T.C.
Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi
Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı

SKUAMÖZ HÜCRELİ AKCİĞER KANSERİ HASTALARINDA RADYOTERAPİ ÖNCESİ VE SONRASI SERUM GALEKTİN-3, SİALİK ASİT VE NF-κB SEVİYELERİNİN BELİRLENMESİ

Arş. Gör. Dr. Esra EĞİLMEZ

UZMANLIK TEZİ

DANIŞMAN
Prof. Dr. Ahmet KIZILTUNÇ

ERZURUM-2024

ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ TEZ SINAVI TUTANAĞI

I. UZMANLIK ÖĞRENCİSİ ve TEZİ İLE İLGİLİ BİLGİLER

Adı, Soyadı : Esra EĞİLMEZ

Anabilim Dalı : Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı

Tez Danışmanı ve Atanma Tarihi: Prof. Dr. Ahmet KIZILTUNÇ 01.03.2021

Sınav tarihi:

11 /12 / 2024

Tezin Konusu ve Başlığı : Skuamöz Hücreli Akciğer Kanseri Hastalarında Radyoterapi Öncesi ve Sonrası Serum Galektin-3, Sialik Asit ve NF-κB Seviyelerinin Belirlenmesi

Belirlenme Tarihi : 25.04.2024

Tezin Niteliği : ☒ Tıpta Uzmanlık Tezi
☐ Klinik Çalışmalar ( ) Prospektif ( ) Retrospektif ( ) Kesitsel
☒ Laboratuvar Çalışmaları (X) Invitro (Cansız) Çalışmaları ( )Hayvan çalışmaları

Tez Sınavının Nasıl Yapıldığı: ☒ Yüz yüze katılım sağlanarak ☐ Online (Jürinin teşkil edilmesinde kurum dışından belirlenecek olan jüri üyesi, aynı il sınırları içerisinde bulunmadığından, tez sınavı dijital ortamda yapılmıştır.)

II. KARAR

Tıpta ve Diş Hekimliğinde Uzmanlık Eğitimi Yönetmeliğinin 19. maddesi gereğince yapılan tez savunma sınavının tamamlanması sonucunda adı geçenin tezinin, jüri üyelerince "Tıpta Uzmanlık Tezi" olarak;

☒ Kabulüne

1.Tez Sınavı ☐ Reddine (Eksikliklerin tamamlanması ve gerekli düzeltmelerin yapılması için uzmanlık öğrencisine, TUEY'nin 19. Maddesinin 6. fıkrası gereğince altı aylık ek bir süre verilmesine)

2.Tez Sınavı ☐ Reddine (TUEY'nin 19. Maddesinin 7. fıkrası gereğince, uzmanlık öğrencisinin uzmanlık öğrenciliği ile ilişiğinin kesilmesine)

☒ Oy birliği ☐ Oy çokluğu ile karar verilmiştir.

III. AÇIKLAMALAR

Lütfen, tezin reddi durumunda gerekçeli açıklamalarınızı buraya yazınız

IV. JÜRİ ÜYELERİ

	Unvanı Adı Soyadı	Uzmanlık Dalı	Kurum Bilgisi	İmza
Jüri Başkanı	Prof. Dr. Ahmet KIZILTUNÇ	---	Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi	
Jüri Üyesi	Prof. Dr. Nurinnisa ÖZTÜRK	Tıbbi Biyokimya	Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi	
Jüri Üyesi	Doç. Dr. Esra LALOĞLU	Tıbbi Biyokimya	Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi	

İÇİNDEKİLER

İÇİNDEKİLER i
TABLOLAR DİZİNİ v
ŞEKİLLER DİZİNİ vi
KISALTMALAR DİZİNİ ix
TEŞEKKÜR xiii
ÖZET xiv
ABSTRACT xvi
1. GİRİŞ VE AMAÇ 1
2. GENEL BİLGİLER 3
2.1 Akciğer Kanseri 3
2.1.1 Akciğer Kanserinin Epidemiyolojisi 3
2.1.2 Akciğer Kanserinin Etiyolojisi 7
2.1.2.1 Sigara ve Tütün Kullanımı 7
2.1.2.2 Asbest 8
2.1.2.3 Radon 8
2.1.2.4 Hava Kirliliği 9
2.1.2.5 Arsenik 9
2.1.2.6 Yaş 9
2.1.2.7 Cinsiyet 9
2.1.2.8 Aile Öyküsü 10
2.1.2.9 Kronik Obstrüktif Akciğer Hastalığı 10
2.1.2.10 Diğer Akciğer Hastalıkları 10
2.1.2.11 Enfeksiyon 10
2.1.2.12 Genetik ve Somatik Mutasyonlar 10
2.1.2.13 Diğer 11
2.1.3 Akciğer Kanseri Sınıflaması 11

2.1.3.1 Küçük Hücreli Akciğer Kanseri 11

2.1.3.2 Küçük Hücreli Dışı Akciğer Kanseri 12

2.1.4 Akciğer Kanserinde Semptomlar 13

2.1.5 Akciğer Kanserinde Tanı ve Tarama 14

2.1.6 Akciğer Kanserinde Evreleme 15

2.1.7 Akciğer Kanserinde Tedavi 16

2.1.7.1 Cerrahi 17

2.1.7.2 Kemoterapi 17

2.1.7.3 İmmünoterapi 18

2.1.7.4 Hedefe Yönelik Terapi 18

2.1.7.5 Radyoterapi 18

2.2 Galektin-3 19

2.2.1 Galektin-3'ün yapısı 20

2.2.2 Galektin-3'ün Doku Dağılımı 21

2.2.3 Galektin-3'ün Hücresel Lokalizasyonu 22

2.2.3.1 İntrasellüler Galektin-3 23

2.2.3.2 Ekstrasellüler Galektin-3 24

2.2.4 Galektin-3'ün Hücresel Fonksiyonları ve Kanser Gelişimi 24

2.2.4.1 Apoptoz 25

2.2.4.2 Anjiogenez 25

2.2.4.3 Bağışıklık Sisteminden Kaçış 26

2.2.4.4 Hücre Adezyonu 26

2.2.4.5 Metastaz 26

2.3 Sialik Asit 27

2.3.1 Sialik Asit Metabolizması 28

2.3.2 Sialik Asit'in Hücresel Fonksiyonları ve Kanser Gelişimi 30
2.3.2.1 Apoptoz 31
2.3.2.2 Anjiyogenez 31
2.3.2.3 Bağışıklık Sisteminden Kaçış 32
2.3.2.4 Metastaz 33
2.4 NF-κB (Nükleer faktör-kappa B) 34
2.4.1 NF-κB Aktivasyon Yolakları 36
2.4.1.1 Kanonik Yolak 36
2.4.1.2 Non-kanonik Yolak 36
2.4.1.3 Atipik Yolak 37
2.4.2 NF-κB'nin Hücresel Fonksiyonları ve Kanser Gelişimi 37
2.4.2.1 Tümör Hücre Büyümesi ve Proliferasyonu 39
2.4.2.2 Apoptoz 40
2.4.2.3 Anjiogenez 40
2.4.2.4 Metastaz 41
2.4.2.5 İnflamasyon ve Kanser 41
3. GEREÇ VE YÖNTEMLER 43
3.1 Gereçler 43
3.1.1 Çalışma ve Kontrol Gruplarının Belirlenmesi 43
3.1.2 Numunelerin Toplanması ve Hazırlanması 44
3.1.3 Kullanılan Malzeme ve Cihazlar 44
3.2 Yöntemler 45
3.2.1 Enzim İmmün Ölçümler 45
3.2.2 İstatistiksel analizler 51
3.3 Etik Kurul İzni 52

4. BULGULAR 53
5. TARTIŞMA 74
6. SONUÇ VE ÖNERİLER 93
7. KAYNAKLAR 95

TABLOLAR DİZİNİ

Tablo 1. Kanserlerin cinsiyete göre insidans ve mortalite oranları 5
Tablo 2. Akciğer Kanserinin TNM Evrelemesi 16
Tablo 3. Kullanılan Kit, Cihaz ve Malzemeler..... 44
Tablo 4. Hasta ve Kontrol Grubunun Sosyo-Demografik Özelliklerine Ait Tanımlayıcı Bilgiler 53
Tablo 5. Grupların Yaş Dağılımına Göre Karşılaştırılması..... 54
Tablo 6. Galektin-3, Sialik Asit ve NF-κB Değişkenlerinin Sağlıklı Kontrol, Radyoterapi Öncesi ve Sonrası Hasta Grubunda Karşılaştırılması..... 55
Tablo 7. Galektin-3, Sialik Asit ve NF-κB Değişkenlerinin Radyoterapi Öncesi ve Sonrası Hasta Grubunda Karşılaştırılması 58
Tablo 8. Radyoterapi Öncesi Hasta Grubunda Parametreler Arası İlişkiler 61
Tablo 9. Radyoterapi Sonrası Hasta Grubunda Parametreler Arası İlişkiler 63
Tablo 10. Korelasyon katsayısı (r) değerlendirme cetveli 65
Tablo 11. Galektin-3, Sialik Asit ve NF-κB Değişkenlerinin Sağlıklı Kontrol ve Radyoterapi Öncesi Hasta Grubunda Karşılaştırılması..... 65
Tablo 12. Galektin-3, Sialik Asit ve NF-κB Değişkenlerinin Sağlıklı Kontrol ve Radyoterapi Sonrası Hasta Grubunda Karşılaştırılması..... 69
Tablo 13. Galektin-3, Sialik Asit ve NF-κB parametrelerinin ROC analiz sonuçları72

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. 2022 yılı her iki cinsiyet için kanser çeşitlerinin vaka ve ölüm dağılımı 4
Şekil 2. Erkeklerde en sık görülen on kanser türünün toplam kanserler içindeki yüzde (%) dağılımı 6
Şekil 3. Kadınlarda en sık görülen on kanser türünün toplam kanserler içindeki yüzde (%) dağılımı 7
Şekil 4. Akciğer kanserinin histolojik sınıflandırması 11
Şekil 5. Akciğer kanseri tedavisi 17
Şekil 6. Galektinlerin ve Galektin-3'ün Yapısı 19
Şekil 7. Galektin -3'ün monomerik yapısı, dimerizasyonu ve polimerizasyonu 21
Şekil 8. Galektin-3'ün hücre içi ve hücre dışı etkileri 22
Şekil 9. Galektin-3'ün hücre içi işlevleri 23
Şekil 10. Sialik asidin yapısı 28
Şekil 11. Sialik asit metabolizması 29
Şekil 12. Kanserde hipersialilasyon nedenleri ve etkileri 31
Şekil 13. Anormal sialilasyonun tümör büyümesini ve ilerlemesi üzerine etkileri .. 32
Şekil 14. Sialik asit ile hücre-bağışıklık hücresi etkileşimleri 33
Şekil 15. NF-κB ve I-κB ailesi yapıları 35
Şekil 16. NF-κB aktivasyonu için yolaklar 37
Şekil 17. NF-κB'nin çeşitli biyolojik süreçler üzerindeki etkisi 38
Şekil 18. Kansere gidişte bağışıklık hücresi ve kanser hücresinin NF-κB üzerinden birbiri ile etkileşimi 41
Şekil 19. Galektin-3 absorbans-konsantrasyon grafiği 47
Şekil 20. Sialik asit absorbans-konsantrasyon grafiği 49
Şekil 21. NF-κB absorbans-konsantrasyon grafiği 51
Şekil 22. Sağlıklı kontrol, radyoterapi öncesi ve sonrası hasta grubunda Galekin-3 ölçümlerinin dağılımının kutu grafiği şeklinde gösterimi 56
Şekil 23. Sağlıklı kontrol, radyoterapi öncesi ve sonrası hasta grubunda Sialik Asit ölçümlerinin dağılımının kutu grafiği şeklinde gösterimi 56
Şekil 24. Sağlıklı kontrol, radyoterapi öncesi ve sonrası hasta grubunda NF-κB ölçümlerinin dağılımının kutu grafiği şeklinde gösterimi 57

Şekil 25. Radyoterapi öncesi ve sonrası hasta gruplarında Galektin-3 ölçümlerinin dağılımının kutu grafiği şeklinde gösterimi 59
Şekil 26. Radyoterapi öncesi ve sonrası hasta gruplarında Sialik Asit ölçümlerinin dağılımının kutu grafiği şeklinde gösterimi 60
Şekil 27. Radyoterapi öncesi ve sonrası hasta gruplarında NF-κB ölçümlerinin dağılımının kutu grafiği şeklinde gösterimi 60
Şekil 28. Radyoterapi öncesi hasta grubunda Galektin-3, Sialik Asit ve NF-κB parametrelerinin saçılım grafiği 61
Şekil 29. Radyoterapi öncesi hasta grubunun katılmasıyla yapılan korelasyon analizinde serum Galektin-3 ve Sialik Asit arasındaki korelasyonun saçılım grafiği 62
Şekil 30. Radyoterapi öncesi hasta grubunun katılmasıyla yapılan korelasyon analizinde serum Galektin-3 ve NF-κB arasındaki korelasyonun saçılım grafiği 62
Şekil 31. Radyoterapi öncesi hasta grubunun katılmasıyla yapılan korelasyon analizinde serum Sialik Asit ve NF-κB arasındaki korelasyonun saçılım grafiği 62
Şekil 32. Radyoterapi sonrası hasta grubunda Galektin-3, Sialik Asit ve NF-κB parametrelerinin saçılım grafiği 63
Şekil 33. Radyoterapi sonrası hasta grubunun katılmasıyla yapılan korelasyon analizinde serum Galektin-3 ve Sialik Asit arasındaki korelasyonun saçılım grafiği 64
Şekil 34. Radyoterapi sonrası hasta grubunun katılmasıyla yapılan korelasyon analizinde serum Galektin-3 ve NF-κB arasındaki korelasyonun saçılım grafiği 64
Şekil 35. Radyoterapi sonrası hasta grubunun katılmasıyla yapılan korelasyon analizinde serum Sialik Asit ve NF-κB arasındaki korelasyonun saçılım grafiği 64
Şekil 36. Sağlıklı kontrol ve hasta (radyoterapi öncesi) gruplarında Galektin-3 ölçümlerinin dağılımının kutu grafiği şeklinde gösterimi..... 67
Şekil 37. Sağlıklı kontrol ve hasta (radyoterapi öncesi) gruplarında Sialik Asit ölçümlerinin dağılımının kutu grafiği şeklinde gösterimi..... 67
Şekil 38. Sağlıklı kontrol ve hasta (radyoterapi öncesi) gruplarında NF-κB ölçümlerinin dağılımının kutu grafiği şeklinde gösterimi..... 68
Şekil 39. Sağlıklı kontrol ve hasta (radyoterapi sonrası) gruplarında Galektin-3 ölçümlerinin dağılımının kutu grafiği şeklinde gösterimi..... 70
Şekil 40. Sağlıklı kontrol ve hasta (radyoterapi sonrası) gruplarında Sialik Asit ölçümlerinin dağılımının kutu grafiği şeklinde gösterimi..... 71

Şekil 41. Sağlıklı kontrol ve hasta (radyoterapi sonrası) gruplarında NF-κB ölçümlerinin dağılımının kutu grafiği şeklinde gösterimi..... 71
Şekil 42. Galektin-3, Sialik asit ve NF-κB parametrelerinin ROC analizi 73

KISALTMALAR DİZİNİ

ABD	:	Amerika Birleşik Devletleri
Akt	:	Serin/treonin kinaz Akt
ALK	:	Anaplastik lenfoma kinaz
ARF	:	ADP-ribozilasyon faktörü
Ask-1	:	Apoptozis sinyalini düzenleyici kinaz 1
AUC	:	Eğri altındaki alan
BAF	:	B-hücresi aktive edici faktör
Bcl-2	:	B-hücreli lenfoma 2
Bcl-3	:	B hücreli lenfoma 3 kodlu protein
Bcl-xL	:	B hücreli lenfoma-xL
BRAF	:	v-Raf fare sarkomu viral onkogen homolog B
BT	:	Bilgisayarlı tomografi
CBP70	:	Karbonhidrat bağlayıcı protein 70
CCL2	:	CC-kemokin ligandı 2
CDKN2A	:	Siklin bağımlı kinaz inhibitörü 2A
Chrp	:	Sistein ve histidin bakımından zengin protein
cIAP	:	Apoptozis protein 1'in hücresel inhibitörü
CK2	:	Kazein kinaz 2
CLS	:	Kolajen benzeri dizi
COX-2	:	Siklooksijenaz-2
CRD	:	Karbonhidrat tanıma alanı
CREB	:	cAMP yanıt elementi bağlayıcı protein
CTLA-4	:	Sitotoksik T-lenfosit ilişkili protein 4
CV	:	Varyasyon katsayısı
DAMP	:	Hasarla ilişkili moleküler yapılar
DDR2	:	Diskoidin alanı içeren reseptör 2
DNA	:	Deoksiribonükleik asit
DR5	:	Ölüm reseptörü 5
DSÖ	:	Dünya Sağlık Örgütü
EGFR	:	Epidermal büyüme faktörü reseptörü

EIA	:	Enzim immün ölçüm
ELAM	:	Endotelyal lökosit adezyon molekülü 1
ELISA	:	Enzime bağlı immünosorban yöntem
EMT	:	Epitelyal mezenkimal geçiş
ERK	:	Hücre dışı sinyal düzenleyici kinaz
FasR	:	Fas reseptörü
FGFR1	:	Fibroblast büyüme faktörü reseptörü 1 proteini
FHIT	:	Kırılgan histidin üçlü proteini
GADD45	:	Büyüme Durması ve DNA Hasarı 45
GLOBOCAN	:	Küresel Kanser Gözlemevi
GLUT	:	Glukoz taşıyıcısı
GSK3β	:	Glikojen sentaz kinaz-3 beta
GTP	:	Guanozin trifosfat
Gy	:	Gray
HER2	:	İnsan epidermal büyüme faktörü reseptörü 2
HIF1-α	:	Hipoksiyle İndüklenen Faktör-1
HIV	:	İnsan Bağışıklık Yetmezliği Virüsü
ICAM	:	Hücreler arası adezyon molekülü-1
IκB	:	İnhibitör kappa B
IKK	:	IκB kinaz
IL	:	İnterlökin
IL1β	:	İnterlökin 1 beta
JNK	:	Jun NH2-terminal kinaz
kDa	:	kilo dalton
KHAK	:	Küçük Hücreli Akciğer Kanseri
KHDAK	:	Küçük Hücreli Dışı Akciğer Kanseri
KOAH	:	Kronik Obstrüktif Akciğer Hastalığı
KRAS	:	Kirsten rat sarcoma viral onkogen homologu
LGALS3	:	Galektin-3
LPS	:	Lipopolisakkarit
LSA	:	Lipit bağlı sialik asit
LTβ	:	Lenfotoksin beta

MIP	:	Makrofaj inflamatuvar proteinleri
MEK	:	Mitogenle aktive olan protein kinaz
MikroRNA	:	Mikroribonükleik asid
MMP-2	:	Matriks metaloproteinaz-2
MMP-9	:	Matriks metaloproteinaz-9
MnSOD	:	Manganez süperoksit dismutaz
MR	:	Manyetik rezonans görüntüleme
NEMO	:	NF- κB temel düzenleyicisi
NEU	:	Nöraminidaz
Neu5Ac	:	N-Asetilnöraminik Asit
Neu5Gc	:	N-Glikolilnöraminik asit
NF-κB	:	Nükleer Faktör Kappa B
NIK	:	NF-κB indükleyici kinaz
NK	:	Doğal öldürücü hücreler
NTD	:	N-terminal domain
NTR	:	N-terminal bölgesi
NTRK	:	Nörotrofik tirozin reseptör kinaz
p	:	Anlamlılık düzeyi
PAMP	:	Patojen ilişkili moleküler yapılar
PD-1	:	Programlanmış hücre ölümü proteini 1
PD-L1	:	Programlanmış ölüm ligandı 1
PECAM	:	Trombosit endotel hücre yapışma molekülü
PET	:	Pozitron emisyon Sintigrafisi
PET-BT	:	Pozitron emisyon tomografi/bilgisayarlı tomografi
PI3K	:	Fosfoinozitol-3 kinaz
pre-mRNA	:	Pre-mesajcı ribonükleik asit
PTEN	:	Fosfataz ve tensin homologu
PUMA	:	p53 apoptozun yukarı regüle edilmiş modülatörü
Q1,Q3	:	1.çeyreklik dilim, 3. Çeyreklik dilim
r	:	Korelasyon kat sayısı
Raf-1	:	Proto-onkogen serin/treonin-protein kinaz
RASSF1A	:	Ras ilişki alanı içeren protein 1

RB1	:	Retinoblastoma protein
RHD	:	Rel homoloji alanı
ROC	:	Receiver operating characteristic
STAT-3	:	Sinyal dönüştürücü ve transkripsiyon aktivatörü 3
TAD	:	Transaktivasyon domaini
Tcf-4-T	:	T hücre faktörü 4
TF	:	Transkripsiyon faktörü
TGF-β	:	Dönüştürücü büyüme faktörü beta
TLR4	:	Toll benzeri reseptör 4
TNFR1	:	Tümör nekroz faktör alfa reseptörü 1
TNF-α	:	Tümör nekroz faktör alfa
TNM	:	Tümör-Nod-Metastaz
TP53	:	Tümör protein 53
TRAF	:	TNF reseptörüyle ilişkili faktörler
TSA	:	Total sialik asit
TTF-1	:	Tiroid Transkripsiyon Faktör 1
UDP-GlcNAc	:	Üridin difosfat N-asetilglikozamin
uPA	:	Serin proteaz ürokinaz tipi plazminojen aktivatörü
USA	:	ABD
VCAM	:	Vasküler hücre yapışma proteini
VEGF	:	Vasküler endotelyal büyüme faktörleri
VEGFR2	:	Vasküler endotelyal büyüme faktörü reseptörü 2
XIAP	:	Apoptoz proteininin X'e bağlı inhibitörü

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim ve yoğun tez yazma sürecimde hususi ilgisi ve üstün deneyimleri ile beni destekleyen danışman hocam Prof. Dr. Ahmet KIZILTUNÇ'a en içten saygı ve şükranlarımı sunarım.

Uzmanlık eğitimim boyunca yakın ilgi ve bilimsel desteklerini esirgemeyen kıymetli hocalarım Prof. Dr. Nurinnisa ÖZTÜRK, Doç. Dr. Zafer BAYRAKTUTAN, Doç. Dr. Esra LALOĞLU ve Dr. Öğr. Üyesi Muhammet ÇELİK'e,

Tez kapsamında gereken numunelerin toplanmasında büyük emeği geçen ve akademik açıdan engin bilgilerinden yararlandığım hocam Doç. Dr. Hilal KIZILTUNÇ ÖZMEN'e,

Tez yazım sürecinde ilgi ve desteklerini esirgemeyen asistan arkadaşım Arş. Gör. Neslihan YÜCE ve birlikte çalışmaktan onur duyduğum tüm asistan arkadaşlarıma, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalımızda görev yapan tüm tekniker ve personele,

Bu çalışmayı TTU-2024-14176 proje numarası ile destekleyen Atatürk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü'ne,

Tüm eğitim hayatım boyunca maddi ve manevi emeklerini esirgemeyen aileme, uzmanlık eğitimim süresince sevgisi, ilgisi ve anlayışı ile yanımda olan değerli eşim Mehmet Zübeyr EĞİLMEZ'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Dr. Esra EĞİLMEZ

ÖZET

Skuamöz Hücreli Akciğer Kanseri Hastalarında Radyoterapi Öncesi ve Sonrası Serum Galektin-3, Sialik Asit ve NF-κB Seviyelerinin Belirlenmesi

Amaç: Akciğer kanseri dünya genelinde en sık görülen kanserlerden biridir ve kansere bağlı mortalitenin en sık nedenidir. Bu hastalığın yaygın görülen bir alt tipi olan skuamöz hücreli akciğer kanseri hastalarında sağlıklı kontrol grubuna göre Galektin-3, Sialik asit ve NF-κB seviyelerinin değişimi ve aralarındaki ilişkinin ortaya konması amaçlandı. Ayrıca bu parametrelerin, ileri evre akciğer kanseri için önemli bir tedavi protokolü olan radyoterapiye bağlı değişiminin görülmesi ve birlikte veya ayrı ayrı skuamöz hücreli akciğer kanseri tanısında biyobelirteç olarak kullanılıp kullanılamayacağının belirlenmesi hedeflendi.

Gereç ve Yöntem: Bu çalışmaya, skuamöz hücreli akciğer kanseri tanısı alan 40 hasta ve 35 sağlıklı kişi dahil edildi. Hastaların (radyoterapi öncesi ve sonrası) ve sağlıklı kontrol grubunun serum numunelerinde Galektin-3, Sialik asit ve NF-κB parametreleri ELISA yöntemi ile ölçüldü.

Bulgular: Radyoterapiden sonra, serum Galektin-3, Sialik asit ve NF-κB konsantrasyonlarında istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik görülmedi ($p>0,05$). Hastaların radyoterapi öncesi serum Galektin-3 ve Sialik asit düzeylerinin sağlıklı kontrol grubundan yüksek olduğu gözlemlendi (sırasıyla $p=0,007$ ve $p=0,001$). Radyoterapi öncesi hasta grubu ile sağlıklı kontrol grubu arasında serum NF-κB konsantrasyonları açısından anlamlı fark bulunamadı ($p=0,113$). Hasta grubunun radyoterapi öncesi ve sonrası durumları dikkate alındığında Galektin-3 ile Sialik asit arasında anlamlı ve pozitif bir korelasyon mevcuttu. ROC analizine göre Galektin-3 ile Sialik asidin AUC değerleri sırasıyla 0,683 ($p=0,0028$) ve 0,722 ($p=0,0001$) olarak belirlendi. NF-κB'nin ise AUC değeri 0,394 ($p=0,1053$) olarak tespit edildi.

Sonuç: Çalışmamızda hasta grubunda kontrol grubuna göre serum Galektin-3 ile Sialik asit konsantrasyonları yüksek bulundu. Hasta grubunda Galektin-3 ile Sialik asit birbiriyle ilişkili bulundu. Skuamöz hücreli akciğer kanserine tanı koyduruculuk

açısından Galektin-3 ile Sialik asidin bir biyobelirteç olarak kullanılabileceği belirlendi. Serum Galektin-3, Sialik asit ve NF-κB konsantrasyonlarında radyoterapi sonrası öncesine göre anlamlı olmayan bir artış görüldü. Radyoterapiye cevap olarak bu parametrelerin değişimini daha net gözlemleyebilmek için daha geniş katılımlı ve kapsamlı çalışmaların yapılmasının konuyu daha iyi aydınlatacağı fikrindeyiz.

Anahtar Kelimeler: Skuamöz hücreli akciğer kanseri, Radyoterapi, Galektin-3, Sialik asit, NF-κB

ABSTRACT

The Determination of Serum Galectin-3, Sialic Acid and NF-κB Levels in Squamous Cell Lung Cancer Patients Before and After Radiotherapy

Aim: Lung cancer is one of the most common cancers worldwide and is the most common cause of cancer-related mortality. The aim was to determine the changes in Galectin-3, Sialic acid and NF-κB levels and the relationship between them in patients with squamous cell lung cancer, a common subtype of this disease, compared to the healthy control group. In addition, it was aimed to observe the changes of these parameters depending on radiotherapy, which is an important treatment protocol for advanced lung cancer, and to determine whether they can be used together or separately as biomarkers in the diagnosis of squamous cell lung cancer.

Materials and Methods: In this study, 40 patients diagnosed with squamous cell lung cancer and 35 healthy controls were included. Galectin-3, sialic acid and NF-κB parameters were measured by ELISA in serum samples of patients (before and after radiotherapy) and healthy control group.

Results: After radiotherapy, no statistically significant change was observed in serum Galectin-3, Sialic acid and NF-κB concentrations ($p>0,05$). The serum Galectin-3 and Sialic acid levels of the patients before radiotherapy were higher than the healthy control group ($p=0,007$ and $p=0,001$, respectively). There was no significant difference in serum NF-κB concentrations between the patient group and the healthy control group before radiotherapy ($p=0,113$). There was a significant and positive correlation between Galectin-3 and Sialic acid before and after radiotherapy. According to ROC analysis, the AUC values of Galectin-3 and Sialic acid were determined as 0,683 ($p=0,0028$) and 0,722 ($p=0,0001$), respectively. The AUC value of NF-κB was determined as 0,394 ($p=0,1053$).

Conclusion: In our study, serum Galectin-3 and Sialic acid concentrations were higher and correlated with each other in the patient group compared to the control group. It was determined that Galectin-3 and Sialic acid can be used as a biomarker for the diagnosis of squamous cell lung cancer. There was no significant change in

serum Galectin-3, Sialic acid and NF-κB levels after radiotherapy compared to before radiotherapy. In order to observe the changes in these parameters in response to radiotherapy, we believe that further studies with larger participation and comprehensive studies will be more useful on the subject.

Keywords: Squamous cell lung cancer, Radiotherapy, Galectin-3, Sialic acid, NF-κB

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Akciğer dokularında kontrolsüz hücre çoğalması ile meydana gelen akciğer kanseri, en yaygın malign tümör türlerinden biri olup insan sağlığı açısından ciddi bir risk teşkil etmektedir (1). Skuamöz hücreli akciğer kanseri ise bu hastalığın en sık görülen alt tiplerinden biridir (2). Klinik semptomların geç ortaya çıkması ve etkili tarama programlarının bulunmaması nedeniyle akciğer kanserlerinin çoğu küratif tedavinin mümkün olmadığı ileri evrede teşhis edilmektedir (3). Radyoterapi (RT), inoperabl akciğer kanseri hastaları için genellikle kemoterapi ile kombine edilen birincil tedavi yöntemidir (4).

Galektin-3 çekirdek, sitoplazma ve hücre yüzeyinde bulunan kimera tip bir galektindir. Hücre dışı matrikse salgılanabilir ve dolaşıma katılabilir (5). Galektin-3, tümör hücresinin büyümesi, immun kaçışı, proliferasyonu, adezyonu, invazyonu, anjiyogenezi ve metastazı üzerinden farklı hücresel mekanizmalar aracılığıyla akciğer kanseri de dahil birçok kanser türünde tümör gelişiminde önemli bir rol oynamaktadır (6).

Hücre membranı ve yüzey bileşenlerinin neoplastik davranışta önemli rolü olduğu düşünülmektedir (7). Bu bileşenlerden biri olan sialik asit aracılığıyla kanser hücrelerinin anormal sialilasyonu; tümör hücrelerinin büyümesini, bağışıklık hücrelerinden ve apoptozdan kaçışını, kemoterapi ve radyoterapiye direncini, kanser ilerlemesini ve metastazını artırarak tümör gelişiminin birden çok basamağında görev alır (8).

NF-κB transkripsiyon faktörü; inflamasyon, bağışıklık yanıt, hücre büyümesi ve sağkalımı, ayrıca belirli viral genlerin ekspresyonu gibi çeşitli önemli fizyolojik süreçlerin düzenlenmesinde rol oynar. Ayrıca NF-κB aktivitesi birçok kanser ve kronik inflamatuar hastalık gibi çeşitli hastalıkların patogenezinde artış göstererek hastalıkların gelişimine katkıda bulunur (9). NF-κB, apoptozun baskılanması, hücre proliferasyonu, metastaz ve anjiyogenez süreçlerinde görevli genleri düzenleyerek onkogenezi etkiler (10). NF-κB aktivasyonunun, çeşitli kemoterapötik ajanlara (11) ve radyoterapiye (12) karşı direnç gelişimini indüklediği gözlemlenmiştir.

Çalışmamızda yukarıda özellikleri anlatılan tümör gelişiminde rol alan Galektin-3, Sialik asit ve NF-κB'nin serum analizi neticesinde skuamöz hücreli akciğer kanseri olan hastalarda sağlıklı kontrol grubuna göre bu biyomoleküllerin düzeylerinin değişimi ve bu biyomoleküllerin aralarındaki ilişkinin ortaya konması amaçlandı. Hasta grubundan radyoterapinin hemen öncesinde ve tedavi protokolü tamamlandıktan sonra alınan serum numune sonuçlarına göre radyoterapiye bağlı değişiminin görülmesi hedeflendi. Ayrıca bu parametrelerin birlikte veya ayrı ayrı skuamöz hücreli akciğer kanseri tanısında biyobelirteç olarak kullanılıp kullanılamayacağı incelendi.

2. GENEL BİLGİLER

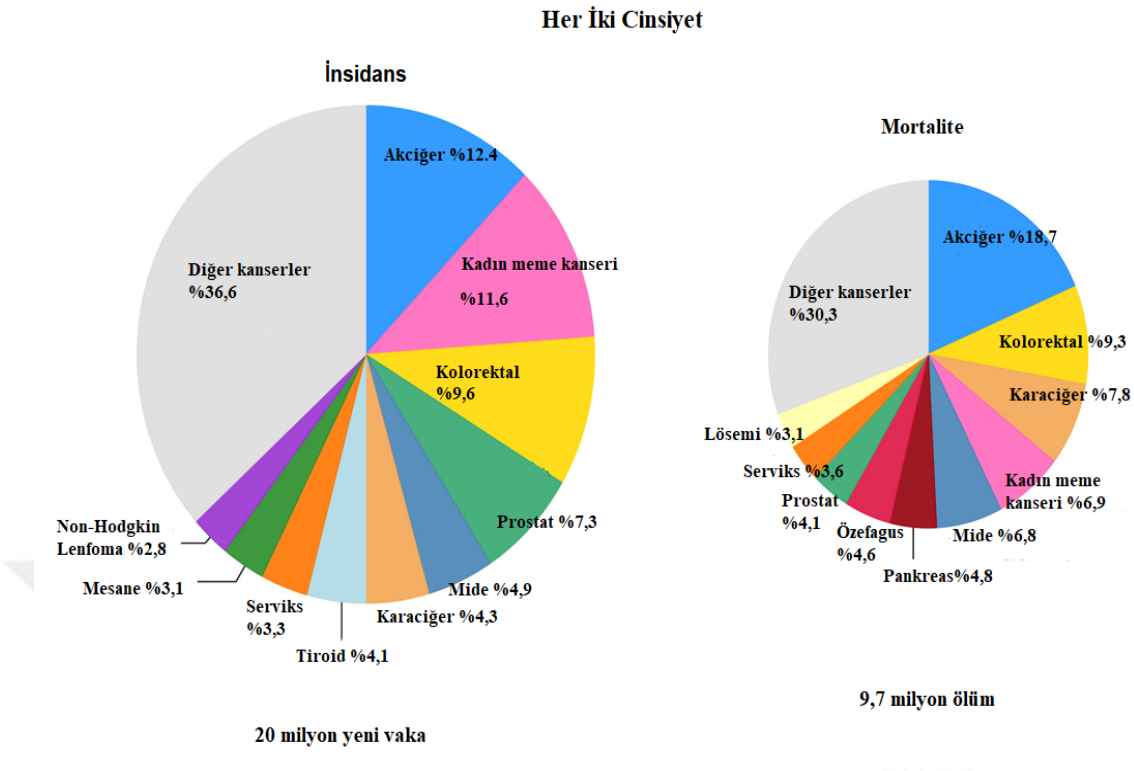
2.1 Akciğer Kanseri

Kanser, normal hücrelerin aşamalı olarak son derece kötü huylu ve agresif hücrelere dönüşümünü yönlendiren genetik değişikliklere uğradığı çok adımlı bir süreçtir. Kanser hücreleri kontrolsüz büyüme, apoptozdan kaçış, sürekli anjiyogenez, doku istilası ve metastaz ile karakterize edilir (13). Akciğer dokularında kontrolsüz hücre çoğalması ile meydana gelen akciğer kanseri, en yaygın malign tümör türlerinden biri olup insan sağlığı açısından ciddi bir risk teşkil etmektedir (1).

2.1.1 Akciğer Kanserinin Epidemiyolojisi

Kanser, 21. yüzyılda önemli bir toplumsal, halk sağlığı ve ekonomik sorun olup dünya genelinde neredeyse her altı ölümden birinden ve bulaşıcı olmayan hastalıklardan kaynaklanan her dört ölümden birinden sorumludur (14).

GLOBOCAN (Küresel Kanser Gözlemevi)'ın verilerine göre 2022 yılında yaklaşık 20 milyon yeni kanser vakası tanımlanmış ve kanserden kaynaklanan ölümün 9,7 milyon olduğu bildirilmiştir. Tahminlere göre yaklaşık her beş erkek ya da kadından biri yaşamı boyunca kansere yakalanırken, yaklaşık her dokuz erkekten biri ve her 12 kadından biri kanserden ölmektedir. Dünya çapında yaklaşık 2,5 milyon yeni vaka ve 1,8 milyondan fazla ölümle sonuçlanan akciğer kanseri, 2022 yılında kanser morbidite ve mortalitesinin önde gelen nedeni olmuştur (Şekil 1). Akciğer kanseri dünya çapında teşhis edilen kanserlerin neredeyse sekizde birinden ve kanser ölümlerinin beşte birinden sorumludur. 2022 GLOBOCAN verilerine göre akciğer kanserine yakalanma olasılığının cinsiyete göre değişimi ve mortalite oranları Tablo 1'de özetlenmiştir (14).



Şekil 1. 2022 yılı her iki cinsiyet için kanser çeşitlerinin vaka ve ölüm dağılımı (14)

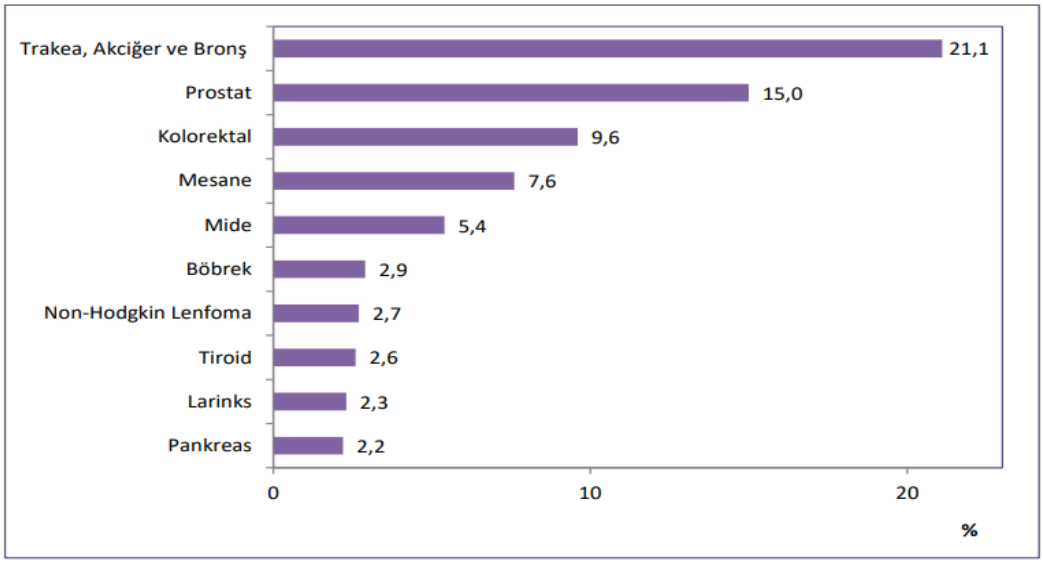
Akciğer kanseri, hem insidans hem de mortalite açısından erkekler arasında birinci, kadınlar arasında ise ikinci sırada yer almaktadır. Erkek-kadın akciğer kanseri insidans ve mortalite oranları yaklaşık ikidir. Ancak bu oranlar Kuzey Amerika ve Kuzey Avrupa'da bire yakınken Kuzey Afrika ve Doğu Avrupa'da dört kat ile beş kat arasında değişmektedir. Erkeklerde en yüksek insidans oranları Doğu Asya bölgesinde görülmekte, bunu Mikronezya/Polinezya ve Doğu Avrupa takip etmektedir. Dünya genelinde erkekler arasında en yüksek ulusal oranın Türkiye'de olduğu tahmin edilmektedir. Kadınlar arasında akciğer kanseri yüksek insidans oranları Kuzey Amerika, Doğu Asya ve Kuzey Avrupa'da görülmekte olup en yüksek ulusal oranın Macaristan'da olduğu düşünülmektedir (14).

Tablo 1. Kanserlerin cinsiyete göre insidans ve mortalite oranları (14)

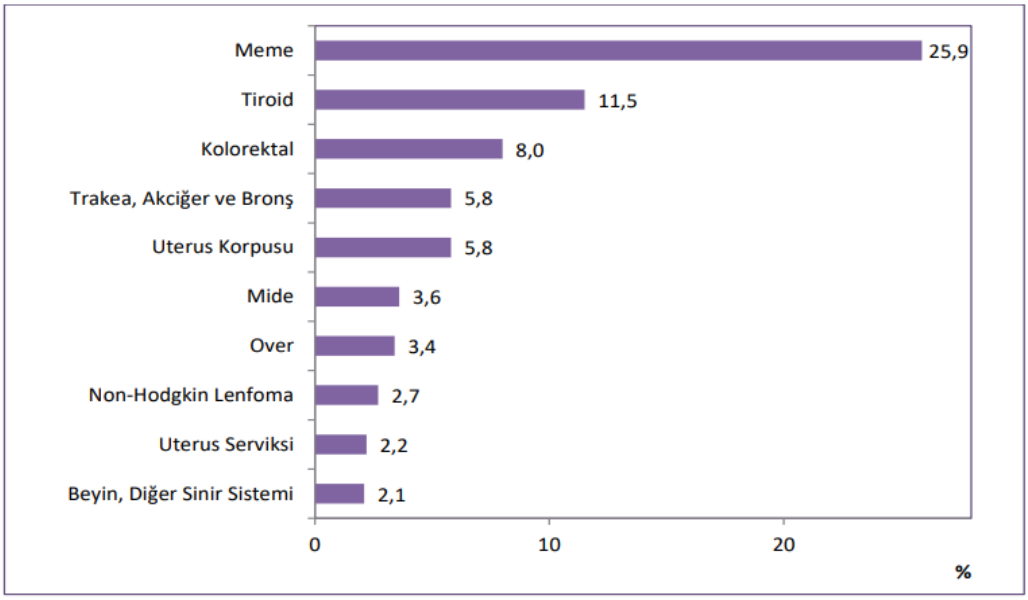
CİNSİYET	KANSER	İNSİDANS (%)	KANSER	MORTALİTE (%)
ERKEK VE KADIN	Akciğer	12,4	Akciğer	18,7
	Kadın meme kanseri	11,6	Kolorektal	9,3
	Kolorektal	9,6	Karaciğer	7,8
	Prostat	7,3	Kadın meme kanseri	6,9
	Mide	4,9	Mide	6,8
	Karaciğer	4,3	Pankreas	4,8
	Tiroid	4,1	Özefagus	4,6
	Serviks	3,3	Prostat	4,1
	Mesane	3,1	Serviks	3,6
	Non-Hodgkin lenfoma	2,8	Lösemi	3,1
	Diğer kanserler	36,6	Diğer kanserler	30,3
ERKEK	Akciğer	15,3	Akciğer	22,7
	Prostat	14,2	Karaciğer	9,6
	Kolorektal	10,4	Kolorektal	9,2
	Mide	6,1	Mide	7,9
	Karaciğer	5,8	Prostat	7,3
	Mesane	4,6	Özefagus	5,9
	Özefagus	3,5	Pankreas	4,6
	Non-Hodgkin lenfoma	3	Lösemi	3,2
	Lösemi	2,7	Mesane	3,1
	Böbrek	2,7	Non-Hodgkin lenfoma	2,6
	Diğer kanserler	31,7	Diğer kanserler	23,9
KADIN	Meme	23,8	Meme	15,4
	Akciğer	9,4	Akciğer	13,6
	Kolorektal	8,9	Kolorektal	9,4
	Serviks	6,8	Serviks	8,1
	Tiroid	6,4	Karaciğer	5,5
	Uterus	4,3	Mide	5,4
	Mide	3,5	Pankreas	5,1
	Over	3,4	Over	4,8
	Karaciğer	2,7	Lösemi	3,1
	Non-Hodgkin lenfoma	2,5	Özefagus	2,9
	Diğer kanserler	28,3	Diğer kanserler	26,7

Akciğer kanserinde küresel yük artmakta ve bu artış erkek popülasyonda daha belirgin olmakla birlikte kadınlarda akciğer kanser insidansında artış bildirilmektedir. Gelişmiş ve gelişmekte olan ülkeler arasında akciğer kanser insidansı ve demografik verileri arasında belirgin farklılıklar gözlenmektedir (15). Sigara kullanımı, tüm akciğer kanseri vakalarının %85 ile %90'ından sorumludur (16). Tüm Dünya'da en yüksek sigara içme oranları gelişmekte olan ülkelerde görüldüğü için akciğer kanserine bağlı ölümlerin yarısından fazlası da bu bölgelerde meydana gelmektedir (15). Ülkeler arasında farklılıklar göstermekle birlikte Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) verilerine göre tüm dünyada erkeklerin %48'i, kadınların ise %10'u sigara içmektedir. Gelişmekte olan ülkelerde, gelişmiş ülkelere göre kadınlarda sigara içme prevelansı daha düşüktür. Bu ülkelerde akciğer kanseri gelişiminde tütün dışı faktörler önemli rol oynamaktadır (17).

Türkiye'de dolaşım sistemi hastalıklarından sonra mortalitenin en önemli sebebi malign neoplazmlardır. Malign neoplazmlar arasında ise akciğer kanseri erkeklerde %21,1 oranı (Şekil 2) ile en sık kanser türü iken, kadınlarda %5,8 oranı (Şekil 3) ile dördüncü sıklıkta görülen kanser türüdür (18). DSÖ'nün 2018 raporuna göre ülkemizde yılda 34.703 yeni akciğer kanseri tanısı vardır. Bildirilen sayı erkeklerde 29.405, kadınlarda ise 5.298'dir (17).



Şekil 2. Erkeklerde en sık görülen on kanser türünün toplam kanserler içindeki yüzde (%) dağılımı (18)



Şekil 3. Kadınlarda en sık görülen on kanser türünün toplam kanserler içindeki yüzde (%) dağılımı (18)

Akciğer kanseri tanısı alan hastaların büyük bir kısmı, tanı konulmasından itibaren bir yıl içerisinde yaşamını yitirmekte olup, beş yıllık sağkalım oranı yaklaşık olarak %17,8 düzeyindedir (19). Amerika Birleşik Devletleri (ABD)'inde sağkalım oranı önceki yıllara göre yüksek bulunmuştur (20). Akciğer kanseri sağkalımındaki bu iyileşmeler, muhtemelen daha erken teşhis yöntemlerinden ve tedavi stratejilerindeki gelişmelerden kaynaklanmaktadır. Yüksek gelirli ülkelerde, en güncel tanı ve tedavi imkanlarına erişim daha iyi olup, bu da akciğer kanseri sağkalım oranlarının daha yüksek olmasını sağlamaktadır (21).

2.1.2 Akciğer Kanserinin Etiyolojisi

2.1.2.1 Sigara ve Tütün Kullanımı

Sigara kullanımı, tüm akciğer kanseri vakalarının %85 ile %90'ından sorumludur (16). Sigara, 1900'lerde başlıca tütün ürünü haline geldiğinde, akciğer kanseri daha yaygın hale gelmiştir. Sigara içilen yıl sayısının veya günde tüketilen paket sayısının artması, akciğer kanseri riskinin derecesini de artırmaktadır (22). Tütün içmenin yanı sıra pasif içicilik de akciğer kanseri riskini yüksek oranda artırmaktadır (23). Bir sigara içicisiyle birlikte yaşamak, sigara içmeyen birinin akciğer kanseri geliştirme riskini yaklaşık %20-30 oranında artırabilmektedir (24). Pasif içiciliğe

maruz kalmanın akciğer kanseri geliştirme riskini araştıran meta-analizler ve kapsamlı incelemeler, hiç sigara içmemiş ancak bir sigara içicisiyle birlikte yaşayan kişilerde riskin 1,14-5,20 kat arttığını göstermiştir (25). Akciğer kanseri riski açısından puro ve pipo içmek sigara içmekle aynıdır. Düşük katranlı veya "light" sigara içmek de akciğer kanseri riskini normal sigaralar kadar artırır. Mentollü sigara içmek ise riski daha da artırır (26). e-sigaranın buharla şartlandırılmış ortamının, sigara dumanıyla şartlandırılmış ortama maruz kalan hücrelerdekine benzer şekilde insan bronşiyal epitel hücrelerinde gen ekspresyon desenleri oluşturduğu gösterilmiştir (27). Sigarayı bırakmak akciğer kanserinin tedavisinde de önemlidir. Akciğer kanseri hastalarının yaklaşık %50'si tanı anında sigara içmektedir ve %83 kadarı tanıdan sonra sigara içmeye devam etmektedir (28). Akciğer kanseri tanısı konulduktan sonra sigarayı bırakmak sağ kalım süresinin artması, ameliyat sonrası komplikasyonların azalması, sistemik tedaviye yanıtın, radyoterapiye yanıtın ve yaşam kalitesinin iyileşmesi ile bağlantılıdır (29). Akciğer kanserlerinin %80'i sigara içenlerde oluşsa da tüm sigara içenlerin %20'sinde akciğer kanseri gelişmektedir. Bu değişkenlik olasılıkla çevresel ve diğer genetik faktörlerden kaynaklanmaktadır (15).

2.1.2.2 Asbest

Asbeste maruz kalma, akciğer kanserinin en iyi bilinen mesleki nedenlerinden biridir. Asbest madenciliği ve değirmenciliği, gemi yapımı, inşaat, tekstil, yalıtım ve otomobil tamirinde çalışanlar en yüksek risk altındadır. Karsinogenez için oksidatif hasarın indüklenmesi ve ardından deoksiribonükleik asit (DNA) delesyonları, somatik gen değişiklikleri ve tütün karsinojenlerinin hava yolu epiteline daha fazla iletilmesi dahil olmak üzere çoklu mekanizmalar mevcuttur (30). Asbeste maruz kalanlarda akciğer kanseri riski, doz konsantrasyonu ve asbest lifi türüyle doğru orantılıdır (26).

2.1.2.3 Radon

Radon, topraktaki uranyumun bozunması ile doğal olarak üretilen ve mutajenik özelliklere sahip bir gazdır. Özellikle uranyum konsantrasyonunun yüksek olduğu coğrafi bölgelerde, bodrum katları veya maden ocakları gibi yer altında geçirilen zaman radona maruz kalma ile ilişkilidir (31). Konutlarda radon maruziyeti, Batı dünyasında akciğer kanseri için ikinci en büyük risk faktörüdür ve vakaların tahmini

%10'unu oluşturmaktadır. Radon maruziyeti, tütün içimi ile birlikte akciğer kanseri riski üzerinde sinerjik bir etkiye sahiptir (32).

2.1.2.4 Hava Kirliliği

Akciğer kanseri gelişmesinde, fosil yakıtların yanmasından kaynaklanan kanserojenler ve havada asılı kalan maddeler gibi hava kalitesiyle ilgili risk faktörleri vardır (31). Ortam havasındaki partikül madde konsantrasyonunun akciğer kanseri riskiyle önemli ölçüde ilişkili olduğu ve çapı 2,5 μm'den küçük olan partikül maddelerin akciğer kanseri riskini ve akciğer kanseri ölüm oranlarını artırdığı belirlenmiştir (21).

2.1.2.5 Arsenik

İnorganik arseniğin yeraltı sularına sızması ile birçok tarım ve sanayi işçisi arseniğe maruz kalmaktadır. Arsenik maruziyetinin akciğer kanseri dahil olmak üzere birçok kanser türününün riskini artırdığı görülmüştür (31).

2.1.2.6 Yaş

Akciğer kanseri vakalarının tahmini %53'ü 55-74 yaş aralığındaki kişilerde görülürken, kalan %37'si 75 yaş üstü kişilerde görülmektedir. Akciğerlerde tümör oluşumu, genellikle mutajenlere ilk maruziyetten yıllar sonra ortaya çıkar ve bu da hastalığın gecikmeli zaman çizelgesini açıklar. Biyolojik yaşlanma da bu sürece katkıda bulunur; zira yaşla birlikte telomerlerin kısalması, nikotinamid adenin dinükleotit seviyelerinin azalması ve hücrelerin DNA hasarını onarma ile anormal hücreleri izleme yeteneklerini kaybetmesi bu süreci hızlandırmaktadır (31).

2.1.2.7 Cinsiyet

Küresel olarak erkeklerde akciğer kanseri teşhisi konma ve bu hastalıktan ölme olasılığı iki kat daha fazladır (33). Erkeklerde daha fazla görülmesinin en büyük nedeni, erkeklerin tütün içme olasılığının daha yüksek olmasıdır (31). Gelişmiş dünyada, akciğer kanseri oranları erkekler için düşerken kadınlar için yükselmektedir. Buna sebep olarak kadınların tarihsel olarak tütün içmeyi daha geç benimsemiş olması gösterilmektedir (34).

2.1.2.8 Aile Öyküsü

Akciğer kanseri olan hastaların birinci derece akrabaları, sigara içme alışkanlıkları düzenlendikten sonra bile artmış risk altındadır (35). Aile öyküsünde akciğer kanseri olan bireyler üzerinde yapılan 28 vaka-kontrol çalışması ve 17 gözlemsel kohort çalışmasının meta-analizi, bu kişilerde akciğer kanseri gelişme riskinin arttığını göstermiştir (36).

2.1.2.9 Kronik Obstrüktif Akciğer Hastalığı

Kronik obstrüktif akciğer hastalığı (KOAH) çoğunlukla sigara kullanımına bağlı olarak gelişir. KOAH'a bağlı enflamasyon ve skarlaşma, akciğer kanseri riskinin artışıyla ilişkilidir. KOAH'ın akciğer kanseri riskini artırma mekanizmaları arasında uzun süreli oksidatif strese ve inflamatuar sitokinlere maruz kalma sonucunda oluşan DNA hasarı, DNA onarım mekanizmalarının baskılanması ve hücresel proliferasyonun artması yer almaktadır (37).

2.1.2.10 Diğer Akciğer Hastalıkları

Kronik bronşit, anfizem ve pnömoni gibi akciğer hastalıklarının akciğer kanseri riskini artırdığı belirlenmiştir (38).

2.1.2.11 Enfeksiyon

Solunum yolu enfeksiyonu sırasındaki enflamasyon ve hücresel hasar akciğer karsinogeneziyle ilişkilendirilmiştir. Tüberküloz ve İnsan Bağışıklık Yetmezliği Virüsü (HIV)'nün akciğer kanseri riskini artırdığı yapılan çalışmalarla gösterilmiştir (31).

2.1.2.12 Genetik ve Somatik Mutasyonlar

Akciğer kanseri, çok sayıda sinyal yolunun somatik mutasyonlarını ve epigenetik düzensizliğini içeren heterojen bir hastalıktır. Akciğer kanserinde birkaç genetik değişiklik tanımlanmıştır, bunlar: (1) KRAS, EGFR, BRAF, PI3K, MEK ve HER2 gibi bir dizi pro-onkogendeki mutasyonların aktive edilmesi. (2) ALK, ROS1 ve muhtemelen RET'teki yapısal yeniden düzenlemeler. (3) Adenokarsinomlarda MET, skuamöz hücreli akciğer karsinomlarında FGFR1 ve DDR2 gibi proto-onkogenlerin amplifikasyonu. (4) MikroRNA'lar tarafından onkojenik genlerinin

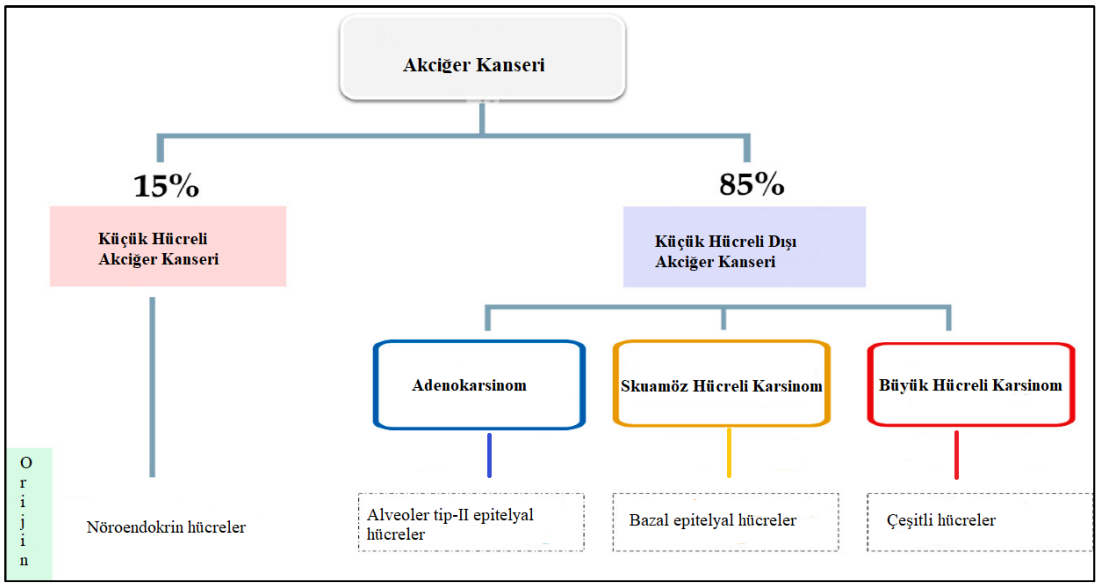
ekspresyonunun artması. (5) Tümör baskılayıcı genlerin inaktivasyonu (TP53, RB1, CDKN2A, FHIT, RASSF1A ve PTEN) (39).

2.1.2.13 Diğer

Akciğer kanseri ile ilişkilendirilen diğer organik bileşik ve metal maruziyetleri arasında berilyum, kadmiyum, krom, silika, formaldehit, benzopiren, nikel, sert metal tozu ve vinil klorür bulunmaktadır. Bunlar genellikle tütün içimi ile sinerjik olarak etki etmektedir (21).

2.1.3 Akciğer Kanseri Sınıflaması

Akciğer kanserinin Küçük Hücreli Dışı Akciğer Kanseri (KHDAK) (%85) ve Küçük Hücreli Akciğer Kanseri (KHAK) (%15) olmak üzere iki ana formu bulunmaktadır. DSÖ, KHDAK'yi üç ana tipte sınıflandırmıştır: adenokarsinom (%40), skuamöz hücreli karsinom (%25-30) ve büyük hücreli karsinom (%15). Klinik alt tiplerin çeşitli varyantları ve kombinasyonları da bulunmaktadır (2).



Şekil 4. Akciğer kanserinin histolojik sınıflandırması (40)

2.1.3.1 Küçük Hücreli Akciğer Kanseri

KHAK genellikle hızlı bir ikiye katlanma süresine, yüksek bir büyüme oranına ve erken evrede yaygın metastaz geliştirme özelliğine sahiptir. KHAK hastalarının çoğu tanı anında ileri evrededir ve hematojen metastazlara sahiptir. Hastaların yaklaşık

üçte birinde hastalık göğüs bölgesiyle sınırlıdır. KHAK hastaları uygulanan kemoterapi ve radyoterapiye karşı yüksek oranda duyarlılık gösterse de hastaların büyük bir kısmı nihayetinde nüks eden hastalık nedeniyle hayatını kaybetmektedir (41, 42).

2.1.3.2 Küçük Hücreli Dışı Akciğer Kanseri

Tüm KHDAK vakalarının yaklaşık %90'ından tütün içme alışkanlığı sorumludur. Tütün kullanımının kanserojen etkileri arasında enzimlerin indüksiyonu ve DNA'nın hatalı replikasyonuna ve mutasyonuna yol açabilecek kovalent DNA yapılarının oluşumu yer alır. KHDAK'nın büyük bir kısmının eski sigara içicilerinde teşhis edilmesi, sigara dumanına maruz kalınan dönemde moleküler hasarın birikerek, sigara bırakıldıktan yıllar sonra dahi kanser gelişimine neden olabilecek bir dizi olayı tetiklediğini göstermektedir (43).

2.1.3.2.1 Adenokarsinom

Akciğer kanserinin en yaygın türü olan adenokarsinom, tüm akciğer kanseri vakalarının yaklaşık %40'ını oluşturmaktadır. Bu kanser türü, mukus ve diğer maddeleri salgılayan küçük hava yolu epitelyal hücreleri olan tip II alveolar hücrelerden köken alır (44). Yaş, cinsiyet ve tütün dumanı maruziyetine bakılmaksızın en fazla görülen akciğer kanseri alt tipidir (23). Diğer akciğer kanseri türleriyle karşılaştırıldığında, adenokarsinom daha yavaş büyüme eğilimindedir ve akciğerlerin dışına yayılmadan önce bulunma ihtimali daha yüksektir. Daha çok akciğerin periferinde oluşma eğilimindedir (45). Sigaralara büyük parçacıkların akciğerlere girmesini önleyen filtrelerin eklenmesi sigara dumanının daha derin solunmasına ve periferik lezyonlara yol açar (46).

2.1.3.2.2 Skuamöz Hücreli Akciğer Kanseri

Skuamöz hücreli karsinom, tüm akciğer kanseri vakalarının %25-30'unu oluşturmaktadır. Bu kanser türü, akciğerlerin merkezinde yer alan bronşiyal hava yolu epitel hücrelerindeki skuamöz hücrelerden kaynaklanır. KHDAK'nın bu alt tipi sigara kullanımı ile güçlü bir ilişki göstermektedir (47).

Son yıllarda, sigara içme oranlarının büyük ölçüde azalmasına ve sigara bileşimi ile filtrelemesindeki değişikliklere bağlı olarak, eskiden KHDAK'nın en

yaygın histolojik alt tipi olan akciğerin skuamöz hücreli karsinomunun insidansında istikrarlı bir düşüş gözlenmektedir. Hiç sigara içmemiş veya geçmişte kısa bir süre sigara içicisi olan adenokarsinom hastalarının aksine skuamöz hücreli karsinomu olan hastaların çoğunluğu mevcut veya eski sigara içicileridir (48).

2.1.3.2.3 Büyük Hücreli Karsinom

Büyük hücreli karsinom tanımı gereği az diferansiye tümörlerdir ve skuamöz hücreli karsinom, adenokarsinom veya küçük hücreli karsinom ekarte edildikten sonra dışlama yoluyla tanı konur. Büyük hücreli karsinom sıklıkla akciğerlerin orta kısmında başlar, bazen yakındaki lenf düğümlerine, göğüs duvarına ve uzak organlara yayılır (49) ve sigara kullanımı ile oldukça ilişkilidir (50).

2.1.4 Akciğer Kanserinde Semptomlar

Akciğer kanserli hastalarda semptomlar; nonspesifik (kilo kaybı, halsizlik gibi), primer tümörün intratorasik yayılımına bağlı, paraneoplastik veya uzak metastaza bağlı olabilir (51). Hastalık erken evrede asemptomatik olabilir (17). Bu yüzden KHDAK çoğunlukla ileri bir evreye kadar tespit edilmez (52, 53). Primer tümör ile ilişkili semptomlar; öksürük, dispne, hemoptizi ve göğüste rahatsızlık hissidir (17).

Endobronşiyal lezyon veya postobstrüktif pnömoniden kaynaklanan öksürük (%54,7) ve dispne (%45,3) akciğer malignitelerinin tanı anındaki en sık semptomudur (17, 53) . Kimi zaman hışırtılı solunum ve stridorun da eşlik edebildiği bu semptomlar olguların %60-75'inde mevcuttur. Hemoptizi tabloya eşlik edebilir, nadiren masif niteliklidir (17).

Hastaların %40'ında semptomlar tümörün veya lenfatik yayılımının intratorasik sinirler, göğüs duvarı, plevra, vasküler yapılar ve/veya organlara yayılımı ile ilişkilidir. Pancoast sendromu, süperior vena cava sendromu, rekürren laringeal sinir paralizisine bağlı ses kısıklığı ve paraneoplastik sendromlar gibi durumlar bunlardan bazılarıdır (51).

2.1.5 Akciğer Kanserinde Tanı ve Tarama

Klinik semptomların ve etkili tarama programlarının bulunmaması nedeniyle akciğer kanserlerinin çoğu ileri evrede teşhis edilmektedir. Ancak akciğer kanserinin doğru evrelemesi hayati öneme sahiptir çünkü tedavi seçenekleri ve prognoz buna bağlıdır. Tanı süreci genellikle hastanın şüpheli belirti ve semptomları fark etmesiyle başlar. Görüntüleme teknikleri ile lezyonun lokalizasyonu belirlendikten sonra, biyopsi örneği almak ve patolojik tanıyı doğrulamak için en uygun yöntem seçilir (3). Tanı için X-ray, BT (bilgisayarlı tomografi), PET (pozitron emisyon sintigrafisi) kullanılabilir ve biyopsi ile histolojik inceleme yapılabilir (54). Sadece normal bir göğüs radyografisi akciğer kanserini ekarte etmek için kullanılmamalıdır çünkü normal göğüs radyografilerinin yaklaşık %20 ila %25'i hastalığı gözden kaçırabilir (55). Klinik değerlendirme veya ilk göğüs radyografisi bulgularına göre akciğer kanseri şüphesi yüksek olan hastalara, karaciğer ve böbrek üstü bezlerini de içerecek şekilde intravenöz kontrast maddeli göğüs BT çekilmelidir (56) .

Akciğer kanserlerinin çoğu, küratif tedavinin mümkün olmadığı daha ileri bir evrede teşhis edildiğinden, uzun süredir yüksek riskli bireylerin (sigara içenler ve eskiden sigara içenler) taranmasına odaklanılmıştır. Çeşitli çalışmalar, düşük doz bilgisayarlı tomografinin akciğer kanserinden kaynaklanan ölümleri önemli ölçüde azalttığını göstermiştir. ABD' de 50-80 yaş arası, 20 paket/yıllık sigara içme geçmişi olan, halen sigara içen veya son 15 yıl içinde bırakmış olan kişilerde düşük doz bilgisayarlı tomografi ile yıllık akciğer kanseri taraması yapılması önerilmektedir (14). Dünyada birçok ülkede olduğu gibi ülkemizde de düşük doz bilgisayarlı tomografi henüz kitle tarama yöntemi olarak uygulamaya girmemiştir. En uygun risk grubunun ve en uygun yöntemin belirsizliği, yüksek yalancı pozitif sonuçlar, pozitif tarama saptanan olgunun yönetimindeki güçlükler, aşırı tanı, radyasyon riski gibi netlik kazanmamış sorunlar düşük doz bilgisayarlı tomografi taramanın yaygınlaşmamasının en önemli nedenleridir (17). En büyük sorun olan yalancı pozitifliği azaltmak için düşük doz bilgisayarlı tomografinin biyobelirteçlerle kombine edilmesine yönelik çalışmalar sürmekte ve ümit vadetmektedir (57).

Akciğer kanserinin patolojik tanısı, sitolojik incelemeler ya da cerrahi patoloji örneklerinin analiz edilmesi yoluyla kesinleştirilir. Tümörün konumu ve hastanın

genel durumu alınan numune türünü doğrudan etkileyebilir. Histolojik örnekler; bronkoskopi veya iğne biyopsisi yoluyla alınabildiği gibi torakoskopi, eksizyonel kama biyopsisi, lobektomi veya pnömonektomi gibi daha invaziv açık biyopsi işlemleriyle elde edilebilir (58).

2.1.6 Akciğer Kanserinde Evreleme

Tarama programlarının yetersiz olması ve hastalığın klinik semptomlarının geç ortaya çıkması nedeni ile çoğu hasta ileri evrede tanı almaktadır ve prognozu kötüdür. Ancak, akciğer kanserinin doğru evrelemesi hayati öneme sahiptir çünkü tedavi seçenekleri ve prognoz buna bağlıdır. Tümör-Nod-Metastaz (TNM) sınıflandırma sistemi evrelemenin temelini oluşturur (3). Akciğer kanseri için güncel TNM evrelemesi Tablo 2'de verilmiştir (59). Bugün için akciğer kanserli bir hastanın başlangıç değerlendirmesinde evreleme için tüm vücut PET-BT ile kontrastlı beyin MR (manyetik rezonans görüntüleme) veya BT ile klinik evreleme yapılması önerilmektedir (17). Akciğer kanserli hastaların yaklaşık %70'inin tanı anında lokal ileri evre veya metastatik yayılımının olduğu belirlenmiştir (54). Ülkemizde 2018 yılında 30.078 kişiye akciğer kanseri tanısı konulmuştur. Bu kanserin evreleri incelendiğinde, tanı sırasında %52,7'sinin uzak metastaz yapmış olduğu görülmektedir (60). Türkiye verilerine göre ülkemizde KHDAK olguların %84,5'i lokal ileri evre veya ileri evrede tanı almaktadır (17). Akciğer kanserinde klinik sonuçlar doğrudan tanı anındaki kanser evresiyle ilişkilidir. Örneğin, evre I akciğer kanseri ile başvuran hastaların beş yıllık sağ kalım oranı %68,4 iken (29) evre IV akciğer kanseri ile başvuran hastaların beş yıllık sağ kalım oranı %5,8'dir (61).

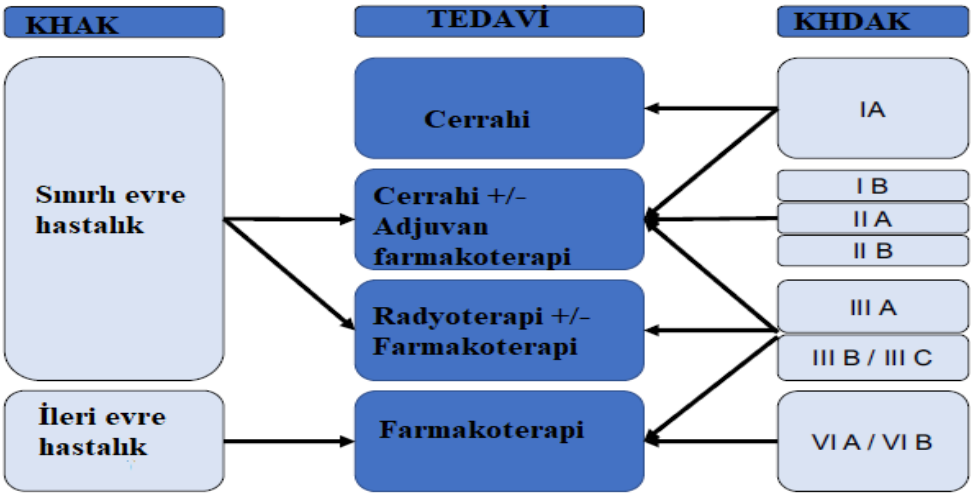
Tablo 2. Akciğer Kanserinin TNM Evrelemesi (59)

9. Baskı TNM Tanımlayıcıları ve Kategoriler						
T/M	**Kategoriler ve tanımlayıcıları**	**N0**	**N1**	**N2**		**N3**
				N2a	**N2b**	
T1	T1a≤1 cm	IA1	IIA	IIB	IIIA	IIIB
	T1b>1 ve ≤2 cm	IA2	IIA	IIB	IIIA	IIIB
	T1c>2 ve ≤3 cm	IA3	IIA	IIB	IIIA	IIIB
T2	T2a viseral plevra/merkezi invazyon	IB	IIB	IIIA	IIIB	IIIB
	T2a>3 ve ≤4 cm	IB	IIB	IIIA	IIIB	IIIB
	T2b>4 ve ≤5 cm	IIA	IIB	IIIA	IIIB	IIIB
T3	T3>5 ve ≤7 cm	IIB	IIIA	IIIA	IIIB	IIIC
	T3 invazyon	IIB	IIIA	IIIA	IIIB	IIIC
	T3 aynı lob ayrı tümör nodülü	IIB	IIIA	IIIA	IIIB	IIIC
T4	T4>7 cm	IIIA	IIIA	IIIB	IIIB	IIIC
	T4 invazyon	IIIA	IIIA	IIIB	IIIB	IIIC
	T4 aynı taraf ayrı tümör nodülü	IIIA	IIIA	IIIB	IIIB	IIIC
M1	M1a karşı taraf tümör nodülü	IVA	IVA	IVA	IVA	IVA
	M1a plevral/perikardiyal efüzyon, nodül	IVA	IVA	IVA	IVA	IVA
	M1b Tek ekstratorasik metastaz	IVA	IVA	IVA	IVA	IVA
	M1c1 Bir organ sisteminde multiple metastaz	IVB	IVB	IVB	IVB	IVB
	M1c2 Birden fazla organ sisteminde multiple metastaz	IVB	IVB	IVB	IVB	IVB

2.1.7 Akciğer Kanserinde Tedavi

Akciğer kanserlerinde tedavi kararı başlıca tümör histolojisi, hastalığın evresi, yaş, pulmoner fonksiyonlar ve komorbiditeler gibi hasta ile ilişkili spesifik özellikler doğrultusunda verilir. Tedavi seçeneklerini belirlemek ve prognozu öngörebilmek için en önemli aşama evrelemedir (17). Tedavi yaklaşımında evreye ve hastanın klinik durumuna bağlı olarak cerrahi, radyoterapi, kemoterapi, immunoterapi ve hedefe yönelik ajanlar (anti-anjiyogenik monoklonal antikorlar, tirozin kinaz inhibitörleri gibi) kullanılabilir (54). Erken evre KHDAK için cerrahi, önerilen tedavi olmaya devam etmektedir (62). Evre I ile II KHDAK'li hastalara genellikle üç tedavi kombinasyonu sunulur: tümörün tam rezeksiyonunu ve mediastinal lenf nodu diseksiyonunu veya lenf nodu örneklemesini içerebilen cerrahi, radyoterapi ve adjuvan platin bazlı kemoterapi (63). Evre I veya II KHDAK olan hastalara ameliyat önerilmekte ve bunu patolojik evrelemeye bağlı olarak adjuvan tedavi takip edebilmektedir. Hasta fizyolojisi veya tercihleri nedeniyle cerrahi uygulanmayanlara

radikal radyoterapi önerilmektedir. Evre III KHDAK tedavisi karmaşıktır ancak genellikle kemoradyasyon veya cerrahiyi takiben adjuvan tedavileri veya kemoradyasyonu takiben cerrahiyi içerir. Evre IV KHDAK hastalarının sistemik tedavisi histoloji ve öngörücü biyobelirteçler tarafından yönlendirilir. Küçük hücreli akciğer kanseri olan kişiler tipik olarak kemoterapi ve/veya radyoterapi ile tedavi edilir ve seçili erken evre tümörler için cerrahi önerilir (64).



Şekil 5. Akciğer kanseri tedavisi (62)

2.1.7.1 Cerrahi

Cerrahi, tercih edilen temel tedavi yöntemidir ancak akciğer kanseri hastalarının yaklaşık %80'i lokorejyonel tümör yayılımı, ekstratorasik yayılım veya tanı anında kötü fiziksel durum nedeniyle tıbbi veya teknik olarak inoperabldır (4). KHDAK lobektomi, kama rezeksiyonu, segmentektomi ve pnömonektomi dahil olmak üzere çeşitli şekillerde cerrahi olarak tedavi edilir. Pnömonektominin riski, lobektominin riskinden daha yüksektir (65). Video yardımlı torasik cerrahi, açık torakotomiye kıyasla daha düşük mortalite ve hastanede kalış süresine sahiptir (66).

2.1.7.2 Kemoterapi

Kemoterapi; tümör hücrelerinin büyümesini, bölünmesini ve çoğalmasını engelleyerek kanser hücrelerini yok eden bir tedavi yöntemidir. Kemoterapinin akciğer kanseri tanısı almış hastaların yaşam süresini uzattığı ve yaşam kalitesini iyileştirdiği kanıtlanmıştır (65). Yeni tanı alan akciğer kanseri hastalarının yaklaşık

%40'ı evre IV'tür. Bu hastaların tedavisindeki amaç sağkalımı iyileştirmek ve hastalıkla ilişkili yan etkileri azaltmaktır. Evre IV KHDAK için sitotoksik kombinasyon kemoterapisi birinci basamak tedavidir ve bu histoloji, yaş, komorbidite ve performans durumundan etkilenebilir. Hem platin bazlı iki ilaçlı rejimlerin hem de platin olmayan kombinasyonların ileri evre KHDAK'nin birinci basamak tedavisinde etkili olduğu gösterilmiştir (67).

2.1.7.3 İmmünoterapi

İmmünoterapi, kanserle savaşmak için vücudun kendi doğal savunma sistemini kullanan bir tedavidir. Bazı kanser hücreleri sağlıklı hücrelerle aynı özellikleri paylaşır ve bu nedenle bağışıklık sistemi vücudun normal ve anormal (kanser) hücreleri arasında ayrım yapamaz. İmmünoterapinin bağışıklık sistemini güçlendirerek kanser hücrelerini hedef alabilmesi, kanser hücrelerinin büyümesini durdurabilmesi veya yavaşlatabilmesi, vücudun diğer bölgelerine yayılmasını önleyebilmesi ve bağışıklık sisteminin etkinliğini artırmasına yardımcı olabilmesi yoluyla çalıştığına düşünülmektedir (45). Evre IV hastalığı olan hastalar için palyatif bakım ve platin bazlı kemoterapi ile birlikte veya tek başına immünoterapi önerilmektedir (56). PD-1 ve CTLA-4 bağışıklık sinyal yolunu bloke eden ajanlar KHDAK hastalarında kullanılan immünoterapötik ajanlardır (65).

2.1.7.4 Hedefe Yönelik Terapi

Tümör genleri, proteinleri, tümör gelişimini ve hayatta kalmasını destekleyen doku ortamı hedefe yönelik tedavinin odak noktasıdır. Bu tedavi kanser hücrelerinin gelişimini ve yayılmasını yavaşlatır, ancak sağlıklı hücreleri olumsuz etkilemez. EGFR inhibitörleri, ALK inhibitörleri, KRAS G12C mutasyonlarını, MET ve BRAF V600 mutasyonunu, RET ve NTRK füzyonunu, vasküler endotelyal büyüme faktörlerini (VEGF) inhibe eden ilaçlar akciğer kanseri hastalarında hedefe yönelik kullanılan ajanlardandır (65).

2.1.7.5 Radyoterapi

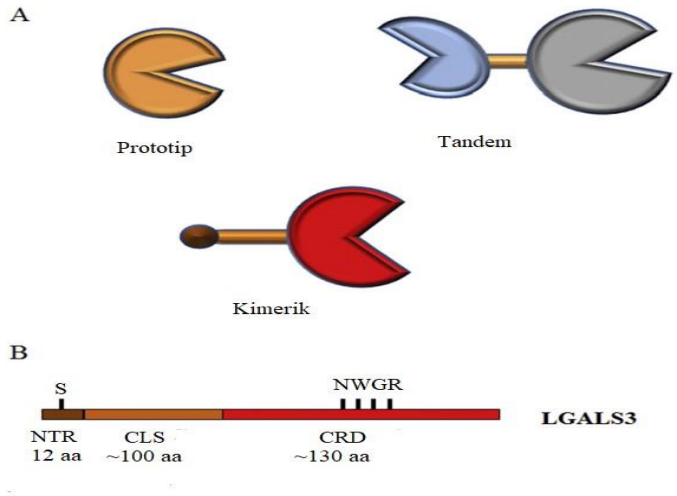
Radyoterapi (RT), inoperabl akciğer kanseri hastaları için genellikle kemoterapi ile kombine edilen birincil tedavi yöntemidir (4). Radyoterapide, kanser hücrelerinin DNA'sına zarar vermek ve onları yok etmek amacıyla yüksek enerjili

ışınlar kullanılır ve böylece vücudun belirli bölgelerindeki tümörlerin kontrol altına alınmasına veya ortadan kaldırılmasına yardımcı olabilir. Toraksta lokalize olan ve cerrahi rezeksiyona aday olmayan KHDAK hastaları radyoterapiden fayda görebilir (45). Ameliyata veya kemoterapiye duyarsız olan KHDAK hastaları için, yaşam kalitelerini iyileştirmek amacıyla palyatif tedavinin bir parçası olarak radyoterapi kullanılabilir. Ameliyat için uygun olmayan ancak muhtemelen çıkarılabilir tümörleri olan hastalar veya yeterli akciğer rezervi olan ameliyat edilemez evre I hastalar küratif radyoterapi adayı olabilir (65).

2.2 Galektin-3

Galektinler, aşağı omurgasızlardan memelilere kadar birçok türde yaygın olarak bulunan bir lektin ailesidir. Bu ailenin üyelerinin hücre adezyonunu sağladığı, hücre büyümesini düzenlediği ve apoptozu tetiklediği veya inhibe ettiği ileri sürülmektedir (68).

Galektin ailesi, toplamda 15 protein içerir. Bu proteinler yapılarına göre üç gruba ayrılır. Prototip (dimerik) galektinler bir karbonhidrat tanıma alanına (CRD) sahiptir ve bu gruba galektin-1, 2, 5, 7, 10, 11, 13,14, -15 dahildir. Tandem tekrarlı galektinler iki CRD içerir. Galektin-4, 6, 8, 9, 12 bu gruptadır. Kimera tipi galektin ise bir CRD'ye bağlı geniş bir N-terminal alanından oluşur ve Galektin-3 bu grubun tek üyesidir (69).



Şekil 6. Galektinlerin ve Galektin-3'ün Yapısı (70)

İnsanda Galektin-3, kromozom 14 üzerinde yer alan tek bir gen olan LGALS3 tarafından kodlanan bir proteindir (71). 29-35 kDa'lık bir protein olan Galektin-3, ilk olarak fare gibi kemigenlerde tiyoglikolat ile uyarılmış peritoneal makrofajlarda eksprese edilen 32-kDa'lık bir hücre yüzeyi antijeni olan Mac-2 olarak tanımlanmıştır (72). Daha sonra, fare fibroblastlarında 35 kDa'lık karbonhidrat bağlayıcı bir protein olan CBP-35 (73), sıçan bazofilik lösemi hücrelerinden ε bağlayıcı bir protein olan εBP (74), sıçan akciğer dokusunda 29 kDa'lık bir lektin olan RL-29 (75), insan akciğer dokusunda HL-29 (76), onkogen transfekte edilmiş sıçan embriyonal fibroblastlarında 34 kDa'lık bir lektin olan L-34 (77) ve makrofajlarda integrin olmayan bir laminin bağlayıcı protein olan LBP (78) olarak tanımlanmıştır. Bu protein 1994 yılında ortaya konan isimlendirmeye uygun olarak Galektin-3 olarak adlandırılmıştır (79).

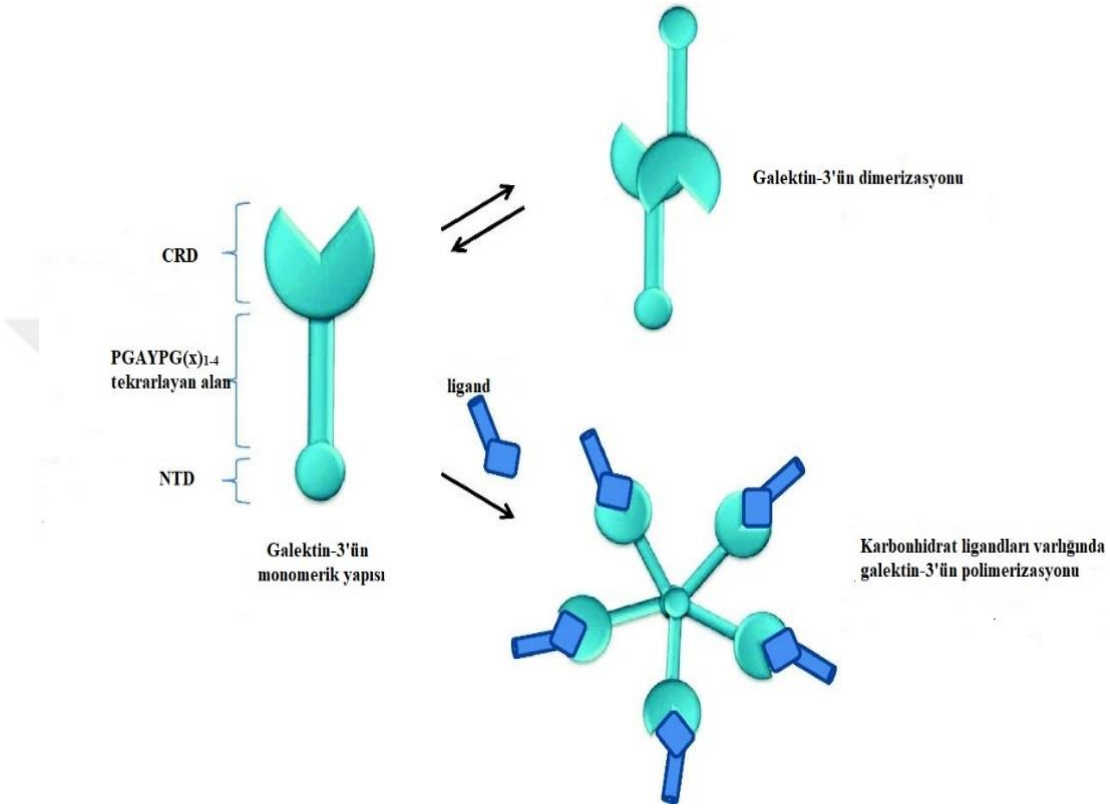
2.2.1 Galektin-3'ün yapısı

Galektin-3; serin 6 fosforilasyon bölgesini içeren 12 aminoasitlik bir N-terminal bölgesine (NTR) sahip bir N-terminal domainine (NTD), yaklaşık 100 aminoasitlik bir kollajen benzeri diziye (CLS) ve NWGR motifini içeren yaklaşık 130 aminoasitlik bir karbonhidrat tanıma alanına (CRD) sahiptir (70).

Galektin-3'ün NTD'si, Galektin-3 multimerizasyonu için gereklidir (80). NTD, Galektin-3'e benzersiz bir pentamer oluşturma yeteneği kazandırır ve Galektin-3'ün glikoproteinler ve glikolipitlerle kafesler oluşturmasına olanak tanır (70). Aynı zamanda NTD, MMP-2 (matriks metaloproteinaz-2) ile MMP-9 (matriks metaloproteinaz-9) gibi matriks metalloproteinazları tarafından proteolize duyarlıdır (80). NTD'nin ilk 12 amino asidi, Galektin-3'ün salgılanması ve nükleer translokasyonu için gereklidir (81, 82). Yüksek düzeyde korunmuş Ser6 kalıntısı ise Galektin-3'ün anti-apoptotik aktivitesinden sorumludur (83). Tümör mikroçevresindeki NTD bölünmesinin, meme kanseri anjiyogenezine ve ilerlemesine yol açtığı da gösterilmiştir (5).

Galektin-3'ün küresel bir yapı oluşturan yaklaşık 130 amino asitten oluşan C-terminal alanı, karbonhidrat bağlama bölgesini barındırır ve böylece Galektin-3'ün lektin aktivitesinden sorumludur (84). Galektinler arasında CRD'ler değişkenlik gösterir, bu nedenle galektinler çeşitli glikanlara olan afiniteleri açısından farklılıklar

sergiler (70). CRD içindeki NWGR motifinin, hem Bcl-2 (B-hücreli lenfoma 2) hem de Galektin-3'ün anti-apoptotik aktivitesinden sorumlu olduğu gösterilmiştir (85). Ayrıca NWGR motifi, sakkarit ligandlarının yokluğunda CRD'ler aracılığıyla Galektin-3 moleküllerinin kendi kendine birleşmesinde de rol oynar (86).



Şekil 7. Galektin -3'ün monomerik yapısı, dimerizasyonu ve polimerizasyonu (6)

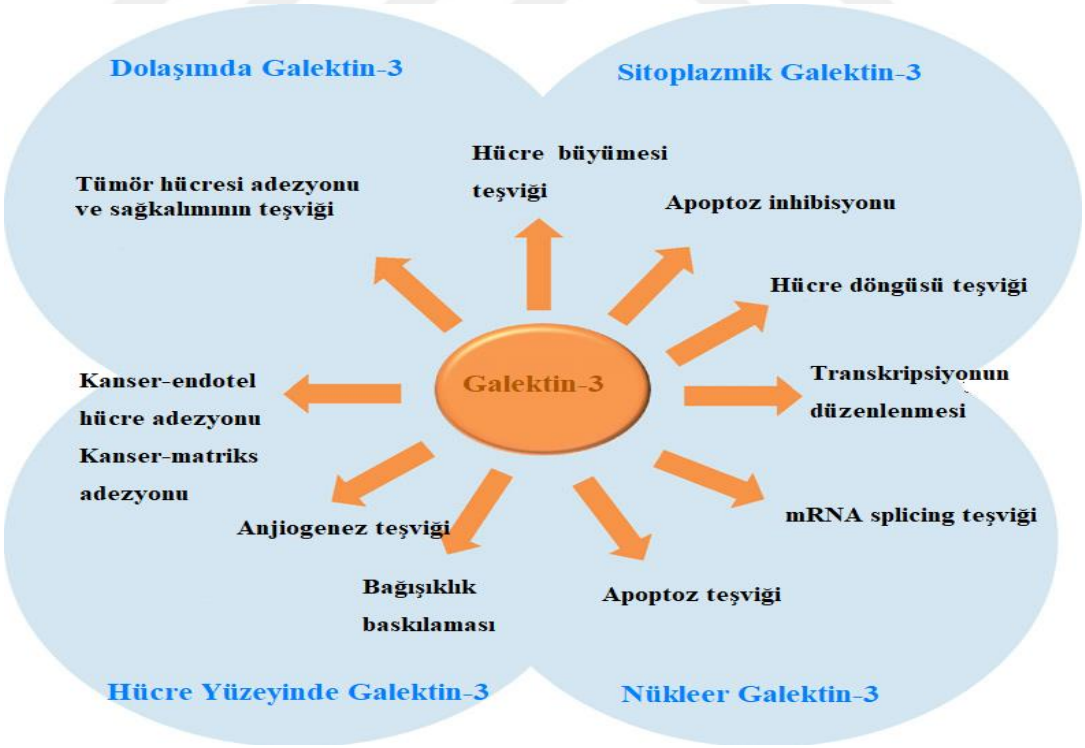
2.2.2 Galektin-3'ün Doku Dağılımı

Galektin-3 akciğer dokusunda (87), ince bağırsak epitel hücrelerinde, kolon epitelinde, kornea ve konjuktival epitelde, koku epitelinin sınırlı bir alanında, böbrek, timus, meme ve prostat epitel hücrelerinde, tükürük bezlerinin, pankreasın, böbreğin ve gözün duktal hücrelerinde ve intrahepatik safra kanallarında tespit edilmiştir. Ayrıca fibroblastlarda, kondrositlerde, osteoblastlarda, osteoklastlarda, keratinositlerde, Schwann hücrelerinde, gastrik mukozada, çeşitli doku ve organlardan endotel hücrelerinde de bulunmuştur. Bunlara ek olarak; nötrofiller, eozinofiller, bazofiller, mast hücreleri, Langerhans hücreleri, dendritik hücreler, monositler ve makrofajlar gibi immün yanıtta rol oynayan hücrelerde Galektin-3 ekspresyonuna ilişkin çok sayıda veri bulunmaktadır (84).

2.2.3 Galektin-3'ün Hücresel Lokalizasyonu

Galektin-3'ün nükleer ve sitoplazmik lokalizasyonu iyi bir şekilde belirlenmiştir (88). Lokalizasyonu hücre tipi ve hücrenin proliferasyon durumu, neoplastik ilerleme ve transformasyon gibi çeşitli faktörlere bağlıdır. Öte yandan Galektin-3'ün biyolojik rolleri hücresel lokalizasyonu ile tanımlanır (84). Galektin-3 çekirdek, sitoplazma ve hücre yüzeyinde bulunur. Ayrıca, hücre dışı matrikse salgılanabilir ve dolaşıma katılabilir (5). Galektinlerin hücre dışında bulunması, endoplazmatik retikuluma yerleştirilmeleri için bir sinyal dizisine sahip olmadıklarından klasik olmayan yolla salgılanmalarının bir sonucudur (89).

Nükleer ve sitoplazmik Galektin-3 ekspresyonu vasküler invazyon, histolojik olarak belirgin farklılaşma ve tümör baskılayıcı veya tümör-promoter fonksiyonları ile yakından ilişkilidir. Galektin-3'ün endotel, hücre dışı matriks ve serumdaki hücre dışı ekspresyonu kanser hücrelerinin oluşumu, büyümesi, embolizasyonu ve metastazı ile ilişkilidir (5).



Şekil 8. Galektin-3'ün hücre içi ve hücre dışı etkileri (6)

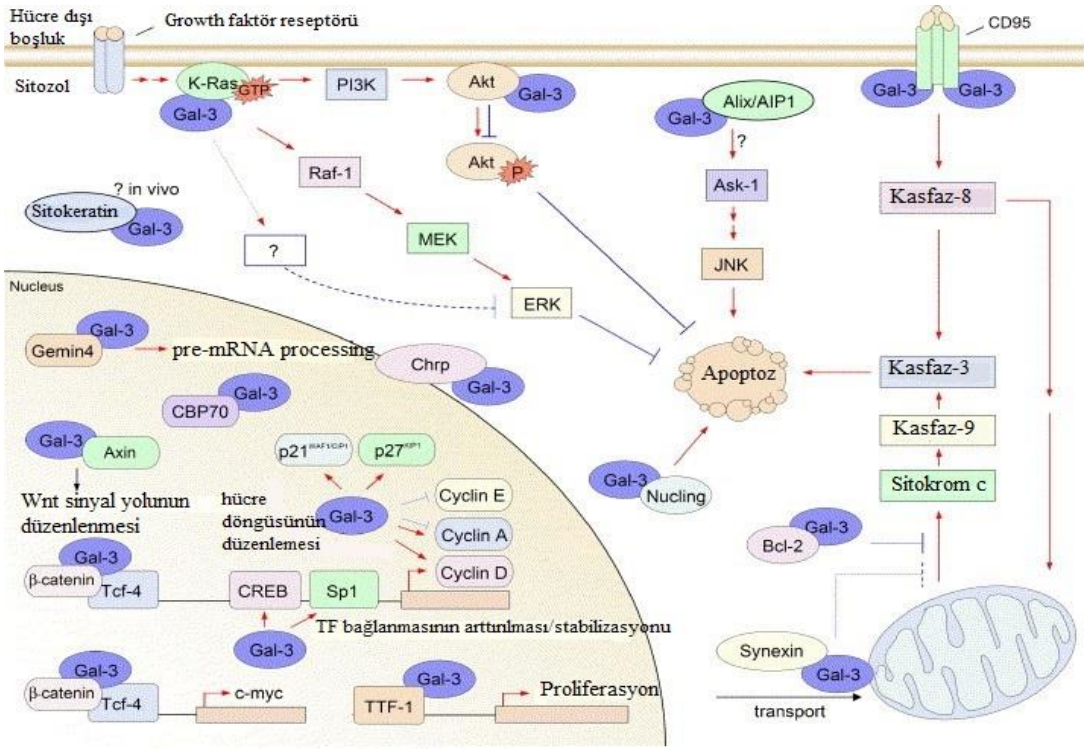
2.2.3.1 İntrasellüler Galektin-3

2.2.3.1.1 Nükleer Galektin-3

Galektin-3 ile pre-mRNA arasında Gemin4'ü içeren protein kompleksleri aracılığıyla dolaylı bir etkileşimin olduğu gösterilmiştir (90). Galektin-3'ün transkripsiyon faktörleri CREB ve Sp1'in trans-aktivasyon fonksiyonlarını desteklediği ve siklin D1 promotör aktivitesini indüklediği gösterilmiştir (91). Galektin-3 ayrıca papiller tiroid kanseri hücrelerinde tiroid transkripsiyon faktör-1 (TTF-1)'in DNA bağlayıcı aktivitesinin uyarılması ile TTF-1'in transkripsiyonel aktivitesini yukarı düzenler ve böylece tiroid hücrelerinin çoğalmasına katkıda bulunur (92). Wnt sinyal yolunda yer alan bir molekül olan β-katenin de, çekirdekte Galektin-3'ün bir bağlanma yeri olarak da tanımlanmıştır (93). Wnt yolağının düzenleyici bir proteini olan aksinin, Galektin-3'ü bağladığını ve Galektin-3'ün GSK-3β'ya bağlı fosforilasyonunu desteklediğini göstermiştir (94). Bu Galektin-3'ün Wnt/β-katenin sinyal yolunun düzenlenmesinde önemli bir rol oynadığını göstermektedir (84).

2.2.3.1.2 Sitoplazmik Galektin-3

Çok sayıda sitozolik molekül Galektin-3 ligandı olarak tanımlanmıştır (84).



Şekil 9. Galektin-3'ün hücre içi işlevleri (84)

Galektin-3'ün CRD aracılığıyla antiapoptik bir molekül olan Bcl-2 (95) ve ölüm reseptör ailesinin bir üyesi olan CD95 (APO-1/Fas) ile etkileşime girdiği (96) gösterilmiştir. Apoptotik olayların düzenlenmesinde rol oynayan bir başka sitozolik protein olan Alix/AIP1 de Galektin-3 bağlayıcı partneri olarak tanımlanmıştır (97). Sitozolik Galektin-3'ün hücrenin çoğalması, farklılaşması, hayatta kalması ve ölümünün düzenlenmesine katılımı K-Ras proteinini (98, 99) ve Akt proteinini (100) üzerinden olduğu bilinmektedir. Sineksinin Galektin-3'ün perinükleer mitokondriyal membranlara translokasyonuna aracılık ettiği ve burada apoptoz düzenlemesi için kritik olan mitokondriyal bütünlüğü düzenlediği gösterilmiştir (101).

2.2.3.2 Ekstrasellüler Galektin-3

Hücre dışı galektin-3 çok sayıda otokrin ve parakrin etki gösterir (84). Galektin-3 hücresel homeostazın korunması, bağışıklık reaksiyonları, organogenez, anjiyogenez, tümör invazyonu ve metastazı gibi çeşitli biyolojik süreçleri etkiler (102-106).

2.2.4 Galektin-3'ün Hücresel Fonksiyonları ve Kanser Gelişimi

Adenomdan karsinoma kadar olan kanser gelişiminde Galektin-3'ün hücresel lokalizasyonunda çekirdekten sitoplazmaya doğru genel bir kayma olduğu görülmüştür (107, 108). Galektin-3 çeşitli tümörlerde eksprese edilir ve ekspresyonun yoğunluğu tümör progresyonuna, invazivliğine ve metastatik potansiyeline bağlıdır (109, 110). Galektin-3'ün pankreas karsinomu, hepatoselüler karsinom, kolorektal kanser, renal hücreli karsinom, mide kanseri, özofagus skuamöz hücreli karsinomu, nazofaringeal karsinom, akciğer kanseri, melanom, glioblastomalar ve lenfoma ile ilişkili olduğu görülmektedir. Ayrıca Galektin-3 meme kanseri, melanom dışı cilt kanseri, prostat kanseri, endometriyal kanser ve lösemide tümör baskılayıcı olarak da görev yapar (5). Galektin-3'ün ifadesi, hem transkripsiyonel hem de translasyonel düzeyde çeşitli uyaranlardan etkilenmektedir (111, 112).

Hipoksik tümör mikroçevresi agresif büyüyen tümörlerin bir özelliğidir. Hipoksik koşullar altında, tümör hücrelerinde anahtar transkripsiyon faktörleri olan HIF-1α ve NF-κB tarafından Galektin-3 ekspresyonu yukarı düzenlenir. Galektin-3'ün hipoksi altında, KHDAK hücrelerinde hücre göçünü ve invazyonunu teşvik etmede

önemli bir rol oynadığı gösterilmiştir. Galektin-3 tümörlerden salgılanarak reseptör tirozin kinaz ve integrinler gibi tümör hücrelerinin yüzey reseptörlerine bağlanır. Bu, reseptörlerin endositozunu önleyerek sinyal aktivasyonuna ve tümör ilerlemesine yol açar (113). Sigara dumanına maruz kalma ve hipoksi, akciğer kanseri hücrelerinde Galektin-3 ekspresyonunu artırır (113, 114). Galektin-3, TLR4/NF-κB'yi aktive ederek, N-kaderin ve CD44'ü yukarı regüle ederek ve RhoA fonksiyonunu artırarak akciğer kanseri hücre proliferasyonunu, adezyonunu, migrasyonunu ve invazyonunu teşvik eder (113, 115, 116).

2.2.4.1 Apoptoz

Apoptotik uyaranlarla sitoplazmik Galektin-3, kalsiyum bağımlı ve fosfolipid bağlayıcı bir protein olan sineksin ile etkileşime girer. Bu durum Galektin-3'ün mitokondriye translokasyonuna yardımcı olur (101). Burada Bcl-2 ile etkileşime girerek mitokondriyal membran potansiyelinin değişmesini ve sitokrom c salınımını engeller (101, 117). Bunun yanı sıra prostat kanseri hücrelerinde sitoplazmik Galektin-3 tümör progresyonunu artırırken nükleer Galektin-3'ün pro-apoptotik etki gösterdiği görülmüştür. Bu durumlar, Galektin-3'ün hücresel yerleşimine göre zıt biyolojik aktiviteler gösterdiğini ortaya koymaktadır (118). Nucling, proapoptotik stresi takiben sitokrom c/Apaf-1/kaspaz-9 apoptozom indüksiyonunda rol oynayan apoptozisle ilişkili yeni bir moleküldür. Nucling'in NF-κB/p65'in nükleer translokasyon süreci yoluyla NF-κB aktivasyonuna müdahale ettiği ve böylece Galektin-3 ekspresyonunu inhibe ettiği gösterilmiştir. Nucling'in Galektin-3 ile etkileşime girerek ve ekspresyonunu inhibe ederek apoptoza aracılık ettiği öne sürülmüştür (119).

2.2.4.2 Anjiogenez

Anjiyogenez neoplastik hastalığın gelişiminde hem tümör büyümesi hem de metastaz açısından kritiktir. Çünkü bir tümör kitlesinin hızlı genişlemesi kalıcı yeni kan damarlarının oluşumunu gerektirir. Bir tümörün prevasküler fazdan vasküler faza ilerlemesi, hem tümör hücrelerinin hem de inflamatuar hücrelerin tümör mikroçevresinde anjiyogenik faktörler salgılama yeteneğininin aktivasyonunu gerektirir (120). Ekzojen Galektin-3'ün hücre kültüründe in vitro endotelyal hücre hareketliliğini artırdığı ve farelerde in vivo yeni kılcal damar oluşumunu teşvik ettiği gösterilmiştir (121). Hücre yüzeyindeki integrinler veya glikanlarla etkileşimi

aracılığıyla Galektin-3'ün anjiyogenezi teşvik edici etkisi görülür (122). Yine Galektin-3'ün CRD'si ile bir olan integrin αvβ3'ün N-glikanlarına bağlanarak VEGF ve temel fibroblast büyüme faktörü aracılı anjiyogenezin modülasyonuna yol açtığı görülmüştür (123).

2.2.4.3 Bağışıklık Sisteminden Kaçış

Eksojen Galektin-3'ün aktive T hücrelerinde apoptoza neden olduğu (124) ve Galektin-3'ün doğal öldürücü hücre (Natural Killer, NK) aktivasyonunu bozarak, konakçı bağışıklık sisteminden kaçışta rol oynadığı ileri sürülmüştür (125). Galektin-3, PD-L1 ekspresyonunu artırarak ve PD-1/PD-L1 bağlanmasını güçlendirerek akciğer kanseri hücrelerinin bağışıklık sisteminden kaçmasına yardımcı olur (126, 127).

2.2.4.4 Hücre Adezyonu

Galektin-3'ün, laminin ve fibronektin gibi hücre dışı matriksin glikokonjugatlarının yanı sıra hensin, elastin, kolajen IV ve tenascin-C ve –R'ye hem hücre içi hem de hücre dışı olarak bağlandığı gösterilmiştir. Hücre yapışma moleküllerinin bir başka sınıfı olan integrinlerin, Galektin-3 (α1β1, α4β7, α6β1, αMβ1, vb.) için reseptör olduğu gösterilmiştir (120). Galektin-3'ün dimer veya multimer oluşumu, glikokonjugatlarla köprüleşme yoluyla metastaz sırasında tümör hücrelerinin dolaşımda toplanmasında rol oynar (128). Galektin-3, kan damarlarını istila eden tümör hücrelerinin hem homotipik toplanmasına hem de hücreleri kan akışında tutmak ve uzak organ bölgelerine ulaşmak için endotel hücrelerine heterotipik tümör hücresi yapışmasına yol açar (129, 130).

2.2.4.5 Metastaz

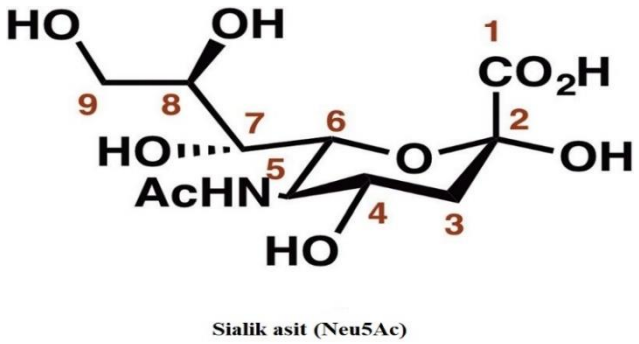
Tümör hücrelerinin kan veya lenfatik dolaşımda hayatta kalması ve sonra damar endoteline yapışması kanser metastazında önemli bir yer tutmaktadır. Dolaşıma geçen Galektin-3'ün bu süreçte önemli bir rolü olduğu gösterilmiştir (131). Sağlıklı kişilere kıyasla, çeşitli kanser türlerinde hastalar özellikle de metastazı olanlarda kan dolaşımındaki Galektin-3 seviyesi önemli ölçüde daha yüksek bulunmuştur (132). Kanser hastalarında Galektin-3'ün dolaşımda artması, damar endotelinden metastazda endotel hücre aktivitelerini artıran çeşitli metastaz destekleyici sitokinlerin salgılanmasına neden olur (133).

2.3 Sialik Asit

Tüm hücrelerin yüzeyinde glikan olarak bilinen karbonhidratlarla kaplı glikokaliks tabakası mevcuttur (134). Glikanlar; glikoproteinler, proteoglikanlar ve glikolipitler gibi çeşitli formlarda bulunurlar ve hücreler arası iletişimde kullanılan evrensel bir dilin temelini oluşturur (135).

Anormal glikozilasyon, kanser hücrelerinde yaygın bir özellik olup glikozilasyondaki küçük değişikliklerin bile tümör hücresi biyolojisi üzerinde önemli etkiler yaratabileceği bilinmektedir (136). Kanserle ilişkili glikozilasyon değişiklikleri arasında anormal sialilasyon, fukozilasyon, kesilmiş O-glikanlar, N- ve O-glikan dallanmasındaki değişiklikler bulunur (137). Anormal glikozilasyon tüm kanser özellikleriyle ilişkilidir ve glikanlar, malign transformasyondan metastaza kadar tümör progresyonunun her aşamasını etkileyebilir (138). Tümör glikozilasyonundaki önemli değişikliklerden biri, tümör sialoglikanları olarak bilinen kanserle ilişkili sialillenmiş glikanların artışıdır (139).

Sialik asit terimi ilk kez 1952 yılında beyin glikolipidlerinin veya tükürük müsinlerinin hafif asit ile hidrolizi neticesinde ortaya çıkan ana ürün olan N-asetilnöraminik asidi tanımlamak amacıyla kullanılmıştır (140, 141). Sialik asitler, nöraminik asitlerin yaklaşık elli türevini içeren dokuz karbonlu asidik şekerlerin bir alt grubudur. Memeli hücrelerinde bulunan en yaygın iki sialik asit formu N-asetilnöraminik asit (Neu5Ac) ve onun hidroksillenmiş türevi olan N-glikolnöraminik asittir (Neu5Gc) (142). Neu5Ac beşinci karbon atomu (C5) üzerinde bir asetil grubuna sahipken, Neu5Gc bunun yerine bir glikolil grubuna sahiptir (143). İnsanlarda CMP-Neu5Ac'yi CMP-Neu5Gc'ye dönüştüren enzimi kodlayan sitidin monofosfat N-asetilnöraminik asit hidroksilaz (CMAH) geninin mutasyonundan dolayı Neu5Gc eksikliği vardır (144, 145). Ancak, Neu5Gc diyet yoluyla dışarıdan alınabildiği için insan glikomunda hala bulunmaktadır (146).

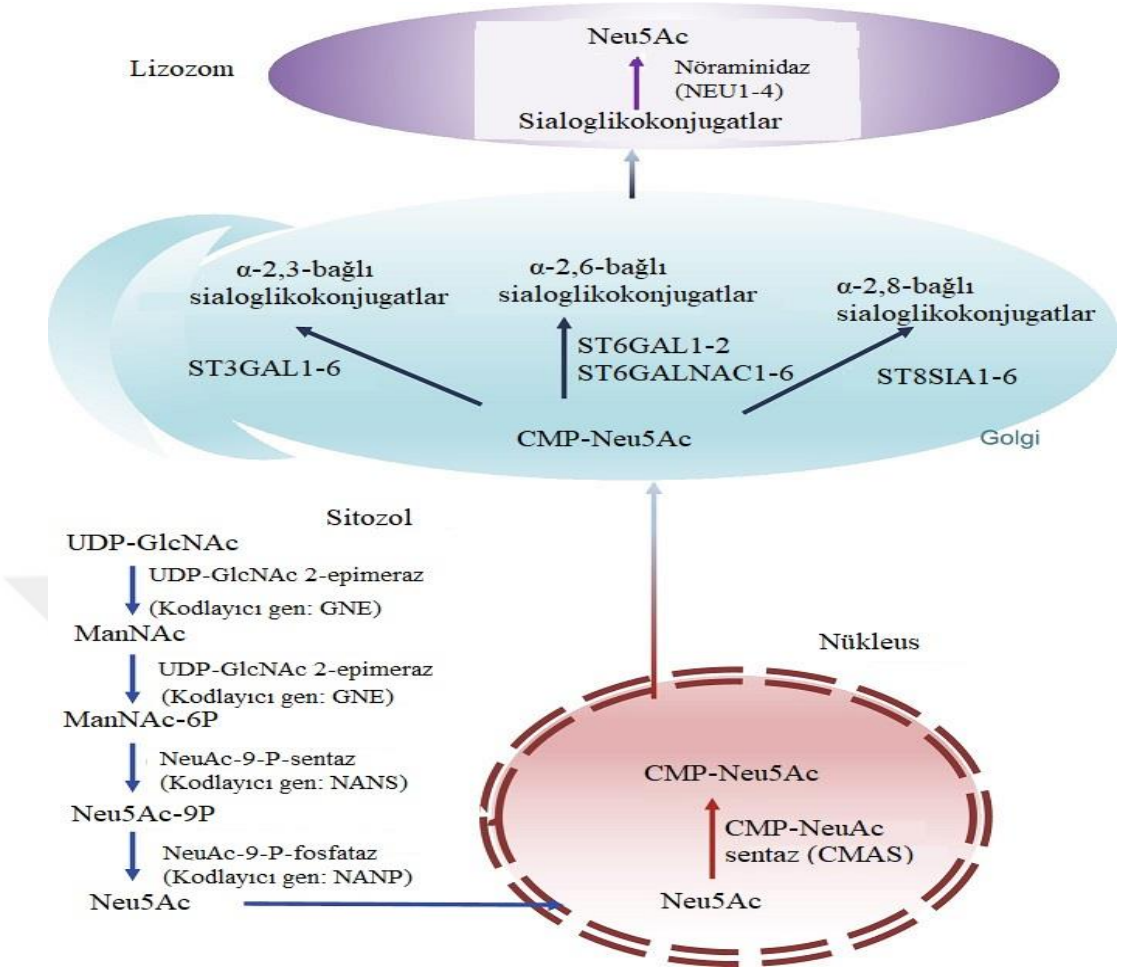


Şekil 10. Sialik asidin yapısı (147)

Sialik asitler genellikle farklı glikozidik bağlar (α-2,3, α-2,6 α-2,8 ve α-2,9) yoluyla hücre yüzeyindeki glikoproteinlerin veya glikolipidlerin üzerindeki glikanların terminal şekerleri olarak bulunur (143). Serumda totat sialik asidin (TSA) %98-99,5'i glikoproteinlere bağlıdır. Sadece çok az bir kısmı başta gangliozidler olmak üzere lipitlere (lipide bağlı sialik asit, LSA) bağlıdır. Sialik asidin serbest formunu tespit etmek ise zordur (148).

2.3.1 Sialik Asit Metabolizması

Kontrolsüz kanser hücrelerinin büyümesinin enerji gereksinimini sağlamak için, glikoz alım hızı ve metabolizması önemli ölçüde artırılır. Bu, glikoz taşıyıcı-1 (GLUT1), glikoz taşıyıcı 3 (GLUT3) ve glikoz taşıyıcı 4 (GLUT4) gibi belirli glikoz taşıyıcılarının aşırı ekspresyonuyla kolaylaştırılır (149). Glikozdan UDP-GlcNAc (Üridin difosfat N-asetilglikozamin)'nin sentezi heksozamin biyosentezi yoluyla gerçekleşir (150).



Şekil 11. Sialik asit metabolizması (151)

Sialik asitler, birçok enzimi içeren ve sitozolde meydana gelen çok adımlı bir süreçle GlcNAc'den sentezlenir (152). Heksozamin yolunun ürünü olan nükleotid şeker UDP-GlcNAc, UDP-GlcNAc 2-epimeraz (kodlayan gen insanda GNE'dir) tarafından ManNAc'a dönüştürülür. ManNAc, sialik asit sentezi için metabolik öncüldür ve sitozolde Neu5Ac üretir, bu da daha sonra CMP-Neu5Ac üretmek için çekirdeğe girer. CMP-Neu5Ac golgiye taşınır ve burada ST3GAL1-6, ST6GAL1-2/ST6GALNAC1-6, ST8SIA1-6 tarafından sırasıyla α-2,3 α-2,6 ve α-2,8-bağlı sialoglikoproteinler veya gangliosidler üretmek için kullanılır. Son olarak, sialosidler nöraminidazlar (sialidazlar) tarafından geri dönüştürülür (151). Memelilerde dört tür sialidaz enzimi (NEU1-4) bulunmaktadır (153). Lizozomal sialidaz olan NEU1, sialoglikokonjugatların yıkımını başlatır (154); sitozolik sialidaz NEU2, gangliosidlerle yüksek aktivite gösterir (155); plazma membranına bağlı sialidaz NEU3 ise gangliosidler için spesifiktir (156). Protein-protein etkileşimleri yoluyla dış

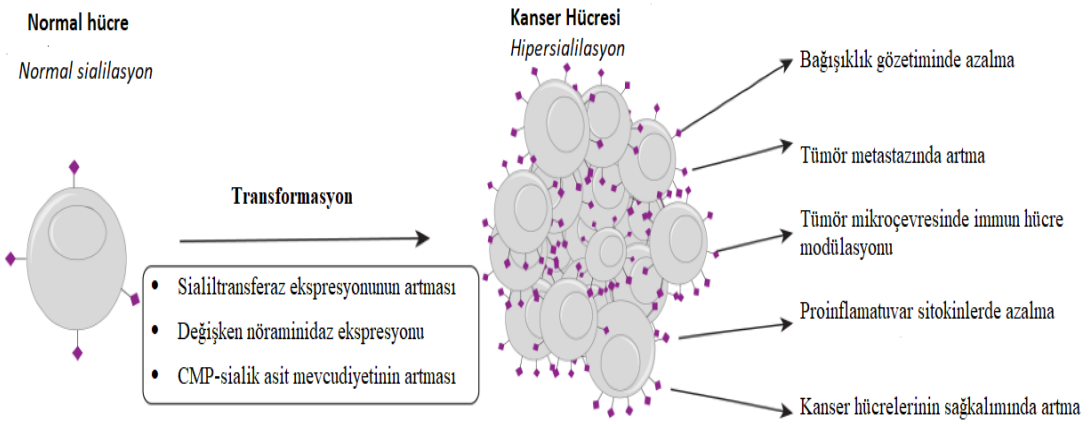
mitokondriyal membranlara bağlanan veya lizozomal lümende meydana gelen sialidaz NEU4, glikoproteinlerden gangliosidlere ve oligosakkaritlere kadar geniş bir substrat spesifikliğine sahiptir (157). Serbest kalan sialik asitler sitozole geri pompalanır, burada başka bir sialil glikokonjugat üretim döngüsüne girebilir veya N-asetilnöraminat liyaz tarafından ManNAc ve piruvata parçalanabilir (158).

2.3.2 Sialik Asit'in Hücresel Fonksiyonları ve Kanser Gelişimi

Konumlarının ve negatif karboksil grubunun sonucu olarak sialik asitler, hücresel tanıma ve yapışma süreçlerine aracılık etmede önemli roller oynar (159). Polisialik asit ise α-2,8 bağları ile siyalik asitlerin doğrusal bir homopolimeridir ve genellikle nöral hücre yapışma molekülü (NCAM) gibi glikoproteinlere bağlanır (160). Sialik asitler karbonhidrat-protein etkileşimleri aracılığıyla hücreler arası etkileşim, bakteriyel ve viral enfeksiyonlar, tümör oluşumu ve metastazı gibi birçok fizyolojik ve patolojik süreçte önemli rol oynar (143).

Sialik asit ünitelerinin glikoproteinlere ve oligosakkarit terminallerine dahil edilmesi sialilasyon olarak adlandırılır (161). Hasta doku örneklerinden, hayvan kanser modellerinden ve hücre kültürü çalışmalarından elde edilen deneysel sonuçlar, hücre sialilasyonunun değişmesinin metastatik hücre fenotipine önemli bir katkıda bulunduğunu göstermektedir (162, 163).

Hücre yüzeyinde yoğun sialoglikan süslemeleri, tümör hücrelerini kanserin ayırt edici bir özelliği olan hipersialize hale getirir. Kanser hücrelerinde sialoglikan konsantrasyonu normal hücrelere kıyasla daha yüksektir bu da onları apoptozdan korur ve metastazı destekler. Kanserde sialilasyonun artmasına yol açan çeşitli mekanizmalar şunlardır: 1. Sialiltransferaz (ST) enziminin aşırı ekspresyonu, 2. Değişken nöraminidaz seviyeleri, 3. Sialiltransferaz için substrat mevcudiyeti ve 4. Sia taşıyıcılarının artmış ifadesi (8, 164). Kanser hücreleri üzerindeki sialik asit gibi çeşitli tümör belirteçleri olarak kullanılabilen yüzey bileşenleri vücut sıvılarına dökülür (138).



Şekil 12. Kanserde hipersialilasyon nedenleri ve etkileri (165)

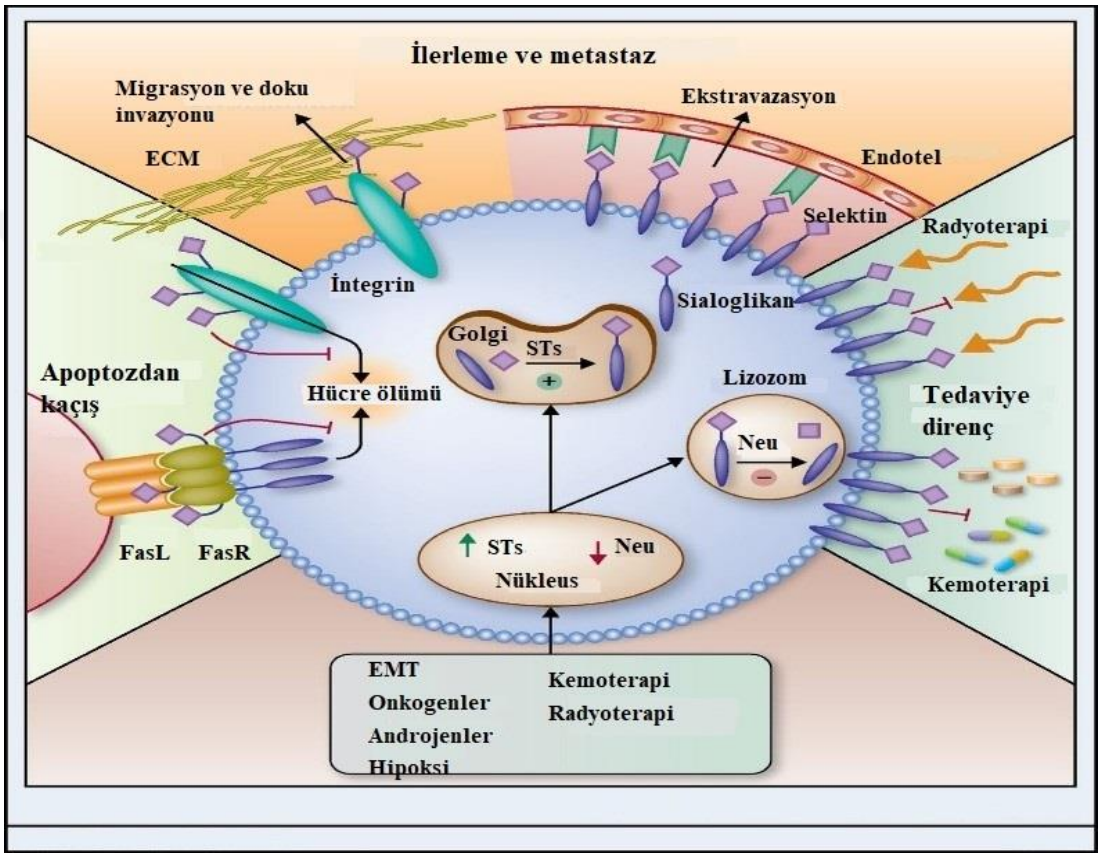
2.3.2.1 Apoptoz

Artmış sialilasyon düzeyi, tümör hücrelerinin apoptoza karşı direncini artırır ve çoğalmayı teşvik eder. Tümör hücrelerinde hipoksik ortam genellikle ST6GAL1'i yukarı düzenler. Böylece Fas reseptörünün (FasR) ve tümör nekroz faktörü reseptörü 1'in α-2,6 sialilasyonu artar, bu da kanser apoptozunu baskılar ve ikincil tümör bölgelerinin oluşumunu kolaylaştırır. EGFR sialilasyonu da artar böylece tümör hücre sağkalımı artar (166). İntegrinlerin sialilasyonu apoptotik sinyalleri bloke ederek tümör hücresi ölümünü önleyebilir (167).

2.3.2.2 Anjiyogenez

Tümör hücrelerinin hızla büyüdüğü mikro çevrede, oksijen ve besin gereksinimlerini karşılamak için yeni kan damarlarına ihtiyaç vardır. Anjiyogenez, enflamatuar hücreler veya tümör hücreleri tarafından salınan anjiyogenik büyüme faktörleri tarafından uyarılır. Bunlar arasında en önemlisi VEGF ailesidir (143). VEGF, polisialik asit ile etkileşime girerek anjiyogenezi etkiler (168). Tümör hücreleri, siyalik asitlerin tümör anjiyogenezinde önemli bir rol oynadığı hipoksik bir ortamda büyür. Sialilasyon durumu, anjiyogenezde büyüme faktörü-reseptör etkileşimlerini ve ilgili sinyal iletimini etkileyebilir (143). Bir tür sialil-glikosfingolipid olan gangliosidler, endotelyal hücrelerin membranına dahil edilebilir ve anjiyogenik büyüme faktörlere karşı hücre duyarlılığını artırabilir (169). Öte yandan, tümör hücreleri ST6GAL1'i eksozomlar yoluyla ileterek çevredeki hücrelerin sialik asit ekspresyonunu da düzenleyebilir (170). VEGFR2 gibi kan damarlarının reseptörleri üzerinde terminal α-2,6 sialilasyona sahip N-glikanlar, VEGF etkileşimi

ve endotel hücrelerinin proanjiyogenik aktivasyonu için gereklidir (171). α-2,6 sialilasyon; trombosit endotel hücre adezyon molekülünün (PECAM) homofilik etkileşimine aracılık eder. Sialillenmiş PECAM, diğer iki sialillenmiş reseptör olan VEGFR2 ve integrin β3 ile etkileşime girerken, ST6GAL1-/- farelerinde sialilasyonun inhibisyonu endotel yüzeyinde PECAM-VEGFR2 etkileşimini önleyerek endotel hücre apoptozunu indükler ve anjiyogenezi inhibe eder (172).



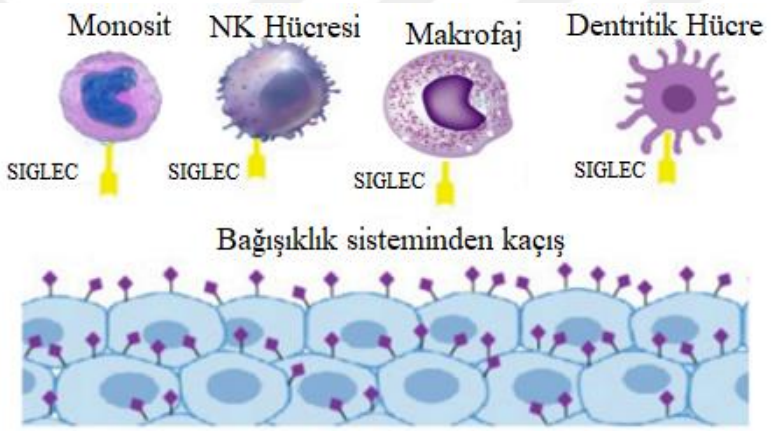
Şekil 13. Anormal sialilasyonun tümör büyümesini ve ilerlemesi üzerine etkileri (8)

2.3.2.3 Bağışıklık Sisteminden Kaçış

Malign tümörlerin yüzeyindeki siyaloglikanların yukarı düzenlenmesi (up-regulasyonu), tümörle ilişkili antijenlerin gizlenmesini sağlayan bir "antijenik maskeleme" etkisi yaratır (173). Tümör hücre yüzeyindeki yoğun siyaloglikan tabakası, sterik ve elektrostatik bariyerler oluşturarak, bağışıklık hücresi tanınmasından kaçınmak için altta yatan glikanları ve protein epitoplarını etkili bir şekilde maskeler (174). Tümör ilerlemesi sırasında, sialik asit bağlayıcı antijenler, makrofaj fonksiyonuna müdahale eden "beni yeme" sinyalleri olarak hareket edebilir

ve bu sinyaller ayrıca NK hücrelerine ve T hücrelerine iletilerek bunların aktivitesini inhibe edebilir (173).

Tümör hücrelerinin zarlarında bulunan atipik glikozilasyon, bağışıklık hücreleriyle yeni hücre-hücre iletişimine yol açabilir ve bu da bağışıklık tepkisinin baskılanmasına neden olur (175). Glikoproteinlerin ve glikolipidlerin üzerindeki sialile glikanlar, birçok bağışıklık hücresinin zarında bulunan bir lektin ailesi olan Siglecs kilidine uymanın anahtarıdır (176). Tümör mikroçevresinde, kanser hücresi sialik asidi ile Siglecs arasındaki bu etkileşim, bağışıklık hücrelerinden kaçmasına izin veren hücre içi bağışıklık hücre tepkisine aracılık edebilir (177).



Şekil 141. Sialik asit ile hücre-bağışıklık hücresi etkileşimleri (178)

2.3.2.4 Metastaz

Metastaz dört adımda geçekleşir: birincil bölgeden kaçma, kan dolaşımında hayatta kalma, lenfatik taşınım ve yeni distal bölgelere tutunma (179). Sialilasyon bu süreçlerin her birinde hayati bir rol oynar. EGFR'nin α-2,6 sialilasyonu kanser hücrelerinin epitelyal mezenkimal geçişini (EMT) düzenlediği (180), membran tutulumunu etkilediği, integrin gerginliğini düzenlediği, fokal yapışmayı ve hücre hareketliliğini etkilediği gösterilmiştir (181, 182). β1 integrinin α-2,6 sialilasyonunun artması, kollajen I'e bağlanmasını artırarak tümör göçünü ve invazyonu teşvik eder (183). α-2,3 sialile edilmiş CD44, hiyaluronik aside yapışmayı teşvik eder, böylece kanser hücresi hareketliliğini ve metastazı daha da hızlandırır (184). Hipoksik koşullar altında, polisialik asitler tümör hücresi göçünü sürdürür (185).

Ancak, sialilasyonun kanser metastazındaki rolü çeşitli maligniteler arasında karmaşık ve farklı olabilir. Östrojen reseptörü pozitif meme kanserlerinde, yüksek ST6GalNAc2 seviyeleri O-glikanların sialilasyonunu artırarak Galektin-3'ün bağlanmasını ve dolayısıyla tümör metastazını azaltır. Buna karşılık, düşük ST6GalNAc2'e sahip östrojen reseptörü negatif meme kanserleri daha yüksek endotel hücre yapışması ve metastazı sergiler (186).

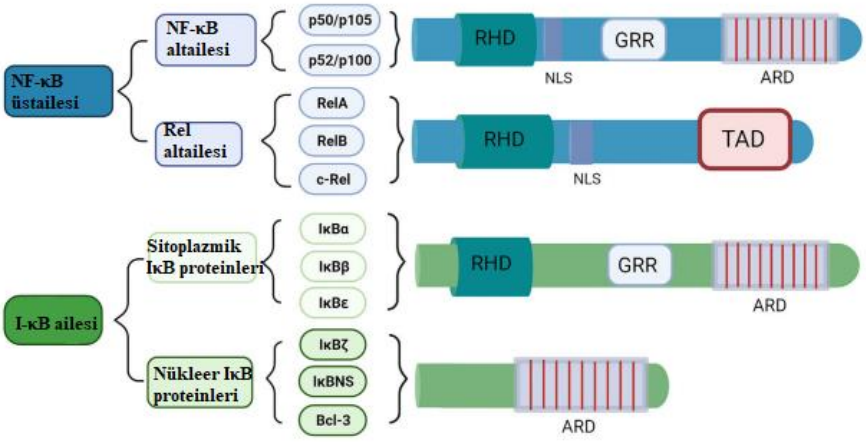
2.4 NF-κB (Nükleer faktör-kappa B)

NF-κB, 1986 yılında immünoglobulin κ hafif zincir geninin bir enhancer (güçlendirici) bölgesine bağlanan ve başlangıçta yalnızca B hücrelerinde ifade edildiği düşünülen bir nükleer faktör olarak tanımlanmıştır (187). NF-κB ortak bir dizi motifini tanıyan DNA bağlayıcı proteinlerin Rel ailesinin üyelerinden oluşan indüklenebilir dimerik transkripsiyon faktörlerinin ortak adıdır (188). Beş gen, NF-κB transkripsiyon faktörleri ailesini kodlar: NF-κB1, NF-κB2, RELA, RELB ve REL. Bu genlerin protein ürünleri sırasıyla p50, p52, p65 (RelA), RelB ve c-Rel olarak bilinir (189). Bu polipeptiler homodimer veya heterodimer oluşturarak NF-κB proteinleri olarak aktivitelerini gösterir (188). Tanımlanan en yaygın NF-κB molekülü, p50 ve p65 alt birimlerinin bir heterodimeridir (190). Diğer aile üyelerinden farklı olarak, NF-κB1 ve NF-κB2 gen ürünleri pro-formlar (p105 ve p100) olarak sentezlenir ve bu formlar, proteolitik işlemle sırasıyla p50 ve p52'ye dönüştürülür (191).

NF-κB ailesinin üyeleri, nükleer lokalizasyon sekansı içeren ve sekansa özgü DNA'ya bağlanma, dimerizasyon ve inhibitör IκB proteinleri ile etkileşimde rol oynayan bir Rel homoloji alanına (RHD) sahip olmalarıyla karakterize edilir (190). C-terminal transaktivasyon alanına (TAD) sahip olan p65, RelB ve c-Rel, p50 veya p52 ile ilişkili olduklarında transaktivatör olarak işlev görürler. Buna karşın, p50 ve p52 TAD'lerden yoksundur ve bu nedenle homodimerleri, NF-κB aktivasyonu için bir eşik oluşturan transkripsiyon baskılayıcıları olarak görev yapar (192).

Normalde hücrelerde, NF-κB proteinleri ve inhibitör IκB kompleks olarak sitoplazmada inaktif halde tutulur. I-κB'nin, IKK (IκB kinaz) aracılığı ile bozunması sonucu NF-κB çekirdeğe geçer. Böylelikle hedef genlerin transkripsiyonunu sağlar ve biyolojik etkilerine aracılık eder (193). I-κB ailesi I-κB α, I-κB β, I-κB ε ve Bcl-

3’ten oluşmaktadır (193). I-κB α, I-κB β ve I-κB ε, NF-κB dimerleri ile etkileşime girerek bu komplekslerin sitoplazmada tutulmasından sorumludur. Bcl-3 ise ailenin diğer üyelerinden farklı olarak bir transaktivasyon bölgesi içerir ve transkripsiyonel bir koaktivatör olarak p50 veya p52 homodimerleri ile etkileşimde bulunabilir. I-κB α, I-κB β ve I-κB ε, I-κB kinazlar (IKK) tarafından fosforilasyona uğrayan iki serin kalıntısı içerir. Fosforilasyon sonrası I-κB proteinleri, proteazom aracılığıyla degradasyona uğrar (194). IKK, katalitik IKKα (IKK1) ve IKKβ (IKK2) alt birimleri ile IKKγ veya NEMO (NF- κB essential modifier, NF- κB temel düzenleyicisi) olarak adlandırılan düzenleyici aβ birim tarafından oluşturulan bir komplekstir (195).



Şekil 15. NF-κB ve I-κB ailesi yapıları (196)

NF-κB tüm hücre tiplerinde bulunur ve enfeksiyona, inflamasyona ve diğer stres altındaki durumlara cevaben çok sayıda genin aktivasyonunu sağlar (188). NF-κB transkripsiyon faktörleri; inflamasyon, bağışıklık yanıtları, hücre büyümesi ve sağkalımı, ayrıca belirli viral genlerin ekspresyonu gibi çeşitli önemli fizyolojik süreçlerin düzenlenmesinde rol oynar. Ayrıca NF-κB aktivitesi birçok kanser ve kronik inflamatuar hastalık gibi çeşitli hastalıkların patogenezinde artış gösterir ve bu hastalıkların gelişimine katkıda bulunur (9). Bir pleotropik transkripsiyon faktörü olan NF-κB apoptozun baskılanması, hücre proliferasyonu, metastaz ve anjiyogenez süreçlerinde görevli genleri düzenleyerek onkogenezi etkiler (10).

2.4.1 NF-κB Aktivasyon Yolakları

Çok işlevli bir transkripsiyon faktörü olan NF-κB; sitokinler, büyüme faktörleri, karsinojenler, tümör destekleyicileri gibi çeşitli hücre dışı uyaranlar ve genotoksik, endoplazmik retikulum stresi gibi hücre içi uyaranlar tarafından aktive edilir. NF-κB aktivasyonuna sebep olan kanonik (klasik), non-kanonik (alternatif) ve atipik yol olmak üzere üç farklı yol Şekil 16'da gösterilmiştir. Bu yolaklar biyolojik işlevler için belirli hedef gen kümelerinin ekspresyonuna aracılık eder (192) .

2.4.1.1 Kanonik Yolak

Kanonik yolak genellikle mikrobiyal enfeksiyonlar, proinflamatuar büyüme faktörleri ve TNF-α dahil sitokinler tarafından aktive edilir. Bu yol, NF-κB'nin hızlı ve geçici aktivasyonuyla sonuçlanır (197). TNF-α'nın katılımı, TNF-α reseptörü 1 (TNFR1)'in trimerizasyonunu tetikler ve bunun sonucunda birden fazla adaptör protein ve kinazın işe alınması sağlanır. Bu süreç, IκB kinaz (IKK) kompleksinin fosforilasyonu ve aktivasyonuyla sonuçlanır. Aktive edilmiş IKK, TNFR1 sinyal kompleksinden NF-κB/IκB kompleksine taşınır. Burada IKK, IκB'deki serin kalıntılarını fosforile eder. Bu fosforilasyon, IκB'nin poliübikitinlenmesine ve ardından proteazomda hızlı bir şekilde parçalanmasına neden olur. IκB'den serbest kalan NF-κB p65 ve p50 alt birimlerindeki nükleer lokalizasyon sinyalinin (NLS) açığa çıkmasına yol açar ve bu da NF-κB'nin nükleusa translokasyonunu sağlar (198). Bu yolak doğuştan gelen bağışıklık ve inflamasyonu düzenleyen genlerin aktivasyonunu uyarma yeteneğine sahiptir (199).

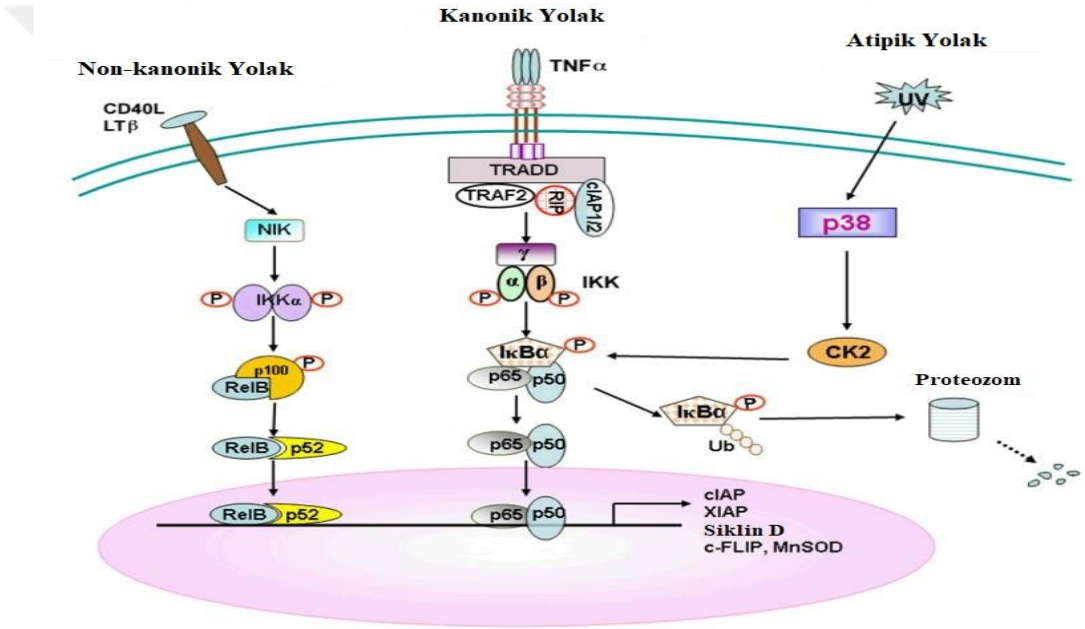
2.4.1.2 Non-kanonik Yolak

Kanonik olmayan yol, TNF reseptör ailesinin CD40, lenfotoksin beta (LTβ) ve B-hücresi aktive edici faktör (BAF) gibi ölüm reseptörü olmayan üyelerini içerir. Bu reseptörler, kendi ligandları tarafından aktive edildiğinde, NF-κB indükleyici kinaz (NIK) stabilize olur ve oto-fosforilasyon yoluyla, muhtemelen IKKα'nın fosforilasyonunu tetikleyerek aktive olur. Bu yolak, iki IKKα alt birimi içeren ancak NEMO içermeyen bir IKK kompleksi kullanır. Ardından, IKKα, p100'de konformasyonel bir değişikliği tetikler ve bu süreç p52'yi oluşturmak üzere p100'ün parçalanmasına yol açar. Ortaya çıkan p52 ve RelB içeren işlevsel NF-κB

heterodimeri, gen ekspresyonunu başlatmak için çekirdeğe transloke edilir (195). İkincil lenfoid organların oluşumunda ve B hücrelerinin olgunlaşmasında, hayatta kalmasında rol oynayan genlerin aktivasyonunu tetikler (199). Daha yavaş ve sürekli aktivasyon ile karakterize edilir (199).

2.4.1.3 Atipik Yolak

Atipik yolak, farklı mekanizmalar aracılığıyla NF-κB aktivasyonuna yol açar. Örneğin, kısa dalga boylu ultraviyole ışığı ile indüklenen NF-κB aktivasyonu, IKK yerine kazein kinaz 2 (CK2) gerektirir. Bu yolda, IκB'nin degradasyonu proteazom yerine kalpain bağımlı bir mekanizma aracılığıyla gerçekleşir (200).



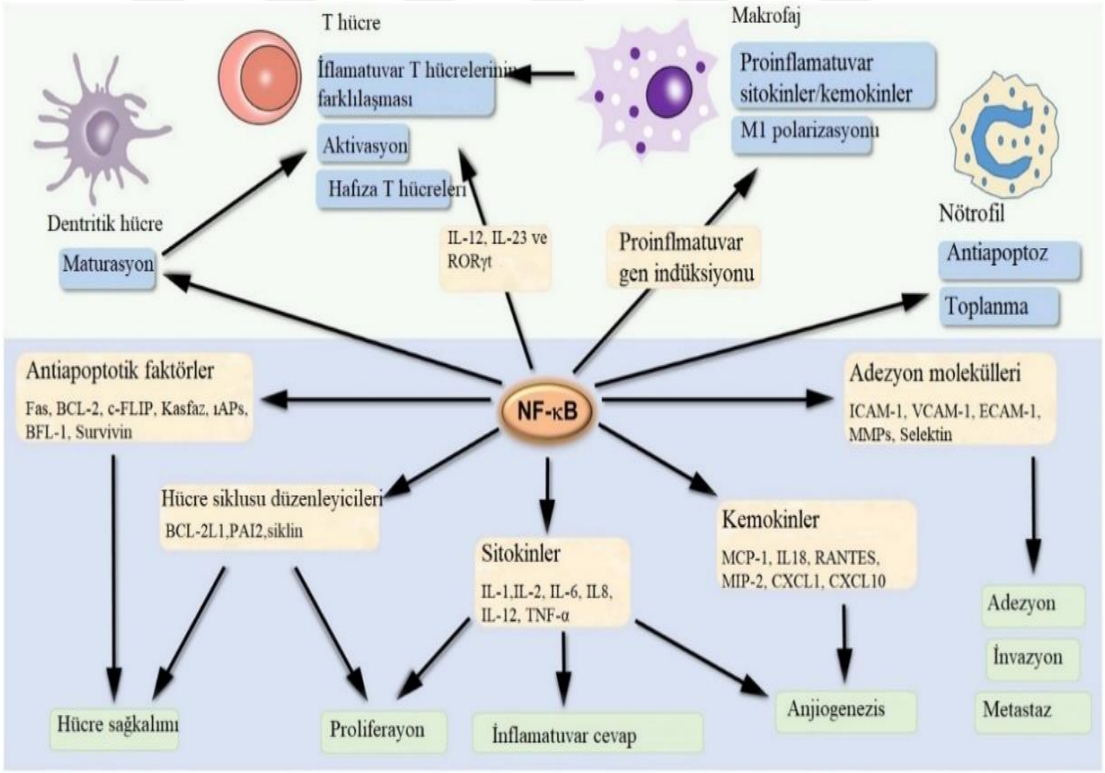
Şekil 16. NF-κB aktivasyonu için yolaklar (192)

2.4.2 NF-κB'nin Hücresel Fonksiyonları ve Kanser Gelişimi

Kanser proinflamatuvar bir hastalıktır (201). Araştırmalarda NF-κB aktivasyonunun kronik inflamatuvar zeminde kanser gelişiminde rol aldığı da gösterilmiştir (202). Birçok inflamatuar ajanların etkilerinin NF-κB aktivasyonu aracılığıyla gerçekleştiği, buna karşılık anti-inflamatuar ajanların ise NF-κB aktivasyonunu baskıladığı gösterilmiştir. Benzer bir biçimde, pek çok karsinojen ve tümör destekleyici etken NF-κB'yi aktive ederken, kemoprotektif ajanların bu

aktivasyonu baskıladığı ve böylece kanserle olan önemli bağlantıyı ortaya koyduğu gözlemlenmiştir (11, 203).

Kanser; transformasyon, başlatma, ilerleme, anjiyogenez, invazyon ve metastaz süreçlerini içeren hiperproliferatif bir hastalıktır. Klinik görünümü, agresifliği ve mevcut tedavi stratejilerinin çeşitliliği, kansere yol açan moleküler yolların çok sayıda potansiyel hedef içerdiğine işaret etmektedir. NF-κB aktivasyonu, bu yolların birden fazla aşamasında rol oynamakta olup, baskılanması kanser gelişiminin durdurulmasına katkıda bulunabilir. NF-κB; tümör teşviki, anjiyogenez ve metastazda etkili genlerin ekspresyonunu düzenler. NF-κB'nin hipoksi ve asidik pH gibi tümör mikroçevresine özgü koşullar tarafından aktive edildiği gösterilmiştir. NF-κB aktivasyonu apoptozu inhibe eder ve hücre proliferasyonuna yol açar (11). Bazı tümörlerde NF-κB'nin sürekli olarak yapısal nükleer aktivasyonu görülür. NF-κB aktivasyonunun, çeşitli kemoterapötik ajanlara (11) ve radyoterapiye (12) karşı direnç gelişimini indüklediği gözlemlenmiştir. Ayrıca NF-κB gen ürünlerinin anormal ekspresyonu onkojenik olabilir ve birçok tümör tipinde görülür (11).



Şekil 17. NF-κB'nin çeşitli biyolojik süreçler üzerindeki etkisi (197)

NF-κB hücre sağkalımı, hücre adezyonu, inflamasyon, farklılaşma, büyüme, DNA hasarına yanıt, apoptoz ve immün yanıt gibi çeşitli biyolojik süreçlerde rol oynayan 200'den fazla genin ekspresyonunu düzenleyen bir transkripsiyon faktörüdür (195, 204). Her yerde ifade edilen bir transkripsiyon faktörü olarak NF-κB'nin, hücre sağ kalımını, çoğalmasını, anjiyogenezisini ve metastazını destekleyerek tümör gelişiminde önemli bir rol oynadığı yaygın olarak kabul edilmektedir (205, 206). NF-κB'nin aktivasyonu, akciğer kanseri hücreleri de dahil olmak üzere, kanser hücrelerinde ilgili genlerin ekspresyonunu artırır (192). Bununla birlikte, belirli koşullar altında, NF-κB transkripsiyonel bir baskılayıcı olarak da işlev görebilir. Örneğin, DNA hasarına yanıt olarak NF-κB, gen transkripsiyonunu aktive etmek yerine baskılar; bu durum, p53 ve ARF gibi tümör baskılayıcılarla veya transkripsiyonel baskılayıcılarla olan etkileşimleri içerebilir (207, 208).

2.4.2.1 Tümör Hücre Büyümesi ve Proliferasyonu

NF-κB, hücre büyümesi ve proliferasyonunun önemli bir düzenleyicisidir. Bu transkripsiyon faktörü, hücre döngüsünün ilerlemesiyle ilişkili siklin D ve E gibi çeşitli faktörlerin ekspresyonunu artırır. NF-κB'nin siklin D1 ekspresyonunu artırması, G1 fazından S fazına geçişin hızlanmasıyla ilişkilendirilir (196). Ayrıca NF-κB hücreyi G2/M fazında tutan büyüme durması ve DNA hasarına bağlı protein 45'in (GADD45) ekspresyonunu negatif yönde düzenler (209). NF-κB ile TNF-α ve IL-1β gibi proinflamatuar sitokinler arasındaki karşılıklı etkileşim, özellikle kronik inflamasyon sırasında kanser hücresi çoğalmasının teşvik edilmesinde rol oynar (210). Tüm bunların yanı sıra, bazı hücre tiplerinde NF-κB'nin önemli bir proliferasyon sinyali olan c-Jun N-terminal kinaz (JNK) aktivitesini baskıladığı ve G1 tutuklama faktörü p21/WAF1'in ekspresyonunu tetiklediği göz önüne alındığında, NF-κB'nin potansiyel bir proliferasyon baskılayıcı işlevi olabileceği de öne sürülmektedir (198). Normal hücrelerde DNA hasarı, onkogen aktivasyonu veya onkogen virüsleri enfeksiyonu gibi onkogenik bir sinyal alındığında, p53 ve ARF gibi tümör baskılayıcılar aktive olur. Bu tümör baskılayıcılar, hücre içinde önceden var olan veya onkogenik uyaranlar tarafından aktive edilen NF-κB komplekslerinin aktivitesini düzenleyebilir. Sonuç olarak, NF-κB'nin tümör destekleyici özellikleri nötralize edilir ve tümör baskılayıcı olarak fonsiyon görür. Ancak potansiyel tümör hücresi ek mutasyonlar biriktirdikçe, NF-κB' nin tümör baskılayıcı aktivitesi kaybolur, onkojenik fonksiyonları artık serbest

kalır, kanser hücresinin büyümesine ve gelişmesine aktif olarak katkıda bulunabilir (211).

Solid tümörlerin mikroçevresindeki kan akışındaki dalgalanmanın stresi ve bunun sonucunda oluşan aralıklı hipoksinin NF-κB'yi aktive ettiği gösterilmiştir (212). Bir tümörün büyümesi için oksijene ihtiyaç duyulduğundan, tümör neovaskülarizasyonu indüklemek için büyüme faktörleri ve sitokinler gibi kemotaktik sinyaller salgılamalıdır (11). Tümörlerde hipoksik bir ortamın varlığı ve hipoksiye bağlı transkripsiyon faktörü-1α (HIF-1α)'nın tümör hücrelerinde yüksek seviyelerde ifade edilmesi nedeniyle, NF-κB aracılığıyla HIF-1α'nın hem tümörlerde hem de hipoksik yanıt sırasında miyeloid hücrelerdeki ekspresyonu, tümör büyümesine önemli ölçüde katkıda bulunabilir (213).

2.4.2.2 Apoptoz

Apoptoza direnç, tümör hücreleri tarafından edinilen temel özelliklerden biridir (13) ve çok sayıda çalışma, birçok tümör türünde NF-κB aktivitesinin hücre ölümüne karşı direnç sağlayabileceğini göstermiştir (214). NF-κB, genellikle hücre sağkalımını destekleyen bir faktör olarak kabul edilir (195). Bu durum cIAP-1, cIAP-2, TRAF1, TRAF2, Bcl-xL, XIAP, MnSOD ve IEX-1L gibi birçok NF-κB hedefinin anti-apoptotik özelliklere sahip olmasından kaynaklanmaktadır (198). Ancak, NF-κB ölüm reseptörü DR5, FAS ligandı, PUMA ve Bax gibi apoptoz mediatörlerinin ekspresyonunu aktive ederek pro-apoptotik bir rol de üstlenebilir (215-217).

2.4.2.3 Anjiogenez

Araştırmalar, NF-κB'nin IL-8 ve VEGF gibi sitokinlerin ve büyüme faktörlerinin üretimini düzenleyerek çeşitli inflamatuar ve immünolojik tepkileri kontrol etmede kritik bir rol oynadığını ortaya koymuştur. NF-κB'nin sürekli aktivasyonunun, kanser hücrelerinde IL-8 ve VEGF aktivitelerinin sürdürülmesini sağladığı da gösterilmiştir (218).

TNF-α, şu ana kadar karsinogenezde en iyi karakterize edilmiş inflamatuar mediatördür. TNF-α , hem inflamasyonun hem de anjiyogenezin düzenlenmesinde rol oynayan NF-κB'nin aktivasyonunu indükler (219). Tümör mikro ortamları IL-1, IL-6, IL-8, TNF-α, COX-2 ve VEGF gibi proanjiyogenik etkilere sahip bağışıklık hücresi

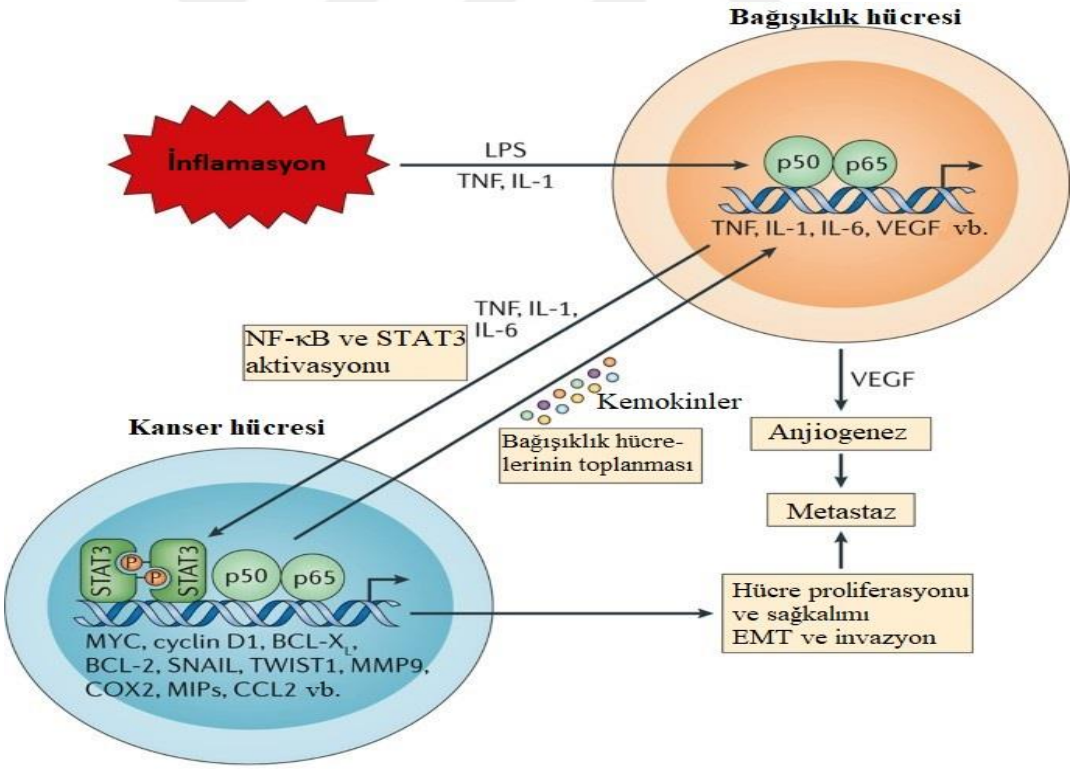
kaynaklı faktörler açısından zengindir (220). NF-κB, indüklenebilir nitrik oksit sentaz ile birlikte inflamasyon tarafından tetiklenen anjiyogenez sürecinde önemli bir rol oynayan proteazların ve nitrikoksit sentezini destekler (221).

2.4.2.4 Metastaz

NF-κB, VEGF ve TGF-β dahil sitokinler metastazla ilişkili genlerin ifadesini doğrudan aktive etme ve tümörlerin yayılmasını teşvik etme yeteneğine sahiptir (196).

EMT, tümör hücrelerinin invazyon ve metastaz süreçlerinde kritik bir rol oynar ve bu süreç, NF-κB tarafından desteklenir. NF-κB meme kanserinde Twist, hücreler arası adezyon molekülü-1 (ICAM-1), endotelyal lökosit adezyon molekülü 1 (ELAM-1), vasküler hücre adezyon molekülü 1 (VCAM-1), matris metalloproteinazlar ve serin proteaz ürokinaz tipi plazminojen aktivatörü (uPA) gibi EMT ile ilişkili genlerin ekspresyonunu artırır (198).

2.4.2.5 İnflamasyon ve Kanser



Şekil 18. Kansere gidişte bağışıklık hücresi ve kanser hücresinin NF-κB üzerinden birbiri ile etkileşimi (222)

Bağışıklık hücrelerindeki NF-κB, TNF, IL-1 ve çeşitli patojen ilişkili (PAMP) veya hasar ilişkili (DAMP) moleküler desenler tarafından aktive edilir. Bu da proinflamatuar sitokinlerin, kemokinlerin ve TNF, IL-1, IL-6 ve VEGF gibi büyüme faktörlerinin üretimine yol açar. Proinflamatuar sitokinler, kanser hücrelerinde ve tümör mikroçevresinde NF-κB ile sinyal transdüseri ve transkripsiyon aktivatörü 3'ü (STAT3) aktive ederek kanser hücresi çoğalmasının ve hayatta kalmasının, epitelyal mezenkimal geçişin, invazyonun, anjiyogenezin ve metastazın uyarılmasına neden olur. Kanser hücreleri kemokin üreterek tümör mikroçevresine daha fazla bağışıklık hücresi çekebilir, böylece lokal inflamatuar durumu artırabilir. Bu şekilde tümör oluşumunu ve metastazı artıran kronik bir ileri besleme döngüsü oluşturabilir (222).

Akciğer kanseri, tütün içimi ve asbest maruziyeti gibi çevresel faktörler tarafından başlatılır ve kronik inflamasyon ile NF-κB aktivasyonu ile ilişkilidir (223). İnterstisyel akciğer hastalığı ve kronik obstrüktif akciğer hastalığı tütün dumanı ile yakından ilişkilidir. Bu hastalıklara sahip kişilerde akciğer kanseri riski artmıştır (224). NF-κB, akciğer kanseri ve preneoplastik lezyonlarda yukarı regüle edilir. Aktivasyonu, küçük hücreli dışı akciğer kanseri hastalarında kötü prognoz ile ilişkilidir (225, 226). Tütün dumanı, miyeloid hücrelerde NF-κB aktivasyonuna bağlı olarak akciğer inflamasyonunu indükler. Bunun da KRAS kaynaklı akciğer tümörü gelişimine sebep olduğu gösterilmiştir (227).

3. GEREÇ VE YÖNTEMLER

3.1 Gereçler

3.1.1 Çalışma ve Kontrol Gruplarının Belirlenmesi

Hasta grubu için, 40-80 yaş aralığında olup skuamöz hücreli akciğer kanseri tanısı almış ve Atatürk Üniversitesi Sağlık Uygulama ve Araştırma Merkezi Radyasyon Onkolojisi Anabilimdalı'na radyoterapi almak üzere başvuran ve düzenli takipleri yapılan hastalardan randomize 40 kişi seçildi. Bir radyasyon onkolojisi uzmanı koordinatörlüğünde bu hastalardan ranyoterapi öncesi ve sonrası olmak üzere iki kez venöz kan örnekleri alındı ve demografik bilgileri kaydedildi. Çalışma grubundaki hastalara Lineer Akselerator özellikli Varian Trilogy 13.6 Version (Serial No:6196 USA) cihazı ile hafta içi her gün 2 Gray (Gy)/gün/fraksiyon olmak üzere toplamda 66 Gy radyoterapi uygulandı. Kemoterapi tedavisi olarak eş zamanlı haftalık 45 mg/m^2 paklitaksel, AUC=2'den karboplatin uygulandı.

Erzurum ilinde yaşayan sağlıklı gönüllüler kontrol grubu olarak araştırma hakkında bilgilendirilmelerinin ve "Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu" okutulup onaylarının alınmasının ardından çalışmaya dahil edildi. Herhangi bir kronik hastalığı olmayan 35 sağlıklı gönüllüden sekiz saatlik gece açlığı sonrasında venöz kan örnekleri alındı ve demografik bilgileri kaydedildi.

Hasta ve kontrol grubuna katılan gönüllülerin çalışmaya dâhil edilme kriterleri:

1. 40-80 yaş aralığında olmak ve skuamöz hücreli akciğer kanseri tanısı almış olmak (çalışma grubu için)
2. Radyoterapi almak (çalışma grubu için)
3. Skuamöz hücreli akciğer kanseri dışında başka bir kanser tanısı almamış olmak (çalışma grubu için)
4. Akut veya kronik herhangi bir hastalığının olmaması ve demografik bilgilerinin hasta grubu ile uyumlu olması (sağlıklı kontrol grubu için)

Hasta ve kontrol grubuna katılan gönüllülerin çalışmaya dahil edilmeme kriterleri:

1. 40-80 yaş aralığının dışında olmak
2. Gebe olmak

3. Kronik veya akut herhangi bir hastalığının olması (sağlıklı kontrol grubu için)

3.1.2 Numunelerin Toplanması ve Hazırlanması

Hasta grubundan radyoterapi öncesinde ve radyoterapi sonrasında (tedavisi tamamlandıktan sonra) olmak üzere iki defa, kontrol grubundan ise bir defa sekiz saat gece açlığı sonrası venöz kan örnekleri antekübital venden oturur pozisyonda iken alındı. Serum eldesi için pıhtı aktivatörü içeren jel seperatörlü tüpler kullanıldı. Jelli tüplerdeki numunelerin süpernatant kısımları 4000 rpm devirde 10 dakikalık santrifüj işlemi sonrasında ayrıldı. Elde edilen serumlar kilitli kapaklı mikro santrifüj tüplerine alınarak alikotlandı ve çalışma gününe kadar -80°C'de derin dondurucuda saklandı. Analizlerin yapılacağı günün bir önceki gününden itibaren dondurulmuş örnekler sırayla -20°C, +4°C ve oda sıcaklığına alınarak aşamalı olarak çözdürüldü, tekrarlanan dondurma ve çözme işleminden kaçınıldı. Galektin-3, Sialik asit ve NF-κB ölçümleri için ticari enzim-bağlı immunosorbent ölçüm (ELISA) kitleri satın alındı ve ticari kitlerde yer alan direktiflere göre serum numunelerinde ölçümler gerçekleştirildi.

3.1.3 Kullanılan Malzeme ve Cihazlar

Tez çalışmasında kullanılan kit, cihaz ve malzemeler, Tablo 3'te gösterilmiştir.

Tablo 3. Kullanılan Kit, Cihaz ve Malzemeler

KİT/CİHAZ/MALZEME	MARKA
İnsan Galektin-3 ELISA Kiti	YL biont, Çin
İnsan Sialik asit ELISA Kiti	Bioassay Technology Laboratory, Çin
İnsan NF-κB ELISA Kiti	YL biont, Çin
Mikroplate Okuyucu	BIO-TEK PowerWave XS, ABD
Vorteks	Velp Scientifica ZX3, İtalya
İnkübatör	Inovia Technology SC-200 1001, Türkiye
Santrifüj	Beckman Coulter, Allegra X-30R, ABD
Derin Dondurucu (-80°C)	Nüve DF 290, Türkiye
Buzdolabı (+4°C)	Arçelik 5231 NFY, Türkiye

Saf Su Cihazı	Mes mp MINIpure, Türkiye
Radyoterapi cihazı	Lineer Akselerator özellikli Varian Trilogy 13.6 Version (Serial No:6196 USA)
Ayarlanabilir Hacimli Otomatik Pipet (100 - 1000 µL)	Axygen, ABD
Ayarlanabilir Hacimli Otomatik Pipet (20-200 µL)	Axygen, ABD
Ayarlanabilir Hacimli 8 Kanallı Otomatik Pipet (10-100 µL)	Eppendorf Research Plus, Almanya
Tek Kullanımlık Pipet Ucu (10-100 µL)	ISOLAB, Almanya
Tek Kullanımlık Pipet Ucu (20-200 µL)	Microcult, Çin
Tek Kullanımlık Pipet Ucu (100-1000 µL)	ISOLAB, Almanya
Kilitli Kapaklı Mikro Santrifüj Tüpü (1,5 mL)	ISOLAB, Almanya

3.2 Yöntemler

3.2.1 Enzim İmmün Ölçümler

Enzim immün ölçüm (EIA), immünolojik reaksiyonların tespiti ve kullanımı amacıyla katalitik ölçümden yararlanılan bir immünokimyasal ölçüm yötemidir. EIA' nın en yaygın türlerinden biri, ELISA tekniğidir. Reaksiyon bileşenlerinden birinin katı faz yüzeye bağlanmasıdan dolayı bu yöntem heterojen özellik gösterir. Kimyasal, immunokimyasal veya nonspesifik adsorbsiyon şeklinde olabilen bu bağlanma ile serbest işaretli reaktifin bağlı olandan ayrılması kolaylaşır. ELISA yöntemi ile ölçümü yapılacak antijeni içeren kalibratör veya numune, katı fazdaki antikor ile bağlanabilmesi için bir süre inkübasyona tabi tutulur. İnkübasyon işleminden sonra yıkama işlemi yapılır ve ilk aşamada bağlanmış olan antikordan farklı bir antikor ortama eklenir. Böylece, katı faz antikoru-antijen-enzim bağlı antikor sandviç kompleksi oluşur. Bağlı halde olmayan antikorlar yıkama işlemi ile reaksiyon ortamından uzaklaştırılır ve enzimin substratı eklenir. Numunedeki veya kalibratördeki antijen miktarınca oluşan sandviç kompleksin içerdiği enzim, ortama eklenen substratı ürüne dönüştürür. Sonuç olarak reaksiyon ortamında elde edilen ürün miktarı, ölçülmek istenen antijen ile doğru orantılı olur (228).

Galektin-3 Ölçümü: Serum numunesinde Galektin-3 düzeyi ölçümü için ticari ELISA kiti (Katolog no: YLA0216HU, YL Biont, China) kullanıldı. Serum, plazma, hücre kültürü süpernatantı, doku homojenatı ve diğer biyolojik sıvılarda insan Galektin-3 ölçümü amacıyla üretilen kitin standart eğri aralığı 5-2000 pg/mL, duyarlılığı 2,49 pg/mL, çalışma içi kesinlik varyasyon katsayısı (CV) değeri <%8, çalışmalar arası kesinlik CV değeri <%10'dur (229).

Sandviç ELISA prensibine göre çalışan bu kitte insan Galektin-3 antikoru ile kaplanmış olan kuyucuklara ilk olarak numune eklenir, numune içerisindeki Galektin-3 katı fazı oluşturan kuyucuklardaki antikorlarına bağlanır. Ardından eklenen biyotinlenmiş insan Galektin-3 antikoru numunedeki Galektin-3 ile bağlanır. Daha sonra Streptavidin-HRP eklenir ve biyotinlenmiş Galektin-3 antikoruna bağlanır. 37°C'de 60 dakikalık inkübasyondan sonra yapılan yıkama işlemi sırasında antikora bağlanmamış serbest haldeki Streptavidin-HRP deney ortamından uzaklaştırılır. Substrat solüsyonu eklenir ve numunelerdeki Galektin-3 konsantrasyonu ile doğru orantılı olacak şekilde renk değişimi gerçekleşir. 37°C'de 10 dakikalık inkübasyon sonrasında asidik karakterli çözeltinin eklenmesi ile reaksiyon durdurulur ve 450 nm'de absorbans ölçümü gerçekleştirilir (229).

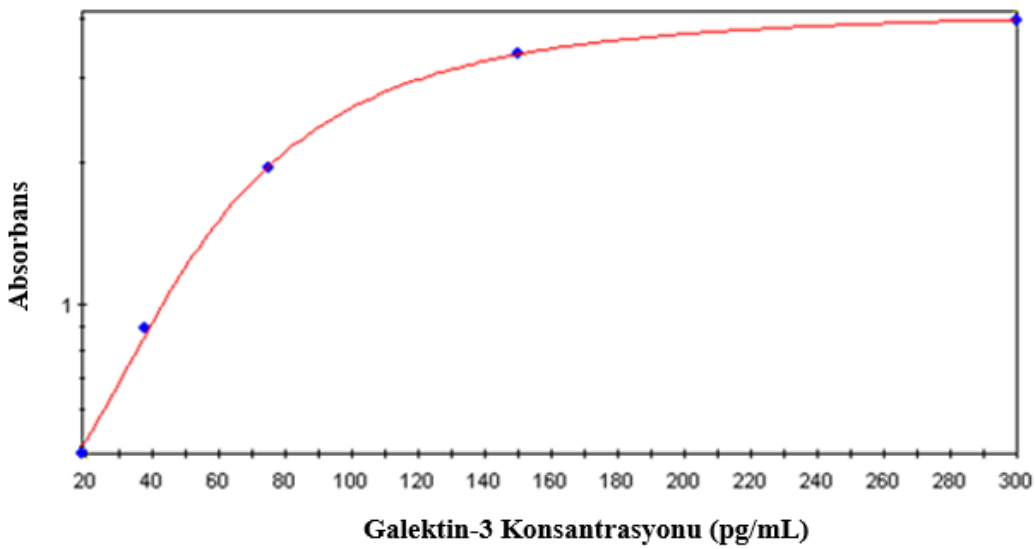
Kitin içerisindeki direktifler doğrultusunda aşağıdaki basamaklar takip edilerek serum numunesinde Galektin-3 analiz edildi:

1. Oda sıcaklığına getirilen standartlar, numuneler ve tüm reaktifler hazırlandı.
2. Standart kuyucuklarına 50 µL standart eklendi.
3. Numune kuyucuklarına 40 µL numune ve 10 µL Galektin-3 antikoru eklendi.
4. Kör haricindeki tüm standart ve numune kuyucuklarına 50 µL Streptavidin-HRP eklendi, kuyucukların üzeri kapatılarak karıştırmak için hafifçe sallandı ve ardından 37°C'de 60 dakika inkübe edildi.
5. Her bir kuyucuk için yıkama solüsyonu kullanılarak beş defa yıkama yapıldı.

6. Kör, standart ve numune kuyucuklarına 50'şer µL substrat solüsyonu A ve B eklendi. Kuyucukların üzeri kapatılarak 37°C'de 10 dakika karanlık ortamda inkübe edildi ve mavi renk oluşumu gerçekleşti.

Her bir kuyucuğa 50 µL reaksiyon durdurma solüsyonu eklendi, mavi rengin sarıya dönüştüğü görüldü. 10 dakika içerisinde 450 nm'de BIO-TEK PowerWave XS mikroplate okuyucu cihazında absorbans değerleri ölçüldü (229).

Standartların absorbans değerleri kullanılarak elde edilen ve R^2 değeri 0,9997 olan absorbans-konsantrasyon grafiği Şekil 19'da gösterilmiştir. Standart eğrisinden yola çıkılarak numunelerin Galektin-3 konsantrasyonları hesaplandı. Sonuçlar pg/mL olarak verildi.



Şekil 19. Galektin-3 absorbans-konsantrasyon grafiği

Sialik Asit Ölçümü: Serum numunesinde sialik asit düzeyi ölçümü için ticari ELISA kiti (Katalog no: E1620Hu, Bioassay Technology Laboratory, China) kullanıldı. Serum, plazma, hücre kültürü süpernatantı, doku homojenatı ve diğer biyolojik sıvılarda insan sialik asit ölçümü amacıyla üretilen kitin standart eğri aralığı 1-380 mg/dL, duyarlılığı 0,54 mg/dL, çalışma içi kesinlik CV değeri <%8, çalışmalar arası kesinlik CV değeri <%10'dur (230).

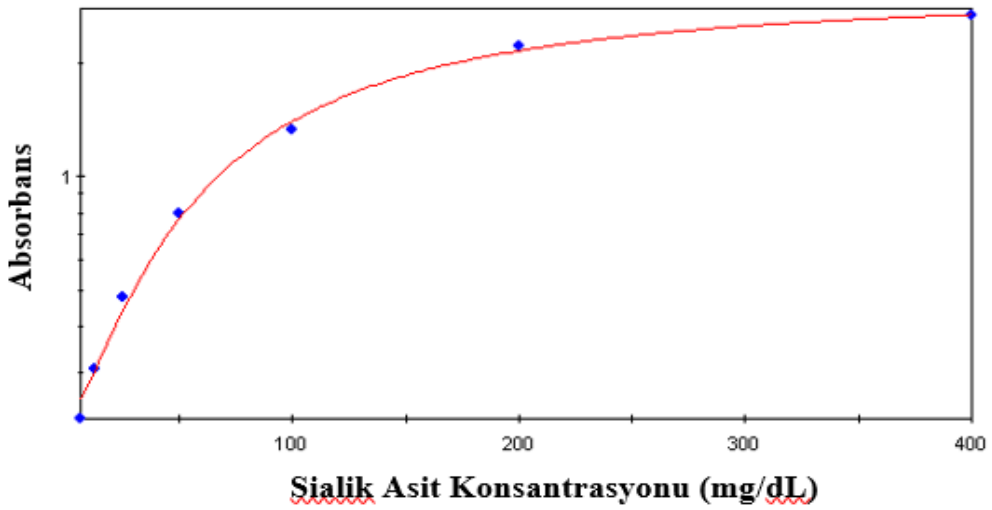
Sandviç ELISA prensibine göre çalışan bu kitte insan sialik asit antikoru ile kaplanmış olan kuyucuklara ilk olarak numune eklenir, numune içerisindeki sialik asit katı fazı oluşturan kuyucuklardaki antikorlarına bağlanır. Ardından eklenen biyotinlenmiş insan sialik asit antikoru numunedeki sialik asit ile bağlanır. Daha sonra Streptavidin-HRP eklenir ve biyotinlenmiş sialik asit antikoruna bağlanır. 37°C'de 60 dakikalık inkübasyondan sonra yapılan yıkama işlemi sırasında antikora bağlanmamış serbest haldeki Streptavidin-HRP deney ortamından uzaklaştırılır. Substrat solüsyonu eklenir ve numunelerdeki sialik asit konsantrasyonu ile doğru orantılı olacak şekilde renk değişimi gerçekleşir. 37°C'de 10 dakikalık inkübasyon sonrasında asidik karakterli çözeltinin eklenmesi ile reaksiyon durdurulur ve 450 nm'de absorbans ölçümü gerçekleştirilir (230).

Kitin içerisindeki direktifler doğrultusunda aşağıdaki basamaklar takip edilerek serum numunesinde sialik asit analiz edildi:

1. Oda sıcaklığına getirilen standartlar, numuneler ve tüm reaktifler hazırlandı.
2. Standart kuyucuklarına 50 µL standart eklendi.
3. Numune kuyucuklarına 40 µL numune ve 10 µL sialik asit antikoru eklendi.
4. Kör haricindeki tüm standart ve numune kuyucuklarına 50 µL Streptavidin-HRP eklendi, kuyucukların üzeri kapatılarak karıştırmak için hafifçe sallandı ve ardından 37°C'de 60 dakika inkübe edildi.
5. Her bir kuyucuk için yıkama solüsyonu kullanılarak beş defa yıkama yapıldı.
6. Kör, standart ve numune kuyucuklarına 50'şer µL substrat solüsyonu A ve B eklendi. Kuyucukların üzeri kapatılarak 37°C'de 10 dakika karanlık ortamda inkübe edildi ve mavi renk oluşumu gerçekleşti.

Her bir kuyucuğa 50 µL reaksiyon durdurma solüsyonu eklendi, mavi rengin sarıya dönüştüğü görüldü. 10 dakika içerisinde 450 nm'de BIO-TEK PowerWave XS mikroplate okuyucu cihazında absorbans değerleri ölçüldü (230).

Standartların absorbans değerleri kullanılarak elde edilen ve R^2 değeri 0,9980 olan absorbans-konsantrasyon grafiği Şekil 20'de gösterilmiştir. Standart eğrisinden yola çıkılarak numunelerin sialik asit konsantrasyonları hesaplandı. Sonuçlar mg/dL olarak verildi.



Şekil 20. Sialik asit absorbans-konsantrasyon grafiği

NF-κB Ölçümü: Serum numunesinde NF-κB düzeyi ölçümü için ticari ELISA kiti (Katalog no: YLA0512HU, YL Biont, China) kullanıldı. Serum, plazma, hücre kültürü süpernatantı, doku homojenatı ve diğer biyolojik sıvılarda insan NF-κB ölçümü amacıyla üretilen kitin standart eğri aralığı 0,03-10 ng/mL, duyarlılığı 0,01 ng/mL, çalışma içi kesinlik CV değeri <%8, çalışmalar arası kesinlik CV değeri <%10'dur (231).

Sandviç ELISA prensibine göre çalışan bu kitte insan NF-κB antikoru ile kaplanmış olan kuyucuklara ilk olarak numune eklenir, numune içerisindeki NF-κB katı fazı oluşturan kuyucuklardaki antikorlarına bağlanır. Ardından eklenen biyotinlenmiş insan NF-κB antikoru numunedeki NF-κB ile bağlanır. Daha sonra Streptavidin-HRP eklenir ve biyotinlenmiş NF-κB antikoruna bağlanır. 37°C'de 60 dakikalık inkübasyondan sonra yapılan yıkama işlemi sırasında antikora bağlanmamış serbest haldeki Streptavidin-HRP deney ortamından uzaklaştırılır. Substrat solüsyonu eklenir ve numunelerdeki NF-κB konsantrasyonu ile doğru orantılı olacak şekilde renk değişimi gerçekleşir. 37°C'de 10 dakikalık inkübasyon sonrasında asidik karakterli

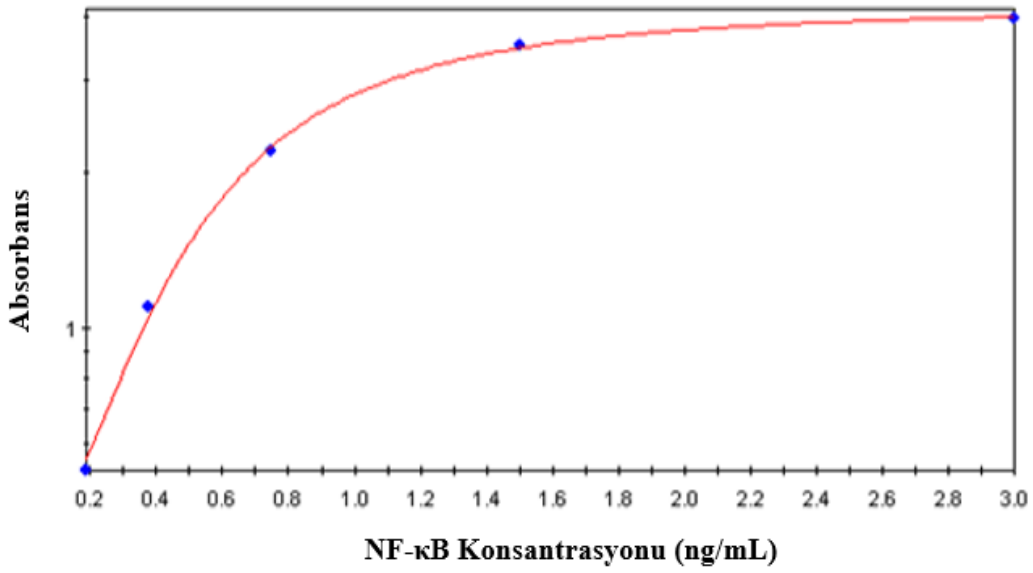
çözeltinin eklenmesi ile reaksiyon durdurulur ve 450 nm'de absorbans ölçümü gerçekleştirilir (231).

Kitin içerisindeki direktifler doğrultusunda aşağıdaki basamaklar takip edilerek serum numunesinde NF-κB analiz edildi:

1. Oda sıcaklığına getirilen standartlar, numuneler ve tüm reaktifler hazırlandı.
2. Standart kuyucuklarına 50 µL standart eklendi.
3. Numune kuyucuklarına 40 µL numune ve 10 µL NF-κB antikoru eklendi.
4. Kör haricindeki tüm standart ve numune kuyucuklarına 50 µL Streptavidin-HRP eklendi, kuyucukların üzeri kapatılarak karıştırmak için hafifçe sallandı ve ardından 37°C'de 60 dakika inkübe edildi.
5. Her bir kuyucuk için yıkama solüsyonu kullanılarak beş defa yıkama yapıldı.
6. Kör, standart ve numune kuyucuklarına 50'şer µL substrat solüsyonu A ve B eklendi. Kuyucukların üzeri kapatılarak 37°C'de 10 dakika karanlık ortamda inkübe edildi ve mavi renk oluşumu gerçekleşti.

Her bir kuyucuğa 50 µL reaksiyon durdurma solüsyonu eklendi, mavi rengin sarıya dönüştüğü görüldü. 10 dakika içerisinde 450 nm'de BIO-TEK PowerWave XS mikroplate okuyucu cihazında absorbans değerleri ölçüldü (231).

Standartların absorbans değerleri kullanılarak elde edilen ve R^2 değeri 0,9988 olan absorbans-konsantrasyon grafiği Şekil 21'de gösterilmiştir. Standart eğrisinden yola çıkılarak numunelerin NF-κB konsantrasyonları hesaplandı. Sonuçlar ng/mL olarak verildi.



Şekil 21. NF-κB absorbans-konsantrasyon grafiği

3.2.2 İstatistiksel analizler

Verilerin analizi SPSS 25.0 (Statistical Package for Social Science, IBM Corp in Amonk, NY, USA) ve MedCalc statistical software V.23.0.8 (MedCalc, Ostend, Belgium) paket programları kullanılarak yapıldı. Numerik değişkenler ortalama ve standart sapma, ortanca ve çeyreklikler (Q1 ve Q3); kategorik değişkenler ise sayı ve yüzdeler şeklinde hesaplandı. Verilerin normal dağılıma uygunluğu Shapiro Wilk testi ile incelendi. Gruplar arası kıyaslamada bağımsız gruplarda Mann Whitney U, bağımlı (grup içi ardışık ölçümler) gruplarda Wilcoxon sıralı diziler testi, kategorik değişkenlerin karşılaştırılmasında ise Ki kare testleri kullanıldı. İki değişken arasındaki doğrusal ilişki normal dağılım gösteren verilerde Pearson ve normal dağılım göstermeyen verilerde Spearman korelasyon analizi ile incelendi. $p<0,05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

Biyobelirteçlerin duyarlılık, özgüllük ve cut off (kesme) değerini hesaplamak için belli bir yöntemin öngörü gücünün ifadesi olarak tanımlanan ROC (Receiver Operating Characteristic) eğrisi kullanıldı.

Örneklem Hesabı (G Power Analizi): Çalışma için gerekli minumum katılımcı sayısı G Power örneklem hesabı programında (versiyon 3.1.9.4) hesaplandı. Minimum örneklem sayısı Tip I hata (α) 0,05; Tip II hata (1-β) 0,95 ve effect size 0,80 düzeyinde

hesaplandı. Buna göre minumum örneklem sayısı bağımlı gruplar (hasta grubunun radyoterapi öncesi ve sonrası değerleri) ve bağımsız gruplar (hasta ve kontrol grubu) göz önüne alındığında her grup için 35 kişi olarak hesaplandı (Cohen's f: 0,4) (232).

3.3 Etik Kurul İzni

Bu çalışma Atatürk Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Klinik Araştırmalar Etik Kurulu tarafından onaylanmıştır (Toplantı sayısı:2, karar no:43, Tarih: 29.03.2024 Sayı: B.30.2.ATA.0.01.00/180).

4. BULGULAR

Çalışmaya katılan hasta ve kontrol grubunun demografik bilgileri Tablo 4'te verilmiştir.

Tablo 4. Hasta ve Kontrol Grubunun Sosyo-Demografik Özelliklerine Ait Tanımlayıcı Bilgiler

Değişkenler		**Hasta Grubu (n=40)**		**Kontrol Grubu (n=35)**	
		n	**%**	**n**	**%**
Cinsiyet	Kadın	2	5,0	6	17,1
	Erkek	38	95,0	29	82,9
Yaş (Yıl)	40-54 yaş	4	10	20	57,1
	55-64 yaş	13	32,5	9	25,7
	65 yaş ve üstü	23	57,5	6	17,2
Kronik Hastalık Durumu	Var	18	45,0	0	0
	Yok	22	55,0	35	100
Sigara Kullanma Öyküsü	Var	36	90,0	12	34,3
	Yok	4	10,0	23	65,7
Alkol Kullanma Öyküsü	Var	1	2,5	0	0
	Yok	39	97,5	35	100
Ailede Kanser Öyküsü	Var	17	42,5		
	Yok	23	57,5		
Medeni Durum	Evli	36	90,0		
	Bekâr	4	10,0		
Meslek	Emekli	20	50,0		
	Serbest, işçi	15	37,5		
	Ev Hanımı	2	5,0		
	Çalışmıyor	3	7,5		
TOPLAM		**40**	**100,0**	**35**	**100,0**

Tablo 4'te görüldüğü gibi hasta grubundaki katılımcıların %95,0'i erkek olup 57,5'i 65 yaş üstündedir. %90 katılımcı evli olup meslek olarak %50'si emeklilerden oluşmaktadır. Hastaların %45'inde kronik bir hastalık öyküsü mevcut olup ailede

kanser öyküsü olan hasta oranı %42,5'tir. %90 gibi yüksek bir oranda sigara kullanma öyküsü mevcut olup %2,5'i alkol kullanmaktadır.

Kontrol grubundaki katılımcıların 6'sını (%17,1) kadın, 29'unu (%82,9) erkek cinsiyet oluşturmuştur. Hasta grubundaki katılımcıların ise 2'si kadın (%5,0) kadın ve 38'ini (%95,0) erkek cinsiyet oluşturmuştur. Kategorik değişkenlerin karşılaştırılması için Ki kare testi kullanılmış ve Ki kare testine göre p=0,289 olduğundan çalışma ve kontrol grubunda cinsiyet dağılımları benzerdi.

Yaş aralığı 40-54 yıl, 55-64 yıl ve ≥65 yıl olarak üç sınıfa ayrılmıştır. Kontrol grubundan 20 kişi (%57,1) 40-54 yaş aralığında, 9 kişi (%25,7) 55-64 yaş aralığında, 6 kişi (%17,2) 65 yaş ve üstündeydi. Hasta grubundan ise 4 kişi (%10,0) 40-54 yaş aralığında, 13 kişi (%32,5) 55-64 yaş aralığında, 23 kişi (%57,5) 65 yaş ve üstündeydi. Ki kare testine göre yaş ile skuamöz hücreli akciğer kanseri bulunma durumu arasında bir ilişkinin olduğu bulunmuştur (p<0,001).

Katılımcıların sigara içme durumları göz önüne alındığında skuamöz hücreli akciğer kanserli hastaların 36'sı (%90) sigara içerken 4'ünün (%10) içmediği, kontrol grubunda ise 12 kişinin (%34,3) sigara içerken 23 (%65,7) kişinin sigara içmediği kaydedildi. Ki kare testine göre sigara içme ile skuamöz hücreli akciğer kanseri arasında ilişkinin olduğu bulunmuştur (p<0,001).

Tablo 5. Grupların Yaş Dağılımına Göre Karşılaştırılması

		Ortalama	**SD**	**Ortanca**	**Q1**	**Q3**	**Min**	**Max**
Hastalar	Yaş	65,25	8,56	66,00	59,25	72,00	45,00	80,00
Kontrol	Yaş	53,25	10,92	52,00	44,00	61,00	40,00	79,00

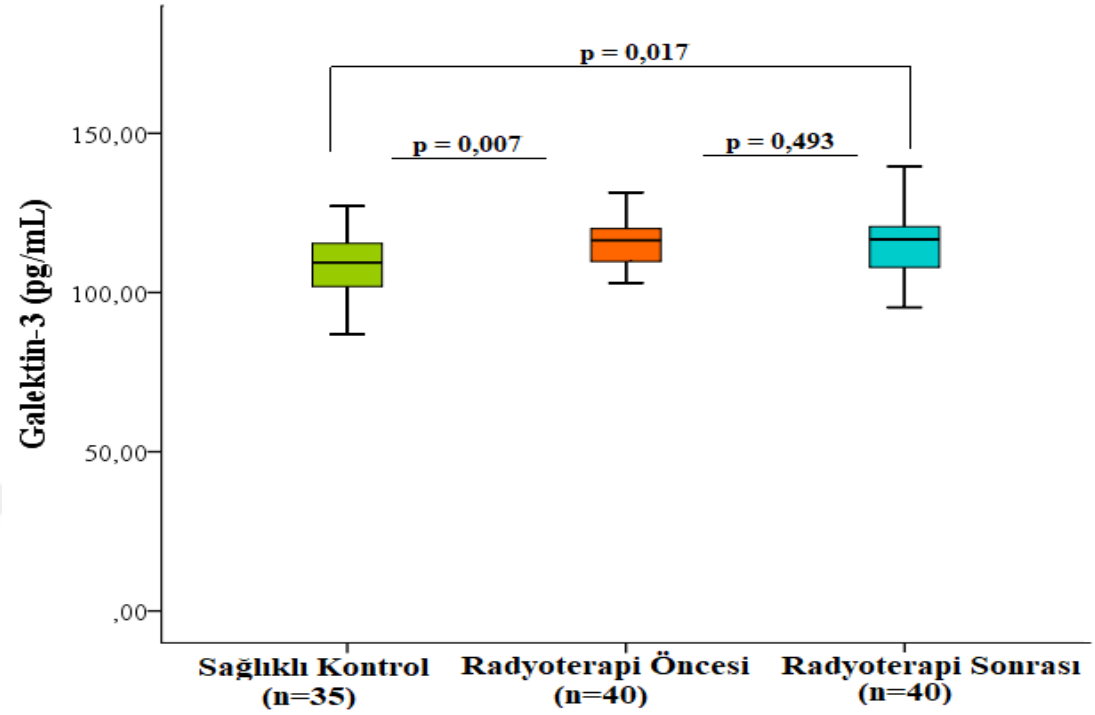
SD: standart sapma, Q1:1. çeyreklik dilim, Q3: 3. çeyreklik dilim

Tablo 5'in hasta ve kontrol grubuna göre analizleri yapılırken Mann-Whitney U testi kulanıldı. Gruplar arasında yaş dağılımı açısından anlamlı düzeyde fark vardı (p<0,001). Nonparametrik analiz kullandığımız için sonuçlar ortanca (medyan) ve çeyreklik dilimler (Q1 ve Q3) üzerinden değerlendirildi. Buna göre hastaların ortanca yaşı 66,00 (59,25-72,00) ve kontrollerin ortanca yaşı 52,00 (44,00-61,00) idi.

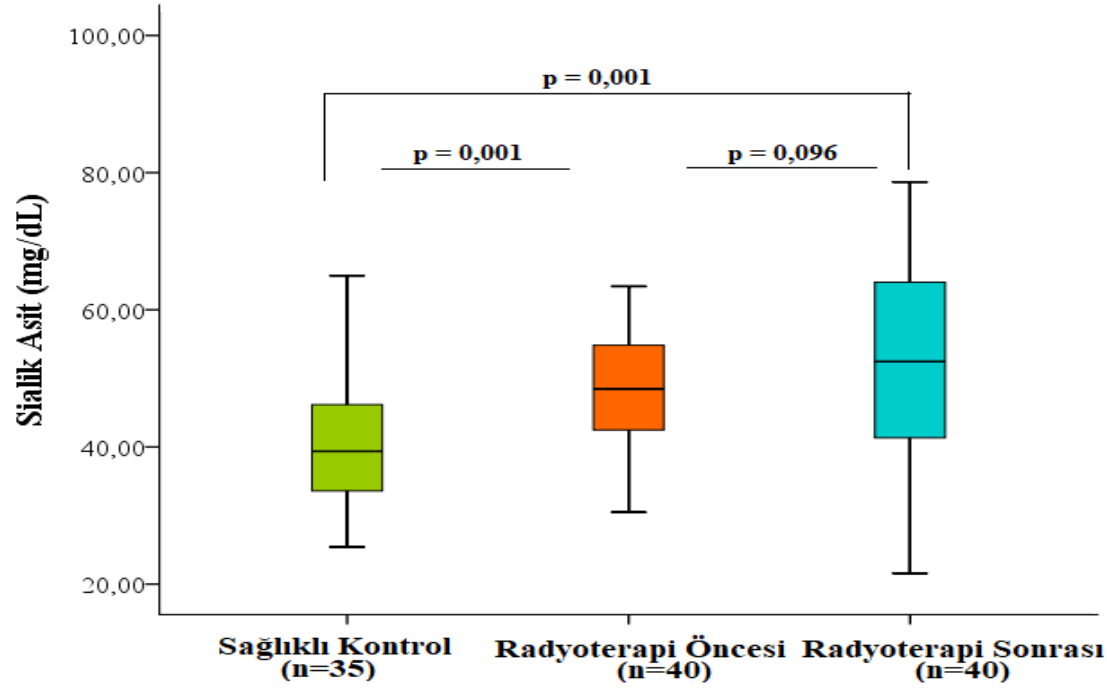
Tablo 6. Galektin-3, Sialik Asit ve NF-κB Değişkenlerinin Sağlıklı Kontrol, Radyoterapi Öncesi ve Sonrası Hasta Grubunda Karşılaştırılması

Galektin-3 (pg/mL)			
	Sağlıklı Kontrol (n=35)	**Radyoterapi Öncesi (n=40)**	**Radyoterapi Sonrası (n=40)**
Ort± SS	107,75 ± 24,52	116,88 ± 11,91	117,45 ± 14,25
Medyan (Q1-Q3)	109,47 (101,30-117,17)	116,42 (109,67-120,26)	116,76 (107,76-120,76)
Min – Max	20,23 - 170,89	89,33 - 158,33	95,34 - 161,82
p		*** p=0,007**	****p=0,493**
Sialik Asit (mg/dL)			
	Sağlıklı Kontrol (n=35)	**Radyoterapi Öncesi (n=40)**	**Radyoterapi Sonrası (n=40)**
Ort ± SS	42,35 ± 14,71	48,77 ± 9,47	52,64 ± 16,18
Medyan (Q1-Q3)	39,37 (33,02-46,35)	48,50 (42,42-55,11)	52,43 (41,05-64,39)
Min – Max	25,41 - 97,31	30,49 - 79,22	21,59 - 107,96
p		***p=0,001**	****p=0,096**
NF-κB (ng/mL)			
	Sağlıklı Kontrol (n=35)	**Radyoterapi Öncesi (n=40)**	**Radyoterapi Sonrası (n=40)**
Ort ± SS	1,06 ± 0,17	0,98 ± 0,19	1,01 ± 0,25
Medyan (Q1-Q3)	1,02 (0,95-1,12)	0,98 (0,83-1,10)	1,05 (0,85-1,12)
Min – Max	0,87 - 1,64	0,69 - 1,51	0,13 - 1,78
p		***p=0,113**	****p=0,336**

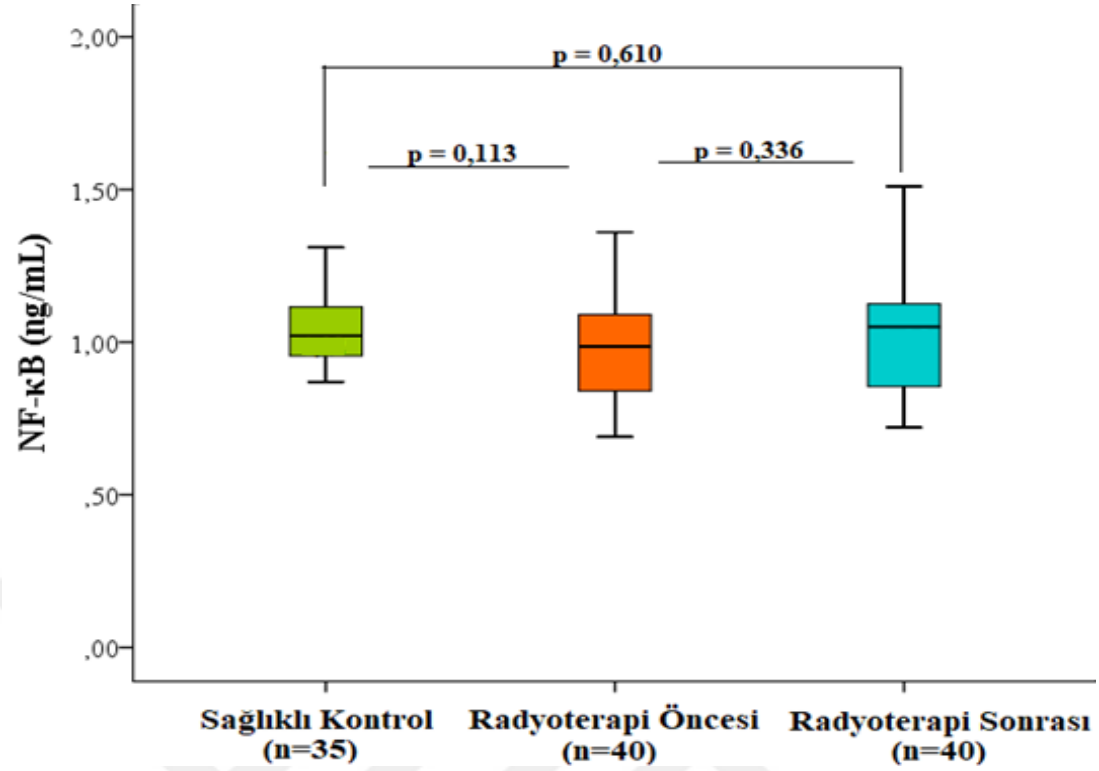
*p sağlıklı kontrol ve radyoterapi öncesi hasta grubu medyanları arasında
**p radyoterapi öncesi ve radyoterapi sonrası hasta grubu medyanları arasında



Şekil 22. Sağlıklı kontrol, radyoterapi öncesi ve sonrası hasta grubunda Galekin-3 ölçümlerinin dağılımının kutu grafiği şeklinde gösterimi



Şekil 23. Sağlıklı kontrol, radyoterapi öncesi ve sonrası hasta grubunda Sialik Asit ölçümlerinin dağılımının kutu grafiği şeklinde gösterimi



Şekil 24. Sağlıklı kontrol, radyoterapi öncesi ve sonrası hasta grubunda NF-κB ölçümlerinin dağılımının kutu grafiği şeklinde gösterimi

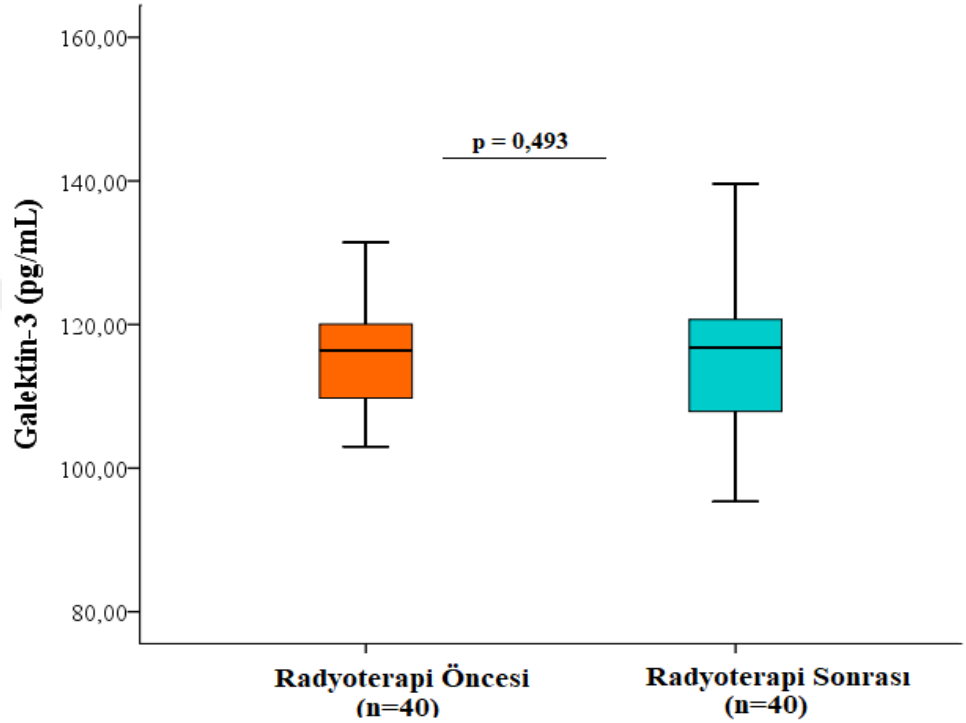
Tablo 7. Galektin-3, Sialik Asit ve NF-κB Değişkenlerinin Radyoterapi Öncesi ve Sonrası Hasta Grubunda Karşılaştırılması

	Galektin-3 (pg/mL)		
	Radyoterapi Öncesi (n=40)	**Radyoterapi Sonrası (n=40)**	**p değeri**
Ort ± SS	116,88 ± 11,91	117,45 ± 14,25	
Medyan (Q1-Q3)	116,42 (109,67-120,26)	116,76 (107,76-120,76)	**p=0, 493**
Min – Max	89,33 - 158,33	95,34 - 161,82	
	Sialik Asit (mg/dL)		
	Radyoterapi Öncesi (n=40)	**Radyoterapi Sonrası (n=40)**	**p değeri**
Ort ± SS	48,77 ± 9,47	52,64 ± 16,18	
Medyan (Q1-Q3)	48,50 (42,42-55,11)	52,43 (41,05-64,39)	**p=0,096**
Min – Max	30,49 - 79,22	21,59 - 107,96	
	NF-κB (ng/mL)		
	Radyoterapi Öncesi (n=40)	**Radyoterapi Sonrası (n=40)**	**p değeri**
Ort ± SS	0,98 ± 0,19	1,01 ± 0,25	
Medyan (Q1-Q3)	0,98 (0,83-1,10)	1,05 (0,85-1,12)	**p=0,336**
Min – Max	0,69 - 1,51	0,13 - 1,78	

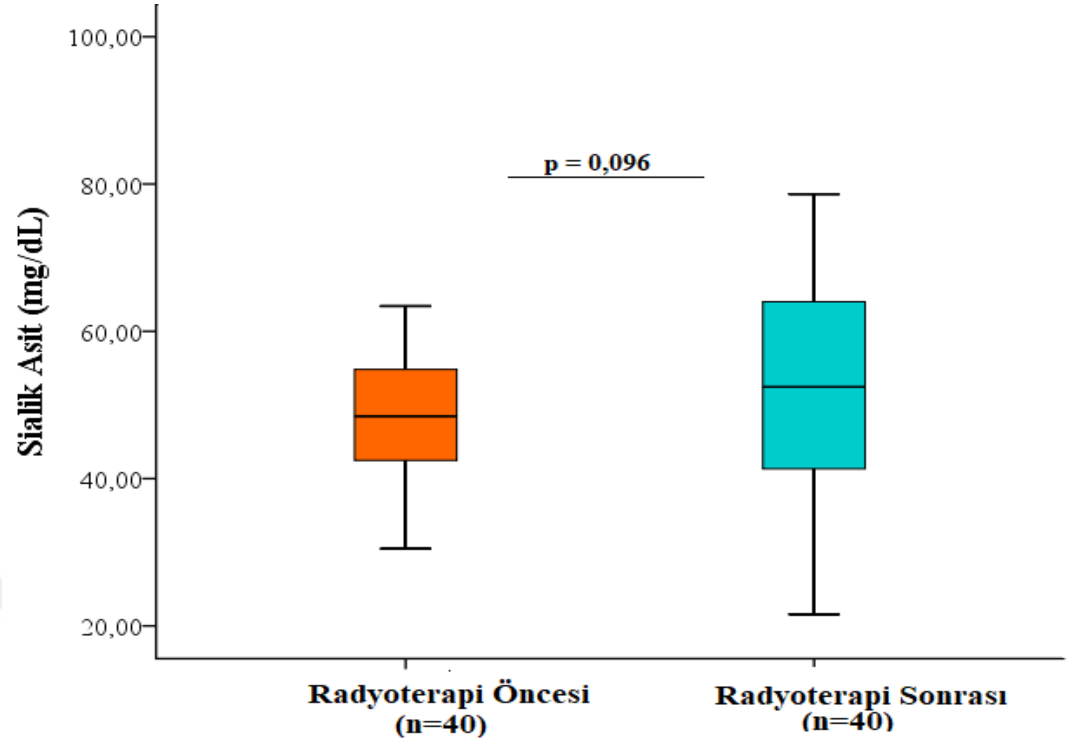
Çalışma grubunda yer alan skuamöz hücreli akciğer kanseri tanısı almış hastaların radyoterapi öncesi ve sonrası Galektin-3, Sialik asit ve NF-κB değerleri arasında anlamlı bir farklılığın olup olmadığını belirleyebilmek için Wilcoxon Eşleştirilmiş İki Örneklem Testi'nden yararlanıldı ve elde edilen sonuçlar Tablo 7'de verildi. Radyoterapiden sonra, serum Galektin-3 konsantrasyonlarının medyan değerinin 116,42 pg/mL'den 116,76 pg/mL'ye, Sialik asit konsantrasyonlarının medyan değerinin 48,50 mg/dL'den 52,43 mg/dL'ye, NF-κB konsantrasyonlarının medyan değerinin ise 0,98 ng/mL'den 1,05 ng/mL'ye yükseldiği bulundu. Fakat

radyoterapi sonrası gözlenen bu artışın her üç parametre için de istatistiksel olarak anlamlı olmadığı görüldü (sırasıyla p=0,493, p=0,096 ve p=0,336).

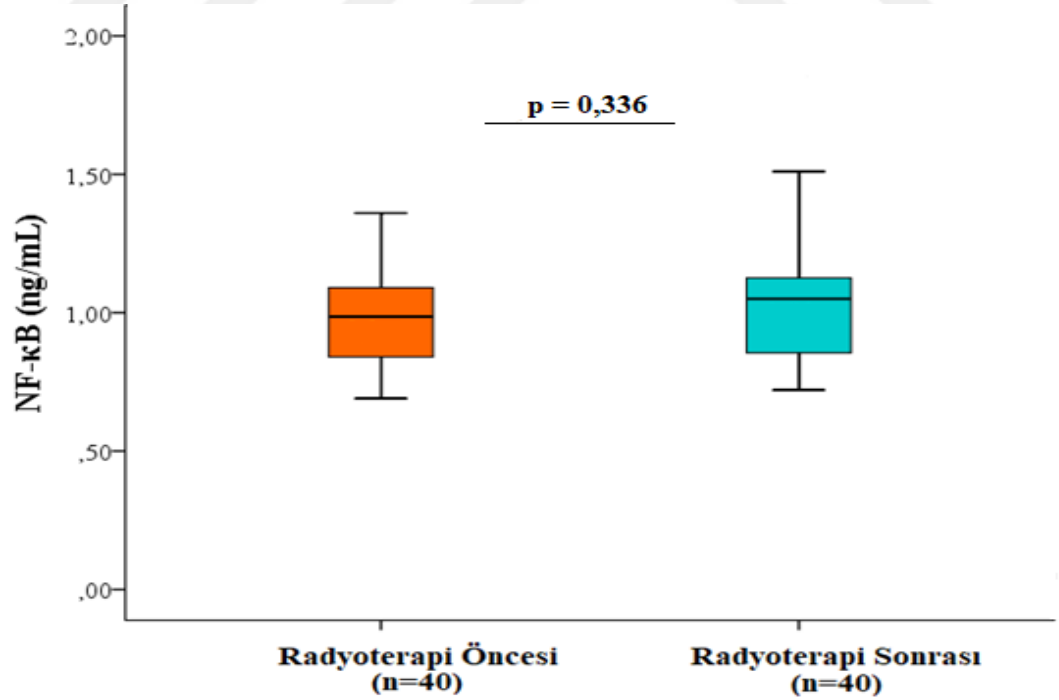
Hasta grubunda RT öncesi ve sonrası Galektin-3, Sialik asit ve NF-κB parametrelerinin dağılımları şekil 25, şekil 26 ve şekil 27'de verilmiştir.



Şekil 25. Radyoterapi öncesi ve sonrası hasta gruplarında Galektin-3 ölçümlerinin dağılımının kutu grafiği şeklinde gösterimi



Şekil 26. Radyoterapi öncesi ve sonrası hasta gruplarında Sialik Asit ölçümlerinin dağılımının kutu grafiği şeklinde gösterimi

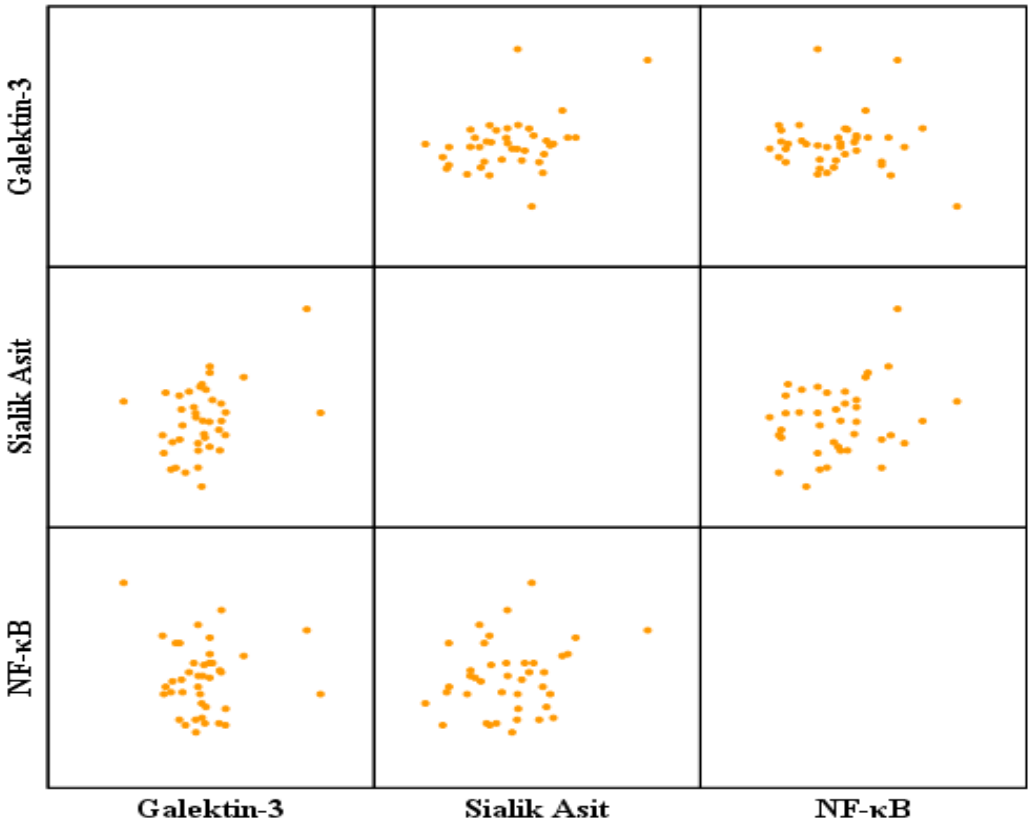


Şekil 27. Radyoterapi öncesi ve sonrası hasta gruplarında NF-κB ölçümlerinin dağılımının kutu grafiği şeklinde gösterimi

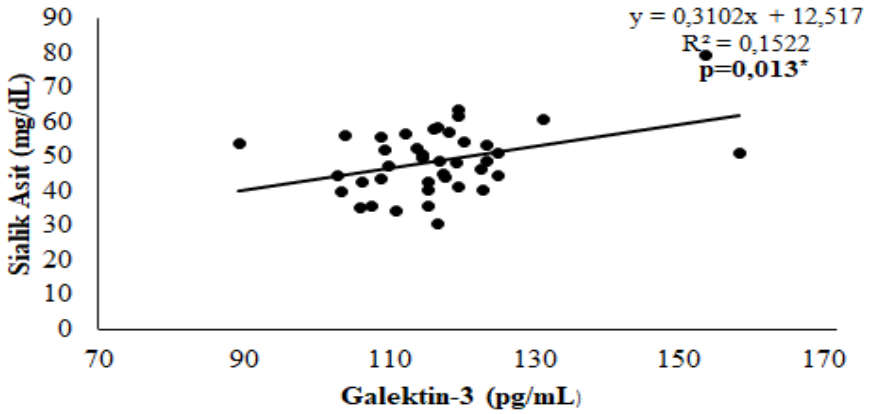
Tablo 8. Radyoterapi Öncesi Hasta Grubunda Parametreler Arası İlişkiler

	Galektin-3 (pg/mL)	Sialik Asit (mg/dL)
NF-κB (ng/mL)	r=-0,080 p=0,960	r=0,220 p=0,173
Galektin-3 (pg/mL)		**r=0,390** **p=0,013**

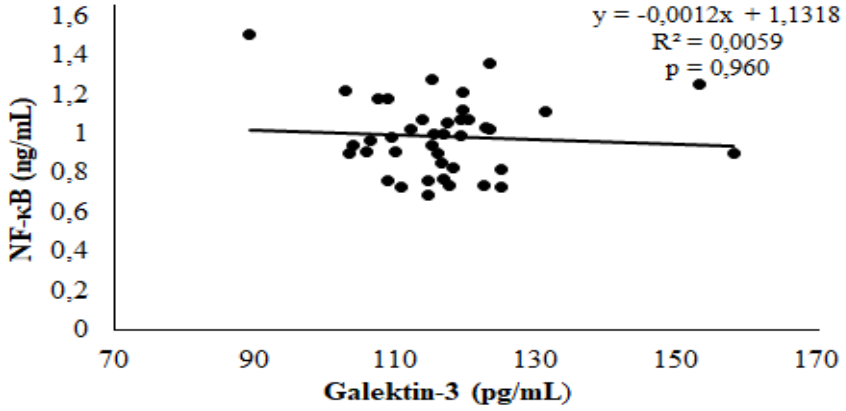
Tablo 8'de ve Şekil 28'de görüldüğü gibi radyoterapi öncesi hasta grubunda yapılan Spearman korelasyon analizinde; Galektin-3 ile Sialik asit arasında anlamlı, pozitif yönlü ve zayıf düzeyde (r=0,390, p=0,013) bir korelasyon bulunurken (Şekil 29), Galektin 3-NF-κB ve Sialik Asit- NF-κB arasında korelasyon bulunamadı (Şekil 30 ve Şekil 31) (sırasıyla p=0,960 ve p=0,173).



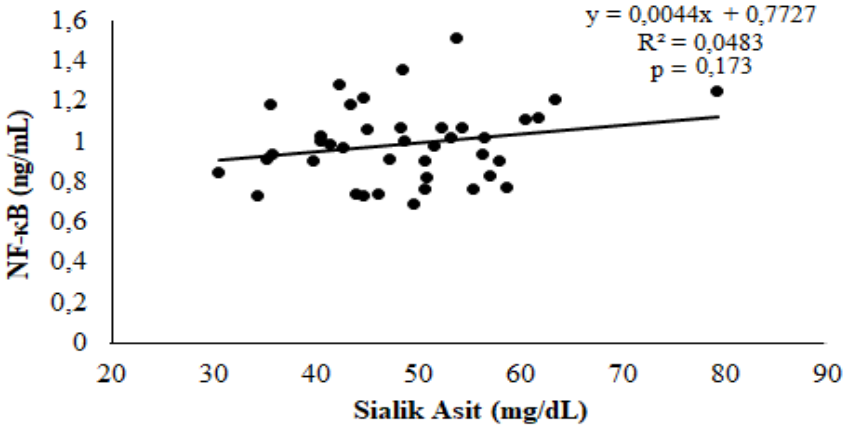
Şekil 28. Radyoterapi öncesi hasta grubunda Galektin-3, Sialik Asit ve NF-κB parametrelerinin saçılım grafiği



Şekil 29. Radyoterapi öncesi hasta grubunun katılmasıyla yapılan korelasyon analizinde serum Galektin-3 ve Sialik Asit arasındaki korelasyonun saçılım grafiği



Şekil 30. Radyoterapi öncesi hasta grubunun katılmasıyla yapılan korelasyon analizinde serum Galektin-3 ve NF-κB arasındaki korelasyonun saçılım grafiği

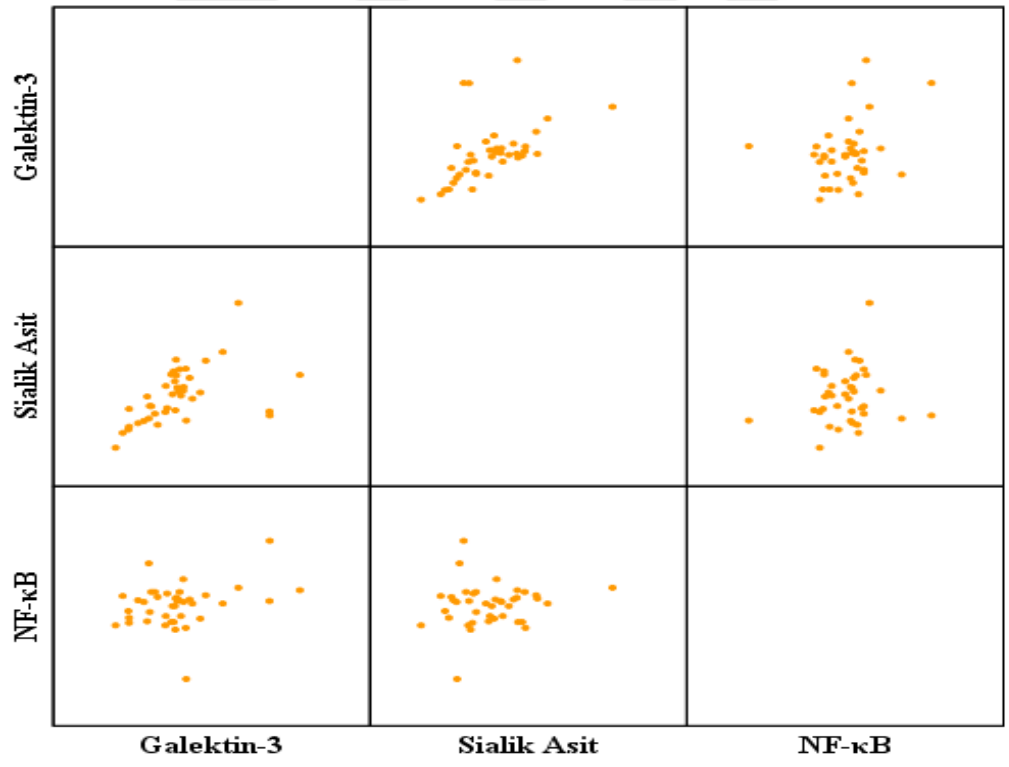


Şekil 31. Radyoterapi öncesi hasta grubunun katılmasıyla yapılan korelasyon analizinde serum Sialik Asit ve NF-κB arasındaki korelasyonun saçılım grafiği

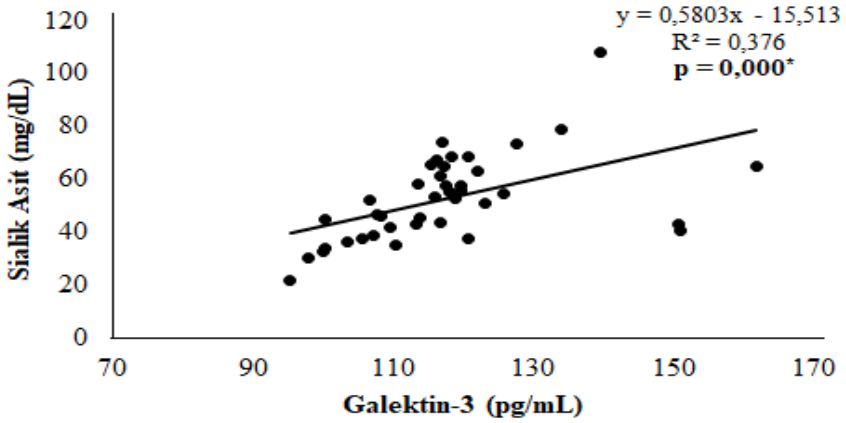
Tablo 9. Radyoterapi Sonrası Hasta Grubunda Parametreler Arası İlişkiler

	Galektin-3 (pg/mL)	**Sialik Asit (mg/dL)**
NF-κB (ng/mL)	r=0,234 p=0,147	r=0,111 p=0,495
Galektin-3 (pg/mL)		**r=0,614** **p=0,000**

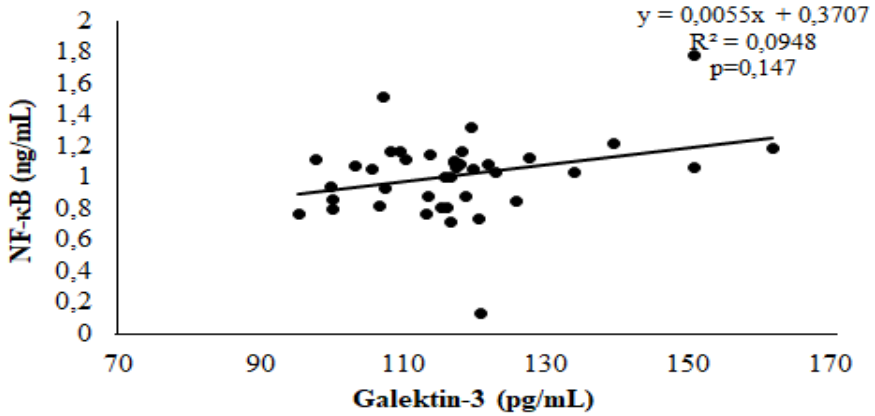
Tablo 9 ve Şekil 32'de görüldüğü gibi radyoterapi sonrası hasta grubunda grubunda yapılan Spearman korelasyon analizinde, radyoterapi sonrası hasta grubunda Galektin-3 ile Sialik asit arasında anlamlı, pozitif yönlü ve yüksek düzeyde (r=0,614, p=0,000) korelasyon bulunurken (Şekil 33), Galektin 3-NF-κB ve Sialik Asit- NF-κB arasında korelasyon bulunamadı (Şekil 34 ve Şekil 35) (sırasıyla p=0,147 ve p=0,495).



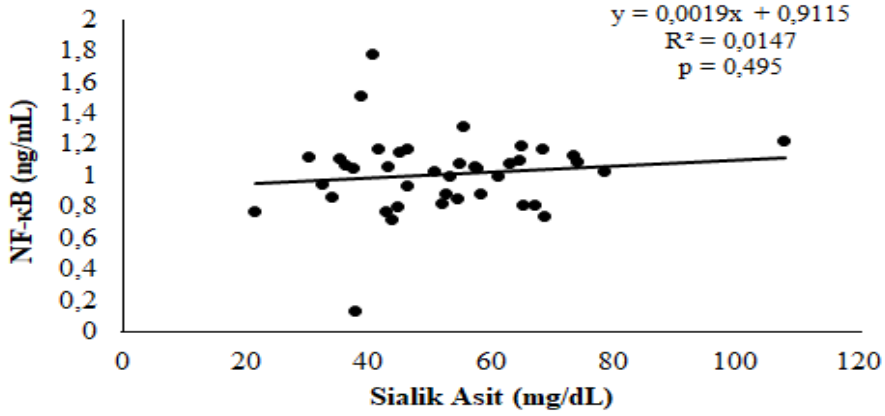
Şekil 32. Radyoterapi sonrası hasta grubunda Galektin-3, Sialik Asit ve NF-κB parametrelerinin saçılım grafiği



Şekil 33. Radyoterapi sonrası hasta grubunun katılmasıyla yapılan korelasyon analizinde serum Galektin-3 ve Sialik Asit arasındaki korelasyonun saçılım grafiği



Şekil 34. Radyoterapi sonrası hasta grubunun katılmasıyla yapılan korelasyon analizinde serum Galektin-3 ve NF-κB arasındaki korelasyonun saçılım grafiği



Şekil 35. Radyoterapi sonrası hasta grubunun katılmasıyla yapılan korelasyon analizinde serum Sialik Asit ve NF-κB arasındaki korelasyonun saçılım grafiği

Tablo 10. Korelasyon katsayısı (r) değerlendirme cetveli

Korelasyon katsayısı (r)	Durum
<0.2	Çok zayıf ilişki ya da korelasyon yok
0.2-0.4	Zayıf korelasyon
0.4-0.6	Orta korelasyon
0.6-0.8	Yüksek (ileri) korelasyon
0.8>	Çok yüksek korelasyon

Tablo 11. Galektin-3, Sialik Asit ve NF-κB Değişkenlerinin Sağlıklı Kontrol ve Radyoterapi Öncesi Hasta Grubunda Karşılaştırılması

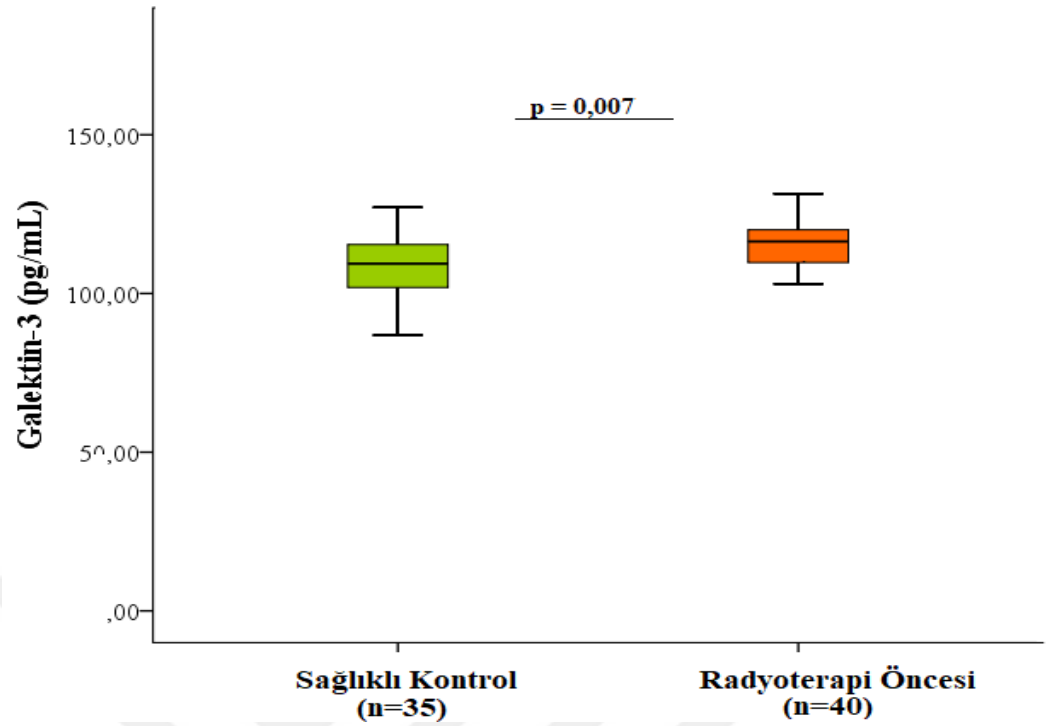
	Galektin-3 (pg/mL)		
	Sağlıklı Kontrol (n=35)	**Radyoterapi Öncesi (n=40)**	**p değeri**
Ort ± SS	107,75 ± 24,52	16,88 ± 11,91	
Medyan (Q1-Q3)	109,47 (101,30-117,17)	116,42 (109,67-120,26)	**p=0,007**
Min – Max	20,23 - 170,89	89,33 - 158,33	
	Sialik Asit (mg/dL)		
	Sağlıklı Kontrol (n=35)	**Radyoterapi Öncesi (n=40)**	**p değeri**
Ort ± SS	42,35 ± 14,71	48,77 ± 9,47	
Medyan (Q1-Q3)	39,37 (33,02-46,35)	48,50 (42,42-55,11)	**p=0,001**
Min – Max	25,41 - 97,31	30,49 - 79,22	
	NF-κB (ng/mL)		
	Sağlıklı Kontrol (n=35)	**Radyoterapi Öncesi (n=40)**	**p değeri**
Ort ± SS	1,06 ± 0,17	0,98 ± 0,19	
Medyan (Q1-Q3)	1,02 (0,95-1,12)	0,98 (0,83-1,10)	**p=0,113**
Min – Max	0,87 - 1,64	0,69 - 1,51	

Sağlıklı kontrol grubu ile skuamöz hücreli akciğer kanseri hastalarının radyoterapi almadan önceki serum Galektin-3, Sialik asit ve NF-κB konsantrasyonlarını kıyaslamak amacıyla Mann-Whitney U testi yapıldı. Elde edilen sonuçlar Tablo 11'de verildi. Yapılan analiz sonucunda skuamöz hücreli akciğer kanseri hastalarının radyoterapi almadan önceki serum Galektin-3 konsantrasyonlarının medyan değeri 116,42 (109,67-120,26) pg/mL iken sağlıklı kontrol grubunun serum Galektin-3 konsantrasyonlarının medyan değerinin 109,47 (101,30-117,17) pg/mL olduğu görüldü. Bu bulgulara göre kontrol grubunun Galektin-3 seviyelerinin hasta grubundan belirgin düşük olduğu gözlendi (p=0,007).

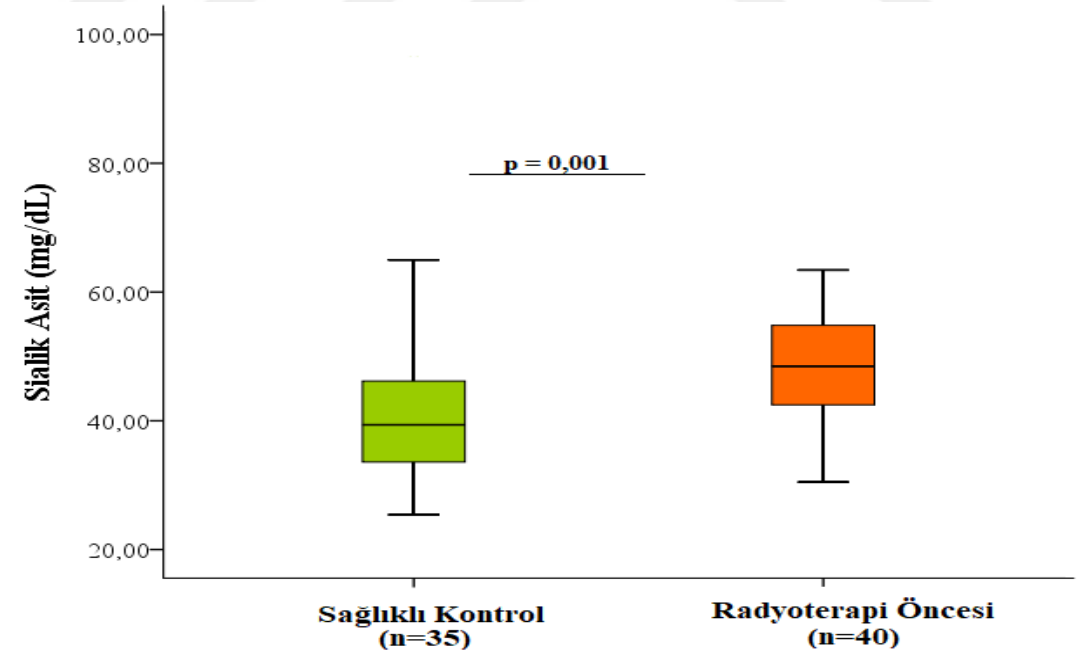
Skuamöz hücreli akciğer kanseri hastalarının radyoterapi almadan önceki serum Sialik asit konsantrasyonlarının medyan değeri 48,50 (42,42-55,11) mg/dL iken sağlıklı kontrol grubunun serum Sialik asit konsantrasyonlarının medyan değerinin 39,37 (33,02-46,35) mg/dL olduğu görüldü. Hasta grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir yükseklik bulundu (p=0,001).

Skuamöz hücreli akciğer kanserli hasta grubunda, serum NF-κB konsantrasyonlarının medyan değeri 0,98 (0,83-1,10) ng/mL, sağlıklı kontrol grubunun ise 1,02 (0,95-1,12) ng/mL olarak bulundu. İki grubun serum NF-κB konsantrasyonları karşılaştırıldığında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamadı (p=0,113).

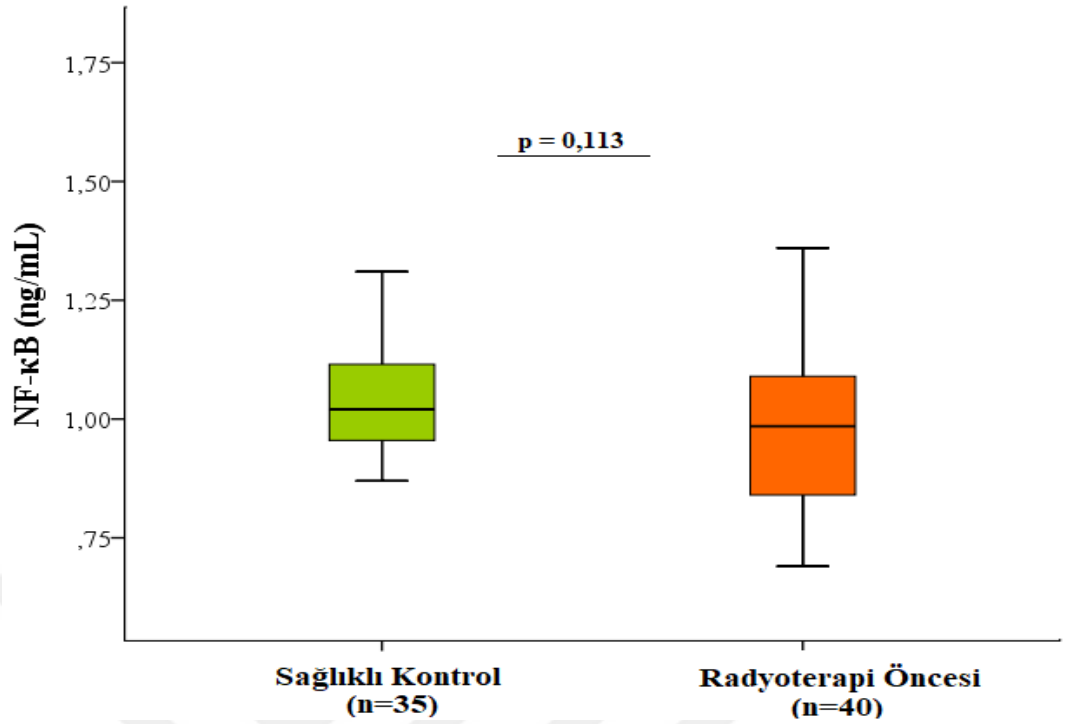
Sağlıklı kontrol grubu ve radyoterapi öncesi hasta grubuna ait Galektin-3, Sialik asit ve NF-κB parametrelerinin dağılımlarının kutu grafiği Şekil 36, Şekil 37 ve Şekil 38'de verilmiştir.



Şekil 36. Sağlıklı kontrol ve hasta (radyoterapi öncesi) gruplarında Galektin-3 ölçümlerinin dağılımının kutu grafiği şeklinde gösterimi



Şekil 37. Sağlıklı kontrol ve hasta (radyoterapi öncesi) gruplarında Sialik Asit ölçümlerinin dağılımının kutu grafiği şeklinde gösterimi



Şekil 38. Sağlıklı kontrol ve hasta (radyoterapi öncesi) gruplarında NF-κB ölçümlerinin dağılımının kutu grafiği şeklinde gösterimi

Tablo 12. Galektin-3, Sialik Asit ve NF-κB Değişkenlerinin Sağlıklı Kontrol ve Radyoterapi Sonrası Hasta Grubunda Karşılaştırılması

	Galektin-3 (pg/mL)		
	Sağlıklı Kontrol (n=35)	**Radyoterapi Sonrası (n=40)**	**p değeri**
Ort ± SS	107,75 ± 24,52	117,45 ± 14,25	
Medyan (Q1-Q3)	109,47 (101,30-117,17)	116,76 (107,76-120,76)	**p=0,017**
Min – Max	20,23 - 170,89	95,34 - 161,82	
	Sialik Asit (mg/dL)		
	Sağlıklı Kontrol (n=35)	**Radyoterapi Sonrası (n=40)**	**p değeri**
Ort ± SS	42,35 ± 14,71	52,64 ± 16,18	
Medyan (Q1-Q3)	39,37 (33,02-46,35)	52,43 (41,05-64,39)	**p=0,001**
Min – Max	25,41 - 97,31	21,59 - 107,96	
	NF-κB (ng/mL)		
	Sağlıklı Kontrol (n=35)	**Radyoterapi Sonrası (n=40)**	**p değeri**
Ort ± SS	1,06 ± 0,17	1,01 ± 0,25	
Medyan (Q1-Q3)	1,02 (0,95-1,12)	1,05 (0,85-1,12)	**p=0,610**
Min – Max	0,87 - 1,64	0,13 - 1,78	

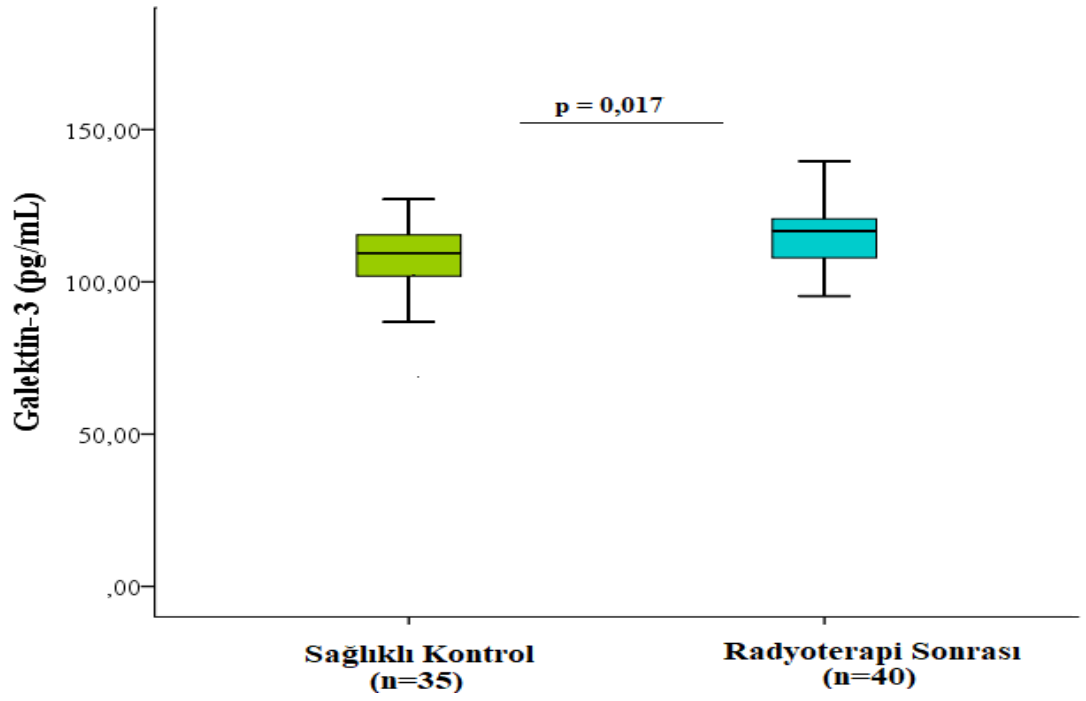
Sağlıklı kontrol grubu ile skuamöz hücreli akciğer kanseri hastalarının radyoterapi sonrası serum Galektin-3, Sialik asit ve NF-κB konsantrasyonlarını kıyaslamak amacıyla Mann-Whitney U testi yapıldı. Elde edilen sonuçlar Tablo 12'de verildi. Yapılan analiz sonucunda skuamöz hücreli akciğer kanseri hastalarının radyoterapi sonrası serum Galektin-3 konsantrasyonlarının medyan değeri 116,76 (107,76-120,76) pg/mL iken sağlıklı kontrol grubunun serum Galektin-3 konsantrasyonlarının medyan değerinin 109,47 (101,30-117,17) pg/mL olduğu

görüldü. Bu bulgulara göre kontrol grubunun Galektin-3 seviyelerinin hasta grubundan belirgin düşük olduğu gözlendi (p=0,017).

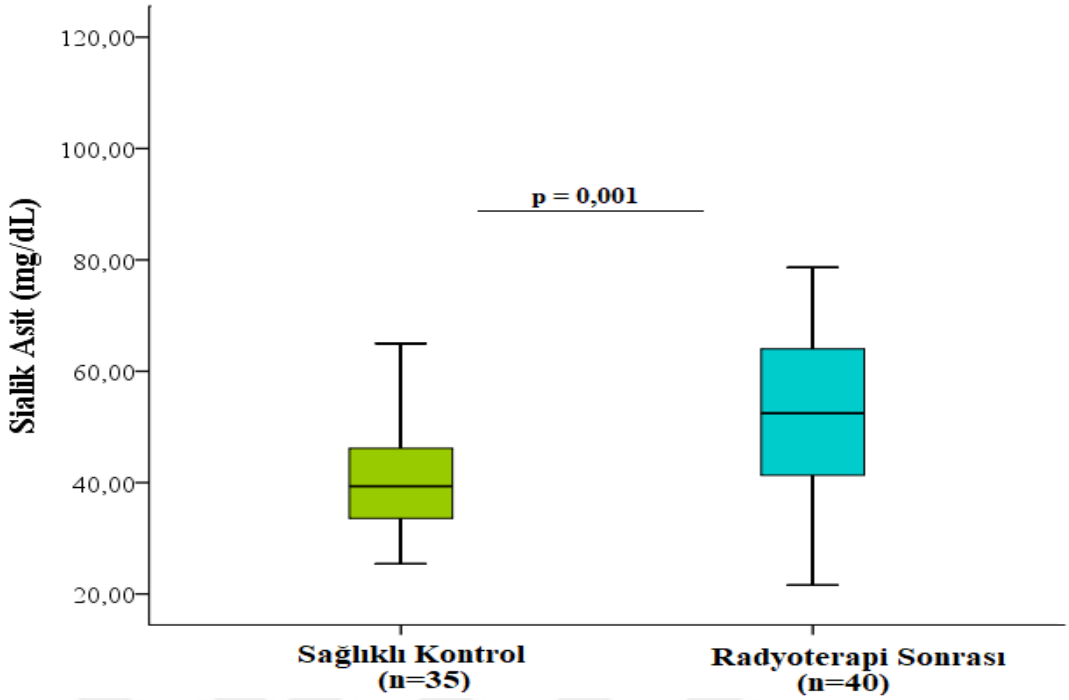
Skuamöz hücreli akciğer kanseri hastalarının radyoterapi sonrası serum Sialik asit konsantrasyonlarının medyan değeri 52,43 (41,05-64,39) mg/dL iken sağlıklı kontrol grubunun serum Sialik asit konsantrasyonlarının medyan değerinin 39,37 (33,02-46,35) mg/dL olduğu görüldü. Hasta grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir yükseklik bulundu (p=0,001).

Skuamöz hücreli akciğer kanseri hastalarının radyoterapi sonrası, serum NF-κB konsantrasyonlarının medyan değeri 1,05 (0,85-1,12) ng/mL, sağlıklı kontrol grubunun ise 1,02 (0,95-1,12) ng/mL olarak bulundu. İki grubun serum NF-κB konsantrasyonları karşılaştırıldığında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamadı (p=0,610).

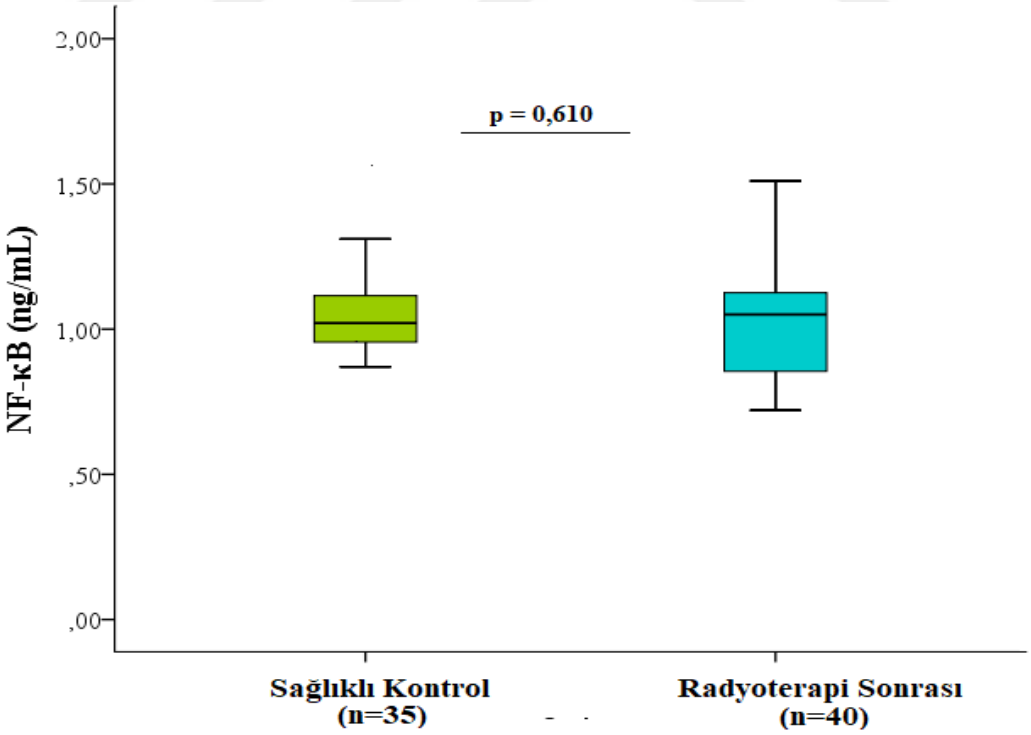
Sağlıklı kontrol grubu ve radyoterapi sonrası hasta grubuna ait Galektin-3, Sialik asit ve NF-κB parametrelerinin dağılımlarının kutu grafiği Şekil 39, Şekil 40 ve Şekil 41'de verilmiştir.



Şekil 39. Sağlıklı kontrol ve hasta (radyoterapi sonrası) gruplarında Galektin-3 ölçümlerinin dağılımının kutu grafiği şeklinde gösterimi



Şekil 40. Sağlıklı kontrol ve hasta (radyoterapi sonrası) gruplarında Sialik Asit ölçümlerinin dağılımının kutu grafiği şeklinde gösterimi



Şekil 41. Sağlıklı kontrol ve hasta (radyoterapi sonrası) gruplarında NF-κB ölçümlerinin dağılımının kutu grafiği şeklinde gösterimi

Tablo 13. Galektin-3, Sialik Asit ve NF-κB parametrelerinin ROC analiz sonuçları

	Galektin-3 (pg/mL)	**Sialik Asit** (mg/dL)	**NF-κB** (ng/mL)
AUC	0,683	0,722	0,394
%95 GA	0,565-0,786	0,607-0,819	0,487-0,717
SE	0,061	0,058	0,066
Cut off	113,68	42,14	0,91
Sensitivite (%)	67,5	77,50	40,00
Spesifite (%)	74,29	65,71	88,57
Pozitif Prediktif Değer (PV +)	75	72,1	80
Negatif Prediktif Değer (PV -)	66,7	71,9	56,4
p değeri	**0,0028***	**0,0001***	0,1053

AUC: Eğri altında kalan alan, SE: Standart hata, GA: Güven aralığı, Cut off: kesme değeri

Yaptığımız ROC analizine göre serum Galektin-3 için cut off (kesme) değeri 113,68 pg/mL alındığında testin skuamoz hücreli akciğer kanserli hastalarını ayırt etmedeki duyarlılığı %67,50, özgüllüğü %74,29 idi (AUC=0,683; p=0,0028; %95 güven aralığı=0,565-0,786).

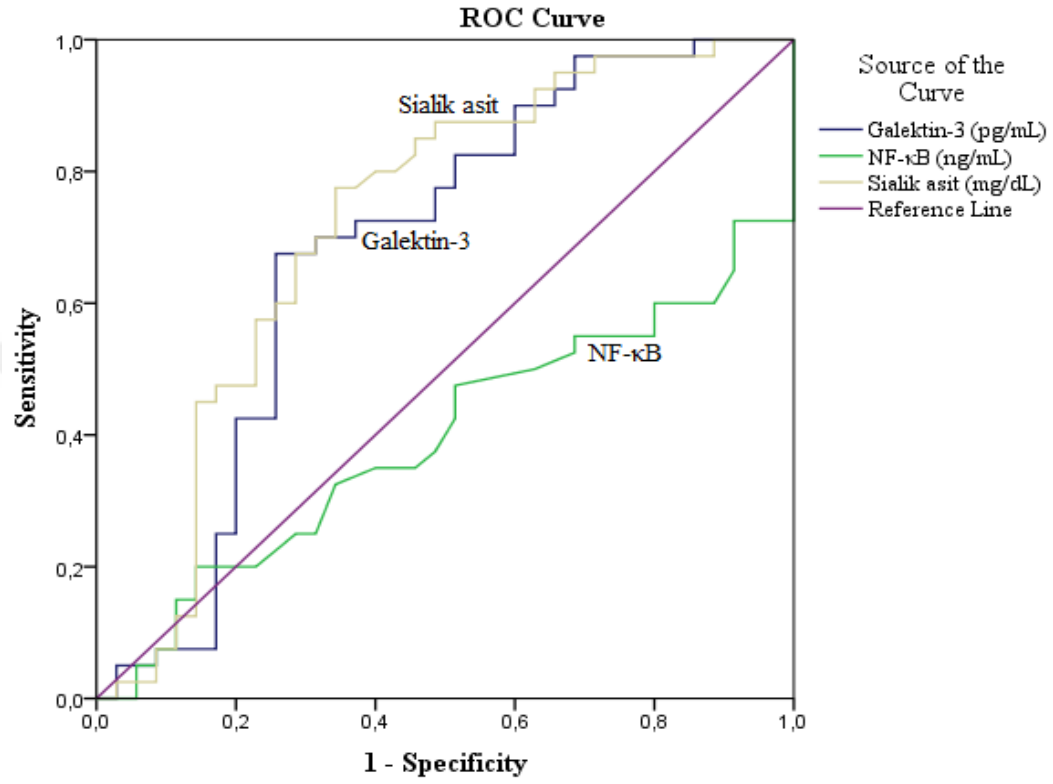
Serum Sialik asit düzeyleri için cut off (kesme) değeri 42,14 mg/dL alındığında testin skuamoz hücreli akciğer kanserli hastaları ayırt etmedeki duyarlılığı %77,50, özgüllüğü %65,71 idi (AUC=0,722; p=0,0001; %95 güven aralığı=0,607-0,819).

Yaptığımız ROC analizine göre NF-κB'nin skuamoz hücreli akciğer kanserli hastalarda tanısal değerinin olmadığı görüldü (p=0,1053).

Her üç parametrenin ROC analizi sonuçları Tablo 13'te verilmiştir.

Yaptığımız ROC analizine göre Galektin-3'ün AUC değeri 0,683 (p=0,0028) ve sialik asidin AUC değeri 0,722 (p=0,0001) olarak bulunmuştur. İstatistiksel olarak anlamlı çıkan bu iki parametrenin tanı koyduruculuk açısından birbirine üstünlüğü

yine ROC analizi ile karşılaştırılmış ve birinin diğerine üstünlüğünün olmadığı saptanmıştır (p=0,549). Bu amaçla yapılan ROC analizinin sonuçları Şekil 42'de gösterilmiştir.



Şekil 42. Galektin-3, Sialik asit ve NF-κB parametrelerinin ROC analizi

5. TARTIŞMA

Çalışmaya katılan hasta grubunun belirlenmesi hususunda radyasyon onkolojisi polikliniği ile beraber hareket edildi. Polikliniğe müracaat eden hastaların cinsiyet ve yaş dağılımları dengeli değildi; zaman içerisinde başvuran kişi sayısının artmasıyla daha homojen bir grup oluşması bekleniyordu. Fakat akciğer kanserinin doğası gereği birçok ülkede olduğu gibi bizim ülkemizde de erkeklerde kadınlardan fazla görülmesi ve belirlediğimiz alt grup olan skuamöz hücreli akciğer kanserinin en önemli risk faktörü olan sigara kullanımının ülkemizde erkeklerde daha yaygın olması sebebi ile bu durum sağlanamadı. Aynı zamanda kanserojen birikimlerin yıllar alması sebebi ile hasta grubumuzun yaş dağılımları da homojen değildi. Ayrıca radyoterapi alan hasta grubu genelde lokal ileri evre ve ileri evre akciğer kanseri olduğu için tedavi sırasında hayatını kaybeden veya herhangi bir sebeple tedaviyi tamamlayamayan hastalar oldu. Yine de toplam vaka sayısı tatmin ediciydi. Sağlıklı kontrol grubumuzun yaş aralığının hasta grubu ile uyumlu olması için 40-80 yaş aralığında sağlıklı gönüllü dahil edilmesi planlandı ancak bu yaş aralığında sağlıklı kontrol sayısı sınırlı olduğundan hasta ve kontrol yaş grubu dengeli dağılımı sağlanamadı. Hasta grubu ile kontrol grubunun cinsiyet açısından benzer olması için kontrol grubumuzun 29 kişisi (%82,9) erkeklerden oluşmaktadır. Erkeklerin sigara kullanma olasılığının kadınlardan daha yüksek (31) olması sebebiyle de sigara içme durumu kontrol grubu için dışlama kriteri olarak sayılamadı.

Akciğer kanseri vakalarının tahmini %53'ü 55-74 yaş aralığındaki kişilerde görülürken, kalan %37'si 75 yaş üstü kişilerde görülmektedir (31). Hasta grubumuzda 4 kişi 40-54 yaş aralığında, 13 kişi 55-64 aralığında, 23 kişi 65 yaş ve üzeri idi. Yapılan Ki-kare analizine göre yaş ile skuamöz hücreli akciğer kanseri arasında bir ilişki bulundu. Bu durum literatür ile uyumludur.

Katılımcıların sigara içme durumları göz önüne alındığında skuamöz hücreli akciğer kanserli hastalarımızdan 36'sı (%90) sigara içerken, 4'ünün (%10) içmediği görüldü ve yapılan Ki-kare analizine göre sigara kullanımı ve skuamöz hücreli akciğer kanseri arasında bir ilişki bulundu. Skuamöz hücreli akciğer kanserli hastaların çoğu mevcut veya eski sigara kullanıcısı olduğundan (48) bu sonuçlar literatürle uyumludur.

Radyoterapi öncesi ile sonrası hasta grubundan ve kontrol gruplarından alınan numunelerde kanser gelişimi ile ilişkili olabilecek üç parametrenin (Galektin-3, Sialik asit, NF-κB) ölçümleri yapıldı. Mevcut şartlarda laboratuvar altyapımıza uygun olduğundan, kabul edilebilir ve tekrarlanabilir sonuç verebileceğinden, gerektiğinde rutine adapte edilebilecek olması ve ultra bir yöntem olmamasından dolayı ölçüm yaparken ELISA yöntemini tercih edildi. ELISA ölçümlerinde elde edilen sonuçların ticari kitlerde belirtilen standart eğri aralığı içerisinde yer aldığı görüldü. Her üç parametre için standart eğrisinin R^2 değeri > 0,99 olarak bulundu. Kit içerisindeki direktifler doğrultusunda numuneler -80°C'de saklandı ve çalışmanın yapılacağı zaman kademeli olarak çözdürme işlemi uygulandı. Ayrıca hemoliz mevcudiyeti ölçümün doğru sonuç vermesini etkileyeceği için hemolizli serum örnekleri çalışmaya dahil edilmedi.

Radyoterapi, inoperabl akciğer kanseri hastaları için genellikle kemoterapi ile kombine edilen birincil tedavi yöntemidir (4). Radyoterapide, kanser hücrelerinin DNA'sına zarar vermek ve onları yok etmek amacıyla yüksek enerjili ışınlar kullanılır ve böylece vücudun belirli bölgelerindeki tümörlerin kontrol altına alınmasına veya ortadan kaldırılmasına yardımcı olabilir (45). Çalışmamızda bundan yola çıkarak apoptoz, proliferasyon, adezyon, invazyon, anjiogenez ve metastaz üzerinden kansere gidişte önemli rol oynayan bazı biyomoleküllerin seviyelerinin radyoterapiye bağlı olarak değişebileceği ve bu değişimin radyoterapinin etkisini değerlendirme hakkında fikir verebileceği düşünüldü. Bu amaçla Galektin-3, Sialik asit ve NF-κB biyomoleküllerinin radyoterapi öncesi ve sonrası arasındaki değişimi incelendi. Ayrıca Galektin-3, Sialik asit ve NF-κB parametreleri açısından sağlıklı kontrol grubu ile hasta grubu (radyoterapi öncesi ve sonrası) karşılaştırıldı.

Galektinlerin kemoterapi, immünoterapi, radyoterapi, hedefe yönelik ve antianjiyogenik tedavilere direnç kazandırarak kanser hastalarının tedavisini karmaşıklaştırdığı gösterilmiştir (233). Galektinlerin çeşitli mekanizmalarla radyoterapiye karşı direnç gelişiminde önemli bir rol oynadığı bilinmektedir. Bu mekanizmalar arasında Ras yolunun aktivasyonu, DNA hasarı onarımının indüklenmesi, apoptozisin blokajı ve radyoterapiye direncin başlıca nedeni olabilen neoplastik kök hücrelerin korunması yer alır (233). Bir çalışmada meme kanseri tümör

biyopsilerinde ve hücre hatlarında 10 Gy'lik bir dozla ışınlamadan sonra Galektin-9 ekspresyonu incelenmiştir. Neoadjuvan radyoterapi alan meme kanseri hastalarından alınan tümör rezeksiyonları sadece radyoterapiye yanıt vermeyen hastalarda başlangıç seviyelerine kıyasla daha yüksek olduğu görülmüştür. Ayrıca Galektin-9 ekspresyonunun ışınlamadan sonra meme kanseri tümör biyopsilerinde ve hücre hatlarında arttığı bulunmuştur. Bu da Galektin-9'un RT'den sonra tümör hücresi kalıcılığının bir belirteci olabileceğini düşündürmüştür (234). Glioma hücreleri üzerinde yapılan bir hücre kültürü çalışmasında 2, 6 ve 12 Gy radyasyona yanıt olarak bu hücrelerde Galektin-3 salgılanması önemli ölçüde artmıştır (235). Bizim çalışmamızda da hasta grubunda radyoterapi sonrası Galektin-3 düzeyinde artış oldu ancak bu artış istatistiksel olarak anlamlı değildi (p=0,493). Radyoterapiye cevap olarak direnç geliştirmek için tümör hücreleri Galektin-3 seviyesini artırmış olabilir. Shuster ve arkadaşları tarafından akciğer kanseri olan hastalarından oluşan bir grup üzerinde ELISA yöntemi ile yapılan bir çalışmada Galektin-3 seviyelerinin radyoterapi, kemoterapi, immunoterapi alan hastalarda daha düşük olduğu ama istatistiki olarak bu düşüklüğün sadece kemoterapi alanlarda anlamlı olduğu görülmüştür (236). Bahsi geçen çalışmada radyoterapi sonrası bir düşüş saptanmıştır ve bu durum bizim bulgularımızla uyuşmamaktadır. Mevcut tez çalışmamızda, tedavi protokolümüzde radyoterapi ile eş zamanlı kullanılan düşük doz kemoterapötik ajanların Galektin-3 seviyelerinde azalmaya sebep olabilmesine bağlı olarak radyoterapi sonrası artış net görülememiş olabilir. Yine akciğer kanserinin moleküler biyolojisi ve Galektin-3'ün hücre lokalizasyonuna ve tümör tipine bağlı zıt etkilerinin karmaşıklığından dolayı farklılıklar gözlemlenmiş olabilir.

Yaptığımız literatür taraması sonucunda, akciğer kanseri de dahil olmak üzere çeşitli kanser türlerinde sadece radyoterapi uygulandıktan sonra serum Galektin-3 seviyelerinin değişimini araştıran çalışmalar sınırlı sayıdadır. Ancak cerrahi, kemoterapi ve immünoterapi sonrası tümör yükünün azalmasına bağlı serum Galektin-3 seviyelerinin değişimini gösteren çalışmalar mevcuttur ve yapılan çalışmalar aşağıda özetlenmiştir.

Saussez ve arkadaşları tarafından baş boyun skuamöz hücreli karsinomlu hastalar üzerinde yapılan bir diğer çalışmada evre IV baş boyun skuamöz hücreli

karsinom hastalarının bir alt grubunda, tedaviden sonra dolaşımdaki Galektin-3 düzeyleri, tedavi öncesine kıyasla anlamlı düzeyde azalmıştır (237). Ancak bu çalışmada hem cerrahi rezeksiyon hem de post operatif farklı tedaviler (kemoterapi, radyoterapi vs) uygulandığından düşüklüğün sebebi diğer tedavilerle kombine edilmesi olabilir. Kataoka ve arkadaşları KHDAK hastalarında ameliyattan bir ay sonra serum Galektin-3 düzeylerinde anlamlı şekilde azalma olmadığını tespit etmişlerdir. Ve bu durumu yüksek düzeyde ekstraselüler Galektin-3 tümör hücresi hareketliliğini artırabilse de, KHDAK hastalarının tümör mikroçevresinde öngörülen seviye daha önce in vitro bildirilenden çok daha düşük olabileceği şeklinde yorumlamışlardır (238). Meme kanseri hastalarında cerrahi tedavi sonrası Galektin-3 serum seviyelerinin öncesine göre anlamlı olarak düştüğü görülmüştür (239). Bir çalışmada hepatosellüler kanseri olan hastalarda Galektin-3 düzeylerinin cerrahi, radyofrekans ablasyon veya transarteriyel kemoembolizasyon gibi tedavi yöntemleriyle önemli ölçüde azaldığı bulunmuştur (240). Meme, gastrointestinal, akciğer, over kanseri, melanom ve non-Hodgkin lenfoma hastalarında tümörün çıkarılması ile serum Galektin-3 konsantrasyonları azalmıştır. Kanserli dokuda antigalektin-3 antikoruyla immünoboyama, Galektin-3'ün sadece kötü huylu hücrelerde değil aynı zamanda kanser yuvalarına yakın makrofajlarda ve stromal hücrelerde de ifade edildiğini ve kanser yuvalarına hemen bitişik stromal hücrelerin yuvalardan daha uzaktaki hücrelere kıyasla daha yüksek bir Galektin-3 ifadesine sahip olduğunu göstermiştir. Bu sonuçlar, dolaşımdaki Galektin-3'ün sadece tümör hücreleri tarafından değil aynı zamanda peritümoral inflamatuar hücreler ve stromal hücreler tarafından da üretildiğini göstermektedir (132). Evreye bağlı kemoradyoterapi veya sadece kemoterapi alan mide kanserli hastalarda serum Galektin-3 düzeyi ile kemoterapiye yanıt arasında bir ilişki gösterilememiştir (241). Radyoterapi tümör mikroçevresini değiştirebilir, bağışıklık sistemini güçlendirebilir ve/veya ilaç dağılımını artırabilir (233). Bizim çalışmamızda radyoterapi sonrası bu artışın sebebinin Galektin-3'ün tümör mikroçevresindeki hücrelerden veya dolaşımdaki diğer hücrelerden de radyoterapinin oluşturduğu inflamasyona bağlı salınmış olabileceği de düşünülebilir. KHDAK hastalarına immunoterapi uygulanarak yapılan bir çalışmada Galektin-3 tümör ekspresyonu yüksek olan hastaların büyük çoğunluğunda üç tedavi küründen sonra hastalığında erken ve dramatik progresyon gösterdiği gözlemlenmiştir.

Tümör hücrelerinde Galektin-3'ün negatif veya düşük/orta düzeyde eksprese edildiği tüm hastalarda ise, immunoterapiye karşı erken ve kalıcı bir yanıt olduğu görülmüştür. Bu durum, Galektin-3'ün, tümör yanıtında bir biyobelirteç olabileceğini göstermiştir (242).

Çalışmamızda, skuamöz hücreli akciğer kanseri hastalarında radyoterapi öncesi Galektin-3 düzeyleri sağlıklı kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur (p=0,007). Bulgularımız literatür ile uyumludur. Galektin-3 ile akciğer kanseri arasındaki ilişkiye yönelik araştırmalar esas olarak akciğer kanseri dokusuna odaklanmaktadır ve akciğer kanserli kişilerin serumu üzerine yapılan araştırmalar daha nadirdir. Araştırma sonuçları çoğunlukla Galektin-3'ün akciğer kanseri malignitesi ile pozitif korelasyona sahip olduğunu göstermektedir (243). Blair ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada akciğer kanserli hastalarda tüm evrelerde kontrol grubuna göre Galektin-3 seviyesi anlamlı olarak yüksek bulunmuştur (244). Yoshimura ve arkadaşları, KHDAK hastalarında Galektin-3 proteinini kodlayan genin ekspesyonunun normal epitel hücrelerine kıyasla üç kat daha fazla arttığını göstermiştir (245). Meiyan ve arkadaşları Galektin-3'ün KHDAK dokusundaki ekspresyon oranını normal akciğer dokusundan anlamlı derecede yüksek bulmuştur. Galektin-3 ekspresyonunun KHDAK dokusunda cinsiyet yaş ve histolojik tip ile korelasyon göstermediği, ancak patolojik farklılaşma ile negatif korelasyon gösterdiği ve klinik evre ile pozitif korelasyon gösterdiği saptanmıştır (246). Periferik kandaki serum Galektin-3 düzeyleri, KHDAK hastalarında ve sağlıklı kontrol grubunda ELISA yöntemiyle karşılaştırılmış ve KHDAK hastalarında belirgin yüksek olduğu görülmüştür. Lenf nodu metastazı olan hastalarda serum Galektin-3 düzeyleri lenf nodu metastazı olmayan hastalara göre anlamlı derecede yüksek ve N2 lenf nodu metastazlı hastalarda serum Galektin-3 düzeyleri N1 lenf nodu metastazlı hastalara göre daha yüksek bulunmuştur. Evre III ve Evre IV hastalarının serum Galektin-3 düzeylerinin, Evre I ve Evre II hastalarına göre daha yüksek olduğu görülmüştür. Erken evre akciğer kanseri hastalarının ve sağlıklı kişilerin periferik kanındaki serum Galektin-3 konsantrasyonu ile karşılaştırıldığında, fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (243). Terzioğlu-Uşak ve arkadaşlarının primer olarak cerrrahi tedavi uygulanan evre IA-IIIA KHDAK'li 65 hasta ve 95 sağlıklı kontrol üzerinde yaptığı çalışmada serum Galektin-3 düzeyleri hastalarda kontrollerden

anlamlı derecede yüksek olduğunu belirtmişlerdir. Ortalama Galektin-3 mRNA ekspresyonu, kontrol dokusu olarak adlandırılan çevredeki sağlıklı dokuda tümör dokusundan daha yüksek bulunmuş, ancak bu farkın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı görülmüştür. Galektin-3'ün bazı varyantlarının KHDAK'li hastalarda platin bazlı kemoterapi yanıtı ve prognoz ile yakından ilişkili olduğunu bildirmişlerdir (247).

Diğer kanser çeşitleri ile yapılan birçok çalışmada da Galektin-3 düzeyi hasta grubunda kontrol grubundan anlamlı derece yüksek bulunmuştur. Örneğin mesane kanseri hastalarında hem serum seviyesi hem de doku ekspresyonu yüksek bulunmuştur (248). Pankreas karsinomu olan vakalarda serum Galektin-3 konsantrasyonu, iyi huylu pankreas hastalıkları olanlara ve sağlıklı kişilere göre daha yüksek bulunmuştur (249). Hepatosellüler karsinom hastalarında serum Galektin-3 düzeyi sağlıklı kontrollerle, kronik hepatit ve karaciğer sirozu hastalarıyla karşılaştırıldığında anlamlı derecede daha yüksek olduğu görülmüştür (240). Sağlıklı bireylerle kıyaslandığında meme, gastrointestinal, akciğer, over kanseri, melanom ve non-Hodgkin lenfoma hastalarında Galektin-3 serum seviyelerinin önemli ölçüde yüksek olduğu tespit edilmiştir (132). Kolorektal kanser hastalarında Galektin-3 serum düzeylerinde normal kontrollerle karşılaştırıldığında önemli bir artış gözlemlenmiştir (250). Mide kanserli hastalarda, serum Galektin-3 düzeyleri iyi huylu mide hastalığına sahip kişiler ve sağlıklı kontrollere göre anlamlı derecede yüksek olduğu görülmüştür, ancak iyi huylu hastalığa sahip hastalar ve sağlıklı kontroller arasında anlamlı bir fark bulunamamıştır (251). Bunların aksine bir çalışmada akciğer kanseri hastalarında Galektin-3 düzeyinin kontrol grubuna göre anlamlı düşük olduğu bulunmuştur (252). Yine farklı bir çalışmada mide kanseri hastaları ile sağlıklı kontroller arasında bazal serum Galektin-3 düzeyleri arasında anlamlı bir fark olmadığı bulunmuştur (241).

Çalışmamızda, skuamöz hücreli akciğer kanseri hastalarında radyoterapi sonrası Galektin-3 düzeyleri sağlıklı kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur (p=0,017). Literatürde radyoterapi sonrası akciğer kanseri hastalarında serum Galektin-3 seviyesinin kontrol grubuyla kıyaslandığı çalışmalara rastlanmamıştır. Hasta grubumuzdaki skuamöz hücreli akciğer kanserli kişiler lokal ileri evrede oldukları için radyoterapi ile tam kür sağlanamamış olabilir ve ayrıca

radyoterapiye yanıt olarak tümör hücreleri apoptozdan kaçmak, direnç geliştirmek amacıyla Galektin-3 sekresyonunu artırmış olabilir. Bu yüzden konsantrasyonlar kontrol grubuna yaklaşmak yerine göre yüksek kalmış ve anlamlı bir yükseklik gözlemlenmiş olabilir.

Tamas Szöke ve arkadaşları, evre II KHDAK hastalarında Galektin-3 ekspresyonunun kötü prognozun bir göstergesi olduğunu gözlemlemiştir (253). Serum Galektin-3 düzeyinin artması, KHDAK'nin ortaya çıkışı ve metastazı ile yakından ilişkili olarak bulunmuştur (254). Hem skuamöz hücreli karsinom hem de adenokarsinomda Galektin-3'ün sitoplazmada yoğunlaşması kötü prognozla ilişkilendirilmiştir (255). Galektin-3'ün yüksek ekspresyonu, lokal ileri evre adenokarsinomlu KHDAK hastalarında, kötü hastalıksız sağkalım ile anlamlı düzeyde ilişkili olduğu bulunmuştur (256). Bunun tersine KHDAK ile ilgili yapılan başka bir çalışmada Kosacka ve ark. Galektin-3 ekspresyonunun prognoz ile ilişkisinin olmadığını bildirmiştir (257).

Yaptığımız ROC analizine göre serum Galektin-3 için cut off değeri 113,68 pg/mL alındığında testin skuamoz hücreli akciğer kanserli hastalarını ayırt etmedeki duyarlılığı %67,50, özgüllüğü %74,29 idi (AUC=0,683; %95 güven aralığı: 0,565-0,786; p=0,0028). Terzioğlu-Uşak ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada KHDAK hastalarında serum Galektin-3 düzeyinin tanı değerini değerlendirmek için ROC eğrisi çizilmiş ve kesme değeri 17,089 ng/mL olarak hesaplanmış, maksimum duyarlılık ve özgüllük ise sırasıyla %88 ve %84 olarak bulunmuştur (AUC: 0,910; %95 güven aralığı: 0,832-0,988; p<0,001) (247). Saussez ve arkadaşları tarafından baş boyun skuamöz hücreli karsinomlu hastalar üzerinde yapılan bir çalışmada Galektin-3 düzeyi için kesme değeri %90 özgüllük ve %36 duyarlılık ile 4,3 ng/mL olarak bulunmuştur (p=0,030) (237). Mide kanseri hastalarında serum Galektin-3'ün tanısal performansı yine ROC analizi kullanılarak değerlendirilmiştir. Tüm vakalar için karşılaştırma grubu olarak iyi huylu hastalığı olanlar ve sağlıklı kontroller kullanıldığında, serum Galektin-3 için kesme değeri 13,30 ng/mL, duyarlılığı ve özgüllüğü sırasıyla %77,0 ve %82,7 olarak bulunmuştur (AUC değeri 0,843; 95% güven aralığı: 0,786–0,901) (251). Çalışmamız KHDAK ve diğer kanser türlerinde

yapılan çalışmaları destekler nitelikte olup Galektin-3'ün skuamöz hücreli akciğer kanseri hastalarında biyobelirteç olarak kullanılabileceği gösterildi.

Sialik asitler, tümör gelişimini desteklemektedir ve buna ek olarak tümör mikroçevresinde tedavi direnci üzerinde önemli bir etkiye sahiptir (258, 259). Anormal sialilasyonun, özellikle sialiltransferazların aşırı ekspresyonunun ve sialidazların anormal (genellikle azalmış) ekspresyonunun kanser tedavisinde tedaviye dirence sebep olduğuna dair kanıtlar bulunmaktadır (260). İyonlaştırıcı radyasyonun, insan kolorektal kanser hücrelerinde ST6Gal-I ve α-2,6 siyalile edilmiş integrin β1 seviyelerini artırdığı ve böylece integrin β1 aracılı hücresel sağkalım sinyallemesi yoluyla bu hücrelerin adezyonunu ve göçünü güçlendirdiği gösterilmiştir (152). Kanser tedavisi alanında, radyasyon maruziyetinin membran glikoproteinlerinin sialilasyonunu artırdığı ve kanser hücrelerinin radyasyon direncine katkıda bulunduğu keşfedilmiştir. Lee ve arkadaşları, hem insan lenfoma B hücrelerinin hem de lösemik monositlerin, γ ışınlarına maruz kalmaya yanıt olarak integrin β1'in sialile edilmiş formunu eksprese ettiğini gözlemlemiştir (261). Smithson ve arkadaşları tarafından yapılan bir araştırma, radyasyonla indüklenen ST6Gal-1'in rektal adenokarsinomda tümör nekroz faktörü reseptörü 1 ve Fas reseptörü dahil olmak üzere pro-apoptotik proteinlerin işlevini etkilediğini ve bunun da apoptotik sinyal yayılımının azalmasına neden olduğunu ortaya koymuştur (262). Yani sialil trasferazların radyoterapiye yanıt olarak farklı tümörlerde hem tümör hücrelerinde hem de tümör bölgesindeki hücrelerde çeşitli proteinlerin sialilasyonunu artırdığı görülmüştür. Çalışmamızdaki radyoterapi sonrası anlamlı olmamakla beraber gözlenen artışın bu sebepten ötürü olabileceği düşünüldü.

Literatürü taradığımızda akciğer kanseri hastalarında radyoterapi sonrası serum sialik asit düzeylerini gösteren çalışmalara rastalamadık ancak farklı kanser türlerinde radyoterapi sonrası sialik asit düzeylerinin değişimini gösteren çalışmalar mevcuttu. Bu çalışmalara göre:

Serviks karsinomu olan hastalara 5-6,5 haftada 50-65 Gy radyasyon uygulandığında radyoterapinin bir hasta hariç tüm hastalarda serum sialik asit düzeyinde tedavi sonrası anlamlı derecede düşüşe neden olduğu gözlemlenmiştir.

Ayrıca, erken evre serviks kanseri hastalarında sialik asit düzeyindeki düşüşün geç evreye göre anlamlı derecede daha yüksek olduğu görülmüştür. Radyasyon dozu ile serum Sialik asit düzeyindeki düşüş arasında bir ilişki gözlenmemiştir. Radyoterapiye tam klinik yanıt veren hastalarda, kısmi yanıt veren veya yanıt vermeyen hastalara kıyasla serum sialik asit düzeyinde anlamlı derecede daha fazla düşüş olduğu belirlenmiştir (263). Bir çalışmada serviks kanseri tanısı alan tedavi edilmemiş 108 serviks kanseri hastasındaki TSA serum konsantrasyonları ölçülmüş, radyoterapiye yanıt vermeyen hastalarda TSA değerlerinin yanıt verenlere göre anlamlı derecede yüksek olduğu görülmüştür (264). Baş boyun kanseri hastalarına radyoterapi uygulanan bir çalışmada, radyoterapiye yanıt verenlerde tanı sırasındaki düzeylerle karşılaştırıldığında sialik asit düzeylerinin önemli ölçüde azaldığı, yanıt vermeyenlerde ise düzeylerin sürekli olarak yüksek kaldığı görülmüştür (265). Yapılan bu çalışmalardaki radyoterapi sonrası düşüş bizim bulgularımızla örtüşmemektedir. Bu zıtlık hem akciğer kanserinin karmaşık patofizyolojisinden hem de tümör hücrelerinin, radyoterapinin apoptotik etkisinden kaçmak için sialik asit düzeylerini artırabilmesinden kaynaklı olabilir. Yukarıda da belirtildiği üzere radyoterapi sonrası erken evre serviks kanseri hastalarında sialik asit düzeyindeki düşüş geç evreye göre anlamlı derecede daha yüksek olduğu görülmüştür (263). Çalışmamızda Sialik asit konsantrasyonları hasta grubunda radyoterapi sonrası anlamlı olmayan bir artış gösterdi (p=0,096). Bizim de hasta grubumuzun tamamı lokal ileri evre (Evre III) olduğu için radyoterapiye nispeten daha dirençli olabilirler ve bu yüzden belirgin bir düşüş gözlemlenmemiş olabilir.

Akciğer, meme, yumurtalık, pankreas ve prostat kanseri de dahil olmak üzere çeşitli kanser türlerinin tümör hücre yüzeylerinin %40-60'ına kadar hipersialilasyon olması ayırt edici özellikleridir (167). Bazı kanser türlerinde (serviks, endometriyum, over, kolorektal, hipofarinks, larinks, tiroid, ağız, mide, safra kesesi, beyin tümörleri, lösemi, Hodgkin lenfoma, akciğer kanseri, bronkojenik kanserler, malign plevral efüzyon ve melanom) artan sialiltransferaz aktivitesi ve tümör hücrelerinin yüksek turnover hızı, anormal sialik asitler içeren hücre yüzeyi glikokonjugatlarının kendiliğinden dolaşıma karışmasına yol açarak serum sialik asit konsantrasyonlarının artmasına neden olabilir (266, 267). Çalışmamızda sialik asit düzeyleri radyoterapi öncesi hasta grubunda sağlıklı kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksekti

(p=0,001). Bu sonuçlar literatürdeki çalışmalarla uyumludur. Gökmen ve arkadaşları tarafından henüz hiç kemoterapi ve/veya radyoterapi almamış KHDAK ve KHAK'li hastalar üzerinde yapılan bir çalışmada KHDAK'li hastaların serum TSA ve LSA düzeyleri sağlıklılara göre anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. KHDAK'li hastalar, skuamöz hücreli karsinom ve adenokarsinom olmak üzere gruplandırıldığında adenokarsinomlu ve skuamöz hücreli karsinomlu hastaların serum TSA ve LSA düzeyleri ayrı ayrı da sağlıklılardan daha yüksek bulunmuştur (268). Başka bir çalışmada akciğer kanseri hastalarında ve tüberküloz hastalarında, sağlıklı kontrole kıyasla serum TSA ve LSA miktarı anlamlı derecede yüksek bulunmuştur, akciğer kanseri ve tüberküloz hastaları arasında ise TSA değerleri açısından anlamlı bir fark bulunmamıştır (269). TSA'nın ortalama serum düzeyleri skuamöz hücreli akciğer kanseri olgularında diğer KHDAK alt tiplerine göre anlamlı düzeyde daha yüksek bulunmuştur. TSA, akciğer kanseri grubunda hem benign akciğer kanseri grubuna hem de sağlıklı kontrol gruba göre anlamlı düzeyde yüksek saptanmıştır. Ayrıca benign akciğer hastalığı grubu ortalamaları da sağlıklı kontrol grubundan yüksek bulunmuştur (270). Serum TSA ve LSA düzeylerinin kontrol grubuna kıyasla, akciğer kanserli hasta grubunda yüksek bulunduğu bir çalışmada ayrıca serum TSA düzeyinin, metastazı olan akciğer kanserli hasta grubunda metastazı olmayanlara göre daha yüksek olduğu görülmüştür (271). Krolikowski ve ark. çalışmalarında akciğer kanseri hastalarında kontrol grubuna göre sialik asit düzeylerinin anlamlı olarak yüksek olduğunu, ancak hastalığın ekstratorasik yayılımı ile sialik asit düzeyleri arasında anlamlı bir ilişki olmadığını gözlemlemişlerdir (272). TSA ve LSA'nın ortalama serum konsantrasyonları akciğer kanseri hastalarında, benign hastalık grubu ve sağlıklı kontrol gruplarına kıyasla anlamlı derecede yüksek çıkmıştır (273). Akciğer kanseri hastalarında ortalama serum TSA düzeyinin kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulunduğu bir çalışmada, KHDAK hastalarında küçük hücreli akciğer kanseri hastalarına göre istatistiksel olarak anlamlı olmayan bir serum TSA yüksekliği tespit edilmiştir (274).

Literatür taramamız sonucunda, serum sialik asit konsantrasyonlarının farklı kanser türlerinde de hasta grubunda sağlıklı kontrol grubuna göre belirgin yüksek olduğu çalışmalara rastlandı. Bu çalışmalar aşağıda özetlenmiştir.

Serviks karsinomu olan 66 hastada ve 25 sağlıklı kontrolde serum ortalama Sialik asit düzeyinin serviks kanseri hastalarında anlamlı derecede yüksek olduğu saptanmıştır (263). Benzer şekilde 108 serviks kanseri hastasındaki TSA ve LSA serum konsantrasyonları ile 125 sağlıklı kontrol grubu düzeyleri karşılaştırıldığı bir çalışmada serviks kanseri hastalarında TSA ve LSA düzeyleri kontrollere kıyasla anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. Erken (Evre I-II) ve ileri (Evre III- IV) evre malign hastalık arasında anlamlı bir fark olmadığı görülmüştür (264). Berbec ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada TSA düzeyleri over kanseri hasta grubunda sağlıklı kontrollere göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. TSA düzeyinin ileri evre hastalarda daha yüksek olarak bulunması, TSA'nın tümör yükünü de yansıttığını göstermektedir (275). Baş boyun kanseri hastalarında serum sialik asit seviyeleri sağlıklı kontrollere göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur (265). Oral ve maksillofasiyal bölgede 80 sağlıklı birey ve 40 iyi huylu, 61 kötü huylu tümörlü hastada serum sialik asit düzeyleri tiyobarbitürik asit yöntemi kullanılarak ölçülmüştür. Kanser grubunun, kontrol grubu ve iyi huylu hastalık grubundan istatistiksel olarak daha yüksek sialik asit düzeylerine sahip olduğu gösterilmiştir, ancak sağlıklı kontrol grubu ile iyi huylu tümörlü hastalar arasında anlamlı bir fark görülmemiştir. Serum sialik asit düzeyleri Evre III ve IV kanserli hastalarda, Evre I ve II kanserli hastalara göre anlamlı olarak daha yüksek bulunmuş, ancak Evre I ile II arasında ve Evre III ile IV kanser hastaları arasında belirgin bir fark görülmemiştir (276). Serum TSA ve LSA düzeylerinin, tedavi edilmemiş oral kanserli hastalarda sağlıklı bireylere ve oral prekanseröz durumlu hastalara kıyasla anlamlı derecede yüksek olduğu görülmüştür. TSA ve LSA düzeyindeki ilerleyici artışın kötü huylu hastalığın evresiyle ilişkili olduğu bulunmuştur (277).

Çalışmamızda sialik asit düzeyleri radyoterapi sonrası hasta grubunda sağlıklı kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksekti (p=0,001). Radyoterapi, tümör hücrelerinde hipersialilasyonu tetikleyen bir etkendir. Bu sebeple radyoterapi sonrası tümör hücreleri hipersialize olup bu sialik asitler dolaşıma karışabildiği için seviyesinin kontrol grubundan yüksek belirlenmesine sebep olabileceği düşünüldü.

Akciğer kanserli hastalarda yapılan bir çalışmada, ROC analizine göre serum sialik asidin hastaları ayırt etmedeki duyarlılığının %90, özgüllüğünün %56 olduğu

görülmüştür (269). Yine başka bir çalışmada TSA'nın kesme değeri 89 mg/dL, duyarlılığı %88 ve özgüllüğü %55 olarak bulunmuştur (270). Sağlıklı bireylere ait değerler negatif, KHDAK'li hastalara ait değerler pozitif olarak alındığında, kesme değeri, duyarlılık ve özgüllük TSA için sırasıyla 62,28 mg/dL, %94,1 ve %100 olarak saptanmıştır (268). Bizim çalışmamızda ise serum sialik asit düzeyleri için kesme değeri 42,14 mg/dL olarak bulunmuştur. Kesme değeri 42,14 mg/dL alındığında testin skuamoz hücreli akciğer kanserli hastaları ayırt etmedeki duyarlılığı %77,50, özgüllüğü %65,71 idi (AUC=0,722; %95 güven aralığı: 0,607-0,819; p=0,0001). Çalışmamız literatürdeki çalışmaları destekler niteliktedir. Sialik asidin skuamöz hücreli akciğer kanseri hastalarının tanısına yardımcı bir tümör biyobelirteci olarak kullanılabileceği düşünüldü.

Çalışmamızda Galektin-3 ile sialik asit arasında anlamlı pozitif yönlü bir korelasyon bulundu. Literatürde bu iki parametre arasında korelasyon gösteren çalışmalara rastlanmadı. Ancak lenfoma hücreleri üzerinde yapılan bir çalışmada, makrofajlar veya fibroblastlar tarafından üretilen Galektin-3'ün, lenfoma hücrelerinin yüzeyindeki N-glikanların terminal galaktoz kalıntılarıyla reaksiyona girerek apoptozu indüklediği gösterilmiştir. Hipersialilasyon üzerine sialik asitlerin, N-glikanların terminal galaktoz kalıntılarına bağlandığı ve bununda Galektin-3'ün, lenfoma hücrelerinin yüzeyindeki N-glikanların terminal galaktoz kalıntılarıyla reaksiyona girmeyi engellediği gözlenmiştir. Nöraminidazın, N-glikanların terminal galaktoz kalıntılarından siyalik asitleri uzaklaştırarak, terminal galaktoz kalıntıları ile Galektin-3 arasındaki etkileşimi artırdığı ve bunun da lenfoma hücrelerinin Galektin-3 ile indüklenen apoptozunu teşvik ettiği gösterilmiştir. Bu nedenle, hücre yüzeyi oligosakkaritlerinin sialilasyonu, Galektin-3 ile indüklenen apoptozu inhibe edebildiği görülmüştür (278). Yine hücre yüzeyinde Fas reseptörünün ve TNF reseptörünün hipersialilasyonu, tümör hücrelerinde reseptör internalizasyonunu ve aşağı akış hücre ölümü sinyallemesini engeller. İntegrinler gibi hücre dışı galektin bağlayıcı bölgelerin sialilasyonu Galektin-3 ile integrin bağlanmasını bloke edebilir. Böylece dolaşımdaki Galektin-3 bağlanamaz ve galektin kaynaklı apoptotik sinyalleme azalabilmektedir (167). Çalışmamızda da tümör hücrelerinin doğası gereği apoptozdan kaçmak için hipersialile olmasına bağlı olarak dolaşımdaki Galektin-3'ün tümör hücre yüzeyine bağlanamaması neticesinde seviyelerinin artabileceği ve hipersialile yüzeydeki sialik

asitlerin dolaşıma karışabilmesine bağlı olarak dolaşımda bu ikisinin beraber artması ile pozitif yönde anlamlı bir korelasyon bulunmuş olabileceği düşünüldü.

NF-κB'nin anormal ekspresyonu birçok malignitede tespit edilmiştir. NF-κB, inflamasyon, apoptoz, hücre sağkalımı, proliferasyon, invazyon, anjiyogenez, metastaz, tümör hücresi dönüşümü, kemoterapi direnci ve radyoterapi direnci ile ilişkili genlerin ekspresyonunu düzenleyen bir transkripsiyon faktörüdür (279). Radyoterapi, programlanmış hücre ölümü yoluyla kanserli hücrelerin ortadan kaldırılmasını sağlamak amacıyla DNA'da çift sarmal kırılmalarını indüklemesi yoluyla etki eder (280). NF-κB, DNA'ya zarar veren ajanlar tarafından aktive edilir. NF-κB aktivasyonun DNA onarımına izin vermek için hücre döngüsünün durdurulmasına ve DNA hasarının fazla olduğu hücrelerin apoptoz yoluyla ortadan kaldırılmaktan kaçmasına izin verebileceği gösterilmiştir (281-284). Yine belirli koşullar altında, NF-κB transkripsiyonel bir baskılayıcı olarak da işlev görebilir. Örneğin, DNA hasarına yanıt olarak NF-κB, gen transkripsiyonunu aktive etmek yerine baskılar; bu durum, p53 ve ARF gibi tümör baskılayıcılarla veya transkripsiyonel baskılayıcılarla olan etkileşimleri içerebilir (207, 208). Işınlama sırasında üretilen reaktif oksijen türleri de NF-κB aktivasyonuna neden olabilir (285). Bir çalışmada iyonize radyasyonun, NF-κB'nin DNA'ya bağlanmasını aktive ettiği gösterilmiştir. Bu etki 2 Gy'de tespit edilebilmiş ve 5-20 Gy'de maksimuma ulaştığı gözlemlenmiştir. 20 Gy'lik bir dozda, NF-κB bağlanma aktivitesindeki artış 24 saatte maksimuma ulaşmış ve daha sonra tedavi öncesi seviyelere düşmüştür. Ayrıca iyonize radyasyonun NF-κB mRNA seviyelerini geçici olarak artırdığı da gösterilmiştir (286).

Yapılan çalışmalar, NF-κB'nin inflamasyon ve kanser arasındaki ilişkide moleküler bir bağlantı olarak rol aldığını göstermiştir (202, 287, 288). NF-κB, inflamasyona maruz kalan hücrelerin apoptoz ile ortadan kaldırılmalarını önler ve makrofajlar tarafından, dönüştürülmüş hücreleri destekleyen büyüme faktörlerinin salınmasını sağlar. İyonize radyasyon da inflamasyonu indükler (289). İyonize radyasyon hücrenin hayatta kalma ve ölümü arasındaki homeostatik dengeyi değiştirerek hem proliferatif hem de antiproliferatif sinyal yollarını aktive eder (290). Bağışıklık sisteminin, tümörlerde önemli bir rol oynadığı uzun zamandır bilinmektedir. Bir yandan, bağışıklık faktörleri kanser hücrelerini öldürerek veya

büyümelerini engelleyerek tümör gelişimini baskılayabilir. Öte yandan, bağışıklık hücreleri tümör ilerlemesini desteklemeye katkıda bulunan bir bağışıklık baskılayıcı mikroçevreyi indükleyebilir (291). Hallahan ve arkadaşları radyasyonun, TNF-α üretimini indüklediğini ve bunun da bazı ölümcül etkilere aracılık ettiğini göstermiştir (292, 293). Tümör dokusunda radyasyon harabiyetinden kaçan hücreler TNF-α'ya bağlı ikinci sinyalleme (NF-κB→TNF-α→NF-κB) geri bildirimi aracılığıyla NF-κB'yi sürekli olarak aktive eder. Bu durumun apoptoz inhibitörü proteinler aracılı radyoterapi direncine sebep olduğu ve tümör hücresinin hayatta kalma şansını artırdığı bildirilmiştir (294). Bir çalışmada postoperatif radyopterapi alan hastalarda apoptoz inhibitör proteinlerinden biri ile NF-κB arasında anlamlı pozitif bir korelasyon bulunmuştur. NF-κB'nin yüksek ekspresyonu, sağkalımın azalmasıyla ilişkilendirilmiştir (295). Kronik inflamasyonun NF-κB de dahil birçok yolağın aktivasyonu ile akciğer kanseri gelişiminde rol aldığın göstermektedir (296, 297). KHDAK hücre hatlarında, tütün bileşenlerinin Akt'ye bağımlı çoğalmayı uyardığı ve NF-κB'ye bağlı hücrenin hayatta kalmasını sağladığı böylece akciğer kanseri hücrelerinin çoğalmasını ve hayatta kalma şansını artırdığı gözlemlenmiştir (298). Normalde hücrelerde, NF-κB proteinleri ve inhibitör-κB (I-κB) kompleks olarak sitoplazmada inaktif halde tutulurken I-κB'nin IKK (IκB kinaz) aracılığı ile bozunması sonucu NF-κB çekirdeğe geçtiği görülmüştür (299). Tütün dumanına maruz kalan iki bağımsız deneysel hayvan (fare) grubunda, IL-6 ve TNF-α gibi sitokinlerin IKKβ'ya bağımlı NF-κB ekspresyonunu aktive ederek miyeloid hücrelerde tümör büyümesini artırdığı gösterilmiştir (227). NF-κB'nin inhibitör bir alt birimi olan IKKα'nın down regülasyonu, pulmoner inflamasyonun artmasına ve akciğer skuamöz hücreli karsinomlarının gelişmesine yol açtığı bildirilmiştir (300). Transgenik bir fare modelinde, solunum yolu epitel hücrelerinde spesifik bir NF-κB inhibitörünün ekspresyon düzeyinin artması sonucu, hem akciğer inflamasyonu hem de tümör oluşumu azaldığı gözlemlenmiştir (301).

Çalışmamızda radyoterapi sonrası hasta grubunda radyoterapi öncesine göre NF-κB seviyelerinde bir artış vardı. Ancak bu artış anlamlı değildi (p=0,336). İnflamatuar hücreler tarafından radyoterapi bölgesinde salınan TNF-α'nın, NF-κB için hem bir indükleyici hem de bir hedef gen olduğu düşünüldüğünde, kronik enflamasyon durumuna benzer şekilde tümör hücrelerinin apoptozu üzerinden radyoterapi etkilerini

artıran bir döngü meydana gelebilir. Ancak NF-κB'nin hem apoptotik hem antiapoptik etkileri olduğu düşünülülürse, antiapoptik etki ile tümör hücrelerinde radyoterapi direnci de meydana gelebilir. Çalışmamızda radyoterapi sonrası hasta grubundaki NF-κB seviyelerinin anlamlı olmasa da artışı bu durumla açıklanabilir.

Bazı durumlarda hem kemoterapi hem de radyoterapi NF-κB aktivasyonunu indükler ve bu da tedavi seçeneklerine karşı direnç gelişmesine neden olur (302). Özofageal adenokarsinom hastalarında çıkarılan tümörlerin NF-κB ifadesi neoadjuvan kemoterapi ve radyoterapiye verilen tam yanıtlarla ters orantılı bulunmuştur. NF-κB negatif grupta tedaviye yanıt verenlerin 15/20'si (%75), NF-κB pozitif gruptaki yanıt verenlerin 7/38'i (%18) tam yanıt verdiği görülmüştür (303). Paklitaksel (304) ve karboplatin (305) yaygın olarak kullanılan kemoterapi ilaçları NF-κB kaskadını aktive edebilir. Çalışma grubumuzdaki hastalara tedavi sırasında radyoterapi ile eş zamanlı düşük doz kemoterapi de uygulandı. İlaç olarak çoğunda karboplatin ve paklitaksel kemoterapötikleri kullanıldı. Çalışmamızda radyoterapi sonrası hasta grubunda radyoterapi öncesine göre anlamlı olmamakla bereber serum NF-κB düzeylerinde bir artış görüldü bu artışın bir sebebi de hem radyoterapi hem de kemoterapötiklere karşı oluşan direnç olabilir.

Kanser hücrelerindeki inflamatuar transkripsiyon faktörlerinin aktivasyonun kansere bağlı ölümlerin bir kısmından sorumlu olduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur. NF-κB de bu faktörlerden biridir ve hücresel yaşlanma, apoptoz, metabolizma, stres yanıtları ve tümörogenez gibi çeşitli fizyolojik ve patolojik süreçler aracılığıyla malign tümör gelişimine neden olduğu bilinmektedir. KHDAK hastalarında da NF-κB protein ekspresyonunun; tümör evresi, histolojisi ve invazyonu ile ilşkili olduğu görülmüştür (306). NF-κB ailesi p50, p52, p65 (RelA), RelB ve c-Rel olarak bilinen 5 alt üyeden oluşur (189). Literatür tarandığında akciğer kanseri dahil birçok kanser türünde NF-κB'nin hücre kültürü, doku ve hayvan çalışmalarında ekspresyonu ve mRNA artışı incelenmiştir. Bu çalışmalar aşağıda özetlenmiştir.

İmmunohistokimyasal method kullanılarak KHDAK dokularında NF-κB p65 ekspresyonu, komşu normal akciğer dokularındakinden önemli ölçüde daha yüksek bulunmuştur. RT-PCR ile NF-κBP65 mRNA ekspresyonu ölçülmüş ve KHDAK

dokularında komşu normal akciğer dokularındakinden önemli ölçüde daha yüksek bulunmuştur (307). Yine bir immunohistokimyasal çalışmada NF-κB ailesi üyelerinden RelB ekspresyonu, KHDAK hastalarında neoplastik olmayan komşu dokuya kıyasla tümör dokusunda artmıştır. Yüksek RelB ekspresyonu, KHDAK hastalarında diferansiyon derecesi, tümör invazyon, lenf nodu metastazı, uzak metastazlar ve tümör nodu metastaz evresi ile anlamlı şekilde ilişkili bulunmuştur. RelB ekspresyonu yüksek olan KHDAK hastalarının genel sağkalımının, RelB ekspresyonu düşük olanlara göre anlamlı derecede daha kısa olduğu görülmüştür. Yüksek RelB ekspresyonunun KHDAK'li hastalar için bağımsız bir prognostik faktör olduğu gösterilmiştir (308). Yani NF-κB'nin aşırı ekspresyonunun, KHDAK hastalarında sağlam dokuya göre daha yüksek olduğu görülmüş ayrıca kanser hücresi metastazı ve olumsuz prognoz ile ilişkili bulunmuştur. Bir çalışmada insan akciğer kanseri hücre hatlarında in-vitro olarak yapılan deneylerde, NF-κB ailesine ait transkripsiyon faktörleri (p50 ve p65 alt biriminin), western blot ve immünohistokimyasal yöntemlerle analiz edildiğinde bu transkripsiyon faktörlerinin, hücresel ekstraktın nükleer fraksiyonunda eksprese ve lokalize edildiği gözlemlenmiştir. İmmünopresipitasyon analizi, hücrede p50 ve p65 alt birimlerinin NF-κB kompleksi oluşturduğunu göstermiştir. Elektroforetik hareketlilik değişimi testi akciğer kanseri hücre dizilerinin nükleer ekstraktlarında NF-κB'nin konsensüs DNA dizilerine bağlanabildiği gösterilmiştir. Bu veriler, insan akciğer kanseri hücre hatlarında NF-κB p50/p65 kompleksinin aktive edilebileceği ve NF-κB ailesi transkripsiyon faktörlerinin insan akciğer kanserinin gelişiminde rol oynayabileceği hipotezini güçlendirmektedir (309). Akciğer kanserlerinde yüksek seviyelerde nükleer immünohistokimyasal NF-κB p65 ekspresyonu tespit edilmiş; küçük hücreli akciğer kanserlerinde KHDAK'ye göre anlamlı derecede daha yüksek bulunmuştur. Preneoplastik lezyonlarda histolojik şiddetinin artmasıyla birlikte NF-κB p65 ekspresyonunda artış tespit edilmiştir. NF-κB p65 nükleer ekspresyonunun, akciğer kanseri patogenezinde erken ve sık görülen bir durum olduğu gözlemlenmiştir (225). Deneysel hayvan modelleri ile yapılan çalışmalarda, NF-κB ekspresyonunu hedef alan inhibitörlerin, akciğer kanseri hücrelerinin tümör oluşumunu ve anjiyogenez kapasitesini de inhibe ettiği gözlemlenmiş ve sonuçta NF-κB azaldığı için tümör oluşumu ve ilerlemesi azalmıştır (310).

NF-κB aktivasyonu, sadece akciğer kanseri değil çeşitli insan kanserlerinin oluşumu ve ilerlemesi ile ilişkilendirilmiştir (311-315). Bir çalışmada normal kolorektal mukozadan on örnek ve 52 kolorektal adenokarsinom cerrahi veya endoskopi ile elde edilmiştir. Parafine gömülmüş doku kesitlerinde NF-κ B/RelA immünohistokimyasal ekspresyonu tespit edilmiştir. Kanserli dokularda RelA ekspresyonu normal kolorektal mukozaya göre anlamlı bir şekilde yüksek olduğu bulunmuştur (316). Kolorektal kanser hastalarında NF-κB aktivasyonun sağlıklı kontrollere göre anlamlı derecede yüksek olduğu görülmüştür (317). Kolorektal normal epitel, adenomatöz, adenokarsinom dokusu immünohistokimyasal olarak analiz edilmiş ve NF-κ B aktivasyonu adenokarsinom dokusunda adenomatöz ve normal epitel dokuya kıyasla önemli ölçüde daha yüksek olduğu görülmüştür (318). Prostatik intraepitelyal neoplazi ve prostat kanseri hücre hatlarında NF-κB p65 ekspresyonu normal dokuya kıyasla istatistiki olarak anlamlı bir artış gösterilmiştir (313). Bazı araştırmacılar meme kanseri, renal hücreli karsinom ve oral skuamöz hücreli karsinom gibi çeşitli solid malignitelerde yüksek NF-κB ekspresyon seviyeleri tespit etmişlerdir (319-321). Bazı solid tümörlerde ise NF-κB'nin aşırı ekspresyonu kötü prognozla ilşkilendirilmiştir (322). Özefagus kanseri hastalarında, NF-κB aktivasyonunun agresif klinik ve tedaviye yanıtın kötü olması ile ilişkili olduğu gözlenmiştir (323). Yüksek dereceli displazide ve bademcik skuamöz hücreli karsinomunda aşırı eksprese edilen NF-κB, yüksek nüks ve kötü sağkalım açısından daha kötü prognozla ilişkili bulunmuştur (324). NF-κB aktivasyonu erken evre mide karsinomunda gözlenmiştir. NF-κB aktivasyonunun mide karsinomunda değerli bir prognostik değişken olduğu gösterilmiştir (315). Daha önce tanımlanmış bir NF-κB ile indüklenebilir gen olan IκBα'nın, insan pankreas tümör dokularında ve hücre hatlarında aşırı eksprese edildiği gözlenmiştir (325).

NF-κB'nin kanser hastalarında serum seviyesinin analizi ile ilgili çalışmalar sınırlıdır. Bir çalışmada serum NF-κB düzeyleri Epstein Barr Virüsü pozitif orofarenks skuamöz hücreli karsinomunlu hastalarda kontrollerle karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulunmuştur (326). Kundaktepe ve arkadaşları tarafından 40 kolon kanseri, 40 meme kanseri ve 30 sağlıklı kontrol üzerinde yapılan bir çalışmada serum NF-κB düzeyleri ölçülmüş ve hem kolon hem meme kanseri hastalarında kontrol grubuna göre anlamlı yüksek bulunmuştur. Meme kanserinde NF-κB tümör

derecesi ve metastaz ile pozitif korelasyon göstermiştir. Kolon kanseri grubunda da NF-kB tümör dercesi ile ve metastaz varlığı ile pozitif korelasyon göstermiştir (327). Durmuş ve arkadaşları tarafından 50 kolorektal kanser hastası 40 kontrol grubu ile yapılan çalışmada NF-κB'nin plazma düzeyleri ELISA yöntemi ile ölçülmüştür. NF-κB, hasta grubunda kontrol grubuna göre ve tümör boyutu dört cm'den büyük olanlarda küçük olanlardan anlamlı düzeyde yüksek olduğu görülmüştür. Metastaz yapan hastalarda metastaz yapmayanlara göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur (328).

Çalışmamızda kapsamında, sağlıklı kontrol ile radyoterapi öncesi hasta grubu karşılaştırıldığında, NF-κB düzeyleri arasında anlamlı bir fark bulunamadı (p=0,113). NF-κB bir transkripsiyon faktörüdür. Normalde sitoplazmada inaktif halde tutulurken çeşitli uyaranlarla aktive olup çekirdeğe geçip birçok genin transkripsiyonunu başlatır. Bu aktive olan genler aracılığıyla tümör hücre sağkalımı, proliferasyonu, anjiogenezi, metastazı, apoptoz inhibisyonu/aktivasyonu gibi etkiler ile tümör oluşumuna yol açar. Literatür tarandığında birçok kanser türünde NF-κB'nin hücre kültürü, doku ve hayvan çalışmalarında ekspresyonu ve mRNA artışı incelenmiştir. Çalışmamızda serum düzeyinde NF-κB ölçümü yaptığımız için NF-κB değişimi tam olarak seruma yansımamış olabilir.

Genelde NF-κB ekspresyonun artması tümör oluşumunu, büyümesini, invazyonunu, anjiogenezini artırıp tümör prognozunu kötü etkilese de bazı çalışmalarda bunun tersi bir etki de söz konusu olmuştur. KHDAK hastalarında tümör epitel hücrelerinde ve stromal kompartmanda yüksek NF-κB p105 ekspresyonu hastalığa özgü sağkalım için pozitif prognostik bir belirteç olduğu gösterilmiştir (329). Yine NF-κB'nin Fas ve ölüm reseptörleri dahil olmak üzere proapoptotik genlerin ekspresyonunu aktive ettiği ve NF-κB'nin p53 ile ilişkili kanser hücresi ölümünü kolaylaştırmak için bir tümör baskılayıcı olarak görev yaptığı gösterilmiştir (211, 330). Radyoterapi öncesi hasta grubumuz ile kontrol grubumuz arasına belirgin fark bulunumamasının bir sebebi de NF-κB'nin bu ikili etkisinin sonucu olabilir. Daha kapsamlı bir çalışma ile hasta ve kontrol grubu arasındaki farklılık daha net gözlemlenebilir.

Çalışmamızda radyoterapi sonrası hasta grubu ile kontrol grubu arasında NF-κB düzeyleri anlamlı bir fark olmadığı görüldü (p=0,610). Bunun da radyoterapi sonrası NF-κB seviyelerinin anlamlı olmayan artışına bağlı ortaya çıkan radyoterapi direnci neticesinde tedavi ile seviyelerinin düşmemesine bağlı olduğu düşünülebilir.

Bir çalışmada meme kanseri için ROC eğrileri oluşturulduğunda, NF-κB'nin yüksek dereceli hastaları ayırt etme başarısının ise çok yüksek bir yüzdeye sahip olduğu (kesme değeri 1,20 ng/mL seçildiğinde AUC=1,000; p<0,001, duyarlılık: %100, özgüllük: %95) bulunmuştur. Kolon kanserinde ise NF-κB'nin AUC=1,000, özgüllük ve duyarlılığın %100 olduğu bulunmuştur (327). Durmuş ve arkadaşları tarafından 50 kolorektal kanser hastası 40 kontrol grubu ile yapılan çalışmada çizilen ROC eğrisinde NF-κB için kesme değeri 4,41; duyarlılık %76.5; özgüllük %78,8 olarak bulunmuştur (AUC=0,848; 95% güven aralığı 0,598-0,892; p=0,005) (328). Bir çalışmada NF-κB düzeyinin Epstein Barr Virüsü pozitif orofarenks skuamöz hücreli karsinomunlu hastaları belirlemede duyarlı ve özgül bir parametre olduğunu göstermiştir (AUC= 0,8444; %95 güven aralığı 0,7660-0,9229; p=0,001) (326). Bizim çalışmamızda ise yaptığımız ROC analizine göre NF-κB'nin skuamoz hücreli akciğer kanserli hastalarda tanıya yardımcı bir biyobelirteç olarak kullanılamayacağı görüldü (p=0,1053).

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Çalışmamızda serum Galektin-3, Sialik asit ve NF-κB parametrelerinin radyoterapiye bağlı olarak sukamöz hücreli akciğer kanseri hastalarındaki değişimini görebilmek amaçlandı. Ayrıca bu parametrelerin birlikte veya ayrı ayrı skuamöz hücreli akciğer kanseri tanısında biyobelirteç olarak kullanılabilirliğini göstermeyi hedefledik. Bu doğrultuda radyoterapi almadan önce ve radyoterapi tedavisini tamamlandıktan sonra hastalardan serum örnekleri alındı. Hastalarda ve sağlıklı kişilerde bu parametrelerin düzeyini karşılaştırmak için de sağlıklı kontrol grubu oluşturup onlardan da serum örnekleri alındı. ELISA yöntemi ile serumda bu parametrelerin düzeyleri tespit edildi. Çalışmamızın neticesinde elde ettiğimiz sonuçlar aşağıda özetlenmiştir:

1. Her üç parametrenin de radyoterapi sonrasında hastaların serumunda, radyoterapi öncesi bazal seviyelerine göre arttığı ama bu artışın istatistiki olarak anlamlı olmadığı görüldü.
2. Serum Galektin-3 ve Sialik asit düzeylerinin hem radyoterapi öncesi hem radyoterapi sonrası hasta grubunda sağlıklı kontrol grubuna göre belirgin yüksek olduğu görüldü.
3. Serum NF-κB düzeylerinde hem radyoterapi öncesi hem radyoterapi sonrası hasta grubu ile sağlıklı kontrol grubu arasında anlamlı bir fark olmadığı görüldü.
4. Hasta grubunda serum Galektin-3 ve Sialik asit arasında anlamlı pozitif yönde bir korelasyon olduğu görüldü.
5. Hasta grubunda serum Galektin-3 ile NF-κB ve Sialik asit ile NF-κB arasında anlamlı bir korelasyon olmadığı görüldü.
6. Yapılan ROC analizinde Galektin-3 ve Sialik asitin AUC'si anlamlı bulundu. Bu iki parametrenin skuamöz hücreli akciğer kanserinde tanıya yardımcı biyobelirteç değeri olabileceği belirlendi. Ancak bu iki parametrenin tanı koyduruculuk açısından birbirine üstünlüğü olmadığı görüldü.
7. Yapılan ROC analizinde NF-κB'nin skuamöz hücreli akciğer kanserinde tanı koydurucu değeri olmadığı görüldü.

Sonuç olarak Galektin-3 ve Sialik asidin skuamöz hücreli akciğer kanseri hastalığı tanısı için potansiyel bir biyobelirteç düşünüldü. Ayrıca radyoterapi öncesi ve sonrasında bu parametrelerin değişimini daha net görebilmek için radyoterapi alan hastaların tedavi sırasında direnç geliştirme durumu ve tedavi sonrası prognoz takibinin de yapılacağı daha kapsamlı ve moleküler düzeyde çalışmalara ihtiyaç olduğu kanaatindeyiz.

7. KAYNAKLAR

1. Zhang Z, Xuan Y, Jin X, Tian X, Wu R. A literature-based systematic HuGE review and meta-analysis show that CASP gene family polymorphisms are associated with risk of lung cancer. Genet Mol Res. 2013;12(3):3057-69.
2. Travis WD, Brambilla E, Nicholson AG, Yatabe Y, Austin JH, Beasley MB, et al. The 2015 World Health Organization classification of lung tumors: impact of genetic, clinical and radiologic advances since the 2004 classification. Journal of thoracic oncology. 2015;10(9):1243-60.
3. Gridelli C, Rossi A, Carbone DP, Guarize J, Karachaliou N, Mok T, et al. Non-small-cell lung cancer. Nature reviews Disease primers. 2015;1(1):1-16.
4. Sonke J-J, Belderbos J, editors. Adaptive radiotherapy for lung cancer. Seminars in radiation oncology; 2010: Elsevier.
5. Song L, Tang J-w, Owusu L, Sun M-Z, Wu J, Zhang J. Galectin-3 in cancer. Clinica chimica acta. 2014;431:185-91.
6. Newlaczyl AU, Yu L-G. Galectin-3–a jack-of-all-trades in cancer. Cancer letters. 2011;313(2):123-8.
7. Kessel D, Bosmann HB. Studies on a cell line derived from the L1210 murine leukemia with altered surface properties and decreased capacity for tumor production. Cancer Research. 1974;34(3):603-8.
8. Büll C, Stoel MA, den Brok MH, Adema GJ. Sialic acids sweeten a tumor's life. Cancer research. 2014;74(12):3199-204.
9. Gilmore TD, Garbati MR. Inhibition of NF-κB signaling as a strategy in disease therapy. NF-kB in Health and Disease. 2010:245-63.
10. Baldwin AS. Regulation of cell death and autophagy by IKK and NF-κB: critical mechanisms in immune function and cancer. Immunological reviews. 2012;246(1):327-45.
11. Garg A, Aggarwal B. Nuclear transcription factor-κB as a target for cancer drug development. Leukemia. 2002;16(6):1053-68.
12. Singh V, Gupta D, Arora R. NF-kB as a key player in regulation of cellular radiation responses and identification of radiation countermeasures. Discoveries. 2015;3(1).
13. Hanahan D, Weinberg RA. The hallmarks of cancer. cell. 2000;100(1):57-70.
14. Bray F, Laversanne M, Sung H, Ferlay J, Siegel RL, Soerjomataram I, et al. Global cancer statistics 2022: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. CA: a cancer journal for clinicians. 2024;74(3):229-63.
15. Bade BC, Cruz CSD. Lung cancer 2020: epidemiology, etiology, and prevention. Clinics in chest medicine. 2020;41(1):1-24.
16. Ellis P, Smith I, Hardy J, Nicolson M, Talbot D, Ashley S, et al. Symptom relief with MVP (mitomycin C, vinblastine and cisplatin) chemotherapy in advanced non-small-cell lung cancer. British journal of cancer. 1995;71(2):366-70.
17. Türkiye Kanser Kontrol Programı 2021 [Available from: https://hsgm.saglik.gov.tr/depo/birimler/kanserdb/Dokumanlar/Raporlar/17.Agustos_2021_Kanser_Kontrol_Programi_versiyon-1.pdf.
18. Huzeyfe YILMAZ BBB, İrem SOYTUTAN ÇAĞLAR, Asiye AYGÜN, Tuğcan Adem ÖZDEMİR ,Banu KULALİ, Gözde ÜNAL, Birsen BİRGE KAYIŞ, Saniye KARA, Ayfer ATEŞ PEKERİÇLİ, Gökalp Kadri YENTÜR. Sağlık

İstatistikleri Yıllığı. Sağlık Bilgi Sistemleri Genel Müdürlüğü, Sağlık Bakanlığı. 2024:32,45,6.
19. Sites A. SEER cancer statistics review 1975–2011. Bethesda, MD: National Cancer Institute. 2014.
20. Howlader N, Noone A, Krapcho Me, Miller D, Brest A, Yu Me, et al. SEER cancer statistics review, 1975–2016. National Cancer Institute. 2019;1.
21. Barta JA, Powell CA, Wisnivesky JP. Global epidemiology of lung cancer. Annals of global health. 2019;85(1).
22. Hecht SS. Tobacco smoke carcinogens and lung cancer. Journal of the national cancer institute. 1999;91(14):1194-210.
23. Couraud S, Zalcman G, Milleron B, Morin F, Souquet P-J. Lung cancer in never smokers–a review. European journal of cancer. 2012;48(9):1299-311.
24. Lushniak BD, Samet JM, Pechacek TF, Norman LA, Taylor PA. The health consequences of smoking—50 years of progress: A report of the surgeon general. 2014.
25. Whitrow MJ, Smith BJ, Pilotto LS, Pisaniello D, Nitschke M. Environmental exposure to carcinogens causing lung cancer: epidemiological evidence from the medical literature. Respirology. 2003;8(4):513-21.
26. Gandhi S, Gupta I, Menia R, Kumar R. Molecular Pathology of Lung Cancer. 2023.
27. Park SJ, Walser TC, Perdomo C, Wang T, Pagano PC, Liclican EL, et al. Abstract B16: The effect of e-cigarette exposure on airway epithelial cell gene expression and transformation. Clinical Cancer Research. 2014;20(2_Supplement):B16-B.
28. Cataldo JK, Dubey S, Prochaska JJ. Smoking cessation: an integral part of lung cancer treatment. Oncology. 2010;78(5-6):289-301.
29. Mithoowani H, Febbraro M. Non-small-cell lung cancer in 2022: a review for general practitioners in oncology. Current Oncology. 2022;29(3):1828-39.
30. Nelson HH, Kelsey KT. The molecular epidemiology of asbestos and tobacco in lung cancer. Oncogene. 2002;21(48):7284-8.
31. Thandra KC, Barsouk A, Saginala K, Aluru JS, Barsouk A. Epidemiology of lung cancer. Contemporary Oncology/Współczesna Onkologia. 2021;25(1):45-52.
32. Krewski D, Lubin JH, Zielinski JM, Alavanja M, Catalan VS, William Field R, et al. A combined analysis of North American case-control studies of residential radon and lung cancer. Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A. 2006;69(7-8):533-97.
33. Sung H, Ferlay J, Siegel RL, Laversanne M, Soerjomataram I, Jemal A, et al. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. CA: a cancer journal for clinicians. 2021;71(3):209-49.
34. Pesch B, Kendzia B, Gustavsson P, Jöckel KH, Johnen G, Pohlabeln H, et al. Cigarette smoking and lung cancer—relative risk estimates for the major histological types from a pooled analysis of case–control studies. International journal of cancer. 2012;131(5):1210-9.
35. Coté ML, Liu M, Bonassi S, Neri M, Schwartz AG, Christiani DC, et al. Increased risk of lung cancer in individuals with a family history of the disease: a pooled analysis from the International Lung Cancer Consortium. European journal of cancer. 2012;48(13):1957-68.

36. Matakidou A, Eisen T, Houlston R. Systematic review of the relationship between family history and lung cancer risk. British journal of cancer. 2005;93(7):825-33.
37. Caramori G, Adcock IM, Casolari P, Ito K, Jazrawi E, Tsaprouni L, et al. Unbalanced oxidant-induced DNA damage and repair in COPD: a link towards lung cancer. Thorax. 2011;66(6):521-7.
38. Brenner DR, Boffetta P, Duell EJ, Bickeboeller H, Rosenberger A, McCormack V, et al. Previous lung diseases and lung cancer risk: a pooled analysis from the International Lung Cancer Consortium. American journal of epidemiology. 2012;176(7):573-85.
39. Lemjabbar-Alaoui H, McKinney A, Yang Y-W, Tran VM, Phillips JJ. Glycosylation alterations in lung and brain cancer. Advances in cancer research. 2015;126:305-44.
40. Shehata SA, Toraih EA, Ismail EA, Hagras AM, Elmorsy E, Fawzy MS. Vaping, environmental toxicants exposure, and lung cancer risk. Cancers. 2023;15(18):4525.
41. Murray N, Turrisi III AT. A review of first-line treatment for small-cell lung cancer. Journal of Thoracic Oncology. 2006;1(3):270-8.
42. Hann CL, Rudin CM. Management of small-cell lung cancer: incremental changes but hope for the future. Oncology (Williston Park, NY). 2008;22(13):1486.
43. Minna JD, Roth JA, Gazdar AF. Focus on lung cancer. Cancer cell. 2002;1(1):49-52.
44. Noguchi M, Morikawa A, Kawasaki M, Matsuno Y, Yamada T, Hirohashi S, et al. Small adenocarcinoma of the lung. Histologic characteristics and prognosis. Cancer. 1995;75(12):2844-52.
45. Zappa C, Mousa SA. Non-small cell lung cancer: current treatment and future advances. Translational lung cancer research. 2016;5(3):288.
46. Stellman SD, Muscat JE, Hoffmann D, Wynder EL. Impact of filter cigarette smoking on lung cancer histology. Preventive medicine. 1997;26(4):451-6.
47. Kenfield SA, Wei EK, Stampfer MJ, Rosner BA, Colditz GA. Comparison of aspects of smoking among the four histological types of lung cancer. Tobacco control. 2008;17(3):198-204.
48. Gandara DR, Hammerman PS, Sos ML, Lara Jr PN, Hirsch FR. Squamous cell lung cancer: from tumor genomics to cancer therapeutics. Clinical cancer research. 2015;21(10):2236-43.
49. Brambilla E, Pugatch B, Geisinger K, Gal A, Sheppard M, Guinee D, et al. Large cell carcinoma. World Health Organization Classification of Tumours Pathology and Genetics of Tumours of the Lung, Pleura, Thymus and Heart. 2004;48.
50. Muscat JE, Stellman SD, Zhang Z-F, Neugut AI, Wynder EL. Cigarette smoking and large cell carcinoma of the lung. Cancer epidemiology, biomarkers & prevention: a publication of the American Association for Cancer Research, cosponsored by the American Society of Preventive Oncology. 1997;6(7):477-80.
51. Ost DE, Yeung S-CJ, Tanoue LT, Gould MK. Clinical and organizational factors in the initial evaluation of patients with lung cancer: diagnosis and management of lung cancer: American College of Chest Physicians evidence-based clinical practice guidelines. Chest. 2013;143(5):e121S-e41S.
52. Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, 2018. CA: a cancer journal for clinicians. 2018;68(1):7-30.

53. Kocher F, Hilbe W, Seeber A, Pircher A, Schmid T, Greil R, et al. Longitudinal analysis of 2293 NSCLC patients: a comprehensive study from the TYROL registry. Lung Cancer. 2015;87(2):193-200.
54. Molina JR, Yang P, Cassivi SD, Schild SE, Adjei AA, editors. Non-small cell lung cancer: epidemiology, risk factors, treatment, and survivorship. Mayo clinic proceedings; 2008: Elsevier.
55. Foley RW, Nassour V, Oliver HC, Hall T, Masani V, Robinson G, et al. Chest X-ray in suspected lung cancer is harmful. European Radiology. 2021;31:6269-74.
56. Kim J, Lee H, Huang BW. Lung cancer: diagnosis, treatment principles, and screening. American family physician. 2022;105(5):487-94.
57. Benzaquen J, Boutros J, Marquette C, Delingette H, Hofman P. Lung cancer screening, towards a multidimensional approach: why and how? Cancers. 2019;11(2):212.
58. Raso MG, Wistuba II. Molecular pathogenesis of early-stage non-small cell lung cancer and a proposal for tissue banking to facilitate identification of new biomarkers. Journal of Thoracic Oncology. 2007;2(7):S128-S35.
59. [Available from: https://memoinoncology.com/wclc-2023/proposals-for-the-9th-edition-of-the-tnm-classification/.
60. Tolga TOLUNAY SK, Bekir KESKİNKILIÇ, Süleyman ÖZSARI,Mehmet Enes GÖKLER,Murat TÜRKYILMAZ,Ege İhsan ORUÇ HAMAVİOĞLU,Selin DÜNDAR, Aysun KAVAK ERGÜN, Arzu SEVİNÇ , Semra TÜTÜNCÜ. TÜRKİYE KANSER İSTATİSTİKLERİ 2018. Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü, Sağlık Bakanlığı. Ankara, 2022.
61. Ganti AK, Klein AB, Cotarla I, Seal B, Chou E. Update of incidence, prevalence, survival, and initial treatment in patients with non–small cell lung cancer in the US. JAMA oncology. 2021;7(12):1824-32.
62. Sase K, Fujisaka Y, Shoji M, Mukai M. Cardiovascular complications associated with contemporary lung cancer treatments. Current Treatment Options in Oncology. 2021;22(8):71.
63. Kim J, Lee H, Huang BW. Lung Cancer: Diagnosis, Treatment Principles, and Screening. Am Fam Physician. 2022;105(5):487-94.
64. Maconachie R, Mercer T, Navani N, McVeigh G. Lung cancer: diagnosis and management: summary of updated NICE guidance. Bmj. 2019;364.
65. Alduais Y, Zhang H, Fan F, Chen J, Chen B. Non-small cell lung cancer (NSCLC): a review of risk factors, diagnosis, and treatment. Medicine. 2023;102(8):e32899.
66. Nakamura H. Systematic review of published studies on safety and efficacy of thoracoscopic and robot-assisted lobectomy for lung cancer. Annals of Thoracic and Cardiovascular Surgery. 2014;20(2):93-8.
67. Ramalingam S, Belani C. Systemic chemotherapy for advanced non-small cell lung cancer: recent advances and future directions. The oncologist. 2008;13(S1):5-13.
68. Perillo N, Marcus ME, Baum LG. Galectins: versatile modulators of cell adhesion, cell proliferation, and cell death. Journal of molecular medicine. 1998;76:402-12.
69. Balan V, Nangia-Makker P, Raz A. Galectins as cancer biomarkers. Cancers. 2010;2(2):592-610.

70. Ruvolo PP. Galectin 3 as a guardian of the tumor microenvironment. Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Cell Research. 2016;1863(3):427-37.
71. Dong R, Zhang M, Hu Q, Zheng S, Soh A, Zheng Y, et al. Galectin-3 as a novel biomarker for disease diagnosis and a target for therapy. International journal of molecular medicine. 2018;41(2):599-614.
72. Ho M-K, Springer T. Mac-2, a novel 32,000 Mr mouse macrophage subpopulation-specific antigen defined by monoclonal antibodies. Journal of immunology (Baltimore, Md: 1950). 1982;128(3):1221-8.
73. Roff C, Wang J. Endogenous lectins from cultured cells. Isolation and characterization of carbohydrate-binding proteins from 3T3 fibroblasts. Journal of Biological Chemistry. 1983;258(17):10657-63.
74. Liu F, Orida N. Synthesis of surface immunoglobulin E receptor in Xenopus oocytes by translation of mRNA from rat basophilic leukemia cells. Journal of Biological Chemistry. 1984;259(17):10649-52.
75. Cerra R, Gitt M, Barondes S. Three soluble rat beta-galactoside-binding lectins. Journal of Biological Chemistry. 1985;260(19):10474-7.
76. Sparrow C, Leffler H, Barondes S. Multiple soluble beta-galactoside-binding lectins from human lung. Journal of Biological Chemistry. 1987;262(15):7383-90.
77. Raz A, Meromsky L, Zvibel I, Lotan R. Transformation-related changes in the expression of endogenous cell lectins. International journal of cancer. 1987;39(3):353-60.
78. Woo HJ, Shaw LM, Messier JM, Mercurio AM. The major non-integrin laminin binding protein of macrophages is identical to carbohydrate binding protein 35 (Mac-2). Journal of Biological Chemistry. 1990;265(13):7097-9.
79. Barondes SH, Castronovo V, Cooper D, Cummings RD, Drickamer K, Feizi T, et al. Galectins: a family of animal beta-galactoside-binding lectins. Cell. 1994;76(4).
80. Ochieng J, Green B, Evans S, James O, Warfield P. Modulation of the biological functions of galectin-3 by matrix metalloproteinases. Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects. 1998;1379(1):97-106.
81. Gong HC, Honjo Y, Nangia-Makker P, Hogan V, Mazurak N, Bresalier RS, et al. The NH2 terminus of galectin-3 governs cellular compartmentalization and functions in cancer cells. Cancer research. 1999;59(24):6239-45.
82. Menon RP, Hughes RC. Determinants in the N-terminal domains of galectin-3 for secretion by a novel pathway circumventing the endoplasmic reticulum–Golgi complex. European journal of biochemistry. 1999;264(2):569-76.
83. Yoshii T, Fukumori T, Honjo Y, Inohara H, Kim H-RC, Raz A. Galectin-3 phosphorylation is required for its anti-apoptotic function and cell cycle arrest. Journal of biological chemistry. 2002;277(9):6852-7.
84. Dumic J, Dabelic S, Flögel M. Galectin-3: an open-ended story. Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects. 2006;1760(4):616-35.
85. Akahani S, Nangia-Makker P, Inohara H, Kim H-RC, Raz A. Galectin-3: a novel antiapoptotic molecule with a functional BH1 (NWGR) domain of Bcl-2 family. Cancer research. 1997;57(23):5272-6.
86. Yang R-Y, Hill PN, Hsu DK, Liu F-T. Role of the carboxyl-terminal lectin domain in self-association of galectin-3. Biochemistry. 1998;37(12):4086-92.

87. Kasper M, Hughes RC. Immunocytochemical evidence for a modulation of galectin 3 (Mac-2), a carbohydrate binding protein, in pulmonary fibrosis. The Journal of pathology. 1996;179(3):309-16.
88. Wang JL, Gray RM, Haudek KC, Patterson RJ. Nucleocytoplasmic lectins. Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects. 2004;1673(1-2):75-93.
89. Hughes RC. Secretion of the galectin family of mammalian carbohydrate-binding proteins. Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects. 1999;1473(1):172-85.
90. Park JW, Voss PG, Grabski S, Wang JL, Patterson RJ. Association of galectin-1 and galectin-3 with Gemin4 in complexes containing the SMN protein. Nucleic acids research. 2001;29(17):3595-602.
91. Kim H-RC, Lin H-M, Biliran H, Raz A. Cell cycle arrest and inhibition of anoikis by galectin-3 in human breast epithelial cells. Cancer research. 1999;59(16):4148-54.
92. Paron I, Scaloni A, Pines A, Bachi A, Liu F-T, Puppin C, et al. Nuclear localization of Galectin-3 in transformed thyroid cells: a role in transcriptional regulation. Biochemical and biophysical research communications. 2003;302(3):545-53.
93. Shimura T, Takenaka Y, Tsutsumi S, Hogan V, Kikuchi A, Raz A. Galectin-3, a novel binding partner of β-catenin. Cancer research. 2004;64(18):6363-7.
94. Shimura T, Takenaka Y, Fukumori T, Tsutsumi S, Okada K, Hogan V, et al. Implication of galectin-3 in Wnt signaling. Cancer research. 2005;65(9):3535-7.
95. Yang R-Y, Hsu DK, LIu F-T. Expression of galectin-3 modulates T-cell growth and apoptosis. Proceedings of the National Academy of Sciences. 1996;93(13):6737-42.
96. Fukumori T, Takenaka Y, Oka N, Yoshii T, Hogan V, Inohara H, et al. Endogenous galectin-3 determines the routing of CD95 apoptotic signaling pathways. Cancer research. 2004;64(10):3376-9.
97. Liu F-T, Patterson RJ, Wang JL. Intracellular functions of galectins. Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects. 2002;1572(2-3):263-73.
98. Elad-Sfadia G, Haklai R, Balan E, Kloog Y. Galectin-3 augments K-Ras activation and triggers a Ras signal that attenuates ERK but not phosphoinositide 3-kinase activity. Journal of Biological Chemistry. 2004;279(33):34922-30.
99. Shalom-Feuerstein R, Cooks T, Raz A, Kloog Y. Galectin-3 regulates a molecular switch from N-Ras to K-Ras usage in human breast carcinoma cells. Cancer research. 2005;65(16):7292-300.
100. Oka N, Nakahara S, Takenaka Y, Fukumori T, Hogan V, Kanayama H-o, et al. Galectin-3 inhibits tumor necrosis factor–related apoptosis-inducing ligand–induced apoptosis by activating Akt in human bladder carcinoma cells. Cancer research. 2005;65(17):7546-53.
101. Yu F, Finley RL, Raz A, Kim H-RC. Galectin-3 translocates to the perinuclear membranes and inhibits cytochrome c release from the mitochondria: a role for synexin in galectin-3 translocation. Journal of Biological Chemistry. 2002;277(18):15819-27.
102. Hsu DK, Liu F-T. Regulation of cellular homeostasis by galectins. Glycoconjugate journal. 2002;19:507-15.
103. Liu F-T. Regulatory roles of galectins in the immune response. International archives of allergy and immunology. 2005;136(4):385-400.

104. Ochieng J, Furtak V, Lukyanov P. Extracellular functions of galectin-3. Glycoconjugate journal. 2002;19:527-35.
105. Takenaka Y, Fukumori T, Raz A. Galectin-3 and metastasis. Glycoconjugate journal. 2002;19:543-9.
106. Liu F-T, Rabinovich GA. Galectins as modulators of tumour progression. Nature Reviews Cancer. 2005;5(1):29-41.
107. André S, Kojima S, Yamazaki N, Fink C, Kaltner H, Kayser K, et al. Galectins-1 and-3 and their ligands in tumor biology: Non-uniform properties in cell-surface presentation and modulation of adhesion to matrix glycoproteins for various tumor cell lines, in biodistribution of free and liposome-bound galectins and in their expression by breast and colorectal carcinomas with/without metastatic propensity. Journal of cancer research and clinical oncology. 1999;125:461-74.
108. Sanjuan X, Fernandez PL, Castells A, Castronovo V, Van den Brule F, Liu F, et al. Differential expression of galectin 3 and galectin 1 in colorectal cancer progression. Gastroenterology. 1997;113(6):1906-15.
109. van den Brûle F, Califice S, Castronovo V. Expression of galectins in cancer: a critical review. Glycoconjugate journal. 2002;19:537-42.
110. Danguy A, Camby I, Kiss R. Galectins and cancer. Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects. 2002;1572(2-3):285-93.
111. Moutsatsos IK, Wade M, Schindler M, Wang JL. Endogenous lectins from cultured cells: nuclear localization of carbohydrate-binding protein 35 in proliferating 3T3 fibroblasts. Proceedings of the National Academy of Sciences. 1987;84(18):6452-6.
112. Agrwal N, Wang J, Voss P. Carbohydrate-binding protein 35: levels of transcription and mRNA accumulation in quiescent and proliferating cells. Journal of Biological Chemistry. 1989;264(29):17236-42.
113. Kataoka Y, Ohshio Y, Teramoto K, Igarashi T, Asai T, Hanaoka J. Hypoxia-induced galectin-3 enhances RhoA function to activate the motility of tumor cells in non-small cell lung cancer. Oncology reports. 2019;41(2):853-62.
114. Sharma JR, Agraval H, Yadav UC. Cigarette smoke induces epithelial-to-mesenchymal transition, stemness, and metastasis in lung adenocarcinoma cells via upregulated RUNX-2/galectin-3 pathway. Life Sciences. 2023;318:121480.
115. Zhou W, Chen X, Hu Q, Chen X, Chen Y, Huang L. Galectin-3 activates TLR4/NF-κB signaling to promote lung adenocarcinoma cell proliferation through activating lncRNA-NEAT1 expression. BMC cancer. 2018;18:1-14.
116. Cao Z, Hao Z, Xin M, Yu L, Wang L, Zhang Y, et al. Endogenous and exogenous galectin-3 promote the adhesion of tumor cells with low expression of MUC1 to HUVECs through upregulation of N-cadherin and CD44. Laboratory Investigation. 2018;98(12):1642-56.
117. Matarrese P, Tinari N, Semeraro ML, Natoli C, Iacobelli S, Malorni W. Galectin-3 overexpression protects from cell damage and death by influencing mitochondrial homeostasis. FEBS letters. 2000;473(3):311-5.
118. Califice S, Castronovo V, Bracke M, van den Brûle F. Dual activities of galectin-3 in human prostate cancer: tumor suppression of nuclear galectin-3 vs tumor promotion of cytoplasmic galectin-3. Oncogene. 2004;23(45):7527-36.
119. Liu L, Sakai T, Sano N, Fukui K. Nucling mediates apoptosis by inhibiting expression of galectin-3 through interference with nuclear factor kappaB signalling. Biochemical Journal. 2004;380(1):31-41.

120. Funasaka T, Raz A, Nangia-Makker P. Galectin-3 in angiogenesis and metastasis. Glycobiology. 2014;24(10):886-91.
121. Nangia-Makker P, Honjo Y, Sarvis R, Akahani S, Hogan V, Pienta KJ, et al. Galectin-3 induces endothelial cell morphogenesis and angiogenesis. The American journal of pathology. 2000;156(3):899-909.
122. Fukushi J-i, Makagiansar IT, Stallcup WB. NG2 proteoglycan promotes endothelial cell motility and angiogenesis via engagement of galectin-3 and α3β1 integrin. Molecular biology of the cell. 2004;15(8):3580-90.
123. Markowska AI, Liu F-T, Panjwani N. Galectin-3 is an important mediator of VEGF-and bFGF-mediated angiogenic response. Journal of Experimental Medicine. 2010;207(9):1981-93.
124. Stillman BN, Hsu DK, Pang M, Brewer CF, Johnson P, Liu F-T, et al. Galectin-3 and galectin-1 bind distinct cell surface glycoprotein receptors to induce T cell death. The Journal of Immunology. 2006;176(2):778-89.
125. Tsuboi S, Sutoh M, Hatakeyama S, Hiraoka N, Habuchi T, Horikawa Y, et al. A novel strategy for evasion of NK cell immunity by tumours expressing core2 O-glycans. The EMBO journal. 2011;30(15):3173-85.
126. Zhang H, Liu P, Zhang Y, Han L, Hu Z, Cai Z, et al. Inhibition of galectin-3 augments the antitumor efficacy of PD-L1 blockade in non-small-cell lung cancer. FEBS Open Bio. 2021;11(3):911-20.
127. Mabbitt J, Holyer ID, Roper JA, Nilsson UJ, Zetterberg FR, Vuong L, et al. Resistance to anti-PD-1/anti-PD-L1: Galectin-3 inhibition with GB1211 reverses galectin-3-induced blockade of pembrolizumab and atezolizumab binding to PD-1/PD-L1. Frontiers in Immunology. 2023;14:1250559.
128. Ahmad N, Gabius H-J, André S, Kaltner H, Sabesan S, Roy R, et al. Galectin-3 precipitates as a pentamer with synthetic multivalent carbohydrates and forms heterogeneous cross-linked complexes. Journal of Biological Chemistry. 2004;279(12):10841-7.
129. Inohara H, Akahani S, Koths K, Raz A. Interactions between galectin-3 and Mac-2-binding protein mediate cell-cell adhesion. Cancer research. 1996;56(19):4530-4.
130. Shekhar MP, Nangia-Makker P, Tait L, Miller F, Raz A. Alterations in galectin-3 expression and distribution correlate with breast cancer progression: functional analysis of galectin-3 in breast epithelial-endothelial interactions. The American journal of pathology. 2004;165(6):1931-41.
131. Yu L-G. Circulating galectin-3 in the bloodstream: An emerging promoter of cancer metastasis. World journal of gastrointestinal oncology. 2010;2(4):177.
132. Iurisci I, Tinari N, Natoli C, Angelucci D, Cianchetti E, Iacobelli S. Concentrations of galectin-3 in the sera of normal controls and cancer patients. Clinical cancer research. 2000;6(4):1389-93.
133. Chen C, Duckworth CA, Zhao Q, Pritchard DM, Rhodes JM, Yu LG. Increased circulation of galectin-3 in cancer induces secretion of metastasis-promoting cytokines from blood vascular endothelium. Clin Cancer Res. 2013;19(7):1693-704.
134. Tarbell JM, Cancel L. The glycocalyx and its significance in human medicine. Journal of internal medicine. 2016;280(1):97-113.
135. Varki A. Biological roles of glycans. Glycobiology. 2017;27(1):3-49.
136. Pinho SS, Reis CA. Glycosylation in cancer: mechanisms and clinical implications. Nature Reviews Cancer. 2015;15(9):540-55.

137. Munkley J, Mills IG, Elliott DJ. The role of glycans in the development and progression of prostate cancer. Nature Reviews Urology. 2016;13(6):324-33.
138. Vajaria BN, Patel PS. Glycosylation: a hallmark of cancer? Glycoconjugate journal. 2017;34:147-56.
139. Munkley J, Scott E. Targeting aberrant sialylation to treat cancer. Medicines. 2019;6(4):102.
140. Blix G, Svennerholm L, Werner I. The isolation of chondrosamine from gangliosides and from submaxillary mucin. Acta chem scand. 1952;6:358-62.
141. Schauer R, Kamerling JP. Exploration of the sialic acid world. Advances in carbohydrate chemistry and biochemistry. 2018;75:1-213.
142. Chou H-H, Takematsu H, Diaz S, Iber J, Nickerson E, Wright KL, et al. A mutation in human CMP-sialic acid hydroxylase occurred after the Homo-Pan divergence. Proceedings of the National Academy of Sciences. 1998;95(20):11751-6.
143. Zhou X, Yang G, Guan F. Biological functions and analytical strategies of sialic acids in tumor. Cells. 2020;9(2):273.
144. Chou H-H, Hayakawa T, Diaz S, Krings M, Indriati E, Leakey M, et al. Inactivation of CMP-N-acetylneuraminic acid hydroxylase occurred prior to brain expansion during human evolution. Proceedings of the National Academy of Sciences. 2002;99(18):11736-41.
145. Altman MO, Gagneux P. Absence of Neu5Gc and presence of anti-Neu5Gc antibodies in humans—an evolutionary perspective. Frontiers in immunology. 2019;10:789.
146. Tangvoranuntakul P, Gagneux P, Diaz S, Bardor M, Varki N, Varki A, et al. Human uptake and incorporation of an immunogenic nonhuman dietary sialic acid. Proceedings of the National Academy of Sciences. 2003;100(21):12045-50.
147. Prenzler S, Rudrawar S, Waespy M, Kelm S, Anoopkumar-Dukie S, Haselhorst T. The role of sialic acid-binding immunoglobulin-like-lectin-1 (siglec-1) in immunology and infectious disease. International Reviews of Immunology. 2023;42(2):113-38.
148. Schutter EM, Visser JJ, van Kamp GJ, Mensdorff-Pouilly S, van Dijk W, Hilgers J, et al. The utility of lipid-associated sialic acid (LASA or LSA) as a serum marker for malignancy: a review of the literature. Tumor biology. 1992;13(3):121-32.
149. Yadav D, Yadav A, Bhattacharya S, Dagar A, Kumar V, Rani R, editors. GLUT and HK: two primary and essential key players in Tumor glycolysis. Seminars in Cancer Biology; 2024: Elsevier.
150. Santoyo-Ramos P, Castañeda-Patlán MC, Robles-Flores M. The Role of O-Linked□-N-Acetylglucosamine (GlcNAc) Modification in Cell Signaling. Glycosylation: IntechOpen; 2012.
151. Du J, Meledeo MA, Wang Z, Khanna HS, Paruchuri VD, Yarema KJ. Metabolic glycoengineering: sialic acid and beyond. Glycobiology. 2009;19(12):1382-401.
152. Park J-J, Lee M. Increasing the α 2, 6 sialylation of glycoproteins may contribute to metastatic spread and therapeutic resistance in colorectal cancer. Gut and liver. 2013;7(6):629.
153. Maurice P, Baud S, Bocharova OV, Bocharov EV, Kuznetsov AS, Kawecki C, et al. New insights into molecular organization of human neuraminidase-1: transmembrane topology and dimerization ability. Scientific reports. 2016;6(1):38363.

154. Bonten E, van der Spoel A, Fornerod M, Grosveld G, d'Azzo A. Characterization of human lysosomal neuraminidase defines the molecular basis of the metabolic storage disorder sialidosis. Genes & development. 1996;10(24):3156-69.
155. Chavas LM, Tringali C, Fusi P, Venerando B, Tettamanti G, Kato R, et al. Crystal structure of the human cytosolic sialidase Neu2: evidence for the dynamic nature of substrate recognition. Journal of Biological Chemistry. 2005;280(1):469-75.
156. Miyagi T, Wada T, Iwamatsu A, Hata K, Yoshikawa Y, Tokuyama S, et al. Molecular cloning and characterization of a plasma membrane-associated sialidase specific for gangliosides. Journal of Biological Chemistry. 1999;274(8):5004-11.
157. Monti E, Bassi M, Bresciani R, Civini S, Croci G, Papini N, et al. Molecular cloning and characterization of NEU4, the fourth member of the human sialidase gene family. Genomics. 2004;83(3):445-53.
158. Schauer R, Sommer U, Krüger D, van Unen H, Traving C. The terminal enzymes of sialic acid metabolism: acylneuraminate pyruvate-lyases. Bioscience Reports. 1999;19(5):373-83.
159. Tanner ME. The enzymes of sialic acid biosynthesis. Bioorganic chemistry. 2005;33(3):216-28.
160. Mühlenhoff M, Rollenhagen M, Werneburg S, Gerardy-Schahn R, Hildebrandt H. Polysialic acid: versatile modification of NCAM, SynCAM 1 and neuropilin-2. Neurochemical research. 2013;38:1134-43.
161. Lu J, Gu J. Significance of β-galactoside α2, 6 sialyltranferase 1 in cancers. Molecules. 2015;20(5):7509-27.
162. Dall'Olio F, Chiricolo M. Sialyltransferases in cancer. Glycoconjugate journal. 2001;18:841-50.
163. Varki NM, Varki A. Diversity in cell surface sialic acid presentations: implications for biology and disease. Laboratory investigation. 2007;87(9):851-7.
164. Vajaria BN, Patel KR, Begum R, Patel PS. Sialylation: an avenue to target cancer cells. Pathology & Oncology Research. 2016;22:443-7.
165. Rodrigues E, Macauley MS. Hypersialylation in cancer: modulation of inflammation and therapeutic opportunities. Cancers. 2018;10(6):207.
166. Reily C, Stewart TJ, Renfrow MB, Novak J. Glycosylation in health and disease. Nature Reviews Nephrology. 2019;15(6):346-66.
167. Dobie C, Skropeta D. Insights into the role of sialylation in cancer progression and metastasis. British Journal of Cancer. 2021;124(1):76-90.
168. Strubl S, Schubert U, Kühnle A, Rebl A, Ahmadvand N, Fischer S, et al. Polysialic acid is released by human umbilical vein endothelial cells (HUVEC) in vitro. Cell & bioscience. 2018;8:1-9.
169. Liu Y, McCarthy J, Ladisch S. Membrane ganglioside enrichment lowers the threshold for vascular endothelial cell angiogenic signaling. Cancer research. 2006;66(21):10408-14.
170. Zhang Q, Higginbotham JN, Jeppesen DK, Yang Y-P, Li W, McKinley ET, et al. Transfer of functional cargo in exomeres. Cell reports. 2019;27(3):940-54. e6.
171. Chiodelli P, Rezzola S, Urbinati C, Federici Signori F, Monti E, Ronca R, et al. Contribution of vascular endothelial growth factor receptor-2 sialylation to the process of angiogenesis. Oncogene. 2017;36(47):6531-41.
172. Imamaki R, Ogawa K, Kizuka Y, Komi Y, Kojima S, Kotani N, et al. Glycosylation controls cooperative PECAM-VEGFR2-β3 integrin functions at the endothelial surface for tumor angiogenesis. Oncogene. 2018;37(31):4287-99.

173. Zhu W, Zhou Y, Guo L, Feng S. Biological function of sialic acid and sialylation in human health and disease. Cell Death Discovery. 2024;10(1):415.
174. Villanueva-Cabello TM, Gutiérrez-Valenzuela LD, Salinas-Marín R, López-Guerrero DV, Martínez-Duncker I. Polysialic acid in the immune system. Frontiers in Immunology. 2022;12:823637.
175. Bagshawe K, Currie G. Immunogenicity of L 1210 murine leukaemia cells after treatment with neuraminidase. Nature. 1968;218(5148):1254-5.
176. Pillai S, Netravali IA, Cariappa A, Mattoo H. Siglecs and immune regulation. Annual review of immunology. 2012;30(1):357-92.
177. Läubli H, Pearce OM, Schwarz F, Siddiqui SS, Deng L, Stanczak MA, et al. Engagement of myelomonocytic Siglecs by tumor-associated ligands modulates the innate immune response to cancer. Proceedings of the National Academy of Sciences. 2014;111(39):14211-6.
178. Nguyen PJ. Tumor Proliferation Through Sialic Acid Dynamics and Anti-Siglec-Sialoglycans Preventive Strategies. 2022.
179. Huang J, Huang J, Zhang G. Insights into the role of sialylation in cancer metastasis, immunity, and therapeutic opportunity. Cancers. 2022;14(23):5840.
180. Britain CM, Bhalerao N, Silva AD, Chakraborty A, Buchsbaum DJ, Crowley MR, et al. Glycosyltransferase ST6Gal-I promotes the epithelial to mesenchymal transition in pancreatic cancer cells. Journal of Biological Chemistry. 2021;296.
181. Rao TC, Beggs RR, Ankenbauer KE, Hwang J, Ma VP-Y, Salaita K, et al. ST6Gal-I–mediated sialylation of the epidermal growth factor receptor modulates cell mechanics and enhances invasion. Journal of Biological Chemistry. 2022;298(4).
182. Rao TC, Ma VP-Y, Blanchard A, Urner TM, Grandhi S, Salaita K, et al. EGFR activation attenuates the mechanical threshold for integrin tension and focal adhesion formation. Journal of cell science. 2020;133(13):jcs238840.
183. Christie DR, Shaikh FM, Lucas JA, Lucas JA, Bellis SL. ST6Gal-I expression in ovarian cancer cells promotes an invasive phenotype by altering integrin glycosylation and function. Journal of ovarian research. 2008;1:1-8.
184. Zhang X, Dou P, Akhtar ML, Liu F, Hu X, Yang L, et al. NEU4 inhibits motility of HCC cells by cleaving sialic acids on CD44. Oncogene. 2021;40(35):5427-40.
185. Elkashef SM, Allison SJ, Sadiq M, Basheer HA, Ribeiro Morais G, Loadman PM, et al. Polysialic acid sustains cancer cell survival and migratory capacity in a hypoxic environment. Scientific reports. 2016;6(1):33026.
186. Ferrer CM, Reginato MJ. Sticking to sugars at the metastatic site: sialyltransferase ST6GalNAc2 acts as a breast cancer metastasis suppressor. Cancer discovery. 2014;4(3):275-7.
187. Sen R, Baltimore D. Inducibility of K immunoglobulin enhancer-binding protein NF-KB by a posttranslational mechanism. Cell. 1986;47(6):921-8.
188. Karin M, Ben-Neriah Y. Phosphorylation meets ubiquitination: the control of NF-κB activity. Annual review of immunology. 2000;18(1):621-63.
189. Pires BR, Silva RC, Ferreira GM, Abdelhay E. NF-kappaB: two sides of the same coin. Genes. 2018;9(1):24.
190. Ghosh S, May MJ, Kopp EB. NF-κB and Rel proteins: evolutionarily conserved mediators of immune responses. Annual review of immunology. 1998;16(1):225-60.

191. Caamano J, Hunter CA. NF-κB family of transcription factors: central regulators of innate and adaptive immune functions. Clinical microbiology reviews. 2002;15(3):414-29.
192. Chen W, Li Z, Bai L, Lin Y. NF-kappaB, a mediator for lung carcinogenesis and a target for lung cancer prevention and therapy. Frontiers in bioscience: a journal and virtual library. 2011;16:1172.
193. Kopp EB, Ghosh S. NF-κB and rel proteins in innate immunity. Advances in immunology. 1995;58:1-27.
194. Dolcet X, Llobet D, Pallares J, Matias-Guiu X. NF-kB in development and progression of human cancer. Virchows archiv. 2005;446:475-82.
195. Hayden MS, Ghosh S. Signaling to NF-κB. Genes & development. 2004;18(18):2195-224.
196. Zhang T, Ma C, Zhang Z, Zhang H, Hu H. NF-κB signaling in inflammation and cancer. MedComm. 2021;2(4):618-53.
197. Liu T, Zhang L, Joo D, Sun S-C. NF-κB signaling in inflammation. Signal transduction and targeted therapy. 2017;2(1):1-9.
198. Lin Y, Bai L, Chen W, Xu S. The NF-κB activation pathways, emerging molecular targets for cancer prevention and therapy. Expert opinion on therapeutic targets. 2010;14(1):45-55.
199. Sun S-C. The non-canonical NF-κB pathway in immunity and inflammation. Nature reviews immunology. 2017;17(9):545-58.
200. Viatour P, Merville M-P, Bours V, Chariot A. Phosphorylation of NF-κB and IκB proteins: implications in cancer and inflammation. Trends in biochemical sciences. 2005;30(1):43-52.
201. Balkwill F, Mantovani A. Inflammation and cancer: back to Virchow? The lancet. 2001;357(9255):539-45.
202. Pikarsky E, Porat RM, Stein I, Abramovitch R, Amit S, Kasem S, et al. NF-κB functions as a tumour promoter in inflammation-associated cancer. Nature. 2004;431(7007):461-6.
203. Bharti AC, Aggarwal BB. Nuclear factor-kappa B and cancer: its role in prevention and therapy. Biochemical pharmacology. 2002;64(5-6):883-8.
204. Khan A, Zhang Y, Ma N, Shi J, Hou Y. NF-κB role on tumor proliferation, migration, invasion and immune escape. Cancer Gene Therapy. 2024:1-12.
205. Chaturvedi M, Sung B, Yadav V, Kannappan R, Aggarwal B. NF-κB addiction and its role in cancer:'one size does not fit all'. Oncogene. 2011;30(14):1615-30.
206. Karin M, Cao Y, Greten FR, Li Z-W. NF-κB in cancer: from innocent bystander to major culprit. Nature reviews cancer. 2002;2(4):301-10.
207. Campbell KJ, Rocha S, Perkins ND. Active repression of antiapoptotic gene expression by RelA (p65) NF-κB. Molecular cell. 2004;13(6):853-65.
208. Rocha S, Garrett MD, Campbell KJ, Schumm K, Perkins ND. Regulation of NF-κB and p53 through activation of ATR and Chk1 by the ARF tumour suppressor. The EMBO journal. 2005;24(6):1157-69.
209. Chen F, Lu Y, Zhang Z, Vallyathan V, Ding M, Castranova V, et al. Opposite effect of NF-κB and c-Jun N-terminal kinase on p53-independent GADD45 induction by arsenite. Journal of Biological Chemistry. 2001;276(14):11414-9.
210. Karin M. The IκB kinase–a bridge between inflammation and cancer. Cell research. 2008;18(3):334-42.

211. Perkins ND. NF-κB: tumor promoter or suppressor? Trends in cell biology. 2004;14(2):64-9.
212. Koong AC, Chen EY, Giaccia AJ. Hypoxia causes the activation of nuclear factor κB through the phosphorylation of IκBα on tyrosine residues. Cancer research. 1994;54(6):1425-30.
213. Rius J, Guma M, Schachtrup C, Akassoglou K, Zinkernagel AS, Nizet V, et al. NF-κB links innate immunity to the hypoxic response through transcriptional regulation of HIF-1α. Nature. 2008;453(7196):807-11.
214. Barkett M, Gilmore TD. Control of apoptosis by Rel/NF-κB transcription factors. Oncogene. 1999;18(49):6910-24.
215. Shou Y, Li N, Li L, Borowitz JL, Isom GE. NF-κB-mediated up-regulation of Bcl-XS and Bax contributes to cytochrome c release in cyanide-induced apoptosis. Journal of neurochemistry. 2002;81(4):842-52.
216. Singh NP, Nagarkatti M, Nagarkatti PS. Role of dioxin response element and nuclear factor-κB motifs in 2, 3, 7, 8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin-mediated regulation of Fas and Fas ligand expression. Molecular pharmacology. 2007;71(1):145-57.
217. Wang P, Qiu W, Dudgeon C, Liu H, Huang C, Zambetti G, et al. PUMA is directly activated by NF-κB and contributes to TNF-α-induced apoptosis. Cell Death & Differentiation. 2009;16(9):1192-202.
218. Bonavia R, Inda M, Vandenberg S, Cheng S, Nagane M, Hadwiger P, et al. EGFRvIII promotes glioma angiogenesis and growth through the NF-κB, interleukin-8 pathway. Oncogene. 2012;31(36):4054-66.
219. Balkwill F. TNF-α in promotion and progression of cancer. Cancer and Metastasis Reviews. 2006;25:409-16.
220. Balkwill F, Charles KA, Mantovani A. Smoldering and polarized inflammation in the initiation and promotion of malignant disease. Cancer cell. 2005;7(3):211-7.
221. Costa C, Incio J, Soares R. Angiogenesis and chronic inflammation: cause or consequence? Angiogenesis. 2007;10:149-66.
222. Taniguchi K, Karin M. NF-κB, inflammation, immunity and cancer: coming of age. Nature Reviews Immunology. 2018;18(5):309-24.
223. Cai Z, Tchou-Wong K-M, Rom WN. NF-kappaB in lung tumorigenesis. Cancers. 2011;3(4):4258-68.
224. Mizuno S, Takiguchi Y, Fujikawa A, Motoori K, Tada Y, Kurosu K, et al. Chronic obstructive pulmonary disease and interstitial lung disease in patients with lung cancer. Respirology. 2009;14(3):377-83.
225. Tang X, Liu D, Shishodia S, Ozburn N, Behrens C, Lee JJ, et al. Nuclear factor-κB (nf-κB) is frequently expressed in lung cancer and preneoplastic lesions. Cancer: Interdisciplinary International Journal of the American Cancer Society. 2006;107(11):2637-46.
226. Chen W, Li Z, Bai L, Lin Y. NF-kappaB in lung cancer, a carcinogenesis mediator and a prevention and therapy target. Front Biosci (Landmark Ed). 2011;16(3):1172-85.
227. Takahashi H, Ogata H, Nishigaki R, Broide DH, Karin M. Tobacco smoke promotes lung tumorigenesis by triggering IKKβ-and JNK1-dependent inflammation. Cancer cell. 2010;17(1):89-97.
228. L.J . Kricka JYP. Immunochemical Techniques. In: Carl a. Burtis DEB, editor. CLINICAL CHEMISTRY AND MOLECULAR DIAGNOSTICS. Seventh ed2015. p. 248.

229. YL Biont C. Human Galektin-3 ELISA Kit.
230. Bioassay Technology Laboratory C. Human sialik asit ELISA Kit.
231. YL Biont C. Human NF-κB ELISA Kit.
232. Cohen J. Statistical power analysis. Current directions in psychological science. 1992;1(3):98-101.
233. Navarro P, Martínez-Bosch N, Blidner AG, Rabinovich GA. Impact of galectins in resistance to anticancer therapies. Clinical Cancer Research. 2020;26(23):6086-101.
234. Lerévérend C, Kotaich N, Cartier L, De Boni M, Lahire S, Fichel C, et al. Enhanced expression of galectin-9 in triple negative breast cancer cells following radiotherapy: Implications for targeted therapy. International Journal of Cancer. 2024.
235. Bailey LA, Jamshidi-Parsian A, Patel T, Koonce NA, Diekman AB, Cifarelli CP, et al. Combined temozolomide and ionizing radiation induces galectin-1 and galectin-3 expression in a model of human glioma. Tumor Microenviron Ther. 2015;2:19-31.
236. Shuster H, Funkhouser A, Allen L, Heo M, Martin JC, Edenfield WJ, et al. Exploratory Assessment of Galectin-1, -3, and -9 in Non-Small Cell Lung Cancer. Cancers (Basel). 2024;16(6).
237. Saussez S, Lorfevre F, Lequeux T, Laurent G, Chantrain G, Vertongen F, et al. The determination of the levels of circulating galectin-1 and -3 in HNSCC patients could be used to monitor tumor progression and/or responses to therapy. Oral Oncol. 2008;44(1):86-93.
238. Kataoka Y, Igarashi T, Ohshio Y, Fujita T, Hanaoka J. Predictive importance of galectin-3 for recurrence of non-small cell lung cancer. General thoracic and cardiovascular surgery. 2019;67:704-11.
239. Ibrahim AA, Ahmed SN. Study of Serum Adiponectin, Leptin, and Galectin-3 in Breast Cancer. Diyala Journal of Medicine. 2023;24(1):185-96.
240. Matsuda Y, Yamagiwa Y, Fukushima K, Ueno Y, Shimosegawa T. Expression of galectin-3 involved in prognosis of patients with hepatocellular carcinoma. Hepatology Research. 2008;38(11):1098-111.
241. Tas F, Bilgin E, Tastekin D, Erturk K, Duranyildiz D. Clinical significance of serum galectin-3 levels in gastric cancer patients. Journal of gastrointestinal cancer. 2016;47:182-6.
242. Capalbo C, Scafetta G, Filetti M, Marchetti P, Bartolazzi A. Predictive biomarkers for checkpoint inhibitor-based immunotherapy: the galectin-3 signature in NSCLCs. International journal of molecular sciences. 2019;20(7):1607.
243. Delin Q, Zhang Y, Hongli L, Ruotian W, Kun Q. Expression and Clinical Significance of Galcetin-3 in the Serum of Non-small Cell Lung Cancer Patients. Zhongguo Fei Ai Za Zhi. 2020;23(5).
244. Blair BB, Funkhouser AT, Goodwin JL, Strigenz AM, Chaballout BH, Martin JC, et al. Increased circulating levels of galectin proteins in patients with breast, colon, and lung cancer. Cancers. 2021;13(19):4819.
245. Yoshimura A, Gemma A, Hosoya Y, Komaki E, Hosomi Y, Okano T, et al. Increased expression of the LGALS3 (Galectin 3) gene in human non–small-cell lung cancer. Genes, Chromosomes and Cancer. 2003;37(2):159-64.
246. Meiyan L, Bing D, Chunhong L, Yanbin Z, Qingwei M, Li C. Expression and Related Factors of Galectin-3 in Non-small Cell Lung Cancer. Chinese Journal of Lung Cancer. 2013;16(8).

247. Terzioğlu-Uşak Ş, Horozoğlu C, Demirkol Ş, Turna A, Yaylım İ. The role of galectin-3 and its genetic variants in tumor risk and survival of patients with surgically resected early-stage non-small cell lung cancer. Turkish Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery. 2021;29(2):212.
248. Gendy HE, Madkour B, Abdelaty S, Essawy F, Khattab D, Hammam O, et al. Diagnostic and prognostic significance of serum and tissue galectin 3 expression in patients with carcinoma of the bladder. Current urology. 2014;7(4):185-90.
249. Xie L, Ni W-K, Chen X-D, Xiao M-B, Chen B-Y, He S, et al. The expressions and clinical significances of tissue and serum galectin-3 in pancreatic carcinoma. Journal of cancer research and clinical oncology. 2012;138:1035-43.
250. Kamali S, Yilmaz E, Sivrikoz E, Erturk M, Kamali G, Sivrikoz T, et al. Galectin-3 as a potential biomarker in colorectal cancer? European Surgery. 2015;47:254-7.
251. Cheng D, Liang B, Li Y. Serum galectin-3 as a potential marker for gastric cancer. Medical science monitor: international medical journal of experimental and clinical research. 2015;21:755.
252. Diken ÖE, Aydemir Y, Demir E. AKCİĞER KANSERLİ HASTALARDA SERUM GALEKTİN 1 VE 3 DÜZEYLERİNİN, TANISAL VE PROGNOSTİK DEĞERİ Diagnostic and Prognostic Value of Serum Galectin-1 and Galectin-3 Levels in Lung Cancer Patients. Bozok Tıp Dergisi.8(1):118-24.
253. Szöke T, Kayser K, Trojan I, Kayser G, Furak J, Tiszlavicz L, et al. The role of microvascularization and growth/adhesion-regulatory lectins in the prognosis of non-small cell lung cancer in stage II. European journal of cardio-thoracic surgery. 2007;31(5):783-7.
254. Liang Y, Li H, Hou S, Hu B, Miao J, Li T, et al. The expression of galectin-3 and osteopontin in occult metastasis of non-small cell lung cancer. Zhonghua wai ke za zhi [Chinese Journal of Surgery]. 2009;47(14):1061-3.
255. Shin DH, Lee CH, Kang HJ, Sol MY, Lee MK. Significance of Galectin-3 Expression in Pulmonary Non-Small Cell Carcinoma. Journal of Pathology and Translational Medicine. 2006;40(5):326-32.
256. Choi J-H, Lim H-Y, Park J, Lee H-W, Jung Y, Kim H, et al. Expression of galectin-3 in non-small cell lung cancer (NSCLC): Prognostic significance in adenocarcinoma. Journal of Clinical Oncology. 2005;23(16_suppl):9671-.
257. Kosacka M, Piesiak P, Kowal A, Gołecki M, Jankowska R. Galectin-3 and cyclin D1 expression in non-small cell lung cancer. Journal of Experimental & Clinical Cancer Research. 2011;30:1-7.
258. Jurj A, Ionescu C, Berindan-Neagoe I, Braicu C. The extracellular matrix alteration, implication in modulation of drug resistance mechanism: friends or foes? Journal of Experimental & Clinical Cancer Research. 2022;41(1):276.
259. Henke E, Nandigama R, Ergün S. Extracellular matrix in the tumor microenvironment and its impact on cancer therapy. Frontiers in molecular biosciences. 2020;6:160.
260. Nag S, Mandal A, Joshi A, Jain N, Srivastava RS, Singh S, et al. Sialyltransferases and neuraminidases: potential targets for cancer treatment. Diseases. 2022;10(4):114.
261. Lee M, Lee H-J, Bae S, Lee Y-S. Protein sialylation by sialyltransferase involves radiation resistance. Molecular cancer research. 2008;6(8):1316-25.

262. Smithson M, Irwin R, Williams G, Alexander KL, Smythies LE, Nearing M, et al. Sialyltransferase ST6GAL-1 mediates resistance to chemoradiation in rectal cancer. Journal of Biological Chemistry. 2022;298(3).
263. Mali H, Bhatt M, Singh M, Natu S, Gupta J. Effect of radiotherapy on serum sialic acid level in carcinoma cervix. Indian Journal of Clinical Biochemistry. 1996;11:56-8.
264. Patel PS, Rawal GN, Balar DB. Importance of serum sialic acid and lactate dehydrogenase in diagnosis and treatment monitoring of cervical cancer patients. Gynecologic oncology. 1993;50(3):294-9.
265. Rawal RM, Patel PS, Patel BP, Raval GN, Patel MM, Bhatavdekar JM, et al. Evaluation of glycoprotein constituents in head and neck cancer patients undergoing radiotherapy. Head & Neck: Journal for the Sciences and Specialties of the Head and Neck. 1999;21(3):192-7.
266. Singhal A, Hakomori SI. Molecular changes in carbohydrate antigens associated with cancer. Bioessays. 1990;12(5):223-30.
267. Sillanaukee, Pönniö, Jääskeläinen. Occurrence of sialic acids in healthy humans and different disorders. European journal of clinical investigation. 1999;29(5):413-25.
268. Gökmen SS, Kazezoğlu C, Tabakoğlu E, Altıay G, Güngör Ö, Türe M. Küçük hücreli ve küçük hücreli dışı akciğer kanserli hastalarda serum total ve lipide bağlı siyalik asidin marker olarak önemi. Balkan Medical Journal. 2007;2007(2):101-8.
269. Rissan W. Study of Changes for Total Sialic Acid and Lipid-Bound Sialic Acid Levels in Tuberculosis and Lung cancer. University of Thi-Qar Journal of Science. 2011;3(1):33-41.
270. Karlıkaya C, Erdoğan S, Akkoçlu A, Oktay G, Güner G, Uçan ES, et al. Akciğer kanserinde çoklu tümör belirleyicisi analizi. Toraks Dergisi. 2003;4(3):248-59.
271. İşbilir ŞS, Gökmen SS, Çağlar T, Hatipoğlu ON, Gülen Ş. Increased Serum Total and Lipid-Bound Sialic Acid Levels in Lung Cancers and its Association with Metastasis. Balkan Medical Journal. 2002;2002(2).
272. Krolikowski F, Reuter K, Waalkes T, Sieber S, Adamson R. Serum sialic acid levels in lung cancer patients. Pharmacology. 1976;14(1):47-51.
273. Kakari S, Stringou E, Toumbis M, Ferderigos A, Poulaki E, Chondros K, et al. Five tumor markers in lung cancer: significance of total and" lipid"-bound sialic acid. Anticancer research. 1991;11(6):2107-10.
274. MAŃDZIUK S, BERBEĆ H, MILANOWSKI J. Total sialic acid level in lung cancer patients.
275. Berbeć H, Paszkowska A, Siwek B, Gradziel K, Cybulski M. Total serum sialic acid concentration as a supporting marker of malignancy in ovarian neoplasia. European journal of gynaecological oncology. 1999;20(5-6):389-92.
276. Xing R, Chen R, Wang Z, Zhang Y. Serum sialic acid levels in patients with oral and maxillofacial malignancy. Journal of oral and maxillofacial surgery. 1991;49(8):843-7.
277. B. Rajpura K, S. Patel P, G. Chawda J, M. Shah R. Clinical significance of total and lipid bound sialic acid levels in oral pre-cancerous conditions and oral cancer. Journal of oral pathology & medicine. 2005;34(5):263-7.

278. Suzuki O, Abe M. Cell surface N-glycosylation and sialylation regulate galectin-3-induced apoptosis in human diffuse large B cell lymphoma. Oncology reports. 2008;19(3):743-8.
279. Ahn KS, Aggarwal BB. Transcription factor NF-κB: a sensor for smoke and stress signals. Annals of the new York Academy of Sciences. 2005;1056(1):218-33.
280. Li L, Story M, Legerski RJ. Cellular responses to ionizing radiation damage. International Journal of Radiation Oncology* Biology* Physics. 2001;49(4):1157-62.
281. Li C-C, Dai R-M, Chen E, Longo DL. Phosphorylation of NF-KB1-p50 is involved in NF-kappa B activation and stable DNA binding. Journal of Biological Chemistry. 1994;269(48):30089-92.
282. Zhou D, Brown SA, Yu T, Chen G, Barve S, Kang BC, et al. A high dose of ionizing radiation induces tissue-specific activation of nuclear factor-κB in vivo. Radiation research. 1999;151(6):703-9.
283. Russell JS, Raju U, Gumin GJ, Lang FF, Wilson DR, Huet T, et al. Inhibition of radiation-induced nuclear factor-κB activation by an anti-Ras single-chain antibody fragment: lack of involvement in radiosensitization. Cancer research. 2002;62(8):2318-26.
284. Jung M, Dritschilo A, editors. NF-κB signaling pathway as a target for human tumor radiosensitization. Seminars in radiation oncology; 2001: Elsevier.
285. Magné N, Toillon R-A, Bottero V, Didelot C, Van Houtte P, Gérard J-P, et al. NF-κB modulation and ionizing radiation: mechanisms and future directions for cancer treatment. Cancer letters. 2006;231(2):158-68.
286. Brach M, Hass R, Sherman M, Gunji H, Weichselbaum R, Kufe D. Ionizing radiation induces expression and binding activity of the nuclear factor kappa B. The Journal of clinical investigation. 1991;88(2):691-5.
287. Clevers H. At the crossroads of inflammation and cancer. Cell. 2004;118(6):671-4.
288. Greten FR, Eckmann L, Greten TF, Park JM, Li Z-W, Egan LJ, et al. IKKβ links inflammation and tumorigenesis in a mouse model of colitis-associated cancer. Cell. 2004;118(3):285-96.
289. Lorimore SA, Coates PJ, Scobie GE, Milne G, Wright EG. Inflammatory-type responses after exposure to ionizing radiation in vivo: a mechanism for radiation-induced bystander effects? Oncogene. 2001;20(48):7085-95.
290. Minafra L, Bravatà V. Cell and molecular response to IORT treatment. Translational Cancer Research. 2014;3(1).
291. Di Maggio FM, Minafra L, Forte GI, Cammarata FP, Lio D, Messa C, et al. Portrait of inflammatory response to ionizing radiation treatment. Journal of inflammation. 2015;12:1-11.
292. Hallahan DE, Spriggs DR, Beckett MA, Kufe DW, Weichselbaum RR. Increased tumor necrosis factor alpha mRNA after cellular exposure to ionizing radiation. Proceedings of the National Academy of Sciences. 1989;86(24):10104-7.
293. Hallahan DE, Virudachalam S, Kuchibhotla J, Kufe DW, Weichselbaum RR. Membrane-derived second messenger regulates x-ray-mediated tumor necrosis factor alpha gene induction. Proceedings of the National Academy of Sciences. 1994;91(11):4897-901.
294. Veeraraghavan J, Natarajan M, Aravindan S, Herman TS, Aravindan N. Radiation-triggered tumor necrosis factor (TNF) α-NFκB cross-signaling favors

survival advantage in human neuroblastoma cells. Journal of Biological Chemistry. 2011;286(24):21588-600.
295. Zhou S, Ye W, Shao Q, Qi Y, Zhang M, Liang J. Prognostic significance of XIAP and NF-κB expression in esophageal carcinoma with postoperative radiotherapy. World journal of surgical oncology. 2013;11:1-7.
296. Anderson GP, Bozinovski S. Acquired somatic mutations in the molecular pathogenesis of COPD. Trends in pharmacological sciences. 2003;24(2):71-6.
297. Ballaz S, Mulshine JL. The potential contributions of chronic inflammation to lung carcinogenesis. Clinical lung cancer. 2003;5(1):46-62.
298. Tsurutani J, Castillo SS, Brognard J, Granville CA, Zhang C, Gills JJ, et al. Tobacco components stimulate Akt-dependent proliferation and NFκB-dependent survival in lung cancer cells. Carcinogenesis. 2005;26(7):1182-95.
299. Huang S, Pettaway CA, Uehara H, Bucana CD, Fidler IJ. Blockade of NF-κB activity in human prostate cancer cells is associated with suppression of angiogenesis, invasion, and metastasis. Oncogene. 2001;20(31):4188-97.
300. Xiao Z, Jiang Q, Willette-Brown J, Xi S, Zhu F, Burkett S, et al. The pivotal role of IKKα in the development of spontaneous lung squamous cell carcinomas. Cancer cell. 2013;23(4):527-40.
301. Stathopoulos GT, Sherrill TP, Cheng D-S, Scoggins RM, Han W, Polosukhin VV, et al. Epithelial NF-κB activation promotes urethane-induced lung carcinogenesis. Proceedings of the National Academy of Sciences. 2007;104(47):18514-9.
302. Nakanishi C, Toi M. Nuclear factor-κB inhibitors as sensitizers to anticancer drugs. Nature Reviews Cancer. 2005;5(4):297-309.
303. Abdel-Latif MM, O'Riordan J, Windle HJ, Carton E, Ravi N, Kelleher D, et al. NF-κB activation in esophageal adenocarcinoma: relationship to Barrett's metaplasia, survival, and response to neoadjuvant chemoradiotherapy. Annals of surgery. 2004;239(4):491-500.
304. Jones DR, Broad RM, Comeau LD, Parsons SJ, Mayo MW. Inhibition of nuclear factor κB chemosensitizes non–small cell lung cancer through cytochrome c release and caspase activation. The Journal of thoracic and cardiovascular surgery. 2002;123(2):310-7.
305. Konstantinopoulos PA, Fountzilas E, Pillay K, Zerbini LF, Libermann TA, Cannistra SA, et al. Carboplatin-induced gene expression changes in vitro are prognostic of survival in epithelial ovarian cancer. BMC medical genomics. 2008;1:1-12.
306. Nair VS, Gevaert O, Davidzon G, Plevritis SK, West R. NF-κB protein expression associates with 18F-FDG PET tumor uptake in non-small cell lung cancer: a radiogenomics validation study to understand tumor metabolism. Lung Cancer. 2014;83(2):189-96.
307. XU S-s, XIANG F-g, DANG S-q, RAN W-w, LI H. The Expression of NF-kB and Slug in NSCLC and the Effect on EMT. Progress in Modern Biomedicine. 2012;12(17):3232-7.
308. Qin H, Zhou J, Zhou P, Xu J, Tang Z, Ma H, et al. Prognostic significance of RelB overexpression in non-small cell lung cancer patients. Thoracic cancer. 2016;7(4):415-21.

309. Choi HS, Yoo CG, Lee CT, Kim YW, Han SK, Shim YS. Activation of the NF-kappaB p50/p65 Complex in Human Lung Cancer Cell Lines. Tuberculosis and Respiratory Diseases. 1999;46(2):185-94.
310. Gao P, Gao Y-J, Liang H-L. Effect of NF–κ B inhibitor PDTC on VEGF and endostatin expression of mice with Lewis lung cancer. Asian Pacific Journal of Tropical Medicine. 2015;8(3):220-4.
311. Garg AK, Hortobagyi GN, Aggarwal BB, Sahin AA, Buchholz TA. Nuclear factor-κB as a predictor of treatment response in breast cancer. Current opinion in oncology. 2003;15(6):405-11.
312. Aggarwal BB. Nuclear factor-κB: the enemy within. Cancer cell. 2004;6(3):203-8.
313. Sweeney C, Li L, Shanmugam R, Bhat-Nakshatri P, Jayaprakasan V, Baldridge LA, et al. Nuclear factor-κB is constitutively activated in prostate cancer in vitro and is overexpressed in prostatic intraepithelial neoplasia and adenocarcinoma of the prostate. Clinical Cancer Research. 2004;10(16):5501-7.
314. Li L, Aggarwal BB, Shishodia S, Abbruzzese J, Kurzrock R. Nuclear factor-κB and IκB kinase are constitutively active in human pancreatic cells, and their down-regulation by curcumin (diferuloylmethane) is associated with the suppression of proliferation and the induction of apoptosis. Cancer: Interdisciplinary International Journal of the American Cancer Society. 2004;101(10):2351-62.
315. Lee BL, Lee HS, Jung J, Cho SJ, Chung H-Y, Kim WH, et al. Nuclear factor-κB activation correlates with better prognosis and Akt activation in human gastric cancer. Clinical cancer research. 2005;11(7):2518-25.
316. Yu H-G, Zhong X, Yang Y-N, Luo H-S, Yu J-P, Meier JJ, et al. Increased expression of nuclear factor-κB/RelA is correlated with tumor angiogenesis in human colorectal cancer. International journal of colorectal disease. 2004;19:18-22.
317. Plewka D, Plewka A, Miskiewicz A, Morek M, Bogunia E. Nuclear factor-kappa B as potential therapeutic target in human colon cancer. Journal of Cancer Research and Therapeutics. 2018;14(3):516-20.
318. Yu L-L, Yu H-G, Yu J-P, Luo H-S. Nuclear factor-kappa B regulates cyclooxygenase-2 expression and cell proliferation in human colorectal carcinoma tissue. Eksperimental'naia onkologiia. 2004;26(1):40-7.
319. Zhou X-L, Fan W, Yang G, Yu M-X. The Clinical Significance of PR, ER, NF-κB, and TNF-α in Breast Cancer. Disease markers. 2014;2014(1):494581.
320. Kankaya D, Kiremitci S, Tulunay O, Baltaci S. Gelsolin, NF-κB, and p53 expression in clear cell renal cell carcinoma: Impact on outcome. Pathology-Research and Practice. 2015;211(7):505-12.
321. Li-Lan J, Ya-Jun Z, Yong L. Expressions and clinical significance of TGF-βRII and NF-κB in oral squamous cell carcinoma. Shanghai Journal of Stomatology. 2016;25(6):729.
322. Wu D, Wu P, Zhao L, Huang L, Zhang Z, Zhao S, et al. NF-κB expression and outcomes in solid tumors: a systematic review and meta-analysis. Medicine. 2015;94(40):e1687.
323. Izzo JG, Malhotra U, Wu T-T, Ensor J, Luthra R, Lee JH, et al. Association of activated transcription factor nuclear factor κB with chemoradiation resistance and poor outcome in esophageal carcinoma. Journal of Clinical Oncology. 2006;24(5):748-54.

324. Zhang PL, Pellitteri PK, Law A, Gilroy PA, Wood GC, Kennedy TL, et al. Overexpression of phosphorylated nuclear factor-kappa B in tonsillar squamous cell carcinoma and high-grade dysplasia is associated with poor prognosis. Modern pathology. 2005;18(7):924-32.
325. Wang W, Abbruzzese JL, Evans DB, Larry L, Cleary KR, Chiao PJ. The nuclear factor-κB RelA transcription factor is constitutively activated in human pancreatic adenocarcinoma cells. Clinical Cancer Research. 1999;5(1):119-27.
326. Polz A, Morshed K, Drop B, Polz-Dacewicz M. Serum NF-κB in Epstein–Barr Virus-Related Oropharyngeal Carcinoma Diagnostic Usability. Cancers. 2024;16(13):2328.
327. Papila KB, Sozer V, Cigdem KP, Durmus S, Kurtulus D, Papila C, et al. Circulating nuclear factor-kappa B mediates cancer-associated inflammation in human breast and colon cancer. Journal of Medical Biochemistry. 2021;40(2):150.
328. Durmuş S, Kundaktepe BP, Gelişgen R, Papila Ç, Uzun H. EXPLORING THE ROLE OF sFRP-4, TFF-3, NF-κB AND ROMO1 LEVELS IN COLORECTAL CANCER: IMPLICATIONS FOR PATHOPHYSIOLOGY AND DISEASE PROGRESSION. Acta Medica Nicomedia. 2018;7(1):120-6.
329. Al-Saad S, Al-Shibli K, Donnem T, Persson M, Bremnes R, Busund L. The prognostic impact of NF-κB p105, vimentin, E-cadherin and Par6 expression in epithelial and stromal compartment in non-small-cell lung cancer. British journal of cancer. 2008;99(9):1476-83.
330. Ryan KM, Ernst MK, Rice NR, Vousden KH. Role of NF-κB in p53-mediated programmed cell death. Nature. 2000;404(6780):892-7.