerde elektriksel ve kimyasal sinyaller arasındaki etkileşimde önemli bir rol oynar. Çoklu alt birimli (multimerik) makromoleküler bir makina olan CaV, membran potansiyel değişimine bağlı olarak kalsiyum girişinin kontrolünü sağlar. Membran üzerinde oluşturulan depolarizasyon kalsiyum-seçici porların açılmasına neden olur. İçeri giren kalsiyum iyonları kimyasal haberci gibi davranabilirken, hücre içi sinyalleme kaskadlarını da tetikleyebilir. Nöron gibi hücreler bu kanallar sayesinde dışarıdan içeriye Ca^{+2} akışını gerçekleştirebilir (6).

CaV kanalları genellikle nöronlar, düz kas, iskelet kası ve kardiyak hücreleri gibi uyarılabilir hücrelerde incelenmiştir. Hem epilepsi hem de hipertansiyonda, CaV kanallarını hedef alan ilaçlar kullanılmaktadır. Bu ilaçlar birkaç farklı CaV kanal tipini bloke ederek tedavide etkili olmaktadır (7).

CaV'deki Ca , Ca^{+2} 'yi temsil ederken, V ise voltaj ve fizyolojik modulatorleri temsil eder. CaV, modulatorler-ilaçlar için bağlanma bölgeleri ve voltaj sensörü içerir. 190-250 kDa ağırlığında $\alpha 1$ -alt ünitesinden oluşan üç sınıflı (CaV1, CaV2, CaV3) altında incelenir ve toplam 10 üyeden oluşur. L-tipi voltaj kapılı kalsiyum kanal $\alpha 1$ altbirimlerinin bilinen dört izomeri mevcuttur: CaV1.1 ($\alpha 1S$), CaV1.2 ($\alpha 1C$), CaV1.3 ($\alpha 1D$) ve CaV1.4 ($\alpha 1F$). Bunlar genellikle yüksek voltaj ile aktive olan ve dihidropiridin'e duyarlı kanallardır. CaV2 izomerleri CaV2.1 ($\alpha 1A$), CaV2.2 ($\alpha 1B$) ve CaV2.3 ($\alpha 1E$) sırasıyla P/Q-tipi, N-tipi ve R-tipi Ca^{+2} akımlarına aracılık eden

$\alpha 1A$, $\alpha 1B$ ve $\alpha 1E$ izomeri içeren yüksek voltaj ile aktive olan ve dihidropiridin'e duyarlı kanallardır. CaV3 kanalları ise aktivasyon ve inaktivasyon kinetikleri gösteren T-tipi veya 'transient current' olarak ifade edilen geçici akımlardır. Düşük voltaj ile aktive olan dihidropiridin'e duyarlı CaV3.1 ($\alpha 1G$), CaV3.2 ($\alpha 1H$) ve CaV3.3 ($\alpha 1I$) izomerlerinden oluşur. L-tipi ve T-tipi CaV aileleri birçok hücre tipinde eksprese edilirken, N, P/Q ve R-tipi kanallar çoğunlukla nöronlarda eksprese edilir (7).

Ligand/Reseptör-Kontrollü Ca^{+2} Kanalları (L/ROC Kanalları)

Voltaj-bağımsız Ca^{+2} geçirgen kanalları, kalsiyum influks prosesini içerir. Ca^{+2} girişi ER'daki Ca^{+2} konsantrasyonunun korunması açısından önemlidir. Bu denge bozulursa, kalsiyum influks prosesinin iyileştirilmesi ile yeniden dengeye ulaşır. Ayrıca kalsiyum influks yolları çeşitli hücre tiplerinde büyüme ve proliferasyon gibi önemli fonksiyonların kontrolünü de sağlar (8).

Pek çok ligand-kapılı iyonotropik kanal, katyonlar için non-selektiftir ve agonistin aktivitesi ile önemli miktarda Ca^{+2} geçirebilir. Glutamat (NMDA, N-metil-D-aspartat; AMPA, 2-amino-3-hidroksi-5-metil-4 izoksazol-propionik asit; KA, kainat reseptörleri), asetilkolin (nAChR, nikotinik asetilkolin reseptörleri), serotonin (5-HT3 reseptörleri), ATP (P2X, purino-reseptörler) gibi belirli iyonotropik reseptör tiplerini modüle eden bileşikler Ca^{+2} 'un önemli bir bölümünün karşılanmasında etkilidir (9,10).

Birkaç istisna dışında (ligand-kapılı kanallar, saç hücrenin mekanik uyarılmaya duyarlı transdüksiyon kanalları) voltaj-bağımsız yollar, genelde sinyal kaskadları ile aktive edilir. En çok karşılaşılanı G protein-kenetli reseptör (GPCR) yolağıdır. G proteinleri, plazma membran yüzeyindeki hücre reseptörleri ile kenetlenerek (GPCR-G protein alt tipi Gq/11 alt tipi kenetlenmesi sonucunda) Ca^{+2} sinyali üreten önemli bir rol üstlenir. GPCR'ın hormon veya nörotransmitter tarafından uyarılmasıyla G proteinleri, GDP'nin GTP ile yer değiştirmesi sonrasında $G\alpha$ ve $\beta\gamma$ alt birimleri olarak ayrılır. Gq/11, zara bağlı fosfolipaz C- β (PLC- β) 'yı aktive eder. Büyük miktarlarda serbest kalan $\beta\gamma$ alt birimi de buna aracılık eder. Çeşitli ligandlarla (büyüme faktörleri gibi) reseptör tirozin kinazlara yüksek bir afinite ile bağlanarak fosfolipaz C- γ (PLC- γ)'nın aktivasyonuna neden olur. Daha sonra PLC, fosfatidilinozitol 4,5 bisfosfat'ı (PIP2) diaçilgliserole (DAG) ve 1,4,5-inozitol trifosfata (IP3) hidrolize eder. DAG plazma zarında kalır ve reseptör-kontrollü Ca^{+2} kanallarını (ROC, Reseptör-Operated Channels) aktive eder. Böylece hücre içi Ca^{+2} girişi ROC aracılığı ile gerçekleşmiş olur (11). Protein kinaz C (PKC), pek çok farklı hücre tipinde fonksiyon gösteren bir fosfolipid bağımlı serin/treonin kinaz ailesidir. Protein kinaz C, $\beta 1$, $\beta 2$ ve γ alt tiplerinin aktivasyonu birincil olarak DAG gerektirirken, aktivasyonun kofaktörleri olarak Ca^{+2} ve fosfatidilserine de ihtiyaç duyar (12). Hücre içi depolardan Ca^{+2} salınımı, IP3R ve ryanodine (RyR) kanalları aracılık eder (13). IP3'ün ER üzerindeki reseptörlerine bağlanması hücre içi konsantrasyonun birkaç saniye içinde ~ 100 nM'dan ~ 1

μM 'a kadar varan artışlarına olanak sağlar. IP3R'ler, 'Ca²⁺ kanalları' olarak adlandırılmalarına rağmen aslında non-selektif katyonik kanallardır. IP3R ve RyR'ler, hücrelerin redoks değişikliğine, nitrik oksit/S-nitrozilasyona ve kinonlar/ROS'a duyarlıdır (2).

Depo-Kontrollü Ca²⁺ Kanalları (SOC Kanalları)

IP3 üretiminin uyarılması, IP3'ün reseptörlerine bağlanarak ER'den Ca²⁺ salıverilişi ile sonuçlanır. Bunun yanısıra SERCA'nın inhibe edilmesi de ER-Ca²⁺ içeriğinin tükenmesine veya önemli oranda azalmasına neden olur. Hücre içi depoların boşaltılmasına yanıt olarak depo kontrollü Ca²⁺ girişi (SOCE, store-operated Ca²⁺ entry) veya kapasitatif Ca²⁺ girişi (CCE, capacitative Ca²⁺ entry) olarak bilinen mekanizma devreye girer. Ca²⁺ girişine aracılık eden bu kanallar SOC kanalları olarak ifade edilir. SOCE, farklı biyofiziksel özelliklere sahip Ca²⁺-geçirgen kanal ailesinden oluşur. Bilinen iki SOC, Orai ve TRPC kanallarıdır. Depo-kontrollü akım, ICRAC (CRAC, Ca²⁺-salıverilişinin aktive ettiği Ca²⁺) akımı, ilk kez mast hücrelerinin elektrofizyolojik çalışmaları ile ortaya konulmuştur. ICRAC akımlarını ileten kanal; voltaj bağımlı olmayan, içeri doğru düzeltici ve Ca²⁺ için oldukça geçirgendir. Diğer depo kontrollü akımların (ISOC) ise ICRAC akımından daha fazla iletkenlik gösterdiği ve bu depo-kontrollü akımların (Isoc); vasküler endotel hücreleri, düz kas hücreleri ve pankreatik asiner hücrelerinde tanımlanan az seçici katyon kanalları sonucunda ortaya çıktığı gösterilmiştir. SOCE'de önemli rolü olan medyatörler bulunur. Bu SOCE medyatörleri, ER membran üzerinde bulunan Ca²⁺ sensörü STIM1 ve STIM2 ('stromal interaction' molekülü) proteinleri ve plazma membran üzerinde bulunan SOC kanal proteini Orai1'dir. STIM1 yapısal olarak STIM2'den ayrılır. Ayrıca STIM1'in SOCE'ye aracılık ettiğine dair bulgular daha net olarak ifade edilmiştir. STIM1 dinlenme durumunda ER membranında belirli aralıklarla dağılmış vaziyette bulunur. STIM1 proteinlerinin lümene bakan kısmındaki 'EF-hand (EFh)' ve 'steril α -motif (SAM)' bölgesi, Ca²⁺ düzeylerindeki değişikliklere duyarlıdır. Ca²⁺ depo tükenmesini veya düşmesini algılayan STIM1 harekete geçer. Bir dizi hücre fonksiyon için hücre içi Ca²⁺ sinyal aksaklıklarını önlemek ve tükenen ER depolarını yenilemek adına SOC kanalları aktive edilir (11,14).

Bununla ilgili STIM1-Orai etkileşiminden söz edilir. SOC kanal aktivasyonunun sağlanmasındaki ilk adım, Ca²⁺'un STIM1-EFh bölgesinden ayrılarak STIM1'in N-terminal bölgesinin (EFh-SAM) açılması ve STIM1 oligomerizasyonunun başlatılmasıdır. Sonrasında STIM1 oligomerleri, ER membranı boyunca plazma membranına yakın olan bağlantı bölgelerine göç eder ve yoğun kümelerin (veya punkta) oluşumuna neden olur. Son basamağında ise, STIM1 proteini C-terminal bölgesindeki CRAC aktivasyon domainleri (CAD, SOAR veya CCB9) aracılığıyla Orai1'e doğrudan bağlanarak CRAC kanalını aktive eder (15,16).

SOCE'ye aracılık eden kanallardan biri de TRPC kanalıdır. Klasik geçici reseptör potansiyeli (TRPC; canonical transient receptor potential) kanallarının esas

olarak reseptör-kontrollü Ca²⁺ giriş (ROCE) mekanizmalarına aracılık ettiği düşünülmekteydi. Ancak spesifik TRP proteinlerinin aşırı ekspresyonundan endojen TRP'lerin baskılanmasına kadar pek çok farklı yaklaşım ve farmakolojik çalışmalar ışığında TRPC kanal proteinlerinin Ca²⁺ depolarının tükenmesi ile de aktive olabileceği gösterilmiştir (13). STIM1'in TRPC1 ve TRPC4 ile fiziksel olarak etkileşime girdiği ve depo-tükenmesine karşı TRPC1/4 yanıtını artırdığı önerilmiştir. Bu seçici etkileşim STIM1'in sitoplazmik ERM domaini ile gerçekleşir (11).

Orai1, aktivasyonu için STIM1'e bağımlı iken, TRPC kanalları aktivasyonu için STIM1'den bağımsız olarak da işlev görebilir (17). Depo tükenmesi üzerine fonksiyonel Orai1-TRPC- STIM1 kompleks oluşum modelinin araştırıldığı bir çalışmada, Ca²⁺-seçici ICRAC akımları üreten STIM1 ile regüle edilen heteromerik Orai/TRPC etkileşim modeli önerilmiştir. İnaktif durumdaki TRPC'lerin Orai ile etkileşime geçerek stabilize durumda kaldığı ve reseptör sinyali sonrası Orai'nin TRPC'den ayrılarak TRPC aktivasyonunu teşvik ettiği gösterilmiştir. Düşük Orai ekspresyon seviyesi ile TRPC-bağımlı ICRAC akımlarının yeniden oluşturulması, Orai ile TRPC'ler arasındaki fonksiyonel etkileşimin bir göstergesi olarak ifade edilmiştir (18).

Geçici Reseptör Potansiyel Kanal Proteinleri (TRP Kanalları)

TRP kanallarından öne çıkanları TRPC, TRPV ve TRPM kanallarıdır. Yedi TRPC proteini (TRPC1-7), altı TRPV proteini (TRPV1-6) ve sekiz TRPM proteini (TRPM1-8) belirlenmiştir. TRP kanallarının pek çok organda, özellikle beyinde ayrıca kalp, böbrek, testis, akciğer, karaciğer, dalak, overler, bağırsak, prostat, plasenta, uterus ve vasküler dokularda varlığı gösterilmiştir. Primer afferent nöron gibi nöronal hücrelerin ve vasküler endotel hücreler, epitel hücreler ve düz kas hücrelerinin dahil olduğu pek çok hücre tipinde bulunur. Sürekli ışık, sinir büyüme faktörü, sıcaklık, pH, osmolarite, feromonlar, olfaksiyon, mekanikler, kimyasallar ve metabolik strese duyarlı reseptörler uyarılır. Bu uyarıya karşılık dolaylı olarak TRP kanalları da yanıtın oluşmasına aracılık eder. Karboksil ucunda (C-terminal) 'TRP domaini', amino ucunda (N-terminal) ankyrin-benzeri tekrarların görülmesi kanal proteinlerini özel kılar. Bu ve diğer özellikleri ile çeşitli sinyal yollarına dahil edilir. TRP'lerin rol oynadığı fonksiyonel olarak en bilinen hücre sinyal yolağı PLC'nin aracılık ettiği (19).

Mitokondri ve Apoptoz

Mitokondri, hücrenin enerji ihtiyacının karşılandığı zarla çevrili yapılardır. Bu köklü işlevine ek olarak, apoptotik hücre ölümünü tetiklemede de temel bir rol oynar. Bu açıdan, hücrenin alarm merkezi rolünü üstlenir. Nöronlarda veya diğer hücre tiplerinde, sitozolik Ca²⁺ konsantrasyonundaki kontrolsüz artışın apoptozu tetiklediği ve hücre içi depolardan Ca²⁺ salınımının da pro-apoptotik bir faktör olduğu ileri sürülür. Ayrıca mitokondriyal kalsiyumun (Ca²⁺) aşırı yüklenmesi mitokondrinin şişmesine neden olur ve bu durum mitokondrinin pro-apoptotik geçişinde kritik bir rol

oyun. Mitokondriyal ağın parçalanması ise kaspaz aktivasyonu öncesinde gerçekleşir (20). ER gibi mitokondride de Ca²⁺ depolanabilir ancak farklı mekanizmalarla düzenlenir. IP₃ varlığında, ER'dan kalsiyum salınımı tetiklenir. Sitozolik Ca²⁺ konsantrasyonunun yaklaşık 10 µM' ı aşması, mitokondri ile ER-Ca²⁺ kanallarının yakın bölgelerinde geçici olarak mikrodomenlerin oluşmasına neden olur, böylece mitokondriyal Ca²⁺ uniporter kompleksi ile kalsiyumun taşınması için ortam hazırlanmış olur ve bu da mitokondri içinde hızlı bir Ca²⁺ artışına neden olur (21). Mitokondriyal Ca²⁺, ATP sentezinin regüle edilmesinde önemli bir rol oynar. Artan mitokondriyal Ca²⁺, Ca²⁺ duyarlı enzimleri uyardığı için hücrenin ihtiyacından fazla ATP uyarılmasına aracılık eder ve hücrenin ihtiyacından fazla ATP üretimine yol açmış olur (22). ATP üretiminin artırılması, olması gerekenden çok daha fazla serbest elektron kaçağına bu da fazladan ROS oluşumuna neden olur (2). Mitokondriyal Ca²⁺, kimi zaman hücrenin düzgün çalışması için yaşam kaynağı olurken kimi zaman da dengenin bozularak birikmesi ile hücrenin ölümünü tetikleyen unsurlardan biri haline gelmektedir.

Apoptoz, çeşitli uyarılarla başlatılabilen morfolojik ve biyokimyasal açıdan farklı bir ölüm şeklidir. Bcl-2 (B hücreli lösemi/lenfoma-2) ailesindeki proteinlerin, protein-protein etkileşimleri yoluyla mitokondriyal dış membran permeabilizasyon sürecini regüle ederek apoptozu kontrol ettiği bilinmektedir. Pro-apoptotik proteinler (apoptozu indükleyici) ve anti-apoptotik proteinler (apoptozu baskılayıcı) olmak üzere birbirine zıt etkileri olan iki gruptan oluşur. Pro-apoptotik proteinler Bax, Bad, Bak, Noxa, Bid, Bmf ve Hrk, anti-apoptotik proteinler ise Bcl-2, Bcl-XL, Bcl-W, BclB, Mcl-1 ve A1'dir. Pro-apoptotik proteinler uyarıya karşı hızlı bir reaksiyon gösterir. Bu özelliğinden dolayı bu proteinler 'apoptoz efektörleri' olarak da bilinir. Sitokrom C'nin salıverilmesini baskılama özelliğine sahip (12) anti-apoptotik proteinler, kanser oluşum sürecinde aşırı ekspresyona sahiptir (24).

Serbest radikaller, peroksidler veya diğer oluşmuş oksijen iyonları topluca ROS olarak adlandırılır, bunlar etkili birer saldırgan olmalarına rağmen non-selektiftir. Reaktif oksijen türleri neticesinde oluşan DNA hasarı, oksidatif stres, viral enfeksiyon, ER stres ve ksenobiyotik zehirlenme gibi faktörler mitokondriye bağımlı apoptoz yolunu harekete geçirir. Bcl-2 proteinlerinden bazılarının mitokondriyal voltaj-bağımlı anyon kanallarına bağlanması veya multimerik kanal kompleksleri oluşturması dış mitokondriyal zar geçirgenliğini etkileyebilir. Sitokrom c, apoptoz indükleyici faktör (AIF), prokaspaz-9, SMAC/DIABLO proteinleri ve endonükleaz G gibi apoptojenik faktörler mitokondri membranlarından sitozole salınır. Böylece apoptoz ile sonuçlanan üç aşamalı sinyal kaskadı başlatılmış olur. İlk olarak; sitoplazmada var olan apoptozis proteaz aktive edici faktör-1 (APAF-1) ile sitozole salınan sitokrom c 'apoptozom'u oluşturur, prokaspaz-9 aktivasyonu ve efektör kaspazlar (kaspazlar -3, -6, -7) aktivasyonu sağlanır. Sonra; hem SMAC/DIABLO hem de Omi/HtrA2, kaspazların endojen inhibitörlerinin ve apoptoz protein sitozolik

inhibitörlerinin (IAP'ler) etkisini antagonize ederek kaspazların aktivasyonuna katkıda bulunur. Kaskadın son basamağında ise sitozole salınan apoptoz indükleyici faktör (AIF) ve endonükleaz G, DNA parçalanması ve kromatin yoğunlaşmasını destekler (20). Doğuştan gelen bağışıklık ile apoptoz arasında güçlü bir benzerlik olduğu üzerinde durulmaktadır. Apoptozun da tıpkı doğal immünite programı gibi savunma mekanizması olarak sistem tarafından devreye sokulduğu, bu önlemler ile organizmanın korunduğu ve her ikisinin de temelinde ROS oluşumunun yattığı ifade edilmiştir. Nasıl ki hücreye patojen bakteriler istila ettiğinde buna karşı anti-moleküller ve proteazlar üretiliyorsa, aynı şekilde kaçak Ca²⁺ aracılı yüksek oksidan stresin istilasına karşı kaspaz, kalpain, katepsin gibi proteazlar ve diğer moleküller üretilerek hücre ölümü iş birliği ile gerçekleştirilmektedir (2).

Kanser ve Kalsiyum Kanalları: Değişiklikler ve Sonuçları

Kanserli hücrelerin en önemli özelliği apoptozdan kaçınmaları ve çeşitli sinyallere karşı duyarlı kalmalarıdır. Hücreyi kansere sürükleyen nedenler ve bunların Ca²⁺ sinyali ile bağlantıları, Ca²⁺ sinyalinin kanserdeki rolünü ortaya koyma açısından önemlidir.

a. VOC Kanalları ve Kanser Progresyonu

T-tipi Ca²⁺ kanalları çeşitli tümör hücrelerinde ekspresyona sahiptir. T-tipi kanallarının önemli özellikleri onu diğerlerinden farklı kılar ve bu özellikleri ile uyarılmayan tümör hücreleri için, hücre içi Ca²⁺ konsantrasyonunun kontrolünü sağlayabilir. T-tipi kanalların neoplastik süreçteki etkinliğinin ve tümör büyümesini baskılama üzerine etkinliğinin araştırıldığı bir çalışmada, MCF-7 meme kanseri hücre hattı kullanılmış ve T-tipi kanal izoformlarının anti-tümörjenik etkilerinin ortaya konulması amaçlanmıştır. CaV3.1 ve CaV3.2 kanalları elektrofizyolojik olarak birbirine benzemelerine rağmen, MCF-7 hücrelerinin proliferasyon sürecindeki etkileri birbirinden farklı olmuştur. Özellikle promotör bölgedeki CpG adacıklarının aşırı metilasyonunun, 'aday tümör baskılayıcı gen' olarak ifade edilen CaV3.1 (CACNA1G) geninin 'down-regüle' olmasında (susturulmasında) önemli rol oynadığı ifade edilmiştir. Hücreler siRNA ile muamele edilmiş ve CaV3.1 (CACNA1G) ve CaV3.2 (CACNA1H) genlerinin susturulması sağlanmıştır. İzolasyon sonrası mikrodizin analizi ile gen ekspresyon profilleri belirlenmiştir. CaV3.1 ve CaV3.2 kanalların bloke edilmesinin veya siRNA kullanılarak genlerin susturulmasının, MCF-7 hücre proliferasyonu üzerine etkileri değerlendirilmiştir. siRNA ile gen susturumu (CaV3.1-siRNA) grubunda, negatif kontrol grubu ve transfeksiyon maddesi ile muamele edilmiş kontrol grubuna kıyasla hücre proliferasyonu artmıştır. CaV3.2 gen susturumu ise hücre büyümesinde değişikliğe yol açmamıştır. Ayrıca CaV3.1 izoformlarının susturulması ile siklofosamid-indüklü apoptozun bloke edildiği öne sürülmüştür. Sonuç olarak T-tipi kanal izoformlarından CaV3.1 izoformunun, tümör baskılanmasına ve CaV3.1-aracılı spesifik Ca²⁺ girişi ile ortaya çıkan apoptozun ilerlemesine katkıda bulunabileceği ileri sürülmüştür (25).

Endometrial karsinom (EC) hücrelerinde L-tipi kalsiyum kanalı CaV3.1 ($\alpha 1D$) ve östrojen arasındaki olası ilişkilerin araştırıldığı çalışma ile moleküler mekanizması da ortaya çıkarılmıştır. İmmünohistokimyasal analiz ile CaV3.1 ekspresyon seviyelerine bakılmıştır. CaV3.1 protein ekspresyonu iyi huylu (kansere olmayan) endometrial dokuda zayıf veya negatif iken, atipik hiperplazi ve kanser dokularında bu seviyenin arttığı tespit edilmiştir. Bu, CaV3.1'ün endometrial kanser gelişiminde rol oynadığını düşündürmüştür. Western blot tekniği ile CaV3.1 ve östrojen arasındaki ilişki incelenmiştir. Kantitatif (nicel) analiz verileri EC Ishikawa hücrelerinde E2 (17β -estradiol) etkisiyle CaV3.1 ifadesinin arttığını göstermiştir. Östrojen ile uyarılan hücrelerde hücre içi Ca^{+2} konsantrasyonunun arttığı önceki çalışmalarla gösterilmiş ve bu çalışma ile östrojenle uyarılan endometrial kanser hücrelerine Ca^{+2} girişi için L-tipi kanal CaV3.1 aktivitenin gerekli olduğu ifade edilmiştir. Aktive olan kanal aracılığıyla hücre içine kalsiyum iyonlarının girişinin sağlandığı ve sonrasında ise GPER (G-protein kenetli östrojen reseptör) üzerinden ERK1/2/CREB fosforilasyonu/aktivasyonu gösterilmiştir. Östrojen ile uyarılan Ca^{+2} -aracılı ERK1/2/CREB kaskadının endometrial kanser hücre proliferasyonunu stimüle ettiği öne sürülmüştür (26).

Trastuzumab, meme kanserinde belirgin olarak klinik fayda sağlamaktadır. Trastuzumab ile HER2 pozitif meme kanserlerinin tedavisinde önemli ilerlemeler kaydedilmektedir. Ancak hastaların bazılarında trastuzumab direnci nedeniyle tedaviye yanıt alınmadığı bilinmektedir. İn vitro trastuzumaba dirençli meme kanser modeli oluşturulmuş bir çalışmada, Ca^{+2} sinyalinde rol oynayan proteinlerin ekspresyon seviyeleri ve potansiyel biyomarker olup olmayacağı açısından değerlendirilmiştir. Sonuç olarak trastuzumaba dirençli SKBR-3 meme kanser hücrelerinde CaV3.2 seviyelerinde artış tespit edilmiştir. CaV3.2 klinik seviyelerinin kemoterapi sonrası tümör davranışının sadece tahmini açısından önemli olabileceği ifade edilirken, potansiyel bir biyomarker olabilmesi için ilave çalışmalara ihtiyaç olduğu ileri sürülmüştür (27).

b. SOC Kanalları ve Kansere Progresyonu

Hücre yüzey reseptörlerinin uyarılması ile ER- Ca^{+2} depolarının tükendiğinden, endoplazmik Ca^{+2} tüketim sensörü STIM1 ve Orai-aracılı ICRAC akımlarından, buna bağlı olarak gerçekleşen Ca^{+2} girişinden bahsetmiştik. Feng ve arkadaşları ise meme kanser hücrelerindeki Orai1'in depo-kontrolsüz aktivasyonunu incelemişlerdir. Depo tüketimi ile regüle edilmeyen ve Ca^{+2} pompa aktivitesinden bağımsız gerçekleşen SPCA2 (salgı yolu Ca^{+2} -ATPaz izoformu 2, secretory pathway Ca^{+2} -ATPase isoform 2)-indüklü Ca^{+2} sinyalini ortaya koymuşlardır. Bu sinyal yolağının meme tümör hücrelerini etkileyen onkojenik aktivitelerle ilişkili olduğu gösterilmiş ve golgide yerleştiği bilinen Ca^{+2} yüksek afiniteli bir pompa olan (28). SPCA2'nin ifadesinin insan meme adenokarsinoma hücre hattında artmış olması bazal Ca^{+2} artışına neden olduğu şeklinde yorumlanmıştır. Bazal Ca^{+2} influks artışlarının, ERK1/2

fosforilasyonundan ve siklin D1 ekspresyon artışından sorumlu olabileceği de kaydedilmiştir (29).

Küçük engelleyici RNA (siRNA)'lar gen sessizleştirilmesinde kullanılmaktadır. RNAi (RNA interferans), gen ekspresyonunun düzenlenmesinde önemli rol oynar. SPCA1 (golgi kalsiyum pompası salgı yolu Ca^{+2} -ATPaz izoformu 1, secretory pathway Ca^{+2} -ATPase isoform 1) geninin siRNA yöntemi kullanılarak sessizleştirilmesi ile 'bazal benzeri' MDA-MB-231 meme kanseri hücre hattında sitozolik Ca^{+2} düzeyinde değişiklik olmaksızın proliferasyonun azaldığı görülür. Bu anti-proliferatif etkinin kanser tedavisinde faydalı bir araç olarak kullanılabilmesi ifade edilmiştir (30).

Normal ve kanserli meme doku örneklerinde Orai3 ekspresyonunun analiz edildiği bir çalışmada, Orai3'ün baskılanmasının normal MCF-10A meme epiteli hücre hattında; hücre proliferasyonu, hücre yaşam döngüsü ve bölünme için gerekli olan çeşitli düzenleyici proteinlerin (siklin D1, siklin E) ekspresyonunu değiştirmediği, MCF-7 (insan meme adenokarsinoma) hücre hattında ise hücre döngüsünün G1 fazında tutulma ile proliferasyonu inhibe ettiği ve ayrıca apoptozu indüklediği ifade edilmiştir (31). COX (siklooksijenaz), araşidonik asidin prostaglandin E2 (PGE2), tromboksan A2 (TXA2)'ye dönüşümünü katalizleyen eikozanoid biyosentetik yolağın önemli bir regülatör enzimidir. COX-1 (siklooksijenaz-1) ve COX-2 (siklooksijenaz-2) olmak üzere iki farklı izoenzimi mevcuttur. COX-2 gen ekspresyonunu regüle eden promotör ve enhancer (hızlandırıcı) bölgelerde yanıt elementleri içerir. Hormonlar, büyüme faktörleri, forbol esterler, cAMP, inflammatuar faktörler ve sitokinlerle indüklenebilen COX-2 inflamasyondan kanser gibi yüksek bölünme özelliği gösteren pek çok hastalığa kadar çeşitli süreçlerde ve farklı fizyolojik durumlarda önemli rol oynar. COX-2 enzim inhibisyonu ile ilişkili olan NSAİİ (non-steroid anti-inflamatuar ilaçlar) ile muamele edilen deney hayvanları-kolon kanser modellerinde tümör multiplitesinin önemli oranda azaldığı tespit edilmiştir. İnsan ve hayvan kolorektal tümörlerde COX-2'nin yüksek ekspresyonu tespit edilirken, normal bağırsak mukozasında düşük ve saptanmayan COX-2 ekspresyonu tespit edilmiştir. Bu bulgular, COX-2'nin tümör büyümesinde ve ilerlemesinde rolü olduğunu göstermiştir (32).

Aynı zamanda COX-2'nin, solid tümör metastazında rol oynayan inflammatuar genlerin en önemlilerinden biri olduğu ifade edilmektedir. 20 CRC hastası-kanserli doku örneklerinde ve normal doku örneklerinde EGFR (epidermal büyüme faktörü reseptörü) ve COX-2 ekspresyon seviyeleri incelenmiş ve EGF ile indüklenen depo-kontrollü Ca^{+2} sinyali aracılı NFAT (aktive edilmiş T-hücrelerinin nükleer faktörü) aktivasyonu gösterilmiş. Aktive olan NFAT'ın, COX-2 ekspresyonunu indüklediği belirlenmiştir. Böylece SOCE'nin kolorektal kanser oluşumu ile dolaylı olarak ilişkili olduğu ortaya konulmuştur (33).

Histamin inflammatuar reaksiyonları tetikleyen kimyasal bir medyatördür. Orai1'in 2-APB ve SKF-96365 inhibitörleri ile baskılanması sonucu histamin aracılı NF-kB aktivasyonunda ve COX-2 ekspresyonunda azalma

görülmüştür. Akciğer kanseri hücrelerinin histamin ile indüklenmesi sonucu Orai-aracılı NF-kB (nükleer faktör-kappa B)'nin aktive olduğu ve bu yolla histaminin COX-2 gen aktivasyonunu regüle ettiği belirtilmiştir (34).

COX-2, kolorektal kanser (CRC) gelişiminde önemli rol oynar. Ca²⁺ girişi tümör hücre göçü için önemlidir. STIM1-Orai aracılı SOCE için önemli olan STIM1 proteininin kolorektal kanser hücrelerinde aşırı ekspresyonu olduğu gösterilmiştir. STIM1 ekspresyonunun; tümör büyüklüğü, tümör invazyonu, lenf nodu metastazı ve karsinoembriyojenik antijen seviyesi ile pozitif korelasyon gösterdiği ifade edilmiş ve STIM1'in, artan COX-2 enzim ekspresyonu ve PGE2 sentezi yoluyla CRC göçünü tetiklediği önerilmiştir (35).

c. TRP Kanalları ve Kanser Progresyonu

Kanserle ilişkilendirilenlerden bir tanesi de TRP katyon kanal sınıfıdır. TRP kanal ailesi üyelerinden bazıları kalsiyum sinyalindeki değişikliklere aracılık etmektedir. Bu kanalların aktivasyonu, aşırı ekspresyonu veya Ca²⁺ giriş yolaklarının değişen ekspresyonu pek çok kanser türü ile ilişkilendirilmiştir.

Kallikreinlerin TRPV5'i regüle ettiği gösterilmiştir. Bu hipotezden hareketle kallikrein'in TRPM8 aktivitesi üzerindeki etkisi araştırılmıştır. Serin proteaz kallikrein (KLK3)'in üçüncü üyesi olarak bilinen prostat spesifik antijen (PSA)'in prostat kanseri üzerindeki rolü henüz net olarak tanımlanmamış olsa da lokal ve metastatik prostat kanserlerinde kandaki seviyesi yüksek bulunmuştur. PSA, plazma membranı TRPM8'in hücre dışı kısmı ile temas geçerek kanalı harekete geçirir. PSA'nın bradikinin-2-reseptör (B2R) gibi kinin reseptör/PKC sinyal yolağı ile TRPM8'i aktive ettiği ve TRPM8 aktivasyonunun tümör hücre migrasyonunu inhibe ettiği de gösterilmiştir (36).

Hem TRPC6 hem de TRPV6 prostat kanseri ile ilişkilendirilmektedir. TRPC6, prostat kanseri epitel hücrelerine agonist aracılı Ca²⁺ girişinde etkindir. α 1-adrenerjik reseptörlerin (α 1-AR) agonistler ile stimülasyonu sonucunda gerçekleşen PLC ve PIP2 hidrolizinin aktivasyonu iki farklı ikincil habercinin (DAG ve IP3) oluşumuna neden olur. DAG, TRPC6 ile temsil edilen plazma membranı reseptör-kontrollü kanalını (ROC) aktive eder. ROC/TRPC6 ile Ca²⁺ girişi sağlanırken; kalsiyum, kalmodulin ile kompleks oluşturarak kalsinörini aktive eder. Kalsinörin dolaylı olarak NFAT transkripsiyon faktörünün aktivasyonuna neden olur ve proliferasyon sürecinde gerekli olan genlerin ekspresyonunu başlatır. Bu öneriden hareketle TRPC6'nın susturulması ile Ca²⁺ girişinin engellenebileceği ve dolayısıyla kompleks protein aktivasyonu ve hücre proliferasyonunun önüne geçilebileceği yönünde yeni tedavi yaklaşımları önerilmektedir (37).

Sağlıklı ve iyi huylu prostat dokularında malign değişiklikler arttıkça TRPV6 düzeylerinde artış kaydedilir. Dolayısıyla prostatta ileri derecede tümöral özellik kazanan hücrelerde TRPV6'nın fazlasıyla ekspresyonu olduğu görülür. Androjen reseptörlerin sayısı veya duyarlılığı kontrol altına alınırsa, TRPV6'nın

kontrolü de sağlanmış olur. TRPV6-aracılı Ca²⁺ inflüksi inhibisyonu gerçekleşirse, NFAT aktivasyonunda azalma olur. Ca²⁺-bağımlı NFAT transkripsiyon faktör-aracılı sinyal yolaklarının kontrolü ile LNCaP hücre (insan prostat kanseri hücre hattı) proliferasyon oranı ve proliferatif hücre nükleer antijeni (PCNA) ekspresyonu azaltılır. Böylece apoptoz direncinin kırılması olanaklı hale gelir (38).

Temel fibroblast büyüme faktörü (bFGF) ve vasküler endotel büyüme faktörü (VEGF) gibi anjiyojenik büyüme faktörleri; araşidonik asit (AA), nitrik oksit (NO) ve inozitol trifosfat (IP3)'ün üretimine yol açan hücre efektörlerinin birikimine neden olur. İnsan meme karsinomlarından elde edilen endotel hücreler normal hücrelere kıyasla artan proliferasyon ve motilite gösterir. Anjiyogenezin regülasyonunda Ca²⁺'un rolü olduğuna dair net bulgular mevcuttur. Tümöral anjiyojenik proseslerde araşidonik asit ile indüklenen sitozolik kalsiyum sinyali önemli rol oynar. Özellikle yağ asitleri ile uyarılan Ca²⁺ girişi, tübül organizasyonunun erken safhalarında önem taşır (39,40).

TRPV4 katyonik bir kanaldır ve araşidonik asit gibi bir hücre içi haberci ile doğrudan aktive edilir. Araşidonik asit ile indüklenen insan meme karsinomlarından elde edilen endotel hücreleri (BTEC) ve normal endotel hücrelerinin her iki tipinde de hücre içi Ca²⁺ konsantrasyon artışları tespit edilmiştir. Ancak BTEC hücrelerinde normal hücrelere kıyasla önemli oranda artış kaydedilmiştir. TRPV4'ün Ca²⁺ girişine aracılık edip etmediği analizlerle kontrol edilmiş ve TRPV4 agonisti 4 α PDD-aracılı Ca²⁺ yanıtlarının insan dermal mikrovasküler endotel hücreleri (HMVEC-d) ile kıyasla BTEC hücrelerinde daha yüksek olduğu kaydedilmiştir. Dolayısıyla tümörden elde edilen endotel hücrelerinde TRPV4'ün yüksek ekspresyon ve fonksiyon gösterdiği bildirilmiştir (41).

SONUÇ

Pek çok proses kanser gelişimine katkıda bulunmaktadır, bunlardan Ca²⁺ sinyalinin de kanserin ilerlemesinde önemli rol oynadığı ifade edilmektedir. Çalışmalarda kalsiyum kanallarının aracılık ettiği Ca²⁺ inflüksi artışlarının, kanserle dolaylı veya doğrudan ilişkili proteinlerin ekspresyon artışından ve/veya yolakların aktivasyonundan sorumlu olduğu ifade edilmiştir. Aynı şekilde kanserli hücrelerde kanal proteinlerinin baskılanması ile proliferasyonun inhibe edildiği ve apoptozun indüklendiğinin gösterilmesi de, kanserin ilerlemesinde ekspresyon artışlarının rol oynadığını göstermektedir. Ekspresyon değerlerinin moleküler mekanizmalarla doğrulandığı araştırma çalışmalarını da ifade ettik. Her hücre tipi, her kanal izomeri veya kanallarla ilişkili proteinler çok daha spesifik ölçülerde değerlendirilir, moleküler mekanizmalarla desteklenirse hastalığa özgü 'hedef-odaklı' tedavi stratejileri geliştirilebilir.

KAYNAKLAR

- Prashanth L, Kattapagari KK, Chitturi RT, Baddam VRR, Prasad LK. A review on role of essential trace elements in health and disease. *Journal of Dr. NTR University of Health Sciences*. 2015; 4 (2): 75-85.
- Lapham DE. Calcium Signaling. *Cell*. 2007;80 (2):259-268
- Bickler PE, Fahlman CS. Moderate increases in intracellular calcium activate neuroprotective signals in hippocampal neurons. *Neuroscience*. 2004;127(3):673-83.
- Flynn DC. Adaptor proteins. *Oncogene*. 2001;20(44):6270-72.
- Brini and E. Carafoli. The plasma membrane Ca²⁺ ATPase and the plasma membrane sodium calcium exchanger cooperate in the regulation of cell calcium. *Cold Spring Harb. Perspect. Biol*. 2011;3(2): a004168.
- Petegem V and Minor DL Jr. The structural biology of voltage-gated calcium channel function and regulation. *Biochem Soc Trans*. 2006; 34(5):887–893.
- Buchanan PJ, McCloskey KD. Ca^v channels and cancer: canonical functions indicate benefits of repurposed drugs as cancer therapeutics. *Eur Biophys J*. 2016;45(7):621-633.
- Capiod T. Cell proliferation, calcium influx and calcium channels. *Biochimie*. 2011;93(12):2075-9.
- Brini M, Cali T, Ottolini D, Carafoli E. Intracellular calcium homeostasis and signaling. *Met Ions Life Sci*. 2013;12:119-68.
- Nowycky MC, Thomas AP. Intracellular calcium signaling *Journal of Cell Science*. 2002; 115:3715-3716.
- Fernandez RA, Sundivakkam P, Smith KA, Zeifman AS, et al. Pathogenic Role of Store-Operated and Receptor-Operated Ca²⁺ Channels in Pulmonary Arterial Hypertension. *Journal of Signal Transduction*. 2012;2012:951497.
- Kang JH. Protein Kinase C (PKC) Isozymes and Cancer. *New Journal of Science*. 2014; 2014: 1-36
- Nowycky MC, Thomas AP. Intracellular calcium signaling. *Journal of Cell Science*. 2002;115:3715-3716.
- Salido GM, Sage SO, Rosado JA. TRPC channels and store-operated Ca²⁺ entry. *Biochim. Biophys. Acta*. 2009;1793:223–230.
- Frischauf I, Fahrner M, Jardín I, Romanin C. The STIM1: Orai Interaction. *Adv Exp Med Biol*. 2016;898:25-46.
- Feske S, Skolnik EY, Prakriya M. Ion channels in lymphocyte function and immunity. *Nat Rev Immunol*. 2012;12:532-47.
- Choi S, Maleth J, Jha A, Lee KP, Kim MS, So I, Ahuja M, Muallem S. The TRPCs-STIM1-Orai interaction. *Handb Exp Pharmacol*. 2014;223:1035-54.
- Liao Y, Erxleben C, Abramowitz J, Flockerzi V, Zhu MX, Armstrong DL, Birnbaumer L. Functional interactions among Orai1, TRPCs, and STIM1 suggest a STIM-regulated heteromeric Orai/TRPC model for SOCE/Icrac channels. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2008;105(8):2895-900.
- Minke B, Cook B. TRP Channel Proteins and Signal Transduction. *Physiol. Rev*. 2002;82(2):429-472.)
- Giorgi C, Baldassari F, Bononi A, Bonora M, Marchi ED, Marchi S, Missiroli S, et al. Mitochondrial Ca²⁺ and apoptosis. *Cell Calcium*. 2012;52(1):36-43
- Marchi S. and Pinton P. The mitochondrial calcium uniporter complex: molecular components, structure and pathophysiological implications. *J Physiol*. 2014; 592(5):829–39.
- Wei A.C., Liu T., Winslow R. L., O'Rourke B. Dynamics of matrix-free Ca²⁺ in cardiac mitochondria: two components of Ca²⁺ uptake and role of phosphate buffering. *J. Gen. Physiol*. 2012; 139:465–478.
- Wong RSY. Apoptosis in cancer: from pathogenesis to treatment. *J Exp Clin Cancer Res*. 2011;30:1–14.
- Dai H, Meng XW, Kaufmann SH. BCL2 Family, Mitochondrial Apoptosis, and Beyond. *Cancer Transl Med*. 2016;2(1):7–20
- Ohkubo T, Yamazaki J. T-type voltage-activated calcium channel Cav3.1, but not Cav3.2, is involved in the inhibition of proliferation and apoptosis in MCF-7 human breast cancer cells. *International Journal of Oncology*. 2012; 41: 267-275
- Hao J, Bao X, Jin B, Wang X, Mao Z, et al. Ca²⁺ channel subunit α 1D promotes proliferation and migration of endometrial cancer cells mediated by 17 β -estradiol via the G protein-coupled estrogen receptor. *FASEB J*. 2015;29:2883–2893.
- Pera E, Kaemmerer E, Milevskiy MJG, et al. The voltage gated Ca²⁺-channel Cav3.2 and therapeutic responses in breast cancer. *Cancer Cell Int* 2016;16(24):15
- Vanoevelen J, Dode L, Van Baelen K, et al. The secretory pathway Ca²⁺/Mn²⁺-ATPase 2 is a golgi-localized pump with high affinity for Ca²⁺ ions. *J Biol Chem*. 2005;280:22800-22808..
- Feng M, Grice D, Faddy H, Nguyen N, Leitch S, Wang Y, Muend S, Kenny P, Sukumar S, Roberts-Thomson SJ, Monteith GR, Rao R. Store-Independent Activation of Orai1 by SPCA2 in Mammary Tumors. *Cell*. 2010;143: 84-98.
- Grice DM, Vetter I, Faddy HM, Kenny PA, Roberts-Thomson SJ, Monteith GR. Golgi calcium pump secretory pathway calcium ATPase 1 (SPCA1) is a key regulator of insulin-like growth factor receptor (IGF1R) processing in the basal-like breast cancer cell line MDA-MB-231. *J Biol Chem*. 2010; ;285(48):37458-66.
- Faouzi M, Hague F, Potier M, Ahidouch A, Sevestre H, Ouadid-Ahidouch H. Down-regulation of Orai3 arrests cell cycle progression and induces apoptosis in breast cancer cells but not in normal breast epithelial cells. *J. Cell Physiol*. 2011; 226:542–551.
- Dubois RN, Abramson SB, Crofford L, Gupta RA, Simon LS, Van De Putte LB, Lipsky PE. Cyclooxygenase in biology and disease. *FASEB J*. 1998;12:1063–1073.)
- Wang JY, Chen BK, Wang YS, Tsai YT, Chen WC, Chang WC, et al. Involvement of store operated calcium signaling in EGF-mediated COX-2 gene activation in cancer cells. *Cell Signal*. 2012; 24:162–169.)
- Huang WC, Chai CY, Chen WC, Hou MF, Wang YS, Chiu YC, et al. Histamine regulates cyclooxygenase 2 gene activation through Orai1-mediated NF κ B activation in lung cancer cells. *Cell Calcium*. 2011; 50:27–35.)
- Wang JY, Sun J, Huang MY, Wang YS, Hou MF, Sun Y, He H, Krish-na N, Chiu SJ, Lin S, Yang S, Chang WC. STIM1 overexpression promotes colorectal cancer progression, cell motility and COX-2 expression. *Oncogene*. 2015;34:4358–4367
- Gkika D, Flourakis M, Lemonnier L, Prevarskaya N. PSA reduces prostate cancer cell motility by stimulating TRPM8 activity and plasma membrane expression. *Oncogene*. 2010;29(32):4611-6.
- Thebault S, Flourakis M, Vanoverberghe K, Vandermoere F, Roudbaraki M, Lehen'kyi V, Slomianny C, Beck B, Mariot P, Bonnal JL, Mauroy B, Shuba Y, Capiod T, Skryma R, Prevarskaya N. Differential role of transient receptor potential channels in Ca²⁺ entry and proliferation of prostate cancer epithelial cells. *Cancer Res*. 2006;66(4):2038-47.
- Lehen'kyi V, Flourakis M, Skryma R, Prevarskaya N. TRPV6 channel controls prostate cancer cell proliferation via Ca(2+)/NFAT-dependent pathways. *Oncogene*. 2007;26(52):7380-5.
- Fiorio Pla A, Genova T, Pupo E, Tomatis C, Genazzani A, Zaninetti R, Munaron L. Multiple roles of protein kinase a in arachidonic acid-mediated Ca²⁺ entry and tumor-derived human endothelial cell migration. *Mol Cancer Res*. 2010;8(11):1466-76.
- Fiorio Pla A, Grange C, Antonioti S, Tomatis C, Merlino A, Bussolati B, Munaron L. Arachidonic acid-induced Ca²⁺ entry is involved in early steps of tumor angiogenesis. *Mol Cancer Res*. 2008;6(4):535-45.
- Fiorio Pla A, Ong HL, Cheng KT, Brossa A, Bussolati B, Lockwich T, Paria B, Munaron L, Ambudkar IS. TRPV4 mediates tumor-derived endothelial cell migration via arachidonic acid-activated actin remodeling. *Oncogene*. 2012;31(2):200-12.

<http://edergi.cbu.edu.tr/ojs/index.php/cbusbed> isimli yazarın CBU-SBED başlıklı eseri bu Creative Commons Atıf-GayriTicari 4.0 Uluslararası Lisansı ile lisanslanmıştır.

