



T.C.

MARMARA ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ

RADYASYON ONKOLOJİSİ ANABİLİM DALI

**NEOADJUVAN RADYOTERAPİ UYGULANAN REKTUM
KANSERLİ HASTALARDA OKSİDATİF STRES İLE İLİŞKİLİ
FAKTÖRLERİN TEDAVİ CEVABI VE TOKSİSİTE ÜZERİNE OLAN
ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

DR. HATİCE KÜBRA GÜNDÜZ

UZMANLIK TEZİ

İSTANBUL 2025



T.C.

MARMARA ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ

RADYASYON ONKOLOJİSİ ANABİLİM DALI

**NEOADJUVAN RADYOTERAPİ UYGULANAN REKTUM
KANSERLİ HASTALARDA OKSİDATİF STRES İLE İLİŞKİLİ
FAKTÖRLERİN TEDAVİ CEVABI VE TOKSİSİTE ÜZERİNE OLAN
ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

DR. HATİCE KÜBRA GÜNDÜZ

UZMANLIK TEZİ

Danışman: DOÇ. DR. HİLAL ALKIŞ

İSTANBUL 2025

ÖNSÖZ

Uzmanlık eğitimim ve tez çalışmam süresince bilgi ve deneyiminden her zaman yararlandığım, akademik birikimiyle yolumu aydınlatan, güler yüzü, tükenmeyen sabrı ve öğretme sevgisiyle bana her daim rehberlik eden değerli tez danışmanım Doç. Dr. Hilal Alkış'a

Bu değerli tez konusunda çalışmamı destekleyen Prof. Dr. Goncagül Haklar ve Dr. Dilber Çoban Ramazan'a

Uzmanlık eğitimim süresince mesleki gelişimime ve eğitimime değerli katkılarda bulunan Anabilim Dalı Başkanımız Prof. Dr. Mustafa Adlı'ya; bilgi ve birikimleriyle her zaman yol gösterici olan Klinik Şefimiz ve Eğitim Sorumlumuz Prof. Dr. Zerrin Özgen'e; küçük dostlarımıza değer vermenin önemini öğreten kıymetli hocam Prof. Dr. Beste Atasoy'a; pozitif enerjisi ve keşif ruhuyla bizlere ilham olan Prof. Dr. İlknur Alsan Çetin'e ve güler yüzü ile desteğini her zaman hissettiren Dr. Dilek Gül'e,

Asistanlık sürecinde tüm sorularıma sabırla ve nazikçe yanıt vererek bilgi ve desteklerini esirgemeyen değerli medikal fizik uzmanlarımızdan başta Turgut Taşçı olmak üzere, Tarık Ziyad Sütcü'ye ve Özgür Boran'a; ayrıca emekleriyle her zaman yanımızda olan kıymetli radyoterapi teknikerlerimize ve sekreterimiz Gül Çağlayan'a, Tez çalışmam süresince desteklerini veren değerli hemşirelerimiz Ayşe Korkmaz, Dilek Karaşallı ve İsmail Türk'e, asistanlık yıllarımı güzelleştiren eş kıdemlim Aleksi'ye; değerli kıdemlilerime, bölüme katılımlarıyla arkadaşlıklarını paylaşma fırsatı bulduğum sevgili Gülşah başta olmak üzere Melisa, Ece, Zilan, İlay, Merve, Burak ve Arzu'ya,

Her zaman yanımda olan, sevgileriyle bana güç veren, inançlarıyla yolumu aydınlatan canım annem, babam, abim, yengem, ablam, kardeşim ve dünya tatlısı yeğenlerime Gerek tez gerek asistanlık sürecinde, her an yanımda olarak desteğini ve anlayışını hiçbir zaman esirgemeyen, sevgili Tunahan Işık'a,

Sonsuz teşekkür ederim...

ÖZET

Neoadjuvan Radyoterapi Uygulanan Rektum Kanserli Hastalarda Oksidatif Stres ile İlişkili Faktörlerin Tedavi Cevabı ve Toksisitesi Üzerine Olan Etkilerinin Araştırılması

Amaç: Lokal ileri evre rektum kanseri tanılı hastalarda neoadjuvan kemoradyoterapi (KRT) öncesi ve sonrasında ölçülen serum Nuclear factor erythroid 2-related factor 2 (NRF-2), Kelch-like ECH-associated protein 1 (KEAP-1) ve Heme oksijenaz- 1 (HO-1) düzeylerinin tedavi yanıtıyla ve akut yan etkilerle ilişkisini araştırmaktır.

Yöntem: Çalışmaya rektum kanseri tanısı almış ve neoadjuvan KRT uygulanacak 46 hasta dahil edildi. Radyoterapi öncesi ve sonrası hastalardan kan örnekleri alındı, uygun koşullarda serum örnekleri saklandı. Örneklerden HO-1, KEAP1 ve NRF-2 düzeyleri ELISA yöntemi ile analiz edildi. Hastalar tedavi yanıtına göre tam yanıt (klinik/patolojik) ve yanıt (tam/kısmi) durumları kaydedildi. Akut gastrointestinal (GİS), genitoüriner (GÜS) ve hematolojik sistem yan etkiler kaydedildi. KRT sonrası ile öncesi HO-1, KEAP1 ve NRF-2 değerleri arasındaki fark Δ HO-1, Δ KEAP-1 ve Δ NRF-2 olarak kaydedildi. HO-1, KEAP1, NRF-2, Δ HO-1, Δ KEAP-1 ve Δ NRF-2 seviyelerinin tedavi yanıtı ile akut yan etki üzerine etkisi istatistiksel yöntemlerle analiz edildi.

Bulgular: NRF-2, KEAP-1 ve HO-1 düzeyleri KRT sonrasında öncesine göre istatistiksel olarak anlamlı olarak artmıştı ($p < 0.05$). KRT öncesi HO-1 değerleri yüksek olan hastalarda daha iyi tedavi yanıtı gözlemlendi ($p=0.043$). Ayrıca Δ HO-1 değerlerindeki artışın yanıt olasılığını azalttığı ($p=0.026$), komorbiditenin varlığının da yanıt oranlarını olumsuz etkilediği bulundu ($p=0.043$). Ayrıca, NRF-2 ve KEAP-1 düzeyleri ile tedavi yanıtı arasında anlamlı bir ilişki saptanmadı ($p>0.05$). Akut GİS toksisitesi ile KRT öncesi HO-1 düzeyleri arasında anlamlı ilişki saptandı ($p=0.037$); HO-1 değerleri yüksek olanlarda daha fazla yan etki görüldü. Ayrıca Δ NRF-2 değerlerinin yüksek ($p=0.031$) ve Δ KEAP-1 değerlerinin düşük ($p=0.006$) olması da akut GİS toksisite gelişmesi üzerine etkili bulundu. Akut hematolojik toksisite gelişmesi ile Δ NRF-2 yüksekliği ($p=0.019$) ve KRT öncesi HO-1 yüksekliği ($p=0.043$) anlamlı olarak ilişkili bulundu. Akut GÜS toksisite üzerine ise KRT sonrası yüksek NRF-2 ($p=0.043$) ile KEAP-1'in hem KRT öncesi ($p=0.031$) hem de sonrası ($p=0.027$) yüksek olmasının anlamlı olarak etkisi vardı.

Sonuç: Çalışmamız, NRF-2/HO-1/KEAP-1 ekseninin KRT'ye bağlı oksidatif stres yanıtında kritik bir role sahip olduğunu göstermektedir. Tedaviye yanıtı öngörmede HO-1'in başlangıç düzeyi ile KRT'ye bağlı değişimi belirleyici görülmektedir. Bununla birlikte KRT öncesi yüksek HO-1 düzeyleri akut GİS ve hematolojik yan etkiler ile de ilişkili görünmektedir. NRF-2 ve KEAP-1 ise tedavi yanıtından ziyade yan etki ile ilişkili görünmektedir. Akut GİS ve hematolojik yan etki görülen hastalarda KRT'ye bağlı NRF-2 seviyelerindeki değişim artma eğilimindeyken KEAP-1'deki değişim azalma eğilimindedir. Bununla birlikte bulgularımız GÜS yan etki üzerine KEAP-1 ve NRF-2'nin etkisinin paralel olduğunu düşündürmektedir.

Anahtar Kelimeler: Rektum kanseri, Kemoradyoterapi, NRF-2, HO-1, KEAP-1, Tedavi yanıtı, Radyasyon direnci, yan etki

ABSTRACT

The Effects of Factors Related to Oxidative Stress on Treatment Response and Toxicity in Rectal Cancer Patients Undergoing Neoadjuvant Radiotherapy

Objective: To investigate the relationship between serum levels of Nuclear factor erythroid 2-related factor 2 (NRF-2), Kelch-like ECH-associated protein 1 (KEAP-1), and Heme oxygenase-1 (HO-1), measured before and after neoadjuvant chemoradiotherapy (CRT), with treatment response and acute toxicities in patients diagnosed with locally advanced rectal cancer.

Materials and Methods: A total of 46 patients diagnosed with rectal cancer and scheduled to undergo neoadjuvant CRT were included in the study. Blood samples were collected before and after radiotherapy, and serum samples were stored under appropriate conditions. HO-1, KEAP-1, and NRF-2 levels were analyzed using the ELISA method. Based on treatment response, patients were categorized according to complete response (clinical/pathological) and overall response (complete/partial). Acute gastrointestinal (GI), genitourinary (GU), and hematologic toxicities were recorded. Differences between pre- and post-CRT values were calculated as Δ HO-1, Δ KEAP-1, and Δ NRF-2. The effects of HO-1, KEAP-1, NRF-2, Δ HO-1, Δ KEAP-1, and Δ NRF-2 on treatment response and acute toxicity were analyzed using statistical methods.

Results: Serum levels of NRF-2, KEAP-1, and HO-1 significantly increased after CRT compared to baseline ($p < 0.05$). Patients with higher pre-CRT HO-1 levels exhibited a better treatment response ($p = 0.043$). In addition, an increase in Δ HO-1 was associated with a decreased likelihood of response ($p = 0.026$), and the presence of comorbidities negatively affected response rates ($p = 0.043$). No significant relationship was observed between NRF-2 or KEAP-1 levels and treatment response ($p > 0.05$). A significant association was found between acute GI toxicity and pre-CRT HO-1 levels ($p = 0.037$); patients with higher HO-1 levels experienced more frequent side effects. Moreover, higher Δ NRF-2 ($p = 0.031$) and lower Δ KEAP-1 ($p = 0.006$) values were significantly associated with the development of acute GI toxicity. The development of acute hematologic toxicity was significantly related to higher Δ NRF-2 ($p = 0.019$) and elevated pre-CRT HO-1 levels ($p = 0.043$). Regarding acute GU toxicity, higher post-CRT NRF-2 levels ($p = 0.043$) and elevated KEAP-1 levels both before ($p = 0.031$) and after ($p = 0.027$) CRT were found to have significant effects.

Conclusion: Our study demonstrates that the NRF-2/HO-1/KEAP-1 axis plays a critical role in the oxidative stress response induced by CRT. The baseline level and CRT-induced change of HO-1 appear to be key determinants in predicting treatment response. Furthermore, higher pre-CRT HO-1 levels seem to be associated with acute GI and hematologic toxicities. While NRF-2 and KEAP-1 were not predictive of treatment response, they appeared to be associated with toxicity. In patients experiencing acute GI and hematologic toxicities, CRT-induced changes in NRF-2 tended to increase, whereas KEAP-1 changes tended to decrease. Additionally, our findings suggest that KEAP-1 and NRF-2 exert parallel effects on GU toxicity.

Keywords: Rectal cancer, Chemoradiation, Treatment Response, NRF-2, HO-1, KEAP-1, treatment response, Radioresistance, adverse effect

İÇİNDEKİLER

	Sayfalar
ÖNSÖZ.....	<i>i</i>
ÖZET	<i>ii</i>
ABSTRACT	<i>iii</i>
İÇİNDEKİLER.....	<i>iv</i>
TABLolar DİZİNİ.....	<i>vii</i>
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	<i>viii</i>
SİMGELER VE KISALTMALAR	<i>IX</i>
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	<i>1</i>
2. GENEL BİLGİLER.....	<i>3</i>
2.1. Rektumun Anatomisi ve Fizyolojisi	<i>3</i>
2.2. Rektum Kanserinin Etiyoloji ve Epidemiyolojisi	<i>5</i>
2.3. Rektum Kanseri Önleme ve Erken Tanı	<i>5</i>
2.4 Rektum Kanseri Teşhis ve Evreleme	<i>6</i>
2.5. Rektum Kanserinde Tedavi Yaklaşımları.....	<i>9</i>
2.5.1. Rektum Kanserinde Cerrahinin Yeri ve Zamanlaması.....	<i>9</i>
2.5.2. Rektum Kanserinde Radyoterapinin Yeri ve Zamanlaması	<i>10</i>
2.5.3. Lokal İleri Rektum Kanserinde Total Neoadjuvan Tedavi Yaklaşımları..	<i>11</i>

2.5.4. Rektum Kanserinde Tedavi Yanıtı Değerlendirmesi ve Cerrahi Zamanlaması	13
2.6. İyonizan Radyasyon ve Etkileri	14
2.7. Ferroptosis	15
2.8. Hücrenin İyonizan Radyasyona Yanıtı	16
2.9. Oksidatif Stres ve Antioksidanlar	17
2.10. Radyoresistans	19
2.11. NRF-2	20
2.11. 1. NRF-2'nin olumlu etkileri	22
2.11.2. NRF-2'nin olumsuz etkileri	22
2.12. KEAP-1	23
2.13. NRF-2 ve KEAP-1'in Kanserde Artan Aktivitesini Açıklayan Mekanizmalar	25
2.14. HO-1	26
2.14.1. HO-1'in kanser hücreleri ile olan ilişkisi	29
3. GEREÇ VE YÖNTEM	31
3.1. Hasta Grubu	31
3.2. Çalışma Prensipleri	31
3.3. ELISA Analizi	32
3.3.1. KEAP-1 ELISA Test kiti analiz protokolü	33
3.3.2. Human NFE2L2 (Nuclear Factor, Erythroid Derived 2, Like 2) ve HO-1 ELISA test kiti analiz protokolü	34

3.3.3. Çalışmamızın NRF-2, HO-1 ve KEAP-1 ELİSA grafikleri (Şekil 12 ,13 ve 14).....	37
3.4. Radyoterapi	38
3.5. Radyoterapi ile Eş Zamanlı Kemoterapi	39
3.6. Kemoterapi	39
3.7. Yanıt Değerlendirmesi	39
3.8. Cerrahi	40
3.9. Patolojik Evreleme	40
3.10. Akut Yan Etkilerin Değerlendirilmesi	40
3.11. Takip	40
3.12. İstatiksel Analiz	40
4. BULGULAR.....	42
4.1. Hasta Özellikleri	42
4.2. KRT Öncesi ve Sonrası NRF-2, HO-1 ve KEAP-1 Değerleri.....	44
4.3. Tam Yanıt.....	48
4.4. Yanıt (Tam/Kısmi).....	50
4.5. Akut GİS Yan Etki.....	52
4.6. Akut Hematolojik Yan Etki	54
4.7. Akut GÜS Yan Etki	56
5. TARTIŞMA	60
6. SONUÇLAR	69

7. KAYNAKÇA	71
--------------------------	-----------



TABLolar DİZİNİ

Tablo 1: Rektum Kanseri TNM Evrelemesi AJCC 8. Baskı

Tablo 2: NRF-2 Tarafından Düzenlenen Gen Ailesi

Tablo 3: Hastaların Demografik ve Klinikopatolojik Özellikleri

Tablo 4: KRT Öncesi ve Sonrası NRF-2, HO-1, ve KEAP-1 Değerlerine Tanımlayıcı Bulgular

Tablo 5: Wilcoxon İşaretli Sıralar Testi bulguları

Tablo 6: Yanıta göre değişkenlerin ortalama $\pm$ standart sapma değerleri

Tablo 7: Tam Yanıt Durumuna Göre Değişkenlere Ait Bilgiler

Tablo 8: Yanıt (tam ve kısmi) Durumuna Göre Değişkenlere Ait Bilgiler

Tablo 9: Akut GİS yan etkiye göre değişkenlerin ortalama $\pm$ standart sapma değerleri

Tablo 10: Akut GİS yan etki durumuna göre değişkenlere ait bilgiler

Tablo 11: Akut hematolojik yan etkiye göre değişkenlerin ortalama $\pm$ standart sapma değerleri

Tablo 12: Akut hematolojik yan etki durumuna göre değişkenlere ait bilgiler

Tablo 13: Akut GÜS yan etkiye göre değişkenlerin ortalama $\pm$ standart sapma değerleri

Tablo 14: Akut GÜS yan etki durumuna göre değişkenlere ait bilgiler

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. : Rektum Anatomisi

Şekil 2. : RT direk ve indirek hasarı

Şekil 3. : İyonizan Radyasyonun DNA hasarı ve onarımı.

Şekil 4. : İntrensek ve Ekstrensek ROS Kaynakları

- Şekil 5.** : NRF2 Gen Ailesi Domainleri
- Şekil 6.** : NRF-2/KEAP-1 Sinyal Yolu Aktivasyon Mekanizması
- Şekil 7.** : HEME metabolizması
- Şekil 8.** : HO-1 ve Heme metabolizması
- Şekil 9.** : Standart Seyreltme Protokolü
- Şekil 10.** : KEAP1 ELISA Test Kiti Analiz Protokolü
- Şekil 11.** : NRF-2 ve HO-1 ELISA Test Kiti Analiz Protokolü
- Şekil 12.** : NRF-2 Elisa Grafiği
- Şekil 13.** : HO-1 Elisa Grafiği
- Şekil 14.** : KEAP-1 Elisa Grafiği

SİMGELER VE KISALTMALAR

APR: Abdominoperineal rezeksiyon

ARE: Antioksidan Yanıt Elemanlarına

ASTRO: Amerika Radyasyon Onkoloji Derneği

BT: Bigisayarlı Tomografi

BTB: Geniş kompleks/tramtrack/bric-a-brac Domaini

CO: Karbonmonoksit

CTV: Clinical Target Volume (Klinik Hedef Hacim)

DFS: Hastalıksız Sağkalım

DGR: Çift Glisin Tekrar

ESMO: Avrupa Tıbbi Onkoloji Derneği

EUS: Endorektal Ultrasonografi

GİS: Gastrointestinal Sistem

GLUT-1: Glukoz Taşıyıcısı 1

GTV: Gross Tumor Volume (Görülebilir Tümör Hacmi)

GÜS: Genitoüriner Sistem

HIF-1 α : Hipoksi-İndüklenebilir Faktör 1 alfa

IVR: Intervening Region

İR: İyonizan Radyasyon

KHDAK: Küçük Hücre Dışı Akciğer Kanseri

KRK: Kolorektal Kanser

KRT: Kemoradyoterapi

KT: Kemoterapi

LAR: Low Anterior Rezeksiyon

LN: Lenf Nodu

MAF: Masculoaponeurotik fibrosarkom

MRI: Manyetik Rezonans Görüntüleme

NCCN: Ulusal Kapsamlı Kanser Ağı

OS: Genel Sağkalım

OSCC: Oral Skuamöz Hücreli Karsinom

pCR: Patolojik Tam Yanıt

PET/CT: Pozitron Emisyon Tomografi

PTV: Planning Target Volume (Planlanan Hedef Hacim)

ROS: Reaktif Oksijen Türleri

RTOG: Radiation Therapy Oncology Group (Radyoterapi Onkoloji Grubu)

SCC: Skuamöz Hücreli Karsinom

TAC: Total Antioksidan Kapasite

TME: Total Mezorektal Eksizyon

TME: Tümör Mikroçevresi

TNT: Total Neoadjuvan Tedavi

VKİ: Vücut Kütle İndeksi

VMAT: Volumetric Modulated Arc Therapy (Volumetrik Ark Tedavisi)

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Kolorektal kanserler (KRK) dünyada en sık görülen kanserler arasında üçüncü sırada yer almaktadır. Rektal kanserler ise kolorektal kanser grubunun yaklaşık 1/3'ünü oluşturmaktadır [1].

Rektum kanseri tanısı ve evrelemesinde hastanın öyküsü ve fizik muayenesinin yanı sıra Endorektal Ultrasonografi (EUS), Bilgisayarlı Tomografi (BT) ve Manyetik Rezonans görüntüleme (MRI) önemli yer tutmaktadır. Pozitron Emisyon Tomografi (PET/CT) görüntülemesi lenf nodu (LN) yayılımı ve uzak metastazların belirlenmesinde önemlidir.

Erken evre rektum kanseri tanımlamasında klinik olarak T1 veya T2 olup lenf nodu tutulumu olmayan hastalar yer almaktadır. Bu olgularında primer tedavi cerrahidir. Standart olarak önerilen cerrahi yöntem, mikroskopik lenf nodu yayılma ihtimali de bulunan mezorektumun radikal biçimde çıkarıldığı total mezorektal eksizyondur (TME)[2]. Lokal ileri rektum kanseri ise klinik T3–T4 evreleri veya lenf nodu tutulumu (N+) ile tanımlanır. Lokal ileri evre standart tedavi yaklaşımında önceden cerrahi öncesinde veya sonrasında kemoradyoterapi (KRT) önerilmekteydi. Ancak günümüzde KRT'ye ilaveten adjuvan kemoterapinin (KT) cerrahi öncesine alındığı total neoadjuvan tedavi (TNT) yaklaşımı klinik uygulamaya girmiş olan güncel standart yaklaşımdır [3]. Total neoadjuvan tedavi yaklaşımının avantajları lokal kontrolün daha iyi sağlanması, akut ve kronik toksisitelerin daha az görülmesinin yanı sıra özellikle sfinkter/organ korunmasının sağlanmasıdır [4].

Neoadjuvan tedavi yanıtının değerlendirilmesinde rektal muayene, kolonoskopi ve pelvik MRI'dan faydalanılmaktadır. Neoadjuvan tedavi sonrası hastaların bir kısmında klinik tam yanıt görülebiliyorken, kısmi yanıt olduğu düşünülen hastaların da bir kısmında patolojik tam yanıt geliştiği gözlenebilmektedir [5].

Radyoterapi (RT), iyonizan radyasyon (İR) kullanılarak tümör hücrelerinin yok edilmesidir. İR, tümör hücrelerini yok edici etkisini direk ve indirek olmak üzere iki yolla gösterir. İR'nin direk etkisi ile DNA kırıkları meydana gelerek hücre

ölümüne sebep olurken, indirek etkisi ile hücre içerisindeki su (H₂O) parçalanarak serbest radikallerin/reaktif oksijen türlerinin oluşumuna neden olur ve oksidatif hasara bağlı hücre ölümü meydana gelir. Meydana gelen oksidatif stres radyasyona bağlı yan etkilerin oluşumunda da rol almaktadır [6, 7].

Hücreyi oksidatif hasara karşı koruyan ve insan vücudunda doğal olarak bulunan ‘antioksidan’ ajanlar oksidatif stres durumunda aktif hale gelerek hücreyi korumaktadırlar. Antioksidanlar, İR’nin zararlı etkilerini elimine ederken tümör hücrelerinde radyasyon hasarına verilen tedavi cevabını da azaltarak RT’ye direnç gelişmesini sağlamakta ve tümör hücrelerinin apoptoza gitmesini engellemektedir.

Nuclear factor erythroid 2-related factor 2 (NRF-2) bir sitoprotektif transkripsiyon faktörüdür. NRF-2 normal şartlar altında Kelch-like ECH-associated protein 1 (KEAP-1) ile inaktif bir kompleks halinde bulunur. Oksidatif stres şartlarında NRF-2 KEAP-1 ile bir arada tutunamaz ve KEAP-1, NRF-2’den ayrılır. Bu aşamadan sonra NRF-2 antioksidan, antiinflamatuvar ve detoksifiye edici olarak etki gösterir [6]. Antioksidan etkinlikteki NRF-2’nin hücreyi radyasyonun yan etkilerinden korumanın yanında radyasyon tedavisine karşı gelişen dirençten de sorumlu olduğu bildirilmiştir [8]. Heme oksijenaz-1 (HO-1), oksidatif stres karşısında sitoprotektif işlevler üstlenirken, aynı zamanda tümör progresyonu, tedavi direnci ve radyoterapiye bağlı toksisitelerle ilişkili biyolojik süreçlerde de kritik bir düzenleyici olarak rol oynamaktadır.[9].

Çalışmamızın amacı lokal ileri evre rektum kanseri tanısı almış ve neoadjuvan KRT uygulanan hastalarda KRT öncesi ve sonrası serum NRF-2, KEAP-1 ve HO-1 düzeylerinin tedavi yanıtı üzerine etkilerini incelemektir. Diğer bir amacımız ise hastalarda gelişen akut gastrointestinal, genitoüriner ve hematolojik yan etkiler ile bu faktörlerin ilişkisi incelemektir.

2. GENEL BİLGİLER

Kolorektal kanserler, dünya çapında en yaygın üçüncü kanser türüdür. Dünya sağlık örgütü göre verilerine göre 2020 senesinde dünya genelinde 1,9 milyon yeni vaka, 930.000 KRK'ye bağlı ölüm bildirilmiştir [10]. Rektum kanseri, KRK'nin yaklaşık 1/3'ünü oluşturmaktadır [11].

2.1. Rektumun Anatomisi ve Fizyolojisi

Rektum bireysel farklılıklar göstermekle beraber, ortalama 15 cm uzunluğunda bir organdır.

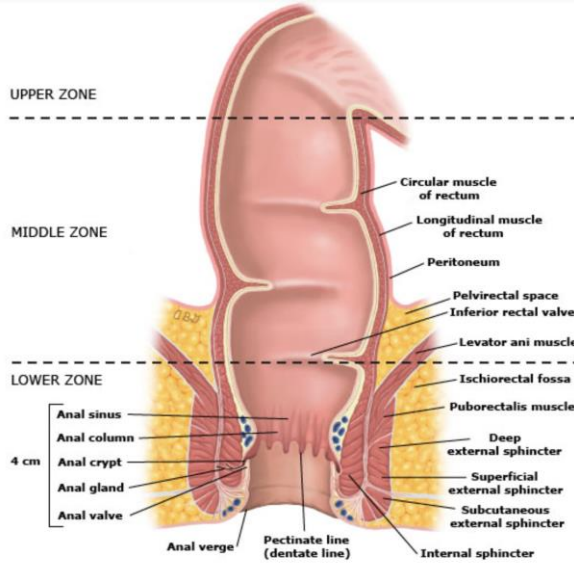
Rektumun üst (proksimal) sınırı olarak genellikle rektosigmoid bileşke kabul edilmektedir. Rektumun alt (distal) sınırı, anal kanalın ortasında bulunan dentat çizgidir. Dentat çizgi, aynı zamanda rektumun kolumnar mukozasının/epitelinin, anüsün skuamöz mukozasına geçiş yaptığı noktadır (Şekil 1). Tedavi ve prognozdeki farklılıklar nedeniyle rektum, tümörün alt kenarının anüs kenarından uzaklığına göre de üç bölüme ayrılır: 12 ila 16 cm arası üst; 6 ila 12 cm arası orta ve 6. cm'e kadar ise alt rektum olarak adlandırılır. Alternatif tanımlamalar (10-15 cm arası üst, 5-10 cm arası orta, 0-5 cm arası alt rektum) da kullanılmaktadır.

Ön peritoneal refleksiyon, rektumun peritoneal boşluktan çıktığı ve intraperitoneal bir yapı haline geldiği noktayı temsil eder (anüs kenarından yaklaşık 12-15 cm). Bu seviyenin altında, visseral fasyanın bir tabakası hem rektumu hem de mezorektum dokusunu kaplar ve pelvis içinde ayrı bir bölüm oluşturur. Rektumun sakral boşluğa yakın olan arka rektal duvarı tamamen ekstraperitonealdir. Üst rektum, periton tarafından önden ve yanlardan sarılırken, orta rektum yalnızca önden peritonla kaplıdır.

Rektum gerçek bir mezenter tarafından sarılmış değildir. Mezorektum, posteriorda daha kalın olan ve inferior mezenterik arterin terminal dallarını içeren perirektal areolar dokudur. Rektum, kadınlarda mesane, vajina ve uterin servikse komşuluk yaparken erkeklerde ise mesane, vas deferens, seminal veziküller ve prostatın posterioru ile komşudur.

Üst rektum, inferior mezenterik arterin bir dalı olan superior rektal arter tarafından beslenir. Orta ve alt rektum ise sırasıyla internal iliak arterin anterior dalından ve/veya pudental arterden dallanan orta rektal arter ve inferior rektal arter tarafından beslenir.

Rektumun üst üçte ikisinin lenfatik drenajı, inferior mezenterik nodların ve paraaortik nodların üzerinde, superior hemoroidal ven yolu boyunca gerçekleşir. Rektumun alt üçte birinin lenfatik drenajı, superior inguinal nodlara ve inferior rektal arter trasesine paralel olarak devam etmekle birlikte laterale de drene olmaktadır. Dentat çizginin altında, drenaj inferior rektal lenfatikler boyunca superior inguinal nodlara ve inferior rektal arter trasesine göre gerçekleşir. Lenfatik drenajın çeşitliliği nedeniyle rektum kanserlerinde karaciğer ve akciğer metastazları meydana gelmektedir [12].



Şekil 1. Rektum Anatomisi[13]

2.2. Rektum Kanserinin Etiyoloji ve Epidemiyolojisi

Rektal kanser etiyolojisinde hem çevresel hem de genetik faktörler rol almaktadır. Rektal kanserlerin yaklaşık %75'i sporadiktir, buna karşın %15 ila %20'si pozitif bir aile öyküsü olan hastalarda meydana gelmektedir. Kalıtsal nonpolipozis kolorektal kanser (HNPCC; %4-%7), ailesel adenomatöz polipozis (FAP; %1) gibi genetik yatkınlıklar ve kronik ülseratif kolit (%1) gibi inflamatuvar bağırsak hastalıkları da etiyolojisinde rol oynamaktadır [14]. Göçmen popülasyonlar üzerinde çevresel faktörlerin temel rolü, yapılan gözlemlerle desteklenmiştir [15].

Yağ içeriği yüksek, lif oranı düşük olan beslenme tarzının kolorektal kanserin gelişimi ile ilişkili olduğu bulunmuştur. Yüksek lifli beslenmenin kolorektal kanserden koruyucu olduğu bilinmektedir. Lifin, kanserojenleri seyrelten yumuşak, hacimli bir dışkı oluşumuna katkısı; ayrıca kolonik geçiş süresini hızlandırarak kanserojen maddelerin mukozayla temas etme süresini kısaltması bu katkıyı sağlamaktadır [16].

Sedanter yaşam tarzı, obezite, sigara ve alkol tüketimi de kolorektal neoplazi riskini artırmaktadır. KRK'nin çoğu, bağırsak duvarında meydana gelen adenomatöz poliplerden kaynaklanmaktadır. Boyut olarak 2 cm üzeri olan, villöz tipte olan veya displastik hücreler içeren polipler kansere ilerleme olasılığı en yüksek olanlardır.

Sporadik kolorektal kanser insidansı, her iki cinsiyet için de 45-50 yaşın üzerinde artış göstermektedir. Kalıtsal sendromlar (örneğin FAP, HNPCC veya Peutz-Jeghers sendromu gibi hamartomatöz polipozis durumları) gibi bazı hasta alt grupları kolorektal kansere daha erken yaşlarda yakalanmaktadır [17].

2.3. Rektum Kanseri Önleme ve Erken Tanı

Rektum kanserinde birincil korunma, kolorektal kansere yol açan faktörlerin belirlenmesi ve bu faktörlerin ortadan kaldırılması ya da adenomdan karsinoma geçiş sürecine müdahale edilmesini içerir. Doğru beslenme yaklaşımları (yüksek lifli, az yağlı beslenme) ve yaşam tarzı faktörlerinin düzenlenmesi (ideal kilo, fiziksel aktivite, sigara içmemek, sınırlı alkol tüketimi) kolorektal kanser riskini azaltmaktadır [18]. Adenomdan karsinomaya malign transformasyon seneler

içerisinde meydana gelmektedir. Rektal kanser taramanın amacı, premalign lezyonların ve tedavi edilebilir evredeki kanserlerin erken tespitini sağlamak ve uygun tedavi seçeneği ile tedavi ederek rektum kanserinden ölümleri önlemektir.

Kemopreventif stratejiler, nonsteroidal antiinflamatuvar ilaçların (aspirin, sulindac veya yeni seçici COX-2 inhibitörleri gibi) kullanımı ile kolorektal adenom veya karsinom riski arasında ters bir ilişki olduğunu destekleyen popülasyon tabanlı çalışmalara dayanmaktadır. COX-2, adenomların %50'sinden fazlasında ve adenokarsinomların %80 ila %85'inde aşırı eksprese edilmektedir [19].

Ortalama risk grubundaki popülasyon (50 yaş ve üstü, kolorektal kanser için negatif aile öyküsü, adenom, kolorektal kanser veya inflamatuvar bağırsak hastalığı öyküsü olmayan kişiler) için tarama 50 yaşında başlamalıdır. Tarama, kolonoskopi, dışkıda gizli kan testi, esnek sigmoidoskopi veya bilgisayarlı tomografi (BT) kolonoskopisi (sanal kolonoskopi) gibi yöntemlerden hasta için uygun olanı ile yapılmalıdır. İlgili bulgulara (pozitif/negatif testler, poliplerin tespiti) dayalı olarak, ek tedavi ve/veya yeniden tarama aralıkları önerilmelidir.

Bazı bireyler, kolorektal kanser için artmış risk altındadır. Örneğin, birinci derece akrabalarında kolorektal kanser olanlar, ailesinde FAP veya HNPCC öyküsü olanlar veya kişisel olarak adenomatöz polip, kolorektal kanser veya kronik inflamatuvar bağırsak hastalığı öyküsü bulunanlar için tarama, ortalama risk grubundakilerden daha erken (40 yaşında) başlamalı ve daha sık yapılmalıdır [20].

2.4 Rektum Kanseri Teşhis ve Evreleme

Rektum kanserinin yaygın semptomları arasında kanlı dışkılama, kabızlık, ishal veya dışkı çapında değişiklik bulunmaktadır. Kanama şikâyeti olan hastalarda ayırıcı tanıda hemoroidal kanama da göz önüne alınmalıdır.

Rektum kanserinde doğru evreleme, cerrahi stratejinin belirlenmesi ve preoperatif tedavi gereksinimlerinin saptanması açısından hayati öneme sahiptir. Hastaların değerlendirilmesinde öncelik hastanın hikayesi ve fizik muayenesidir. Fizik muayenede dijital rektal muayene (DRE) yaparak ortalama anal kanalda

yaklaşık 7-8 cm mesafeye ulaşılabilir. DRE sayesinde tümörün büyüklüğü, ülserasyonu ve çevre yapılarla ilişkisi açısından değerli bulgular elde edilebilir. DRE ayrıca, hastanın sfinkter koruyucu bir prosedüre uygun olup olmadığını belirlemede kritik olan sfinkter fonksiyonunun değerlendirilmesini de sağlar.

Kolonoskopi ile lezyonun doğrudan görüntülenebilmesinin yanı sıra, tümör büyüklüğü, tümörün anal kenara olan mesafesi ve rektumdaki obstrüksiyonun derecesi açısından önemli bilgiler elde edilmektedir. Kolonoskopi esnasında biyopsi alınması kesin tanıda rol almaktadır. Tam obstrüksiyon durumunda sanal kolonoskopi hastalarda değerlendirme amaçlı bir seçenektir.

Lokal klinik evreleme, transrektal endo-ultrason (EUS) ve yüksek çözünürlüklü pelvik görüntüleme (MR) ile gerçekleştirilebilir [21, 22]. Rektum duvarının ve çevre dokuların katmanlarının doğrudan değerlendirilebilmesi nedeniyle, erken evre tümörlerde EUS, pelvik MRI'a tercih edilebilir. Yüksek çözünürlüklü MRI, klinik evreleme için tercih edilen yöntem olarak öne çıkmıştır; bu yöntem, sirküferansiyel rezeksiyon sınırı (CRM) ve komşu organ tutulumunun değerlendirilmesinde üstünlük sağlar [23]. CRM, tümörün mezorektal fasyaya olan infiltrasyon derecesini ifade eder. Mezorektal fasyaya 1–2 mm mesafede malign infiltrasyonun bulunması durumunda, CRM'nin tehdit altında olduğunun preoperatif olarak tanınması, cerrahi rezeksiyon sınırının negatif CRM sağlayacak şekilde planlanmasına olanak tanır [24, 25].

Hastalarda standart olarak tam kan sayımı, karaciğer ve böbrek fonksiyon testleri, serum karsinoembriyonik antijen (CEA) ve Karbonhidrat antijeni 19-9 (CA19-9) ölçümleri tedavi öncesinde yapılması gereken laboratuvar testleridir.

Amerikan Kanseri Komitesi (AJCC)/Uluslararası Kanseri Kontrol Birliği (UICC) tarafından geliştirilen Tümör, Nod, Metastaz (TNM) evreleme sistemi, kolorektal kanser (KRK) için tercih edilen evreleme sistemidir (Tablo 1).

Tablo 1. Rektum Kanseri TNM Evrelemesi AJCC 8. Baskı

	T	Primer tümör
x	T	Primer tümör değerlendirilemez
0	T	Primer tümör varlığına dair kanıt yok
is	T	Karsinoma in situ: İntramukozal karsinom (lamina propria tutulumu mevcut, ancak muskularis mukoza'yı aşmamış)
1	T	Tümör, submukozaya invaze olmuş (muskularis mukoza'yı aşmış ancak muskularis propria'ya ulaşmamış)
2	T	Tümör, muskularis propria'ya invaze olmuş
T3		Tümör, muskularis propria'yı aşarak perikolorektal dokulara invaze olmuş
4	T	Tümör, visseral peritona invaze olmuş veya komşu organ ya da yapılara invaze olmuş ya da yapışmış
4a	T	Tümör, visseral peritonu invaze etmiş (bağırsakta tümör yoluyla belirgin perforasyon dahil ve inflamasyon bölgeleri boyunca visseral periton yüzeyine sürekli invazyon gösteren tümör dahil)
4b	T	Tümör, doğrudan komşu organ veya yapılara invaze olmuş veya onlara yapışmış

	N	Bölgesel Lenf Nodları
X	N	Bölgesel lenf nodları değerlendirilemez
0	N	Bölgesel lenf nodu metastazı yok
1	N	Bir ila üç bölgesel lenf nodu pozitifdir (lenf nodundaki tümör $\geq 0,2$ mm) veya tüm belirlenebilir lenf nodları negatifken herhangi bir sayıda tümör depozitleri mevcuttur
1a	N	Bir bölgesel lenf nodu pozitif
1b	N	İki veya üç bölgesel lenf nodu pozitif

1c	N	Bölgesel lenf nodları negatif olmasına rağmen, subserozada, mezenterde veya peritonla kaplı olmayan perikolik, perirektal/mezorektal dokularda tümör depozitleri mevcuttur
2	N	Dört veya daha fazla bölgesel lenf nodu pozitifliği
2a	N	Dört ila altı bölgesel lenf nodu pozitifliği.
2b	N	Yedi veya daha fazla bölgesel lenf nodu pozitifliği.

	M	Uzak Metastaz
0	M	Görüntüleme vb. yöntemlerle uzak metastaz saptanmaz; uzak bölge veya organlarda tümör varlığına dair kanıt yoktur. (Bu kategori patolojistler tarafından atanmaz)
1	M	Bir veya daha fazla uzak bölgeye veya organa metastaz ya da peritoneal metastaz tespit edilmiştir.
1a	M	Peritoneal metastaz olmaksızın yalnızca bir uzak bölgeye veya organa metastaz tespit edilmiştir.
1b	M	Peritoneal metastaz olmaksızın iki veya daha fazla uzak bölgeye veya organa metastaz tespit edilmiştir.
1c	M	Peritoneal yüzeye metastaz tek başına veya diğer uzak bölge/organ metastazlarıyla birlikte tespit edilmiştir.

2.5. Rektum Kanseri Tedavi Yaklaşımları

2.5.1. Rektum Kanseri Cerrahinin Yeri ve Zamanlaması

Cerrahi erken evre rektum kanserinde tek başına ve lokal ileri evre rektum kanserinde KRT ve KT'ye ek olarak uygulanan tedavi yaklaşımıdır. Tümörün lokalizasyonuna göre (alt, orta, üst) abdominoperineal rezeksiyon (APR) veya low anterior rezeksiyon (LAR) tercih edilmektedir. Cerrahide hedef, maksimum organ koruması sağlanarak tam bir TME ile cerrahi marjların elde edilmesi ve yeterli sayıda lenf nodu diseksiyonunun (minimum 12 adet) gerçekleştirilmesidir[26].

2.5.2. Rektum Kanserinde Radyoterapinin Yeri ve Zamanlaması

Lokal ileri evre rektum kanseri olarak tanımlanan klinik T3–T4 tümörlerde ve/veya lenf nodu tutulumu (N+) bulunan olgularda, cerrahiye ek olarak RT ve/veya KT neoadjuvan ya da adjuvan dönemde uygulanmalıdır. Lokal ileri evre rektum kanserinde neoadjuvan/adjuvan tedavideki amaç lokorejyonel kontrolü sağlamanın yanında, uzak metastaz gelişmesine engel olmaktır.

Lokal ileri rektum kanseri tedavi yaklaşımında başlıca çalışmalardan olan İsveç Rektum Kanseri Çalışmasında, cT1-3 evresinde rektum kanseri olan hastalar randomize iki gruba ayrılmış, bir grup 5 Gy x 5 fraksiyonda toplam 25 Gy RT aldıktan sonra opere edilirken diğer gruba ise direkt cerrahi tedavi uygulanmış. Preoperatif RT alan hastalarda lokal nüks oranında anlamlı derecede azalma (%12'ye karşı %27; $p < 0.001$) ve bununla birlikte 5 yıllık genel sağkalımda anlamlı bir iyileşme görülmüştür (%58'e karşı %48; $p = 0.004$). 13 yıl sonraki analizlerde benzer şekilde genel sağkalım RT alan grupta anlamlı şekilde daha yüksek bulunmuştur (%38'e karşı %30; $p = 0.008$) [27].

Neoadjuvan KRT'nin etkinliğini net biçimde ortaya koyan Alman Rektum Kanseri Çalışma Grubu'nun yaptığı çalışmada, klinik olarak T3/T4 veya lenf nodu pozitif rektum kanseri olan 823 hasta, aynı KRT protokolünü ameliyat öncesi veya sonrası alacak şekilde iki gruba rastgele randomize edilmiştir. Uygulanan KRT rejimi, tümör ve pelvik lenf nodlarına yönelik toplam 50.4 Gy/28 fraksiyonda ve buna eş zamanlı olarak infüzyonel 5-fluorourasil (5-FU) uygulanmasını içermektedir. Tüm hastalara TME cerrahisi yapılmış ve ardından dört kür boyunca adjuvan 5-FU verilmiştir. Postoperatif KRT grubundaki hastalara ayrıca 5.4 Gy'lik RT “boost”u uygulanmıştır. Ortalama 46 aylık izlem süresi sonunda, preoperatif KRT uygulanan grupta pelvik nüks oranı anlamlı şekilde daha düşük bulunmuştur (%6'ya karşı %13). Beş yıllık hastalıksız sağkalım oranları ve genel sağkalım oranları her iki tedavi kolunda benzer bulunmuştur [28].

Bu bulguları destekleyen çalışmalardan önemli bir tanesi de Amerika'da yürütülen NSABP R-03 protokol çalışmasıdır. Çalışmada lokal ileri olup operasyona uygun olan rektum kanserli hastalar, preoperatif veya postoperatif KRT kollarına

randomize edilmiştir. Çalışma hedeflenen hasta sayısına ulaşamadığı için erken sonlandırılmış, ancak sonuçlarda preoperatif KRT grubunda beş yıllık hastalıksız sağkalım oranı anlamlı olarak daha yüksek bulunmuştur. Genel sağkalımda daha iyiye gidiş eğilimi gözlenmiş, bölgesel kontrol oranları her iki grupta eşit bulunmuştur [29].

2.5.3. Lokal İleri Rektum Kanserinde Total Neoadjuvan Tedavi Yaklaşımları

Total neoadjuvan tedavi yaklaşımı, lokal ileri evre rektum kanserli hastalarda KRT ve KT'nin cerrahiden önce tamamlandığı tedavi yaklaşımıdır. TNT'nin başlıca avantajları: hastaların tedaviye daha iyi uyum sağlaması, cerrahi sonrasındaki adjuvan KT ve RT'ye kıyasla toksisitede azalma, ileostomiye olan ihtiyaç ve/veya ileostomi süresinin kısalması, klinik tam yanıt oranlarının artması ve anal sfinkter koruma oranlarını iyileştirmesi sebebiyle "izle ve bekle" stratejisine imkan tanımasıdır [30].

Lokal ileri TNT yaklaşımı ile yapılan çalışmaların sonuçları mikrometastaz gelişme oranlarının düştüğü, sistemik kemoterapi ile ise uzak metastazların azaldığı yönündedir [31].İspanyol GCR-3 randomize faz II çalışmasında, hastalar KRT ile başlayıp cerrahi sonrasında adjuvan KT alan çalışma kolu ile indüksiyon KT'yi takiben KRT sonrasında cerrahi tedavi alan kol olarak iki gruba ayrılmış. Patolojik tam yanıt oranları (pCR), 5 yıllık hastalıksız sağkalım (DFS) ve genel sağkalım (OS) oranları iki grup arasında benzer olarak gözlenmiş, ayrıca indüksiyon KT'nin hastalar için daha az toksik ve daha iyi tolere edildiği görülmüştür. GCR-3 çalışması, RAPIDO çalışması için bir temel oluşturarak TNT yaklaşımının tedaviye uyumu artırdığını, akut toksisiteyi azalttığını ve geleneksel yaklaşıma benzer sonuçlar sağladığını göstermiştir [32].

RAPIDO randomize faz III çalışması, standart tedavi kolunda KRT+TME, ardından KT, TNT kolunda ise kısa süreli RT sonrası KT ve ardından TME uygulanmış. Toplamda 912 hastayı içeren çalışmada, randomizasyondan 3 yıl sonra hastalıkla ilişkili tedavi başarısızlığı oranı, TNT grubunda %23,7 iken, standart tedavi grubunda %30,4 olarak bulunmuştur. İkincil sonlanım noktası olan genel

sağkalım açısından ise gruplar arasında fark bulunmamıştır. Ciddi yan etkiler TNT grubunda %38, standart tedavi grubunda %34 oranında görülmüştür [33].

UNICANCER-PRODIGE 23 randomize faz III çalışması, neoadjuvan KT ve KRT'yi içeren tedavi kolunu, yalnızca neoadjuvan KRT içeren diğer tedavi koluyla karşılaştırmıştır. Çalışmaya, lokal ileri rektal kanseri olan 461 hasta dahil edilmiştir. Her iki grupta da TME sonrası adjuvan KT uygulanmıştır, ancak neoadjuvan KT alan grupta adjuvan tedavi süresi daha kısa tutulmuştur. Medyan 46,5 aylık takip sonrası, 3 yıllık hastalıksız sağkalım, neoadjuvan KT alan grupta %76, standart tedavi grubunda %69 olarak bulunmuştur ($p = 0,034$). Tüm tedavi süresi boyunca ciddi yan etkiler neoadjuvan KT grubunda %11, standart tedavi grubunda %23 oranında görülmüştür ($p = 0,0049$) [34].

TNT yaklaşımı ile ilgili önemli bir tartışma konusu da önce KT ile mi başlanmalı yoksa önce KRT ile mi sorusudur, günümüzde sıralama için tek bir yanıt bulunmamaktadır.

Faz II Organ Preservation in Rectal Adenocarcinoma (OPRA) çalışmasında MRI evrelemesine göre evre II veya III rektum kanseri tanısı almış 324 hasta, oksaliplatin bazlı KT'nin floropirimidin bazlı KRT'den önce ya da sonra uygulanacağı şekilde rastgele iki gruba ayrılmıştır. Hastalar, TNT tamamlandıktan 8 ila 12 hafta sonra yeniden evrelendirilmiştir. Tam yanıt veya tam yanıtına yakın yanıt elde edilen hastalara yakından izlem, inkomplet yanıt gösteren hastalara ise TME planlanmıştır. Beş yıllık medyan takip süresinde, KT'yi takiben uygulanan KRT, organ koruma oranları açısından önce KRT uygulanıp ardından KT verilen gruba göre daha düşük sonuçlar göstermiştir (TME'siz sağkalım oranı: %39'a karşı %54). Ancak, beş yıllık hastalıksız sağkalım oranları ve üç yıllık genel sağkalım her iki tedavi kolunda benzer bulunmuştur. Bu sonuçlar tedaviye KRT ile başlamanın TME'siz sağkalımı artırabileceğini düşündürmektedir [35].

Benzer şekilde, faz II CAO/ARO/AIO-12 çalışması, TNT stratejilerini karşılaştırarak indüksiyon KT'sinin ardından KRT uygulayan yaklaşımı, önce KRT ardından konsolidasyon KT alan grupla karşılaştırmıştır. Bu çalışmada, başlangıçta KRT alan grupta KRT'yi tamamlama oranı daha yüksek olmasına rağmen KT'yi

tamamlama oranı daha düşük bulunmuştur. Patolojik tam yanıt oranları, önce KT alan grupta %17, önce KRT alan grupta ise %25 olarak bulunmuştur [3]. CAO/ARO/AIO-12 çalışmasının medyan 43 aylık takibini içeren ikincil analizde, her iki grup arasında uzun dönem sonuçlar açısından anlamlı fark bulunmamıştır: 3 yıllık hastalıksız sağkalım oranları her iki grup için de %73'tür. Lokal nüks oranları (%6 vs. %5) ve uzak metastaz oranları (%18 vs. %16) da benzer bulunmuştur. Tedavi süresince, KT ile başlayan grupta %11,8 oranında, KRT ile başlayan grupta ise %9,9 oranında ≥ 3 . derece kronik toksisite görülmüştür [3]. Sonuçlar TNT yaklaşımında önce KRT sonra KT uygulanmasının hastalarda daha yüksek patolojik tam yanıt oranı sağladığı, ancak hastalıksız sağkalım, lokal nüks, uzak metastaz veya toksisite açısından anlamlı fark oluşturmadığını göstermektedir.

Bu çalışmalar ışığında, Ulusal Kapsamlı Kanser Ağı (NCCN) evre II–III rektal kanser tanımlı hastalarda TNT'yi ilk tercih edilen yaklaşım olarak önermektedir [5].

2.5.4. Rektum Kanserinde Tedavi Yanıtı Değerlendirmesi ve Cerrahi Zamanlaması

KRT sonrasında tümör boyutunda veya evresinde anlamlı gerileme görülmeyen, yanıt vermeyen hastalarda cerrahinin geciktirilmesi daha kötü sonuçlara yol açabilir. Bu grup hastalar KRT'nin tamamlanmasından kısa süre sonra değerlendirilip, gecikmeden cerrahiye alınmalıdır. Bu konuda oluşturulmuş kılavuzlarda cerrahi zamanlaması yer almıştır. NCCN kılavuzunda, neoadjuvan KRT sonrası 5 ila 12 hafta içinde cerrahinin yapılmasını önermektedir [5]. Avrupa Tıbbi Onkoloji Derneği (ESMO) kılavuzlarına göre, pratikte cerrahi zamanlamasında 4 ila 12 hafta arasında geniş bir değişkenlik mevcuttur. Uzun süreli bekleme patolojik tam yanıt oranlarını artırabilir, ancak bu durum tümör hücrelerinin yeniden çoğalmasına, adjuvan KT'nin gecikmesine ve metastaz riskinin artmasına neden olabilir [36]. Amerika Radyasyon Onkoloji Derneği (ASTRO) güncel rektum kılavunun önerisine göre ise neoadjuvan KRT uygulanan ve ek bir neoadjuvan KT planlanmayan rektum kanseri hastalarında,

KRT'nin bitiminden ameliyata kadar geçen sürenin 6-11 hafta olması önerilmektedir [37].

2.6. İyonizan Radyasyon ve Etkileri

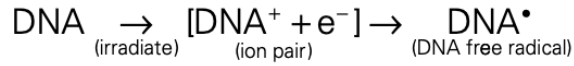
Radyoterapi, etkisini foton, elektron ve proton gibi yüklü parçacıkların oluşturduğu İR aracılığıyla gerçekleştirir. RT, modern tekniklerin gelişimiyle birlikte kanser tedavisinde geniş bir kullanım alanına sahiptir. RT sürecinde hücresel düzeyde iki tür hasar meydana gelir: DNA üzerinde doğrudan etki eden *direkt hasar* ve serbest radikal oluşumu yoluyla dolaylı gerçekleşen *indirekt hasar*.

Direk hasarda, radyasyonun doğrudan DNA molekülü ile etkileşmesi sonucunda tek veya çift zincir kırıkları meydana gelir. Direkt hasar mekanizması, İR'nin makromoleküllerle doğrudan çarpışarak kimyasal bağları kırması ve genetik materyalin bütünlüğünü bozması üzerine kuruludur. Tek zincirde meydana gelen hasar hücre tarafınca tamir edilebilirken, çift zincir kırıkları hücresel tamir mekanizmaları açısından en zorlu lezyonlar olup hücre ölümüne veya mutagenize yol açabilmektedir [38].

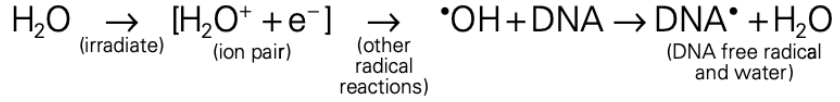
İndirek hasar ise radyasyonun hücre içi su moleküllerini iyonize etmesi ile açığa çıkan hidroksil radikalleri, süperoksit anyonları ve hidrojen peroksit gibi reaktif oksijen türlerinin (ROS), DNA, protein ve lipitlerle reaksiyona girmesi sonucu ortaya çıkar. Bu serbest radikaller, nükleik asitlerde baz değişikliklerine, zincir kırıklarına ve oksidatif strese yol açarak hücresel fonksiyonları bozarak hücre ölümüne kadar neden olabilir. İndirekt mekanizma, tüm radyasyon hasarlarının yaklaşık %60–70'inden sorumlu olup özellikle oksijen varlığında artış gösterir.

RT'nin biyolojik etkinliği hem direkt DNA hasarına hem de indirekt serbest radikal aracılı hasara dayanmaktadır (Şekil 2). Bu iki mekanizmanın etkileşimi, hücre ölümü, genetik instabilite ve tedavi etkinliği açısından kritik öneme sahiptir [38].

Direct Effect



Indirect Effect



Şekil 2. RT direk ve indirek hasarı [39]

2.7. Ferroptozis

Ferroptozis, apoptoz ve nekroptoz gibi diğer düzenlenmiş hücre ölümü biçimlerinden morfolojik, biyokimyasal özellikleriyle ayrılan özgün bir hücre ölüm mekanizmasıdır. Demir bağımlı lipid peroksidlerinin hücre membranlarında birikimi sonucu ortaya çıkar. Kanseri biyolojisinde doğal bir tümör baskılama süreci olarak tanımlanan ferroptozis, özellikle apoptoza dirençli tümörlerde terapötik bir hedef olarak öne çıkmaktadır. Son yıllarda yapılan çalışmalar, ferroptozisin tümör hücrelerinin eliminasyonunda doğrudan etkili olmasının yanı sıra immün yanıtı modüle ederek immünoterapilerin etkinliğini artırabileceğini göstermiştir. Tümör biyolojisini oluşturan tümör mikroçevresi (TME), tümör hücreleri, stromal hücreler, immün hücreler, damar yapıları, hücre dışı matriks ve metabolitler, sitokinler gibi salgılanan moleküller olmak üzere çok çeşitli hücre tipleri ve faktörler içerir. TME'ye bağlı olarak oksidatif stres faktör etkileşimi değişmektedir; orta düzeyde ROS, tümör büyümesini teşvik ederken, daha yüksek düzeyler makromoleküllerde artmış oksidatif hasara ve hücre ölümüne yol açar[40]. Bunun sonucu olarak ferroptozisin tümör mikroçevresi üzerindeki etkileride çift yönlüdür; erken evrelerde immünojenik hücre ölümü aracılığıyla antitümör immüniteyi güçlendirirken, bazı durumlarda immüniteyi baskılayıcı mekanizmaları da tetikleyebilmektedir. Ferroptozis, bazı tümör baskılayıcı genler (p53, BRCA1 ile ilişkili protein 1, fumarat hidratat, KEAP1 ve epigenetik düzenleyici MLL4 gibi) ile indüklenerek antikanser aktivite göstermekte ve doğal bir tümör baskılama mekanizması olarak işlev görmektedir [41]. Diğer yandan ferroptozis ROS aracılı lipid peroksidasyonunda da

yer aldığından, RT ile ferroptozis arasında önemli bir biyolojik kesişim bulunmaktadır. Preklinik çalışmalar, RT'nin ferroptozisi tetikleyerek tümör hücrelerinin duyarlılığını artırdığını, ferroptozis indükleyici ajanlarla RT kombinasyonunun radyorezistansın aşılmasında güçlü bir strateji olabileceğini ortaya koymuştur [41].[42].

2.8. Hücrenin İyonizan Radyasyona Yanıtı

Hücre, İR'a çeşitli şekillerde yanıt verebilir ve çoğu zaman, farklı yanıtlar birbirine karşı rekabet eder (Şekil 3). Hücrenin radyasyona yanıtları şöyledir: [41] [39]

DNA Onarımı: Radyasyonun neden olduğu DNA hasarını onarmak için moleküler sistemlerin aktive olur. Oksijenlenmesi iyi olan hücreler, farklı DNA hasar türlerini onarmak için çeşitli yollar kullanabilir. Baz hasarı ve tek sarmallı kırıklar genellikle bir hücrenin onarması için kolaydır, ancak, çift sarmallı kırıklarda homolog olmayan uç birleştirme veya homolog onarım yolları daha zordur. Onarılmamış veya yanlış onarılmış çift sarmallı kırıklar, hücrenin yaşlanmasına veya ölümüne yol açabilecek kararsız kromozomal aberasyonlara neden olabilir.

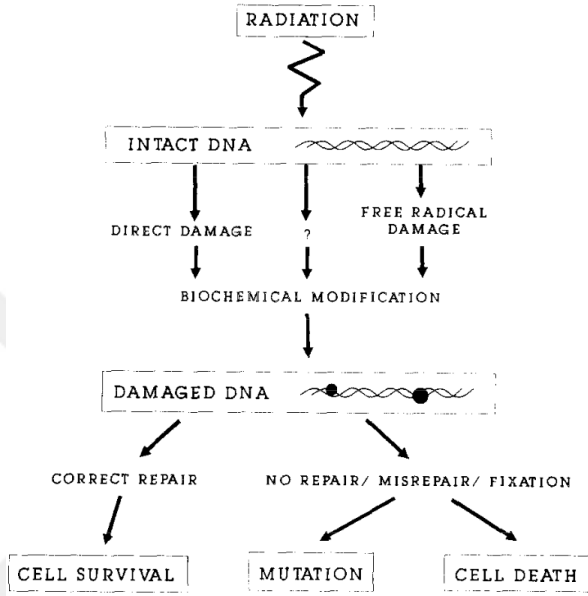
Hücre Döngüsünün Durdurulması: Hasarlı DNA ile hücrenin döngüye girmesini engeller. DNA'yı onarmayı ve hayatta kalmayı teşvik edebilir, ancak hücre büyümesini yavaşlatır.

Apoptoz: Programlanmış hücre ölümü, hasarlı hücreleri vücuttan uzaklaştırır. Tüm dokular apoptoza uğramaz ve birçok kanser hücresi apoptozdan yoksundur.

Proliferasyon: Hücre döngüsünün durdurulmasının ve apoptozun tersidir. Hücre öldürülmesine karşılık yeni hücreler çoğalır.

İnflamasyon: Sitokin indüksiyonu sonucu artan kan akışı ve bağışıklık sistemi aktivitesi ile meydana gelir. Bazı hücrelerin büyümesine ve diğer hücrelerin ölmesine neden olur.

Fibrozis: Skar benzeri ekstrasellüler stromanın üretilmesi ile oluşur, RT'nin yaygın geç toksisitesidir.

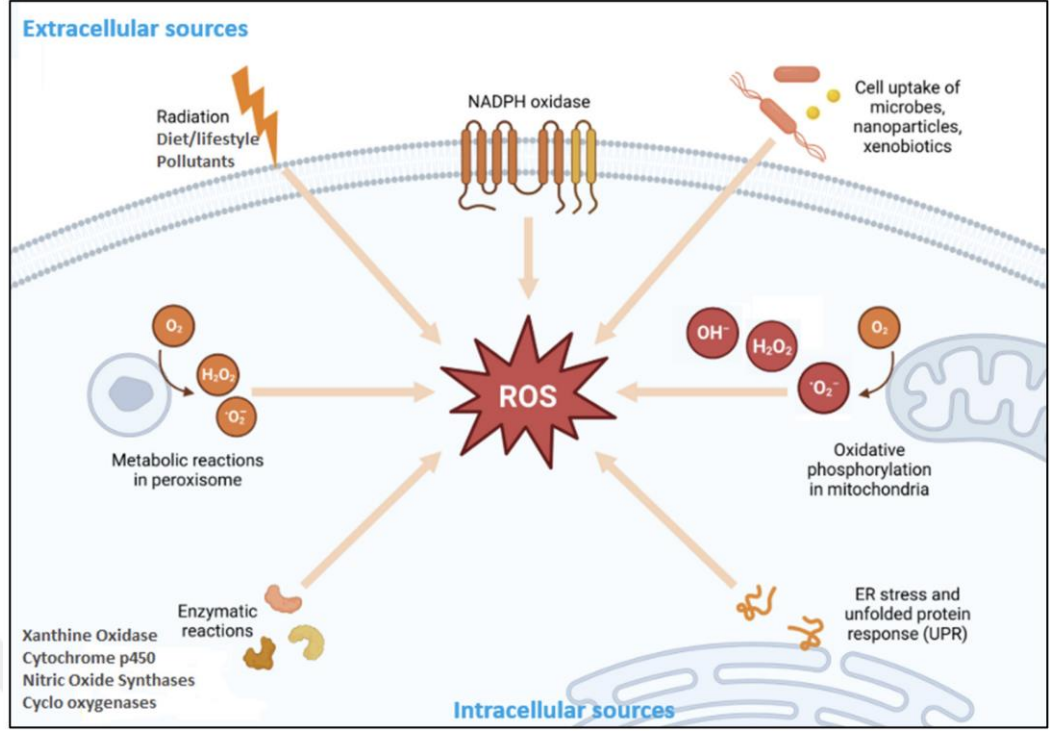


Şekil 3. İyonizan Radyasyonun DNA hasarı ve onarımı. [38]

2.9. Oksidatif Stres ve Antioksidanlar

Hücrede oksidan/antioksidan sistemin oksidan lehine değişmesiyle hücre içi reaktif oksijen ürünlerinin (ROS) üretimi artar. ROS üretimine NADPH oksidazlar, ksantin oksidaz, sitokrom P450 enzimleri ve nitrik oksit sentazlar gibi endojen kaynaklar neden olabilirken, İR, ultraviyole ışınları, sigara dumanı, ağır metaller ve çeşitli çevresel toksinler de eksojen ROS kaynaklarını oluşturmaktadır (Şekil 4)[43]. ROS fizyolojik düzeylerde hücresel homeostazın korunmasında, immün yanıtın düzenlenmesinde ve sinyal iletiminde kritik roller üstlenir. Ancak aşırı üretildiklerinde oksidatif stres gelişir; bu durum kanser lipid peroksidasyonu, DNA hasarı ve protein oksidasyonu gibi moleküler düzeydeki bozukluklara yol açarak kanser dahil pek çok kronik hastalığın (kardiyovasküler, metabolik ve nörodejeneratif hastalıklar gibi) patogenezinde rol alır [44].

İnsan vücudunda oksidatif stresi dengelemeyi sağlayan antioksidan savunma sistemleri vardır. Endojen antioksidanlar arasında enzimatik olan süperoksit dismutaz (SOD), katalaz ve glutatyon peroksidaz ROS'un detoksifikasyonunda kritik rol oynar. Bu enzimler zincir halinde çalışarak süperoksit radikalini hidrojen peroksit, ardından su ve oksijene dönüştürür. Non-enzimatik endojen antioksidanlar arasında glutatyon, ürik asit ve bilirubin yer almakta olup hücre içi redoks dengesinin korunmasına katkıda bulunmaktadır[43]. Eksojen antioksidanlar ise diyet ve besin destekleri yoluyla alınır. Vitamin C (askorbik asit) ve E (α -tokoferol) bu grupta en bilinen örneklerdir. Vitamin C suda çözünür yapısıyla sitoplazmada ve ekstrasellüler sıvılarda ROS'u temizlerken, vitamin E lipid çözünür yapısıyla hücre membranlarını lipid peroksidasyonuna karşı korur. Bunların yanı sıra, flavonoidler (kuersetin, kateşinler), karotenoidler (β -karoten, lutein, zeaksantin), polifenoller (resveratrol, kurkumin) ve çeşitli bitki ekstreleri serbest radikalleri temizlemenin yanı sıra metal iyonlarını şelatlayarak inflamatuvar yanıtları baskılar. Ancak, yüksek doz antioksidan kullanımının pro-oksidan etkilere yol açabileceği ve KT veya RT'nin oksidatif stres üzerinden yürüttüğü antitümör etkinliği azaltabileceği de göz önünde bulundurulmalıdır [44].



Şekil 4. İntrensek ve Ekstrensek ROS Kaynakları [45]

2.10. Radyoresistans

Radyoterapi direnci, tümör hücrelerinin radyasyona karşı duyarlılığını kaybetmesi sonucu ortaya çıkmakta ve lokal kontrolün bozulmasına, nüks ve metastaz riskinin artmasına yol açmaktadır. Kanseri hücrelerinde çeşitli pek çok direnç mekanizması vardır. Bu süreç hem tümör mikroçevresinde meydana gelen değişiklikler hem de hücre içi sinyal yollarının yeniden programlanması ile ilişkilidir. Hipoksi, metabolik yeniden programlanma, antioksidan savunma mekanizmalarının artışı, DNA tamir kapasitesinin artması ve çeşitli sinyal yollarının aktivasyonu da radyasyona dirençten sorumludur[46].

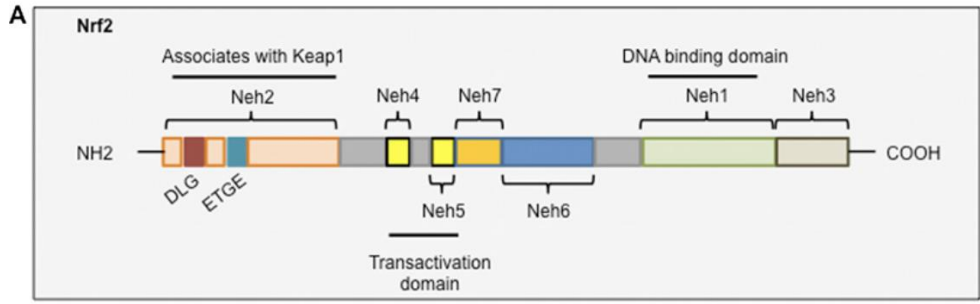
Endojen olarak antioksidan etkinliğin artması normal şartlarda antitümöral etkinlik gösterirken, radyoterapi gibi hücre içi oksidatif stresi artırarak işlev gören kanser tedavi mekanizmalarının etkinliğini azaltabilmektedir. Tümör hücrelerinin İR'ye cevap olarak antioksidan savunma mekanizmalarını (örn. mitokondriyal antioksidan enzimler, glutatyon sistemi) aktive etmesiyle oksidatif stres baskılanmakta ve radyoresistans gelişmektedir [47].

Rektum kanserinde de tümör mikroçevresi radyorezistansın gelişiminde kritik rol oynamaktadır. Kanslerle ilişkili fibroblastlar (CAFs), büyüme faktörleri (FGF, EGF, IGF-2) ve eksozomlar salgılayarak tümör hücrelerinde kök hücre benzeri özelliklerin kazanılmasını destekler. Tümörle ilişkili makrofajlar (TAMs) ise COX-2/PGE2 üretimi ve antioksidan moleküllerin salınımı ile radyasyonun öldürücü etkilerini sınırlar. Bu hücrel etkileşimler, epitel-mezenkimal geçişi (EMT) tetikleyerek invazyon ve metastaz potansiyelini artırır[48]. Moleküler düzeyde ise çeşitli sinyal yollarının aktivasyonu direnç gelişiminde merkezi rol oynamaktadır. PI3K/AKT/mTOR yolu DNA tamirini ve hücre proliferasyonunu artırırken, Wnt/ β -katenin yolu apoptozu baskılar ve tümör hücrelerini daha invazif hale getirir. Hippo/YAP1 yolunun aktivasyonu kök hücre benzeri fenotipleri güçlendirerek tedaviye direnç mekanizmalarını destekler. Ayrıca p53 baskılanması, bazı anti-apoptotik proteinlerin artışı ve DNA tamir kapasitesindeki artış radyorezistansın meydana gelmesinde rol oynamaktadır[49]. Sonuç olarak, rektum kanserinde RT direncinin gelişimi; hipoksik mikroçevre, immün hücrelerle etkileşimler, fibroblast ve makrofaj kaynaklı parakrin sinyaller ve çeşitli onkojenik yolların aktivasyonu ile şekillenen çok faktörlü bir süreçtir [50].

2.11. NRF-2

NFE2L2 geninin sentezlediği, Nükleer faktör eritroid kaynaklı-2 (NRF-2), redoks homeostazının korunması ve oksidatif strese karşı korunmada rol oynayan çeşitli genlerin ekspresyonunu düzenleyen anahtar bir transkripsiyon faktörüdür [51]. NRF-2, korunmuş bir temel lösin fermuarı (bZIP) yapısı içeren Cap'N' Collar (CNC) ailesine aittir [52].

NRF-2, Neh1'den Neh7'ye kadar yedi işlevsel domain içerir. Bu domainlerden Neh2, NRF-2' nin N-terminalinde yer alır ve ana düzenleyici domain olarak kabul edilir. Neh1 ve Neh 6 domainlerinin de NRF2 stabilitesini düzenlediği bildirilmiştir. Neh3, Neh4 ve Neh5 domainleri, NRF2 hedef genlerinin transaktivasyonunu sağlamak için aktivatörler ile etkileşir (Şekil 5)[7].



Şekil 5. NRF2 Gen Ailesi Domainleri [53]

NRF-2'nin ana işlevi, hücrel antioksidan yanıtı aktive ederek, eksojen ve endojen ksenobiyotikler ve oksidatif stres gibi zararlara karşı savaşılabilen geniş bir gen dizisinin transkripsiyonunu indüklemektir [6, 54].

Uzun bir süre boyunca NRF-2, hücrelerin savunma mekanizmasında olan rolü nedeniyle sitoprotektif bir transkripsiyon faktörü ve kemoprevensiyondaki işlevi nedeniyle bir tümör baskılayıcı gen olarak da kabul edilmiştir. Bu sebeple NRF-2 çeşitli malignitelere radyasyona direnç ile ilişkilendirilmiştir ve bu durum RT'ye gelişen direncin üstesinden gelmek için NRF-2'yi bir hedef haline getirmektedir [51]. Ancak, farklı çalışmalar NRF-2'nin dual rolünü de ortaya koymuştur [53].

2.11. 1. NRF-2'nin olumlu etkileri

Tümör Süpresör Etki: Antioksidan savunma ve detoksifikasyondan sorumlu enzimlerin ekspresyonunu düzenler: Süperoksit dismutaz (SOD), Katalaz, Glutasyon peroksidaz. Bu enzimler, reaktif oksijen türlerinin (ROS) nötralizasyonunda ve zararlı maddelerin detoksifikasyonunda rol alarak meydana gelen oksidatif stresi azaltır. DNA hasarı ve kanser oluşumunu başlatabilecek mutasyonları önler.

DNA hasarına karşı koruma: DNA onarımında rol oynayan genlerin ekspresyonunu artırır. NAD(P)H kinon dehidrojenaz 1 (NQO1) ve Heme oksijenaz-1 (HO-1).

Hücre döngüsü ve apoptozun düzenlenmesi: Hasarlı hücrelerin apoptoz yoluyla ölmesini teşvik ederek ve hücre çoğalmasını kontrol ederek potansiyel tümör öncüsü hücrelerin birikimini önlemeye yardımcı olur.

Anti-inflamatuar etki: Anti-inflamatuar genlerin ekspresyonunu düzenleyerek ve Nükleer faktör-kappa B (NF-κB) sinyal yolu gibi proinflamatuar yolları inhibe ederek inflamasyonu azaltır.

Hücrel Homeostazın Korunması: Metabolik yolları düzenleyerek hücrel homeostazı sağlar. Glukoz, lipid, aminoasit metabolizmasında ilgili genlerin ekspresyonunu modüle eder.

Onkojenik Yolların İnhibisyonu: MYC, RAS gibi genlerin regülasyonunu sağlar. Bu genlerden meydana gelebilecek onkojenik sinyallere karşı koyarak, NRF-2 erken tümör gelişimini baskılar [53, 55, 56].

2.11.2. NRF-2'nin olumsuz etkileri

Tümör hücrelerinin hayatta kalmasını sağlamak: Kanser hücrelerinde redoks dengesini sağlayıp, antioksidanlar üreterek kanser hücresi proliferasyonunu ve hayatta kalmasını teşvik edebilir.

Kemoterapi ve Radyoterapiye Direnç: Başlıca küçük hücre dışı akciğer kanseri (KHDAK), prostat, meme, baş boyun olmak üzere pek çok kanser alt tipinde NRF-2

hücrelerde normalden yüksek seviyelerde bulunmaktadır [8, 57-59]. NRF-2'nin yüksek düzeyde bulunmasının kanser hücrelerini İR'a karşı koruduğu ve RT'ye dirençten sorumlu olduğu gösterilmiştir. Singh ve ark. (2010), yaptığı çalışmada yüksek seviyelerde NRF-2'ye sahip kanser hücrelerinin, etoposid, karboplatin, sisplatin, 5-florourasil ve doksorubisin gibi yaygın kemoterapötik ajanlara karşı daha az duyarlı olduğunu göstermiştir [8]. KHDAK alanında yapılan çalışmalarda NRF-2 seviyesinin prognozla ilişkili olduğu ve yüksek seviyelerde ekspresse edilen hastaların prognozunun kötü olduğu gösterilmiştir [60].

Kanser hücre proliferasyon ve metastazını destekleme: NRF-2, siklin, siklin-bağımlı kinaz ve matris metalloproteinazlar sayesinde hücre çoğalmasına katkıda bulunur. NRF-2'nin KHDAK hücrelerinde önemli bir kısmı glutatyon üretimi için kullanılan glutamin seviyelerini yükselttiği saptanmıştır. Bu artan glutatyon sentezinin de kanser hücrelerinin çoğalmasını indüklediği gösterilmiştir [7].

Pro-tümörejenik çevre oluşumu: İnflamatuar yanıtı kronik inflamasyon yönüne çekerek uygun tümör gelişim ortamı oluşturmada ve anjiyogenezi artırarak tümör beslenmesi için gerekli yeni damar oluşumunu sağlamada rol almaktadır.

NRF-2, protein, lipid ve glukozun metabolik yollarında da rol alır.

Onkogenik RAS/MAPCK yolağı, MYC yolağında rol alarak tümör oluşumu ve proliferasyonunda rol oynar.

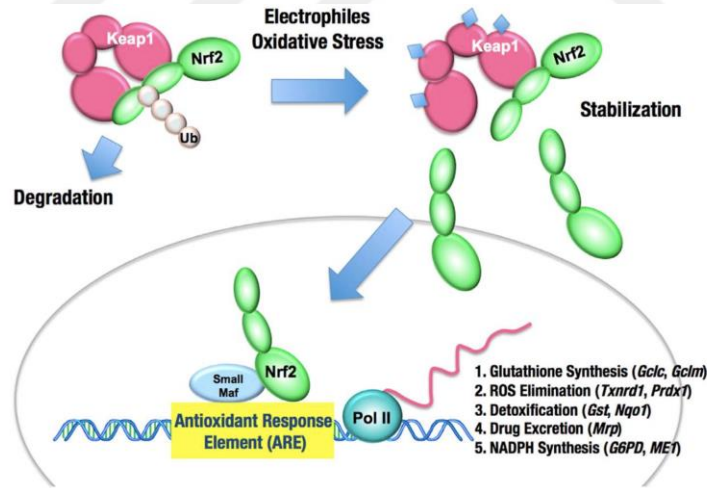
Genomik kararsızlık meydana gelmesini kolaylaştırır [53, 55].

2.12. KEAP-1

Kelch-benzeri ECH ilişkili protein 1 (KEAP1), NRF-2 aktivitesinin düzenlenmesinde rol alan proteindir [54]. KEAP-1, geniş kompleks/tramtrack/bric-a-brac (BTB) domaini, santral intervening region (IVR) ve çift glisin tekrar (DGR) domaini olarak da bilinen bir Kelch domaini dahil olmak üzere üç işlevsel domain içerir. Kelch/DGR domaini, NRF-2'nin Neh2 domaini ile etkileşime girerek NRF-2 ile KEAP-1 arasındaki etkileşimi sürdürmede rol oynar. IVR, BTB ve Kelch/DGR domainlerini

birbirine bağlar. Bu nedenle, bu üç domainin her biri, NRF2 'nin ubiquitinasyonu ve baskılanmasında rol oynamaktadır [61].

Normal koşullarda, NRF-2, KEAP-1 tarafından sitoplazmada tutulur (Şekil 6). NRF-2, sitoplazmada KEAP-1 aracılığıyla sürekli olarak ubiquitinlenir ve proteazomda yıkıma uğrar. Oksidatif stres sırasında KEAP-1 sisteinlerinin modifikasyonları enzimin konformasyon değişikliklerine, KEAP-1 inaktivasyonuna ve NRF-2 stabilizasyonuna sebep olur. Bu değişiklik NRF-2'nin KEAP-1'den ayrılmasına yol açar. NRF-2 nükleusa geçer. Nukleusta NRF-2, masculoaponeurotik fibrosarkom (Maf) protein ailesinin üyeleri ile dimerleşir ve bu proteinler, hücre savunması ve metabolizmasında dahil olan geniş bir gen yelpazesinin düzenleyici bölgelerinde bulunan antioksidan yanıt elemanlarına (ARE) NRF-2'nin bağlanmasını kolaylaştırır. NADPH oksidoredüktaz 1, glutatyon S-transferaz ve hem oksijenaz-1 gibi detoksifiye edici enzimler ve antioksidan proteinler kodlayan birçok sitoprotektif genin transkripsiyonunu aktive eder[52].



Şekil 6. NRF-2/KEAP-1 Sinyal Yolu Aktivasyon Mekanizması [7]

2.13. NRF-2 ve KEAP-1'in Kanserde Artan Aktivitesini Açıklayan Mekanizmalar

KEAP-1 ve NRF-2'deki somatik mutasyonlar

NRF-2'deki 'gain-of-function' mutasyonları ve KEAP-1'de 'loss-of-function' mutasyonları birçok kanserde tanımlanmıştır [62]. KEAP-1 genindeki mutasyonlar ilk olarak akciğer adenokarsinom hücrelerinde tanımlanmıştır. Padmanabhan ve ark. (2006) yaptığı çalışmada mutant KEAP-1'in, NRF-2'ye karşı azalmış afinitesi olup NRF-2'nin kontrolsüz aktivasyon kazandığını ortaya koydular. KHDAK hücrelerinde ve KHDAK hastalarından alınan insan dokularında KEAP-1 proteininin Kelch ve/veya IVR alanlarında birçok somatik mutasyon tanımlanmıştır. Azalmış NRF-2/KEAP-1 etkileşimi, NRF-2'nin sürekli olarak aktif hale gelmesine ve ARE içeren genlerin indüksiyonuna neden olduğu çalışmalarda gösterildi [63]. NRF-2 mutasyonları, KEAP-1 mutasyonlarından daha az sıklıkla görülse de NRF-2 geninde de akciğer, baş ve boyun, ve özofagus karsinomunda mutasyonlar tanımlanmıştır [57, 58, 63, 64]. NRF-2'deki mutasyonlar sonucunda KEAP-1'in bölge tanınmasının bozulması sonucunda NRF-2'nin stabilizasyonu ve nükleer taşınmasının artması ile NRF-2 hedef genlerinin aktivasyonu meydana gelmektedir. Bunun sonucunda da ferroptosis direnci meydana gelmekte ve sonuç olarak kanser hücrelerinde ölüm mekanizması etkisiz hale gelmektedir [45].

KEAP-1'in epigenetik modifikasyonu

KEAP-1'deki epigenetik modifikasyonların da NRF-2 birikimine yol açtığı çalışmalarda kanıtlanmıştır. KEAP-1 promotör bölgesindeki spesifik CpG bölgelerinin metilasyonu, KEAP-1 ekspresyonunu etkiler. Hipermetilasyon sonucunda KEAP-1 gen ekspresyonu engellenir, bu da NRF-2 birikimine neden olur. KEAP-1'deki bu epigenetik modifikasyonlar, kanser hücrelerinde gelişme ve büyüme avantajı sağlar [65].

NRF-2 ve KEAP-1 arasındaki etkileşimi bozan proteinlerin anormal birikimi

Çalışmalarda tümör hücrelerinde NRF-2 ve KEAP-1 genlerinde genomik değişiklikler olmaksızın etkileşimi bozan proteinlerin anormal birikimi sonucunda

NRF-2 seviyelerinin artabileceği kanıtlanmıştır. En bilinen örnek olarak p53'ün NRF-2 aracılı gen transkripsiyonunu olumsuz şekilde düzenlemesidir [66]. p62 proteininin NRF-2 aktivitesini modüle ederek stabilite sağladığı, benzer şekilde p21 proteinin de KEAP-1 ve NRF-2'nin düzgün bağlanmasını engelleyerek NRF-2'nin stabilizasyonuna katkı sağladığı kanıtlanmıştır [66, 67].

Onkogen bağımlı sinyal yoluyla NRF-2'nin transkripsiyon artışı

Yakın zamana kadar, NRF-2 aktivitesinin öncelikle ubiquitinasyon ve yıkım yoluyla protein düzeyinde düzenlendiği düşünülmekteydi. Bunun nedeni, NRF-2 aktivatörlerinin büyük çoğunluğunun NRF-2'nin mRNA seviyelerini etkilemeden NRF-2'yi protein düzeyinde artırdığı çalışmalardı. Ancak, güncel çalışmalar, NRF-2 ekspresyonunun kanser hücrelerinde NRF-2'nin transkripsiyonel düzenlenmesinde artış yoluyla onkojenik aktivasyon sayesinde sürekli olarak yükseldiğini göstermiştir. KRAS, BRAF ve C-MYC'nin onkojenik allellerinin (KRASG12D, BRAFV619E ve C-MYCERT12) aktivasyonu, NRF-2'nin mRNA seviyesini ve hedef genlerini %60 oranında artırmış ve daha indirgenmiş bir hücre içi redoks ortamına neden olmuştur [68].

NRF-2 ve KEAP-1'in metabolik ara ürünlerle modifikasyonu

Fumarat, bir Krebs döngüsü metaboliti olarak, KEAP-1 içindeki sistein kalıntılarını modifiye ederek, KEAP-1'in NRF-2'yi ubiquitinleştirme yeteneğini ortadan kaldırabildiği ve bunun sonucunda NRF-2 uzun süreli kontrolsüz aktive olduğu gösterilmiştir [69].

2.14. HO-1

Heme oksijenaz-1 (HO-1), HMOX gen ailesi tarafından sentezlenen ve NRF-2 aracılığıyla düzenlenen genlerden biridir. HO-1, dalak, karaciğer, kemik iliği dokularında ve ayrıca gastrointestinal sistem içinde üretilir. HO-2, testisler, beyin, karaciğer ve bağırsak dokularında sürekli olarak eksprese edilir. HO-3 ise bir psödogen olarak tanımlanmış olup, önceki çalışmalar enzimatik aktivitesini göstermemiştir [69].

HO-1, heme metabolizmasında yer alan ve oksidatif stres, inflamasyon gibi hücrel yanıtla ilişkilendirilen önemli bir enzimdir. KEAP-1/NRF-2 yolunun düzenlediği genler arasında glutatyonun sentezi ve yeniden üretiminde görev alan enzimler, detoksifiye edici moleküller, diğer transkripsiyon faktörlerinin ve büyüme faktörlerinin ekspresyonunu düzenleyen proteinlerin yanı sıra HO-1 de yer almaktadır (Tablo 2)[70].

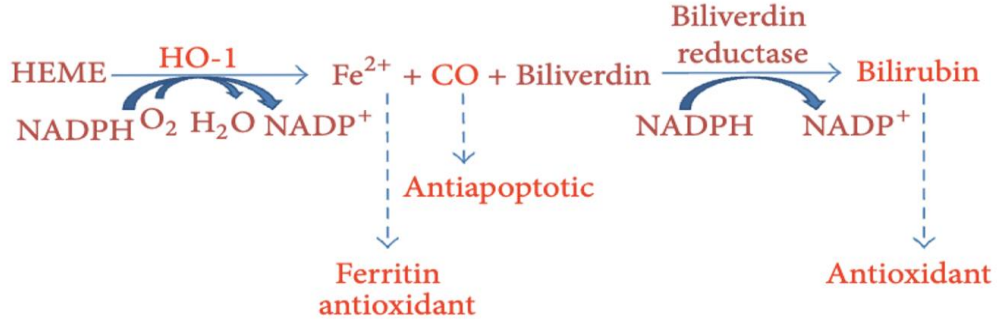


Tablo 2. NRF-2 Tarafından Düzenlenen Gen Ailesi[52]

NRF-2 TARAFINDAN DÜZENLENEN GEN AİLELERİ		
GRUP	SEMBOL	GEN ADI
Antioksidan Genler	GCLC	Glutamat-sistein ligaz, katalitik alt birim
	GCLM	Glutamat-sistein ligaz, düzenleyici alt birim
	GLRX	Glutaredoksin 1
	GPX2	Glutasyon peroksidaz 2
	GSR1	Glutasyon redüktaz
	SLC7A11	Sistein/glutamat taşıyıcısı
	PRDX1-6	Peroksiredoksinler 1 ve 6
	SRXN1	Sülfiredoksin-1
	TXN1	Tioredoksin
	TXNRD1	Tioredoksin redüktaz 1
HO-1 ile İlişkili Genler	HMOX1	Heme oksijenaz 1
	BLVRA	Biliverdin redüktaz A
	BLVRB	Biliverdin redüktaz B
	FECH	Ferroşelataz
	FTH1	Ferritin, ağır polipeptid 1
	FTHL12-17	Ferritin, ağır polipeptidler 12 ve 17
Detoksifiye Edici Enzimler	FTL1	Ferritin, hafif polipeptid
	NQO1	NAD(P)H: kinon oksidoredüktaz 1
	UGT1A1	UDP glukuronosiltransferaz 1 ailesi
İlaç Taşıyıcıları	UGT2B7	UDP glukuronosiltransferaz 2 ailesi
	ABCB6	ATP-bağlayıcı kaset, alt aile B (MDR/TAP)
	ABCC2	ATP-bağlayıcı kaset, alt aile C (CFTR/MRP)
	ABCC3	ATP-bağlayıcı kaset, alt aile C (CFTR/MRP)

Heme metabolizmasında HO-1 ve HO-2 NADPH'ye bağımlı reaksiyon ile Heme'den karbonmonoksit (CO), biliverdin ve Fe^{+2} oluşturur (Şekil7). Bu tepkimeden açığa çıkan biliverdin, biliverdin redüktaz tarafından bilirubine dönüştürülerek güçlü bir antioksidan ve ROS temizleyen bir bileşik oluşumunu sağlar. Yüksek derecede oksidatif ajan olan Fe^{+2} hızla ferritin tarafından sekestre edilerek nötralize edilir ve lipid peroksidasyonunu ve ferroptozu engeller. HO-1 ile ferroptozis arasındaki ilişkinin çift yönlü olduğu bilinmektedir. HO-1, hem yıkım

ürünü olarak açığa çıkan serbest demir aracılığıyla lipid peroksidasyonunu artırarak ferroptozisi tetikleyebilir, hem de biliverdin/bilirubin ve karbon monoksit gibi antioksidan metabolitler üzerinden oksidatif stresi baskılayarak ferroptozisi inhibe edebilir. Özellikle artmış demir yükünün ferroptozisi kolaylaştırıcı etkisi, HO-1'in kanser hücrelerinde tedaviye duyarlılığı artırabilecek bir mekanizma olabileceğini düşündürmektedir[71].



Şekil 7. HEME metabolizması [52]

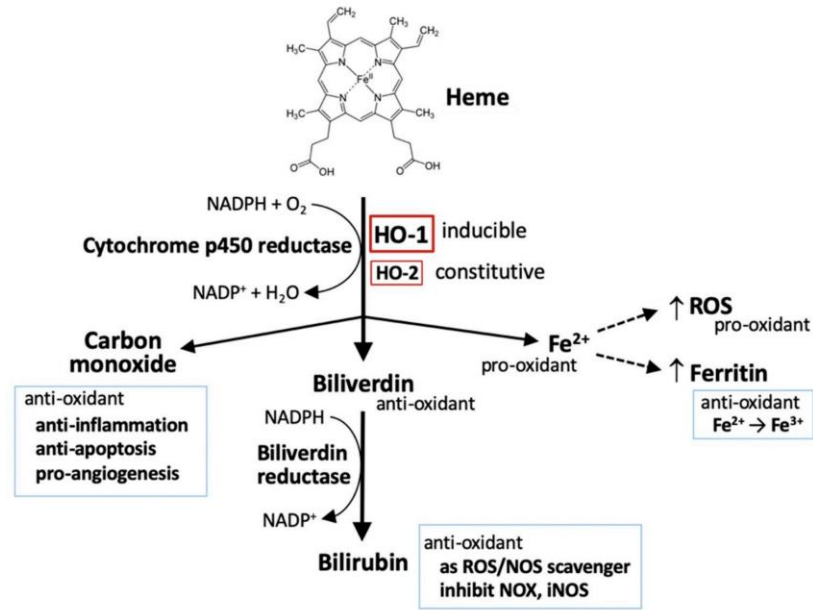
CO biyolojik sistemlerde en güçlü sitoprotektif potansiyele sahip ajanlardan biridir. Özellikle, HO-1/CO ve CO-prodrug'larının, NO biyosentezinin ve ATP-bağımlı potasyum kanallarının, çözünebilen guanilat siklaz (sGC), siklooksijenazlar (COXs) ve en azından kısmen, kapsaisin duyarlı geçici reseptör potansiyel katyon kanal ailesi V üyesi 1 (TRPV1) modülasyonu ile özofagus ve mide mukozal bariyer bütünlüğünün korunmasına katkı sağladığı gösterilmiştir [72].

2.14.1. HO-1'in kanser hücreleri ile olan ilişkisi

1. Antioksidan Etki ve Sitoproteksiyon: HO-1 hem kendisi hemde ürünü olan biliverdin ve CO sayesinde, hücreleri oksidatif strese karşı koruyarak sitoprotektif bir etki gösterir. HO-1, hücreleri serbest radikaller ve ROS'a karşı koruyarak kanser hücrelerinin hayatta kalmasını destekleyebilir. Bu özellik, kanser hücrelerinin çevresel streslere, RT, KT ve diğer tedavi yöntemlerine karşı daha dirençli hale gelmesine neden olabilir [71]. Ürünü

olan CO'nun, hücreler üzerinde anti-apoptotik etkiler gösterdiği ve kanser hücrelerinin ölümünü engellediği düşünülmektedir [73].

2. Tümör Mikroçevresi ve İmmün Yanıt: HO-1'in yüksek seviyeleri, tümör mikroçevresindeki inflamasyonu ve bağışıklık yanıtını düzenleyebilir. HO-1, anti-inflamatuar etki göstererek, bağışıklık hücrelerinin tümöre karşı tepki vermesini engelleyebilir [74].



Şekil 8. HO-1 ve HEME metabolizması [9]

HO-1, kanserin gelişimi, ilerlemesi ve tedavi yanıtında önemli bir rol oynamaktadır. Hem koruyucu hem de tümörü destekleyici etkileri nedeniyle, özellikle tedaviye direnç geliştiren hücrelerde HO-1, potansiyel bir tedavi hedefi olarak öne çıkmaktadır (Şekil8) [55]. HO-1 aktivasyonu genellikle NRF-2'nin artışıyla ilişkilidir ve bu durum, tümör progresyonu ve kanserin agresifliği ile korelasyon göstermektedir. Safra kesesi, küçük hücreli akciğer, servikal, hepatoselüler, özofagus skuamöz hücreli kanser ve multiple miyelom gibi çeşitli kanser türlerinde bu ilişki bilimsel olarak ortaya konmuştur [75-77]. Ayrıca, metastatik fenotip gelişiminin de

NRF-2'nin aşırı ekspresyonu ve HO-1 aktivasyonu ile bağlantılı olduğu gösterilmiştir (Furfaro et al., 2016).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmamızın izni Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurul'undan 07.04.2023 tarihli, 09.2023.623 protokol numaralı etik kurul onayı ile alınmıştır.

3.1. Hasta Grubu

Nisan 2023-Nisan 2025 tarihleri arasında Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi Radyasyon Onkolojisi Anabilim Dalı'na başvuran ve neoadjuvan KRT endikasyonu konan lokal ileri rektum kanseri tanılı hastalar dahil edildi.

Çalışmaya dahil edilme kriterleri:

- 18 yaşın üstü ve 80 yaş altı,
- Lokal ileri rektum kanseri tanılı hastalar.

Çalışmadan dışlanma kriterleri:

- 18 yaş altı ve 80 yaş üstü,
- Lokal ileri hastalığı olmayan,
- Başka primer malignitesi olan,
- Tanı anında metastatik olan hastalar.

3.2. Çalışma Prensipleri

Çalışma tek merkezli ve prospektif olarak düzenlenmiştir. Flexibl kolonoskopi altında alınan biyopsi sonucu rektum adenokarsinomu olarak sonuçlanan hastalara, tedavi öncesinde fizik muayene, digital rektal muayene, toraks BT, abdomen BT, abdomen ve pelvik MRI, lüzumu halinde PET-BT, tetkikleri düzenlendi. Sonuçlar incelenerek AJCC (2017 8th ed.) kriterlerine uygun şekilde hastaların klinik evrelemeleri yapıldı.

KRT başlamadan önceki bir hafta içerisinde ve KRT bitiminin 1 gün sonrasında hastaların kanları (5 cc) jel içerikli biyokimya tüplerine alınıp 4°C ve 4000 rpm de 10 dk santrifüj edildi. Santrifüj sonrasında elde edilen serum kısmı eppendorf tüplerine konularak -80°C de analiz yapılana kadar muhafaza edildi. Elde edilen serumdan HO-1, KEAP-1, ve NRF-2 seviyeleri laboratuvar koşullarında Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA) metodu ile ölçüldü.

Hastalara 28 fraksiyonda 5040-5600 cGy dozunda konvansiyonel radyoterapi ile eşzamanlı kapesitabin (kapesitabine 825 mg/m²) uygulandı. Cerrahiden önce tedavi cevabı değerlendirilmesi DRE, kolonoskopi ve/veya pelvik MRI ile yapıldı, klinik olarak tam yanıt olan hastalar, parsiyel yanıtı veya stabil/progrese hastalar belirlendi. Klinik tam yanıt alınmış olup cerrahi olmak istemeyen hastalar tam yanıt grubuna dahil edildi. Ameliyat olan hastalar ise patolojik yanıtı göre gruplandırıldı.

Hastalar KRT yanıtına göre tam yanıt (klinik veya patolojik) ve yanıt (tam veya kısmi) durumları kaydedildi. Hastaların haftalık takipleri ve tam kan sayımlarına göre akut yan etkileri (GİS, Hematolojik, GÜS) kaydedildi. Hastaların KRT öncesi NRF-2, KEAP-1 ve HO-1 düzeyleri preNRF-2, preKEAP ve preHO-1 olarak, KRT sonrası ise postNRF-2, postKEAP-1 ve postHO-1 olarak kaydedildi. KRT sonrası ve öncesi NRF-2, KEAP-1 ve HO-1 değerleri arasındaki fark hesaplandı ve sırasıyla Δ NRF-2, Δ KEAP-1 ve Δ HO-1 olarak kaydedildi. Hastaların demografik ve klinikopatolojik özelliklerine ek olarak KRT öncesi CEA ve CA 19-9 değerleri de kaydedildi.

3.3. ELISA Analizi

Hastalardan toplanan serum örnekleri ve kitler ELİSA çalışmasından 24 saat önce -80 C den çıkarıldı, +2-8 C muhafaza edildi. KEAP1 ELISA Test Kiti (Shangai Sunred, Biological Technology Co., Ltd., Shanghai ,China no: 201-12-5726), Human HO1 ELISA Test Kiti (Elabscience ,Wuhan,China, no:E-EL-H2172), Human NFE2L2 ELISA Kiti (Elabscience ,Wuhan,China, no: E-EL-H1564) kullanıldı.

3.3.1. KEAP-1 ELISA Test kiti analiz protokolü

1. Standart Seyreltme: Test kiti orijinal bir standart reaktif materyali sağladı. Çalışma talimatlarına göre seyreltilmesi yapıldı (Şekil 9).

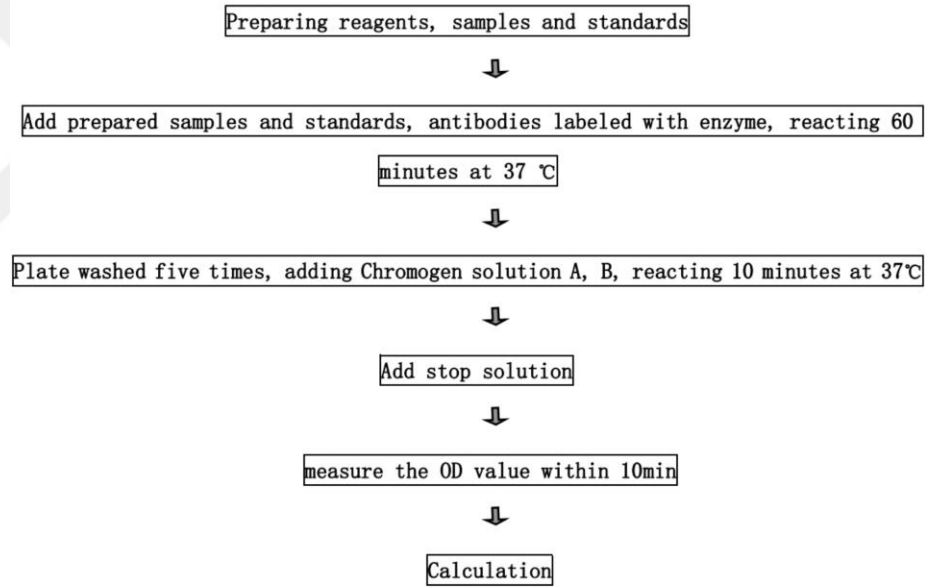
960pg/ml	Standard No. 5	120 µl Original Standard + 120 µl Standard diluents
480pg/ml	Standard No. 4	120 µl Standard No. 5 + 120 µl Standard diluents
240pg/ml	Standard No. 3	120 µl Standard No. 4 + 120 µl Standard diluent
120pg/ml	Standard No. 2	120 µl Standard No. 3 + 120 µl Standard diluent
60pg/ml	Standard No. 1	120 µl Standard No. 2 + 120 µl Standard diluent

Şekil 9. Standart Seyreltme Protokolü

2. Plate Kurulumu: Plate sayısı, test edilecek numune ve standartların sayısına bağlı olarak organize edildi.
3. Numune Enjeksiyonu:
 - Boş kuyu: Sadece Kromojen çözeltileri A ve B'yi eklendi, ardından durdurma çözeltilisini eklendi.
 - Standart kuyular: 50µL standart çözeltisi ve 50µL Streptavidin-HRP eklendi.
 - Test kuyuları: 40µL numune, 10µL (KEAP1)-antikor ve 50µL Streptavidin-HRP eklendi. Plate sızdırmazlık membranı ile kapatıldı, hafifçe çalkalandı ve 37°C'de 60 dakika inkübe edildi.
4. Tampon Hazırlığı: Yıkama konsantresini distile su ile 30 kat seyrelterek kullanıma hazır hale getirildi.
5. Yıkama: Sızdırmazlık membranını dikkatlice çıkarıldı, sıvı boşaltıldı ve kalan sıvı materyal çalkalayarak uzaklaştırıldı.
6. Kromojen Reaksiyonu: Her kuyuya sırasıyla 50µL Kromojen çözeltisi A ve ardından 50µL Kromojen çözeltisi B eklendi. Hafifçe karıştırıldı ve ışık almayan ortamda 37°C'de 10 dakika inkübe edildi.
7. Reaksiyonu Durdurma: Her kuyuya 50µL durdurma çözeltisi eklendi. Renk beklenildiği üzere hemen maviden sarıya döndü.

8. Optik Yoğunluk (OD) Ölçümü: Boş kuyu sıfır referansı olarak kullanıldı. Durdurma çözeltisi eklendikten sonra 1-2 dakika içinde OD'yi 450 nm dalga boyunda ölçüm yapıldı.
9. Veri Analizi: Standart konsantrasyonlar ve karşılık gelen OD değerlerini kullanarak doğrusal regresyon yöntemiyle standart eğri hesaplandı. Numune OD değerlerini bu denkleme yerleştirerek numune konsantrasyonları hesaplandı. Bu hesaplama için bilgisayar yazılımı kullanıldı.
10. Ölçülen değerler pg/mL cinsinden kaydedildi.

Şekil 10'da çalışmanın KEAP-1 ELİSA test kiti analizi özeti verilmektedir.



Şekil 10. KEAP1 ELISA Test Kiti Analiz Protokolü

3.3.2. Human NFE2L2 (Nuclear Factor, Erythroid Derived 2, Like 2) ve HO-1 ELISA test kiti analiz protokolü

1. Tüm numune ve standartların çift kuyuda test edilmesi için seyreltilmiş standart, boş ve numune için kuyuları belirlendi. Uygun kuyulara

her bir standart, boş ve numune dilüsyonundan 100 µL eklendi. Kit ile verilen sızdırmaz kapak ile plate kapatıldı ve 37°C’de 90 dakika inkübe edildi.

2. Her kuyu içindeki sıvı boşaltıldı, yıkanmadan hemen her kuyuya 100 µL Biotin ile işaretlenmiş tespit antikoru çalışma çözeltisi eklendi. Plate yeni bir kapakla kapatıldı ve 37°C’de 1 saat inkübe edildi.

3. İnkübasyon sonrasında bütün kuyulardaki çözeltiler boşaltıldı, her bir kuyuya 350 µL yıkama tamponu eklendi. 1 dakika beklemenin ardından sıvılar aspire edildi. Bu yıkama adımı 3 kez tekrarlandı.

4. Her kuyuya 100 µL HRP Konjugat çalışma çözeltisi eklendi. Plate yeni bir kapakla kapatıldı ve 37°C’de 30 dakika inkübe edildi.

5. Bütün kuyulardaki çözeltiler boşaltıldı, adım 3'te olduğu gibi yıkama işlemi 5 kez tekrarlandı.

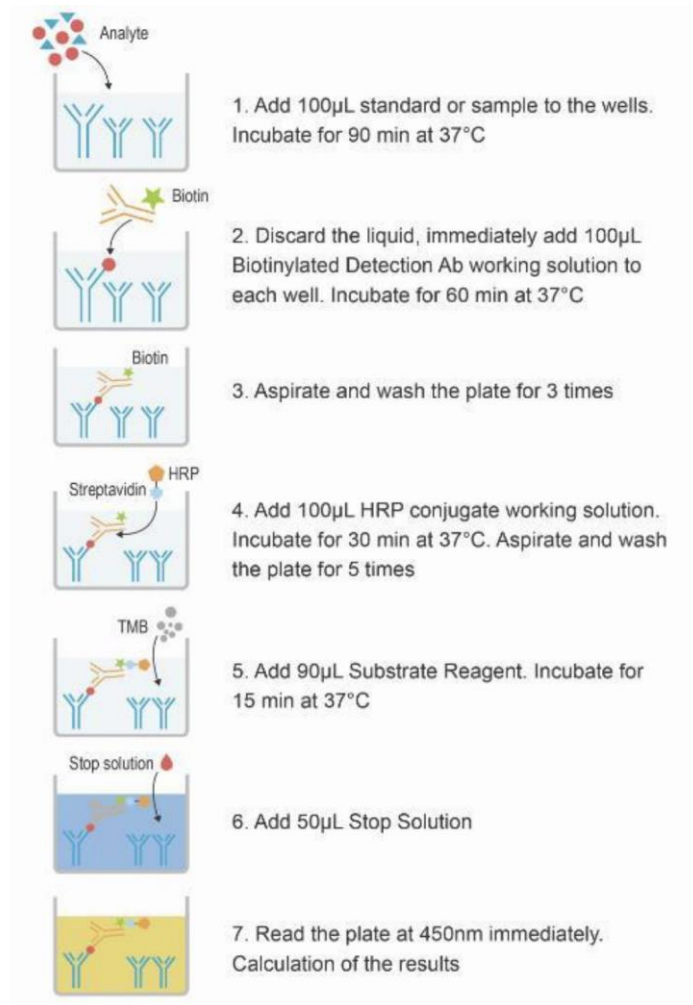
6. Her kuyuya 90 µL substrat reaktifi eklendi. Plate yeni bir kapakla kapatıldı. 37°C’de yaklaşık 15 dakika inkübe edildi.

7. Her kuyuya 50 µL durdurma çözeltisi eklendi.

8. Mikroplaka okuyucuyu 450 nm’ye ayarlayarak her bir kuyunun optik yoğunluğunu (OD değeri) hemen belirlendi.

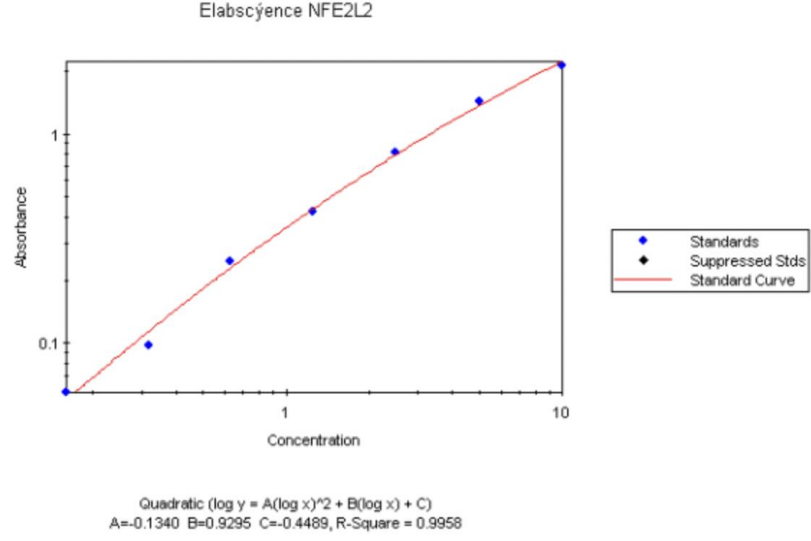
9. Ölçülen değerler ng/mL olarak kaydedildi.

Şekil 11’de çalışmanın NRF-2 ve HO-1 ELİSA test kiti analizi özeti verilmektedir.

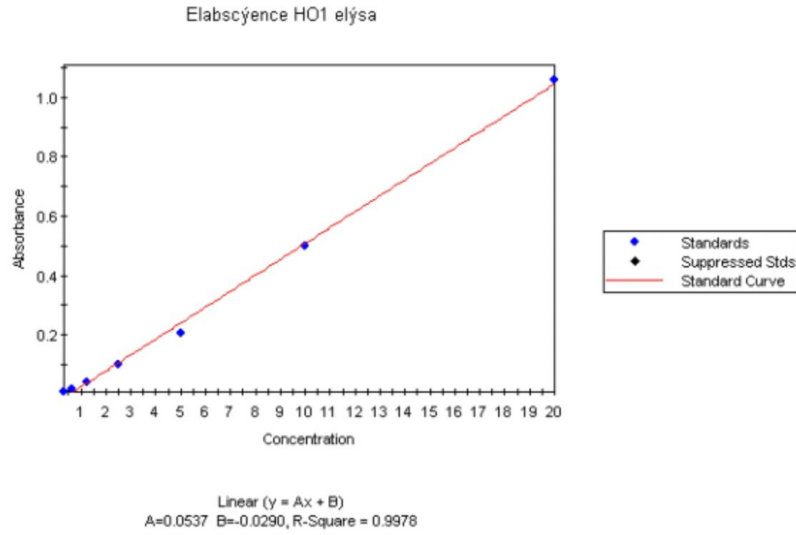


Şekil 11. NRF-2 ve HO-1 ELISA Test Kiti Analiz Protokolü

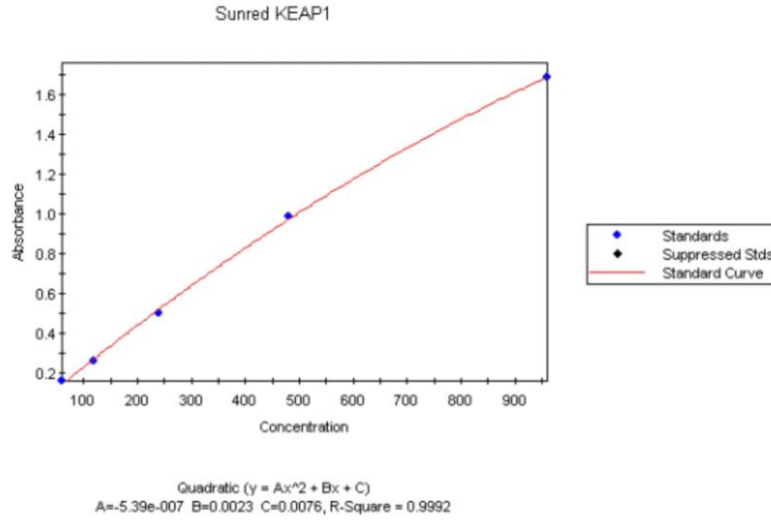
3.3.3. Çalışmamızın NRF-2, HO-1 ve KEAP-1 ELİSA grafikleri (Şekil 12 ,13 ve 14)



Şekil 12. NRF-2 Elisa Grafiği



Şekil 13. HO-1 Elisa Grafiği



Şekil 14. KEAP-1 Elisa Grafiği

3.4. Radyoterapi

Simülasyon BT kesitleri üzerinden Radyoterapi Onkoloji Grubu (RTOG) ve Roels vd., (2006) konturlama atlasları önerilerine uygun olarak hedef volümler çizildi [78, 79]. Hedef volümler şu şekilde tanımlandı:

1.Gross Tümör Volüm (GTV): Radyolojik olarak görülebilen tümör GTV-TM olarak ve tutulu lenf nodları GTV-LN olarak tanımlandı.

2.Klinik Hedef Volüm (CTV): CTV-TM, GTV-TM'e kraniyal ve kaudale en az 2 cm marj ile radyalden mezorektal fasyayı kapsayacak şekilde oluşturuldu. Lenf nodu tutulumu olan hastalar için kommon iliak bifurkasyonundan başlayarak mezorektum, perirektal, internal iliak, presakral ve obturator lenf nodları CTV-LN olarak tanımlandı. (Genitouriner yada jinekolojik organ uzanımı, olan hastalarda eksternal iliak lenf nodları, anorektal sfinkter tutulumu olan hastalarda inguinal lenf nodları da alana dahil edilmiştir).

3. Planlanan Hedef Volüm (PTV): CTV-TM ve CTV-LN'ye 0,7 cm marj verilerek oluşturuldu.

Hedef volümlere ek olarak risk altındaki organların (OAR) volümleri de her hasta için çizildi. Mesane, femur başı ve boynu, bağırsaklar (bowel bag) korunması gereken normal organlar olarak tanımlandı.

Hastalarda RT dozu, PTV-TM için normal organ dozlarının izin verdiği şekilde 5040-5600 cGy arasında, PTV-LN için ise toplam 5040 cGy doz, günlük 200 cGy'den 28 fraksiyon şeklinde planlandı. Tümör hacminin yüzde %95'inin reçetelenen dozu alması hedeflendi. Monaco v5.11 planlama sistemi ile çalışan Elekta Synergy® (Elekta AB, Stockholm, Sweden) lineer akseleratör cihazı kullanılarak VMAT tekniği ile RT uygulandı.

3.5. Radyoterapi ile Eş Zamanlı Kemoterapi

Hastaların tamamı RT'nin 1. gününden itibaren RT bitene kadar eş zamanlı kapesitabin (günde 2 kez 825 mg/m² olacak şekilde) oral yolla kullandı. Hematolojik yan etkiler KRT süresince haftalık kan değerleri ile kontrol edildi.

3.6. Kemoterapi

Neoadjuvan KRT sonrasında 4-6 kür mFOLFOX veya CAPEOX planlandı. mFOLFOX: Oksaliplatin (85 mg/m² IV, 1. Gün), Leukovorin (400 mg/m² IV, 1. Gün), 5-FU (400 mg/m² IV bolus 1. günde, ardından 1200 mg/m²/gün x 2 gün toplam 2400 mg/m², 46-48 saatlik sürekli infüzyon), her 2 haftada bir tekrarlanacak şekilde planlandı. CAPEOX ise Oksaliplatin (130 mg/m² IV, 1. Gün) ve Kapesitabin (1000 mg/m² günde iki kez, 14 gün boyunca) her 3 haftada bir olarak planlandı.

3.7. Yanıt Değerlendirmesi

TNT alan hastalarda TNT tamamladıktan ortalama 2-4 hafta sonra, KRT sonrası KT planlanmayan hastalarda ise KRT'den 8 hafta sonra Abdomen- Pelvik MRI ve kolonoskopi ile neoadjuvan tedaviye cevap değerlendirmesi yapıldı. Hastalık bulgusu olan ve/veya operasyon isteyen hastalar ameliyata yönlendirildi. Hastalık bulgusu

olmayan ve klinik tam yanıtli hastalara watch and wait (izle ve bekle) prosedürü anlatıldı. Bu prosedüre dahil olan hastalar 3 ayda bir olarak Abdomen- Pelvik MRI ve kolonoskopi ile aktif izleme alındı. Klinik tam yanıt olmayan ve tam yanıtli olup da yine opere olmak isteyen hastalar cerrahiye yönlendirildi.

3.8. Cerrahi

Hastalar tümörün lokalizasyonuna göre APR veya LAR tekniği ile opere edildi.

3.9. Patolojik Evreleme

Opere edilen hastaların patoloji raporlarından T ve N evresi, tümör çapı, tümör depositi, cerrahi sınır, lenf nodu tutulumu gibi bilgiler kaydedildi.

3.10. Akut Yan Etkilerin Değerlendirilmesi

Akut yan etkilerin değerlendirilmesi amacıyla bütün hastalar, tedavi süresince haftada bir RTOG [64] akut RT yan etki gradlama sisteminde önerildiği şekilde hematolojik, gastrointestinal (GİS), genitoüriner sistem (GÜS), cilt yan etkileri ve kilo kaybı ile ilgili sorgulandı.

3.11. Takip

Cerrahiye gitmeyen hastalar 3 aylık aralarla takip edildi. Cerrahiye gidenler de cerrahi sonrası yine 3 aylık aralıklarla takip edildi. Nüks ve uzak metastaz durumları, klinik gidişlerine uygun düzenlenen ikinci basamak tedavileri kaydedildi.

3.12. İstatiksel Analiz

Çalışmadaki sayısal veriler ortalama $\pm$ standart sapma değerleri ile sunuldu. Kategorik değerlerin sunumunda frekans ve yüzde dağılımları gösterildi. Değişkenlerin normal dağılımının tespiti için Kolmogorov-Smirnov testi kullanıldı. NRF-2, HO-1 ve KEAP-1'in KRT öncesi ile sonrasındaki değerleri arasındaki değişimin analizi için Wilcoxon analizi kullanıldı. Parametrelerin yanıt, yan etki, cinsiyet, komorbidite, tümör yerleşimi, T/N evresi, sigara ve alkol durumuna göre karşılaştırılmasında normal dağılım şartını sağlayanlarda bağımsız örneklem t-testi, normal dağılıma uymayan verilerin karşılaştırılmasında ise Mann-Whitney U analizi

kullanıldı. Yanıt ve yan ekti üzerine etki eden faktörlerin değerdendirilmesinde ise ki-kare testi ve lojistik regresyon analizi kullanıldı. Sayısal veriler arası ilişkiler normal dağılım varsayımlarının karşılanıp karşılanmaması durumlarına göre sırasıyla Pearson ya da Spearman korelasyon analizleri ile belirlendi. İstatistiksel anlamlılık için $p<0.05$ değeri kabul edildi. Tüm analizler SPSS versiyon 25.0 (Statistical Package for the Social Sciences, IBM Corp., Armonk, NY, ABD) kullanılarak hesaplandı.



Tablo.3 Hastaların demografik ve klinikopatolojik özellikleri

4. BULGULAR

Çalışmamıza Nisan 2023- Nisan 2025 tarihleri arasında kliniğimizde RT uygulanan neoadjuvan rektum kanseri tanılı hastalar dahil edildi. Başvuran 76 hasta içinde çalışma uygunluk kriterlerimize uyan 48 hasta ile analizler yapıldı.

4.1. Hasta Özellikleri

Hastaların ortalama yaşı 58.5 (41-80) ve kadın/erkek oranı 14/34 idi. Hastaların 39 tanesi KRT sonrası KT alıp TNT tamamlarken, 9 hasta sadece KRT'yi tamamladı. TNT tamamlayan 23 hasta, KRT grubunda ise 8 hasta olmak üzere toplamda 31 hasta TNT/KRT sonrası opere oldu. Hastaların, TNT bitiminden itibaren operasyona kadar geçen süreleri 2,5 hafta ile 11,48 hafta arasında idi. Klinik tam cevap olan 17 hasta takibe alındı. Hastaların demografik ve klinikopatolojik özellikleri ile yanıt ve yan etki ilişkileri tablo 3 de verilmiştir.

	n/medyan (aralık)	Oran (%)	P-değeri				
			Yanıt		Yan etki		
			Tam	Tam kısmi veya	GİS	HEM	GÜS
Yaş	58.5 (41-80)		0.84	0.13	0.91	0.17	0.70
Cinsiyet			0.71	1.00	0.65	0.65	0.02
Kadın	14	29.2					
Erkek	34	70.8					
Sigara			0.44	1.00	0.38	0.38	0.50
Var	29	60.4					
Yok	19	39.6					
Alkol			1.00	0.31	0.57	1.00	1.00
Var	6	12.5					
Yok	42	87.5					
Komorbiditye				0.06	1.00	1.00	0.78
Var	27	43.8					
Yok	21	56.2					
VKİ	25.7 (19.3-36.2)		0.71	0.71	0.09	0.75	0.28
Klinik T			0.49	1.00	0.65	1.00	0.04
T2	13	27.1					
T3-4	35	72.9					
Klinik N			0.65	1.00	0.11	0.11	0.64
N0	5	10.4					
N+	43	89.6					
Tümör Yerleşimi			0.20	0.46	0.36	1.00	0.43
Üst	10	20.8					
Orta	10	20.8					
Alt	28	58.4					
Tümör	5 (2.5-10)		0.25	0.58	0.25	0.84	0.96

Boyutu (cm)							
CEA (ng/ml)	2.5 (0.4-122)		0.04	0.29	0.53	0.82	0.09
CA19-9 (ng/ml)	11.2 (0.8-85)		0.06	0.11	0.91	0.27	0.05
TNT			1.0	1.00	0.31	1.00	0.7
Var	39	81.3					
Yok	9	18.7					
NRF Değişimi Azalmış/Deği şmemiş	12	25	0.31	0.19	0.15	0.028	0.47
Artmış	36	75					
HO-1 Değişimi Azalmış//Deği şmemiş	10	20.8	1.0	0.17	1.00	1.00	0.14
Artmış	38	79.2					
KEAP-1 Değişimi			0.31	1.00	0.31	1.00	1.00
Azalmış	12	25					
Artmış	36	75					

4.2. KRT Öncesi ve Sonrası NRF-2, HO-1 ve KEAP-1 Değerleri

Hastaların KRT öncesi ve sonrasındaki NRF-2, HO-1, ve KEAP-1 değerleri ile ilgili bulgular tablo 4’te verilmiştir. KRT öncesi ve sonrasında ölçülen NRF-2, HO-1, ve KEAP-1 değerleri arasında anlamlı farklılık olup olmadığını tespit etmek için yapılan Wilcoxon İşaretli Sıralar Testi sonucunda elde edilen bulgular Tablo 5’te verilmiştir.

Tablo 4. KRT öncesi ve sonrası NRF-2, HO-1, ve KEAP-1 değerlerine ait tanımlayıcı bulgular

	n	Minimum	Maximum	Çeyrekler		
				Ç1	Ç2 (medyan)	Ç3
NRF-2						
pre	48	1,96	3,00	2,10	2,12	2,16
post	48	2,00	3,89	2,12	2,14	2,22
HO-1						
pre	48	1,58	8,72	3,14	3,98	4,98
post	48	2,39	11,22	4,24	5,24	6,49
KEAP-1						
pre	48	21,92	1550,05	170,15	202,02	217,72
post	48	43,46	1285,46	183,53	223,89	268,28

Tablo 5. Wilcoxon İşaretli Sıralar Testi bulguları

		n	Sıra Ortalaması	Sıralar Toplamı	z	p
NRF-2 post-pre	Negatif Sıralar	11 ^a	18,5	200,5	-3,847	<0,0001
	Pozitif Sıralar	36 ^b	25,76	927,5		
	Eşitlik	1 ^c				
	Toplam	48				
HO-1 post-pre	Negatif Sıralar	8 ^d	8,25	66	-5,184	<0,0001
	Pozitif Sıralar	38 ^e	26,71	1015		
	Eşitlik	2 ^f				
	Toplam	48				
KEAP-1 post-pre	Negatif Sıralar	12 ^g	21,75	261	-3,354	0,001
	Pozitif Sıralar	36 ^h	25,42	915		
	Eşitlik	0 ⁱ				
	Toplam	48				

a, KRT sonrası NRF-2 < KRT öncesi NRF-2; b, KRT sonrası NRF-2 > KRT öncesi NRF-2; c, KRT sonrası NRF-2 = KRT öncesi NRF-2; d, KRT sonrası HO-1 < KRT öncesi HO-1; e, KRT sonrası HO-1 > KRT öncesi HO-1; f, KRT sonrası HO-1 = KRT öncesi HO-1; g, KRT sonrası KEAP-1 < KRT öncesi KEAP-1; h, KRT sonrası KEAP-1 > KRT öncesi KEAP-1; i, KRT sonrası KEAP-1 = KRT öncesi KEAP-1

Tablo 6. Yanıta göre değişkenlerin ortalama ± standart sapma değerleri

	TAM YANIT			TAM VEYA KISMİ YANIT		
	VAR (n=22)	YOK (n=26)	p	VAR (n=39)	YOK (n=9)	p
NRF-2						
pre	2.222±0.289	2.130±0.105	0,82	2,167±0,228	2.193±0.142	0,17
post	2.330±0.469	2.201±0.170	0,91	2,256±0,367	2.278±0.230	0,15
HO-1						
pre	4.668±1.495	3.726±1,232	0,043	4,353±1,486	3.308±0.662	0,02
post	5.934±2.066	5.35±2,051	0,27	5,638±2,175	5,536±1,547	0,93
KEAP-1						
pre	238.306±211.029	236.814±275.497	0,31	217,185±164,753	325,523±463,061	0,91
post	280.575±229.243	241.220±222,990	0,08	246,659±180,257	313,851 ±370,380	0,68
ΔNRF-2	0,109±2,572	0,070±0,422	0,80	0,088±0,320	0,085±0,320	0,53
ΔHO-1	1,266±5,27	1,627±1,521	0,23	1,2845± 1,572	2,228±1,572	0,031
ΔKEAP-1	42,261±312,51	4,405±65,768	0,21	29,4748±55,536	-11,672±55,536	0,91

Hastaların medyan NRF-2 değerleri KRT öncesi 2,12 ng/ml olup KRT sonrası 2,14 ng/ml olarak tespit edilmiştir. Bu bulgu ile medyan değerinde %1 oranında artmış olduğu görülmüş olup bu artışın anlamlı olduğu tespit edilmiştir ($p<0.0001$). Hastaların medyan HO-1 değerleri KRT öncesi 3,98 ng/ml olup KRT sonrası 5,24 ng/ml olarak tespit edilmiştir. Bu bulgu ile medyan değerinde %31,7 oranında artmış olduğu görülmüş olup bu artışın da anlamlı olduğu tespit edilmiştir ($p<0.0001$). Medyan KEAP-1 değerleri KRT öncesi 202,02 pg/ml olup KRT sonrası 223,89 pg/ml olarak tespit edilmiştir. Bu bulgu ile medyan değerinde %10,8 oranında artmış olduğu görülmüş olup bu artış da anlamlı bulunmuştur ($p=0.001$).

Hastaların KRT öncesi ve sonrasında ölçülen NRF-2, HO-1 ve KEAP-1 değerlerinin yanıt ve yan etki durumuna olan etkileri değerlendirilmiştir. Yanıt durumu, tam yanıt ve yanıt (tam/kısmi) olarak iki ayrı gruplandırma yapılarak bulgular analiz edilmiştir (Tablo 6, 7 ve 8). Akut yan etki durumu ise GİS (tablo 9 ve 10), hematolojik (Tablo 11 ve 12) ve GÜS (Tablo 13 ve 14) yan etkilere göre analiz edilmiştir.

4.3. Tam Yanıt

Çalışmamızın bulgularına göre KRT öncesi ve sonrası NRF-2 değerleri tam yanıt veren hastalarda daha yüksek olmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p>0.05$). Benzer şekilde Δ NRF-2 de tam yanıtı hastalarda daha yüksek olmasına rağmen tam yanıt ile ilişkisi anlamlı olarak bulunmadı ($p>0.05$).

KRT öncesi HO-1 değerleri ile tam yanıt arasında anlamlı bir ilişki mevcuttu; KRT'ye tam yanıt veren hastalarda KRT öncesi HO-1 değerleri tam yanıt vermeyenlere göre daha yüksekti ($p=0.043$). Ancak KRT sonrası HO-1 değerleri de tedaviye tam yanıt verenlerde vermeyenlere göre daha yüksek olmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p>0.05$). Δ HO-1 değerleri de tam yanıt ile anlamlı olarak ilişkili bulunamadı ($p>0.05$).

KRT öncesi ve sonrası KEAP-1 değerleri de tedaviye tam yanıt ile ilişkili bulunmadı ($p>0.05$). Δ KEAP-1 değerlerinin de tam yanıt ile istatistiksel olarak anlamlı bir ilişkisi yoktu ($p>0.05$).

Tam yanıt üzerine etki edebilecek diğer faktörler ile lojistik regresyon analizi yapıldı. İkili (binary) lojistik regresyon analizi sonucunda preNRF-2, postNRF-2, preHO-1, Δ KEAP-1, CEA, CA 19-9 ve tümör yerleşim yeri (üst-orta ve alt) bağımsız değişkenler olarak belirlendi (Tablo 7).

Tablo 7. Tam yanıt durumuna göre değişkenlere ait bilgiler

	B	S.Hata	Wald	sd	p	Odds oranı	%95 Güven Aralığı	
							Min.	Maks.
preHO-1	0,79	0,344	5,3	1	0,022	2,2	1,12	4,323
preNRF-2	2,922	2,727	1,1	1	0,3	19	0,09	3892,309
postNRF-2	0,87	1,201	0,5	1	0,5	2,4	0,23	25,114
Δ KEAP-1	0,011	0,008	2,3	1	0,1	1	1	1,026
CEA	-0,098	0,121	0,7	1	0,4	0,9	0,72	1,148
CA 19-9	0,006	0,027	0,1	1	0,8	1	0,95	1,061
Tümör yerleşimi*	0,601	0,75	0,6	1	0,4	1,8	0,42	7,928
(Sabit)	-11,622	6,116	3,6	1	0,1	0		

Hosmer and Lemeshow uyum iyiliği $p=0,606$; Nagelkerke $R^2=0,408$

Tablo 7’de görüldüğü üzere belirlenen bu değişkenlerden tam yanıt üzerine sadece preHO-1’in anlamlı etkisi bulunmaktadır ($p=0,022$). KRT öncesi ölçülen HO-1 değerindeki her bir birim yükseklik tedavi yanıtını 2,2 kat arttırmaktadır. Diğer değişkenlerin tam yanıt üzerine anlamlı bir etkisinin olmadığı tespit edilmiştir ($p>0.05$).

4.4. Yanıt (Tam/Kısmi)

KRT öncesinde ve sonrasında ölçülen NRF-2 değerlerinin tedaviye yanıt üzerine anlamlı bir etkisi tespit edilemedi ($p>0.05$). Yine Δ NRF-2 değerlerinin yanıt ile anlamlı bir ilişkisi saptanamadı ($p>0.05$).

KRT öncesi HO-1 değerlerinin tedaviye yanıt üzerine anlamlı bir etkisi vardı; KRT öncesi HO-1 değerleri tedaviye yanıt veren hastalarda anlamlı olarak daha yüksekti ($p=0.02$). Δ HO-1 değerlerinin de yanıt ile anlamlı olarak ilişkili olduğu tespit edildi; tedaviye yanıt vermeyen hastalarda Δ HO-1 değerlerinin yanıt verenlere kıyasla anlamlı derecede yüksek olduğu tespit edildi ($p=0.031$). KRT sonrası HO-1 değerleri açısından ise tedaviye yanıt veren ve vermeyen hastalar arasında anlamlı fark yoktu ($p>0.05$).

KRT öncesi ve sonrası KEAP-1 değerlerinin tedaviye yanıt üzerine anlamlı bir etkisi tespit edilemedi ($p>0.05$). Benzer şekilde, Δ KEAP-1 değerlerinin de yanıt üzerine bir etkisi saptanamadı ($p>0.05$).

Yanıt üzerine etki edebilecek diğer faktörlerle birlikte lojistik regresyon analizi yapıldı. İkili (binary) lojistik regresyon analizi sonucunda preHO-1, Δ HO-1, Δ KEAP-1, yaş, komorbidite ve CA 19-9 bağımsız değişkenler olarak belirlendi (Tablo 8).

Tablo 8. Yanıt (tam ve kısmi) durumuna göre değişkenlere ait bilgiler

	B	S.Hata	Wald	sd	p	Odds oranı	%95 Güven Aralığı	
							Min.	Maks.
preHO-1	0,86	0,641	1,8	1	0,18	2,4	0,67	8,3
Δ HO-1	-1,29	0,579	5	1	0,026	0,3	0,09	0,86
Δ KEAP-1	0,013	0,011	1,5	1	0,22	1,013	0,99	1,03
YAŞ	0,007	0,053	0	1	0,9	1,007	0,91	1,12
Komorbiditye	-5,551	2,74	4,1	1	0,043	0,004	0	0,84
CA 19-9	-0,07	0,047	2,3	1	0,13	0,932	0,85	1,02
(Sabit)	2,702	4,835	0,3	1	0,58	14,93		

Hosmer and Lemeshow uyum iyiliği $p=0,928$; Nagelkerke $R^2=0,672$

Tablo 8’de görüldüğü üzere belirlenen bu değişkenlerden yanıt üzerine Δ HO-1’in ve komorbiditenin anlamlı etkisi bulunmaktadır ($p<0.05$). KRT sonrası ölçülen HO-1 ile öncesi ölçülen HO-1 arasındaki farkın her bir birim artması tedavi yanıt olasılığını %70 oranında azaltmaktadır ($p=0.026$). Ayrıca komorbiditenin olması da yanıt olasılığını %100’e yakın bir oranda düşürmektedir ($p=0.043$). Diğer değişkenlerin yanıt üzerine anlamlı bir etkisinin olmadığı tespit edilmiştir ($p>0.05$).

Hastaların yan etki durumuna göre bulguları şu şekildedir:

4.5. Akut GİS Yan Etki

Tablo 9’da akut GİS yan etkiye göre değişkenlerin ortalama $\pm$ standart sapma değerleri gösterilmiştir.

Çalışmamızın bulgularına göre, Δ NRF-2 değerlerinin akut GİS yan etki üzerine anlamlı etkisi olduğu tespit edildi, akut GİS yan etki görülen hastalarda Δ NRF-2 değerleri anlamlı olarak daha yüksekti ($p=0.017$). NRF-2’nin KRT öncesi ve sonrası değerlerinin ise akut GİS yan etki üzerine anlamlı etkisi bulunamadı ($p>0.05$).

KRT öncesi HO-1 değerlerinin akut GİS yan etkisi üzerine anlamlı bir etkisi mevcuttu, akut GİS yan etki görülen hastalarda KRT öncesi HO-1 değerleri daha yüksekti ($p=0.037$). Ancak KRT sonrası HO-1 değerleri ile akut GİS yan etki gelişme durumu ile arasında anlamlı bir ilişki saptanmadı ($p>0.05$). Δ HO-1 ile de akut GİS yan etki arasında anlamlı ilişki kurulamadı ($p>0.05$).

Δ KEAP-1 değerleri ile akut GİS yan etki arasında anlamlı bir ilişki vardı, akut GİS yan etki görülen hastalarda Δ KEAP-1 değerleri anlamlı olarak daha düşüktü ($p=0.006$). Ancak ne KRT öncesi ne de sonrası KEAP-1 değerleri ile akut GİS yan etki görülmesi arasında anlamlı ilişki kurulamadı ($p>0.05$) (Tablo 9).

Tablo 9. Akut GİS yan etkiye göre değişkenlerin ortalama $\pm$ standart sapma değerleri

	Akut GİS yan etki		
	VAR (n=42)	YOK (n=6)	p
NRF-2			
pr	2,178±0,228	2,133±0,019	0,49
po	2,279±0,364	2,129±0,011	0,24
st			
HO-1			
pr	4,305±1,430	3,128±0,932	0,037
po	5,766±2,061	3,128±1,871	0,21
st			
KEAP-1			
pr	225,430±215,63	321,975±418,869	0,53
po	241,042±176,06	386,771±443,328	0,38
st			
ΔNRF-2	0,101±0,321	-0,004±0,014	0,017
ΔHO-1	1,461±1,591	1,461±1,448	0,9
ΔKEAP-1	15,611±68,808	64,796±33,579	0,006

Akut GİS yan etki üzerine etki edebilecek diğer faktörle birlikte lojistik regresyon analizi yapıldı. İkili (binary) lojistik regresyon analizi sonucunda preHO-1, postHO-1, postKEAP-1, Δ KEAP-1 ve VKİ bağımsız değişkenler olarak belirlendi.

Ancak bu değişkenlerden hiçbirisinin akut GİS yan etki gelişme olasılığına etkisi bulunamadı ($p>0.05$) (Tablo 10).

Tablo 10. Akut GİS yan etki durumuna göre değişkenlere ait bilgiler

	B	S.Hata	Wald	sd	p	Odds oranı	%95 Güven Aralığı	
							Min.	Maks.
preHO-1	1,081	0,7	2,6	1	0,1	2,95	0,79	11
postHO-1	-0,09	0,4	0,03	1	0,8	0,91	0,39	2,1
postKEAP-1	-0,002	0,003	0,5	1	0,5	0,99	0,99	1
Δ KEAP-1	-0,013	0,009	2,2	1	0,1	0,99	0,97	1
VKİ	0,15	0,1	1,1	1	0,3	1,16	0,87	1,5
(sabit)	-4,227	4,1	1,1	1	0,3	0,02		

Hosmer and Lemeshow uyum iyiliği $p=0,945$; Nagelkerke $R^2=0,397$

4.6. Akut Hematolojik Yan Etki

Tablo 11’de Akut hematolojik yan etkiye göre değişkenlerin ortalama $\pm$ standart sapma değerleri gösterilmiştir.

Δ NRF-2 değerleri akut hematolojik yan etki gelişmesine etkili bulundu, hematolojik yan etki gelişen hastalarda Δ NRF-2 değerleri anlamlı olarak daha yüksekti ($p=0.019$). Ancak KRT öncesi ve sonrası NRF-2 değerleri ile akut hematolojik yan etki arasında anlamlı ilişki kurulamadı ($p>0.05$).

KRT öncesi HO-1 değerlerinin akut hematolojik yan etki üzerine etkisi olduğu bulundu, KRT öncesi yüksek HO-1 değerleri olan hastalarda hematolojik yan etki daha fazla görüldü ($p=0.043$). KRT sonrası HO-1 değerlerinin akut hematolojik yan etki üzerine anlamlı etkisi görülmedi ($p>0.05$). Δ HO-1 ile de akut hematolojik yan etki arasında anlamlı ilişki kurulamadı ($p>0.05$).

KRT öncesi ve sonrası KEAP-1 değerleri ile Δ KEAP-1 değerlerinin akut

Tablo 11. Akut hematolojik yan etkiye göre değişkenlerin ortalama $\pm$ standart sapma değerleri

	Akut hematolojik yan etki		
	VAR (n=42)	YOK (n=6)	p
NRF-2			
pre	2,203 $\pm$ 0,246	2,106 $\pm$ 0,089	0,513
post	2,315 $\pm$ 0,399	2,141 $\pm$ 0,108	0,275
HO-1			
pre	4,374 $\pm$ 1,547	3,683 $\pm$ 1,000	0,043
post	5,875 $\pm$ 2,311	5,056 $\pm$ 1,230	0,081
KEAP-1			
pre	267,677 $\pm$ 290,174	171,105 $\pm$ 54,835	0,685
post	291,911 $\pm$ 261,804	187,421 $\pm$ 65,064	0,383
Δ NRF-2	0,112 $\pm$ 0,361	0,035 $\pm$ 0,059	0,019
Δ HO-1	1,501 $\pm$ 1,769	1,374 $\pm$ 0,997	0,454
Δ KEAP-1	24,234 $\pm$ 76,223	16,315 $\pm$ 43,002	0,170

hematolojik yan etki üzerine anlamlı bir etkisi saptanmadı ($p>0.05$).

Akut hematolojik yan etki üzerine etki edebilecek diğer faktörle birlikte lojistik regresyon analizi yapıldı. İkili (binary) lojistik regresyon analizi sonucunda preHO-1, postHO-1, postKEAP-1, Δ KEAP-1 ve VKİ bağımsız değişkenler olarak belirlendi. Ancak bu değişkenlerden hiçbirisinin akut hematolojik yan etki gelişme olasılığına etkisi bulunamadı ($p>0.05$) (tablo 12).

Tablo 12. Akut hematolojik yan etki durumuna göre değişkenlere ait bilgiler

	B	S.Hata	Wald	sd	p	Odds oranı	%95 Güven Aralığı	
							Min.	Maks.
preHO-1	0,6	0,6	0,9	1	0,33	1,74	0,6	5,34
postHO-1	0,6	0,5	1,2	1	0,27	1,76	0,6	4,781
YAŞ	0,07	0,05	2,5	1	0,11	1,08	1	1-1
CA 19-9	-0,04	0,02	2,7	1	0,1	0,96	0,9	1,007
(Sabit)	-6,4	3,7	3	1	0,08	0,02		

Hosmer and Lemeshow uyum iyiliği $p=0,386$; Nagelkerke $R^2=0,379$

4.7. Akut GÜS Yan Etki

Tablo 13'te Akut GÜS yan etkiye göre değişkenlerin ortalama $\pm$ standart sapma değerleri gösterilmiştir.

KRT sonrası ölçülen NRF-2 değerleri ile akut GÜS yan etkinin anlamlı olarak ilişkili olduğu bulundu; akut GÜS yan etki gelişen hastalarda KRT sonrası NRF-2 değerleri anlamlı olarak daha yüksekti ($p=0.043$). KRT öncesi NRF-2 değerleri ile

Δ NRF-2'nin akut GÜS yan etki üzerine anlamlı bir etkisi bulunamadı ($p>0.05$). KRT öncesi ve sonrası HO-1 değeri ile Δ HO-1'in akut GÜS yan etki üzerine anlamlı bir etkisi bulunmadı ($p>0.05$).

Tablo 13. Akut GÜS yan etkiye göre değişkenlerin ortalama $\pm$ standart sapma değerleri

Akut GÜS yan etki			
	VAR (n=33)	YOK (n=15)	p
NRF-2			
pre	2,203±0,246	2,115±0,089	0,19
post	2,315±0,399	2,126±0,108	0,043
HO-1			
pre	4,374±1,547	3,753±1,000	0,16
post	5,875±2,311	5,261±1,230	0,571
KEAP-1			
Pre	267,677±290,174	174,361±54,835	0,031
post	291,911±261,804	183,534±65,064	0,027
ΔNRF-2	0,112±0,361	0,025±0,059	0,25

Δ HO-1	1,501 $\pm$ 1,769	1,169 $\pm$ 0,997	0,69
Δ KEAP-1	24,234 $\pm$ 76,223	16,744 $\pm$ 43,002	0,83

KRT öncesi KEAP-1 değerleri ile akut GÜS yan etki ilişkili bulundu ($p=0.031$). KRT öncesi KEAP-1 yüksek olan hastalarda daha fazla yan etki görüldüğü tespit edildi. Aynı şekilde KRT sonrası KEAP-1 değerleri de GÜS yan etki ile ilişkiliydi ($p=0.027$), yine KRT sonrası yüksek KEAP-1 değerleri akut GÜS yan etki ile ilişkiliydi. Ancak Δ KEAP-1 değerleri ile akut GÜS yan etki arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki kurulamadı ($p>0.05$).

Akut GÜS yan etki üzerine etki edebilecek diğer faktörle birlikte lojistik regresyon analizi yapıldı. İkili (binary) lojistik regresyon analizi sonucunda preNRF-2, postNRF-2, preHO-1, postHO-1, preKEAP-1, postKEAP-1, cinsiyet, CEA ve CA 19-9 bağımsız değişkenler olarak belirlendi. Ancak bu değişkenlerden hiçbirisinin akut GÜS yan etki gelişme olasılığına etkisi bulunamadı ($p>0.05$) (tablo 14).

Tablo 14. Akut GÜS yan etki durumuna göre değişkenlere ait bilgiler

	B	S.Hata	Wald	sd	p	Odds oranı	%95 Güven Aralığı	
							Min.	Maks.
preNRF-2	3,1	5,6	0,3	1	0,58	22	0	1319927,156
postNRF-2	4,4	3,7	1,4	1	0,24	84	0,054	129226,875
preHO-1	1,2	0,7	3,3	1	0,07	3,4	0,908	12,549
postHO-1	-0,3	0,4	0,4	1	0,55	0,8	0,319	1,835
preKEAP-1	0,004	0,011	0,1	1	0,74	1	0,982	1,026

postKEAP-1	0,007	0,009	0,7	1	0,39	1	0,991	1,024
Cinsiyet	-2,2	1,2	3,6	1	0,06	0,1	0,011	1,076
CEA	-0,3	0,2	3,9	1	0,05	0,7	0,503	0-1
CA19-9	- 0,006	0,030	0,048	1	0,83	1	0,937	1,053
(Sabit)	-19	12	2,8	1	0,1	0,097		

Hosmer and Lemeshow uyum iyiliği $p=0,544$; Nagelkerke $R^2=0,621$

Hastalara yapılan korelasyon analizlerinde hem KT öncesi hem de sonrasındaki NRF-2, HO-1 ve KEAP-1 değerlerinin ne birbirleri ile ne de diğer klinikopatolojik özellikleri ile anlamlı bir korelasyon göstermediği tespit edildi ($p>0.05$). Yine yaş, VKİ, tümör çapı, CEA ve CA19-9 gibi parametrelerle aralarında korelasyon saptanamadı ($p>0.05$). Δ NRF-2, Δ HO-1 ve Δ KEAP-1 değerleri de ne birbirleriyle ne de diğer klinikopatolojik faktörlerle korelasyon göstermedi ($p>0.05$)

5. TARTIŞMA

Radyoterapinin tümör hücreleri üzerindeki temel etkisi hücre DNA'sını hedef almasının yanı sıra hücre içinde oksidatif bir ortam oluşturarak hücre yıkımını sağlamaktır[38]. Radyoterapiye eş zamanlı olarak KT uygulanması, KT'nin DNA'ya yönelik sitotoksik etkisinin yanı sıra tümör hücrelerinin radyosensitivitesini artırarak RT'nin tedavi etkinliğini güçlendirmeyi amaçlamaktadır.[80]. RT planlaması ve uygulanmasında tümörün bulunduğu bölgedeki malign hücreleri hedef alınırken radyasyon alanı içerisinde kalan normal dokularda da yan etkiler meydana gelebilmektedir[39].

İyonizan radyasyonun indüklediği oksidatif stres karşısında, endojen antioksidan savunma sistemleri aktive olarak redoks dengesini korumaya ve radyasyon kaynaklı hücresel hasarı azaltmaya çalışır. Bu fonksiyon sayesinde normal doku/organların korunması sağlanır[44]. Ancak tümör hücrelerinde de aynı korumacı antioksidan etki söz konusu olabilmektedir. Dolayısıyla bu doğal antioksidan sistemi ile RT ve KT direnci meydana gelebilmektedir[81].

Vücutta doğal olarak bulunan ve antioksidan etki gösteren NRF-2/KEAP-1 sinyal yolu, oksidatif strese karşı hücresel savunma mekanizmasında rol alan en önemli savunma sistemlerinden biridir[6]. Normal koşullarda NRF-2, KEAP-1 tarafından sitoplazmada tutulur ve ubiquitin–proteazom yolu aracılığıyla sürekli olarak yıkıma uğratılır [54]. İR gibi oksidatif stres ajanları hücrede NRF-2'nin KEAP-1 aracılı denetimden serbestleşmesini ve çekirdeğe geçmesini sağlar. Böylece çok sayıda sitoprotektif genin transkripsiyonunu indükleyerek hücreleri oksidatif strese karşı korumayı başarır [82]. Bu genler arasında yer alan HO-1, NRF-2 aracılığıyla indüklenen en önemli hedeflerden biridir. Hem koruyucu hem de tümörü

destekleyici etkileri nedeniyle HO-1, kanserin gelişimi, ilerlemesi ve tedavi yanıtında önemli bir rol oynamaktadır [70]. Çalışmamızdaki hastaların hepsinde KRT sonrası NRF-2, HO-1 ve KEAP-1 düzeylerinde öncesine kıyasla anlamlı bir artış saptanmıştır. NRF-2 artışı, hücresel düzeyde antioksidan yanıtın aktive olduğunu düşündürmektedir. KEAP-1 düzeylerindeki artış ise NRF-2 yolak regülasyonunun geri besleme mekanizmalarıyla ilişkili olduğunu göstermektedir. NRF-2'nin başlıca hedeflerinden biri olan HO-1'in paralel şekilde yükselmesini oksidatif stresin baskılanması ve hücrelerin radyasyona karşı adaptif yanıt geliştirmesi ile ilişkilendirilebiliriz. Dolayısıyla elde ettiğimiz bulgular hastalarda KRT'ye bağlı oluşan oksidatif strese karşı güçlü bir yanıt oluştuğunu göstermektedir.

Literatürde çeşitli kanser türlerinde NRF-2, KEAP-1 ve HO-1 ile ilgili yapılmış çalışmalar bulunmaktadır. Kolorektal kanserler (KRK) ile ilgili Ji ve ark. (2014) yaptıkları çalışmada 76 KRK doku örneğini, NRF-2, NQO1, MRP1, c-Myc ve p53 antikorlarını kullanılarak immünohistokimyasal olarak incelenmiştir. İHK boyamaları, KRK dokularında NRF-2, NQO1, MRP1, c-Myc ve p53'ün, komşu tümör dışı dokulara kıyasla belirgin şekilde yüksek düzeyde eksprese edildiğini göstermiştir. Ayrıca NRF-2 ekspresyonu ile NQO1, MRP1, c-Myc ve p53 gibi gen ekspresyonları arasında anlamlı pozitif korelasyonlar saptanmıştır. Bunun yanında, bu genlerin yüksek ekspresyonlarının ileri Duke's evresi ve kötü klinik prognozla anlamlı şekilde ilişkili olduğu bulunmuştur.[83] Zhang ve ark. (2018) yaptıkları çalışmada, özefagus skuamöz hücreli karsinom (SCC) tanılı hastaların sağlıklı özefagus mukozası ile 60.4–70 Gy KRT uygulanmış mukozasında NRF-2 ve KEAP-1 yolaklarındaki değişimleri incelemişlerdir. Sağlıklı özefagus mukozasında NRF-2 ile KEAP-1 yolağında negatif korelasyon bulunduğu, ancak tümör dokusunda NRF-2 ile KEAP-1 arasında çok az ya da hiç etkileşim olmadığının görüldüğünü bildirmişler [84]. Lee ve ark (2020) ise yaptıkları çalışmada cerrahi olarak çıkarılmış 285 hepatoselüler karsinom dokusundan oluşan doku mikroyarraylerinde; pNRF-2, NRF-2, KEAP-1 ve diğer bazı belirteçleri immünohistokimyasal olarak boyanmış ve sonuçta pNRF-2 ile KEAP-1 ekspresyonu arasında anlamlı pozitif bir korelasyon saptamışlardır [85]. Li ve ark (2016) total larenjektomili hastalardan topladıkları 33 larinks kanseri dokusu ve bitişik normal dokudan oluşan örneklerde KEAP-1, NRF2- ve HO-1 ekspresyonlarını immünohistokimyasal ve immüno blot analizleri ile

değerlendirmişler. Sonuç olarak kanser dokularında bu proteinlerin ekspresyon seviyelerinin, komşu normal dokuya kıyasla daha yüksek olduğunu bulmuşlar. Ayrıca dikkat çekici şekilde, kanser dokularındaki KEAP-1 ve HO-1 ekspresyonu ile NRF-2 arasında pozitif korelasyon olduğunu göstermişlerdir [82]. Bizim çalışmamızda da hastaların %75'inde NRF-2 ile KEAP-1'de, hastaların %79,2'sinde HO-1 değerlerinde KRT sonrasında istatistiksel olarak anlamlı yükselme tespit edilmiştir. Bu bulgu, KEAP-1'in oksidatif stres yanıtındaki düzenleyici rolünü desteklemekte ve KEAP-1 artışının muhtemelen NRF-2 aktivitesini dengelemeye yönelik adaptif bir mekanizma olabileceğini düşündürmektedir. Yine HO-1'inde oksidatif strese yanıt olarak yükseldiği gözlemlenmiştir.

NRF-2, KEAP-1, HO-1 mekanizması KHDAK, prostat, baş-boyun kanseri gibi pek çok kanserde de hücre detoksifikasyonu, kanser hücrelerinde proliferasyon, apoptozisin engellenmesi gibi alanlarda önemli bir rol oynamaktadır [8, 45, 51]. Özellikle NRF-2'nin bu rolü sebebiyle kanser tedavisinde yeni bir moleküler hedef olarak kabul edilebileceğini gösteren çalışmalar mevcuttur [86]. Ancak aynı mekanizma ile KT ve RT'ye karşı direnç gelişerek tedavi yanıtının azalmasına sebep olduğu da bildirilmiştir [60]. RT ile tümör hücrelerindeki NRF-2, KEAP-1 ve HO-1 düzeylerinin değişimini araştıran yapılmış çalışmalar daha çok in vitro olmakla birlikte RT cevabı ve direnci ile NRF-2, KEAP-1 ve HO-1 düzeylerinin ilişkileri ortaya konmuştur. Reinama ve ark. (2024) baş boyun kanserinde skuamöz hücreli kanserde yaptıkları çalışmada kanser hücrelerine in vitro olarak 5x2 Gy RT uygulamış ve lokal (tümör hücrelerinde) olarak NRF-2 ve total antioksidan kapasiteleri (TAC) ile sistemik olarak (hasta serumunda) TAC ölçmüşler. Çalışmada NRF-2 ekspresyonunun ve TAC'nin arttığını göstererek bu artışın lokal tümör kontrolünün bozulmasıyla bağlantılı olduğunu saptamışlardır [87]. Kawasaki ve ark. (2014) özefagus scc tanılı ve KRT almış 46 hastanın patolojik örneklerinde nükleer NRF-2 ekspresyonunu ile histolojik ve klinik tam yanıt ilişkisine bakmışlar. Daha yüksek NRF-2 ekspresyonunun kemoradyoterapiye olumsuz yanıt ve klinik lenf nodu metastazı ile ilişkili olduğunu saptamışlar [88]. Matsuoka ve ark. (2022) çalışmasında ise oral skuamöz hücreli kanserli (OSCC) iki hücre serisi ve bunların klinik olarak anlamlı radyodirençli klonları kullanılmıştır. NRF-2 baskılanmasının radyoduyarlılık üzerindeki etkileri ve NRF-2 aracılı radyodirençte glikolizin rolü

değerlendirilmiştir. OSCC hücre kültüründe, NRF-2'nin KT ve RT'ye direnç katkıda bulunduğunu ve yüksek pNRF-2 ekspresyonunun kötü KRT yanıtı, daha kısa DFS ve OS ile anlamlı olarak ilişkili olduğunu ortaya koymuşlardır [89]. Bizim çalışmamızın bulgularına göre KRT öncesi NRF-2 değerlerinin ne tam yanıt ne de yanıt (tam/kısmi) üzerine anlamlı bir etkisi bulunmadı. Ayrıca KRT'ye bağlı değişimin (Δ NRF-2) de yanıt üzerine etkisi görülmedi. Benzer şekilde KEAP-1'in KRT öncesi ve sonrası değerleri ile klinik+patolojik tam yanıt arasında anlamlı bir ilişki saptanmadı. Ayrıca KRT'ye bağlı değişim (Δ KEAP-1) ile tam yanıt arasında ilişki kurulamadı. Bu durum, NRF-2'nin tümör biyolojisinde olumsuz etkilerinin bulunmasına karşın, KEAP-1'in artış göstererek bu etkiyi baskılamaya yönelik kompensatuvar bir mekanizma geliştirmiş olabileceğini düşündürmektedir. Nitekim literatürde KEAP-1 kaybı veya mutasyonlarının NRF-2'nin sürekli aktivasyonuna yol açarak tümör progresyonu ve tedavi direncine neden olduğu bildirilmiştir [63]. Ayrıca, yüksek KEAP-1 mutasyon oranları ile NRF-2 aşırı ekspresyonunun özellikle akciğer adenokarsinomunda kötü prognoz ve kemoterapi direnci ile ilişkili olduğu gösterilmiştir [90]. Bizim çalışmamızda gözlenen KEAP-1 artışının ise bu olumsuz etkiyi sınırlandırmaya yönelik adaptif bir yanıtı temsil ettiğini düşünüyoruz. Bu dengeleme mekanizması sayesinde, yanıt elde edilen hasta grubunda da yanıtız hasta grubunda da istatistiksel fark saptanmamış, hastalar paralel artışlar ile bazal vücut dengesini yakalamayı başarmışlardır. Dolayısıyla çalışmamız KEAP-1 ve NRF-2'nin beraber değerlendirilmesi gerektiğini ve klinik yanıtta birlikte rol aldıkları göstermektedir.

Wang ve ark (2010) yaptıkları 70 safra kesesi kanseri tanılı hastanın doku preparatlarından IHK yöntemi ile NRF-2 ve HO-1 ekspresyonu çalışmışlardır. NRF-2 ekspresyon durumu ile HO-1 ekspresyonu arasında da anlamlı pozitif korelasyon kurmuşlar aynı zamanda NRF-2 ve HO-1 yüksek ekspresyon düzeyleri ile tümör kötü diferansiyasyonu ve metastaz arasında anlamlı ilişki saptamışlar [75]. Kozakowska ve ark. (2016) yaptıkları çalışmada mesane kanseri dokusunda hem HO-1 hem de NRF-2 ekspresyonunun sağlıklı dokuya kıyasla arttığını gözlemlemiştir. Özellikle erken evre mesane kanseri hastalarından elde edilen doku örneklerinde HO-1 yüksek ekspresyonu tüm olguların %33'ünde saptanmış ve bu ekspresyonun olumsuz patolojik özellikler, tümör progresyonu, sağ kalım ve

progresyonda kötü sonuçlar ile anlamlı ilişkili olduğu bulunmuştur [91]. Literatürde, KHDAK olgularında yüksek HO-1 ekspresyonu tümör invazyonu ve kötü klinik prognoz ile anlamlı şekilde ilişkilendirilmiştir (Tsai et al., 2012). Degese ve ark. (2012) tarafından yapılan çalışmada KHDAK'da HO-1 ekspresyonunun kanser dokusunda normal dokulara göre arttığı, ileri evre ve lenf nodu tutulumu ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (Degese et al., 2012).

HO-1 genellikle bir 'hayatta kalma molekülü' olarak kabul edilmekte olup, hücre proliferasyonu, metastaz, anjiyogenez, KT ve RT'ye karşı direnç gelişiminde kritik bir rol oynamaktadır. Ancak bu koruyucu rolün yanı sıra, kanser hücrelerinde HO-1'in yüksek seviyelerde eksprese edilmesi, aşırı aktivasyona yol açarak serbest Fe^{2+} miktarını artırabilmekte; bu da reaktif oksijen türlerinin (ROS) aşırı birikimiyle sonuçlanarak oksidatif hücre ölümünü tetikleyebilmektedir. Dolayısıyla HO-1, kanser biyolojisinde hem tümör ilerlemesini destekleyebilen hem de belirli koşullarda ferroptozis yoluyla hücre ölümünü indükleyebilen çift yönlü bir molekül olarak dikkat çekmektedir. Nitekim Nitti ve ark. (2017), HO-1'in oksidatif stres karşısında çift yönlü etki gösterebileceğini; bazı koşullarda hücre koruyuculuk sağlarken, bazı durumlarda tümör progresyonu ve tedavi direncine katkıda bulunabileceğini vurgulamıştır.

Çalışmamızda KRT öncesindeki HO-1 düzeylerinin hem tam yanıt hem de yanıt (tam/kısmi) elde edilen hastalarda anlamlı olarak daha yüksek olduğu görüldü. Dahası bulgularımıza göre KRT öncesi HO-1 seviyesinin tedaviye tam yanıt öngörmede anlamlı olduğu ve KRT öncesi ölçülen HO-1 değerindeki her bir birim yüksekliğin tedaviye tam yanıt ihtimalini 2,2 kat arttırdığı tespit edildi. Δ HO-1 değerlerinin ise tedaviye hiç yanıt vermeyen hastalarda tedaviye yanıt (tam/kısmi) hastalara kıyasla daha yüksek olduğu, hatta Δ HO-1'in tedaviye yanıtsızlığı öngörmede de anlamlı olduğu bulundu. Buna göre, Δ HO-1'deki her bir birim artışın, diğer bir ifadeyle KRT sonrası HO-1 değerleri ile KRT öncesi HO-1 değerleri arasındaki farkın her bir birim artmasının tedavi yanıt olasılığını %70 oranında azaltmakta olduğu bulundu. KRT öncesi HO-1 yüksekliği ile tedavi yanıtının artması, HO-1'in demir aracılı pro-ferroptotik etkilerinin klinik yansıması olabilir. Yani, HO-1'in yüksek düzeyde bulunduğu hastalarda artan demir yükü yoluyla

ferroptozisin indüklenmesi, tümör hücrelerinin RT'ye karşı duyarlılığını artırmış olabilir. Bununla birlikte, HO-1'in antioksidan metabolitleri aracılığıyla ferroptozisi baskılayıcı etkisi de söz konusu olduğundan, bu çift yönlü etkinin hasta alt gruplarında farklı sonuçlar doğurabileceği göz önünde bulundurulmalıdır. HO-1 değerlerindeki değişimin yanı sıra bulgularımıza göre komorbiditenin de tedavi yanıtını öngörmeye etkili olabileceği saptanmış olup komorbiditesi olan hastalarda tedaviye yanıt görülme ihtimali azalmıştır. Bu sonuç, HO-1'in yalnızca tedaviye yanıtı düzenlemekle kalmayıp, aynı zamanda komorbidite gibi faktörlerle birlikte tedavi başarısını etkileyebileceğini ortaya koymaktadır.

NRF2, KEAP1 ve HO1'in antioksidan/prooksidan özellikleri nedeniyle KT ve RT'ye bağlı yan etkileri önlemede de etkileri gözlenmektedir. Literatürde NRF2'nin KT'ye bağlı toksisitelerde önemli bir düzenleyici rol üstlendiği görülmektedir; Spracklen ve ark. (2017) cisplatin kullanan hastalarda NRF2 promotör bölge varyasyonlarının ototoksositeye duyarlılığı artırdığını bildirirken, Faber ve ark. (2024) ise yaptıkları in vivo çalışmada NRF2 ailesinin doxorubicin kaynaklı kardiyotoksositeye aracılık ettiğini göstermiştir [92, 93]. Çoğu baş-boyun ve meme kanseri tanılı hastalardan oluşan ve 179 hastayı içeren prospektif bir çalışmada ise NRF-2 gen ailesindeki varyantların oksidatif stres/fibröz yanıt genlerinin polimorfizmleri ile geç dönem RT toksisiteleri üzerindeki etkisi incelenmiş ve oksidatif stres yanıtında merkezi rol oynayan NRF2'nin, radyoterapi sonrası geç dönem doku hasarı ve fibroz oluşumunda kritik bir düzenleyici olduğunu ortaya koymuştur [94]. Xu ve ark. (2021ve 2024) yaptıkları çalışmada ise NRF-2'nin radyasyona bağlı rektal hasarda nekroptozu inhibe ederek intestinal mukozayı RT'nin zararlı etkilerine karşı koruyucu rol oynadığı göstermişler. NRF-2'nin hedef genlerinden Pirin aracılığıyla cGAS/STING yolunu negatif regüle ederek bağırsak dokusunu radyasyonun indüklediği inflamatuvar ve immün yan etkilerden koruduğunu göstermişlerdir [95, 96]. Ancak aynı güncel literatürde NRF-2'nin overekspresyonunun çeşitli kronik hastalıklarla birlikte kansere de yol açtığı gösterilmiştir[97, 98]. Bizim çalışmamızda KRT öncesi ve sonrası NRF-2 düzeylerinin GİS toksisitesi ile anlamlı bir ilişkisi bulunmamakla birlikte Δ NRF-2 değerlerinin GİS toksisitesi gelişen hastalarda anlamlı olarak daha yüksek olduğu saptandı ($p=0.017$). KRT sonrası NRF-2 seviyesi ile KRT öncesi NRF-2 seviyesi

arasındaki farkın GİS toksisitesinin artışı ile artmış olması, KRT sürecinde artmış oksidatif strese karşı aşırı eksprese edilen NRF-2'nin normal dokuda hasara neden olmuş olabileceğini düşündürmektedir.

Yine, KEAP1/NRF-2/HO-1 yolunun radyasyona bağlı mitokondriyel hasarı etkileyebileceği preklinik verilerle desteklenmiştir [99]. Bu bulgular, KEAP-1/NRF-2 yolunun hem tedavi direnci hem de toksisite mekanizmalarında rol oynadığını göstermektedir. Bizim çalışmamızda KEAP-1 düzeylerinde KRT öncesi ve sonrasında değerler ile akut GİS yan etki arasında ilişki izlenmemekle birlikte, Δ KEAP-1 değerleri akut GİS yan etki gelişen hastalarda anlamlı olarak daha düşük bulunmuştur ($p=0.06$). Akut GİS yan etki gelişen hastalarda Δ NRF-2 seviyelerinde artışa karşılık Δ KEAP-1'in anlamlı olarak düşük olması, sağlıklı dokularda bu iki mekanizmasının ters hareket etmesine bağlanabilir veya kompanzasyon mekanizmasının devreye girmesine bağlı olabilir [84].

Çalışmamızda KRT öncesi HO-1 seviyesinin yüksek olması ile akut GIS yan etkisi arasında anlamlı bir ilişki vardı ($p=0.037$). Bu bulgu, HO-1'in bazal düzeylerinin mukozal toksisiteye yatkınlığı artırabileceğini düşündürmektedir. Ancak literatürde HO-1'in gastrointestinal sistemdeki rolü çoğunlukla koruyucu mekanizmalar üzerinden tanımlanmıştır. Örneğin, Seika ve ark. (2023), radyasyon veya KRT sonrası kolon mukozasında artmış HO-1 pozitif makrofaj infiltrasyonu gözlemlemiş ve bu hücrelerin anti-inflamatuar M2 fenotipi ile doku onarımını desteklediğini bildirmiştir [100]. Ayrıca HO-1 tarafından üretilen karbon monoksitin serbest radikalleri nötralize ederek mukozal bütünlüğü koruyabileceği gösterilmiştir [101]. Ancak çalışmamızda yüksek bazal HO-1 düzeylerinin koruyucu değil, aksine mukozal toksisite gelişimiyle ilişkili bulunması, HO-1'in çift yönlü rolünü ortaya koymaktadır. Bulgularımız bize HO-1'in, bazı klinik koşullarda adaptif bir savunma yanıtı sağlarken, bazal yüksek seviyelerde mukozal toksisiteye yatkınlığı artırabilecek bir risk faktörü olarak da işlev gördüğünü gösterebilir.

NRF-2'nin hematopoetik kök hücreleri ile ilişkisine gelince ise, Kim ve ark. (2017) yaptıkları çalışmada NRF-2'nin hematopoetik kök hücreleri oksidatif strese karşı korumada rol oynadığını, NRF-2 eksikliğinin ise radyasyona bağlı

miyelosupresyonu artırdığını göstermiştir [102]. Ancak bizim çalışmamızda KRT öncesi ve sonrası NRF-2 değerlerinin akut hematolojik yan etkiler ile anlamlı bir ilişkisi saptanmadı. Bununla birlikte, Δ NRF-2 değerlerinin hematolojik yan etki gelişen hastalarda anlamlı derecede yüksek bulunması, NRF-2'nin aktivasyonunun yan etkileri kompanse etme mekanizması veya NRF-2'nin overekspresyonu nedeniyle olabileceğini düşündürmektedir.

HO-1 düzeyleri incelendiğinde ise KRT öncesi değerlerin akut hematolojik yan etki gelişenlerde anlamlı derecede yüksek bulunması, HO-1'in bazal ekspresyonunun hematolojik toksisite riskini öngörmeye belirleyici olabileceğini düşündürmektedir. HO-1'in oksidatif stres yanıtındaki çift yönlü rolü literatürde sıkça vurgulanmış olup HO-1'in bazı durumlarda hücreleri oksidatif hasardan koruduğu, bazı koşullarda ise aşırı ekspresyonunun tümör ilerlemesi ve tedaviye dirençle ilişkili olabileceği gösterilmiştir [73]. Bizim çalışmamızda yüksek bazal HO-1 düzeylerinin koruyuculuk yerine toksisiteye yatkınlık yaratabileceği saptanmıştır.

KEAP-1 açısından ise hem KRT öncesi ve sonrası hem de Δ KEAP-1 değerlerinde anlamlı farklılık saptanmamış olup KEAP-1'in hematolojik toksisite gelişiminde belirgin bir rol üstlenmediğini göstermektedir. Literatürdeki çalışmalar KEAP-1 değişikliklerini tümör hücre biyolojisi ve radyoterapi direnciyle ilişkisi konularında olup, tedaviye bağlı hematolojik toksisitelerle bağlantılı konularda çalışma mevcut değildir. Bu bağlamda, çalışmamızın bulguları KEAP-1'in hematolojik toksisiteye katkısının sınırlı olabileceğini, buna karşılık NRF-2/HO-1 ekseninin toksisite mekanizmalarında daha belirgin rol oynadığını düşündürmektedir.

Genitoüriner sistem yan etkileri açısından değerlendirildiğinde, çalışmamızda özellikle NRF-2'nin KRT sonrası düzeylerinin yan etki gelişenlerde anlamlı olarak yüksek bulunması, oksidatif stres yanıtının GÜS toksisitesinde de etkin olduğunu ortaya koymaktadır. HO-1 düzeyleri ise GÜS toksisitesi ile ilişkili bulunmamıştır. Bununla birlikte KEAP-1 düzeyleri hem KRT öncesinde hem de sonrasında yan etki gelişen grupta anlamlı olarak daha yüksek saptanmış, Δ KEAP-1 değerlerinde ise fark gözlenmemiştir. Bu sonuç, KEAP-1 yüksekliğinin GÜS toksisitesinde potansiyel bir

risk belirtici olabileceğini düşündürmektedir. Literatürde KEAP-1 değişiklikleri çoğunlukla tümör biyolojisi ve RT'ye direnç ile ilişkilendirilmiş tedaviye bağlı normal doku toksisiteleriyle ilişkisi ise yeterince araştırılmamıştır. Bizim çalışmamız, KEAP-1'in yalnızca tedavi yanıtı alanında değil, aynı zamanda KRT'ye bağlı GÜS toksisitelerinin gelişiminde de yol gösterebileceğini düşündürmesi açısından önem taşımaktadır.

Çalışmamızın en önemli limitasyonlarından biri, literatürde NRF-2 ve HO-1'in genellikle immünohistokimya ile protein ekspresyon düzeyinde, KEAP-1'in ise genetik mutasyon düzeyinde incelenmiş olmasıdır. Ayrıca kanser hücrelerinden elde edilen hücre kültürü modelleri ve hayvan deneyleri, biyolojik, moleküler veya hücresel mekanizmaları açıklamaya odaklanan daha ayrıntılı veriler sunarken, bizim çalışmamız hasta plazmalarından ELISA yöntemi ile yapılan ölçümlerle sınırlı kalmıştır. Literatürde rektum kanseri dahil olmak üzere tüm kanser türlerinde NRF-2, KEAP-1 VE HO-1'in hasta serumunda araştırıldığı çalışmaya rastlanmamış olması bu çalışmanın özgünlüğünü de göstermektedir. Bu yönüyle çalışmamız, özgün nitelik taşımakta olup literatürdeki diğer araştırmalarla doğrudan kıyaslanabilir değildir. Bu nedenle sonuçlarımızı literatürdeki verilerle doğrudan kıyaslamak mümkün olmamış; ancak çalışmamız bu alanda plazma temelli biyobelirteç kullanımına yönelik özgün bir katkı sağlamıştır.

6. SONUÇLAR

Lokal ileri rektum kanserinde neoadjuvan tedavinin temel unsurlarından biri olan KRT, tedavi başarısını belirleyen en önemli yaklaşımlardan biridir. Bireyselleştirilmiş onkolojik tedavi yaklaşımlarının üzerinde çalışıldığı günümüz koşullarında, KRT'ye karşı gelişen direnç mekanizmalarının anlaşılması, hasta seçiminde ve tedavi stratejilerinin optimize edilmesinde kritik öneme sahiptir.

Çalışmamız NRF-2/HO-1/KEAP-1 ekseninin RT'ye bağlı oksidatif stres yanıtında kritik rol oynadığını, özellikle HO-1'in hem başlangıç düzeyi hem de KRT'ye bağlı değişiminin tedavi yanıtını öngörmeye belirleyici olabileceğini göstermektedir. Yanıtta komorbiditenin bağımsız değişkenler arasında bulunması önemli bir diğer sonucumuzdur.

Akut GİS ve hematolojik yan etki görülen hastalarda Δ NRF-2 değerleri daha yüksek bulunmuştur. Ayrıca, akut GÜS yan etki gelişenlerde tedavi sonrası NRF-2 düzeyleri anlamlı olarak yüksektir. Akut GİS yan etki gelişen hastalarda Δ KEAP-1 değerleri daha düşük, akut GÜS yan etki gelişenlerde ise tedavi öncesi ve sonrası KEAP-1 düzeyleri daha yüksek bulunmuştur. HO-1 düzeyleri, akut GİS ve hematolojik yan etki gelişen hastalarda tedavi öncesinde anlamlı olarak daha yüksek saptanmıştır.

Sonuç olarak, çalışmamız NRF-2/HO-1/KEAP-1 ekseninin RT'ye bağlı oksidatif stres yanıtında kritik bir role sahip olduğunu göstermektedir. NRF-2'nin KRT sonrası anlamlı bir yükselişinin olması ancak bu değişimin tedaviye yanıtın

çok yan etki ile ilişkili olması NRF-2'nin rektum kanserli hastalarda radyasyona dirençten ziyade antioksidan etkinliği ile ön plana çıktığı söylenebilir. Bulgularımız ışığında rektum kanserli hastalarda tedaviye yanıt açısından HO-1 daha belirleyici görünmektedir. Ancak KRT öncesi HO-1 seviyesinin hem tümör cevabı hem de yan etki şiddetini aynı paralelde etkileyebileceği de göz önünde bulundurulmalıdır. KEAP-1 seviyelerinin ise NRF-2 gibi tedaviye cevap üzerine bir etkisi bulunmamakla birlikte yan etkiler açısından farklı rollerde görülebilmektedir. Akut GİS yan etki gösteren hastalarda KEAP-1'deki değişim, NRF-2'deki değişimin artmasına karşılık azalmayla karşılık verirken, GÜS yan etki oluşumunda NRF-2 ile paralel hareket etmesi NRF-2/KEAP-1 yolağının kompanzasyon mekanizması ile ilişkili olabilir. Ancak bulguların daha fazla hasta katılımı ile ileri çalışmalarla desteklenmesi gerekmektedir.

7. KAYNAKÇA

1. Siegel, R.L., et al., *Colorectal cancer statistics, 2023*. CA: a cancer journal for clinicians, 2023. **73**(3): p. 233-254.
2. Keller, D.S., et al., *The multidisciplinary management of rectal cancer*. Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology, 2020. **17**(7): p. 414-429.
3. Fokas, E., et al., *Chemoradiotherapy plus induction or consolidation chemotherapy as total neoadjuvant therapy for patients with locally advanced rectal cancer: long-term results of the CAO/ARO/AIO-12 randomized clinical trial*. JAMA oncology, 2022. **8**(1): p. e215445-e215445.
4. Ludmir, E.B., et al., *Total neoadjuvant therapy for rectal cancer: an emerging option*. Cancer, 2017. **123**(9): p. 1497-1506.
5. Benson, A.B., et al., *NCCN guidelines insights: rectal cancer, version 6.2020: featured updates to the NCCN guidelines*. Journal of the National Comprehensive Cancer Network, 2020. **18**(7): p. 806-815.
6. Ishii, T., K. Itoh, and M. Yamamoto, [18] *Roles of Nrf2 in activation of antioxidant enzyme genes via antioxidant responsive elements*, in *Methods in enzymology*. 2002, Elsevier. p. 182-190.
7. Mitsuishi, Y., H. Motohashi, and M. Yamamoto, *The Keap1–Nrf2 system in cancers: stress response and anabolic metabolism*. Frontiers in oncology, 2012. **2**: p. 200.
8. Singh, A., et al., *Gain of Nrf2 function in non-small-cell lung cancer cells confers radioresistance*. Antioxidants & redox signaling, 2010. **13**(11): p. 1627-1637.
9. Chiang, S.-K., S.-E. Chen, and L.-C. Chang, *The role of HO-1 and its crosstalk with oxidative stress in cancer cell survival*. Cells, 2021. **10**(9): p. 2401.
10. Morgan, E., et al., *Global burden of colorectal cancer in 2020 and 2040: incidence and mortality estimates from GLOBOCAN*. Gut, 2023. **72**(2): p. 338-344.

11. Siegel, R.L., A.N. Giaquinto, and A. Jemal, *Cancer statistics, 2024*. CA: a cancer journal for clinicians, 2024. **74**(1).
12. Benson, A.B., et al., *Rectal cancer*. Journal of the National Comprehensive Cancer Network, 2012. **10**(12): p. 1528-1564.
13. Netter, F.H., *Netter Atlas of Human Anatomy: Classic Regional Approach-Ebook*. 2022: Elsevier health sciences.
14. Shiller, M. and S. Boostrom, *The molecular basis of rectal cancer*. Clinics in colon and rectal surgery, 2015. **28**(01): p. 053-060.
15. Schottenfeld, D. and J.F. Fraumeni Jr, *Cancer epidemiology and prevention*. 2006: Oxford University Press.
16. Gianfredi, V., et al., *Rectal cancer: 20% risk reduction thanks to dietary fibre intake. systematic review and meta-analysis*. Nutrients, 2019. **11**(7): p. 1579.
17. Bailey, C.E., et al., *Increasing disparities in the age-related incidences of colon and rectal cancers in the United States, 1975-2010*. JAMA surgery, 2015. **150**(1): p. 17-22.
18. Song, M., W.S. Garrett, and A.T. Chan, *Nutrients, foods, and colorectal cancer prevention*. Gastroenterology, 2015. **148**(6): p. 1244-1260. e16.
19. Wang, D. and R.N. DuBois, *The role of COX-2 in intestinal inflammation and colorectal cancer*. Oncogene, 2010. **29**(6): p. 781-788.
20. Bénard, F., et al., *Systematic review of colorectal cancer screening guidelines for average-risk adults: Summarizing the current global recommendations*. World journal of gastroenterology, 2018. **24**(1): p. 124.
21. Maor, Y., et al., *Endoscopic ultrasound staging of rectal cancer: diagnostic value before and following chemoradiation*. Journal of gastroenterology and hepatology, 2006. **21**(2): p. 454-458.
22. Brown, G., et al., *High-resolution MRI of the anatomy important in total mesorectal excision of the rectum*. American journal of roentgenology, 2004. **182**(2): p. 431-439.
23. Wibe, A., et al., *Prognostic significance of the circumferential resection margin following total mesorectal excision for rectal cancer*. British Journal of Surgery, 2002. **89**(3): p. 327-334.
24. Shihab, O.C., et al., *Defining the surgical planes on MRI improves surgery for cancer of the low rectum*. The Lancet Oncology, 2009. **10**(12): p. 1207-1211.

25. Detering, R., et al., *Prognostic importance of circumferential resection margin in the era of evolving surgical and multidisciplinary treatment of rectal cancer: A systematic review and meta-analysis*. Surgery, 2021. **170**(2): p. 412-431.
26. Benson, A.B., et al., *Rectal cancer, version 2.2022, NCCN clinical practice guidelines in oncology*. Journal of the National Comprehensive Cancer Network, 2022. **20**(10): p. 1139-1167.
27. Folkesson, J., et al., *Swedish Rectal Cancer Trial: long lasting benefits from radiotherapy on survival and local recurrence rate*. Journal of clinical oncology, 2005. **23**(24): p. 5644-5650.
28. Sauer, R., et al., *Preoperative versus postoperative chemoradiotherapy for rectal cancer*. New England Journal of Medicine, 2004. **351**(17): p. 1731-1740.
29. Roh, M.S., et al., *Preoperative multimodality therapy improves disease-free survival in patients with carcinoma of the rectum: NSABP R-03*. Journal of clinical oncology, 2009. **27**(31): p. 5124-5130.
30. Glynne-Jones, R., et al., *Neoadjuvant chemotherapy prior to preoperative chemoradiation or radiation in rectal cancer: should we be more cautious?* British journal of cancer, 2006. **94**(3): p. 363-371.
31. Goodman, K., *Total neoadjuvant therapy for rectal cancer*. Cancer/Radiothérapie, 2018. **22**(5): p. 459-465.
32. Fernandez-Martos, C., et al., *Chemoradiation, surgery and adjuvant chemotherapy versus induction chemotherapy followed by chemoradiation and surgery: long-term results of the Spanish GCR-3 phase II randomized trial*. Annals of Oncology, 2015. **26**(8): p. 1722-1728.
33. Dijkstra, E.A., et al., *Locoregional failure during and after short-course radiotherapy followed by chemotherapy and surgery compared with long-course chemoradiotherapy and surgery: a 5-year follow-up of the RAPIDO trial*. Annals of surgery, 2023. **278**(4): p. e766-e772.
34. Conroy, T., et al., *Neoadjuvant chemotherapy with FOLFIRINOX and preoperative chemoradiotherapy for patients with locally advanced rectal cancer (UNICANCER-PRODIGE 23): a multicentre, randomised, open-label, phase 3 trial*. The Lancet Oncology, 2021. **22**(5): p. 702-715.
35. Garcia-Aguilar, J., et al., *Organ preservation in patients with rectal adenocarcinoma treated with total neoadjuvant therapy*. Journal of clinical oncology, 2022. **40**(23): p. 2546-2556.

36. Hofheinz, R.-D., et al., *Localised rectal cancer: ESMO Clinical Practice Guideline for diagnosis, treatment and follow-up*. Annals of Oncology, 2025.
37. Wo, J.Y., et al., *Radiation therapy for rectal cancer: executive summary of an ASTRO clinical practice guideline*. Practical radiation oncology, 2021. **11**(1): p. 13-25.
38. Powell, S. and T. McMillan, *DNA damage and repair following treatment with ionizing radiation*. Radiotherapy and Oncology, 1990. **19**(2): p. 95-108.
39. Gunderson, L.L. and J.E. Tepper, *Clinical radiation oncology*. 2015: Elsevier Health Sciences.
40. Mbah, N.E. and C.A. Lyssiotis, *Metabolic regulation of ferroptosis in the tumor microenvironment*. Journal of Biological Chemistry, 2022. **298**(3): p. 101617.
41. Zhou, Q., et al., *Ferroptosis in cancer: from molecular mechanisms to therapeutic strategies*. Signal transduction and targeted therapy, 2024. **9**(1): p. 55.
42. Lei, G., L. Zhuang, and B. Gan, *The roles of ferroptosis in cancer: Tumor suppression, tumor microenvironment, and therapeutic interventions*. Cancer cell, 2024. **42**(4): p. 513-534.
43. Manful, C.F., et al., *Antioxidants and Reactive Oxygen Species: Shaping Human Health and Disease Outcomes*. International Journal of Molecular Sciences, 2025. **26**(15): p. 7520.
44. Chandimali, N., et al., *Free radicals and their impact on health and antioxidant defenses: A review*. Cell death discovery, 2025. **11**(1): p. 19.
45. Scalera, S., et al., *KEAP1-mutant NSCLC: the catastrophic failure of a cell-protecting hub*. Journal of Thoracic Oncology, 2022. **17**(6): p. 751-757.
46. Wu, Y., et al., *Molecular mechanisms of tumor resistance to radiotherapy*. Molecular Cancer, 2023. **22**(1): p. 96.
47. Akhunzianov, A.A., et al., *Resistance to radiotherapy in cancer*. Diseases, 2025. **13**(1): p. 22.
48. Raaijmakers, K., et al., *Cancer-associated fibroblasts, tumor and radiotherapy: interactions in the tumor micro-environment*. J Exp Clin Cancer Res, 2024. **43**(1): p. 323.
49. Zhan, J. and M. Jücker, *The Role of PI3K/AKT/mTOR Signaling in Tumor Radioresistance and Advances in Inhibitor Research*. International Journal of Molecular Sciences, 2025. **26**(14): p. 6853.

50. Jain, S.M., et al., *Understanding the molecular mechanism responsible for developing therapeutic radiation-induced radioresistance of rectal cancer and improving the clinical outcomes of radiotherapy-A review*. Cancer Biology & Therapy, 2024. **25**(1): p. 2317999.
51. Zimta, A.-A., et al., *The role of Nrf2 activity in cancer development and progression*. Cancers, 2019. **11**(11): p. 1755.
52. Furfaro, A., et al., *The Nrf2/HO-1 axis in cancer cell growth and chemoresistance*. Oxidative medicine and cellular longevity, 2016. **2016**(1): p. 1958174.
53. Jaramillo, M.C. and D.D. Zhang, *The emerging role of the Nrf2–Keap1 signaling pathway in cancer*. Genes & development, 2013. **27**(20): p. 2179-2191.
54. Itoh, K., J. Mimura, and M. Yamamoto, *Discovery of the negative regulator of Nrf2, Keap1: a historical overview*. Antioxidants & redox signaling, 2010. **13**(11): p. 1665-1678.
55. Moon, E.J. and A. Giaccia, *Dual roles of NRF2 in tumor prevention and progression: possible implications in cancer treatment*. Free Radical Biology and Medicine, 2015. **79**: p. 292-299.
56. Sporn, M.B. and K.T. Liby, *NRF2 and cancer: the good, the bad and the importance of context*. Nature Reviews Cancer, 2012. **12**(8): p. 564-571.
57. Khurana, N. and S.C. Sikka, *Targeting crosstalk between Nrf-2, NF-κB and androgen receptor signaling in prostate cancer*. Cancers, 2018. **10**(10): p. 352.
58. Kumar, H., et al., *Role of Nrf2 signaling cascade in breast cancer: strategies and treatment*. Frontiers in pharmacology, 2022. **13**: p. 720076.
59. Jin, X., et al., *NRF2 signaling plays an essential role in cancer progression through the NRF2-GPX2-NOTCH3 axis in head and neck squamous cell carcinoma*. Oncogenesis, 2024. **13**(1): p. 35.
60. Solis, L.M., et al., *Nrf2 and Keap1 abnormalities in non-small cell lung carcinoma and association with clinicopathologic features*. Clinical cancer research, 2010. **16**(14): p. 3743-3753.
61. Canning, P., F.J. Sorrell, and A.N. Bullock, *Structural basis of Keap1 interactions with Nrf2*. Free Radical Biology and Medicine, 2015. **88**: p. 101-107.
62. Kerins, M.J. and A. Ooi, *A catalogue of somatic NRF2 gain-of-function mutations in cancer*. Scientific reports, 2018. **8**(1): p. 12846.

63. Singh, A., et al., *Dysfunctional KEAP1–NRF2 interaction in non-small-cell lung cancer*. PLoS medicine, 2006. **3**(10): p. e420.
64. Cox, J.D., J. Stetz, and T.F. Pajak, *Toxicity criteria of the Radiation Therapy Oncology Group (RTOG) and the European Organization for Research and Treatment of Cancer (EORTC)*. Int J Radiat Oncol Biol Phys, 1995. **31**(5): p. 1341-6.
65. Muscarella, L.A., et al., *Regulation of KEAP1 expression by promoter methylation in malignant gliomas and association with patient's outcome*. Epigenetics, 2011. **6**(3): p. 317-325.
66. Faraonio, R., et al., *p53 suppresses the Nrf2-dependent transcription of antioxidant response genes*. Journal of Biological Chemistry, 2006. **281**(52): p. 39776-39784.
67. Copple, I.M., *The Keap1–Nrf2 cell defense pathway—a promising therapeutic target?* Advances in pharmacology, 2012. **63**: p. 43-79.
68. DeNicola, G.M., et al., *Oncogene-induced Nrf2 transcription promotes ROS detoxification and tumorigenesis*. Nature, 2011. **475**(7354): p. 106-109.
69. Adam, J., et al., *Renal cyst formation in Fh1-deficient mice is independent of the Hif/Phd pathway: roles for fumarate in KEAP1 succination and Nrf2 signaling*. Cancer cell, 2011. **20**(4): p. 524-537.
70. Loboda, A., et al., *Role of Nrf2/HO-1 system in development, oxidative stress response and diseases: an evolutionarily conserved mechanism*. Cellular and molecular life sciences, 2016. **73**: p. 3221-3247.
71. Loboda, A., A. Jozkowicz, and J. Dulak, *HO-1/CO system in tumor growth, angiogenesis and metabolism—Targeting HO-1 as an anti-tumor therapy*. Vascular pharmacology, 2015. **74**: p. 11-22.
72. Krukowska, K. and M. Magierowski, *Carbon monoxide (CO)/heme oxygenase (HO)-1 in gastrointestinal tumors pathophysiology and pharmacology-possible anti-and pro-cancer activities*. Biochemical Pharmacology, 2022. **201**: p. 115058.
73. Nitti, M., et al., *HO-1 induction in cancer progression: a matter of cell adaptation*. Antioxidants, 2017. **6**(2): p. 29.
74. Skrzypek, K., et al., *Interplay between heme oxygenase-1 and miR-378 affects non-small cell lung carcinoma growth, vascularization, and metastasis*. Antioxidants & redox signaling, 2013. **19**(7): p. 644-660.

75. Wang, J., et al., *Correlation of Nrf2, HO-1, and MRP3 in gallbladder cancer and their relationships to clinicopathologic features and survival*. Journal of Surgical Research, 2010. **164**(1): p. e99-e105.
76. Shen, H., et al., *Blockage of Nrf2 suppresses the migration and invasion of esophageal squamous cell carcinoma cells in hypoxic microenvironment*. Diseases of the Esophagus, 2014. **27**(7): p. 685-692.
77. Barrera, L.N., et al., *Bortezomib induces heme oxygenase-1 expression in multiple myeloma*. Cell Cycle, 2012. **11**(12): p. 2248-2252.
78. Myerson, R.J., et al., *Elective clinical target volumes for conformal therapy in anorectal cancer: a radiation therapy oncology group consensus panel contouring atlas*. International Journal of Radiation Oncology* Biology* Physics, 2009. **74**(3): p. 824-830.
79. Roels, S., et al., *Definition and delineation of the clinical target volume for rectal cancer*. International Journal of Radiation Oncology* Biology* Physics, 2006. **65**(4): p. 1129-1142.
80. Goldstein, M. and M.B. Kastan, *The DNA damage response: implications for tumor responses to radiation and chemotherapy*. Annual review of medicine, 2015. **66**(1): p. 129-143.
81. Gu, X., et al., *The cancer antioxidant regulation system in therapeutic resistance*. Antioxidants, 2024. **13**(7): p. 778.
82. Li, C., et al., *Expression and correlation of NRF2, KEAP1, NQO-1 and HO-1 in advanced squamous cell carcinoma of the larynx and their association with clinicopathologic features*. Mol Med Rep, 2016. **14**(6): p. 5171-5179.
83. Ji, L., et al., *Correlation of Nrf2, NQO1, MRP1, cmyc and p53 in colorectal cancer and their relationships to clinicopathologic features and survival*. International journal of clinical and experimental pathology, 2014. **7**(3): p. 1124.
84. Zhang, J., et al., *Nrf2 and Keap1 abnormalities in esophageal squamous cell carcinoma and association with the effect of chemoradiotherapy*. Thoracic cancer, 2018. **9**(6): p. 726-735.
85. Lee, K., et al., *The clinicopathological and prognostic significance of Nrf2 and Keap1 expression in hepatocellular carcinoma*. Cancers, 2020. **12**(8): p. 2128.
86. Kitamura, H. and H. Motohashi, *NRF2 addiction in cancer cells*. Cancer science, 2018. **109**(4): p. 900-911.

87. Reinema, F., et al., *Radiotherapy induces an increase in serum antioxidant capacity reflecting tumor response*. Clinical and Translational Radiation Oncology, 2024. **45**: p. 100726.
88. Kawasaki, Y., et al., *Nrf2 is useful for predicting the effect of chemoradiation therapy on esophageal squamous cell carcinoma*. Annals of surgical oncology, 2014. **21**(7): p. 2347-2352.
89. Matsuoka, Y., et al., *The antioxidative stress regulator Nrf2 potentiates radioresistance of oral squamous cell carcinoma accompanied with metabolic modulation*. Laboratory Investigation, 2022. **102**(8): p. 896-907.
90. Shibata, T., et al., *Cancer related mutations in NRF2 impair its recognition by Keap1-Cul3 E3 ligase and promote malignancy*. Proceedings of the National Academy of Sciences, 2008. **105**(36): p. 13568-13573.
91. Kozakowska, M., et al., *Preliminary analysis of the expression of selected proangiogenic and antioxidant genes and MicroRNAs in patients with non-muscle-invasive bladder cancer*. Journal of Clinical Medicine, 2016. **5**(3): p. 29.
92. Spracklen, T., et al., *Promoter region variation in NFE2L2 influences susceptibility to ototoxicity in patients exposed to high cumulative doses of cisplatin*. The Pharmacogenomics Journal, 2017. **17**(6): p. 515-520.
93. Faber, J., et al., *Knock-down of FOXO3, GATA2, NFE2L2 and AHR promotes doxorubicin-induced cardiotoxicity in human cardiomyocytes*. Toxicology, 2024. **509**: p. 153977.
94. Alam, A., et al., *A preliminary study on racial differences in HMOX1, NFE2L2, and TGFβ1 gene polymorphisms and radiation-induced late normal tissue toxicity*. International Journal of Radiation Oncology* Biology* Physics, 2015. **93**(2): p. 436-443.
95. Xu, Y., et al., *Loss of Nrf2 aggravates ionizing radiation-induced intestinal injury by activating the cGAS/STING pathway via Pirin*. Cancer Letters, 2024. **604**: p. 217218.
96. Xu, Y., et al., *Nrf2 alleviates radiation-induced rectal injury by inhibiting of necroptosis*. Biochem Biophys Res Commun, 2021. **554**: p. 49-55.
97. Aranda-Rivera, A.K., et al., *Nrf2 activation in chronic kidney disease: promises and pitfalls*. Antioxidants, 2022. **11**(6): p. 1112.
98. Oskomić, M., et al., *KEAP1-NRF2 Interaction in Cancer: Competitive Interactors and Their Role in Carcinogenesis*. Cancers, 2025. **17**(3): p. 447.

99. Itoh, K., et al., *Emerging functional cross-talk between the Keap1-Nrf2 system and mitochondria*. Journal of clinical biochemistry and nutrition, 2015. **56**(2): p. 91-97.
100. Seika, P., et al., *Free heme exacerbates colonic injury induced by anti-cancer therapy*. Frontiers in Immunology, 2023. **14**: p. 1184105.
101. Puentes-Pardo, J.D., et al., *Heme oxygenase-1 in gastrointestinal tract health and disease*. Antioxidants, 2020. **9**(12): p. 1214.
102. Kim, J.-H., et al., *NRF2-mediated Notch pathway activation enhances hematopoietic reconstitution following myelosuppressive radiation*. The Journal of clinical investigation, 2014. **124**(2): p. 730-741.

