

**ÇANKIRI KARATEKİN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

DOKTORA TEZİ

**İRAK'TA PROSTAT KANSERLİ HASTALARDA GALECTİN 9, BETA-
KATENİN VE KATEPSİN B DÜZEYLERİ ARASINDAKİ İLİŞKİNİN VE
KLİNİK ÖNEMİNİN ARAŞTIRILMASI**

Saif Abdalaziz Meteab BANIDAHİR

KİMYA ANABİLİM DALI

**ÇANKIRI
2024**

Her hakkı saklıdır

TEZ ONAYI

Saif Abdalaziz Meteab BANIDAHİR tarafından hazırlanan “**Irak'ta Prostat Kanserli Hastalarda Galectin 9, Beta-Katenin ve Katepsin B Düzeyleri Arasındaki İlişkinin ve Klinik Öneminin Araştırılması**” adlı tez çalışması 28/08/2024 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile Çankırı Karatekin Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalında **Doktora Tezi** olarak kabul edilmiştir.

Danışman : Prof. Dr. Şevki ADEM

Jüri Üyeleri :

Başkan : Prof. Dr. Volkan EYÜPOĞLU
Kimya Anabilim Dalı
Çankırı Karatekin Üniversitesi

Üye : Prof. Dr. Hakan ÇOLAK
Kimya Anabilim Dalı
Çankırı Karatekin Üniversitesi

Üye : Prof. Dr. Şevki ADEM
Kimya Anabilim Dalı
Çankırı Karatekin Üniversitesi

Üye : Dr. Öğr. Üyesi Beytullah EREN
Sağlık Bilimleri Anabilim Dalı
Sakarya Üniversitesi

Üye : Dr. Öğr. Üyesi Ümit YIRTICI
Tıbbi Laboratuvar
Kırıkkale Üniversitesi

Yukarıdaki sonucu onaylarım

Prof. Dr. Ersoy YILMAZ

Enstitü Müdürü

ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ

Çankırı Karatekin Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğine göre hazırlamış olduğum **“İrak'ta Prostat Kanserli Hastalarda Galectin 9, Beta-Katenin ve Katepsin B Düzeyleri Arasındaki İlişkinin ve Klinik Öneminin Araştırılması”** konulu tezin bana ait, özgün bir çalışma olduğunu; çalışmamın hazırlık, veri toplama, analiz ve bilgilerin sunumu olmak üzere tüm aşamalarında bilimsel etik ilke ve kurallara uygun davrandığımı, tezin içerdiği yenilik ve sonuçları başka bir yerden almadığımı, tezde kullandığım eserleri usulüne göre kaynak olarak gösterdiğimi, tezin Çankırı Karatekin Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü’nden başka bir bilim kuruluna akademik amaç ve unvan almak amacıyla vermediğimi ve bu çalışmanın Çankırı Karatekin Üniversitesi tarafından kullanılan “Bilimsel İntihal Tespit Programı”yla tarandığını, “intihal içermediğini” beyan ederim. Çalışmamla ilgili yaptığım bu beyana aykırı bir durumun saptanması halinde ortaya çıkacak tüm ahlaki ve hukuki sonuçlara razı olduğumu bildiririm. Çankırı Karatekin Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca gereğinin yapılmasını arz ederim (28/08/2024).

Saif Abdalaziz Meteab BANIDAHIR

ÖZET

Doktora Tezi

IRAK'TA PROSTAT KANSERLİ HASTALARDA GALECTIN 9, BETA-KATENİN VE KATEPSİN B DÜZEYLERİ ARASINDAKİ İLİŞKİNİN VE KLİNİK ÖNEMİNİN ARAŞTIRILMASI

Saif Abdalaziz Meteab BANIDAHIR

Çankırı Karatekin Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Kimya Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Şevki ADEM

Prostat kanseri, erkeklerde en sık görülen ikinci kanser tanısıdır ve dünya çapında beşinci önde gelen ölüm nedenidir. Prostat kanseri erken evrede asemptomatik olabilir ve genellikle sadece aktif gözetim gerektirebilecek kadar hafif seyreder. Erken teşhis ve tedavi sağkalım oranlarını önemli ölçüde iyileştirir. Birçok vaka yavaş büyürken, agresif formlar yayılabilir ve tedavisi zor olabilir, bu da daha iyi teşhis araçları ve tedaviler üzerine araştırmaları çok önemli hale getirmiştir. Hastalığın ayrıca önemli sağlık, psikolojik ve ekonomik etkileri vardır ve bu da etkili önleme, erken teşhis ve kişiselleştirilmiş tedavi stratejilerine olan ihtiyacı belirginleştirmiştir. PCa tedavi stratejilerinin teşhis ve kontrolüne yardımcı olacak biyobelirteçlerin geliştirilmesine yönelik klinik olarak karşılanmamış bir ihtiyaç bulunmuştur. Serum, idrar ve hatta doku örnekleri için birçok yeni biyobelirteç çalışılabilir ve PCa ile ilişkiyi bulmak için kullanılabilir. Bu noktadan hareketle, bu çalışma serum Galectin 9 (Gal-9), human Beta-Catenin (CTNN β 1) ve human Cathepsin B (CTSB) seviyelerinin PCa ile ilişkili olup olmadığını ve hastalarda ilerleyici PCa'nın biyobelirteçleri veya öngörücüleri olarak hizmet edip edemeyeceklerini araştırmayı amaçlamıştır. Ayrıca, Irak'taki prostat kanseri hastalarının yönetimini iyileştirmeye yardımcı olacak yeni bir prostat kanseri prognostiği için sağlıklı erkeklerle karşılaştırıldığında Gal-9, insan CTNN β 1, insan CTSB, insan hepcidin ve GDF15 ile PCa arasındaki ilişkiyi araştırmaktadır. Çalışmamız Gal-9, CTSB ve CTNN β 1'i aydınlatan ilk çalışma olması nedeniyle önemli bulunmaktadır. Ekim 2023 ile Mart 2024 tarihleri arasında, denekler Anbar Eğitim Hastanesi, Anbar Kanser Merkezi, Heet Genel Hastanesi ve Kerkük Eğitim Hastanesi'nden seçilmiştir. Bu çalışmanın denekleri iki gruba ayrılmış, hasta grubu 50 PCa hastasından ve kontrol grubu 40 sağlıklı bireyden oluşmuştur. Serum Gal-9, insan CTSB, insan CTNN β 1, GDF15 ve hepsidin hormon düzeyleri ELISA kitleri ile ölçülmüştür. Hasta grubunun Gal-9 düzeyleri ($127,14 \pm 52,49$) sağlıklı grubunkinden ($39,64 \pm 16,28$) daha yüksek bulunmuştur. Hasta grubundaki insan CTNN β 1 konsantrasyonu ($1,77 \pm 0,52$) sağlıklı gruptan ($0,68 \pm 0,19$) daha yüksek bulunmuştur. Hasta grubunun insan CTSB değerleri sağlıklı grubunkinden (sırasıyla $116,02 \pm 39,44$ ve $80,40 \pm 24,76$) daha yüksek olmuştur. Katılımcıların GAL-9, İnsan CTNN β 1 ve İnsan CTSB değerleri gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık göstermiştir ($P <$

0,05). Hastaların GDF15 düzeyleri (743,22±277,311) sağlıklı gruptan (453,96±137,98) daha yüksek olmuştur. Hasta grubunun hepsidin hormonu düzeyleri (36,91±13,45) sağlıklı grubunkinden (17,51±6,34) daha yüksek olmuştur. Katılımcıların GDF15 ve insan hepsidin değerleri hasta ve sağlıklı gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık göstermiştir ($P < 0,05$). Katılımcıların PSA düzeyleri gruplar arasında anlamlı farklılık göstermiş ($t=16,094$; $p=0,000$), hasta grubu sağlıklı gruba ($0,87±0,33$) kıyasla daha yüksek PSA değeri ($25,28±20,68$) göstermiştir. Hasta ve sağlıklı grupların yaş ortalaması sırasıyla ($64,82±10,03$ ve $58,80±8,32$) olarak hesaplanmıştır. Hasta grubunun ortalama BMI değeri $24,21±2,74$ ve kontrol grubunun ortalama BMI değeri $29,05±3,96$ olarak hesaplanmıştır. PCa hasta gruplarında Gal-9 sırasıyla yaş, insan CTNN β 1 ve serum insan GDF15 düzeyleri ($r = 0,319$, $p = 0,012$; $r = 0,286$, $p = 0,022$) ile istatistiksel olarak anlamlı pozitif korelasyon göstermiştir. Serum insan CTSB, sırasıyla BMI ve PCa'da hepsidin hormonu ile istatistiksel olarak anlamlı pozitif korelasyon göstermiştir ($r = -0,266$, $p = 0,031$; $r = 0,535$, $p = 0,0001$). PKa hasta gruplarında serum PSA düzeyleri ve insan hepsidin hormonu istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki ortaya koymuştur ($P < 0,05$). Sonuç olarak, bu çalışma serum Ga-9, İnsan CTSB, İnsan CTNN β 1 ve hepsidin hormonu konsantrasyonlarının PCa hastalarında önemli ölçüde yükseldiğini ortaya koymuştur. Sonuç olarak, dolaşımdaki Gal-9, İnsan CTSB, İnsan CTNN β 1, hepsidin ve büyüme farklılaşma faktörü 15, PCa hastalarında tümörlerin insidansını ve ilerlemesini izlemek ve tahmin etmek için tanısal biyobelirteçler olarak hizmet edebilir. Bu yeni çalışma nedeniyle, Gal-9, İnsan CTSB ve İnsan CTNN β 1'in prostat tümörlerini etkilediği biyokimyasal yolu belirlemek ve PCa hastaları için daha etkili bir öngörücü ajan haline getirmek için daha fazla araştırma yapılması gerekmektedir.

2024, 191 sayfa

ANAHTAR KELİMELER: Prostat kanseri, İnsan CTNN β 1, Gal-9, İnsan CTSB, GDF15, İnsan hepsidin hormonu

ABSTRACT

PhD Thesis

EXPLORATION OF THE RELATIONSHIP AND CLINICAL IMPORTANCE BETWEEN GALECTIN 9, BETA-CATENIN AND CATHEPSIN B LEVELS IN PATIENTS WITH PROSTATE CANCER IN IRAQ

Saif Abdalaziz Meteab BANIDAHIR

Çankırı Karatekin University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Chemical

Advisor: Prof. Dr. Şevki ADEM

Prostate cancer is the second most frequent cancer diagnosis made in men and the fifth leading cause of death worldwide. Prostate cancer may be asymptomatic at the early stage and often has an indolent course that may require only active surveillance. Early detection and treatment significantly improve survival rates. While many cases grow slowly, aggressive forms can spread and be difficult to treat, making research into better diagnostic tools and therapies crucial. The disease also has significant health, psychological, and economic impacts, highlighting the need for effective prevention, early detection, and personalized treatment strategies. There is a clinically unmet need to develop biomarkers that will help in the diagnosis and control of PCa treatment strategies. Many new biomarkers for serum, urine, and even tissue samples can be studied and used to find the relationship with PCa. From this point, this study aims to investigate whether serum Galectin 9 (Gal-9), human Beta-Catenin (CTNN β 1), and human Cathepsin B (CTSB) levels are associated with PCa and whether they can serve as biomarkers or predictors of progressive PCa in patients. Also, investigate the relationship between Gal-9, human CTNN β 1, human CTSB, human hepcidin, and GDF15 with PCa compared with healthy men for a new prognostic of prostate cancer that will help improve the management of prostate cancer patients in Iraq. Our study is important because it is the first study to elucidate Gal-9, CTSB, and CTNN β 1. From October 2023 to March 2024, the subjects were selected from Anbar Teaching Hospital, Anbar Cancer Center, Heet General Hospital, and Kirkuk Teaching Hospital. The subjects of this study were divided into two groups, the patient group consisted of 50 patients with PCa and the control group consisted of 40 healthy individuals. Serum Gal-9, human CTSB, human CTNN β 1, GDF15, and hepcidin hormone levels were measured by ELISA kits. The Gal-9 levels of the patient group (127.14 ± 52.49) were higher than those of the healthy group (39.64 ± 16.28). The human CTNN β 1 concentration in the patient group (1.77 ± 0.52) was higher than that in the healthy group (0.68 ± 0.19). The human CTSB values of the patient group were higher than those of the healthy group (116.02 ± 39.44 and 80.40 ± 24.76), respectively. GAL-9, Human CTNN β 1 and Human CTSB values of the participants showed a statistically significant difference according to the groups ($P < 0.05$). GDF15 levels of the patient (743.22 ± 277.311) were

higher than the healthy group (453.96 ± 137.98). The hepcidin hormone levels of the patient group (36.91 ± 13.45) were higher than those of the healthy group (17.51 ± 6.34). The participants' GDF15 and human hepcidin values showed a statistically significant difference between the patient and healthy groups ($P < 0.05$). The PSA levels of the participants differed significantly between the groups ($t=16.094$; $p=0.000$), with the patient group showing a higher PSA value (25.28 ± 20.68) compared to the healthy group (0.87 ± 0.33). The mean age of the patient and healthy groups was calculated as (64.82 ± 10.03 and 58.80 ± 8.32), respectively. The mean BMI of the patient group was calculated as 24.21 ± 2.74 , and the mean BMI of the control group was calculated as 29.05 ± 3.96 . In the PCa patient groups, Gal-9 showed a statistically significant positive correlation with age, human CTNN β 1, and serum human GDF15 levels ($r = 0.319$, $p = 0.012$; $r = 0.286$, $p = 0.022$), respectively. Serum human CTSB showed a statistically significant positive correlation with BMI and hepcidin hormone in PCa ($r = -0.266$, $p = 0.031$; $r = 0.535$, $p = 0.0001$), respectively. Serum PSA levels and human hepcidin hormone in PCa patient groups revealed a statistically significant relationship ($P < 0.05$). In concluded, this study revealed that serum Ga-9, Human CTSB, Human CTNN β 1 and hepcidin hormone concentrations were dramatically elevated in PCa patients. Consequently, circulating Gal-9, Human CTSB, Human CTNN β 1, hepcidin, and GDF15 may serve as diagnostic biomarkers for monitoring and predicting the incidence and progression of tumours in PCa patients. Due to this novel study, further research is necessary to determine the biochemical pathway by which Gal-9, Human CTSB, and Human CTNN β 1 impact prostate tumours and make it a more effective predictive agent for PCa patients.

2024, 191 pages

Keywords: Prostate cancer, Human CTNN β 1, Gal-9, Human CTSB, GDF15, Human hepcidin hormone

ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR

Tez danışmanım Prof. Dr. Şevki ADEM'e sabrı, rehberliği ve anlayışı için teşekkür ederim.

Saif Abdalaziz Meteab BANIDAHIR

Çankırı, Ağustos 2024



İÇİNDEKİLER

ÖZET	i
ABSTRACT	iii
ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR	v
İÇİNDEKİLER.....	vi
SİMGELER DİZİNİ	viii
KISALTMALAR DİZİNİ.....	x
ŞEKİLLER DİZİNİ	xiii
ÇİZELGELER DİZİNİ	xv
1. GİRİŞ.....	1
2. LİTERATÜR ÖZETİ.....	5
2.1 Prostat Bezi	5
2.2 Prostat Kanseri.....	8
2.3 Prostat Kanserinin Tarihçesi	9
2.4 İnsidans, Prevalans ve Mortalite.....	11
2.5 Prostat Kanserinin Etiyolojisi ve Risk Faktörleri	12
2.5.1 Yaş	13
2.5.2 Aile geçmişi	13
2.5.3 Yükseklik	14
2.5.4 Hormonlar	14
2.5.5 Enfeksiyöz ajanlar	15
2.5.6 Irk.....	15
2.6 PCa Histopatolojisi.....	16
2.7 PCa'nın Sınıflandırılması ve Evrelendirilmesi	17
2.8 PCa'nın Klinik Belirtileri.....	19
2.9 PCa Teşhisi.....	20
2.10 PCa'nın Klinik Teşhisinde Biyokimyasal Belirteçlerin Rolü	22
2.10.1 PSA.....	22
2.10.2 Büyüme farklılaşma faktörü-15	23
2.10.3 Human Hepsidin.....	28
2.10.4 Katepsin B.....	36

2.10.5 Galektin-9 (Gal-9).....	44
2.10.6 Beta-Katenin (β -katenin)	54
3. MATERYAL VE METOT	65
3.1 Çalışmanın Önemi.....	65
3.1.1 Denekler	65
3.1.2 Dışlama kriterleri.....	66
3.1.3 Dahil edilme kriterleri	66
3.2 Kan Örneği Toplama	66
3.3 Laboratuvar Analizinde Kullanılan Cihazlar.....	67
3.3.1 BioTek Elisa ELx800	67
3.3.2 Roche Cobas e 411 otomatik kimya analizörü	69
3.3.3 Z-306 üniversal santrifüj (HERMLE) (76B2000145)	70
3.3.4 Memmert su banyosu (WNE 22) (L513.0977)	71
3.4 Biyokimyasal Kitler	71
3.4.1 Prostat spesifik antijen (70823703).....	71
3.4.2 Human GDF15 (FU274B8P6851)	73
3.4.3 Hepcidin (MBS2881688).....	77
3.4.4 Human Galectin 9 (FU31040V7949).....	79
3.4.5 Human Kathepsin B (CTSB)	84
4. BULGULAR.....	90
4.1 Çalışma Katılımcılarının Temel Klinik Özellikleri.....	90
4.2 Biyokimyasal Parametreler	93
4.2.1 Prostat spesifik antijen (PSA) seviyeleri	94
4.2.2 Büyüme farklılaşma faktörü 15 (GDF15) seviyeleri	96
4.2.3 Human GAL-9 düzeyleri	99
4.2.4 Human Katenin Beta 1 (CTNN β 1) seviyeleri	101
4.2.5 Human Kathepsin B (CTSB) seviyeleri.....	104
4.2.6 Human Hepcidin seviyeleri	106
5. DISCUSSION	110
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	122
EKLER.....	174
ÖZGEÇMİŞ	Hata! Yer işareti tanımlanmamış.

SİMGELER DİZİNİ

-	Çıkart
%	Yüzde
()	Parantezler
/	Division Slash
:	Colon
[]	Parantezler
~	Yaklaşım.
+	Artı
<	Daha az
=	Eşit
>	Daha büyük
≥	Büyük veya eşit
µg	Mikrogram
µm	Micron
Ca ²	Kalsiyum
cm/s	Saniyede santimetre
g	Gram
kDa	Kilodalton
Kg	Kilogram
LR	Olabilirlik oranı
m ²	Metrekare
mg/L	Litre başına miligram
ml	Mililitre
mm	Milimetre
mmHg	Milimetre cıva
mmol	Milimol
Na ²	Disodyum
ng	Nanomole
ng/L	Litre başına nanogram
ng/mL	Mililitre başına nanogram
nm	Nanometre
°C	Santigrat derece
OD	Optik yoğunluk
p	Olasılık
pg/mL	Mililitre Başına Pikogram
r	Örnek korelasyon
Sig.	Anlamlılık
U/	Litre başına birim
x	Çarpma

X^2	Ki-kare testi
Yani	Örnek
α	Alpha
β	Beta
λ	Gamma
μ	Mikro
μL	Mikrolitre
$\mu\text{mol/L}$	Litre başına mikromol



KISALTMALAR DİZİNİ

Ab	Absorbans
ACD	Kronik hastalık anemisi
AMI	Akut miyokard enfarktüsü
APC	Adenomatöz polipozis koli
apoB	Apolipoprotein B
AR	Androjen reseptörü
Arg	Arginin
AR'ler	Androjen reseptörleri
AS	Aktif gözetim
Asp	Aspartik asit
AUC	Eğri altında kalan alan
Avidin-HRP	Avidin-Horseradish Peroksidaz
BMI	Vücut kitle indeksi
BPH	İyi huylu prostat büyümesi
BT	Brakiterapi
β -katenin	Beta-katenin
CatS	Kathepsin S
CatZ	Kathepsin Z
CB	Anti-kathepsin B
C-CRD	C-terminal karbonhidrat tanıma alanı
CKD	Kronik böbrek hastalığı
CRD	Carbohidrat tanıma alanı
CRPC	Kastrata dirençli prostat kanseri
CRPCa	Kastrata dirençli prostat kanseri
csPCa	Klinik olarak anlamlı prostat kanseri
CTD	Karboksi terminal alanı
CTNNB1	beta-katenin 1
CTSB	Kathepsin B
CVD	Kardiyovasküler hastalık
CZ	Merkez bölge
DNA	Deoksiribonükleik asit
dpc	Koitus sonrası günler
DRE	Dijital rektal muayene
ECM	Hücre dışı matris
ECM	Kapsamlı hücre dışı matriks
ELISA	Enzim Bağlantılı İmmünoSorbent Testi
EMT	Epitelyal-mezenkimal geçiş
FAK	Fokal adezyon kinaz
FPN-1	Ferroportin-1

FZD	Transmembran Frizzled
Gal-1	Galektin-1
Gal-3	Galektin-3
Gal-9	Galektin-9
GDF15	Büyüme Farklılaşma Faktörü-15
GS	Gleason Skoru
HCC	Hepatoselüler karsinom
HPV	İnsan papilloma virüsü
HSC'ler	Hematopoietik kök hücreler
IDPR'ler	İçsel olarak düzensiz protein bölgeleri
ie	Örnek
İYE	İdrar yolu enfeksiyonu
KML	Kronik miyeloid lösemi
LDL	Düşük yoğunluklu lipoprotein
LEF1	Lenfoid Arttırıcı-Bağlayıcı Faktör 1
LMP	Lizozomal membran permeabilizasyonu
Lys	Lizin
M.Ö.	İsa'dan Önce
mCRPC	Metastatik kastrat dirençli prostat kanseri
mpMRI	Multiparametrik manyetik rezonans görüntüleme
mRNA	Haberci ribonükleik asit
NASH	Alkolik olmayan steatohepatit
N-CRD	N-terminal karbonhidrat tanıma alanı
NE	Nöroendokrin
NMR	Nükleer manyetik rezonans
NTD	N-terminal alanı
PC3	Prostat kanseri hücre hattı
PCa	Prostat kanseri
pH	Potansiyel Hidrojen
PIRADS	Prostat Görüntüleme Raporlama ve Veri Sistemi
PSA	Prostat spesifik antijen
PSMA-PET	Prostat spesifik membran antijeni pozitron emisyon tomografisi
PZ	Çevresel bölge
Ra	Radyum
ROC	Standart sapma
RPM	Dakika başına devir sayısı
SA	Stefin (sistatin) A
siRNA	Küçük müdahaleli RNA
Spss	Sosyal Bilimler için İstatistik Paketi
STAT3	Sinyal dönüştürücü ve transkripsiyon aktivatörü 3
STAT6	Sinyal dönüştürücü ve transkripsiyon aktivatörü 6
sTfR	Çözünür transferrin reseptörü

TAM'lar	Tümörle ilişkili makrofajlar
TCF/LEF	T-hücresi fac-tor/lenfoid arttırıcı faktör
TCF'ler	T-Hücre Faktörleri
TGF	Dönüştürücü büyüme faktörü
TGF- β	Dönüştürücü büyüme faktörü- β
TMB	Tetrametil benzidin
TRUS	Transrektal ultrasonografi
TZ	Geçiş bölgesi
US	Birleşik Devletler
v	Versiyon



ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1 Prostat bezinin genel anatomisi (Teachmeanatomy 2024).....	5
Şekil 2.2 Prostat bezi ve çevresindeki diğer organların erkek sistemindeki lokalizasyonu (Ward vd. 2012)	6
Şekil 2.3 Prostatik anatominin normal bölgesel tanımının sagittal görünümde gösterildiği grafik (Verma ve Rajesh 2011)	7
Şekil 2.4 Neoplastik ilerleme sırasında prostatik epitelin bozulması. (Solda) Normal prostatik asinus. (Sağda) Kanseri, birden fazla yeni bez oluşumu, bazal hücrelerin kaybı, bazal membranın parçalanması, belirgin nükleoller (yeşil) ve nükleer genişleme ile sonuçlanan lümenal hiperproliferasyon ile karakterizedir (Messner vd. 2020)	8
Şekil 2.5 Gleason dereceleri karakteristik sistemi (Arvaniti vd. 2018).....	19
Şekil 2.6 GDF15'in merkezi ve çevresel rollerine ilişkin şematik bir diyagram (Reyes ve Yap 2023).....	24
Şekil 2.7 GDF15'in immün modülasyondaki rolü. Çeşitli patolojik durumlarda, GDF15, T hücresinin tümöre, plasentaya veya enfarktüsli miyokardiyuma sızma yeteneği ile ters orantılıdır (Wischhusen vd. 2020)	27
Şekil 2.8 Sentetikhepsidin-25'in insan moleküler yapısı (Ganz 2006).....	32
Şekil 2.9 Katepsin B proteolitik olgunlaşmasının şematik gösterimi (Ni vd. 2022).....	37
Şekil 2.10 Kathepsinlerin bölgeye özgü işlevleri (Yadati vd. 2020)	41
Şekil 2.11 Tümör ilerlemesinin desteklenmesinde tümör ve stromal hücreler arasındaki karşılıklı etkileşimlerin rolü için şematik gösterim. Tümör-stromal çapraz etkileşim stromanın aktivasyonuna ve katepsinler (B, H, C ve X) dahil proteolitik enzimlerin aşırı ekspresyonuna ve salgılanmasına yol açarak hücre dışı matris (ECM) bozunmasını ve çözünür faktörlerin salınmasını tetiklemektedir. Aktive olmuş stromal hücreler (makrofajlar, fibroblastlar ve mast hücreleri), tümör ilerlemesi ve metastazına yol açan çok sayıda birbiriyle ilişkili olayı düzenleyen ek büyüme faktörleri, sitokinler ve kemokinler salgılamıştır (Stoka vd. 2023).....	43
Şekil 2.12 Galektinlerin yapısı ve sınıflandırılması (Ebrahim vd. 2014).....	48
Şekil 2.13 Gal-9 kanser gelişimi sırasında apoptoz, adezyon, migrasyon, tümör büyümesi, invazyon ve metastaz ile ilişkilidir (Morishita vd. 2023)	50
Şekil 2.14 Prostat tümöründe ve prostat normal hücrelerinde galektin ve glikan ekspresyonunda tanımlanan değişikliklerin şematik gösterimi (Compagno vd. 2014)	52
Şekil 2.15 Beta-katenin'in basitleştirilmiş yapısı (Handwiki 2022).....	57
Şekil 2.16 Wnt/ β -katenin yolağı ve kanser dışı hastalıklar (Liu vd. 2022).....	59
Şekil 3.1 BioTek Elisa ELx800	68
Şekil 3.2 Roche Cobas e 411 Otomatik Kimya Analizörü	69
Şekil 3.3 Z-306 Ünlversal Santrifüj (HERMLE)	70

Şekil 3.4 İnsan GDF15 için test prosedürü özeti	76
Şekil 3.5 Serum GDF15 konsantrasyon ortalamasının standart eğrisi (pg/mL).....	77
Şekil 3.6 İnsan Gal-9 testinin seyreltme yöntemi.....	81
Şekil 3.7 Test prosedürü özeti.....	83
Şekil 3.8 Serum Gal-9 konsantrasyon ortalamasının standart eğrisi (pg/mL).....	84
Şekil 3.9 Serum CTSB konsantrasyonunun standart eğrisi ortalama (ng/mL).....	87
Şekil 3.10 Serum CTNN β 1 konsantrasyon ortalamasının standart eğrisi (ng/mL).....	89
Şekil 4.1 PCa hastaları ve sağlıklı katılımcılar arasındaki yaş	91
Şekil 4.2 PCa hastaları ve sağlıklı katılımcılar arasındaki VKİ	91
Şekil 4.3 PCa hastalarında ve sağlıklı katılımcılarda kronik hastalık dağılımları	93
Şekil 4.4 Hasta ve kontrol grupları arasında üre PSA konsantrasyonları	94
Şekil 4.5 PSA'nın performansının ROC eğrisi analizi	95
Şekil 4.6 Hasta ve kontrol grupları arasındaki üre GDF15 konsantrasyonları	97
Şekil 4.7 GDF15'in performansının ROC eğrisi analizi.....	98
Şekil 4.8 Hasta ve kontrol grupları arasındaki GAL-9 konsantrasyonları.....	99
Şekil 4.9 GAL-9'un performansının ROC eğrisi analizi	100
Şekil 4.10 Hasta ve kontrol grupları arasındaki İnsan CTNN β 1 konsantrasyonları.....	102
Şekil 4.11 Human CTNN β 1'in performansının ROC eğrisi analizi	103
Şekil 4.12 Hasta ve kontrol grupları arasındaki Human CTSB konsantrasyonları	104
Şekil 4.13 İnsan KTSB'nin performansının ROC eğrisi analizi	105
Şekil 4.14 Hasta ve kontrol grupları arasındaki Human hepcidin konsantrasyonları....	107
Şekil 4.15 Human hepcidin performansının ROC eğrisi analizi	108

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 3.1 Kullanılan cihazlar ve bunları tedarik eden firmalar ve menşei.....	67
Çizelge 3.2 Kullanılan malzemeler ve kitler	71
Çizelge 3.3 PSA hormon kitleri için sağlanan malzemeler ve saklama koşulları	72
Çizelge 4.1 Katılımcıların demografik özellikleri	92
Çizelge 4.2 Katılımcıların hastalık özellikleri	92
Çizelge 4.3 İki grupta biyokimyasal test bulguları için serum konsantrasyonları.....	93
Çizelge 4.4 PSA'da eğrinin altında kalan alan	95
Çizelge 4.5 PCa hastalarında serum PSA ve klinik belirteçler arasındaki ilişkiler	96
Çizelge 4.6 GDF15'te eğri altında kalan alan	97
Çizelge 4.7 PCa hastalarında serum GDF15 ve klinik belirteçler arasındaki ilişkiler	99
Çizelge 4.8 GAL-9'da eğri altında kalan alan	100
Çizelge 4.9 PCa hastalarında serum Gal-9 ve klinik belirteçler arasındaki ilişkiler	101
Çizelge 4.10 Human CTNN β 1'de eğri altında kalan alan	102
Çizelge 4.11 PCa hastalarında Human Catenin Beta 1 ile klinik belirteçler arasındaki ilişkiler.....	104
Çizelge 4.12 Human CTSB'de eğri altında kalan alan	105
Çizelge 4.13 PCa hastalarında Human CTSB ile klinik belirteçler arasındaki ilişkiler.....	106
Çizelge 4.14 Human hepcidin'de eğri altında kalan alan	108
Çizelge 4.15 PCa hastalarında Hpcidin Hormonu ile klinik belirteçler arasındaki ilişkiler.....	109

1. GİRİŞ

Kanser dünya çapında önemli bir halk sağlığı sorunudur ve Amerika Birleşik Devletleri'nde ikinci önde gelen ölüm nedenidir (Amuta ve Barry 2015, Siegel vd. 2017). Kanser hücreleri, normal hücrelerin önemli özelliklerini kaybetmiş olmaları bakımından farklıdır; bunlardan biri de yapışkanlıktır. Normal bir hücre yüzeyindeki moleküller, benzer moleküllere sahip diğer hücrelere bağlanmalarını sağlar, bu nedenle hücreler yapışkanlık mevcut olduğunda, normal hücreler kelimenin tam anlamıyla birbirine yapışır ve vücut içinde doğru yerde kalır (Amuta ve Barry 2015). Sonuç olarak, kanser hücreleri komşularından kolayca kopabilir ve kanserin diğer organ ve dokulara yayılmasının birincil nedeni olan metastaz olarak bilinen diğer dokuları istila edebilir. Ayrıca, haydut hücreler kan ve lenfatik damarlara da girebilir ve vücut içinde daha uzak bölgelere taşınabilir (Watson 2018).

Prostat kanseri, erkeklerde en sık görülen ikinci kanser tanısıdır ve dünya çapında beşinci önde gelen ölüm nedenidir (Rawla 2019). Prostat kanseri erken evrede asemptomatik olabilir ve genellikle sadece aktif gözetim gerektirebilecek indolent bir seyre sahiptir. GLOBOCAN 2018 tahminlerine göre, 2018 yılında dünya çapında 1.276.106 yeni prostat kanseri vakası bildirilmiştir ve gelişmiş ülkelerde daha yüksek prevalansa sahiptir (Bray vd. 2018). Dünya Sağlık Örgütü'ne (WHO) göre 2020 yılında prostat kanseri en sık teşhis edilen üçüncü malignitedir. Prostat kanseri 1.414.259 vaka ile (toplamın %7,3'ü), sırasıyla 2.206.771 ve 1.148.515 vaka ile (%11,4 ve %10,0) akciğer ve kolorektal kanserden sonra gelmiştir (Sung vd. 2021). Dünyadaki ülkelerin %50'sinden fazlasında (185 ülkenin 112'sinde) en sık teşhis edilen kanserdir ve görülme sıklığı yüksek İnsani Gelişim Endeksine (İGE) sahip ülkeler ile düşük İGE'ye sahip ülkeler arasında önemli farklılıklar göstermiştir (sırasıyla 100.000 kişi başına 37,5 ve 11,3). Ölüm oranları daha az değişkendir (100.000 kişide 8,1'e karşı 5,9) (Giona 2021).

Prostat kanseri, esas olarak epitelyumun malignitesini içerir ve bu nedenle bir karsinom olarak sınıflandırılmıştır. Sarkomlar (mezenkimden türetilen) ve lenfomalar gibi daha nadir prostat kanseri alt tipleri bulunmaktadır (Humphrey 2017). Neoplastik değişiklikler normalde prostatın periferik glandüler dokusunda ortaya çıkmıştır.

Prostatik epitel luminal, bazal ve nadir nöroendokrin (NE) hücre tiplerinden oluşmuştur (Murray 2021, Lee ve Shen 2015). PCa tedavi stratejilerinin teşhis ve kontrolüne yardımcı olacak biyobelirteçlerin geliştirilmesine yönelik klinik olarak karşılanmamış bir ihtiyaç bulunmuştur. PCa laboratuvar pazarında çeşitli tanı araçları mevcuttur. Serum, idrar ve hatta doku örnekleri için PCa ile ilişkiyi incelemek ve bulmak için birçok yeni biyobelirteç bulunmuştur (Hendriks vd. 2017). Büyüme farklılaşma faktörü 15 (GDF15), hepcidin, Galectin-9 (Gal-9), Cathepsin B (CTSB) ve Beta-Catenin'in Prostat kanserinin (PCa) ilerlemesi ve hastaların prognozu için potansiyel yeni prognostik belirteçler olarak önerilme olasılığı bulunmuştur.

GDF15, ilk olarak aktive edilmiş makrofajlarda tanımlanan yeni bir dönüştürücü büyüme faktörü (TGF)- β süper aile üyesidir (Li vd. 2022). GDF15, plasentada yüksek ekspresyon, prostat ve mesanede orta ekspresyon ve böbrek, karaciğer, kolon, pankreas, mide, safra kesesi, meme, akciğer ve endometriyumda düşük ekspresyon ile normal koşullar altında vücut dokularında farklı seviyelerde yaygın olarak eksprese edilmiştir (Assadi vd. 2020, Wischhusen vd. 2020). GDF15 oksidatif stres, enflamasyon, doku hasarı ve kanser sırasında vasküler düz kas hücreleri, kardiyomiyositler, endotel hücreleri, makrofajlar ve adipositlerde yüksek oranda ifade edilmiştir (Siddiqui vd. 2022, Niu vd. 2021).

Esas olarak karaciğer tarafından salgılanan küçük bir peptit olan hepcidin, demir durumunun düzenlenmesinde merkezi bir rol oynamaktadır. Hecpidin üzerine yapılan deneyler çok umut verici görünüyordu ve demir metabolizmasının anlaşılmasına yeni bir hayat vermiştir (Jordan vd. 2009). Hecpidin kanserli hastaların serumunda yükselmiştir. Bu durum genellikle kanserli hastalarda mevcut olan sitokin seviyelerinin artmasının ve bu sitokinlerin hepatik hepsidin sentezi üzerindeki uyarıcı etkisinin dolaylı bir sonucu olarak kabul edilmiştir (Sun vd. 2012).

Galektinler, N-bağlı veya O-bağlı glikozilasyon yoluyla B-galaktozid şekerlerine bağlanma yetenekleriyle bilinen bir grup proteindir (Varki ve Crocker 2009). Galektinler kanser hücrelerinin apoptoz ve hücre döngüsünün düzenlenmesinde rol oynamaktadır (Astorgues-Xerri vd. 2014). Özetle, primer kanser lezyonlarında galektin-

9'un yüksek ekspresyon seviyesi hücre-matris etkileşimlerini teşvik ederken, metastatik lezyonlarda galektin-9 ekspresyonunun azalması galektin-9'un tümör metastazını baskılayabileceğini düşündürmüştür. Dahası, bu nedenle galektin-9 meme kanseri ve HCC hastalarında antimetastatik potansiyele sahip bir prognostik faktör olarak hizmet edebilir; ancak galektin-9'un diğer kanser türlerinde de benzer etkilere sahip olup olmadığı hala belirsizdir (Chou vd. 2018).

Katepsinler, çoğu hücrede bulunan, hücre otolizinde ve dokuların kendi kendini sindirmesinde rol alan endopeptidazlardır. Yapılarına ve katalitik tiplerine göre katepsinler, serin (katepsin A ve G), aspartik (katepsin D ve E) ve en büyük katepsin ailesi olan sistein katepsinler (katepsin B, C, F, H, K, L, O, S, V, W ve X) olarak sınıflandırılmıştır (Ni vd. 2022). Katepsin B (CTSB), lizozomlarda protein döngüsü ve degradasyonu ile ilişkili bir lizozomal sistein proteazdır (Aggarwal ve Sloane 2014). Başlama, büyüme, anjiyogenez, invazyon ve metastaz gibi birçok biyolojik olayda önemli roller oynamaktadır (Szpadarska ve Frankfater 2001).

β -Catenin, fizyolojik homeostazda merkezi bir role sahip çok işlevli bir proteindir. Anormal yüksek ekspresyonu kanser de dahil olmak üzere çeşitli hastalıklara yol açmıştır (Shang vd. 2017). Kolorektal karsinom, meme kanseri, karaciğer karsinomu, melanom ve lösemi gibi tüm kanser vakalarının yarısından fazlasında β -katenin çekirdek veya sitoplazma içinde toplanmıştır (Khramtsov vd. 2010, Gekas vd. 2016). Ayrıca, β -katenin T-hücre yanıtlarını baskılayarak tümörlerin ilerlemesini teşvik etmiştir (Hong vd. 2015).

Bu noktadan hareketle, bu çalışmanın amaçları şunlardır:

- Serum Galectin 9, Beta-Catenin ve Cathepsin B düzeylerinin PCa ile ilişkili olup olmadığını araştırmak.
- Galectin 9, Beta-Catenin ve Cathepsin B'nin PCA'lı hastalarda ilerleyici hastalık için biyobelirteç olup olmadığını araştırmak. Ayrıca bu değişkenlerin PCa insidansını tahmin etmek veya azaltmak için kullanılıp kullanılamayacağını anlamak.

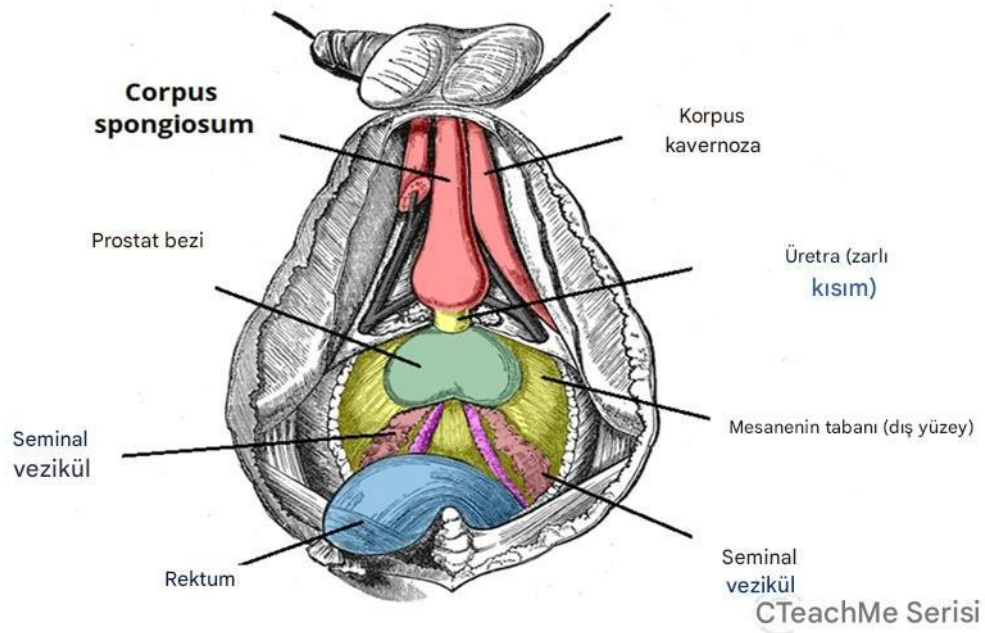
- Galectin 9, Beta-Catenin, Cathepsin B, Human Hepcidin ve GDF15 ile PCa arasındaki ilişkiyi sağlıklı erkeklerle karşılaştırarak araştırmak, uygun bir tedavi yönteminin seçilmesine yardımcı olacak ve Irak'taki prostat kanseri hastalarının yönetimini iyileştirecek yeni bir prognostik prostat kanseri için.



2. LİTERATÜR ÖZETİ

2.1 Prostat Bezi

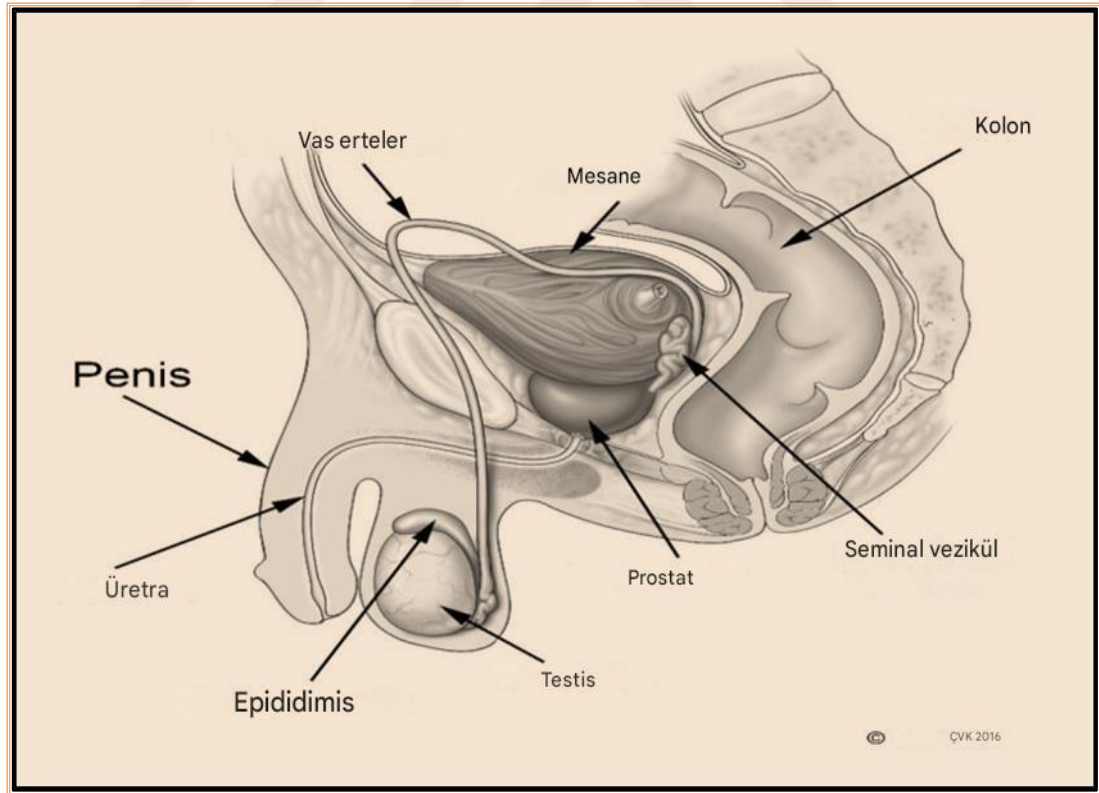
Ürologlar, radikal prostatektominin yeniden gündeme gelmesinden bu yana insan prostat bezinin anatomik yapılarına ve bunun prostat kanseri gelişimi ve prognozu ile ilişkisine giderek daha fazla ilgi duymuştur (Hammerich vd. 2009). Prostat, idrar kesesinin aşağısında, üretrayı çevreleyen bir erkek üreme organıdır. Prostat yaklaşık 3×3×5 cm boyutlarında ve 25 mL hacmindedir (Mitterberger vd. 2010). Prostatın boyutu yaşa göre değişir ve 20 ila 50 yaş arasında yaklaşık 20 g, 60 ila 80 yaş arasında ise 30 g ağırlığındadır (Tirkes 2020). Prostat, meninin bir bileşeni olan alkali bir prostatik sıvı üretmiştir. Prostat, prostatik üretrayı çevreleyen ters piramit şeklinde bir yapıdır ve üstte mesane tabanından altta ürogenital diyaframa kadar genişlemiştir (Şekil 2.1). Prostat anteriorunda Retzius'un retropubik boşluğu (retropubik yağlı boşluk) ile ilişkilidir, posteriorunda rektum ile ilişkilidir ve ondan Denonvilliers fasyası ile ayrılmıştır. Denonvilliers fasyası, prostat kanserinin rektuma yayılmasına karşı bir bariyer görevi görür ve nörovasküler demetle de yakından ilişkilendirilmiştir (Tzelves vd. 2022).



Şekil 2.1 Prostat bezinin genel anatomisi (Teachmeanatomy 2024)

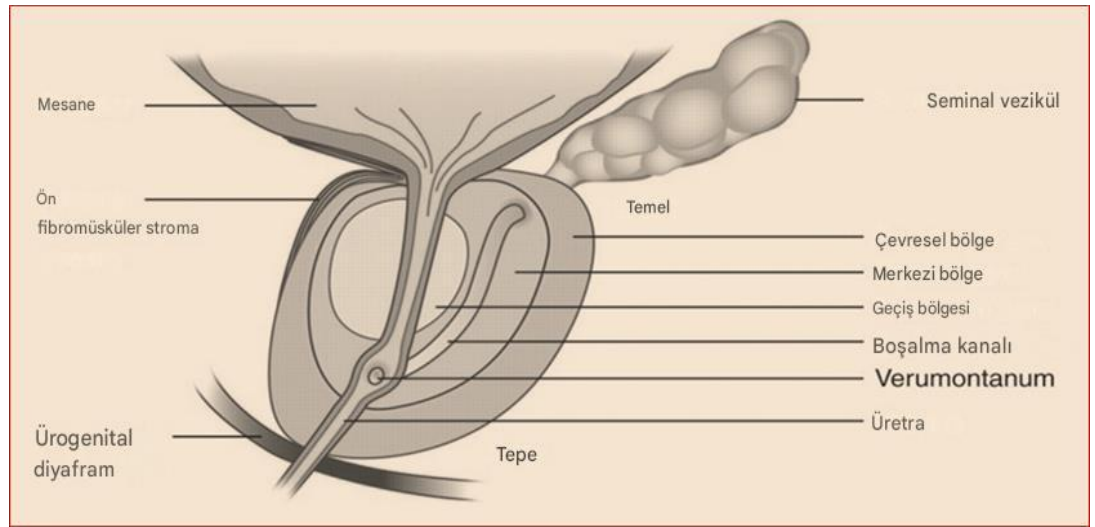
İnferolateral olarak prostat, levator ani ve pelvik yan duvar kasları ile ilişkilidir. Puboprostatik ligament, pubik kemikten prostatın anteroinferior yönüne anterior olarak uzanmaktadır. Seminal veziküller prostatın posterosuperiorunda yer alan çift yapılardır. Her bir seminal vezikül yaklaşık 3 ila 5 cm uzunluğunda ve 1 cm çapındadır. Seminal veziküller semen hacminin yaklaşık üçte ikisine katkıda bulunur ve salgıları spermilerin beslenmesini sağlayan fruktozdan zengindir. Seminal vezikülden çıkan kanallar vas deferens ile birleşir ve prostatın posterosuperior kenarı boyunca ejakülatör kanalları oluşturmuştur. Ejakülatör kanallar yaklaşık 1 ila 2 cm uzunluğunda ve 2 mm çapındadır ve merkezi bölgeden geçerek verumontanuma boşaltılmıştır (Onur vd. 2007).

Prostat bezinin oluşumu sadece erkekte gebeliğin üçüncü ayında başlamıştır. Prostatın normal yapısı, 5 α -redüktaz etkisiyle fetal testosterondan yapılan 5 α -dihidrotestosteron gerektirmektedir. Yetişkin bir erkekte prostat bezinin ağırlığı muhtemelen yaklaşık 20 gramdır ve hacmi bir golf topu büyüklüğüne yaklaşmıştır (Şekil 2.2) (Ward vd. 2012).



Şekil 2.2 Prostat bezi ve çevresindeki diğer organların erkek sistemindeki lokalizasyonu (Ward vd. 2012)

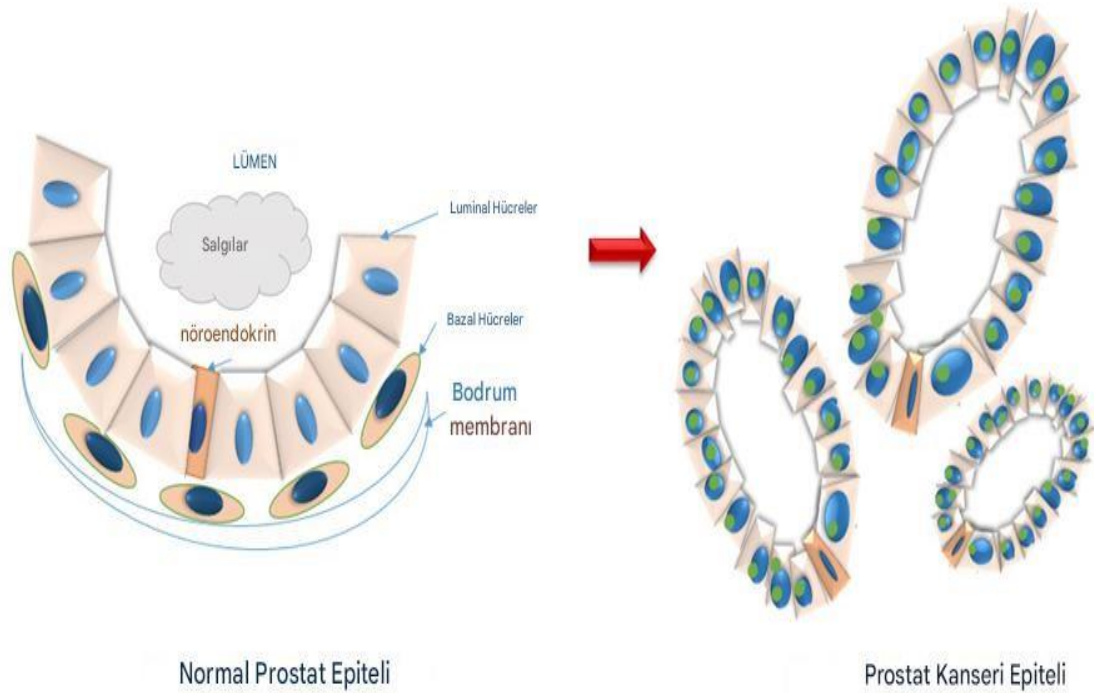
Embriyogenez sırasında, prostatın ortaya çıktığı yapı olan ilkel ürogenital sinüs, arka bağırsağın kaudal bir uzantısı olarak oluşmuştur. Gerçekten de soy takibi, distal üretra da dahil olmak üzere ilkel ürogenital sinüsün tüm uzunluğunun endodermal bir kökene sahip olduğunu göstermiştir (Seifert vd. 2008). Hem ürogenital sinüs hem de hindgut başlangıçta embriyonik kloakta tek bir boşaltım yolu olarak birleşmiştir. Kloakanın daha sonra ayrı ürogenital ve anorektal yollara bölünmesi insanlarda gebeliğin 8. haftasında, farede ise 13,5 gün post koitumda (dpc) tamamlanmıştır (Hynes ve Fraher, 2004); ilginç bir şekilde, bu sürecin uzun zamandır bir ürorektal septum oluşumuyla gerçekleştiği düşünülmektedir, ancak yakın zamanda alternatif bir model önerilmiştir (Huang vd. 2016). Prostat organogenezi daha sonra dolaşımdaki androjenlerin etkisi altında doğum ve prepubertal evreler boyunca, prostat ergenlik döneminde olgun boyutuna ulaşana kadar devam etmiştir. Özellikle, farede gelişen ürogenital sistemin anatomisinin ayrıntılı bir açıklaması yakın zamanda yayınlanmıştır (Georgas vd. 2015). Bölgenin prostat anatomisi yetişkin erkeklerde bir koniye benzemiştir. Prostatın ana yapısı veya bölgeleri Şekil 2.3'te gösterilmiştir (Shah ve Zhou 2019). Prostat bezinin toplam hacminin yüzde yetmişi koni bölgesinin içinde yer almıştır. Kepçe, olgun erkeklerde prostat bezinin ortasında yer alır ve bezin yüzde 25'ini oluşturmaktadır. Prostatın geri kalan %5'lik kısmı, proksimal üretranın ön ve yan tarafında at nalı benzeri bir şekil oluşturan iki küçük şişkin dokudan oluşan geçiş bölgesinden oluşmuştur (Johnson vd. 2014).



Şekil 2.3 Prostatik anatominin normal bölgesel tanımının sagittal görünümde gösterildiği grafik (Verma ve Rajesh 2011)

2.2 Prostat Kanseri

Mesanenin altında yer alan prostat bezi, meninin %30'unu oluşturan alkali prostatik sıvı salgılamıştır (Zhang vd. 2018b). Prostat üç farklı bölgeden oluşur: seminal vezikülden inen üretraya kadar duktal tüpü içeren merkezi bölge (CZ), bezin posteriorunda yer alan periferik bölge (PZ) ve transizyonel üretrayı çevreleyen transizyonel bölge (TZ) (Zhang vd. 2018b). Normal prostatik asinus, fibromusküler stroma ile çevrili bazal ve luminal hücrelerin epitelyal yapısından oluşmuştur (Şekil 2.4). Luminal, bazal ve nöroendokrin hücreler kabaca 60:40:1 oranında normal prostat epitelini oluşturmuştur (Packer ve Maitland 2016). Prostat kanseri (PCa) en sık PZ'de, daha az sıklıkla TZ'de ve nadiren CZ'de gelişmektedir (Lee vd. 2015). PCa geliştiğinde, luminal hücrelerin bazal hücrelere oranı büyük ölçüde değişir ve luminal hücreler tümörün >%99'unu oluşturmuştur (Şekil 2.4) (Packer ve Maitland 2016).



Şekil 2.4 Neoplastik ilerleme sırasında prostatik epitelin bozulması. (Solda) Normal prostatik asinus. (Sağda) Kanser, birden fazla yeni bez oluşumu, bazal hücrelerin kaybı, bazal membranın parçalanması, belirgin nükleoller (yeşil) ve nükleer genişleme ile sonuçlanan lümenal hiperproliferasyon ile karakterizedir (Messner vd. 2020)

En yaygın PCa bölgeleri periferik bölge (%70) ve geçiş bölgesidir (%25). Normal prostat dokusunda, glandüler hücreler büyüme için androjenler tarafından uyarılmıştır. PCa, normal prostat glandüler hücrelerinde bir mutasyon ile başlar ve androjen tüketen bir nodül oluşmuştur. Çoğu PCa tipi adenokarsinomdur (%95) ve mutasyon bölgesinden hemen çevresindeki prostat dokusuna yayılarak bir tümör nodülü oluşturmuştur. Kastrata dirençli tümörlerin hücre içi androjenler ürettiği ve tümör kendi kendine yeterli olduğunda androjen kaybına yanıt vermediği düşünülmüştür (Wilson 2014, Lee vd. 2011).

Dünya genelinde ve Amerika Birleşik Devletleri'nde erkekler arasında PCa, genel kanser insidansına önde gelen bir katkıda bulunmuştur. Amerika Birleşik Devletleri'nde 2020 yılında PKa için 191.930 yeni vaka ve 33.330 ölüm öngörülmüştür (Siegel vd. 2018). Ortalama ilk tanı yaşı 66'dır (Carter vd. 2013). Surveillance, Epidemiology, and End Results (SEER) Cancer Stat Facts'e göre: Evreye göre sağkalımı bildiren Prostat Kanseri Sağkalım İstatistikleri'ne göre, başlangıçta lokalize (prostat bezi içinde) veya bölgesel (komşu lenf düğümlerinde ve seminal veziküllerde prostat dışında) olarak teşhis edilen PCa için göreceli 5 yıllık sağkalım oranı neredeyse %100'dür (NCHS 2020). Bununla birlikte, ilk tanıda uzak metastazı olan hastalar için göreceli 5 yıllık sağkalım %30,2'ye düşmektedir (NCI 2020). Son 30 yıldaki tanısal gelişmelere rağmen, hastalıkların yalnızca yaklaşık %76'sı henüz lokalize iken teşhis edilmiştir (Chandrasekar vd. 2015). Hastaların yaklaşık %13'üne ilk olarak bölgesel hastalık teşhisi konulurken, %6'sına uzak metastaz teşhisi konulmuştur (%5'i evrelendirilmemiş olarak kalır) (NCHS 2020, NCI 2020).

2.3 Prostat Kanserinin Tarihçesi

Prostatı tanımlayan ilk kişi muhtemelen MÖ üçüncü yüzyılda İskenderiye'de kariyer yapan ve katkıları yalnızca Galen tarafından yapılan dolaylı referanslarla bilinen Yunan Kalkedonlu Herophilus'tur (Goddard 2019, Wiltse ve Pait 1998). Prostatın keşfi genellikle onu 1536 tarihli Anatomiae: liber introductorius adlı eserinde tanımlayan Venedikli anatomist Niccolò Massala'ya atfedilmiştir (Goddard 2019).

Biyokimyasal olarak doğrulanmış en eski PCa vakası, MÖ yedinci yüzyılda günümüz Sibirya'sında, PC kemik metastazları ile uyumlu kemik lezyonları sergileyen bir Demir Çağı İskit kralının mumyalanmış kalıntılarında bulunmuştur (Ghabili vd. 2016). Biyokimyasal doğrulama, prostat spesifik antijene (PSA) ve PSA'ya bağlı alfa1-antikimotripsine karşı pozitif antikorlar tespit edilerek gerçekleştirilmiştir. Biyokimyasal olarak doğrulanmamış bir vaka, yine Sibirya'da MÖ 4500 yıl kadar erken bir tarihte bulunmuştur (Ghabili vd. 2016).

PCa'yı tanımlama görevi bazen Londralı cerrah John Adams'a (1805-1877) verilmiştir. 1853 yılında 59 yaşındaki bir hasta hastalığın başlangıcından 3 yıl sonra öldükten sonra “prostat bezinin skirozu” olarak tanımlamıştır (Denmeade ve Isaacs 2002, Lytton 2001). Bu, kanserin otopside histolojik olarak doğrulandığı ilk olay olmuştur (Lytton 2001).

Prusya doğumlu Theodor Billroth 1867 yılında Viyana'da ilk kısmi prostatektomiye gerçekleştirmiştir. 12 1904 yılında Hugh Hampton Young ilk radikal prostatektomiye (RP) gerçekleştirmiştir. Her iki durumda da ameliyat transperineal yaklaşımla gerçekleştirilmiştir (Hatzinger vd. 2012). Young daha sonra 19 prostatektominin sonuçlarını bildirmiş ve 15 hastada neredeyse tamamen semptomatik iyileşme sağlanmıştır. Bir hasta operasyondan sonra 5 yıldan fazla yaşamış ve tedavi edildiği varsayılmıştır. Young ayrıca iki hastaya cerrahi kastrasyon uygulamış, ancak bu durumda sonuçlar negatif olarak değerlendirilmiştir (Young 1909).

1895 yılında Wilhelm Röntgen X-ışınlarını keşfetti (Reed 2011). Bunu, ertesi yıl Henry Becquerel'in uranyum tuzlarıyla yaptığı çalışmalarla doğal olarak oluşan radyoaktiviteyi keşfetmesi izlemiştir (Obaldo ve Hertz 2021). Marie ve Pierre Curie 1898 yılında radyum ve polonyumu keşfetmiştir (Mazeron ve Gerbaulet 1998). Prostat kanserini radyasyonla tedavi etmeye yönelik ilk girişimler 10 yıl sonra, Fransız Henri Minet'in 1909'da üretral veya suprapubik kateterler yoluyla yerleştirilen radyum (Ra) içeren tüplerle PC tedavisinin ilk sonuçlarını yayınlamasıyla yapılmıştır (Devlin vd. 2015). Bu nedenle, brakiterapi (BT) aslında prostat kanserini tedavi etmek için kullanılan en eski radyasyon tedavisi şeklidir. Sonraki on yılda, Hugh Hampton Young ve radyum terapisti Paul-Marie Degrais ile ürolog Octave Pasteau kendi sonuçlarını yayınlamıştır

(Devlin vd. 2015, Denmeade ve Isaacs 2002). Bununla birlikte, ilk tekniklerin uygulanması zor ve hasta için acı vericiydi ve bu nedenle, dahili radyasyon tedavisi uzun yıllar boyunca bir tedavi yöntemi olarak ilgi görmemiştir (Denmeade ve Isaacs 2002).

2.4 İnsidans, Prevalans ve Mortalite

PCa, tüm kanser tanılarının %14'ünü oluşturduğundan dünya çapında erkekler arasında yaygındır. İnsidans coğrafi olarak değişmekte olup en yüksek oranlar Batı ülkelerinde görülmüştür (Sung vd. 2021). Batı dünyasındaki daha yüksek PCa oranı, PSA testinin yaygın kullanımı, sonraki teşhisler ve yaşlanan nüfustan kaynaklanıyor olabilir. Finlandiya'da 5034 yeni PCa vakası bildirilmiş ve PCa'ya bağlı 928 ölüm kaydedilmiştir; bu da 2020 yılında herhangi bir kanser için en yüksek kanser insidansı (182,7/100 000) ve ikinci en yüksek mortalite (37,6/100 000) ile sonuçlanmıştır. Aynı yıl, PCa prevalansı 58.500 vakaya ulaşmıştır. Tüm PCa vakalarının %94'ü 2018-2020 takipleri sırasında hayatta kalmıştır. Tarihsel olarak, Finlandiya'da PCa insidansı 1990'larda artmış ve 2004 yılında en yüksek noktasına ulaşmıştır (Sandeman 2023, Leinonen vd. 2017). İnsidans, ölüm oranının düşmeye başladığı 1990'larda gözlemlenenle karşılaştırılabilir düzeydedir. Bununla birlikte, PCa için sağkalım oranları 2010 yılı civarında %90'ın üzerinde plato çizmiştir. 2010-2014 ve 2015-2019 dönemleri arasındaki karşılaştırma, insidans %7 ve mortalitede %12'lik bir düşüş olduğunu göstermiştir (Sandeman 2023).

PCa, her yedi erkekten birini hayatlarının bir döneminde etkilemektedir ve aynı zamanda erkeklerde en sık görülen kanserdir. Rastgele bir örnekleme 65 yaşındaki erkeklerin yaklaşık yüzde 65'inde agresif olmayan PCa bulunabilir. Kanada'da 2017 yılında erkeklere 103.100 yeni kanser vakası teşhisi konmuştur. Prostat kanseri, tüm vakaların yüzde 20,4'ünü oluşturarak en yaygın kanser türü olmuştur. Prostat kanseri her yedi erkekten birini etkilemektedir, ancak her 28 erkekten yalnızca biri yaşamı boyunca bu kanserden ölecektir ve Amerika Birleşik Devletleri'nde erkekler arasında en yaygın kanserdir (Kolata 2016, Karan vd. 2003).

Bu oran, her 3,5 kişiden 1'inin etkilendiği düşünölen genel kanser ölüm oranından çok daha düşmüştür. Hem erken hem de geç evre hastalık için geliştirilmiş tedavi seçenekleri nedeniyle, PCa için genel ölüm oranı 2001'den bu yana yılda yüzde 3,3 oranında azalmıştır. Prostat kanserinin diyabeti olan ve vücut kitle indeksi (VKİ) daha yüksek olan erkekleri öldürme olasılığı daha yüksektir (Cao ve Ma 2011).

Bir erkeğin yaşı, yeni prostat kanseri teşhislerinin iyi bir göstergesidir. 60 ila 69 yaş arası erkekler en sık tanı konulan yaş grubudur. Tüm yeni PCa tanılarının %29'unu 70-79 yaş arası erkekler oluştururken, 80 yaş ve üzeri erkekler tüm yeni PCa tanılarının %14'ünü oluşturmuştur. Prostat kanseri, tanıdan sonra 5, 10 ve 15 yıllık çok yüksek sağkalım oranlarına sahiptir: sırasıyla yüzde 99, yüzde 98 ve yüzde 96 (Kolata 2016).

Prostat kanserinin adenokarsinom alt tipi, tüm vakaların yaklaşık yüzde 98'ini oluşturmaktadır. Adenokarsinom, mukus ve spermin prostatik sıvısını oluşturmaktan sorumlu olan epitelyal bezlerin hücrelerinde başlamıştır. Adenokarsinomların en sık görüldüğü yer, dijital rektal test sırasında palpe edilebilen periferik bölgedir. Yeni prostat kanseri teşhisi konan erkeklerin yarısına düşük riskli kanser grubu atanmıştır. İndolent kanser olarak da bilinen düşük riskli kanser, düşük ilişkili ölüm oranına ve kanserin yayılma (metastaz) riskine sahiptir. Aktif gözetim (AS), tedaviye tercih eden düşük riskli erkekler arasında daha yaygın hale gelmektedir ve yarısından fazlası tedavi yerine AS'yi tercih etmektedir; yine de bu sayı AS tedavisinden fayda sağlayabilecek erkeklerin sayısına kıyasla küçük kalmaktadır (Fendler vd. 2019, Kolata 2016).

2.5 Prostat Kanserinin Etiyolojisi ve Risk Faktörleri

PCa, dünya çapında en yaygın kanserlerden biridir ve kansere bağılı tüm ölümlerin büyük bir kısmını oluşturur (Sung vd. 2020, Culp vd. 2020). Hastalığın epidemiyolojisini ve risk faktörlerini anlamak büyük önem taşımıştır. PCa gelişimi için risk faktörlerini belirlemek, birincil ve ikincil önlemeyi hedeflemenin anahtarıdır.

Yaş, ırk, aile öyküsü ve germ hattı mutasyonları PCa için iyi bilinen değiştirilemez risk faktörleridir ve metabolik sendrom, obezite ve sigara içmek olası değiştirilebilir risk faktörleri olarak tanımlanmıştır (Gandaglia vd. 2021). Buna ek olarak, destekleyici kanıtlar genellikle zayıf olsa da, çok sayıda çevresel, yaşam tarzı, bulaşıcı ve diyet risk faktörü PCa etiyojisinde rol oynamıştır (Gandaglia vd. 2021).

2.5.1 Yaş

Yaş, PCa için iyi bilinen bir risk faktörüdür. Son ABD kanser istatistikleri, PCa olasılığının 60-69 yaş arası erkeklerde %1,8'den 70 yaş ve üzeri erkeklerde %9,0'a yükseldiğini ve yaşam boyu olasılığın %12,5 olduğunu göstermiştir (Siegel vd. 2022). Otopsi çalışmaları, 60 yaş üstü taranmamış erkeklerin %40'ında PCa olduğunu ortaya koymaktadır; bu oran 80 yaş üstü erkeklerde %60'a çıkmaktadır. Bu kanserlerin %32'sinin Uluslararası Ürolojik Patoloji Derneği derece grubu ≥ 2 olması dikkat çekicidir (Zlotta vd. 2013).

Beklenen yaşam süresinin ve PSA taramasının artması nedeniyle daha fazla yaşlı erkeğe prostat kanseri teşhisi konulmuştur. Risk özellikle ailesinde prostat kanseri öyküsü olmayan 50 yaş ve üzeri beyaz erkeklerde ve yine ailesinde prostat kanseri öyküsü olmayan 50 yaş ve üzeri siyah erkeklerde artmaktadır (Alenezi vd. 2021).

2.5.2 Aile geçmişi

Ailede PCa öyküsü, PCa insidansı için bir risk faktörü olarak iyi bir şekilde belirlenmiştir ve PCa'nın ölümcül formlarının riskini de artırabilir. Bununla birlikte, bildirilen aile öyküsü ile PCa riski arasındaki ilişkiyi belirlemek, aile durumu, hatırlama yanlılığı ve tarama derecesi göz önüne alındığında zor olabilmektedir. PCa riski, etkilenen akraba sayısı, akrabanın yakınlığı (yani, birinci dereceye karşı ikinci derece (Clements vd. 2022), aile üyesinin tanı yaşı ve PCa'dan ölüm yaşı, yüksek dereceli hastalık ve diğer kanserlerden (örneğin, meme veya yumurtalık) etkilenmiştir. PCa'lı erkeklerin kardeşleri ve oğullarının PCa tanısı alma riski yaklaşık 2,5 kat artmıştır

(Johns ve Houlston 2003) ve PCa aile öyküsünün ölümcül hastalık riskini artırdığına dair kanıtlar bulunmuştur. Ailede yüksek dereceli veya metastatik hastalık öyküsü, benzer şekilde şiddetli bir PCa riskini, ailede düşük dereceli, metastatik olmayan hastalık öyküsünden daha fazla artırmaktadır (Bratt vd. 2016). Yakın zamanda yapılan bir sistematik inceleme ve meta-analiz, meme kanseri olan birinci derece bir akrabaya sahip olmanın 1,2 kat artmış PCa riski ile ilişkili olduğunu göstermiştir (Ren vd. 2019). Birleşik Krallık Genetik Prostat Kanseri Çalışmasından elde edilen son veriler, daha güçlü bir aile öyküsünün PCa mortalitesi ile ters ilişkili olduğunu ve bunun ailesel riski olanlar arasında tarama ve PCa konusunda daha fazla farkındalığa atfedilebileceğini göstermiştir (Brook vd. 2023).

2.5.3 Yükseklik

Daha uzun boy, genel ve yüksek dereceli PCa riskinde artış ile tutarlı bir şekilde ilişkilendirilmiştir (Lophatananon vd. 2017). Bu ilişkinin altında yatan potansiyel mekanizma, ergenlik dönemindeki insülin benzeri büyüme faktörü seviyeleriyle ilgili olabilmektedir (Bergengren vd. 2023).

2.5.4 Hormonlar

On yıllar önce yapılan ilk çalışmalar, testosteron/androjenlerin prostat büyümesi ile yakın ilişkisini tanımlamış ve metastatik prostat kanseri tedavisinin temel taşlarından biri olarak anti-androjen tedavisine yol açmıştır. Bununla birlikte, son birkaç yılda, testosteronun prostat kanseri riski, ilerlemesi ve sağkalımı konusundaki anlayışımızda, tutumumuzda ve uygulamamızda bir paradigma değişikliği olmuştur (Ng 2021). Morgentaler ve arkadaşları tarafından tanımlanan androjen reseptör doygunluğu modelinin mekanizması, prostatta, temel serum testosteron konsantrasyonunun üzerindeki herhangi bir şeyin prostat büyümesini uyarmada daha fazla rol oynamayacağını, çünkü intraprostatik androjen reseptör bölgelerinin tamamen doymuş/bağlanmış olduğunu göstermiştir (Morgentaler ve Traish 2009).

Golla ve Kaplan (2017) tarafından yakın zamanda yapılan bir incelemede, aktif gözetim, tetikte bekleme ve kesin tedavilerde lokalize prostat kanserinde testosteron kullanımını araştıran çalışmalardan elde edilen veriler analiz edilmiştir. Testosteron eksikliği için testosteron takviyesi alan erkeklerde prostat kanseri teşhisi veya teşhis sırasında daha agresif kanser riskinde artış olmadığını bulmuşlardır. Ayrıca, testosteron tedavisi ile aktif gözetim ve kesin tedavi gören erkeklerde kanserin ilerleme riskinde artış olmadığı sonucuna varmışlardır (Golla ve Kaplan 2017). Ayrıca, iki büyük çalışma 5 alfa redüktaz inhibitörlerinin prostat kanseri gelişme riskini azaltmadaki etkinliğini doğrulamıştır. Unger ve arkadaşları, 16 yıllık takipte, plaseboya kıyasla finasterid kullanan erkeklerde prostat kanseri riskinde %21,1 azalma olduğunu göstermiş ve kısa süreli, yedi yıllık finasterid kullanımının prostat kanserini önlemede uzun vadeli fayda sağlayabileceğini öne sürmüştür (Unger vd. 2018).

2.5.5 Enfeksiyöz ajanlar

İnsan papilloma virüsü (HPV) ile genel PCa arasında pozitif bir ilişki olduğu birçok çalışmada gösterilmiştir (Russo vd. 2020, Lawson ve Glenn 2020). HPV-16 taşıyan erkeklerde PCa riski en yüksek bulunmuştur (Moghooft vd. 2019). Neisseria gonorrhea, herpes simplex 1 ve 2, Epstein-Barr virüsü, Mycoplasma ve PCa arasında bir ilişki olabilir, ancak sonuçlar çelişkilidir (Lawson ve Glenn 2022). Bu arada, hepatit C virüsü enfeksiyonu (Ma vd. 2021), Trichomonas (Najafi vd. 2019), Cytomegalovirus, Chlamydia, polyoma virüsleri, insan immün yetmezlik virüsü ve mantarlar ile genel PCa arasında bir ilişki bulunmamıştır (Lawson ve Glenn 2022).

2.5.6 Irk

ABD'de Siyah veya Afro-Amerikan erkeklere PCa teşhisi konma olasılığı Beyaz erkeklere kıyasla 1,7 kat, hastalıktan ölme olasılığı ise 2,1 kat daha fazladır (Siegel vd. 2022). Siyah ve Afro-Amerikan erkekler arasında PCa insidansının daha yüksek olmasının kesin nedenleri bilinmemektedir, ancak ırktan ziyade genetik soyla ilişkili görünmektedir (Fujimura ve Rajagopalan 2011). Kuzeybatı Sahra altı Afrika'dan gelen erkekler arasında PCa riskinin arttığı öne sürülmektedir ve bunun nedeni belirli genetik

faktörlerin daha yüksek prevalansı olabilmektedir (Mahal vd. 2020). Ayrıca, enflamasyona ve ardından karsinogeneze yol açan çevresel etkilere de kaynaklanıyor olabilir (Nelson vd. 2022). Siyah erkeklerin hastalığa yakalanma riski daha yüksek olsa da, Siyah ve Beyaz erkeklere benzer derece ve evrede PCa teşhisi konulduğunda ve eşit erişimli sağlık sistemlerinde eşit muamele gördüklerinde, eşdeğer sonuçlara sahip olduklarını gösteren önemli veriler bulunmuştur (Rude vd. 2021).

Prostat kanseri insidansında etnik ve coğrafi farklılıklar vardır. Siyah Afrika kökenli erkekler arasında görülme sıklığı, şiddeti ve ölüm oranları daha yüksektir. ABD'de, farklı etnik/ırksal gruplar arasında üç kat değişkenlik vardır ve en yüksek insidans Afrika kökenli siyah erkekler arasındadır (Pernar vd. 2018). Kemokinleri prostat tümörü mikroçevresinden uzaklaştırdıkları kırmızı kan hücrelerinde bulunan bir başka kemokin reseptörü olan kemokinler için Duffy antijen reseptörünün, Afrikalı erkeklerin büyük bir kısmında tükendiği ve bu etnik grupta insidans ve ölüm oranlarının artmasına katkıda bulunduğu gösterilmiştir (Rani vd. 2019).

2.6 PCa Histopatolojisi

PCa, esas olarak epitelyumun malignitesini içerir ve bu nedenle bir karsinom olarak sınıflandırılmıştır. Sarkomlar (mezenkimden türetilen) ve lenfomalar gibi daha nadir prostat kanseri alt tipleri bulunmaktadır (Humphrey 2017). Neoplastik değişiklikler normalde prostatın periferik glandüler dokusunda ortaya çıkmaktadır. Prostatik epitel luminal, bazal ve nadir nöroendokrin (NE) hücre tiplerinden oluşmuştur (Lee ve Shen 2015). Androjen reseptörleri (ARs) eksprese eden epitelyal luminal hücreler, prostatik kanalların iç yüzeyini kaplar ve prostatik sıvı ve glikoprotein PSA salgılamaktadır. Epitel asinilerini prostatik stromadan ayıran asiner bazal membranın oluşumu ve sıvı üretimi için kullanılan proteinleri üreten bazal hücrelerle çevrelenmişlerdir. Bu hücrelerin arasına NE hücreleri serpiştirilmiştir. Hem bazal hem de NE hücre tipleri AR'lerde eksiktir ve bu nedenle testosteron veya androstenedion bağımlı değildir (Blagoev vd. 2020).

Fibroblastlar, düz kas ve infiltrate olan immünolojik hücreler bir araya gelerek prostatın stromasını oluşturmaktadır. Hastalığın ilerlemesinin değişkenliği ve tedavi yanıtının öngörülemezliği nedeniyle prostat kanserinde onkojenik dönüşümden sorumlu hücre tipini (köken hücre) belirlemeye yönelik büyük bir ilgi vardır (Wang ve Shen 2011, Lee ve Shen 2015). Prostat kanseri biyopsileri bazal hücrelerden yoksun dokular göstermekte, bu da bazal hücrelerin luminal hücrelere farklılaşp farklılaşmadığı ya da luminal hücrelerin birincil köken hücre olup olmadığı sorularına yol açmaktadır (Lee ve Shen 2015). Bu hücre tipleri kullanılarak, luminal hücrelerden kaynaklanan tümörlerin bazal hücrelerden kaynaklanana göre daha agresif olacağı varsayılmıştır (Wang vd. 2013). Prostat kanserlerinin yaklaşık %90-95'i periferik prostatik bezden kaynaklanan asiner adenokarsinomlardır (Alizadeh ve Alizadeh 2014). Histolojik tanı, çevre bazal hücrelerin kaybı, epitelyal-stromal bazal membranın bozulması da dahil olmak üzere normal glandüler mimarinin kaybı ve lüminal hücrelerin nükleer atipisi değerlendirilerek konulmuştur (Alizadeh ve Alizadeh 2014). Adenokarsinomun agresifliği histolojideki farklılaşma derecesine yansımıştır. Bu, en son 2014 yılında Uluslararası Ürolojik Patoloji Derneği tarafından modifiye edilen bir Gleason Skoru derecelendirme sistemi kullanılarak derecelendirilir (Epstein vd. 2016a). Bu, prostat kanserinin histolojik bulgularını prognostik davranışla, yani radikal prostatektomiye takiben 5 yıllık biyokimyasal nüks riski ile tabakalandırır (Barakzai 2019). Prostat kanseri, primer tümör (T), lenf nodu tutulumu (N) ve metastazlara (M) dayalı prostat adenokarsinomu için 2018 sınıflandırması kullanılarak evrelendirilmiştir. Prostat kanseri tipik olarak pelviste ortak iliak arterlerin bifurkasyonunun altındaki bölgesel lenf düğümlerini ve gerçek pelvisin dışında, en yaygın olarak kemik ve ilerlemiş hastalıkta akciğer ve karaciğer metastazlarını içermektedir (Buyyounouski vd. 2017).

2.7 PCa'nın Sınıflandırılması ve Evrelendirilmesi

Gleason Skoru (GS), hastalığın ilerlemesi, mortalitesi ve sonuçlarının güçlü bir öngörücüsüdür (Sfoungaristos ve Perimenis 2013). GS, tümördeki hücrelerin farklılaşma derecesini ve büyüme modellerini tanımlamaktadır. Daha yüksek GS, daha kötü prognozla birlikte daha yüksek saldırganlık düzeyini göstermiştir (Epstein vd. 2016b). Prostat biyopsilerinden elde edilen GS, klinik karar verme, tedavi seçimi ve

hastalar için sonuçların öngörülmesi için kullanılmıştır. Bununla birlikte, prostat biyopsileri alınırken rastgele örnekleme yapılması nedeniyle GS, radikal prostatektomi (RP) sonrasında belirlenen GS'den farklıdır (Marshall ve Taneja 2015). Tanı anında, indolent, intermediate ve agresif PKa arasında ayırım yapma yeteneği sınırlıdır, bu da yanlış risk sınıflandırmasına ve olası aşırı ve yetersiz tedaviye yol açmıştır (Thompson vd. 2013).

Gleason skoru her zaman sayı şeklinde iki derece ve ardından toplam bir skor içermiştir. Baskın Gleason derecesi paterni her zaman 1'den 5'e kadar olan ilk sayıdır ve ikinci sayı da yine 1'den 5'e kadar derecelendirilen herhangi bir ikincil veya minör patern olmuştur. Dolayısıyla mutlak en iyi ve en düşük riskli Gleason skoru Gleason 1+1=2, en kötü yüksek dereceli patoloji ise Gleason 5+5=10 olacaktır. Gerçek hayatta bu histolojik uç noktalar nadiren görülmüştür (Pierorazio vd. 2013).

Yalnızca bir Gleason derecesi veya paterni görülürse, Gleason skoru aynı Gleason derecesinin tekrarlanmasından ve Gleason 3+3=6'da olduğu gibi birbirine eklenmesinden oluşur ve bu en yaygın bulunan Gleason skoru olmuştur (Epstein vd. 2017).

Düşük dereceli tümörler, 3+3=6 veya daha düşük herhangi bir Gleason skoru olmuştur (Pierorazio vd. 2013). Orta dereceli kanserler 3+4=7'lik bir Gleason skoru olmuştur. Bu, tümörün çoğunun Gleason derece 3 olduğu, ancak daha küçük bir kısmının daha agresif Gleason derece 4 olduğu anlamına gelmiştir (Pan vd. 2000). Gleason skorunun 4+3=7 veya daha yüksek olması yüksek dereceli kanser olarak kabul edilmiştir (Pierorazio vd. 2013).

Gleason Derecelendirme sistemine göre, Şekil 2.5'te gösterildiği gibi, birinci seviyeden başlayarak beşinci seviyeye kadar beş saldırganlık aşaması vardır; birinci seviye minimum ve beşinci seviye maksimumdur (Epstein vd. 2017).



Şekil 2.5 Gleason dereceleri karakteristik sistemi (Arvaniti vd. 2018)

Şekil 2.5'ten, çeşitli Gleason paterni ile açıklanan noktalar arasında bez yapısında gözlenen belirgin farklılıklar olduğu bulunmuştur. Prostat bezindeki iyi huylu lekeler, bazofillerin iyi yapılandırılmış bir dış tabakasını içerdiğini göstermiştir, bunlar sitolojik atipi kanıtı ortaya koymamıştır (Arvaniti vd. 2018). İnsan dokularının histolojik değerlendirmesi - önemsiz olmayan hücresel ve morfolojik modellerin mikroskopik incelemesine dayanan optik tahmine dayalı olarak zaman alıcıdır ve genellikle kısıtlı tekrarlanabilirlikten muzdariptir. Bu nedenle, özellikle PCa'da, Gleason paterni 3 ve 4 ile ilişkili orta şiddeti kesin olarak belirlemek çok zor olabilmektedir (Arvaniti vd. 2018, Fuchs ve Buhman 2011).

2.8 PCa'nın Klinik Belirtileri

Erken dönem prostat kanserinin genellikle belirgin semptomları yoktur. Ancak bazen prostat kanseri, genellikle iyi huylu prostat hiperplazisi gibi hastalıklara benzer semptomlara neden olmuştur. Bunlar arasında sık idrara çıkma, noktüri (geceleri artan idrara çıkma), düzenli bir idrar akışını başlatma ve sürdürmede zorluk, hematüri ve dizüri yer almaktadır. ABD'de 1998 Hasta Bakım Değerlendirmesine dayanan bir çalışmada, prostat kanseri tanısı konan hastaların yaklaşık üçte birinde bu semptomlardan bir veya daha fazlasının olduğu, üçte ikisinde ise hiçbir semptom

olmadığı bulunmuştur (Miller vd. 2003). Prostat kanseri, prostat bezi prostatik üretrayı çevrelediği için idrar fonksiyon bozukluğu ile ilişkilendirilmiştir. Bu nedenle bezdeki değişiklikler idrar fonksiyonunu doğrudan etkilemektedir. Vaz deferens seminal sıvıyı prostatik üretraya bıraktığından ve prostat bezinin salgısı semen içeriğine dahil olduğundan, prostat kanseri ereksiyon güçlüğü veya ağrılı boşalma gibi cinsel işlev ve performans sorunlarına da neden olabilmektedir (Mustafa vd. 2016).

İlerlemiş prostat kanseri vücudun diğer bölgelerine yayılabilir ve muhtemelen ek semptomlara neden olabilir. En yaygın belirti, genellikle omurlarda, pelvik bölgede veya kaburgalarda görülen kemik ağrısıdır. Kanserin femur gibi kemiklere yayılması genellikle kemiğin proksimal veya yakın kısmına olmuştur. Omurgadaki prostat kanseri de omuriliğe baskı yaparak bacaklarda karıncalanma ve güçsüzlüğe, idrar ve dışkı kaçırmaya neden olabilir (Van Der Crujsen-Koeter vd. 2005). Diğer geç semptomlar arasında düşük kırmızı kan hücresi seviyeleri nedeniyle yorgun hissetmek yer alabilir (Mustafa vd. 2016).

2.9 PCa Teşhisi

Tarama, asemptomatik erkeklerin sistematik olarak incelenmesi anlamına gelmektedir. PKa taraması ürologlar arasında tartışmalı bir konudur ve gerekliliği ve uygulanması konusunda net bir fikir birliği oluşmamıştır (Etzioni vd. 2013). Bununla birlikte, Avrupa Komisyonu'nun yeni bir konsey tavsiyesi, organize ulusal kanser tarama programlarını PCa'ya genişletmiştir (EC 2022).

PSA ölçümü PCa'yı taramak için kullanılmıştır. PSA prostata özgü bir proteindir ve artışı yaşa bağlı prostat büyümesi, iyi huylu prostat hiperplazisi (BPH), prostatit veya PCa'dan kaynaklanabilir (Oesterling vd. 1993). PSA düzeylerindeki değişim oranı (yılda 0,75 µg/L) PCa olgularında kontrol ve BPH olgularına kıyasla önemli ölçüde daha yüksek bulunmuştur (Carter vd. 1992).

Gereksiz biyopsileri en aza indirmek için multiparametrik manyetik rezonans görüntüleme (mpMRI) önerilmiştir. Ancak, gerektiğinde hedefe yönelik ve sistematik biyopsilerin bir kombinasyonu yapılmalıdır. Doku bazlı biyobelirteçler şu anda rutin kullanım için önerilmemiştir (Mottet vd. 2021).

Dijital rektal muayene (DRE), PCa belirtisi olabilecek anormal prostatik kitleleri tespit etmek için kullanılmıştır. Farklı tarama teknikleri arasında yapılan karşılaştırmalı bir çalışma, PSA'nın PCa vakalarının %75'ini ve DRE'nin %56'sını tespit ettiğini göstermiştir. Bu yöntemlerin birlikte kullanımı, organa sınırlı hastalığın tespitini tek başına DRE'ye göre %78'e çıkarmıştır (Catalona vd. 2017).

Transrektal ultrasonografi (TRUS) prostatı görüntülemek için ilk basamak yöntemidir. TRUS, prostat boyutunu ve lezyonlarını hızlı bir şekilde teşhis etmek için kullanılabilir. TRUS'un malign ve benign prostat lezyonları arasındaki ayırıcı tanıdaki sınırlamaları nedeniyle, üroloğun klinik yargısına göre histolojik tanı için biyopsiler önerilmiştir (Purohit vd. 2003).

Prostat mpMRI, PCa'nın tespit oranını önemli ölçüde artırmıştır (Fütterer vd. 2015, Kasivisvanathan vd. 2018). Sistematik bir incelemede, mpMRI'nin klinik olarak anlamlı prostat kanserini (csPCa) tespit ettiği ve bu oranın çalışmalar arasında önemli farklılıklar gösterdiği bildirilmiştir (Fütterer vd. 2015). mpMRI, klinik olarak anlamlı olmayan PCa için daha düşük bir duyarlılığa sahip olduğundan, yüksek PSA vakalarında tarama için birincil yöntem olarak önerilmiştir. Böylece mpMRI kullanımının PCa'nın aşırı teşhisini azalttığına inanılmaktadır (Fütterer vd. 2015).

Prostat Görüntüleme Raporlama ve Veri Sistemi (PI-RADS), prostatın MRG incelemelerinin sonuçlarını raporlamak için standart bir sistemdir (Weinreb vd. 2016) . Prostat mpMRI'sindeki anormal bir bulgunun kanser olma olasılığını derecelendirmek için kullanılan bir sistemdir. PIRADS skoru 1 ila 5 arasında değişir ve mpMRI görüntülerinde prostat dokusunun görünümünü değerlendirir; daha yüksek skor, PCa olasılığının daha yüksek olduğunu göstermiştir. PI-RADS skoru, prostat kanseri şüphesi olan erkekler için daha ileri testlere ve tedavi kararlarına rehberlik etmiştir (Weinreb vd.

2016). Prostat spesifik membran antijeni pozitron emisyon tomografisi (PSMA-PET), ilerlemiş PCa'yı evrelemek için kullanılan bir görüntüleme yöntemidir. Bir PSMA antikoru ile birleştirilmiş bir radyoaktif izleyici, PCa hücrelerinin PSMA'sına bağlanır ve bir görüntü üretmek için bir dedektör tarafından kaydedilen gama ışınları yayar (Bouchelouche vd. 2010). PSMA-PET'in rolü, prostat kanserinin teşhisine ve evrelendirilmesine yardımcı olmak ve tedaviye verilen yanıtı izlemektir. Geleneksel görüntüleme testlerinin görüntüleyemediği alanlarda bile az miktarda prostat kanseri hücresini tespit edebilir. Metastatik kastrasyona dirençli prostat kanseri (mCRPC) olan hastalarda PSMA ekspresyonu son derece yüksektir ve çoğu vakada PSMA-pozitif lezyonlar mevcuttur (Bouchelouche vd. 2010).

Prostat biyopsisi ihtiyacı, PSA seviyesi, şüpheli DRE, hastanın biyolojik yaşı, potansiyel komorbiditeleri ve terapötik sonuçlara göre belirlenmelidir (Heidenreich vd. 2014). Transrektal veya perineal ultrason kılavuzluğunda 18-gauge kor iğne biyopsisi, histolojik tanı için doku tutmak için standart tekniktir (Noureldin vd. 2020). Genellikle, kanser tespit olasılığını artırmak için bir şablona göre apekten tabana 10 ila 12 biyopsi kuru alınmıştır. Bu yaklaşım aynı zamanda mpMRI hedefli biyopsilere kıyasla klinik olarak anlamlı olmayan PCa'nın aşırı tespitine yol açmıştır (Baco vd. 2016).

2.10 PCa'nın Klinik Teşhisinde Biyokimyasal Belirteçlerin Rolü

Ca hastalarının tanı ve takibi, hastalığın durumuna, en iyi tedaviye ve seçilen tedavinin neden olduğu gelecekteki komplikasyonların varlığına göre değişebilecek spesifik belirteçlerin olmaması nedeniyle genellikle zordur (Simoes vd. 2018).

2.10.1 PSA

Prostat bezinin asini ve kanallarını kaplayan epitel hücreleri serin proteaz prostat spesifik antijeni (PSA) üretir ve prostat lümenine salgılar. PSA semen koagulumunun sıvılaşmasına yardımcı olur ve seminal sıvı ile atılır. Sağlıklı bireylerde, serum PSA seviyeleri düşük konsantrasyonlarda (0-2,5 ng/ml) yaygındır, 2,5 ng/ml'nin üzerindeki

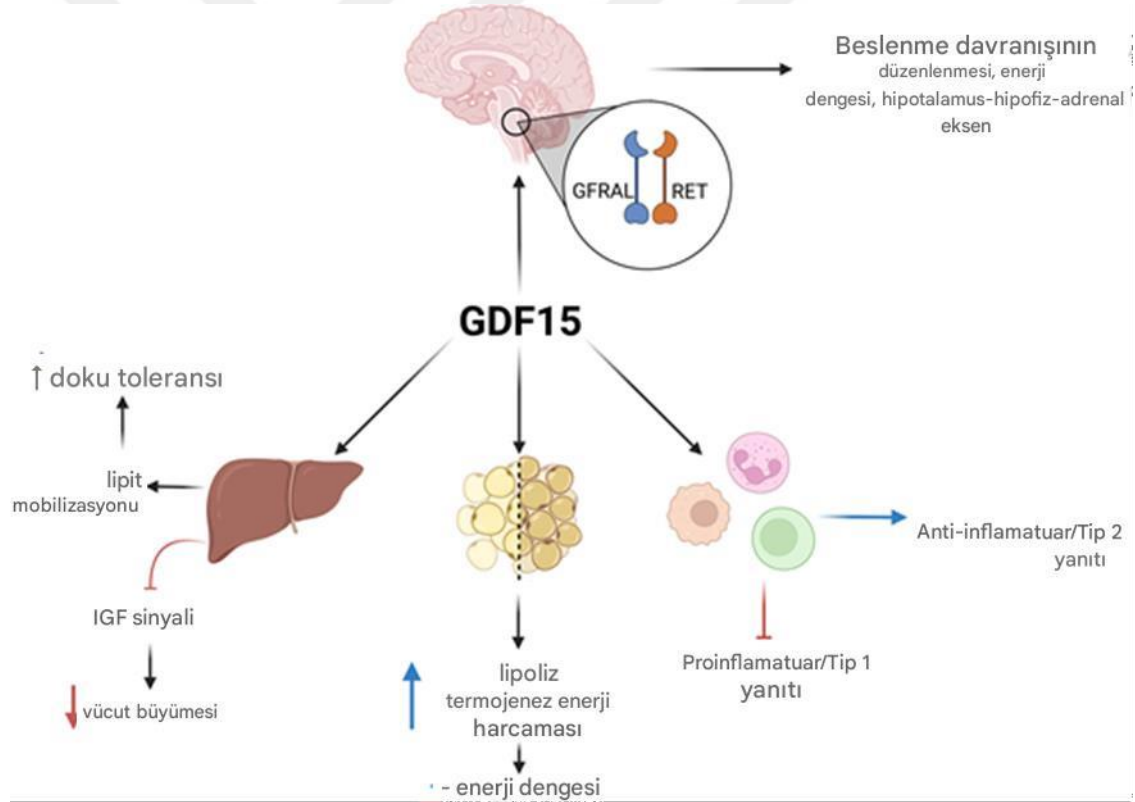
serum konsantrasyonları biyopsi için bir nedene işaret etmektedir (Catalona ve Loeb 2010). Serum PSA konsantrasyonları prostat kanseri hastalığının ilerlemesiyle ilişkilidir, bu da PSA'yı prostat kanserinin derecelendirilmesi ve evrelendirilmesine yardımcı olan yararlı bir prognostik belirteç ve aynı zamanda hastalığın nüksetmesi ve ilerlemesinin bir göstergesi haline getirmiştir (Loeb vd. 2006). Birçok zengin ülkede, semptomatik fizik muayene olmaksızın erkeklere PSA testi yapılması giderek yaygınlaşmaktadır. PSA testinin bu artan kullanımı, 1990'larda başlayan ve bugün hala belirgin olan prostat kanseri insidansında bir artışa yol açmıştır (Walter vd. 2006).

Birinci basamak, PSA taramalarının çoğunun başladığı yerdir. Ürologların uygulamaları, yerel kılavuzlar, kullanıcı gereksinimleri, bir erkeğin sosyal ağı ve medya gibi diğer unsurların PSA testi sıklığını belirlemede rol oynamasına rağmen, pratisyen hekimler nüfusun test seviyelerini ve modellerini belirlemede önemli bir rol oynamaya devam etmiştir. Bu nedenle, asemptomatik erkeklerde PSA testi tetikleyicilerinin daha iyi anlaşılması, bu alanda kanıta dayalı uygulama mümkünse daha da önemlidir (Evans vd. 2007, Drummond vd. 2008).

2.10.2 Büyüme farklılaşma faktörü-15

GDF15, ilk olarak aktive edilmiş makrofajlarda tanımlanan yeni bir dönüştürücü büyüme faktörü (TGF)- β süper aile üyesidir (Li vd. 2022). Makrofaj inhibe edici sitokin-1, nonsteroid anti-inflamatuar ilaçla aktive edilen gen-1, prostat kaynaklı faktör, plasental TGF- β ve plasental kemik morfogenetik proteini olarak da bilinmektedir (Lockhart vd. 2020, Asrih vd. 2023). İnsan GDF15 geni 19p13.1-13.2 kromozomunda bulunur ve bir intron ile ayrılmış iki ekzondan oluşmuştur (Wan ve Fu 2023). GDF15, 29 amino asitten oluşan bir sinyal peptidi, 167 amino asitten oluşan bir pro-peptid ve 112 amino asitten oluşan olgun bir peptid dahil olmak üzere 308 amino asit zincirinden oluşan inaktif bir öncü protein olarak sentezlenmiştir (Lockhart vd. 2020, Asrih vd. 2023). Sinyal peptidinin çıkarılmasının ardından, kalan GDF15 ön peptidi, bir pro-GDF15 dimer öncüsü oluşturmak için spesifik disülfid bağlanması yoluyla endoplazmik retikulumda dimerleşir. Bu öncül daha sonra furin benzeri proteazlar tarafından RXXR bölgesinde (amino asit 196) parçalanır ve böylece C-terminal dimerik olgun homodimer

GDF15 serbest bırakılmıştır. Olgun GDF15 sonunda 25-kD'lik bir dimer olarak dolaşıma yayılmıştır (Asrih vd. 2023). GDF15, plasentada yüksek, prostat ve mesanede orta ve böbrek, karaciğer, kolon, pankreas, mide, safra kesesi, meme, akciğer ve endometriyumda düşük ekspresyon ile normal koşullar altında vücut dokularında farklı seviyelerde yaygın olarak eksprese edilmiştir (Assadi vd. 2020, Wischhusen vd. 2020). Çoklu biyolojik fonksiyonlara sahiptir. GDF15'in dolaşımdaki konsantrasyonları sağlıklı bireylerde 0,2 ile 1,2 ng/ml arasında değişmektedir (Johann vd. 2021). Bu seviyeler yaş, hamilelik, egzersiz, sigara ve obezite ile artar ve ayrıca genetik ve çevresel faktörlerden etkilenmiştir (Tsai vd. 2018). Buna karşılık GDF15, yağ dokuları (25) ve bağışıklık hücreleri (Şekil 2.6) gibi periferik doku ve hücrelerde de işlev görebilmektedir (Harb vd. 2020).



Şekil 2.6 GDF15'in merkezi ve çevresel rollerine ilişkin şematik bir diyagram (Reyes ve Yap 2023)

GDF15 oksidatif stres, enflamasyon, doku hasarı ve kanser sırasında vasküler düz kas hücrelerinde, kardiyomiyositlerde, endotel hücrelerinde, makrofajlarda ve adipositlerde yüksek oranda ifade edilmiştir (Siddiqui vd. 2022, Niu vd. 2021). GDF15, prostat,

kolon, pankreas ve meme kanserleri de dahil olmak üzere çeşitli kanser türlerinde yükselmiştir (Wischhusen vd. 2020). Bir çalışmada, serum GDF15'in ortalama değeri, sağlıklı kontrollere kıyasla kanser hastalarında neredeyse iki kat daha yüksek olmuştur (Lerner vd. 2015). GDF15, tümörigenezde bir dizi rol oynamıştır. Kanser ilk aşamalarında tümör hücresi apoptozunu indükler ve kanserin ilerlemesini engellenmiştir (Tsui vd. 2015). Kanser ilerleyen aşamalarında ise tümör hücresi çoğalmasını ve metastazı teşvik etmiştir (Joo vd. 2023). GDF15, tümör progresyonu, kaşeksi ve sağkalımın azalmasıyla yakından ilişkili bir tümör biyobelirteci olarak kabul edilmiştir (Spanopoulou ve Gkretsi 2020).

2.10.2.1 GDF15 salgılanması

Plasenta ve prostatın her ikisi de yüksek oranda GDF15 içerir, ancak GDF15 kalp, pankreas, karaciğer ve kolon gibi diğer organlarda daha az yoğunlaşmıştır. Ek olarak, doku hasarı, hipoksi ve sitokinlere karşı inflamasyon yanıtları makrofajları, düz kas damar hücrelerini, kas hücrelerini, yağ hücrelerini ve endotel hücrelerini serbest bırakmaktadır. GDF15 kan dolaşımında mevcut olduğunda, işlevsel bir endokrin bezi olarak işlev görmüştür (Ding vd. 2009). Serum GDF15 konsantrasyonları çeşitli tümör tipleriyle ilişkilidir ve bu da kanser teşhisi ve yönetiminde GDF15 ölçümünün önemini ortaya koymuştur. GDF15'in toplam serum seviyelerinin analizi, PCa mortalitesi ve hastalık sonuçları gibi belirgin bir tahmini yetenek göstermiştir, ancak GDF15'in birçok moleküler şekli vardır ve bu da GDF15'i PCa için klinik bir biyobelirteç olarak seçmek için gelecekte yapılacak çalışmaları haklı çıkarmıştır. Genel olarak, GDF15 analizi şüpheli hastalar için sağlam bir sıralama yöntemi sağlayabilir (Frank vd. 2008).

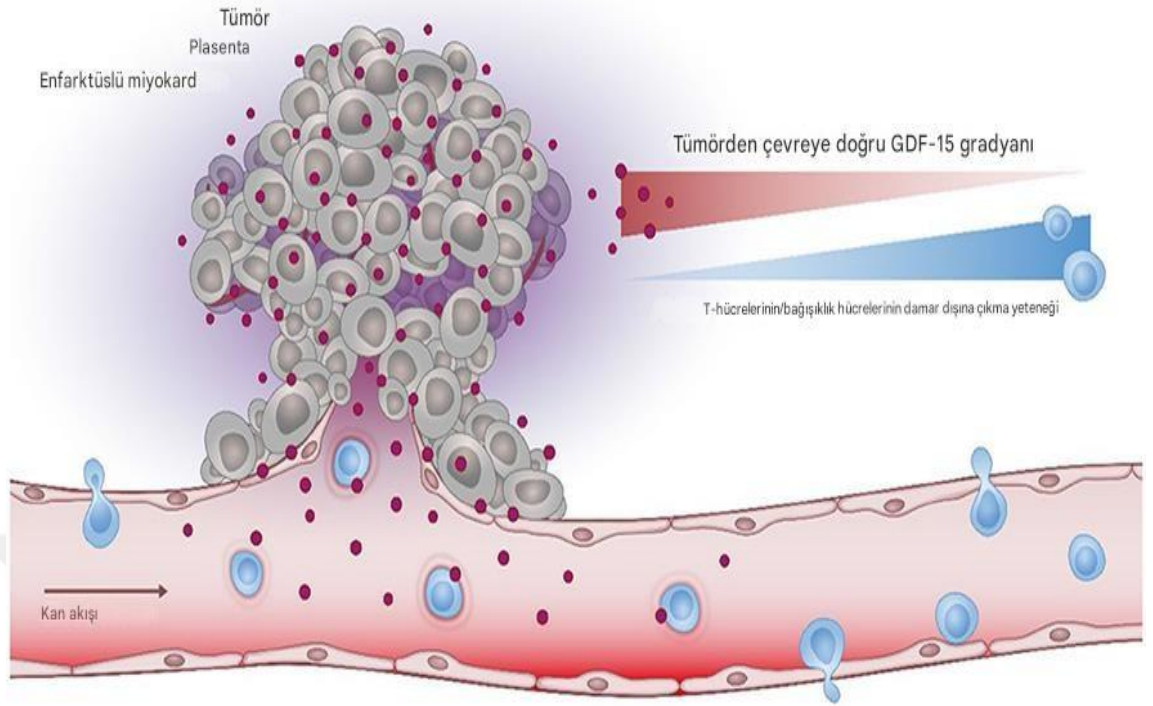
2.10.2.2 GDF15'in kanser hastalıklarındaki rolleri

Büyük ölçekli bir taramada, GDF15 çok çeşitli kanser türlerinde en belirgin şekilde aşırı eksprese edilen çözümlü faktör olmuştur (Welsh vd. 2003). GDF15 ayrıca kolorektal, yumurtalık ve erken evre akciğer kanserinde tanınan bir biyobelirteç olarak önerilmiştir (Wang vd. 2017, Zhao vd. 2018b). Aslında, GDF15'in pankreatik adenokarsinomu kronik pankreatitten ayırt etmek için en doğru belirteç olduğu bulunmuştur (Hogendorf

vd. 2018). Daha karmaşık belirteç panellerinin önemli bir bileşeni olan GDF15, prostat kanseri ile iyi huylu hiperplazi arasındaki ayırma yardımcı olacak potansiyel bir belirteçtir (Grönberg vd. 2015, Bansal vd. 2017). GDF15 ile kanser ilerlemesi arasındaki korelasyonlar kolorektal (Mehta vd. 2015), gastrik (Baek vd. 2009), hepatoselüler karsinom (Liu vd. 2015), küçük hücreli dışı akciğer kanseri, ürotelyal/renal hücre, yumurtalık, melanom, meme, multipl miyelom ve oral kanserler için tanımlanmıştır. Bu çalışmalardan elde edilen bulgular, GDF15'in kanser tezahürünü ve ilerlemesini tanımlamak için umut verici bir prognostik belirteç olduğunu göstermiştir (Wischhusen vd. 2020). Bununla birlikte, GDF15, tümör ilerlemesi ve tümör yükü için bir vekil belirteçten daha fazlasıdır. GDF15 ayrıca, tümör yükünü yansıtan diğer belirteçlerle yapılan çok değişkenli analizlerde klinik sonuç açısından oldukça öngörücü olmaya devam etmiştir (Weide vd. 2016, Blanco-Calvo vd. 2014).

Tümör hücrelerinin immün gözetimden kaçma kabiliyeti artık kanserin ayırt edici özelliği olarak kabul edilmiştir (Chen ve Mellman 2017, Hanahan ve Weinberg 2011). Tümör mikroçevresindeki immünolojik bağlam da sağkalım için önemli bir belirleyici olarak kabul edilmiştir (Fridman vd. 2017). Bu immün etki, CD8 T lenfositlerinin tümörün invaziv cephesinde ve merkezinde lokalizasyonuna dayalı olarak belirli bir tümör konak etkileşiminin immün “uygunluğunu” tanımlayan Immunoscore'un muazzam öngörücü gücünde yansıtılmıştır (Angell vd. 2020). Ayrıca, tümöre bitişik organize lenfoid agregatların varlığı ve enflamatuvar bağlamanın türü de sonuçla güçlü bir şekilde bağlantılıdır (Sautès-Fridman vd. 2019).

Dokuları enflamasyona karşı koruma kabiliyetine dayanarak (Şekil 2.7), GDF15'in bu nedenle bir tümör içindeki bağışıklık bağlamını değiştirmesi beklenebilir. Bu hipotez doğrultusunda, gözlemsel bir çalışmada, yüksek GDF15 ekspresyonu ile Crohn benzeri bir mononükleer infiltrat tipi varlığı arasında ters bir korelasyon olduğu bildirilmiştir (Brown vd. 2003). Nakledilebilir glioblastomda yapılan bir başka çalışma, GDF15'in shRNA aracılı aşağı regülasyonunun tümörlere T hücresi infiltrasyonunu artırdığını, immün yanıtları iyileştirdiğini ve sağkalımı uzattığını ortaya koymuştur (Roth vd. 2010).



Şekil 2.7 GDF15'in immün modülasyondaki rolü. Çeşitli patolojik durumlarda, GDF15, T hücrelerinin tümöre, plasentaya veya enfarktüsli miyokardiyuma sızma yeteneği ile ters orantılıdır (Wischhusen vd. 2020)

2.10.2.3 PCa'da GDF15'in Rolü

GDF15 kalp yetmezliği, koroner arter hastalığı, atriyal fibrilasyon, diyabet, kanser ve bilişsel bozukluk gibi kardiyovasküler hastalıkların başlangıcında ve ilerlemesinde önemli bir rol oynamaktadır. GDF15 konsantrasyonları ne kadar yüksek olursa, prostat kanserinden ve kardiyovasküler ve kardiyovasküler olmayan hastalıklar gibi diğer hastalık türlerinden ölüm riski de o kadar yüksek olmaktadır. GDF15'in ifadesi prostat kanseri, meme kanseri, kolon kanseri ve pankreas kanseri dahil olmak üzere bir dizi farklı malignitede yükselir. GDF15 ekspresyonu pankreas kanserinde de artmıştır (Lindahl 2013, Wallentin vd. 2014).

PCa, Amerika Birleşik Devletleri'ndeki erkekler arasında en yaygın malignitedir. PCa hastaları, PCa prognozu için potansiyel bir biyobelirteç görevi gören yüksek serum GDF15 seviyeleri sergilemektedir (Brown vd. 2009). Ayrıca, serum GDF15, iyi huylu hiperplazi ve PCa arasında ayırım yapmak için potansiyel bir belirteçtir (Bansal vd.

2017). Dosetaksel tedavisinden sonra PCa hastalarında daha yüksek serum GDF15 seviyeleri tespit edilmiş ve daha kısa sağkalım ile ilişkilendirilmiştir (Zhao vd. 2009). Ayrıca, serum prostat spesifik antijenleri (PSA) ile birlikte GDF15, PCa hastaları için mevcut belirteçlerden daha spesifik bir tanı aracı oluşturmuştur (Li vd. 2015)].

Her bir GDF15 proteini, her ikisi için de özellikleri ve tümör inhibitörleri olan iki parçaya sahiptir. Ayrıca, GDF15 sinyallerinin hücresel ve histolojik etkileri farklı deney koşullarında gösterilmiştir, neredeyse kesin olarak, GDF15 izleyici tarafından tetiklenen stres yerine PCa oluşturma işlevsel ve önemli bir parçasıdır. Bu nedenle, GDF15'in klinik öğrencilere tanıtılması, kanserin evrimini en iyi şekilde anlamak için yeni olanaklar sağlayabilir ve tanı veya tedaviyi geliştirebilir (Daniels vd. 2011).

PCa hücrelerinde (PC3), vahşi tip p53'ün eklenmesi GDF15'in aşırı ekspresyonuna ve hem kanser hücrelerinin göç hem de istila eğiliminin engellenmesine neden olmuştur. Rekombinant GDF15 tedavisinin ya da siRNA kullanılarak vahşi tip p53'ün baskılanmasının p53/GDF15 aracılı hücre göçünü ve istilasını azalttığı gösterilmiştir (Cheng vd. 2011). Ayrıca, prostatik adenokarsinomda iyi huylu prostatik glandüler dokuya kıyasla daha yüksek GDF15 ekspresyonu gözlenmiş ve bu da GDF15'in PCa'daki pro-tümörijenik rolünü desteklemiştir (Chen vd. 2007). Bu çalışmaya paralel olarak, GDF15'in aşağı regülasyonunun taksel bazlı kemoterapilerin etkinliğini artırdığı gösterilmiştir (Mimeault vd. 2013). GDF15'in aşırı ekspresyonu, Focal adhesion kinase (FAK) sinyal yolunun aktivasyonu ve aktin hücre iskeletinin yeniden düzenlenmesi yoluyla PCa hücrelerinin invazyon ve metastaz potansiyelini artırmıştır (Senapati vd. 2010).

2.10.3 Human Hepcidin

Hepcidin 2000 yılında Krause ve meslektaşları tarafından keşfedilmiştir. Esas olarak karaciğer tarafından salgılanan küçük bir peptit olan Heparin, demir durumunun düzenlenmesinde merkezi bir rol oynamaktadır. Heparin üzerine yapılan deneyler çok umut verici görünüyordu ve demir metabolizmasının anlaşılmasına yeni bir hayat vermiştir (Jordan vd. 2009).

Hepcidin 25 amino asitten oluşan uzun zincirli bir peptittir (Ganz ve Nemeth 2012). Hepsidin, demir emilimini ve geri dönüşümünü kontrol etmek için ferroportin içselleştirmesini ve bozulmasını indükler (Billesbølle vd. 2020). Hepatositler tarafından hepsidin üretimi, inflamasyon ve demir fazlalığı ile önemli ölçüde artmıştır (Xu vd. 2021). Hepatositler, belki de bağırsakta emilen demiri ileten portal venöz sistemdeki konumları, demir depolamadaki rolleri veya patojenleri algılayan ve eritrositleri geri dönüştüren kupffer hücrelerine yakınlıkları nedeniyle demir düzenleyici hormon Hepsidin'in baskın üreticileri olarak evrimleşmiştir (Ramos vd. 2011).

2001 yılında hayvan çalışmaları demir yüklemesinin hepatik hepsidin mRNA sentezini indüklediğini gösterene kadar, demir metabolizmasında işlevsel bir rol oynadığına dair hiçbir kanıt olmamıştır (Pigeon vd. 2001). Hepsidin insan idrarında keşfedilmiş ve sentez yeri (hep-) ve in vitro antibakteriyel özellikleri (-cidin) nedeniyle hepsidin adı verilmiştir. İnsan idrarında en yaygın türü 25 amino asittir. Ancak daha kısa 22 ve 20 amino asitli peptitler de vardır. Çekirdek peptit, dört disülfid köprüsü ile birbirine bağlanan sekiz sistein kalıntısı ile merdiven benzeri bir yönelime sahip kolay bir saç tokası yapısına sahiptir. Bu yapı diğer antimikrobiyal peptitlere benzemektedir ve bakteriyel membranlara zarar verebilen peptitlerin tipik bir örneğidir (Daher vd. 2019). Bu yapı diğer antimikrobiyal peptitlerle karşılaştırılabilir ve bakteriyel membranlara zarar verebilen peptitler için tipiktir (Agarwal ve Yee 2019).

Demir seviyeleri yüksek olduğunda hepsidin üretimi artar, ancak enterositlerden ve makrofajlardan salınan demir azalmaktadır. Bu durum, hepsidinin plazma seviyesinin çoğunlukla plazmaya demir akış hızını yönettiğini belirten hepsidin modeliyle uyumludur. Aynı şekilde, demir seviyeleri düştükçe hepsidin sentezi baskılanır ve bu hücreler daha fazla demir üremiştir (Rossi 2005). Hepcidin'in keşfi, demir metabolizması ve ilgili sorunlara yönelik bir araştırma seline yol açmış ve aşırı demir, demir eksikliği veya demir eşitsizliğinden kaynaklanan insan hastalıklarına (kanserli olmayan) ilişkin anlayışımızı temelden değiştirmiştir (Vela ve Vela-Gaxha 2018).

2.10.3.1 Hepsidin İşlevi

Hepsidin klinik olarak demir düzenleyici bir hormon olarak kabul edilmiştir. Bu hormon, artan serum demirine yanıt olarak bağırsak demir emilimini azaltır ve fizyolojik kaynaklarından demir salınımını düşürür. Öte yandan, demir eksikliği durumlarında hepsidin azalması demir emilimini ve depolardan mobilizasyonu artırmaktadır (Coyne 2011).

Hepsidin ile ilgili klinik çalışmalar temel olarak demir metabolizması ile ilgili hastalıklara odaklanmıştır (Prentice 2017). Kronik hastalık anemisi, talasemi, kronik böbrek hastalığı (KBH) olan hastalarda anemi, aşırı demir yükü hastalıkları ve hemokromatozis, hepsidin patofizyoloji, tanı ve tedavisindeki rolü için araştırılan en popüler klinik durumlar arasındadır (Rauf vd. 2020).

Kronik hastalık anemisi, enfeksiyöz, onkolojik, romatolojik ve enflamatuar bağırsak hastalıkları gibi enflamatuar durumların yaygın bir belirtisidir. Kronik inflamasyon, İnterlökin-6 ve İnterlökin-1 β tarafından geninin (Hamp geni) indüklenmesi de dahil olmak üzere farklı yollarla hepsidin seviyelerini artırmıştır. Kan transfüzyonu, eritropoietin ve demir takviyesi gibi mevcut tedavi stratejileri ikincil demir yüklenmesi riski ile ilişkili olabilir. Hepsidin ve İnterlökinler gibi düzenleyicilerinin hepsidin antagonistleri tarafından hedef alınması alternatif bir strateji olarak önerilmiştir (Hohlbaum vd. 2013).

Hepsidin'in KBH hastalarının anemisindeki rolü birçok çalışmada araştırılmıştır. Prediyaliz KBH hastalarında serum hepsidini sağlıklı kontrollere göre dört kata kadar daha yüksekken, diyalize giren hastalarda dokuz kata kadar artış göstermiştir (Young ve Zaritsky 2009). Kanıtlar, KBH hastalarında hepsidin artışının aneminin varlığı ve ciddiyeti ile ilişkili olduğunu göstermektedir. Hepsidin ayrıca eritropoez uyarıcı tedaviye karşı dirence neden olmuştur. Hepsidin artışı hem oral hem de parenteral demir replasmanına karşı kısmi dirence neden olmuştur. Ayrıca, KBH anemisini düzeltmek için eritropoez uyarıcı tedavi için fizyolojik replasman dozlarına kıyasla önemli ölçüde daha yüksek doza neden olmuştur (Liu vd. 2016).

D vitamininin hepsidin üretimini bir düzenleyicisi olduğu öne sürülmüştür (Adams ve Hewison 2008). D vitamininin hepatositlerde HAMP gen ekspresyonunu baskıladığı gösterilmiştir. Yüksek doz D vitamini takviyesi de sağlıklı yetişkinlerde serum hepsidin düzeylerini azaltıcı etki göstermiştir (Lauth vd. 2005). Ancak yetişkinlerde ve KBH'li pediatrik hastalarda yapılan klinik çalışmalar, D vitamini takviyesinin hepsidin seviyesinde önemli bir azalma gösterememiştir (Smith vd. 2017, Panwar vd. 2018).

Diğer çeşitli çalışmalar da hastalıklı ve sağlıklı popülasyonlarda anemi ile düşük 25-hidroksivitamin D içeriği arasında pozitif bir ilişki olduğunu doğrulamıştır (Smith vd. 2015, Shin ve Shim 2013). Gestasyonel D vitamini eksikliğinin anemi olasılığının artmasıyla bağlantılı olduğu bildirilmiştir (Thomas vd. 2015, Bener vd. 2013).

D vitamini eksikliği ve anemi arasındaki ilişki çeşitli mekanistik yaklaşımlarla açıklanabilir. Hepsidin, D vitamini eksikliğine bağlı olarak düzenlenebilir ve bu nedenle hemoglobin içeriğinin azalmasını teşvik eder ve anemi riskini artırmıştır (Carvalho vd. 2011).

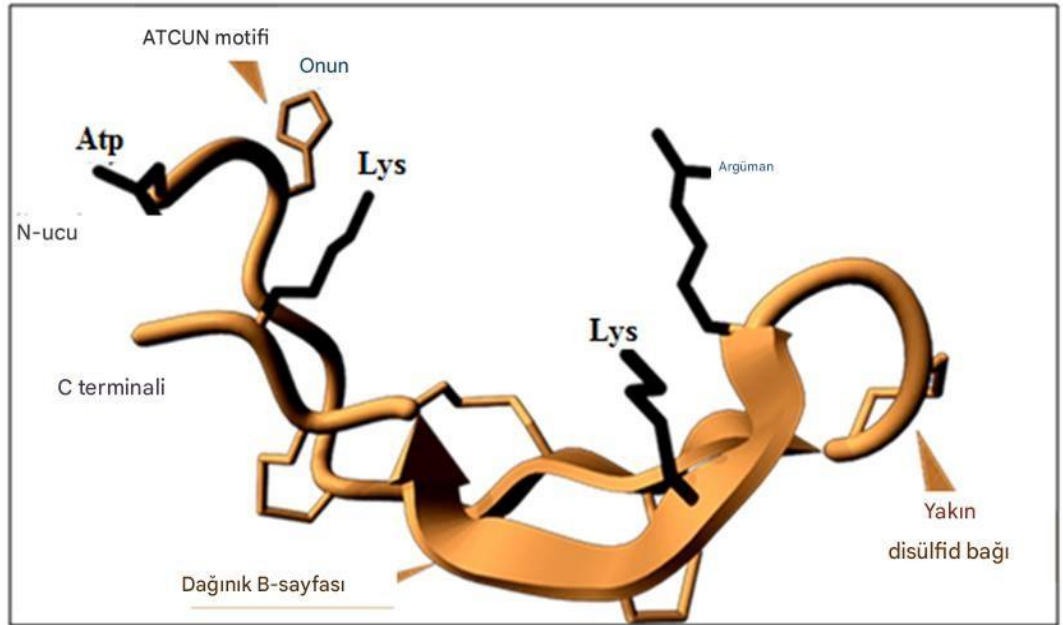
2.10.3.2 Hepsidin Sentezi ve Yapısı

İnsan hepsidin gen yapısının 3 ekzonu vardır, veriler hepsidin mini şeklinin kökeni hakkında belirsizdir, ancak pankreas ekstraktlarında kalsiyumdan bağımsız doku aktivitesi muhtemelen hepsidin sistemik N-terminalinin hepsidin-22'ye ayrışmasını ifade eder ve dipeptit peptidaz için hepsidin-22'nin hepsidin-20'ye dönüşümünde pay sahibidir (Schmeichel ve Bissell 2003).

Kronik hastalık anemisi örnekleri arasında akut miyokard enfarktüsü (AMI olarak da bilinir), kan zehirlenmesi, kronik hastalık anemisi (ACD olarak da bilinir) ve metabolik sendrom yer almaktadır. Tümü, yalnızca yüksek hepsidin seviyeleri (KBH) ile ilişkili hastalıkları olan bireylerin serumunda tespit edilen daha küçük hepsidin izoformunu üretmiştir (Suzuki vd. 2009).

Tam uzunlukta olgun hepsidin intraperitoneal olarak enjekte edildiğinde, Bazı çalışmalara göre, sadece tam uzunlukta olgun hepsidin şiddetli hiperemiye neden olmuştur. Son araştırmalar, hepatositler dışında diğer hücrelerin de çok daha küçük miktarlarda da olsa hepsidin eksprese ettiğini göstermiştir. Monositler, nötrofiller, yağ hücreleri, alveolar hücreler, pankreas hücreleri ve kardiyo miyokardiyal hücreler gibi böbrek tübülleri, kalp ve retina bu yapılara örnektir. Bu hücreler tarafından yapılan hepsidin sentezinin sistemik dolaşım seviyeleri üzerinde önemli bir etkiye sahip olması muhtemel olmasa da, belirli organlar üzerinde bir etkisi olabilmektedir (Kulaksız vd. 2008, Merle vd. 2007).

İnsan hepsidinin bileşimi nükleer manyetik rezonans (NMR) ile ortaya çıkarılmıştır. Hepsidin korunmuş dört disülfid bağlantısına sahiptir; bunlardan üçü temel beta yaprak saç tokası yapısının antiparalel iplikçikleri için çapa işlevi görmüştür (Şekil 2.8). Dördüncü disülfid, saç tokasının dönüşünde iki komşu sistein kalıntısı arasında alışılmadık bir vicinal disülfid köprüsü oluşturur ve bu muhtemelen işlevseldir. Hepsidin, diğer antimikrobiyal peptidlere benzer şekilde amfifilik bir yapıya sahiptir, dışbükey tarafta hidrofobik kalıntılar, içbükey tarafta ise daha pozitif yüklü kalıntılar bulunmaktadır (Crichton 2016).



Şekil 2.8 Sentetikhepsidin-25'in insan moleküler yapısı (Ganz 2006)

Bozulmuş β yaprakları gri oklar, gri peptid omurgası olarak görünür. Renkli sarı disülfid bağları, komşu sistinlerin arasındaki benzersiz ilişkiyi vurgular. Bu diyagramda, pozitif yüklü arginin (Arg) ve lizin (Lys) kalıntıları mavi, negatif yüklü aspartik asit (Asp) kalıntıları kırmızı ve histidin Amino-terminal CuII ve NiII içeren bir bağlanma motifi yeşil ile gösterilmiştir (Ganz 2006).

2.10.3.3 Kanserlerde Hepsidin

Kanserli hastaların serumunda hepsidin artmıştır. Bu durum genellikle kanserli hastalarda mevcut olan sitokin seviyelerinin artmasının ve bu sitokinlerin hepatik hepsidin sentezi üzerindeki uyarıcı etkisinin dolaylı bir sonucu olarak kabul edilmiştir (Sun vd. 2012). Bununla birlikte, hepsidin sentezi karaciğerle sınırlı değildir ve tümör dokusunun kendisi de kanserde gözlenen hepsidin artışında rol oynayabilir (Schwarz vd. 2012). Ayrıca, hücrelerde demir tutulmasını güçlendirme kabiliyeti nedeniyle, düzensiz hepsidin yalnızca değişen sistemik demir düzenlemesine katkıda bulunmakla kalmaz, aynı zamanda tümör büyümesi ve malign potansiyel üzerinde yerel etkiler de gösterebilir (Tesfay vd. 2015).

Mutasyonlar tarafından tetiklenen demir homeostazındaki anormallikler, hücrelerde veya dokularda kansere neden olmuştur. Ferroportin'in (FPN-1) negatif bir düzenleyicisi olan hepsidin, meme, kolon ve prostat dahil olmak üzere bir dizi kanserde aktive olmuştur (Zhou vd. 2018b). Hepsidin disregülasyonu, kanserde demir homeostazının bozulmasına neden olmuştur. Enterositlerden ve makrofajlardan dolaşıma demir mobilizasyonu, yüksek plazma hepsidin seviyeleri tarafından engellenmiştir (kansere anemisine katkıda bulunur). Tümör büyümesini teşvik eden Wnt ve NF- β gibi sinyal yollarını aktive eden FPN-1'i bozarak tümör hücrelerinde demir birikimine yol açabilmiştir (Brookes vd. 2008, Chua vd. 2010).

Ayrıca, hepsidin tümör büyümesini artırdığı çeşitli deneylerde kanıtlanmıştır. Schwartz ve arkadaşları (2021) tarafından yapılan bir çalışmaya göre, kolonik tümör epitelinde hepsidin eksikliği olan fareler, vahşi tip yavrularıyla karşılaştırıldığında, sporadik bir kolorektal kanser modelinde tümörlerin sayısını, yükünü ve boyutunu

önemli ölçüde azaltmıştır. Öte yandan, FPN-1'den yoksun farelerde hücre içi demir birikimi gelişmiş ve tümör gelişimi olasılığı artmıştır (Schwartz vd. 2021). Bir BMP4/7 antagonisti olan SOSTDC1 de hepsidin sentezini düzenleyerek, E4BP4/G9a/SOSTDC1/hepsidin yolu aracılığıyla tiroid bezinde hücrel demir eksikliği için yeni bir yol sağlar ve bu da hepsidin sekresyonunu ve tiroid kanseri hücre proliferasyonunu azaltabilir (Zhou vd. 2018b). Kanser hücreleri tarafından üretilen demir efektörlerine ek olarak kanser hastalarında sistemik demir anomalileri de belgelenmiştir (Guo vd. 2021, Torti and Torti 2020). Prostat kanseri, multipl miyelom, meme kanseri ve lenfoma dışı Hodgkin hastalığı dahil olmak üzere çeşitli hastalıklarda yüksek serum hepsidin seviyeleri bulunmuştur (Zhao vd. 2018a, El-Mahdy vd. 2020). Kanser hücreleri sıklıkla demir girişini artırırken çıkışını engelleyerek demir birikimine neden olmuştur. Ancak, artan demir dengesizliğine nasıl tepki verecekleri belirsizdir (Lin vd. 2023).

2.10.3.4 Prostat kanserinde hepsidin hormonunun düzenlenmesi

Erkeklerde PCa, yüksek morbidite ve mortalite insidansına sahip bir malignite türüdür (Tesfay vd. 2015). Çalışmalar, prostat kanseri hücrelerinin metastazı, proliferasyonu ve anjiyogenezinin hücre içi demir fazlalığı ile bağlantılı olduğunu göstermiştir (Wang vd. 2021). Prostat kanserine özgü bir tümör biyobelirteci prostat spesifik antijen (PSA) iken, hücre içi demir konsantrasyonu ve depolanmasının bir göstergesi de çözünür transferrin reseptörüdür (sTfR). Hepsidin ekspresyonu, prostat kanseri hücrelerindeki PSA ve sTfR seviyelerini etkileyebilir ve bu da tümör hücrelerinin çoğalmasını etkileyebilir (Kautz vd. 2020). Wang ve arkadaşları, prostat kanseri hücrelerinde hücre çoğalması, göçü ve apoptozun hepsidin ve demir metabolizması ile nasıl ilişkili olduğunu araştırmıştır (DeBerardinis ve Chandel 2016). Prostat kanseri hücre hatlarını aşırı ekspresyon ve düşük ekspresyon gruplarına tabi tutarak değerlendirmişler ve PSA, sTfR ve ferroportin seviyelerini belirlemişlerdir. Prostat kanseri hücrelerinin, hücre içi demir taşınmasını artırarak hücre büyümesini, göçünü ve ölümünü düzenleyen yüksek hepsidin seviyelerine sahip olduğunu göstermişlerdir (DeBerardinis ve Chandel 2016).

Dahası, prostat kanserinde demir dismetabolizması vakası son zamanlarda giderek artan bir çalışma grubundan daha fazla destek almıştır. Normal hücrelerden farklı olarak ifade edilen demirle ilişkili çeşitli proteinler ile ayırt edilmiştir (Xiang vd. 2007). Diğer malignitelere benzer şekilde, PCa hücreleri de hayatta kalmak için demire ihtiyaç duymuştur. Demir, PCa promotörü olarak bilinen androjen reseptörünün transkripsiyonel aktivitesini düzenleyen enzimlerin aktivitesi için de gereklidir (Ornstein ve Zacharski 2007). Ayrıca demir, PCa hücreleri tarafından enerji üretimini ve hücre dışı matris parçalanmasını artırmak için dahili enzim aktivitesini “yeniden yapılandırmak” için gereklidir. Klinik verilere göre, PCa hücrelerinin yanındaki normal hücrelerde düşük olmasına rağmen, PCa kanser hücrelerinde demir sekestrasyonu yükselmiştir (Masaldan vd. 2018). Araştırmalar, yaşlanan prostat hücrelerinin, hücrel demir taşınmasını kontrol eden değişen protein ekspresyonu nedeniyle daha yüksek demir yüklerine sahip olduğunu göstermiştir (Shorning vd. 2020).

Ferritinofajiye duyulan ihtiyaç ve bunun PCa üzerindeki etkisi, bu potansiyel rahatsızlığın araştırılmasında çok önemlidir. Tesfay ve arkadaşları da hücre içi demir tutulmasını artırdığı ve prostat kanseri hücrelerinin hayatta kalmasını desteklediği konusunda hemfikirdir. Prostatik hepsidin, hücre yüzeyindeki demir ihracatçısı ferroportini azaltarak otokrin bir hormon görevi görmektedir (Wang vd. 2021). Çalışmalarından elde ettikleri önemli bir bulgu, hepsidinin normal prostat hücreleri tarafından üretildiğini ve hepsidin sentezinin prostat kanseri hücrelerinde ve dokusunda önemli ölçüde arttığını doğrulamıştır. Ayrıntılı olarak, hepsidin hem sağlıklı hem de kanserli prostat hücrelerini önemli ölçüde etkiler ve otokrin bir şekilde işlev görmüştür. Metabolik olarak erişilebilir demiri artırır, ferroportin seviyelerini düşürür ve canlılığı korumuştur. Hepsidin aktivitesi prostat hücrelerinde hem bir kaynak hem de yerel bir hedef olduğundan, bu otokrin düzenleyici eksen sağlıklı prostat biyolojisini destekleyebilir (Wang vd. 2021). Araştırmalar, prostat kanserinde farklı bir düzenleyici kaskadın hepsidin sentezini düzenlediğini göstermiştir. BMP4/7, IL6, Wnt ve ikili BMP ve Wnt antagonisti SOSTDC1 dahil olmak üzere yolların benzersiz bir birleşimi, prostat kanserinde hepsidin sentezini düzenlemiştir (Siegel vd. 2022). Ayrıca, prostat kanseri hastaları, SOSTDC1'in epigenetik metilasyon aracılı susturulmasının artması nedeniyle daha hızlı bir hastalık ilerleme oranı sergilemektedir (Wang vd. 2021).

2.10.4 Katepsin B

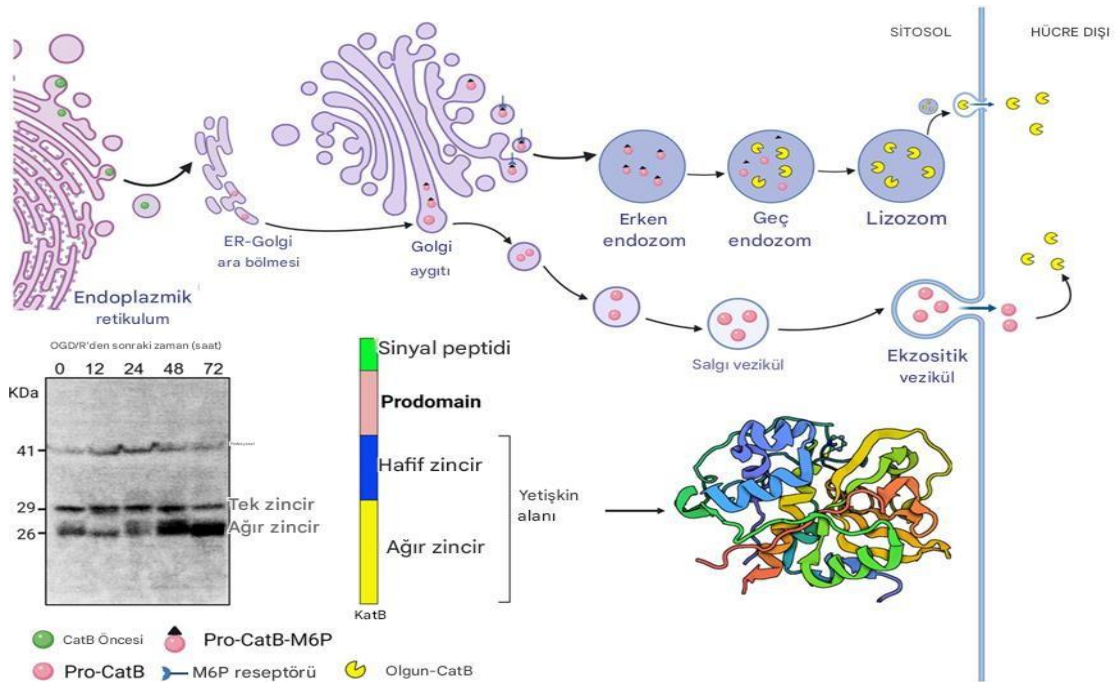
Kathepsinler, çoğu hücrede bulunan, hücre otolizinde ve dokuların kendi kendini sindirmesinde rol alan endopeptidazlardır. Yapılarına ve katalitik tiplerine göre katepsinler, serin (katepsin A ve G), aspartik (katepsin D ve E) ve en büyük katepsin ailesi olan sistein katepsinler (katepsin B, C, F, H, K, L, O, S, V, W ve X) olarak sınıflandırılmıştır (Ni vd. 2022). Substrat özgüllüklerindeki örtüşme nedeniyle, sistein katepsin ağırları, bireysel enzimlerin işlev kaybını telafi edebilmektedir. CatZ, telafi edici proteaz olarak hem CatB hem de CatS'de eksik olan lezyonların edinilmiş tümör teşvik edici işlevlerini düzenlemiştir (Akkari vd. 2016). Bununla birlikte, çift nakavt fareler (CatB^{-/-} CatL^{-/-}) beyin atrofisinin doğumundan kısa bir süre sonra ölmüştür. Tüm katepsinlerin değil, yalnızca birkaçının in vivo olarak birbirini telafi edebileceği öne sürülmüştür (Felbor vd. 2002).

Katepsin B (CTSB), lizozomlarda protein döngüsü ve yıkımı ile ilişkili bir lizozomal sistein proteazdır (Aggarwal ve Sloane 2014). Başlama, büyüme, anjiyogenez, invazyon ve metastaz gibi birçok biyolojik olayda önemli roller oynamıştır (Szpadarska ve Frankfater 2001). Özofagus, mide, prostat, pankreas, kolon, glioblastoma ve meme kanserleri gibi birçok insan kanserinin CTSB'yi yüksek oranda ifade ettiği bildirilmiştir (Mikhaylov vd. 2014, Moon vd. 2016). Bu nedenle, çekici bir biyobelirteç olarak CTSB kanser teşhisi için kullanılabilir (Terasawa vd. 2015). Bugüne kadar, floresan (Wang vd. 2016, Yuan vd. 2015), kolorimetri (Kim vd. 2014) ve kemilüminesans (Roth-Konforti vd. 2017) dahil olmak üzere CTSB tespiti (veya görüntülemesi) için birçok optik yöntem geliştirilmiştir. Bunlar arasında floresan, operasyonel kolaylığı ve gerçek zamanlı geri bildirimi nedeniyle yaygın olarak kullanılmaktadır. Bununla birlikte, tespit edilen örneklerden gelen otofloresansın yanı sıra floroforların fotobozunması, floresanın tespit doğruluğuna müdahale etmiştir (Ni vd. 2019).

2.10.4.1 CTSB'nin yapısı

Yapısal olarak CTSB, aktif bölge yarığını temsil eden “tepesinde” belirgin bir kesik bulunan iki loblu bir proteindir. Polipeptit zinciri, genişletilmiş bir polar arayüz

aracılığıyla etkileşime giren ve V şeklinde bir aktif bölge yarığına açılan iki farklı alana (sol "L" alanı ve sağ "R" alanı) ayrılmıştır (Cavallo-Medved vd. 2011). İnsan CTSB geni kromozom 8'in kısa kolunda yer alır ve 13 ekzondan oluşmuştur (Fong vd. 1992). İlk ekzonun yukarı akış bölgesi, GC baz çiftleri bakımından zengin ancak kanonik TATA ve CAAT kutularından yoksun 2,2 kb'lık bir promotör bölgesidir. Transkripsiyonu düzenleyen altı özgüllük proteini 1 bağlanma bölgesi, dört Ets proteini bağlanma bölgesi ve bir arttırıcı kutu (E-kutusu) bulunurken, özgüllük proteini 1 ve Ets1 proteinlerinin CTSB'nin transkripsiyonunu arttırdığı doğrulanmıştır (Aggarwal ve Sloane 2014). Bir sinyal dizisi içeren bir proenzim olarak CTSB, kaba endoplazmik retikulumda sentezlenir; burada CTSB propeptidi 46 kDa'lık inaktif bir pro-CTSB formuna ayrılır ve daha sonra Golgi'ye taşınmadan önce glikozile edilir; burada veziküler kaçakçılık yoluyla geç endozomlara aktif 31 kDa'lık tek zincir şeklinde taşınmıştır (Şekil 2.9). Geç endozomların lizozomlarla birleşerek endolizozom haline gelmesi üzerine, olgun tek sarmallı form daha sonra 25/26 ve 5 kDa'lık aktif çift zincirli formlara işlenir (Cavallo-Medved ve Sloane 2003). CTSB iki formda bulunmuştur: inaktif form (zimojen form) ve aktif olgun form. İki aktif CTSB formu vardır: olgun tek zincirli (31 kDa) izoform ve olgun çift zincirli izoformun ağır zinciri (25/26 kDa). Sadece olgun CTSB'ler biyolojik olarak aktiftir (Wang vd. 2023).



Şekil 2.9 Katepsin B proteolitik olgunlaşmasının şematik gösterimi (Ni vd. 2022)

2.10.4.2 CTSB'nin işlevi

Lizozomlar, asidik bir iç kısım ile karakterize edilen hücre içi membrana bağlı organellerdir ve hücrel katabolizmaya katılan lipazlar, proteazlar ve glikozidazlar dahil olmak üzere çeşitli hidrolitik enzimleri barındırırlar (Perera ve Zoncu 2016, De Duve 2005). Bu enzimlerin çoğunun işlevleri, lizozomal transmembran üzerinde bulunan ATP güdümlü bir proton pompası olan vakuolar H^+ ATPaz (V-ATPaz) tarafından sağlanan asidik bir lümen gerektirmektedir. Ayrıca, lizozomlar metabolik sinyalizasyon, plazma zarının onarımı ve besin algılama gibi en hayati süreçlerin bazılarında kritik roller oynamıştır (Xu ve Ren 2015, Lawrence ve Zoncu 2019, Lim ve Zoncu 2016). Lizozomların barındırdığı çeşitli enzimler arasında katepsinler, şaşırtıcı derecede geniş bir işlev yelpazesine sahip bir lizozomal proteaz ailesidir. Katepsinler, örneğin bağışıklık tepkileri sırasında antijen işlemeye katıldıkları ve hücrel homeostazi korumak için çeşitli proteazları ve kemokinleri parçaladıkları hücre içi ev tutmaya yardımcı olurlar (Turk vd. 2012, Vasiljeva vd. 2007).

Memeli proteazları, aktif bölgedeki amino asit tipine göre metalo, serin, treonin, aspartik ve sistein proteazlar olmak üzere 5 farklı ailede sınıflandırılmıştır. Tüm katepsinler; serin proteazlar (katepsin A ve G), aspartik proteazlar (katepsin D ve E) ve on bir sistein katepsin (katepsin B, C, F, H, K, L, O, S, V, X ve W) olmak üzere üç farklı proteaz ailesine girmektedir (Patel vd. 2018, Brix vd. 2008). Serin proteazlar insan vücudunda ifade edilen toplam proteazların %31'ini oluştururken, sistein ve aspartik proteazlar toplam proteaz popülasyonunun sırasıyla %25 ve %4'ünü oluşturmaktadır (Rossi vd. 2004). Katepsinler en yüksek aktiviteyi lizozomların düşük pH ortamında gösterirler. Bununla birlikte, bazı katepsinlerin optimum pH aralığı olan 5 dışında da aktif olduğu bulunmuştur (Sanman vd. 2016). Katepsin S'nin pH optimum değeri 6,5 olarak bulunmuştur (Brömme vd. 1993). Katepsin D pH 4'te optimum aktivite gösterirken, aktivitesi pH 7,4'te bile tespit edilmiştir (düşük kinetik oranlarda olmasına rağmen) . Ayrıca, katepsin K ve H pH 7'de stabil aktivite göstererek geniş bir proteolitik aktivite aralığına sahip olduklarını göstermiştir (Naseem vd. 2005).

Optimal pH aralığının çok dışında korunan aktivite nedeniyle katepsinler, endo/lizozomal sistemin dışında bile spesifik proteolitik işlevlerle tanımlanmıştır (Vidak vd. 2019, Vizovišek vd. 2019).

Düzensiz katepsin sentezi ve aktivitesi, metabolik sendrom, kanser ve inflamatuvar nörolojik hastalıklar dahil olmak üzere çeşitli hastalıklarla ilişkilendirilmiştir (Reiser vd. 2010). Katepsinlerin birçok önemli nöronal proteini aktive ettiği ve/veya bozduğu bilinmektedir ve bu nedenle nörodejeneratif bozukluklarda önemli rolleri vardır (Stoka vd. 2016). Örneğin, katepsin D nöronal hücre homeostazında önemli bir rol oynar ve işlev bozukluğu huntingtin, α -synuclein, tau, lipofuscin, apoE gibi hedef proteinlerin proteolizinin bozulmasına yol açarak diğer nörolojik bozuklukların yanı sıra Huntington ve Parkinson'a neden olmuştur (Vidoni vd. 2016). Kardiyomiyopati, hipertansiyon, miyokard enfarktüsü, ateroskleroz ve aort anevrizmaları gibi kardiyovasküler bozukluklar, katepsinlerin aracılık ettiği başlıca süreçlerden biri olan kapsamlı hücre dışı matris (ECM) bozulması ve yeniden şekillenmesi ile karakterize edilir (Lutgens vd. 2007). Benzer şekilde, kanserde, tümörler ECM bozulmasıyla metastaz yapar ve katepsinlerin ECM bileşenlerini, epitelyal membranı ve kanser hücresi göçünü kolaylaştıran hücre-hücre bağlantılarını parçaladığı bildirilmiştir. Ayrıca, katepsinler büyüme, invazyon, anjiyogenez ve tümörlerle ilişkili terapötik dirençte rol oynamıştır (Mohamed ve Sloane 2006).

2.10.4.3 Ekstraselüler katepsinlerin patolojik işlevleri

ECM'nin yeniden şekillenmesi önemli bir fizyolojik süreç olsa da, anormal ECM dinamikleri kontrolsüz hücre çoğalmasına, istilasına ve farklılaşmasına yol açarak ateroskleroz, kanser ve doku fibrozisi gibi ölümcül patolojilere neden olabilir. Hücre dışı katepsin aktivitesi, Kanserler ve Metabolik Bozukluklar gibi bu hastalıkların çoğunda rol oynamıştır (Bonnans vd. 2014).

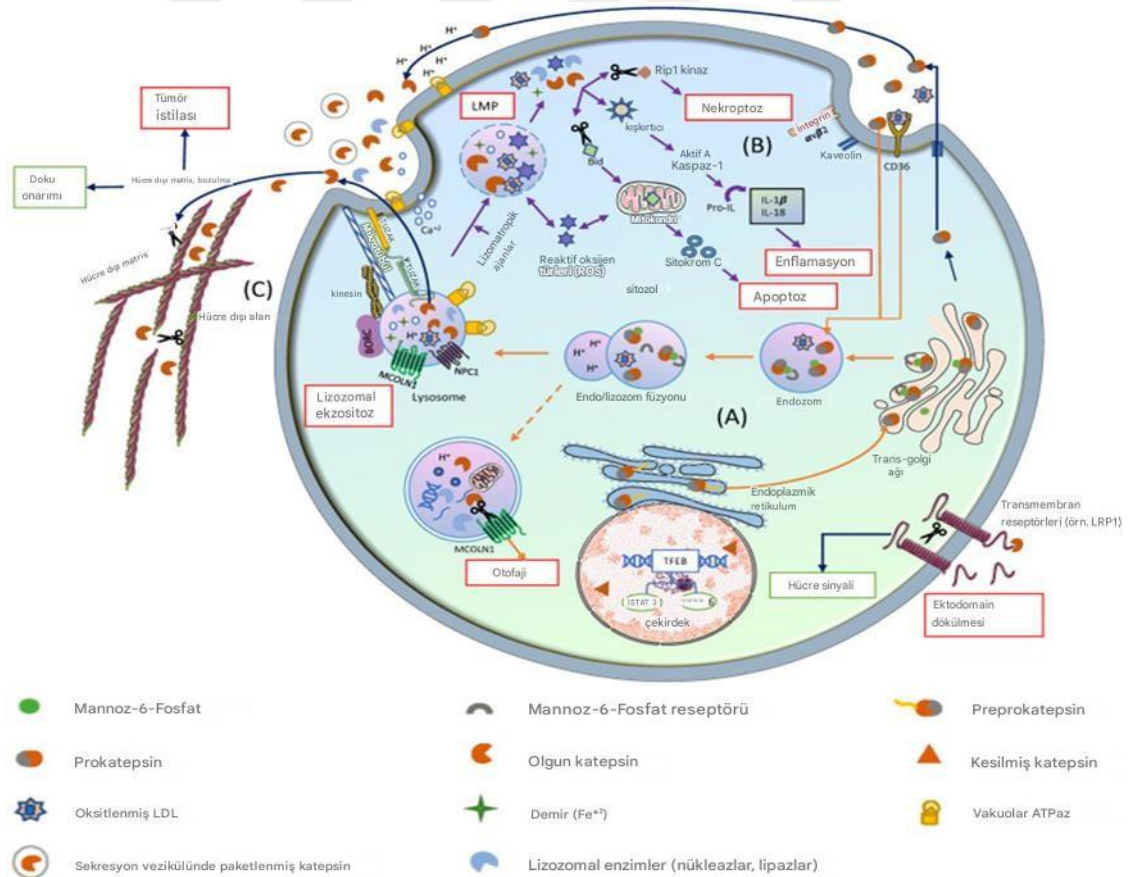
Kanser, vücuttaki anormal hücre çoğalmasından kaynaklanmıştır. Katepsinlerin artmış veya anormal proteolitik aktivitesinin, maligniteye yol açan tümörlerin göçünü ve istilasını kolaylaştıran ECM bileşenlerini bozduğu belirtilmiştir (Olson ve Joyce 2015).

Katepsinler kanser hücrelerinden ve tümörle ilişkili makrofajlar (TAM'lar) olarak adlandırılan infiltre edici immün hücrelerden salgılanabilir. Katepsinlerin aşırı salgılanması, anormal ekspresyonları ile ilişkilidir. Tümör mikroçevresinde katepsinlerin ekspresyonunu düzenleyen birkaç moleküler faktör tanımlanmıştır. Sinyal dönüştürücü ve transkripsiyon aktivatörü 3 ve 6'nın (STAT3, STAT6) prokatepsin B, C, S ve Z'nin özellikle makrofajlardan salgılanmasını teşvik ettiği belirtilmiştir (Yan vd. 2016). Kolajen 1'in Ets1 transkripsiyon faktörünü düzenleyerek prokatepsin B salgılanmasını indüklediği bilinmektedir (Sloane vd. 2005). Ek olarak, kanser mikroçevresinin, katepsinlerin aşırı ekspresyonu nedeniyle M6P reseptör mRNA'sını aşağı regüle ettiği öne sürülmüştür. M6P reseptörüne karşı zayıf afinitesi nedeniyle, katepsin L'nin fibrosarkom hücrelerinde M6P reseptörüne bağlanmadan önce trans-Golgi ağından doğrudan salgılandığı bilinmektedir (Hashimoto vd. 2015). Metastatik tümör hücrelerinin prokatepsin D'nin lizozomal ayıklanmasında kusurlu olduğu ve bunun da salgılanmasına yol açtığı bildirilmiştir. Ayrıca, asidik tümör mikroçevresi sadece prokatepsinlerin olgunlaşmasını desteklemekle kalmaz, aynı zamanda aktivitelerini de teşvik etmiştir (Nicotra vd. 2010).

Hücre dışı katepsinlerin yüksek seviyeleri meme, akciğer, kolon, pankreas, deri, prostat, mesane, yumurtalık ve baş-boyun gibi çeşitli kanserlerde tespit edilmiştir (Mohamed ve Sloane 2006). Artan seviyelere ek olarak, katepsinlerin artan aktivitesi genellikle tümörle ilişkili sitokinlerin aktivasyonu, hücre-hücre adezyon moleküllerinin dökülmesi ve parçalanması, böylece hücre temasının yok edilmesi ve metastaza katkıda bulunulması ile ilişkilidir. Örneğin, E-cadherin önemli bir hücre yapışma molekülü ve epitelyal tümör baskılayıcıdır. Hücre dışı katepsinler B, L ve S'nin E-cadherin'i parçalayarak tümörün çevre dokulara yayılmasını teşvik ettiği bilinmektedir (Gocheva vd. 2006).

Lipoprotein birikimi ve metabolizması, kardiyovasküler hastalıklar ve alkolik olmayan steatohepatit (NASH) gibi obezite ile ilişkili bozukluklar dahil olmak üzere çeşitli hastalıklara önemli katkıda bulunmuştur. Hücre dışı katepsinlerin lipoprotein moleküllerinin veya reseptörlerinin taşınması, dışarı atılması ve işlenmesinde rol oynadığı bulunmuştur (Mizunoe vd. 2019). Örneğin, hücre dışı katepsinler F, K ve S'nin

hücre yüzeyindeki kolesterol alıcılarını bozduğu, böylece kolesterol akışını azalttığı ve aterosklerozun önemli bir özelliği olan köpük hücre oluşumunu başlattığı bilinmektedir (Lutgens vd. 2007). Düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL) varlığının artması hem aterosklerozun hem de NASH'ın bir özelliğidir. Ekstraselüler katepsin D'nin LDL'nin bileşeni olan apolipoprotein B-100'ü (apoB) proteolitik olarak modifiye ettiği ve ardından arteriyel intimada LDL birikimine yol açtığı bilinmektedir (Benes vd. 2008). Buna paralel olarak, hücre dışı katepsin D inhibisyonunun hepatik steatozu azalttığı bilinmektedir (Khurana vd. 2019). Ayrıca, arteriyel intimada LDL birikimi oksidasyona yol açarak enflamatuar tepkileri artırabilir, bu da pozitif bir geri besleme döngüsünde lipid birikimi ve enflamasyonun şiddetlenmesine yol açan katepsinlerin daha fazla salgılanmasını teşvik etmiştir (Zhao ve Herrington 2016). Hücre dışı katepsin D'ye benzer şekilde, hücre dışı katepsin S'nin lökosit göçüne ve nöropatik ağrıya yardımcı olan fraktalkin (CX3CL1) gibi kemokinleri parçalayarak enflamasyonu teşvik ettiği bilinmektedir (JM Wiener vd. 2010).



Şekil 2.10 Kathepsinlerin bölgeye özgü işlevleri (Yadati vd. 2020)

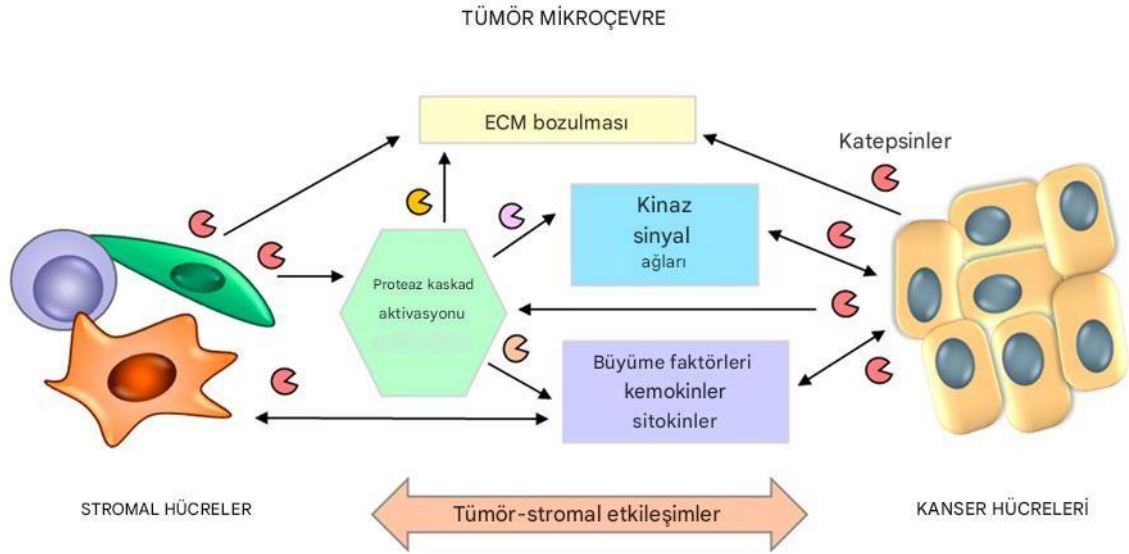
Şekil 2.10'da gösterildiği gibi, (A) lizozomlardaki katepsinler (turuncu oklarla gösterilmiştir): Kathepsinler endoplazmik retikulumda preprokathepsinler olarak sentezlenir ve asidik pH'ın olgunlaşmalarını sağladığı Trans-Golgi ağı yoluyla endo/lizozomlara taşınmıştır. Lizozomlardaki katepsinler otofajiye katılmanın yanı sıra çoğunlukla protein yıkımında rol oynamaktadır. (B) sitozoldeki katepsinler (mor oklarla gösterilmiştir): Lizozomotropik ajanlar, ROS veya modifiye lipidlerin (oxLDL) birikimi lizozomal membran permeabilizasyonuna (LMP) yol açarak katepsinlerin sitozole salınmasına neden olmuştur. Sitozolik katepsinler çeşitli faaliyetlere katılmıştır (Yadati vd. 2020). Örneğin, katepsinler inflamazomu tetikler ve çeşitli proteinleri parçalayarak apoptoz ve nekroptozu teşvik etmiştir. (C) Hücre dışı alandaki katepsinler (mavi oklarla gösterilmiştir): Lizozomal ekzositoz, çeşitli protein-reseptör etkileşimleri ve Ca^{+2} iyon gradyanı yardımıyla lizozomal içeriklerin hücre dışı boşluğa salgılanmasını içerir. Kathepsinler prokathepsinler şeklinde salınır veya salgı vezikülleri içinde ya da aktif katepsinler olarak bulunur. Salgılanan katepsinler plazma membranına bağlı kalır veya ekstraselüler boşluğa salınır. Plazma membranındaki katepsinler integrinler gibi proteinleri parçalar. Salgılanan katepsinler esas olarak hücre dışı matris bozunmasına katılır ve böylece yara iyileşmesine yardımcı olmuştur (Yadati vd. 2020).

2.10.4.4 CTSB'nin kanserdeki rolü

Çok sayıda çalışma, katepsin B aşırı ekspresyonunun invaziv ve metastatik kanserler ile ilişkili olduğunu göstermiştir (Beckham vd. 2012, Girotti vd. 2011). Sistein proteazlar, tümör ilerlemesi ve metastazında rol oynayan çoklu moleküler yollarda önemli roller oynamaktadır (Khaket vd. 2019, Kos vd. 2022). Papain ailesinin en bol bulunan ve her yerde ifade edilen ekzo-peptidazı olan Cathepsin B, kolorektal, meme, akciğer, pankreas ve mide kanseri dahil olmak üzere çok sayıda kanser türünde tümör ilerlemesi ile ilişkilidir (Gong vd. 2013, Sun vd. 2016, Abdulla vd. 2017). Cathepsin B ekspresyonu artmış malignite ve kötü prognoz ile ilişkilidir; bu nedenle oral skuamöz hücreli karsinom (Yang vd. 2016), servikal kanser (Wu vd. 2012), endometriyal kanser (Devetzi vd. 2009) ve kolorektal kanser (Abdulla vd. 2017) için öngörücü bir biyobelirteç olarak önerilmiştir. Klan CA/C1 sistein proteaz ailesinin bir diğer karboksipeptidazı olan katepsin X, kolorektal (Jechorek vd. 2014, Fang vd. 2019),

gastrik (Krueger vd. 2005), karaciğer (Wang vd. 2011) ve pankreas kanserleri (Lines vd. 2012) dahil olmak üzere gastrointestinal kanserlerin gelişiminde öncelikle rol oynamıştır.

Önemli düzeyde katepsin salgılayan tümör hücrelerine ek olarak, endotel hücreleri, mast hücreleri, tümörle ilişkili makrofajlar ve fibroblastlar gibi tümör stromal hücreleri de TME'deki sistein katepsin düzeylerinin artmasına katkıda bulunan önemli faktörlerdir (Şekil 2.11) (Jakoš vd. 2019). Çeşitli kanser türlerinde katepsin B ve X aktivitesinin büyük kısmı, peritümöral makrofajlar (Akkari vd. 2014, Gocheva vd. 2010) ve miyeloid türevli baskılayıcı hücreler (Edgington-Mitchell vd. 2015) gibi miyeloid soyun bağışıklık hücrelerinden (Jakoš vd. 2020) kaynaklanmıştır. Salgılanan sistein katepsinler, E-cadherin (Gocheva vd. 2006), kolajen IV (Mitrović vd. 2016) veya tenascin-C (Mai vd. 2002) gibi hücre dışı matris (ECM) proteinlerinin parçalanmasına katılabilir.



Şekil 2.11 Tümör ilerlemesinin desteklenmesinde tümör ve stromal hücreler arasındaki karşılıklı etkileşimlerin rolü için şematik gösterim. Tümör-stromal çapraz etkileşim stromanın aktivasyonuna ve katepsinler (B, H, C ve X) dahil proteolitik enzimlerin aşırı ekspresyonuna ve salgılanmasına yol açarak hücre dışı matris (ECM) bozunmasını ve çözünür faktörlerin salınmasını tetiklemektedir. Aktive olmuş stromal hücreler (makrofajlar, fibroblastlar ve mast hücreleri), tümör ilerlemesi ve metastazına yol açan çok sayıda birbiriyle ilişkili olayı düzenleyen ek büyüme faktörleri, sitokinler ve kemokinler salgılamıştır (Stoka vd. 2023)

İnvazyonla ilişkili sistein proteaz katepsin B, bazal membran, hücre dışı matriks ve yapışık bağlantı proteinlerinin parçalanmasında (Jedezsko ve Sloane 2004, Gocheva vd. 2006) ve kanser hücrelerinin prostatik stroma ve diğer bölmelere ilerlemesinde rol üstlenmiştir (Yan ve Sloane 2003).

Kathepsin B, PCa ve diğer solid tümör tiplerinde (melanom, mesane, akciğer, kolorektal ve meme kanseri gibi) iyi huylu benzerlerine kıyasla yükselmiştir. Anti-kathepsin B'nin (CB) endojen bir inhibitörü olan stefin (sistatin) A'nın (SA) değerlendirilmesi, prostat ve birçok solid tümörde CB aktivitesinin dolaylı bir değerlendirmesini sağlamıştır (Sinha vd. 2001, Jedezsko and Sloane 2004, Yan and Sloane 2003). Bazı çalışmalarda CB>SA oranının pelvik lenf nodu metastazı ile ilişkili olduğu gösterilmiştir, bu da PCa'nın bireysel Gleason skorları içinde agresif doğasına işaret etmektedir; ancak bu oranlar kanserin agresifliğini iki farklı Gleason derecesi/skoru arasında ayırt etmemiştir (Sinha vd. 2001, Sinha vd. 2007). Hücre proliferasyonu PCa'da benign benzerlerine kıyasla önemli ölçüde artmıştır (Sebo vd. 2002). MIB-1 boyanma indeksi PCa hastalarının sağkalımı ile ilişkilendirilmiştir (Taftachi vd. 2005). DNA ploidi bazı PCa hastaları için prognostik bilgi katkısında bulunmuştur (Bantis vd. 2005).

2.10.5 Galektin-9 (Gal-9)

Galektinler, yüksek oranda korunmuş bir karbonhidrat tanıma alanı (CRD) (Laaf vd. 2019) ile karakterize edilen çözünür β -D-galaktozid bağlayıcı proteinlerden oluşan bir ailedir ve çok çeşitli hayvan türlerinde ifade edilmiştir. Bu proteinler deri, akciğer ve bağırsak epitel ve endotel hücrelerinin yanı sıra bağışıklık hücreleri ve fibroblastlar da dahil olmak üzere çeşitli hücre tiplerinde bulunmuştur (Houzelstein vd. 2004, Johannes vd. 2018).

Gal-9, galektin ailesinin β -galaktozid bağlayıcı bir hayvan lektinidir ve gastrointestinal sistemlerin bağışıklık ve epitel hücrelerinde özellikle bol miktarda olmak üzere doku ve hücrelerde her yerde ifade edilmiştir. Gal-9, T helper tip 1 (Th1) ve Th17 hücrelerini baskılar ve düzenleyici T hücrelerini hem in vitro hem de in vivo olarak aktive eder, bu da Gal-9 uygulamasının otoimmün ve alerjik hayvan modellerinde anti-enflamatuar

etkilerini açıklamıştır (Wiersma vd. 2013). Son zamanlarda Gal-9, reseptörü T-hücreleri immünoglobulin ve müsin alanı 3 (Tim-3) ile birlikte bir immün kontrol noktası molekülü olarak eklenmiştir (Anderson vd. 2016). Birkaç retrospektif çalışma, kanser dokularında Gal-9 ekspresyonu ile çeşitli kanser türlerinde iyileşmiş hasta prognozu arasındaki pozitif korelasyonları açıklığa kavuşturmuştur (Wang vd. 2018).

Galektinler daha önce onkolojik biyobelirteçler olarak tanımlanmış ve incelenmiştir (Labrie vd. 2017, Balan vd. 2010). Galektin 1 ve 3'ün kolorektal karsinomda (Jovanovic vd. 2019, Jovanovic vd. 2018) ve Romatoid Artrit (Mendez-Huergo vd. 2019) hastalığı şiddetinin güvenilir belirteçleri olarak hizmet ettiği bulunmuştur. Nazofaringeal karsinom (Tang vd. 2010), pankreas kanseri (Sun vd. 2019) ve nöroblastomda (Chen vd. 2018) da galektin-1 seviyelerinde artış tespit edilirken, kalp yetmezliği sırasında galektin-3 ekspresyonu yükselmiştir (Amin vd. 2017). Bununla birlikte, son yıllarda, immünomodülatör işlevleri ve çok sayıda patolojik bozuklukta terapötik potansiyeli nedeniyle Gal-9 üzerine daha fazla çalışma yapılmıştır. Otoimmün bozukluklarda (Matsuoka vd. 2019), viral enfeksiyonlarda (Merani vd. 2015), dang hummasında (Chagan-Yasutan vd. 2013), jinekolojik bozukluklarda (Brubel vd. 2017), koroner arter hastalığında (Zhu vd. 2015) ve kanserde (Sideras vd. 2019, Zhou vd. 2018a) yüksek Gal-9 seviyeleri bulunmuştur.

2.10.5.1 Galektinlerin yapısı

Gal-9, laktozil grubuna spesifik bir afiniteye ve N-terminus ve C-terminusta iki farklı ancak homolog karbonhidrat tanıma alanına sahiptir. İki alan, tandem tekrar tipi peptitler olan bağlayıcı peptitlerle birbirine bağlanır; bu bağlayıcı peptitlerin uzunlukları galektinler arasında değişir ve üç izoform sergilemektedir. Gal-9'un tanımlanması ve karakterizasyonu 1991 yılından beri yapılmıştır (Charlier vd. 2010, Moriwaki vd. 2009). Ekalektin ilk olarak Gal-9'un bir varyantı olarak tanınmış ve daha sonra orta büyüklükteki Gal-9 izoformu olduğu bulunmuştur (Moriwaki vd. 2011). Ayrıca, ürat taşıyıcısı da insanlarda ve farelerde Gal-9'un özellikle uzun bir izoformu olan Gal-9 olarak tanımlanmıştır (Lichtenstein ve Rabinovich 2013).

Gal-9, bir peptit tarafından birleştirilen iki β -galaktozid bağlanma bölgesinden oluşur (Wada ve Kanwar 1997); C-terminal karbonhidrat tanıma alanı (C-CRD), N-terminal karbonhidrat tanıma alanı (N-CRD) gibi, iki ters paralel S1-S6 β tabakası ve bir F1-F5 β iplikçığı ve α sarmalından oluşmuştur (Yoshida vd. 2010). İpliklerin glikan bağlayıcı cepleri amino asit dizilimi açısından birbirinden farklıdır ve bu nedenle β -galaktozidlere karşı farklı afinitelere ve biyolojik aktivitelere sahiptir (Bi vd. 2008, Li vd. 2011). Gal-9, bağlayıcı peptitte proteaza duyarlı bir bölgeye sahiptir ve galektin prototipi gibi, iki monovalent şekere özgü proteine parçalanmıştır (Nishi vd. 2005). Elli sekiz amino asitlik bağlayıcı peptitler uzun zincirli izoformları (Gal-9L veya Gal-9FL) temsil etmiştir. Yirmi altı ve on dört amino asit bağlayıcı peptit orta (Gal-9M) ve kısa (Gal-9S) zincirli gal-9'u temsil etmiştir (Sato vd. 2002). Bu bağlayıcı peptitler CRD'ye bağlı bazı fizyolojik etkiler için kritik değildir (Nishi vd. 2005). Bununla birlikte, bağlayıcı peptidin uzunluğu Gal-9-glikan oligomerizasyonunun yapısında ve hücre yüzeyinde kafes oluşumunda rol oynamıştır (Earl vd. 2011).

2.10.5.2 Gal-9'un fizyolojik işlevi

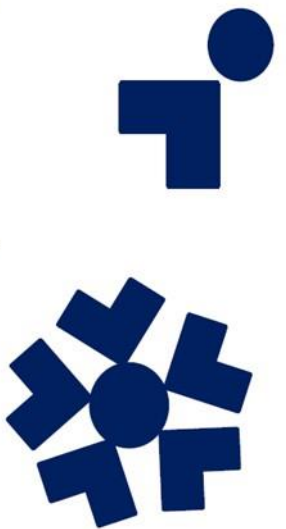
Galektinlerin kanser hücrelerindeki hücre dışı ve hücre içi işlevlerinin daha iyi anlaşılması, immünosupresif bir tümör mikroçevresi ve tümör heterojenitesi oluşturmak için gereklidir ve yeni antikanser tedavilerinin keşfedilmesi için çok gereklidir (Vladoiu vd. 2014). Gal-9 ile indüklenen malign transformasyonda rol oynayan mekanizmalar hala tam olarak açıklığa kavuşmamış olsa da, Gal-9 ekspresyonu ile malign transformasyon arasında negatif bir korelasyon olduğu tespit edilmiştir. Servikal skuamöz hücreli karsinomda, Gal-9 ekspresyonunun azalması, normal epitelyal hücrelerin servikal intra-epitelyal neoplaziye de-diferansiyasyonu ile ilişkili olabilir. Gal-9 kaybı epitel hücrelerinde E-cadherin kaybı ile ilişkilidir (Mishra vd. 2010). Bu nedenle servikal kanserlerde E-cadherin ekspresyonunun azalması lezyonların ciddiyeti ve malign transformasyonla ilgili olabilir (Liang vd. 2008).

Gal-9'un birçok kan kanseri hücresinin apoptozunu indüklediği gözlemi (Kobayashi vd. 2010; Kuroda vd. 2010; Pena vd. 2014), bu hücrelerin artmış Gal-9 ifadesine sahip olduğu raporlarıyla (Lahm vd. 2001) tezat oluşturmaktadır. Gal-9 apoptotik yeteneği ile

kronik miyeloid lösemi (KML) (Kuroda vd. 2010), Burkitt ve Hodgkin lenfoma hücrelerini etkili bir şekilde ortadan kaldırmıştır (Tureci vd. 1997). Gal-9, apoptotik eliminasyon için granzimB, perforin ve IFN- γ üreten TIM-3+DC'ler ve TIM3+CD8+Tcell'ler ile Gal-9'un birleşmesi yoluyla sarkomda hücre ölümünü doğrudan tetikleyebilmektedir (Wiersma vd. 2013).

Gal-9 ayrıca hücrelerin ECM bileşenlerine yapışmasını engelleyerek kanser hücrelerinin hücre dışı matrikse invazyonunu da engelleyebilir; örneğin meme, kolon ve melanom gibi bazı kanser hücreleri türlerinde Gal-9, kolajen, laminin ve fibronektin gibi ECM bileşenlerine hücreler arası yapışmayı engelleyerek metastatik süreci engelleyebilir (Nobumoto vd. 2008). Ancak, düşük Gal-9 eksprese eden oral skuamöz karsinom hücreleri (OSCC) kolajen ve fibronektine artmış yapışma göstermiştir (Kasamatsu vd. 2005). Bunun dışında Gal-9'un CD44-hyaluronik asit etkileşimini de engellediği ve böylece hücre yüzeyinde eksprese edilen CD44'ün hyaluronik aside bağlanmasını engelleyerek tercihli olarak metastaz oluşumunu engellediği gösterilmiştir. Gerçekten de bu metastatik yayılma antagonistik anti-CD44 antikoru ile engellenebilmiştir (Kato vd. 2007).

Her galektin bir CRD'ye sahiptir ve bu CRD'nin sayısına ve yapısına göre sınıflandırılır (Varki ve Crocker 2009, Barondes vd. 1994). Galektinler bu nedenle tandem, dimerik ve kimerik galektinler olarak ayrılmıştır (Şekil 2.12). Dimerik galektinler iki özdeş CRD alt birimine sahiptir, tandem olanlar iki farklı CRD alt birimine sahiptir ve kimerik olanlar aynı tipte bir veya birden fazla alt birime sahiptir (Varki ve Crocker 2009). Galektinler-1, -2, -5, -7, -10, -11, -13, -14 ve -15 dimerik galektinler olup galektinler-4, -5, -8, -9 ve -12 tandem kategorisine girmektedir. Galektin-3 şimdiye kadar memelilerde keşfedilen tek kimerik galektindir (Barondes vd. 1994). Tür dağılımı açısından galektin-1 (Gal-1), -2, -3, -4, -7, -8, -9, -10, -12 ve -13 insanlarda, galektin-5 ve -6 kemirgenlerde bulunurken galektin-11, -14 ve -15 koyun ve keçilerden izole edilmiştir (Ebrahim vd. 2014).

Dimerik (2 özdeş CRD)	Tandem (2 ayrı CRD)	Kimerik (bir veya birden fazla CRDS)
1, 2, 5, 7, 10, 11, 13, 14, 15	4, 5, 8, 9, 12	3
		

Şekil 2.12 Galektinlerin yapısı ve sınıflandırılması (Ebrahim vd. 2014)

2.10.5.3 Gal-9 salgılanması

Galektinler hücre dışı matrikse salgılanamazlar (Chhabra ve Rani 2018). Galektinler sinyal peptidinden yoksun olduklarından, yalnızca sitoplazmada sentezlenebilir ve daha sonra doğrudan veziküller, endoplazmik retikulum ve Golgi aparatı tarafından hücre dışına salgılanabilirler (Saghebasl vd. 2018). Özel salgılama şekli, galektinlerin yeni nesil glikoprotein oligosakkaritlere zamanından önce yapışmasını önleyebilir. Hücre dışı matris bileşenleri ve enflamatuar faktörler gibi bazı faktörler galektinlerin salgılanmasını etkilemektedir (Griffioen ve Thijssen 2014). Hücre yüzeyindeki galektinler, hücre dışı matrisin salgılanması ve hücrel ve hücre dışı hücre yapışması ve sinyal iletimi ile yakından ilişkilidir (Haudek vd. 2010). Hücre dışındaki galektinler, karbonhidratlar olarak şekillenen çeşitli hücre yüzeyi reseptörleriyle birleştirilmiştir (Barrow vd. 2011). Bu nedenle, galektinler sadece tümörigenez ve gelişim açısından değil, aynı zamanda organogenez ve bağ dokusu hastalıkları açısından da önemli bir rol oynamaktadır (Wdowiak vd. 2016).

Gal-9 da dahil olmak üzere galektinler, hidrofobik sinyal peptitlerinin eksikliği nedeniyle geleneksel protein salgılama yolu ile hücre dışına salgılanamazlar (Hirashima vd. 2002). Gal-9'un son zamanlarda ekzozomları içeren klasik olmayan bir yolla hücre

dışına salındığı gösterilmiştir. Örneğin, Jurkat T hücre hattında Gal-9 hücre yüzeyinde ifade edildiğinde ve T hücreleri bu Gal-9 antijeni ile uyarıldığında, T hücrelerinden eksojen Gal-9 izoformlarının salgılanması klasik olmayan bir yolla artmıştır (Chabot vd. 2002). Gal-9'u hücre yüzeyine çıkaran fare CD4⁺ T hücreleri aynı zamanda çözünür Gal-9 salgılamış ve salgılanan miktar T hücresi reseptörünün uyarılmasıyla artmıştır (Oomizu vd. 2012). Nazofaringeal karsinom hücrelerinde, Epstein-Barr virüsü ile enfeksiyon, Gal-9 içeren eksozomların kültür ortamına salınmasıyla sonuçlanmıştır (Mrizak vd. 2015). Gal-9, Gal-9 içeren eksozomları içeren klasik olmayan bir yolla hücre dışı olarak salınır ve eksozomlardaki Gal-9 vücuttaki organlara taşınır ve organlar tarafından düzenlenir (Morishita vd. 2023).

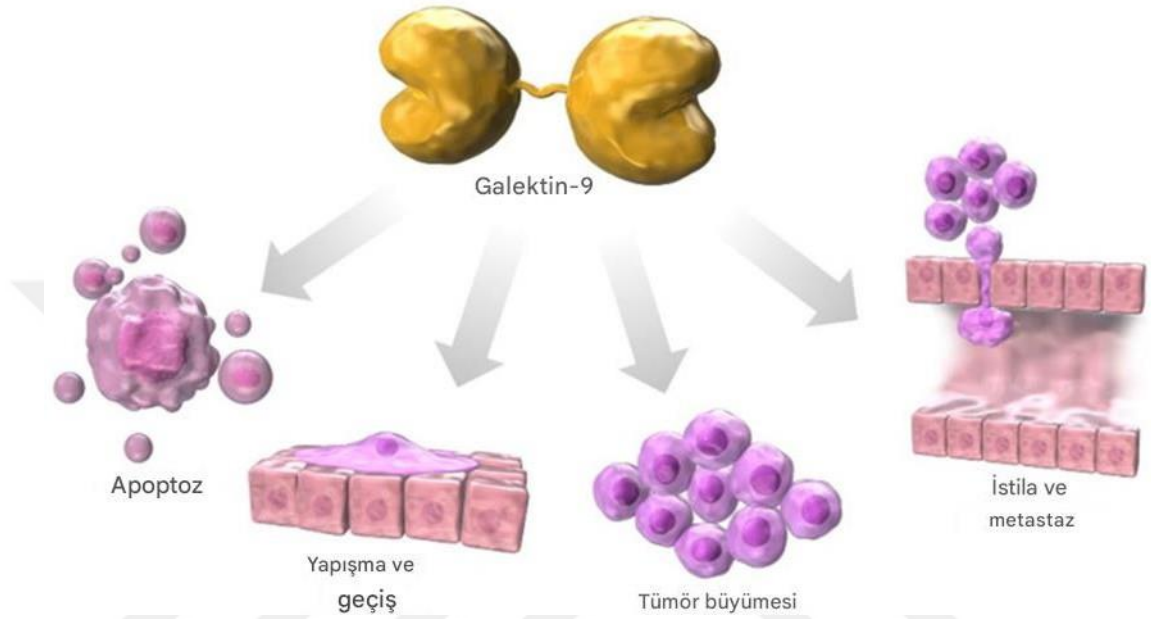
2.10.5.4 Gal-9'un Dağılımı

Gal-9 ekspresyonu karaciğer, ince bağırsak, timus, böbrek, dalak, akciğer, kalp, iskelet kası, beyin, plasenta, pankreas, prostat ve kolon dahil olmak üzere çeşitli tümör organlarına dağılmıştır (Lipkowitz vd. 2001, Wada vd. 1997). Bunlar arasında, ağırlıklı olarak eksprese eden hücreler arasında doğuştan gelen ve edinilmiş bağışıklıktan sorumlu olan lökositler (Taghiloo vd. 2022, Lee vd. 2022) (Tsuboi vd. 2007), timositler (Wada vd. 1997), aktive endotel hücreleri (Thijssen vd. 2008) ve interferonlarla uyarılan fibroblastlar (Asakura vd. 2002) bulunmuştur.

Malign dokular arasında, hücre yüzeyindeki Gal-9 ekspresyonunun hepatoselüler karsinomda (HCC) ve prostat kanseri, servikal kanser ve cilt kanseri gibi diğer solid tümörlerde azaldığı bildirilmiştir (Laderach vd. 2013, Čada vd. 2009).

Gal-9 ekspresyonu ağız kanseri, pankreas kanseri ve hematolojik malignitelerde normal komşu dokulara kıyasla artmıştır (Chang vd. 2014, Terris vd. 2002). Gal-9-glikan kafesi, on farklı monosakkaritten oluşan karmaşık karbonhidrat, Gal-9'un iki CRD'sinin farklı afinitesi ve hücre zarı alanını düzenlemek ve hücre sinyali belirlemek için kullanılabilen esnek bağlayıcı peptitler tarafından CRD rotasyonunun serbestliğine dayanan yüksek çeşitliliğe sahiptir. Gal-9 hücre biyolojisinde üç ana rol oynama potansiyeline sahiptir: (1) hücre zarı alanlarını organize etmek, (2) hücre sinyal

eşiklerini belirlemek ve (3) reseptörlerin hücre yüzeyinde kalma süresini sınırlanmıştır. Şekil 2.13'te gösterildiği gibi, Gal-9'un bu işlevleri kanser gelişimi sırasında apoptoz, adezyon, migrasyon, tümör büyümesi, invazyon ve metastaz ile ilgilidir (Vladoiu vd. 2014).



Şekil 2.13 Gal-9 kanser gelişimi sırasında apoptoz, adezyon, migrasyon, tümör büyümesi, invazyon ve metastaz ile ilişkilidir (Morishita vd. 2023)

2.10.5.5 Prostat kanserinde galektinler

Özellikle tümör biyolojisinde, tümör hücrelerinin glikozilasyon profilinin, glikoziltransferazların ve glikozidazların ekspresyon seviyelerindeki veya aktivitelerindeki değişiklikler nedeniyle hastalık ilerlemesi boyunca önemli ölçüde değiştiği gösterilmiştir (Brockhausen 1999, Dube ve Bertozzi 2005, Packer vd. 2008). Bu modifikasyonlar artmış malignite ile ilişkilendirilmiştir ve tümör biyolojik özelliklerinin modülasyonu üzerinde derin bir etki gösterebilmiştir (Hauselmann ve Borsig 2014).

Glandüler kökenleri göz önüne alındığında, prostatik hücreler salgılayıcı bir yapıya sahiptir. PCa hücrelerinin sekretomu da normal prostatik hücrelerinkinden farklı şekilde

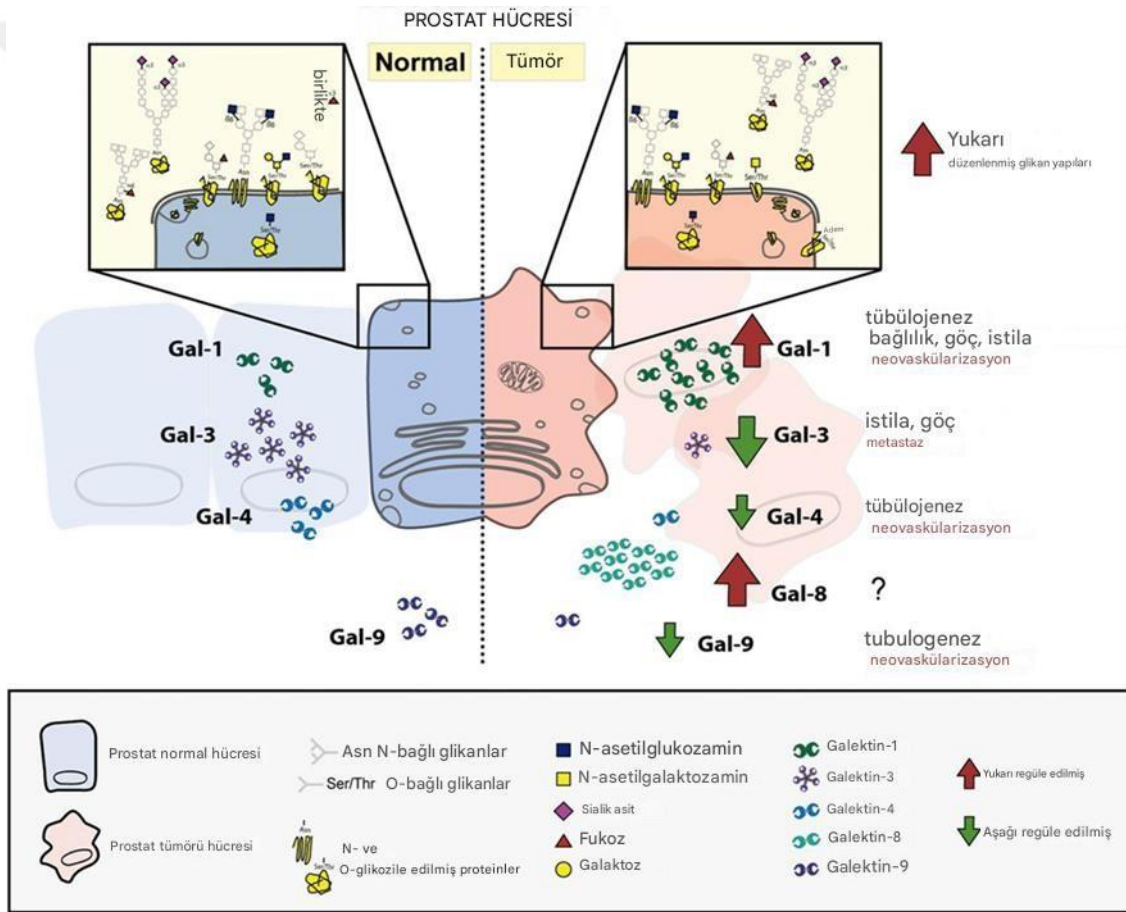
glikozillenmiştir. PCa hastalarının serumlarının HPLC ve MALDI-MS analizi ile gösterildiği üzere, hem çekirdek fukozilasyon hem de α -(2,3)-sialilasyon, benign prostat hiperplazisi hastalarının serumları ile karşılaştırıldığında artmıştır (Ohyama vd. 2004, Saldova vd. 2011, Mechref vd. 2012). Özellikle, günümüzde PCa tanısı ve nüks araştırması için kullanılan tümör belirteci olan PSA'nın anormal glikoformları bildirilmiştir, ancak kanıtlar genellikle çelişkilidir, çünkü esas olarak serum PSA miktarı değerlendirme için çok düşüktür (Gilgunn vd. 2013).

PCa hastalarının klinikopatolojik verileri, yüksek hücre içi O-GlcNAcylation seviyelerinin daha yüksek Gleason skorları ile pozitif korelasyon gösterdiğini ve genel hasta sağkalımı ile negatif korelasyon gösterdiğini (Kamigaito vd. 2014) ve daha ileri in vitro çalışmaların O-GlcNAcylation'ı gelişmiş PCa hücreleri proliferasyonu, invazyonu ve anjiyogenezi ile ilişkilendirdiğini göstermiştir (Liu vd. 2014).

Glikokonjugatların galektinler tarafından tanınması, tümörün bağışıklık sisteminden kaçışında, neovaskülarizasyon süreçlerinde ve metastatik yayılda temel bir rol oynamaktadır. Galektinlerin genel biyokimyasal ve işlevsel özellikleri başka yerlerde açıklanmıştır (Laderach vd. 2010, Di Lella vd. 2011). Buna ek olarak, galektinlerin, daha doğrusu Gal-1 ve Gal -3'ün, PCa ile ilgili olmayan anjiyojenik kaskadta merkezi bir rol oynadığı da bildirilmiştir (Crocì vd. 2014, D'Haene vd. 2013).

PCa ile ilgili olarak, bazı çalışmalar hem insan PCa hücre hatlarında hem de daha önemlisi PCa hasta örneklerinde kanıtlandığı gibi galektinlerin belirli bir ifade modelini bildirmiştir (Laderach vd. 2013). Hastalığın erken evrelerinde, Gals-1, -3 ve -8 güçlü bir şekilde ifade edilirken, Gals-4, -9 ve -12 de ifade edilir ancak daha düşük seviyelerdedir. Hastalık daha agresif evrelere doğru ilerledikçe, Gal-1 ekspresyonu artan tek aile üyesidir. Buna karşılık, Gals-3, -4, -9 ve -12 hastalık ilerledikçe ifade düzeylerini kademeli olarak azaltır; Gal-3 ifadesi ileri aşamalarda bile kaybolmuştur. Diğer üyelerin aksine, Gal-8 hastalığın tüm evreleri boyunca ılımlı ancak sabit seviyelerde ifade edilmiştir. Bu veriler, PCa progresyonu sırasında galektinlerin seçici olarak yukarı veya aşağı regülasyonu ile karakterize edilen “galektine özgü bir imza” tanımlamaktadır (Compagno vd. 2013). PCa biyolojisindeki glikanlar ve galektinler

hakkındaki mevcut bilgiler Şekil 2.14'te gösterilmektedir ve özellikle PCa tümör hücrelerinin anjiyojenik ve metastatik özellikleri üzerindeki etkilerine odaklanılmıştır. Aşağıdaki şekilde gösterildiği gibi, prostat tümöründe ve prostat normal hücrelerinde galektin ve glikan ekspresyonunda tanımlanan değişikliklerin şematik gösterimi. Şekilde, tümör (sağda) ile normal prostat hücreleri (solda) karşılaştırıldığında glikan (üst taraf) ve galektin ekspresyonundaki (alt taraf) bilinen kalitatif ve kantitatif değişiklikler gösterilmiştir. Bu modifikasyonlar, bu hastalıkta rol oynayan biyolojik süreçler bağlamında açıklanmaktadır (in vitro deneyler (siyah) veya in vivo deneyler (kırmızı)) (Compagno vd. 2014).



Şekil 2.14 Prostat tümöründe ve prostat normal hücrelerinde galektin ve glikan ekspresyonunda tanımlanan değişikliklerin şematik gösterimi (Compagno vd. 2014)

2.10.5.6 Gal-9'un tümör ile rolü

İnsanlarda tanımlanan 11 galektin arasında galektin-1, galektin-3 ve Gal-9, hücre biyolojisi ve immünoloji dahil olmak üzere farklı alanlarda en kapsamlı şekilde araştırılanlar olmuştur. Daha da önemlisi, bu üç formun rolleri kanser biyolojisi ile yakından ilişkilendirilmiştir. Bu galektinlerin tümörlerdeki işlevleri arasında onkojenik sinyal yollarının güçlendirilmesi, tümör hücresi büyümesinin veya apoptozun düzenlenmesi, hücre göçünün modüle edilmesi ve bağışıklık tepkilerinin bastırılması yer almıştır (Chou vd. 2018).

Gal-9, çoklu biyolojik işlevleri ve güçlü immünomodülatör etkileri nedeniyle çok dikkat çekmiştir. Gal-9'un katı tümörlerde ekspresyonu, tümör hücresi yapışması veya metastazı ile ilişkilendirilmiştir. Bu nedenle, Gal-9 ekspresyon seviyesi melanom hücrelerinde (Kageshita vd. 2002), oral skuamöz hücreli karsinomlarda (Kasamatsu vd. 2005), meme kanserinde ve HCC'de (Irie vd. 2005, Zhang vd. 2012) hücrel adezyon ve agregasyon ile ilişkilendirilmiştir. Bu çalışmalar, tümör hücrelerindeki yüksek Gal-9 ekspresyon seviyesinin in vitro ve fare modellerinde tümör hücrelerinin toplanmasını desteklediğini, bu hücrelerde Gal-9'un aşağı regülasyonunun ise hücre invazyonu ile ilişkili olduğunu göstermiştir. Ek olarak, aşağıdaki çalışmalar, farelerde Gal-9 uygulamasının, tümör hücreleri üzerindeki yapışkan moleküllerin vasküler endotel ve hücre dışı matris üzerindeki ligandlara bağlanmasının engellenmesi yoluyla melanom hücrelerinin akciğer metastazını baskıladığını göstermiştir (Nobumoto vd. 2008).

Klinik çalışmalarda, Gal-9 ekspresyon seviyesinin meme kanseri ve HCC'de tümör metastazı ile ilişkisi tespit edilmiştir. Gal-9 negatif meme kanserli hastalar, Gal-9 pozitif meme kanserli hastalarla karşılaştırıldığında uzak metastaz potansiyeli yüksek ve daha yüksek histopatolojik derecelerle korelasyon göstermiştir. Ayrıca, Gal-9-pozitif hastalar için kümülatif hastalıksız sağkalım oranı Gal-9-negatif gruba göre daha iyiydi (Irie vd. 2005). Bu bulgularla tutarlı olarak, HCC hastalarında Gal-9 ekspresyonunun azalması lenf nodu metastazı, vasküler invazyon, intrahepatik metastaz ve hastaların kötü sağkalımı ile ilişkilendirilmiştir (Zhang vd. 2012).

2.10.6 Beta-Katenin (β -katenin)

β -Catenin, fizyolojik homeostazda merkezi bir role sahip çok işlevli bir proteindir. Anormal yüksek ekspresyonu kanser dahil çeşitli hastalıklara yol açmaktadır. β -Catenin, *Drosophila armadillo* geninin memeli homologudur. Hem transkripsiyonel bir ko-regülatör hem de hücre içi yapışma için bir adaptör protein olarak görev yapmıştır. Wnt, hem β -katenin bağımlı (kanonik Wnt) hem de bağımsız (kanonik olmayan Wnt) sinyal yollarını düzenlemek için 19 glikoprotein ailesi olan β -katenin'in baş düzenleyicisidir (Shang vd. 2017).

β katenin, armadillo protein ailesine katılmıştır (Valenta vd. 2012, Daugherty ve Gottardi 2007). Armadillo, omurgalı β katenin'in *Drosophila* homologudur (Voronkov ve Krauss 2013). Çok görevli ve evrimsel olarak korunmuş bir moleküldür ve çok sayıda gelişimsel ve homeostatik süreçte önemli bir rol oynamaktadır (Valenta vd. 2012). Hücre-hücre temaslarının stabilizasyonuna katkıda bulunduğu kavşaklar, β katenin seviyelerinin protein stabilitesini düzenleyen süreçler tarafından kontrol edildiği sitoplazma ve β katenin'in transkripsiyonel düzenleme ve kromatik etkileşimlere dahil olduğu çekirdek dahil olmak üzere birçok hücre altı lokalizasyonda bulunmuştur (Voronkov ve Krauss 2013). Katenin kelimesi Latince “Catena” “Zincir” kelimesinden türetilmiştir. Katenin ailesi, P120 alt ailesi, β alt ailesi (β katenin ve plakoglobin) ve α alt ailesi olmak üzere üç alt aileden oluşmuştur (Zhao vd. 2011).

P120 alt ailesi 9 kol tekrarı, β alt ailesi 12 kol tekrarı içerir, ancak α alt ailesi kol tekrarı yerine üç vinculin homolog domaini içerir ve Vinculin süper ailesine aittir. Bu nedenle, Zhao ve arkadaşları kateninlerin bir aile olarak adlandırılmaması gerektiğini, sadece klasik kadeninlerin C-terminaline bağlanan bir grup protein olduğunu öne sürmüştür (Zhao vd. 2011).

Ayrıca, β -katenin, gen ifadesini modüle etmek için Tcf/Lef ailesindeki transkripsiyon faktörleri ve diğerleri ile etkileşime giren bilinen bir transkripsiyonel coregülatördür (Cadigan 2012, Mosimann vd. 2009). β -katenin proteini post-translasyonel modifikasyonlar yoluyla düzenlenmiştir. N-terminalindeki Ser/Thr kalıntıları

kümesindeki fosforilasyon, β -katenin'in proteazom aracılı yıkımıyla sonuçlanmıştır (Cadigan 2012). Wnt ve prostaglandin E2 gibi çeşitli sinyal yollarının aktivasyonu, β -katenin fosforilasyonundan sorumlu kinazların inaktivasyonuna ve dolayısıyla β -katenin proteininin birikmesine yol açmaktadır (Goessling vd. 2011, Klaus and Birchmeier 2008). Transkripsiyon üzerindeki güçlü etkisi nedeniyle, β -katenin aktivitesi sıkı bir şekilde kontrol edilir ve anormal β -katenin aktivasyonu sıklıkla malign transformasyon ve çeşitli kanserler ile ilişkilendirilir (Clevers ve Nusse 2012). Hematopoetik sistemde, β -katenin'in ılımlı aktivasyonunun timositlerin (Xie vd. 2005) ve düzenleyici T hücrelerinin (Ding vd. 2008) sağkalımını uzatmak, bellek CD8⁺ T hücrelerinin genişlemesini teşvik etmek (Gattinoni vd. 2009, Zhao vd. 2010) gibi yararlı etkileri olduğu gösterilmiştir. Bununla birlikte, Ctnnb1 geninin (β -katenin proteinindeki Ser/Thr kümesini kodlayan) 3. ekzonunun silinmesi yoluyla aşırı β -katenin aktivasyonu, hematopoetik kök hücrelerin (HSC'ler) işlevi üzerinde zararlı etkilere sahiptir (Kirstetter vd. 2006), timosit olgunlaşmasını engeller ve timosit dönüşümünü teşvik etmiştir (Guo vd. 2007b).

β -katenin aktivasyonunun kan hücreleri üzerinde güçlü biyolojik etkileri olduğu açık olmakla birlikte, β -katenin gerekliliği tartışmalıdır. Timosit olgunlaşması sırasında, örneğin, Ctnnb1 geninin 3-6 ekzonlarının genetik olarak silinmesi, mütevazı gelişimsel bloklara ve timik hücresellüğün mütevazı bir şekilde azalmasına neden olmuştur (Xu vd. 2003).

Kolorektal karsinom, meme kanseri, karaciğer karsinomu, melanom ve lösemi gibi tüm kanser vakalarının yarısından fazlasında β -katenin çekirdek veya sitoplazma içinde toplanmıştır (Khramtsov vd. 2010, Gekas vd. 2016). Normal bağırsak hücrelerinin köklülüğünün korunmasına yardımcı olur, ayrıca β -katenin'in yüksek seviyeli sitoplazma ekspresyonu ve nükleer lokalizasyonu her zaman tümörijenik özellikleri indükler ve kanser hücresi proliferasyonunu ve sağkalımını desteklemiştir (Valkenburg vd. 2011). Ayrıca, β -katenin T-hücre yanıtlarını baskılayarak tümörlerin ilerlemesini teşvik etmektedir (Hong vd. 2015).

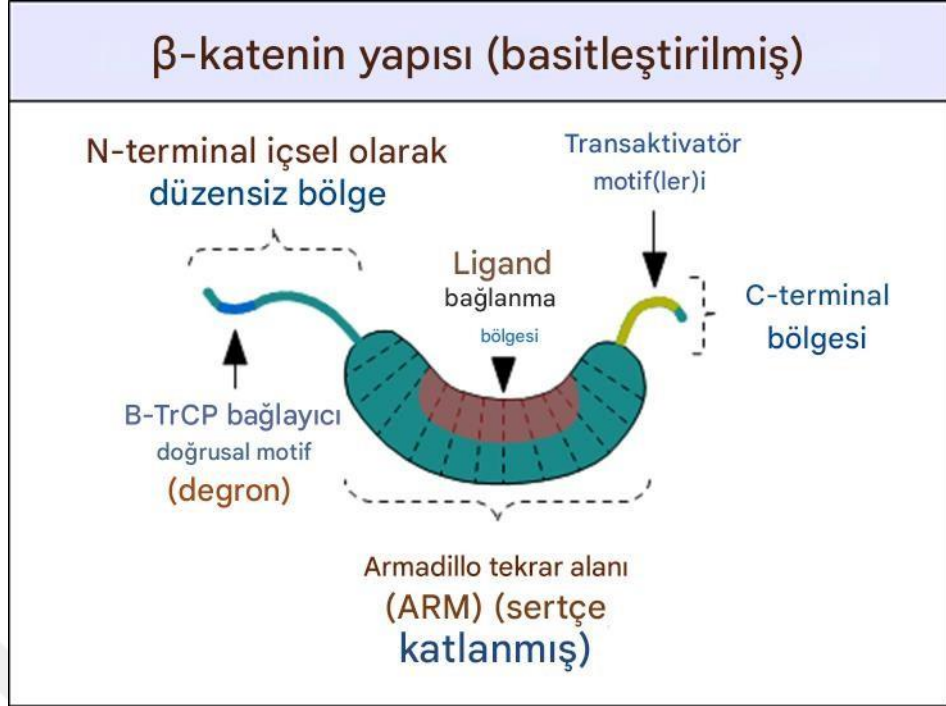
2.10.6.1 Beta-katenin yapısı

β katenin 130 amino asitlik amino-terminal alan, kol tekrarları olarak adlandırılan 42 amino asitlik 12 kusurlu tekrar ve 100 amino asitlik karboksi-terminal alandan (CTD) oluşmuştur. Merkezi alan en korunmuş alandır. Her bir armadillo tekrarı üçgen şeklinde düzenlenmiş üç heliks oluşturur. 12 tekrar, her bir tekrarın üçüncü sarmalının oluğun tabanını oluşturduğu uzun pozitif yüklü bir oluğa sahip bir süper sarmal oluşturur (Xu ve Kimelman 2007). Merkezi alan içindeki oluk birkaç bölüme ayrılabilir. Armadillo tekrarları 5-9, Tcf ve cadherin için çekirdek bağlanma bölgelerini ve adenomatöz polipozis koli (APC) için bağlanma bölgesinin önemli bir kısmını oluşturur. Armadillo tekrarları 3-4 Tcf, APC ve Axin için bir bağlanma bölgesi oluşturmuştur (Xu ve Kimelman 2007).

Çeşitli β -katenin bağlanma ortakları, merkezi bölgenin oluğunda örtüşen bağlanma bölgelerini paylaşır ve E-kaderin, APC ve T-hücre fas-tor/lenfoid arttırıcı faktör (TCF/LEF) dahil olmak üzere anahtar etkileşimcilerin karşılıklı münhasırlığını açıklar. Merkezi çekirdek, terminal uçta yaklaşık 100 aa'lık CTD tarafından kuşatılmıştır (Xing vd. 2008).

Terminal alanların dizilimi ARM tekrar alanından daha az korunmuştur. Ayrıca, yapısal olarak da esnekler ve içsel olarak düzensiz protein bölgeleri (IDPR'ler) olarak isimlendirilmişlerdir. Kesin mekanizmalar büyük ölçüde anlaşılamamış olsa da, bu düzensiz kuyruklar β -katenin'in karşılıklı etkileşim modellerini sinerjik olarak düzenlemede benzersiz rollere sahiptir (Cui vd. 2018, Zhao ve Xue 2016). β -katenin üzerindeki kanserle ilişkili mutasyonların çoğunun N-terminal alanında (NTD) bulunması da dikkat çekicidir ve bu alanın oynadığı düzenleyici rolün altını çizmektedir (Kim ve Jeong 2019).

Şekil 2.15'te gösterildiği gibi, β -katenin'in ilk tekrarı (N-terminaline yakın) diğerlerinden biraz farklıdır - çünkü 1 ve 2 numaralı helikslerin birleşmesiyle oluşan kıvrımlı uzun bir helikse sahiptir (Gottardi ve Peifer 2008).



Şekil 2.15 Beta-katenin'in basitleştirilmiş yapısı (Handwiki 2022)

ARM alanının N-terminal ve uzak C-terminal segmentleri çözeltide kendi başlarına herhangi bir yapıya sahip değildir. Yine de bu içsel olarak düzensiz bölgeler beta-katenin işlevinde çok önemli bir rol oynamaktadır. Öte yandan C-terminal bölgesi, DNA'ya bağlandığında güçlü bir transaktivatördür. Bu segment tamamen düzensiz değildir: C-terminal uzantısının bir kısmı ARM alanına karşı paketlenen kararlı bir sarmal oluşturur, ancak aynı zamanda ayrı bağlanma ortakları da olabilir (Xing vd. 2008). Bu küçük yapısal eleman (HelixC) ARM alanının C-terminal ucunu kapatarak hidrofobik kalıntıların korunmasını sağlamıştır. HelixC, beta-katenin'in hücre-hücre yapışmasında işlev görmesi için gerekli değildir. Öte yandan, Wnt sinyali için gereklidir: muhtemelen 14-3-3zeta gibi çeşitli koaktivatörleri işe almak için (Fang vd. 2007).

2.10.6.2 Beta-katenin fonksiyonları

Beta-katenin memeli beyinde her yerde bulunur. Kemirgenlerin beyinde, beta-katenin ifadesinin prefrontal korteks (Chen vd. 2012), dorsal hipokampus (Liu vd. 2012), nükleus akumbens (Dias vd. 2014), bazal amigdala (Maguschak ve Ressler 2011) ve hipotalamusta (Lee vd. 2016) olduğu bildirilmiştir.

Beynin gelişimi sırasında beta-katenin seviyelerinin kontrolü önemlidir, çünkü genin aşırı ekspresyonu nöral büyümenin artmasına ve farklılaşmanın azalmasına neden olabilirken, doğal düşüşünden önce beta-katenin ekspresyonunun erken inhibe edilmesi, progenitör nöronların artan nöronal farklılaşma ile hücre döngüsünden erken çıkmasına neden olabilir (Chenn ve Walsh 2002).

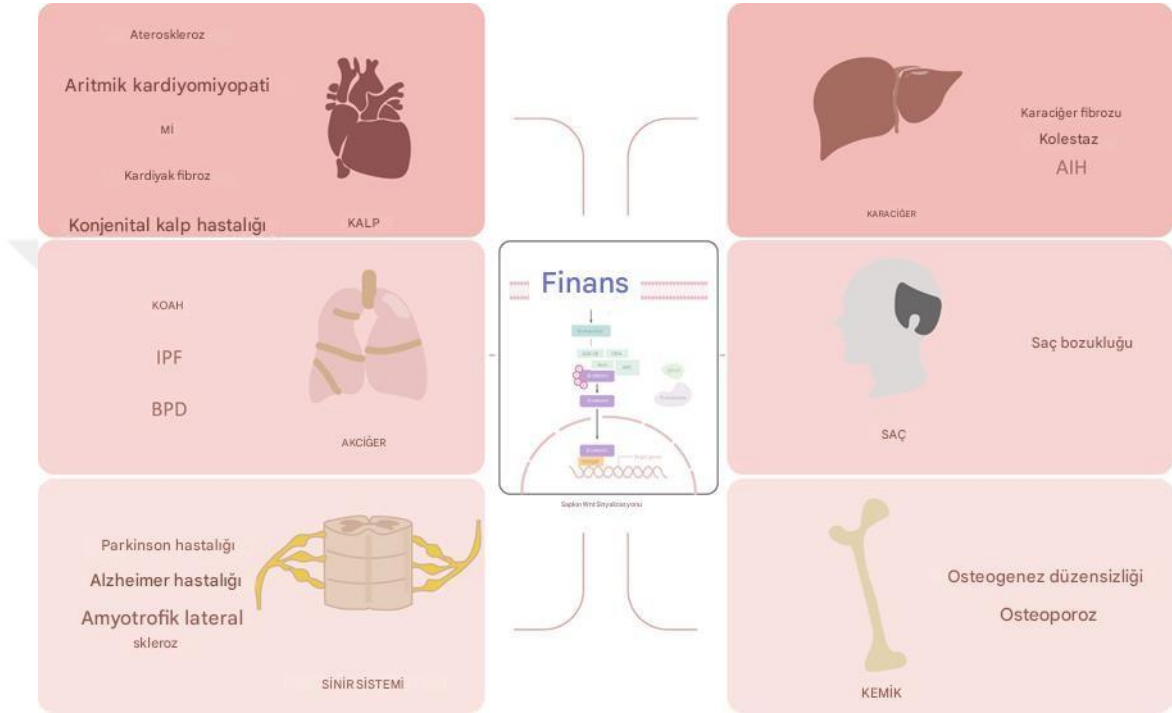
Beta-katenin, kadherin için bir çapa görevi gördüğü ve daha sonra alfa-katenin aracılığıyla hücrenin aktin hücre iskeletine bağlandığı ve böylece hücreleri birbirine bağladığı bir yapışma proteini olarak işlev görebilir. Bir yapışma proteini olarak beta-katenin, hipokampal nöronlar (Mills vd. 2014), östrus döngüsü sırasında hipotalamik nöronlar ve ayrıca aktivitesinin beyinde hafızanın oluşumu ve konsolidasyonu ile ilişkili olduğu amigdala içindeki nöronlar arasındaki sinaptik stabiliteyi etkileyebilir (Barrera-Ocampo vd. 2012). Bu bölgelerde beta-katenin östrojen tarafından düzenlenebilmektedir (Cardona-Gomez vd. 2004).

Beta-katenin ile ilgili işlev bozuklukları depresyon (Liu vd. 2012), nörodejeneratif hastalıklar (Berwick ve Harvey 2012, Ferrari vd. 2014) ve kanser (MacDonald vd. 2009, Zhan vd. 2017) gibi patolojik durumların nedenleri arasında gösterilmiştir.

β -katenin, iyi çalışılmış ve embriyonik büyüme sırasında vücut ekseninin kurulmasında ve doku ve organ gelişiminin düzenlenmesinde rol oynadığı kanıtlanmış olan WNT sinyal yolunun seminal bir bileşenidir (Aktary vd. 2016). Yetişkin organlarında bile doku homeostazı, organogenez, kök hücre bakımı, göç, apoptoz, proliferasyon, hücre yenilenmesi, onarım ve rejenerasyon gibi süreçlere önemli ölçüde katkıda bulunmuştur (Steinhart ve Angers 2018, Bastakoty ve Young 2016). İşlevsel önemi göz önüne alındığında, β -katenin'in anormal ekspresyonunun malign transformasyon, progresyon ve metastazda önemli roller oynadığı yaygın olarak kabul edilmiştir. Karsinogenezdeki etkilerine rağmen, β -katenin moleküllerini hedeflemeye yönelik terapötik müdahalelerdeki ilerlemeler hala yeni ortaya çıkmıştır (Dev Jr vd. 2023).

Wnt/ β -katenin yolu embriyonik gelişimde ve yetişkin doku homeostazında kritik roller oynamaktadır. Wnt/ β -katenin sinyalizasyonunun düzensizliği genellikle kanser ve

kanser dışı hastalıklar da dahil olmak üzere birçok ciddi hastalığa yol açmaktadır (Liu vd. 2022). Wnt/ β -katenin yolağı, akciğer, anjiyokarsinom, kemik, nöronlar ve karaciğer gelişimi ve bunlara karşılık gelen hastalıklar dahil olmak üzere farklı organların ve ilgili hastalıkların gelişiminin fiziksel ve patolojik süreçlerine katılmıştır (Şekil 2.16) (Liu vd. 2022).



Şekil 2.16 Wnt/ β -katenin yolağı ve kanser dışı hastalıklar (Liu vd. 2022)

2.10.6.3 Beta-katenin'in kanserlerdeki rolleri

Biriken kanıtlar, anormal β -katenin ekspresyonu ile kanser gelişimi arasında tartışılmaz bir ilişki olduğunu ve dolayısıyla karsinogenezde kardinal bir molekül olduğunu göstermiştir. β -katenin'in, çoklu onkogenler ve tümör baskılayıcı genler de dahil olmak üzere transkripsiyonel hedeflerinin düzenlenmesi yoluyla kanser ilerlemesi, invazyonu ve metastazında rol oynadığı bilinmektedir. β -katenin'in (APC'den bağımsız olarak) kolon karsinogenezindeki önemi, APC vahşi tip kolon kanserlerinde β -katenin geninin düzenleyici dizilerindeki mutasyonların keşfinden sonra ilgi çekmiştir (Morin vd. 1997). Mutant β -katenin, APC tarafından modüle edilen degradasyona karşı bağışıktır ve bu da onun düzensiz transkripsiyonel aktivitesine ve onkojenik işlevine yol açmıştır. β -

katenin'deki onkojenik mutasyonlar nadirdir ancak kolorektal, melanom, karaciğer ve endometriyal kanserler gibi birçok kanser türünde bildirilmiştir (Polakis 2000). Çeşitli mutasyonlar, konak hücre home-ostazını etkileyen farklı seviyelerde WNT/ β -katenin sinyalizasyonuna yol açar ve farklı organlara göre değişebilir. CTNNB1'in ekson 3'ü (aa kalıntısı 5-80), β -katenin'in amino-terminal alanındaki düzenleyici bölgeyi kodlayan ekson 3'teki yanlış anlamlı mutasyonların daha yüksek sıklığı nedeniyle bir mutasyon sıcak noktası gibi görünmektedir (Kim ve Jeong 2019). İlginç bir şekilde, TP53 geniyle ilişkili yanlış anlamlı mutasyonlar (ancak delesyonlar değil), kolorektal kanser fare modellerinde WNT/ β -katenin sinyalini aktive ederek kanser istilasına yol açarak ilişkilendirilmiştir (Nakayama vd. 2017, Levine ve Oren 2009). TP53'teki yanlış anlamlı mutasyonlar, insan kanserlerinde nispeten yaygındır ve operasyonel olmayan tümör baskılayıcı aktivitelere sahip mutant p53 proteinlerine yol açmaktadır (Mantovani vd. 2019, Kandoth vd. 2013).

Mutasyona uğramış p53 onkoproteinlerini barındıran kanser hücreleri, p53 yolağının doğasını derinden bozarak tümör saldırganlığına, istilasına ve ilaç direncine yol açmaktadır. Çeşitli kanserlerde p53'ün mutasyonel inaktivasyonunun sıklıkla β -katenin birikimi/aktivasyonu ile ilişkili olduğu gözlemlenmiştir (Sadot vd. 2001). Sandot ve arkadaşları (2001), vahşi tip p53'ün aşırı ekspresyonunun insan ve fare hücrelerinde β -katenin ekspresyonunun azalmasıyla sonuçlandığını bildirmiştir (Sadot vd. 2001). p53 ekspresyonu, β -katenin döngüsünü artıran degradasyon kompleksinin bir parçası olarak Axin'in daha yüksek mobilizasyonu ile sonuçlanmıştır (Levina vd. 2004). Adrenokortikal karsinom (ACC) için bir fare modeli kullanan Borges ve arkadaşları, β -katenin aktivasyonunun tümör oluşumunu teşvik eden p53 kaybı ile işbirliği yaptığını göstermiştir (Guichard vd. 2012).

Prostat kanseri dokuları üzerinde yapılan bir çalışmada, Wnt/ β -katenin sinyalizasyonundaki mutasyonlar TP53 mutantında daha az sıklıkta görülmüştür (Liu vd. 2021). HCC dokularından oluşan bir panelde, CTNNB1 mutasyonlarının TP53 mutasyonlarını karşılıklı olarak dışladığı bulunmuştur; bu da iki mutasyondan herhangi birinin kanserojen süreci başlatmak için yeterli olabileceğini göstermektedir (Guichard vd. 2012). Ortaya çıkan veriler, dokuya özgü kanser mutasyonlarının WNT ve p53

yolağında etkileşim içinde olduğunu göstermektedir. Son zamanlarda WNT/ β -katenin sinyali ve p53 arasındaki çapraz etkileşim Xiao ve arkadaşları (2022) tarafından kapsamlı bir şekilde gözden geçirilmiştir. Yazarlar, çeşitli seviyelerdeki çapraz konuşmanın pozitif ve negatif geri bildirim döngüleri ve reci-procal transaktivasyon ile sonuçlanabileceğini ve bunun da farklı can-cerous fenotiplerine yol açabileceğini öne sürmüştür (Xiao vd. 2022).

p53'ün aksine, p63 ve p73 gibi diğer aile üyeleri de WNT/ β -katenin sinyalizasyonunun pozitif düzenlenmesine dahil edilmiştir (Patturajan vd. 2002). Çeşitli kanserlerde p53 ailesi gen üyelerinin farklı ekspresyonu ve WNT/ β -katenin sinyalinin çift yönlü modülasyonu, daha fazla araştırılması gereken hassas bir dengeye işaret etmektedir. Kanser genomu veri tabanlarının ortaya çıkmasıyla birlikte, tümörle ilişkili çeşitli genlerin mutasyon durumunun kapsamlı ve odaklanmış analizi artık mümkündür. Memorial Sloan Kettering-Integrated Mutation Profiling of Actionable Cancer Targets çalışmasında 10.000 prospektif kanser hastasının klinik sekanslaması kullanılarak β -katenin'in geniş ölçekli mutasyonel yapısı ortaya çıkarılmıştır (Zehir vd. 2017). CTNNB1 mutasyonlarının yüksek sıklığı endometrial (%16), hepatobiliyer (%12), melanom (%7) ve kolorektal (%6) kanserlerde gözlenmiştir (Dev JR vd. 2023).

2.10.6.4 Wnt/beta-katenin sinyal yolağına genel bakış

PCa hücrelerinin AR sinyalizasyonuna bağımlılıklarını atlamak, kemoterapiye direnmek ve kastrasyona dirençli prostat kanserine (CRPCa/NEPCa) ilerlemek için kullandıkları mekanizmalardan biri, embriyonik gelişimde ve çeşitli kanser türlerinin karsinogenezinde önemli roller oynayan Wnt/ β -Catenin sinyalizasyonunun aktivasyonudur. Biriken kanıtlar Wnt/ β -Catenin sinyalizasyonunun geç evre PCa'da aktif olduğunu ve kastrata dirençli büyümeyi desteklediğini göstermiştir (Yu vd. 2009). Wnt'ler hücre kaderinin belirlenmesini, hücre çoğalmasını ve farklılaşmasını düzenleyen salgılanan sistein bakımından zengin glikoprotein ailesidir (Miller 2002). Wnt ligandlarının hücre yüzeyi reseptörlerine bağlanması sinyal iletim yollarını aktive etmektedir. Transmembran Frizzled (FZD) reseptörleri ve eş reseptör Düşük Yoğunluklu Lipoprotein Reseptör İlişkili Proteinler Wnt sinyaline aracılık etmektedir.

Transmembran E3 ligazlar, ZNRF3 ve RNF43, FZD reseptörlerinin lizozomal degradasyonunu teşvik ederek Wnt yolunu negatif olarak düzenlemiştir. Wnt sinyalizasyonunun pozitif düzenleyicileri olan salgılanan proteinler olan R-spondinler, Lösin Zengin Tekrar İçeren G Protein Bağlantılı Reseptörlere bağlanır ve ZNRF3/RNF43 E3 ligazlarının aktivitelerini inhibe ederek hücre yüzeyinde FZD reseptörlerinin ekspresyonunun artmasına ve Wnt sinyalizasyonunun aktivasyonunun artmasına neden olmuştur. Bu antagonistler, sinyal yolunun aktivasyonunu önlemek için Wnt ligandları veya Wnt reseptörleri/ko-reseptörleri üzerinde etki göstermiştir (Kawano ve Kypta 2003). Wnt yolağının aktivasyonu, kanonik Wnt/ β -Katenin yolağı ile kanonik olmayan Wnt/ Ca^{2+} ve Wnt/polarite yolaklarını içermektedir (Yeh vd. 2019). Kanonik yolakta β -Katenin, çekirdekteki Wnt sinyalinin ana aracısıdır. Aktif Wnt/ β -Katenin sinyalleşmesinin ayırt edici özelliği, hücredeki β -Katenin seviyelerinin stabilize edilmesidir (Anastas ve Moon 2013).

β -Katenin iki hücresel havuzda bulunur: membrana bağlı havuz ve sitoplazmik/nükleer havuz. Hücre zarında β -Katenin, hücre yüzeyinde E-Cadherin tabanlı yapışık bir bağlantı olan E-Cadherin/ α -Katenin/ β -Katenin kompleksinin bir bileşenidir. E-Cadherin, adherent bağlantıya bağlı β -Katenin'i hücre zarına ayırarak sitoplazmik/nükleer β -Katenin sinyalini negatif olarak düzenlemiştir. E-Cadherin kompleksi içselleştirildiğinde veya hücreler Epitelyal-Mezenkimal Geçiş (EMT) geçirmeye teşvik edildiğinde olduğu gibi ifade seviyesi azaldığında, β -Katenin sitoplazmaya salınmaktadır. β -Katenin'in tirozin fosforilasyonu da E-Cadherin/ α -Katenin/ β -Katenin kompleksinin parçalanmasını indükleyerek β -Katenin'i hücre zarından serbest bırakabilir (Lilien ve Balsamo 2005).

Epitelyal-mezenkimal geçiş (EMT) ve bunun ters süreci, normal embriyonik gelişimin organogenezi ve doku farklılaşması sırasında temel fizyolojik süreçlerdir (Zhang ve Ma 2012, Lamouille vd. 2013). EMT süreci aynı zamanda PCa da dahil olmak üzere kanser patogenezinin bir parçasıdır (Zhang vd. 2017).

Çekirdekte, β -Katenin doğrudan DNA'ya bağlanmamıştır. Bunun yerine, ko-represör protein Groucho'nun yerini alarak ve transkripsiyon faktörleri T-Hücre Faktörleri

(TCF'ler) ve Lenfoid Arttırıcı-Bağlayıcı Faktör 1 (LEF1) ile bir kompleks oluşturarak transkripsiyonel bir ko-aktivatör görevi görür. TCF/ β -Catenin kompleksine Pygopus proteinleri ve histon modifikasyon faktörleri CBP/P300 gibi birçok başka ko-faktör de katılarak aşağı akış hedef genlerinin transkripsiyonunu aktive etmiştir (Herbst vd. 2014).

Birçoğu onkogen olan bu genler aracılığıyla, anormal Wnt/ β -Catenin sinyalleşmesi kanserlerin gelişimine katkıda bulunur. Prostatta, β -Catenin aynı zamanda AR'nin bir ko-aktivatörüdür. AR ile fiziksel olarak etkileşime girer ve AR hedef genlerinin androjenle uyarılmış transkripsiyonunu artırmıştır (Yang vd. 2002). Bu, β -Catenin yıkım kompleksinin ayrışması, YAP/TAZ ve β -TrCP'nin AXIN kompleksinden uzaklaşması ve GSK3'ün inaktivasyonu ile sonuçlanır; bunların hepsi β -Catenin'in fosforilasyonunu, ubiquitinasyonunu ve proteazomal yıkımını bozmaktadır. Degradasyon kompleksinin inaktivasyonu sitoplazmik birikime ve β -Katenin'in nükleer translokasyonuna neden olmuştur (Yeh vd. 2019).

2.10.6.5 PCa'da Wnt/ β -katenin yolağının rolü

Biriken kanıtlar, Wnt/ β -Catenin sinyalizasyonunun geç evre PCa'da aktif olduğunu ve bu sinyalizasyon yolunun aktivasyonunun onkojenik olduğunu, kastrata dirençli büyümeyi sağladığını, EMT'yi indüklediğini ve PCa hücrelerinde nöroendokrin farklılaşmayı teşvik ettiğini göstermiştir (Yokoyama vd. 2014, Murillo-Garzón ve Kypta 2017). Buna bir örnek, β -katenin yıkım kompleksi için bir iskele proteini olan APC'dir. Metastatik kastrata dirençli PCa'da en sık değişen genlerden biridir (Grasso vd. 2012). Buna paralel olarak, artmış nükleer β -katenin seviyeleri metastatik CRPCa ile güçlü bir şekilde ilişkilidir (Chen vd. 2004), bu da bu sinyal yolunun bu geç evre tümörlerde aktif olduğunu göstermiştir. Ayrıca, yakın zamanda yapılan bir çalışma Wnt/ β -Catenin sinyalizasyonunu PCa'da enzalutamid direncinin gelişimi için önemli bir mekanizma olarak tanımlamıştır (Zhang vd. 2014). Tersine, Wnt yolağının küçük molekül inhibitörleri yoluyla antagonize edilmesi, β -Catenin'in düşürülmesi veya Wnt antagonistlerinin ektopik olarak ifade edilmesi enzalutamid direncini tersine çevirir ve PCa hücrelerinin proliferasyonunu ve invazyonunu inhibe etmiştir (Zhang vd. 2018a,

Yee vd. 2010). Fare modellerinde, Wnt/ β -Catenin sinyal yolunun ya APC'nin inaktivasyonu ya da GSK3 tarafından fosforilasyonunu ve ardından degradasyonunu önleyen β -Catenin ekson 3'ün silinmesi yoluyla aktivasyonu prostatlarda onkojeniktir (Francis vd. 2013, Yu vd. 2009). Hem APC null hem de β -Catenin ekson 3'ü silinmiş farelerde, aktif Wnt/ β -Catenin sinyaline sahip tümörler kastrasyondan sonra hücre çoğalmasına devam etmiştir, bu da aktif Wnt/ β -Catenin sinyalinin PCa hücrelerinin AR sinyaline bağımlılıklarını atlatmalarını ve kastrasyon direncine ilerlemelerini sağladığını göstermiştir. Ayrıca, SV40 T-antijen ve Wnt/ β -Catenin yolaklarının bileşik aktivasyonu, artan NE farklılaşması ile invaziv prostat adenokarsinomunun gelişmesiyle sonuçlanmış ve bu sinyal yolağını PCa'da NE fenotipinin kazanılmasıyla ilişkilendirmiştir (Yu vd. 2011). Birlikte ele alındığında, bu çalışmalar aktif Wnt/ β -Catenin sinyalizasyonunun PCa hücrelerinin androjen yoksunluğundan kurtulması ve CRPCa'ya ilerlemesi için bir mekanizma sağladığını göstermiştir (Yeh vd. 2019).

Wnt/ β -Catenin sinyalleşmesi, kanser metastaz kaskadının çoğu adımında yer almıştır. Birincil bölgede, Wnt/ β -Catenin sinyalizasyonunun aktivasyonu EMT'yi indükler ve kanser hücrelerinin istila etmesini sağlamıştır. Kanser hücreleri yayıldıktan sonra, sonunda makroskopik lezyonlara dönüşme yollarını geliştirmeden önce genellikle hareketsiz bir duruma girerler. Aktif Wnt/ β -Catenin sinyalizasyonunun, uyku halindeki kanser hücrelerinin hayatta kalması, uyku halinden çıkması ve makrometastatik lezyonlar oluşturması için bir mekanizma sağladığı öne sürülmüştür (Croucher vd. 2016).

3. MATERYAL VE METOT

3.1 Çalışmanın Önemi

Çalışmanın başlangıcında toplanan örnekler, çalışmanın verilerine bağlı olarak 90 örnekti ve tüm denekler erkekti ve yaş aralığı 35-90 idi. Bu çalışmanın denekleri iki gruba ayrılmıştır; hasta grubu 50 PCa hastasından ve kontrol grubu 40 sağlıklı bireyden oluşmuştur. Kontrol ve hasta grubundan sabah 08:00 ile gece 01:00 arasında kan örnekleri toplanmıştır. Tek kullanımlık bir enjektör kullanılarak damardan kan alınmıştır (5 mL). Örnekler santrifüj edilmiş ve jelli tek kullanımlık tüplere konulmuştur. Serum daha sonra analiz edilene kadar -80 °C'de saklanmıştır (Prostat spesifik antijen, Büyüme farklılaşma faktörü-15, İnsan Gal-9, İnsan CTSB, İnsan CTNNβ1 ve Hepsidin.

Ekim 2023'ten Mart 2024'e kadar, denekler Anbar Eğitim Hastanesi, Anbar Kanseri Merkezi, Heet Genel Hastanesi, Haditha Genel Hastanesi ve Kerkük Eğitim Hastanesi'nden seçilmiştir. Bu çalışmadaki bilgilerin toplanması için hastaların ve kontrol deneklerinin veya refakatçilerinin sözlü onayı alınmıştır. Çankır Karatekin Üniversitesi tarafından yayınlanan üniversite talimatına göre ve Ek 1'de gösterildiği gibi tartışma gerçekleştirilmiştir.

3.1.1 Denekler

Çalışma, tüm deneklerin erkek olduğu ve yaş aralığı 35-90 olan 90 örneklem üzerinde gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmanın denekleri iki gruba ayrılmıştır:

Hasta grubu: Çalışma grubu, uzman doktorlar tarafından teşhis edildikten sonra prostat kanserine yakalandığı doğrulanan 50 hastadan oluşmuştur. Hepsisi erkek cinsiyetindeydi ve yaşları 38 ila 90 arasında değiştirilmiştir. Araştırmacıların amacına hizmet etmek için hastaların çoğunun PSA değerleri > 4 ng/mL olmuştur.

Kontrol grubu: Grup, aralarında erkeklerin de bulunduğu 40 sağlıklı kişiden oluşmuştur. Bireylerin yaş aralığı 35 yaş ve üzeri hastaların yaş aralığına yakındır. Kontrol grubu, prostat ilaçları kullanmayan, daha önce prostat sorunu yaşamamış ve prostat hastalığına bağlı herhangi bir yan etki yaşamamış sağlıklı bireylerden oluşmuştur. Ayrıca, tüm örneklerin PSA değerleri <4 ng/mL olmuştur.

3.1.2 Dışlama kriterleri

1. PSA düzeylerini artıran bir idrar yolu enfeksiyonu (İYE) geçiren herhangi bir hasta.
2. Yakın zamanda cinsel ilişkiye girmiş veya boşalmış herhangi bir hasta, bu nedenle testten önceki 24 saat boyunca boşalmayla sonuçlanabilecek cinsel aktivitelerden kaçınmayı düşünün.
3. Kasıkta geçici morarma veya travmaya neden olan herhangi bir prosedürün PSA seviyeleri üzerinde etkisi olabilir.
4. GDF15 düzeylerini artıran kardiyovasküler hastalığı (KVH) olan hastalar.

3.1.3 Dahil edilme kriterleri

PCa'sı olan tüm hastalar.

3.2 Kan Örneği Toplama

Anbar Eğitim Hastanesi, Anbar Kanseri Merkezi, Heet Genel Hastanesi, Haditha Genel Hastanesi ve Kerkük Eğitim Hastanesi'nden örnek toplanması için resmi onaylar alındıktan sonra (Ek 2), çalışma tasarımına uygun olarak hem kontrol grubundan hem de hastalardan kan örnekleri toplanmış ve gruplara ayrılmıştır.

Toplama işlemi sabah 8:00 ile öğleden sonra 2:00 arasında gerçekleştirilmiştir. Tüm hastalara 5 mL plastik şırınga kullanılarak damar yolu açılmış ve kan örnekleri toplanmıştır. Testten önce, numuneler jel kaplara dağıtılmış ve 15 dakika boyunca

pıhtılaşmaya bırakılmıştır. Ardından, üst serum 3.000 rpm'de 15 dakika santrifüj edilerek örnekten ayrılmıştır. Serum otomatik bir pipetle ekstrakte edildi ve sterilize edilmiş bir mikrotüp eppendorfunu konuldu. Serum alikotları derhal derin dondurulmuş ve analiz gününe kadar geciktirilmeden -80 °C'de muhafaza edilmiştir.

3.3 Laboratuvar Analizinde Kullanılan Cihazlar

Çalışmada kullanılan tıbbi aletler ve klinik biyokimya analiz cihazları, tedarikçi firma ile birlikte Çizelge 3.1'de gösterilmiştir.

Çizelge 3.1 Kullanılan cihazlar ve bunları tedarik eden firmalar ve menşei

Aparatlar	SN	Şirket	Köken
Cobas c 311 Otomatik Kimya Analizörü	66R3-06	Roche (Titachi)	Japonya
Elisa ELx800	3514714	BioTek	ABD
Z-306 Üniversal Santrifüj	76B2000145	Hermle	Türkiye
Su banyosu	L513.0977	Memmert	Almanya
Buzdolabı	100269	Bosch	Almanya
Etil Alkol %96 Çözelti Antiseptik Dezenfektan	-	Tiebah Kozmetik	Irak
Pipet	YE5E507726 YE5A491999 YE5E506188	Ejderha	Çin
BMI fonksiyonlu dijital kolon tartısı	-	Seca 769	Almanya
Turnike Elastik Bandı (Mavi Renk)	-	DESCO	Hindistan
Uzun Süreli Depolama için Derin Dondurucu (- 40°C veya - 80°C), Yatay Model 2015 PLATILAB 550 H-RE	-	Angelantoni Yaşam Bilim	İtalya
Şırınga 5 mL	-	Q-Jet	Katar

3.3.1 BioTek Elisa ELx800

3.3.1.1 Genel bakış

Bu Elisa klinik, biyoteknoloji ve farmasötik laboratuvarlarında kullanılmak üzere tasarlanmıştır. Kompakt tasarımı ve kapladığı alan nedeniyle mikroparka tabanlı biyolojik testler için iyi bir çözümdür. Bağımsız olarak kullanıldığında, Elisa ELx800

yerleşik yazılımı çok çeşitli kalitatif ve kantitatif uygulamaları destekler. Okuyucunun optik özellikleri mükemmeldi ve bazı okuma modlarında 3.000 absorbans birimine kadar dinamik bir aralık sunmuştur. Dalga boyu aralığı 400-750 nm'dir. "Ultraviyole" terimi, 340 nm ila 750 nm arasında değişen dalga boylarına sahip cihazları ifade etmiştir. Devasa eğri uydurma, kesme hesaplama, veri dönüştürme ve doğrulama yetenekleri ile yerleşik bilgi indirimi, birçok bilgisayar yazılımı uygulamasından daha iyi performans göstermiştir. BioTek Elisa ELx800, veri analizi ve raporlama esnekliğini artırmak için Diagnostic Automation Veri Analiz Yazılımı ile arayüz oluşturmıştır.



Şekil 3.1 BioTek Elisa ELx800

3.3.1.2 Kalibrasyon çalışması ve sonuç okuma

BioteK Elisa xl 800 tam otomatiktir, bu nedenle cihaz haritalarına kitler için kalibrasyon ekleriz. Bazı kitler, her bir kite bağlı olarak dört veya beş veya daha fazla kalibrasyon içerir. Daha sonra haritalara standardı yerleştirin, ardından numune numaralarını seçin ve sonuçları okumak için başlat düğmesine basın.

3.3.2 Roche Cobas e 411 otomatik kimya analizörü

3.3.2.1 Genel bakış

Roche Diagnostics'in cobas e 411 analizörü tam otomatik, yazılım kontrollü bir klinik kimya analizörüdür. Çok çeşitli analitik testleri kullanarak hem kantitatif hem de kalitatif in vitro tayinler için tasarlanmıştır. Cobas e 411 analizörü fotometrik tahliller ve iyon seçici elektrot ölçümleri için serum/plazma kullanmıştır (Şekil 3.2).



Şekil 3.2 Roche Cobas e 411 Otomatik Kimya Analizörü

Cobas e 411 bağımsız olarak çalışan bir Klinik Kimya analizörüdür. Uyarlanabilir bir sistemin kullanılması, kimya alanında hem rutin hem de özel iş yüklerinin birleştirilmesine olanak tanır. Yerleşik test özellikleri arasında bir saatte maksimum 480 testin gerçekleştirildiği 45 test bulunmaktadır. Analizör serum, plazma, idrar, beyin omurilik sıvısı (CSF), hemolizat ve tam kan dahil olmak üzere çeşitli vücut sıvılarını değerlendirmek için kullanılmıştır.

3.3.2.2 Kalibrasyon çalışması ve sonuç okuma

Kalibrasyon prosedürü ve cobas e 411'deki numunelerin okunması çok kolaydır çünkü cobas e 411 tam otomatiktir. Cihaz sadece solüsyonun seri numarasını bu kitin barkodunu okuyan kırmızı sağ ışıktan geçirir. Ardından kalibrasyon ve QC'yi barkodları dışarı bakacak şekilde dış sıradaki hasta pozisyonlarına yerleştirin. Numune, değerlerini okumak için uygun bir konuma yerleştirilmiş ve daha sonra cihaz monitöründen bu numune için testler seçilerek okuma için başlatılmıştır.

3.3.3 Z-306 üniversal santrifüj (HERMLE) (76B2000145)

Bu çalışmada Çin menşeli 5000 devir/dakika hızında bir santrifüj kullanılmıştır. Kan toplandıktan sonra 3000 devir hızındaki cihazda beş dakika süreyle ayrıştırılmıştır (Şekil 3.3).



Şekil 3.3 Z-306 Üniversal Santrifüj (HERMLE)

3.3.4 Memmert su banyosu (WNE 22) (L513.0977)

Memmert su banyoları, standart laboratuvarda ısıtma işlemlerinin yapılması için tavsiye edilmiştir. Erozyona dayanıklı paslanmaz çelikten yapılmıştır ve zararlı aşırı ısınmaya karşı çift koruma ile karakterize edilmiştir. Memmert WNB su banyoları, son teknoloji kontrol teknolojisi, hassas ısı kontrolü ve izleme ve gelişmiş güvenlik koruması sunmuştur.

3.4 Biyokimyasal Kitler

Bu çalışmada kullanılan kitler, tedarikçi firma ile birlikte Çizelge 3.3'te gösterilmiştir.

Çizelge 3.2 Kullanılan malzemeler ve kitler

Kitler	Ref.	Şirket	Köken
Prostat Spesifik Antijen (PSA) Cobas kiti	70823703	Roche	Almanya
Büyüme Farklılaşma Faktörü 15 (GDF15) ELISA kiti	FU274B8P6851	Elabscience	ABD
İnsan Hepcidin kiti	MBS2881688	Roche Diagnostics GmbH	Almanya
İnsan CTNNβ1 (Katenin, Beta 1) ELISA Kiti	FU29DBXD0133	Elabscience®	ABD
İnsan CTSB (Cathepsin B) ELISA Kiti	FU30N8D24039	Elabscience®	ABD
İnsan GAL9 (Galektin 9) ELISA Kiti	FU31040V7949	Elabscience®	ABD

3.4.1 Prostat spesifik antijen (70823703)

PSA veya prostat spesifik antijen, erkeklerde prostat bezinin hem normal hem de kötü huylu hücreleri tarafından üretilen bir proteindir. PSA testi bir erkeğin kanındaki PSA seviyesini belirlemiştir. Prostat kanseri olan erkeklerde kandaki PSA seviyeleri sıklıkla yükselmiştir. Bu testte analiz için bir kan örneği (serumdan ayrılmış olmalıdır) bir laboratuvara gönderilmiştir. Tipik olarak sonuçlar mililitre kan başına nanogram PSA (ng/mL) olarak ifade edilmiştir (Ilic vd. 2018).

3.4.1.1 PSA prensibi

1. İnkübasyon: 12 µL numune, biyotinlenmiş monoklonal PSA-spesifik antikor ve rutenyum kompleksi ile işaretlenmiş monoklonal PSA-spesifik antikor) bir sandviç kompleksi oluşturmak üzere reaksiyona girmiştir.
2. İnkübasyon: Streptavidin kaplı mikropartiküllerin eklenmesinden sonra kompleks, biotin ve streptavidin etkileşimi yoluyla katı faza bağlanmıştır.
3. Reaksiyon karışımı, mikropartiküllerin elektrot yüzeyine manyetik olarak yakalandığı ölçüm hücresine aspire edilir. Bağlanmamış maddeler daha sonra ProCell II M ile uzaklaştırılır. Elektroda bir voltaj uygulanması daha sonra bir fotomultiplier ile ölçülen kemilüminesan emisyonu neden olmuştur.
4. Sonuçlar, cihaza özel olarak 2 noktalı kalibrasyonla oluşturulan bir kalibrasyon eğrisi ve cobas bağlantısı aracılığıyla sağlanan bir ana eğri aracılığıyla belirlenmiştir.

3.4.1.2 Reaktifler ve içindekiler

Total prostat spesifik antijende bulunan tüm içerik Çizelge 3.4'te açıklanmıştır.

Çizelge 3.3 PSA hormon kitleri için sağlanan malzemeler ve saklama koşulları

Kısaltma	Reaktif	Miktar
M	Streptavidin kaplı mikropartiküller: Streptavidin kaplı mikropartiküller 0,72 mg/mL; koruyucu.	1 şişe, 14,1 mL
R1	Anti-PSA-Ab~biotin: Biyotinlenmiş monoklonal anti-PSA antikor (fare) 1,5 mg/L; fosfat tamponu 100 mmol/L, pH 6,0; koruyucu.	1 şişe, 18,8 mL
R2	Anti-PSA-Ab~Ru(bpy): Rutenyum kompleksi ile işaretlenmiş monoklonal anti-PSA antikor (fare) 1.0 mg/L; Biotin tutucu antikor 0.6 mg/mL; fosfat tampon 100 mmol/L, pH 6.0; koruyucu.	1 şişe, 18,8 mL

3.4.1.3 Reaktifin hazırlanması

Ölçüm aralığının üzerinde tPSA konsantrasyonlarına sahip numuneler Diluent Universal ile seyreltilebilir. Önerilen seyreltme 1:50'dir (analizör tarafından otomatik olarak veya manuel olarak). Seyreltilmiş numunenin konsantrasyonu ≥ 2 ng/mL olmalıdır. Manuel seyreltmeden sonra, sonucu seyreltme faktörü ile çarpın. Analizör tarafından seyreltildikten sonra, yazılım numune konsantrasyonunu hesaplarken seyreltmeyi otomatik olarak dikkate almıştır.

3.4.1.4 PSA prosedürü

Testin optimum performansı için bu belgede ilgili analiz cihazı için verilen talimatları izleyin.

1. Mikropartiküllerin yeniden süspansiyonu kullanımdan önce otomatik olarak gerçekleşir.
2. Soğutulmuş (2-8 °C'de saklanmış) cobas e paketini reaktif yöneticisine yerleştirin.
3. Köpük oluşumundan kaçının.
4. Sistem reaktiflerin sıcaklığını ve cobas e paketinin açılıp kapanmasını otomatik olarak düzenler.

3.4.2 Human GDF15 (FU274B8P6851)

Dönüştürücü büyüme faktörü beta proteinleri süper ailesine aittir ve bu ailenin bir üyesidir. Normal koşullar mevcut olduğunda, organların çoğu GDF15'i düşük seviyelerde ifade eder; ancak karaciğer, böbrek, kalp ve akciğerler gibi organların hasar görmesinden sonra GDF15 kontrolsüz hale gelir ve yüksek seviyelerde birikmeye başlar. çeşitli memeli dokularında bulunur, TGF- süper ailesinin bir bileşenidir ve TGF- süper ailesine aittir. TGF-üst ailesinin uzak bir akrabasıdır. Bu genin ifadesi sıkı bir şekilde kontrol edilir ve çeşitli hücrel stres biçimlerine yanıt olarak düzenli olarak aktive edilmiştir. GDF15'in kanser ve kalp hastalığı da dahil olmak üzere çok çeşitli hastalıklardan muzdarip hastalarda önemli bir prognostik faktör olduğu gösterilmiştir.

3.4.2.1 Prensip

Bu ELISA kiti Sandviç-ELISA prensibini kullanır. Bu kitte sağlanan mikro ELISA plakası, İnsan GDF15'e spesifik bir antikor ile önceden kaplanmıştır. Örnekler (veya Standartlar) mikro ELISA plakası kuyucuklarına eklenir ve spesifik antikor ile birleştirilir. Daha sonra İnsan GDF15'e spesifik bir biyotinlenmiş tespit antikoru ve Avidin Horseradish Peroksidaz (HRP) konjugatı her bir mikro plaka kuyucuğuna art arda eklenir ve inkübe edilmiştir. Serbest bileşenler yıkanarak uzaklaştırılmıştır. Substrat çözeltisi her bir kuyucuğa eklenmiştir. Yalnızca İnsan GDF15, biyotinlenmiş tespit antikoru ve Avidin-HRP konjugatı içeren kuyucuklar mavi renkte görünecektir. Enzim-substrat reaksiyonu durdurma çözeltisi eklenerek sonlandırılır ve renk sarıya dönmüştür. Optik yoğunluk (OD) 450 ± 2 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak ölçülmüştür. OD değeri İnsan GDF15 konsantrasyonu ile orantılıdır. Numunelerdeki İnsan GDF15 konsantrasyonunu, numunelerin OD değerini standart eğriyle karşılaştırarak hesaplayabilirsiniz.

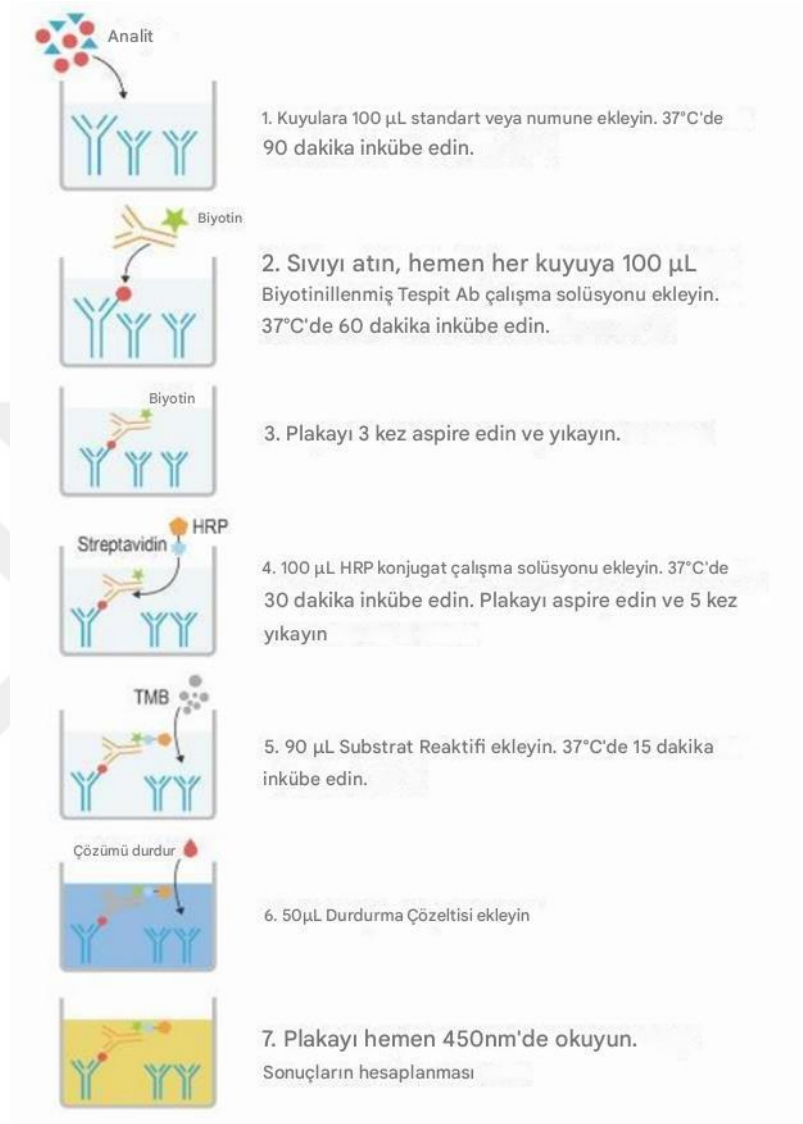
3.4.2.2 Seyreltme yöntemi

- Test numunenizin seyreltilmesi gerekiyorsa, lütfen aşağıdaki seyreltme yöntemine bakın:
- 100 kat seyreltme için: Tek adımlı seyreltme. 100 kat seyreltme elde etmek için 495 μ L numune seyrelticiğine 5 μ L numune ekleyin.
- 1000 kat seyreltme için: İki adımlı seyreltme. 20 kat seyreltme elde etmek için 95 μ L numune seyrelticiğine 5 μ L numune ekleyin, ardından 245 μ L numune seyrelticiğine 5 μ L 20 kat seyreltilmiş numune ekleyin, bundan sonra temiz numune 1000 kat başarıyla seyreltilmiştir.
- 100000 kat seyreltme için: Üç aşamalı seyreltme. 40 kat seyreltme elde etmek için 195 μ L örnek seyrelticiğine 5 μ L örnek ekleyin, ardından 50 kat seyreltme elde etmek için 245 μ L örnek seyrelticiğine 5 μ L 40 kat seyreltilmiş örnek ekleyin ve son olarak 245 μ L örnek seyrelticiğine 5 μ L 2000 kat seyreltilmiş örnek ekleyin, bundan sonra temiz örnek 100000 kat başarıyla seyreltilmiştir

3.4.2.3 Test prosedürü

1. Seyreltilmiş standart, blank ve numune için kuyuları belirleyin. Uygun kuyucuklara standart, blank ve numunenin her bir dilüsyonundan 100 µL ekleyin (Tüm numunelerin ve standartların iki kopya halinde analiz edilmesi önerilir. Numunelerin seyreltme oranının ön deneyler veya teknik destek önerileri yoluyla belirlenmesi tavsiye edilir). Plakayı kitle birlikte verilen kapatıcı ile kapatın. 37°C'de 90 dakika boyunca inkübe edin. Not: çözeltiler mikro ELISA plakasının alt kısmına eklenmeli, iç duvara temas etmekten ve mümkün olduğunca köpürmeye neden olmaktan kaçınılmalıdır.
2. Her bir kuyudan sıvıyı boşaltın, yıkamayın. Her bir kuyucuğa hemen 100 µL Biotinlenmiş Tespit Ab çalışma solüsyonu ekleyin. Plakayı yeni bir kapatıcı ile örtün. 37°C'de 1 saat boyunca inkübe edilmiştir.
3. Her bir kuyudan çözeltiyi boşaltın , her bir kuyuya 350 µL yıkama tamponu ekleyin. 1 dakika bekletin ve her bir kuyudan solüsyonu aspire edin veya boşaltın ve temiz emici kağıt üzerinde kurulayın. Bu yıkama adımını 3 kez tekrarlayın. Not: Bu adımda ve diğer yıkama adımlarında bir mikrolaka yıkayıcı kullanılabilir. Test edilen şeritleri yıkama adımından hemen sonra kullanıma hazır hale getirin. Kuyuların kurumasına izin vermeyin.
4. Her kuyucuğa 100 µL HRP Konjugat çalışma solüsyonu ekleyin. Plakayı yeni bir kapatıcı ile örtün. 37°C'de 30 dakika inkübe edin.
5. Her bir kuyudan çözeltiyi boşaltın, yıkama işlemini adım 3'te gerçekleştirildiği gibi 5 kez tekrarlayın.
6. Her bir kuyucuğa 90 µL Substrat Reaktif ekleyin. Plakayı yeni bir kapatıcı ile kapatın. 37°C'de yaklaşık 15 dakika inkübe edin. Plakayı ışıktan koruyun. Not: Reaksiyon süresi gerçek renk değişimine göre kısaltılabilir veya uzatılabilir, ancak 30 dakikadan fazla olmamalıdır. OD ölçümünden önce Mikrolaka Okuyucuyu yaklaşık 15 dakika önceden ısıtın.
7. Her bir kuyucuğa 50 µL Durdurma Solüsyonu ekleyin. Not: Durdurma çözeltisinin eklenmesi substrat çözeltisiyle aynı sırada yapılmalıdır (Şekil 3.4).

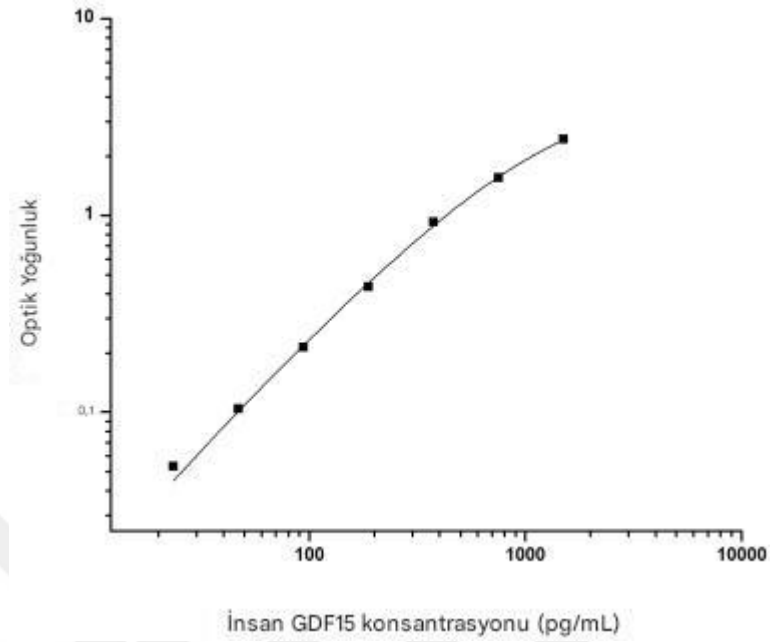
8. Her bir kuyucuğun OD değerini 450 nm'ye ayarlanmış bir mikro-plaka okuyucu ile tek seferde belirleyin.



Şekil 3.4 İnsan GDF15 için test prosedürü özeti

3.4.2.4 Standart eğri

Serum GDF15 konsantrasyonunu hesaplamak için standart eğri ve bilgisayar çizim yazılımı kullanıldığında, Şekil 3.5 serum GDF15 konsantrasyonunun absorpsiyon değerinden nasıl hesaplandığını göstermiştir. Bu nedenle, GDF15'in normal serum konsantrasyonu 85 ila 450 (pg/mL) arasında olmuştur.



Şekil 3.5 Serum GDF15 konsantrasyon ortalamasının standart eğrisi (pg/mL)

3.4.3 Hepcidin (MBS2881688)

Hepcidin, insanlarda HAMP geni tarafından kodlanan bir proteindir. Hepcidin, demir elementinin memeli dolaşım sistemine girişinin kritik bir düzenleyicisidir. Hepcidin, demir elementi eksikliği anemisi, hemolitik anemi ve etkisiz eritropoez anemisinde azalmıştır. Ancak bu koşullarda hepsidin baskılanmasına aracılık eden mekanizmalar aynı olmayabilmektedir.

3.4.3.1 Prensip

Bu kit, hedef antijene (Hipsidin hormonu) özgü bir antikor ile önceden kaplanmış bir mikrotitre plakası içermiştir. Standartlar veya numuneler ilgili mikrotitre plakası kuyucuklarında hedef antijene özgü biotin-konjuge antikor preparatıyla inkübe edildikten sonra her bir mikroplaka kuyucuğu HRP'ye bağlı avidin ile muamele edilmiştir. Ardından, her bir kuyucuğa TMB içeren bir substrat çözeltisi uygulanmıştır. Hedef antijen, biyotinle konjuge edilmiş antikor ve enzimle konjuge edilmiş Avidin içeren kuyucukların renginde farklılıklar olacaktır. Enzim-substrat etkileşimini

sonlandırmak için bir sülfürik asit çözeltisi eklenir ve 450 nm 2 nm'deki spektrofotometrik renk kayması tespit edilmiştir. Örneklerdeki hedef antijen konsantrasyonu daha sonra referans eğrinin OD değeriyle karşılaştırılarak belirlenmiştir.

3.4.3.2 Reaktif hazırlama

Standart - Lütfen kitin içinde bulunan Veri Sayfasına bakın Tespit Reaktifleri A ve B - Testi kullanarak çalışma konsantrasyonuna kadar seyreltin. Seyrelticiler A ve B (1:100) kullanılmıştır. Konsantrede kristaller oluşmuşsa, oda sıcaklığına getirin ve tüm kristaller çözülene kadar hafifçe karıştırın. 30 mL Yıkama Tamponu seyreltilmiş Konsantreyi deiyonize veya distile su ile seyrelterek 750 mL Yıkama Tamponu hazırlanmıştır.

3.4.3.3 Test prosedürü

Tüm reaktiflerin oda sıcaklığına ulaşmasını bekleyin (Lütfen reaktifleri doğrudan 37°C'de çözmezin). Tüm reaktifler pipetlemeden önce hafifçe döndürülerek iyice karıştırılmalıdır. Köpüklenmeden kaçının. Bir deney için uygun sayıda şerit bulundurun ve mikrotitre plakasından fazla şeritleri çıkarın. Çıkarılan şeritler tekrar kapatılmalı ve kitlerin son kullanma tarihine kadar -20°C'de saklanmalıdır. Tüm reaktifleri, çalışma standartlarını ve numuneleri önceki bölümlerde belirtildiği şekilde hazırlayın. Lütfen tahlilden önce konsantrasyonu tahmin edin. Bunların değerleri standart eğri aralığında değilse, kullanıcılar kendi deneyleri için en uygun numune seyreltmelerini belirlemelidir.

1. Kuyu başına 100 µL Standart, Boş veya Örnek ekleyin. Plaka kapatıcı ile kapatın. 37°C'de 2 saat boyunca inkübe edin.
2. Her bir kuyucuktaki sıvıyı çıkarın, yıkamayın. Her bir kuyucuğa 100µL Tespit Reaktif A çalışma solüsyonu ekleyin. Plaka kapatıcı ile kapatın. 37°C'de 1 saat inkübe edin. Tespit Reaktif A çalışma solüsyonu bulanık görünebilir. Oda sıcaklığına kadar ısıtın ve çözelti homojen görünene kadar hafifçe karıştırın.

3. Her bir kuyucuğu aspire edin ve toplam üç yıkama için işlemi üç kez tekrarlayarak yıkayın. Bir fışkırtma şişesi, çok kanallı pipet, manifold dağıtıcı veya otomatik yıkayıcı kullanarak her bir kuyucuğu Yıkama Tamponuyla (yaklaşık 400 µL) doldurarak yıkayın ve 1~2 dakika bekletin. Her adımda sıvının tamamen uzaklaştırılması iyi performans için gereklidir. Son yıkamadan sonra, kalan Yıkama Tamponunu aspire ederek veya boşaltarak çıkarın. Plakayı ters çevirin ve temiz kağıt havlulara kurulayın.
4. Her bir kuyucuğa 100µL Saptama Reaktif B çalışma solüsyonu ekleyin. Yeni bir Plaka kapatıcı ile kapatın. 37°C'de 1 saat boyunca inkübe edin.
5. Aspirasyon/yıkama işlemini adım 3.6'da gerçekleştirildiği gibi 5 kez tekrarlayın. 6. Her bir kuyucuğa 90µL Substrat Çözeltisi ekleyin. Yeni bir Plaka kapatıcı ile kapatın. 37°C'de 15-30 dakika içinde inkübe edin. Işıktan koruyun.
6. Her bir kuyucuğa 50µL Durdurma Solüsyonu ekleyin. Renk değişimi düzgün görünmüyorsa, iyice karışmasını sağlamak için plakaya hafifçe vurun.
7. Her bir kuyucuğun OD değerini 450 nm'ye ayarlanmış bir mikrolaka okuyucu kullanarak tek seferde belirleyin.

3.4.4 Human Galectin 9 (FU31040V7949)

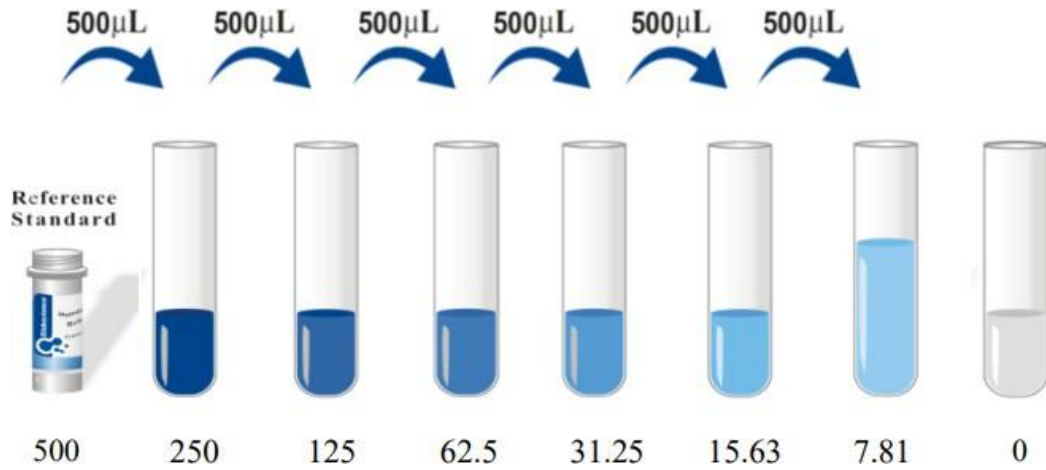
3.4.4.1 Test Prensibi

Bu ELISA kiti Sandviç-ELISA prensibini kullanmıştır. Bu kitle sağlanan mikro ELISA plakası GAL-9'a spesifik bir antikor ile önceden kaplanmıştır. Örnekler (veya Standartlar) mikro ELISA plakası kuyucuklarına eklenir ve spesifik antikor ile birleştirilir. Daha sonra İnsan GAL-9'a spesifik bir biyotinlenmiş tespit antikor ve Avidin-HRP konjugatı her bir mikro plaka kuyucuğuna art arda eklenir ve inkübe edilmiştir. Serbest bileşenler yıkanarak uzaklaştırılmıştır. Substrat çözeltisi her bir kuyucuğa eklenmiştir. Sadece İnsan GAL-9, biyotinlenmiş tespit antikor ve Avidin-HRP konjugatı içeren kuyucuklar mavi renkte görünecektir. Enzim-substrat reaksiyonu durdurma çözeltisi eklenerek sonlandırılır ve renk sarıya dönmüştür. OD değeri 450 ± 2 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak ölçülmüştür. OD değeri İnsan GAL-9

konsantrasyonu ile orantılıdır. Numunelerin OD değerini standart eğri ile karşılaştırarak numunelerdeki İnsan GAL-9 konsantrasyonunu hesaplayabilirsiniz.

3.4.4.2 Reaktif hazırlama

1. Kullanmadan önce tüm reaktifleri oda sıcaklığına (18-25°C) getirin. Kit tek bir deneyde kullanılmayacaksa, lütfen yalnızca mevcut deney için gerekli şeritleri ve reaktifleri çıkarın ve kalan şeritleri ve reaktifleri gerekli koşullarda saklayın.
2. Yıkama Tamponu: 750 mL Yıkama Tamponu hazırlamak için 30 mL Konsantre Yıkama Tamponunu 720 mL deiyonize veya distile su ile seyreltin. Not: Konsantrede kristaller oluşmuşsa, 40°C su banyosunda ısıtın ve kristaller tamamen çözülene kadar hafifçe karıştırın.
3. Standart çalışma çözeltisi: Standardı 10.000×g'de 1 dakika santrifüjleyin. 1 mL Referans Standart ve Numune Seyreltici ekleyin, 10 dakika bekletin ve birkaç kez hafifçe ters çevirin. Tamamen çözündükten sonra bir pipetle iyice karıştırın. Bu sulandırma 500 pg/mL'lik bir çalışma çözeltisi üretir (veya 1 mL Referans Standart ve Numune Seyreltici ekleyin, 1-2 dakika bekletin ve ardından düşük hızlı bir vorteks ölçer ile iyice karıştırın. Vorteks sırasında oluşan kabarcıklar nispeten düşük hızda santrifüjlenerek giderilebilir). Ardından gerektiği şekilde seri seyreltmeler yapın. Önerilen seyreltme gradyanı aşağıdaki gibidir: 500 、 250 、 125 、 62.5 、 31.25 、 15.637.81、 0 pg/mL. Seyreltme yöntemi: 7 EP tüpü alın, her tüpe 500 µL Referans Standart ve Örnek Seyreltici ekleyin. 500 µL 500 pg/mL çalışma solüsyonunu ilk tüpe pipetleyin ve 250 pg/mL çalışma solüsyonu elde etmek için karıştırın. Bu adıma göre ilk tüpten ikinci tüpe 500 µL çözelti pipetleyin. Bir sonraki sayfadaki çizim referans içindir. Not: son tüp boş olarak kabul edilir. Önceki tüpten içine çözelti pipetlemeyin. Gradient seyreltilmiş standart çalışma çözeltisi kullanımdan hemen önce hazırlanmalıdır (Şekil 3.6).



Şekil 3.6 İnsan Gal-9 testinin seyreltme yöntemi

4. Biotinlenmiş Tespit Ab çalışma solüsyonu: Deneyden önce gerekli miktarı hesaplayın (100 µL/kuyu). Hazırlık aşamasında, hesaplanandan biraz daha fazla hazırlanmalıdır. Konsantre Biotinlenmiş Deteksiyon Ab'yi 800×g'de 1 dakika santrifüjleyin, ardından 100× Konsantre Biotinlenmiş Deteksiyon Ab'yi Biotinlenmiş Deteksiyon Ab Seyreltici ile 1× çalışma çözeltisine seyreltin (Konsantre Biotinlenmiş Deteksiyon Ab: Biotinlenmiş Saptama Ab Seyreltici= 1:99). Çalışma solüsyonu kullanımdan hemen önce hazırlanmalıdır.

5. HRP Konjugat çalışma çözeltisi: HRP Konjugat, HRP konjuge avidindir. Deneyden önce gerekli miktarı hesaplayın (100 µL/kuyu). Hazırlık aşamasında, hesaplanandan biraz daha fazla hazırlanmalıdır. Konsantre HRP Konjugatını 800×g'de 1 dakika santrifüjleyin, ardından 100× Konsantre HRP Konjugatını HRP Konjugat Seyreltici ile 1× çalışma çözeltisine seyreltin (Konsantre HRP Konjugatı: HRP Konjugat Seyreltici= 1:99). Çalışma çözeltisi kullanımdan hemen önce hazırlanmalıdır.

3.4.4.3 Test prosedürü

1. Seyreltilmiş standart, blank ve numune için kuyuları belirleyin. Uygun kuyucuklara standart, blank ve numunenin her bir dilüsyonundan 100 µL ekleyin (Tüm numunelerin ve standartların iki kopya halinde analiz edilmesi önerilir. Numunelerin seyreltme

oranın ön deneyler veya teknik destek önerileri yoluyla belirlenmesi tavsiye edilir). Plakayı kitle birlikte verilen kapatıcı ile kapatın. 37°C'de 90 dakika boyunca inkübe edin. Not: çözeltiler mikro ELISA plakasının alt kısmına eklenmeli, iç duvara temas etmekten ve mümkün olduğunca köpürmeye neden olmaktan kaçınılmalıdır.

2. Her bir kuyudan sıvıyı boşaltın, yıkamayın. Her bir kuyucuğa hemen 100 µL Biyotinlenmiş Tespit Ab çalışma solüsyonu ekleyin. Plakayı yeni bir kapatıcı ile örtün. 37°C'de 1 saat boyunca inkübe edin.

3. Her bir kuyudan çözeltiyi boşaltın , her bir kuyuya 350 µL yıkama tamponu ekleyin. 1 dakika bekletin ve her bir kuyudan solüsyonu aspire edin veya boşaltın ve temiz emici kağıt üzerinde kurulayın. Bu yıkama adımını 3 kez tekrarlayın. Not: Bu adımda ve diğer yıkama adımlarında bir mikroparka yıkayıcı kullanılabilir. Test edilen şeritleri yıkama adımından hemen sonra kullanıma hazır hale getirin. Kuyuların kurumasına izin vermeyin.

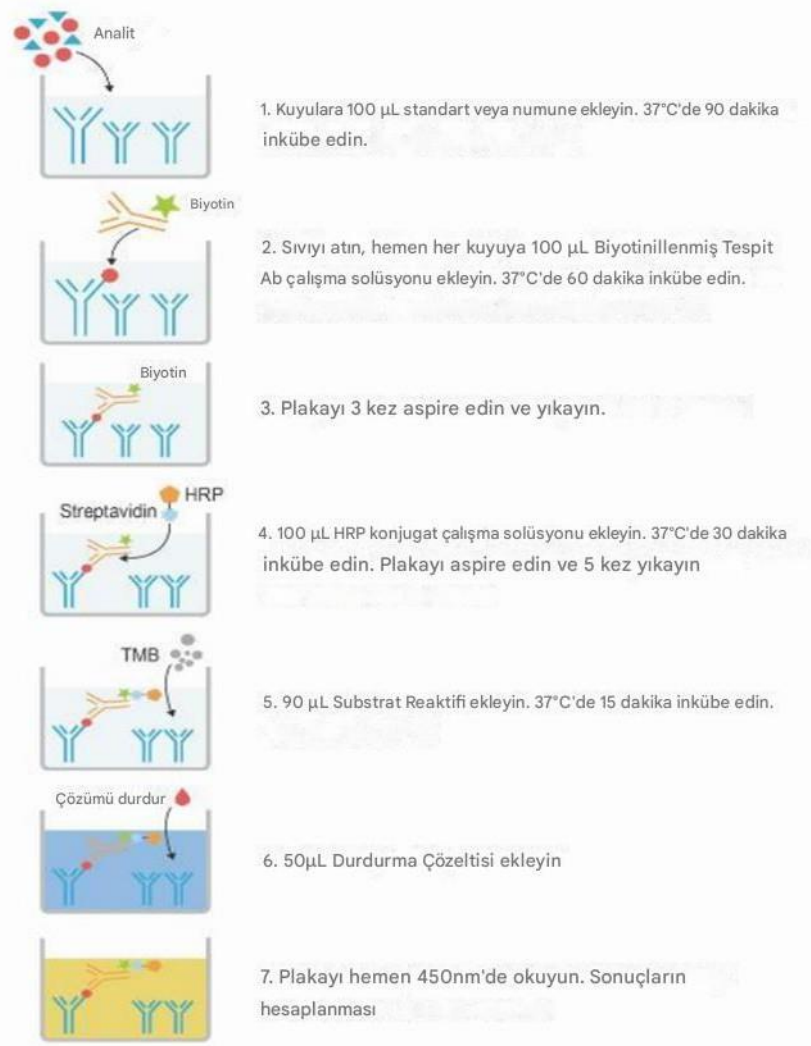
4. Her kuyucuğa 100 µL HRP Konjugat çalışma solüsyonu ekleyin. Plakayı yeni bir kapatıcı ile örtün. 37°C'de 30 dakika inkübe edin.

5. Her bir kuyudan çözeltiyi boşaltın, yıkama işlemini adım 3'te gerçekleştirildiği gibi 5 kez tekrarlayın.

6. Her bir kuyucuğa 90 µL Substrat Reaktif ekleyin. Plakayı yeni bir kapatıcı ile kapatın. 37°C'de yaklaşık 15 dakika inkübe edin. Plakayı ışıktan koruyun. Not: Reaksiyon süresi gerçek renk değişimine göre kısaltılabilir veya uzatılabilir, ancak 30 dakikadan fazla olmamalıdır. OD ölçümünden önce Mikroparka Okuyucuyu yaklaşık 15 dakika önceden ısıtın.

7. Her bir kuyucuğa 50 µL Durdurma Solüsyonu ekleyin. Not: Durdurma çözeltisinin eklenmesi substrat çözeltisiyle aynı sırada yapılmalıdır (Şekil 3.7).

8. Her bir kuyucuğun OD değerini 450 nm'ye ayarlanmış bir mikro-plaka okuyucu ile tek seferde belirleyin.



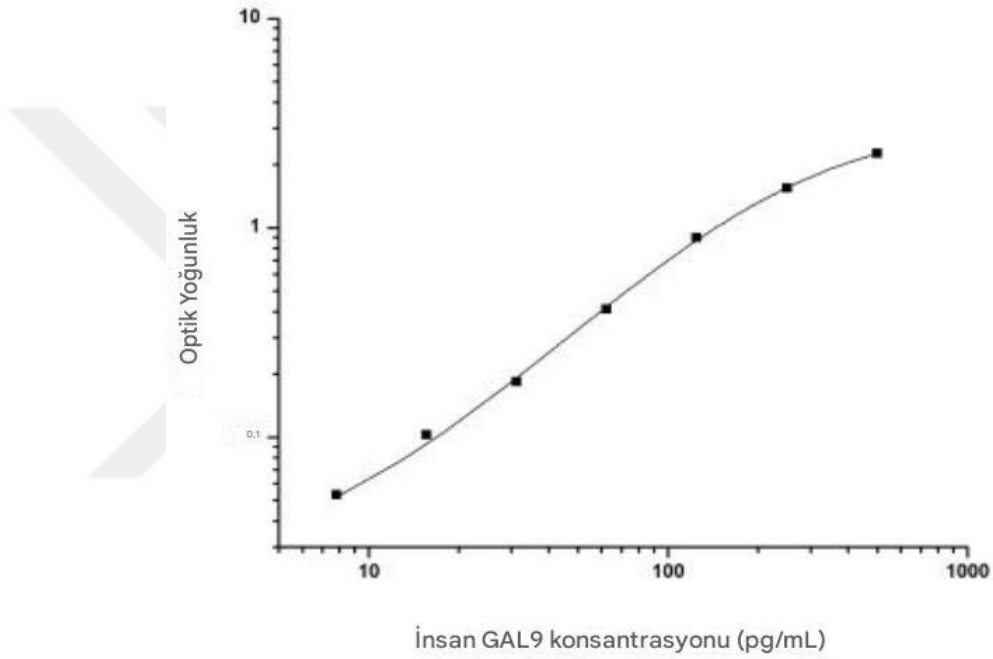
Şekil 3.7 Test prosedürü özeti

3.4.4.4 Örnek toplama

Serum: Numuneleri oda sıcaklığında 1 saat veya 28 °C'de 1000×g'de 20 dakika santrifüjlemeden önce 28 °C'de bir gece boyunca pıhtılaşmaya bırakın. Testi gerçekleştirmek için süpernatantı toplanmıştır. Plazma: Antikoagülan olarak EDTA Na2 kullanarak plazmayı toplayın. Örnekleri toplandıktan sonraki 30 dakika içinde 28 °C'de 1000×g'de 15 dakika santrifüjleyin. Deneyi gerçekleştirmek için süpernatantı toplanmıştır.

3.4.4.5 Standart Eğri

Serum Gal-9 konsantrasyonunu hesaplamak için standart eğri ve bilgisayar çizim yazılımı kullanıldığında, Şekil 3.8 serum Gal-9 konsantrasyonunun absorpsiyon değerinden nasıl hesaplandığını göstermiştir. Bu nedenle, Gal-9'un normal serum konsantrasyonu 25 ila 90 (pg/mL.) arası olmuştur.



Şekil 3.8 Serum Gal-9 konsantrasyon ortalamasının standart eğrisi (pg/mL)

3.4.5 Human Kathepsin B (CTSB)

3.4.5.1 Prensip

Bu ELISA kiti Sandviç-ELISA prensibini kullanmıştır. Bu kitle sağlanan mikro ELISA plakası, İnsan CTSB'ye spesifik bir antikor ile önceden kaplanmıştır. Örnekler (veya Standartlar) mikro ELISA plakası kuyucuklarına eklenir ve spesifik antikor ile birleştirilmiştir. Daha sonra İnsan CTSB'ye spesifik bir biyotinlenmiş tespit antikor ve Avidin-HRP konjugatı her bir mikro plaka kuyucuğuna art arda eklenir ve inkübe

edilmiştir. Serbest bileşenler yıkanarak uzaklaştırılır. Substrat çözeltisi her bir kuyucuğa eklenmiştir. Sadece İnsan CTSB, biyotinlenmiş tespit antikoru ve Avidin-HRP konjugatı içeren kuyucuklar mavi renkte görünecektir. Enzim-substrat reaksiyonu durdurma çözeltisi eklenerek sonlandırılır ve renk sarıya dönmüştür. OD değeri 450 ± 2 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak ölçülmektedir. OD değeri İnsan CTSB konsantrasyonu ile orantılıdır. Numunelerdeki İnsan CTSB konsantrasyonunu, numunelerin OD değerini standart eğriyle karşılaştırarak hesaplayabilirsiniz.

3.4.5.2 Test prosedürü

1. Seyreltilmiş standart, blank ve numune için kuyuları belirleyin. Uygun kuyucuklara standart, blank ve numunenin her bir dilüsyonundan 100 µL eklenmiştir (Tüm numunelerin ve standartların iki kopya halinde analiz edilmesi önerilir. Numunelerin seyreltme oranının ön deneyler veya teknik destek önerileri yoluyla belirlenmesi tavsiye edilir). Plakayı kitle birlikte verilen kapatıcı ile kapatın. 37°C'de 90 dakika boyunca inkübe edilmiştir. Not: çözeltiler mikro ELISA plakasının alt kısmına eklenmeli, iç duvara temas etmekten ve mümkün olduğunca köpürmeye neden olmaktan kaçınılmalıdır.
2. Her bir kuyudan sıvıyı boşaltın, yıkamayın. Her bir kuyucuğa hemen 100 µL Biyotinlenmiş Tespit Ab çalışma solüsyonu ekleyin. Plakayı yeni bir kapatıcı ile örtün. 37°C'de 1 saat boyunca inkübe edilmiştir.
3. Her bir kuyudan çözeltiyi boşaltın, her bir kuyuya 350 µL yıkama tamponu ekleyin. 1 dakika bekletin ve her bir kuyudan solüsyonu aspire edin veya boşaltın ve temiz emici kağıt üzerinde kurulayın. Bu yıkama adımını 3 kez tekrarlayın. Not: Bu adımda ve diğer yıkama adımlarında bir mikropilaka yıkayıcı kullanılabilir. Test edilen şeritleri yıkama adımından hemen sonra kullanıma hazır hale getirin. Kuyuların kurumasına izin vermeyin.
4. Her kuyucuğa 100 µL HRP Konjugat çalışma solüsyonu ekleyin. Plakayı yeni bir kapatıcı ile örtün. 37°C'de 30 dakika inkübe edin.

5. Her bir kuyudan çözeltiyi boşaltın, yıkama işlemini adım 3'te gerçekleştirildiği gibi 5 kez tekrarlayın.

6. Her bir kuyucuğa 90 µL Substrat Reaktifi ekleyin. Plakayı yeni bir kapatıcı ile kapatın. 37°C'de yaklaşık 15 dakika inkübe edin. Plakayı ışıktan koruyun. Not: Reaksiyon süresi gerçek renk değişimine göre kısaltılabilir veya uzatılabilir, ancak 30 dakikadan fazla olmamalıdır. OD ölçümünden önce Mikroplaka Okuyucuyu yaklaşık 15 dakika önceden ısıtın.

7. Her bir kuyucuğa 50 µL Durdurma Solüsyonu ekleyin. Not: Durdurma çözeltisinin eklenmesi substrat çözeltisiyle aynı sırada yapılmalıdır.

8. Her bir kuyucuğun OD değerini 450 nm'ye ayarlanmış bir mikro-plaka okuyucu ile tek seferde belirleyin.

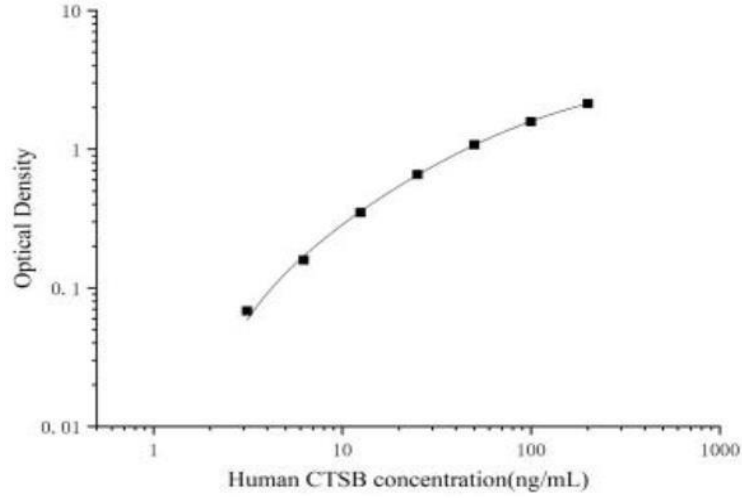
3.4.5.3 Örnek toplama

Serum: Numuneleri 28°C'de 1000×g'de 20 dakika santrifüjlemeden önce oda sıcaklığında 1 saat veya gece boyunca 2-8'de pıhtılaşmaya bırakın. Testi gerçekleştirmek için süpernatantı toplanmıştır.

Plazma: Antikoagülan olarak EDTA Na₂ kullanarak plazmayı toplayın. Örnekleri toplandıktan sonraki 30 dakika içinde 100 0×g'de 2-8'de 15 dakika santrifüjleyin. Deneyi gerçekleştirmek için süpernatantı toplanmıştır.

3.4.5.4 Standart Eğri

Serum CTSB konsantrasyonunu hesaplamak için standart eğri ve bilgisayar çizim yazılımı kullanıldığında, Şekil 3.9 serum CTSB konsantrasyonunun absorpsiyon değerinden nasıl hesaplandığını göstermiştir. Bu nedenle, CTSB'nin normal serum konsantrasyonu 12 ila 85 (ng/mL) arası olmuştur.



Şekil 3.9 Serum CTSB konsantrasyonunun standart eğrisi ortalama (ng/mL)

3.4.6 Human CTNN β 1(Katenin, Beta 1)

3.4.6.1 Test prensibi

Bu ELISA kiti Sandviç-ELISA prensibini kullanmıştır. Bu kitle sağlanan mikro ELISA plakası, İnsan CTNN β 1'e spesifik bir antikor ile önceden kaplanmıştır. Örnekler (veya Standartlar) mikro ELISA plakası kuyucuklarına eklenir ve spesifik antikor ile birleştirilir. Daha sonra, İnsan CTNN β 1 için spesifik bir biyotinlenmiş tespit antikor ve Avidin-HRP konjugatı her bir mikro plaka kuyucuğuna art arda eklenir ve inkübe edilmiştir. Serbest bileşenler yıkanarak uzaklaştırılır. Substrat çözeltisi her bir kuyucuğa eklenmiştir. Sadece İnsan CTNN β 1, biyotinlenmiş tespit antikor ve Avidin-HRP konjugatı içeren kuyucuklar mavi renkte görünecektir. Enzim-substrat reaksiyonu durdurma çözeltisi eklenerek sonlandırılır ve renk sarıya dönmüştür. OD değeri 450 ± 2 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak ölçülmüştür. OD değeri İnsan CTNN β 1 konsantrasyonu ile orantılıdır. Numunelerdeki İnsan CTNN β 1 konsantrasyonunu, numunelerin OD değerini standart eğriyle karşılaştırarak hesaplayabilirsiniz.

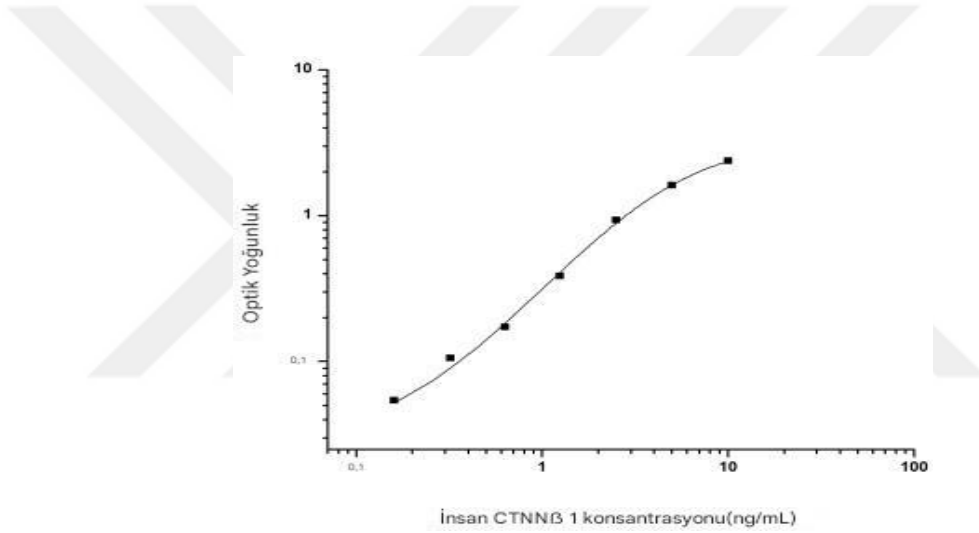
3.4.6.2 Test prosedürü

1. Seyreltilmiş standart, blank ve numune için kuyuları belirleyin. Uygun kuyucuklara standart, blank ve numunenin her bir dilüsyonundan 100 µL ekleyin (Tüm numunelerin ve standartların iki kopya halinde analiz edilmesi önerilir. Numunelerin seyreltme oranının ön deneyler veya teknik destek önerileri yoluyla belirlenmesi tavsiye edilir). Plakayı kitle birlikte verilen kapatıcı ile kapatın. 37°C'de 90 dakika boyunca inkübe edin. Not: çözeltiler mikro ELISA plakasının alt kısmına eklenmeli, iç duvara temas etmekten ve mümkün olduğunca köpürmeye neden olmaktan kaçınılmalıdır.
2. Her bir kuyudan sıvıyı boşaltın, yıkamayın. Her bir kuyucuğa hemen 100 µL Biyotinlenmiş Tespit Ab çalışma solüsyonu ekleyin. Plakayı yeni bir kapatıcı ile örtün. 37°C'de 1 saat boyunca inkübe edin.
3. Her bir kuyudan çözeltiyi boşaltın , her bir kuyuya 350 µL yıkama tamponu ekleyin. 1 dakika bekletin ve her bir kuyudan solüsyonu aspire edin veya boşaltın ve temiz emici kağıt üzerinde kurulayın. Bu yıkama adımını 3 kez tekrarlayın. Not: Bu adımda ve diğer yıkama adımlarında bir mikrolaka yıkayıcı kullanılabilir. Test edilen şeritleri yıkama adımından hemen sonra kullanıma hazır hale getirin. Kuyuların kurumasına izin vermeyin.
4. Her kuyucuğa 100 µL HRP Konjugat çalışma solüsyonu ekleyin. Plakayı yeni bir kapatıcı ile örtün. 37°C'de 30 dakika inkübe edin.
5. Her bir kuyudan çözeltiyi boşaltın, yıkama işlemini adım 3'te gerçekleştirildiği gibi 5 kez tekrarlayın.
6. Her bir kuyucuğa 90 µL Substrat Reaktif ekleyin. Plakayı yeni bir kapatıcı ile kapatın. 37°C'de yaklaşık 15 dakika inkübe edin. Plakayı ışıktan koruyun. Not: Reaksiyon süresi gerçek renk değişimine göre kısaltılabilir veya uzatılabilir, ancak 30 dakikadan fazla olmamalıdır. OD ölçümünden önce Mikrolaka Okuyucuyu yaklaşık 15 dakika önceden ısıtın.
7. Her bir kuyucuğa 50 µL Durdurma Solüsyonu ekleyin. Not: Durdurma çözeltisinin eklenmesi substrat çözeltisiyle aynı sırada yapılmalıdır.

8. Her bir kuyucuğun OD değerini 450 nm'ye ayarlanmış bir mikro-plaka okuyucu ile tek seferde belirleyin.

3.4.6.3 Standart Eğri

Serum CTNN β 1 konsantrasyonunu hesaplamak için standart eğri ve bilgisayar çizim yazılımı kullanıldığında, Şekil 3.10 serum CTNN β 1 konsantrasyonunun absorpsiyon değerinden nasıl hesaplandığını göstermiştir. Bu nedenle, CTNN β 1'in normal serum konsantrasyonu 0,53 ila 1,55 Ortalama (ng/mL) arası olmuştur.



Şekil 3.10 Serum CTNN β 1 konsantrasyon ortalamasının standart eğrisi (ng/mL)

3.5 İstatistiksel Analiz

Farklı faktörlerin çalışma parametreleri üzerindeki etkisini belirlemek için istatistiksel analiz sistemi - Spss v. 26 (2019) kullanılmıştır. Gruplar arasındaki farkların anlamlılığını T testi kullanılarak karşılaştırılmıştır. Çalışılan biyobelirteçler arasındaki ilişkiyi belirlemek için Pearson korelasyonu kullanılmıştır. İstatistiksel önem düzeyi 0.05'ten küçük bir P değeri olarak belirlenmiştir. Her parametre için ortalama, standart sapma (SD) ve T-testinden oluşan tanımlayıcı istatistikler hesaplanmıştır. Ayrıca, parametrelerin ve korelasyonların grafiklerini çizmek için Minitab İstatistik Yazılımı kullanılmıştır.

4. BULGULAR

4.1 Çalışma Katılımcılarının Temel Klinik Özellikleri

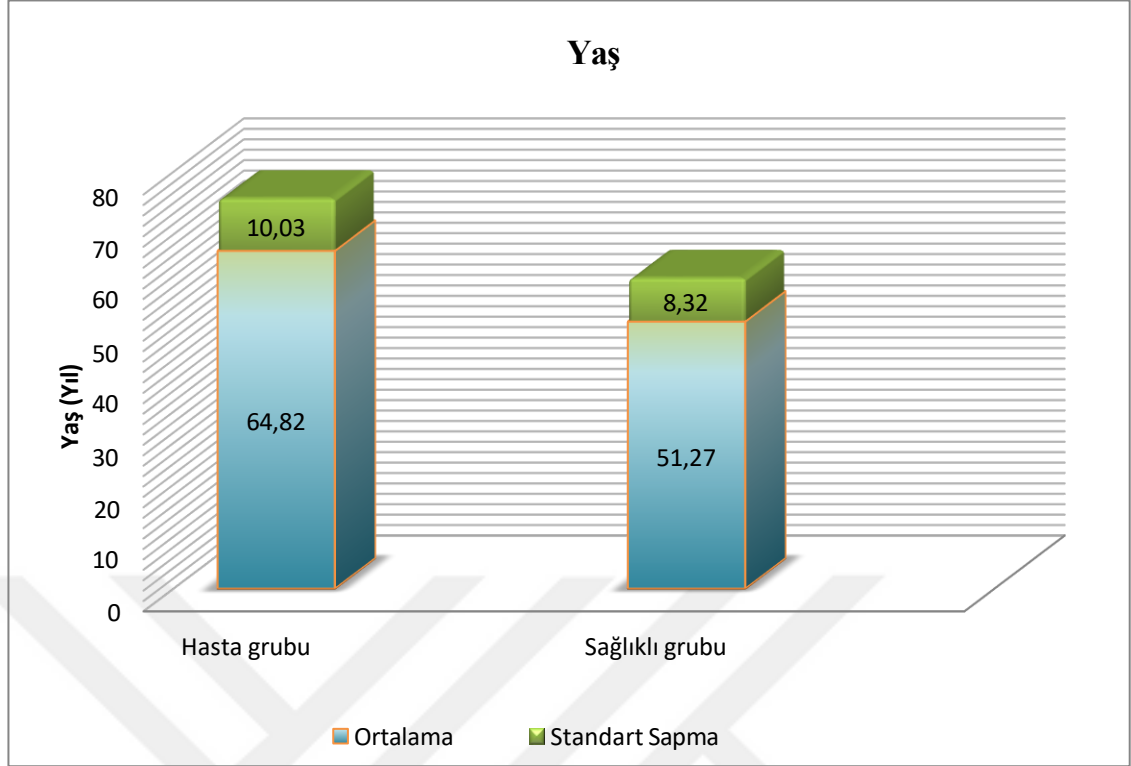
Araştırma 50 PCa hastası ve 40 sağlıklı katılımcıdan oluşmuştur. Sağlıklı katılımcılar ve PCa hastalarının klinik özellikleri ve demografik verileri bu bölümde açıklanmıştır.

Hasta grubunun yaş ortalaması 64.82 ± 10.03 , kontrol grubunun yaş ortalaması ise 58.80 ± 8.32 olarak hesaplanmıştır. Katılımcıların yaşlarının gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gösterdiği tespit edilmiştir ($t = -6.958$, p değeri=0,000). Hasta grubunun yaşı kontrol grubundan daha yüksek olmuştur (Şekil 4.1, Çizelge 4.1).

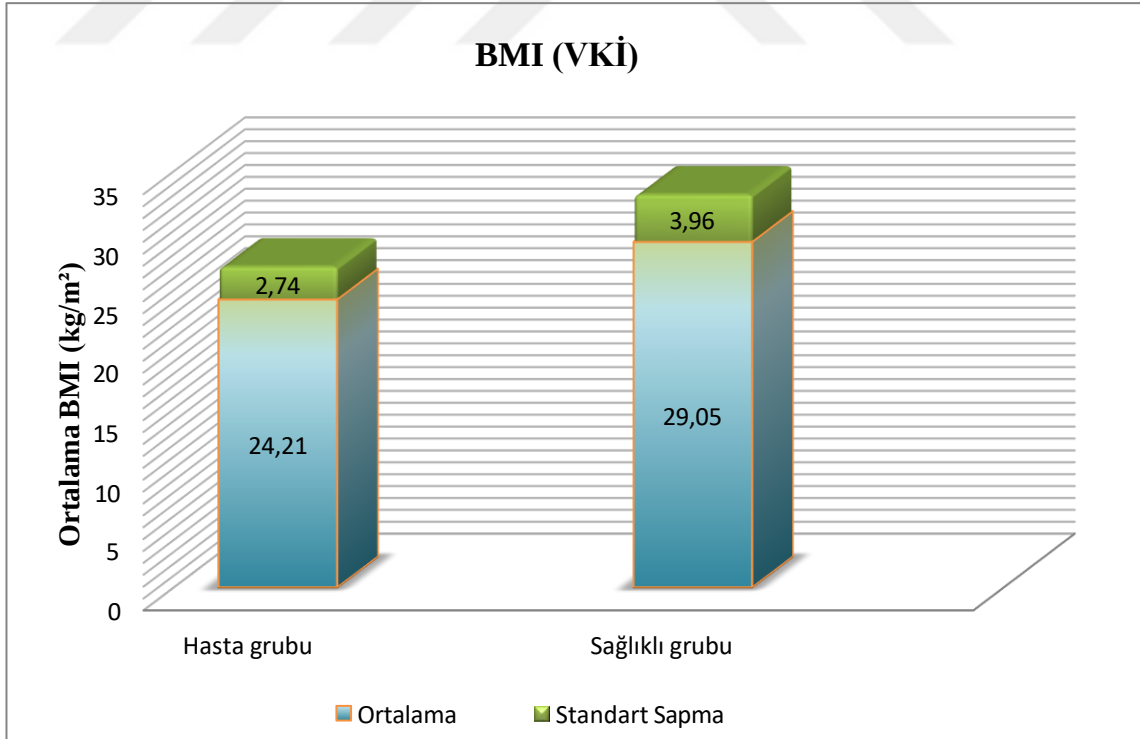
Hasta grubunun ortalama vücut ağırlığı 72.56 ± 7.33 iken, kontrol grubunun ortalama vücut ağırlığı 83.82 ± 9.50 'dir. Katılımcıların yaşlarının gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gösterdiği tespit edilmiştir ($t = -6.350$, p değeri=0,0001). Hasta grubunun vücut ağırlığı kontrol grubuna göre daha düşük bulunmuştur.

Hasta grubunun boy ortalaması 173.32 ± 5.50 iken kontrol grubunun boy ortalaması 170.23 ± 7.09 'dur. Katılımcıların yaşlarının gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gösterdiği tespit edilmiştir ($t = 2.332$, p değeri=0,022.). Hasta grubu kontrol grubuna göre daha uzun boylu olmuştur.

Hasta grubunun VKİ ortalaması 24.21 ± 2.74 ve kontrol grubunun VKİ ortalaması 29.05 ± 3.96 olarak hesaplanmıştır. Katılımcıların VKİ'lerinin gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gösterdiği tespit edilmiştir ($t = -6.839$, p değeri=0,000.). Hasta grubunun VKİ'si kontrol grubundan daha düşük bulunmuştur (Şekil 4.2, Çizelge 4.2).



Şekil 4.1 PCa hastaları ve sağlıklı katılımcılar arasındaki yaş



Şekil 4.2 PCa hastaları ve sağlıklı katılımcılar arasındaki VKİ

Çizelge 4.1 Katılımcıların demografik özellikleri

Parameter	Gruplar	n	Ortalama	Standart Sapma	Minimum	Maksimum	t testi	p değeri
Yaş	Hasta	50	64,82	10,03	38,00	98,00	6,858	0,000*
	Kontrol	40	51,27	8,32	35,00	73,00		
Ağırlık	Hasta	50	72,56	7,33	56,00	85,00	- 6,350	0,000*
	Kontrol	40	83,82	9,50	69,00	110,00		
Uzun boylu	Hasta	50	173,32	5,50	163,00	183,00	2,332	0,022*
	Kontrol	40	170,23	7,09	154,00	196,00		
BMI (VKİ)	Hasta	50	24,21	2,74	17,59	29,41	- 6,839	0,000*
	Kontrol	40	29,05	3,96	20,30	41,91		

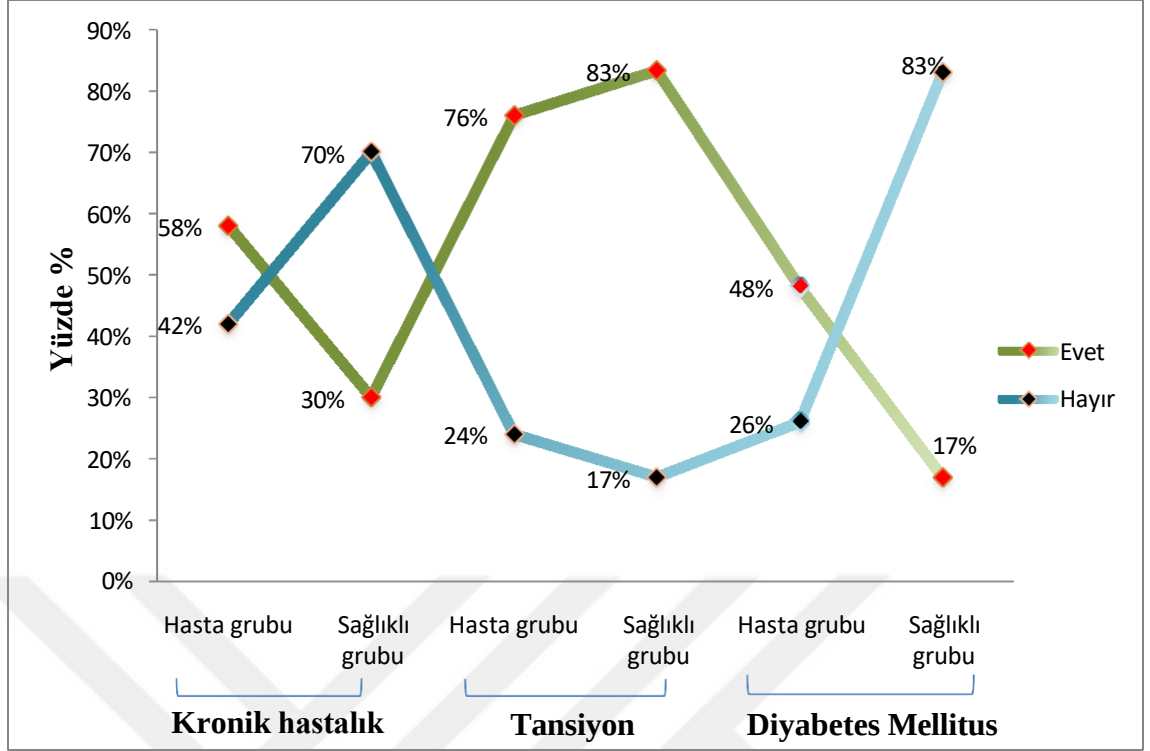
t test: Independent samples t testi, *p<0,05.

Katılımcıların grupları ile kronik hastalıkları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmuştur (Ki-kare (X^2) =7,024; p=0,008). Hasta grubundaki katılımcıların %58'inin kronik hastalığının olduğu; kontrol grubundaki katılımcıların ise %70'inin kronik hastalığının olmadığı tespit edilmiştir. Hasta grubundaki kişilerin %75,9'unun Tansiyon, %86,2'sinin DM hastası olduğu tespit edilmiştir. Kontrol grubundaki katılımcıların %83,3'ünün Tansiyon, %75'inin DM hastası olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.2, Şekil 4.3).

Çizelge 4.2 Katılımcıların hastalık özellikleri

Parametre		Grup				Toplam		Ki kare test	p değeri
		Hasta		Kontrol					
		n	%	n	%	n	%		
Kronik hastalıklar	Evet	29	58,0	12	30,0	41	45,6	7,024 ^P	0,008*
	Hayır	21	42,0	28	70,0	49	54,4		
Kan Basıncı	Evet	22	75,9	10	83,3	32	78,0	0,012 ^{CC}	0,911
	Hayır	7	24,1	2	16,7	9	22,0		
Diyabet	Evet	4	13,8	3	25,0	7	17,1	0,169 ^{CC}	0,681
	Hayır	25	86,2	9	75,0	34	82,9		
Hastalık süresi	2 yıldan az	24	48,0	0	0,0	24	48,0	-----	---
	2 -- 3 ve yıl arası	13	26,0	0	0,0	13	26,0		
	3 yıldan fazla	13	26,0	0	0,0	13	26,0		

*p<0,05; P=Pearson ki kare; CC= Süreklilik düzeltmesi



Şekil 4.3 PCa hastalarında ve sağlıklı katılımcılarda kronik hastalık dağılımları

4.2 Biyokimyasal Parametreler

PCa hastalarında ve sağlıklı gruplarda Psa, GDF15, Gal-9, İnsan CTNN β 1, İnsan CTSD ve insan hepsidin hormonu gibi laboratuvar belirteçlerinin kan konsantrasyonları Çizelge 4.3'te gösterilmiştir.

Çizelge 4.3 İki grupta biyokimyasal test bulguları için serum konsantrasyonları

Test	Grup	n	Ortalama	Standart Sapma	Minimum	Maksimum	t testi	p değeri
PSA (ng/mL)	Hasta	50	25,18	10,68	8,60	42,00	16,094	0,000*
	Kontrol	40	0,87	0,33	0,32	1,73		
	Toplam	90	14,37	14,50	0,32	42,00		
GDF15 (ng/mL)	Hasta	50	743,22	277,311	366,70	1705,00	6,446	0,000*
	Kontrol	40	453,96	137,98	195,10	773,50		
	Toplam	90	614,66	267,53	195,10	243,00		
GAL-9 (pg/mL)	Hasta	50	127,14	52,49	55,00	243,00	11,136	0,000*
	Kontrol	40	39,64	16,28	14,00	75,00		
	Toplam	90	88,25	59,53	14,00	243,00		

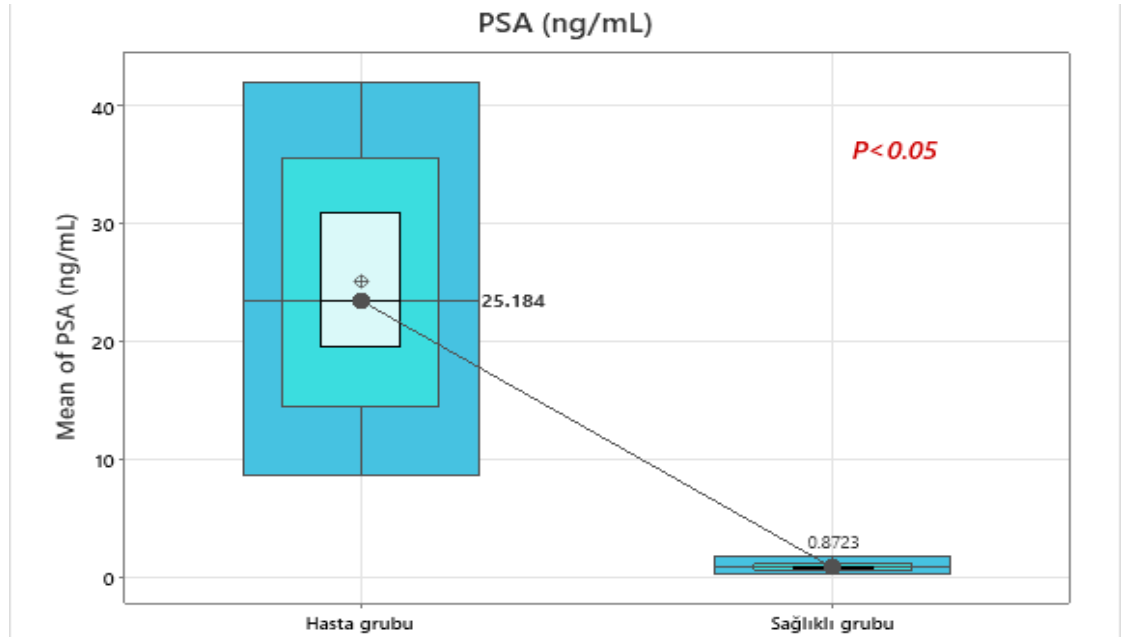
Çizelge 4.3 İki grupta biyokimyasal test bulguları için serum konsantrasyonları (Devam eden)

Human CTNN β 1 (ng/mL)	Hasta	50	1,77	0,52	0,91	2,98	13,553	0,000*
	Kontrol	40	0,68	0,19	0,45	1,18		
	Toplam	90	1,29	0,68	0,45	2,98		
Human CTSB (ng/mL)	Hasta	50	116,02	39,44	32,00	207,00	5,227	0,000*
	Kontrol	40	80,40	24,76	20,00	112,00		
	Toplam	90	20,00	207,00	100,18	37,97		
Hepcidin Hor. (pg/mL)	Hasta	50	36,91	13,45	16,34	61,98	09,019	0,000*
	Kontrol	40	17,51	6,34	2,64	32,42		
	Toplam	90	2,64	61,98	28,28	14,53		

t test: İndependent samples t testi, *p<0,05.

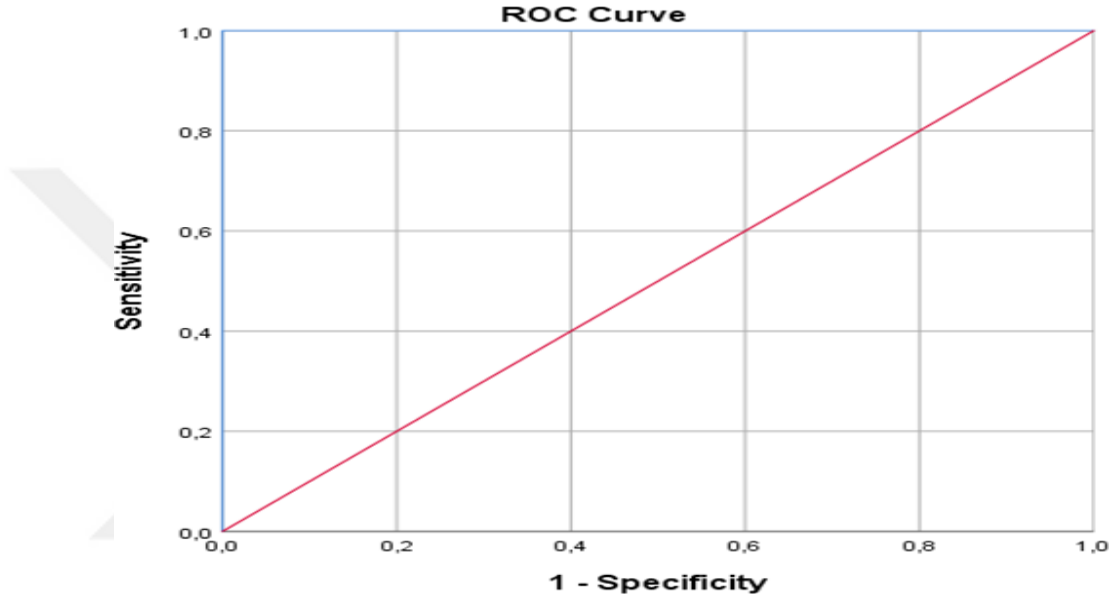
4.2.1 Prostat spesifik antijen (PSA) seviyeleri

Katılımcıların PSA değerlerinde gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmuştur ($t=16.094$; $p=0.000$). Hasta grubunun PSA değeri ($25,28\pm20,68$) kontrol grubundan ($0,87\pm0,33$) daha yüksek olmuştur. PKa hastalarında serum PSA düzeyleri ($25,28\pm20,68$ ng/mL) sağlıklı katılımcılardan ($0,87\pm0,33$ ng/mL) anlamlı olarak daha yüksek olmuştur ($p<0,001$) (Çizelge 4.3 ve Şekil 4.4).



Şekil 4.4 Hasta ve kontrol grupları arasında üre PSA konsantrasyonları

Kesim skorunu bulmak için yapılan ROC analizi, kesim skorunun 1,61 olduğunu göstermiştir. Duyarlılık ve özgüllük değerleri sırasıyla 1.000 ve 0.025 olarak elde edilmiştir. ROC eğrisi altında kalan alan istatistiksel olarak anlamlılı bulunmuştur (alan=1.000 p=0.000). ROC eğrisi altında kalan alan için 0,80'in üzerindeki bir alan oldukça iyi olarak kabul edilir ve ilgili alan 1,000 ile yüksek düzeyde kabul edilmiştir (Şekil 4.5, Çizelge 4.4).



Şekil 4.5 PSA'nın performansının ROC eğrisi analizi

Çizelge 4.4 PSA'da eğrinin altında kalan alan

Test Sonucu Değişken(ler)i: PSA				
Alan	Std. Hata ^a	Asimptotik Sig.	Asimptotik %95 Güven Aralığı	
			Alt Sınır	Üst Sınır
1,000	0,000	0,000	1,000	1,000

Ek 3'de gösterildiği gibi, ROC analizi kesme puanının 1.61 olduğunu göstermiştir. Duyarlılık için 1.000 ve özgüllük için 0.025 değerleri elde edilmiştir. Olabilirlik oranının (LR) en yüksek noktası, yani olabilirlik değeri, 1,61'lik kesme noktası olarak bulunmuştur (Ek 3).

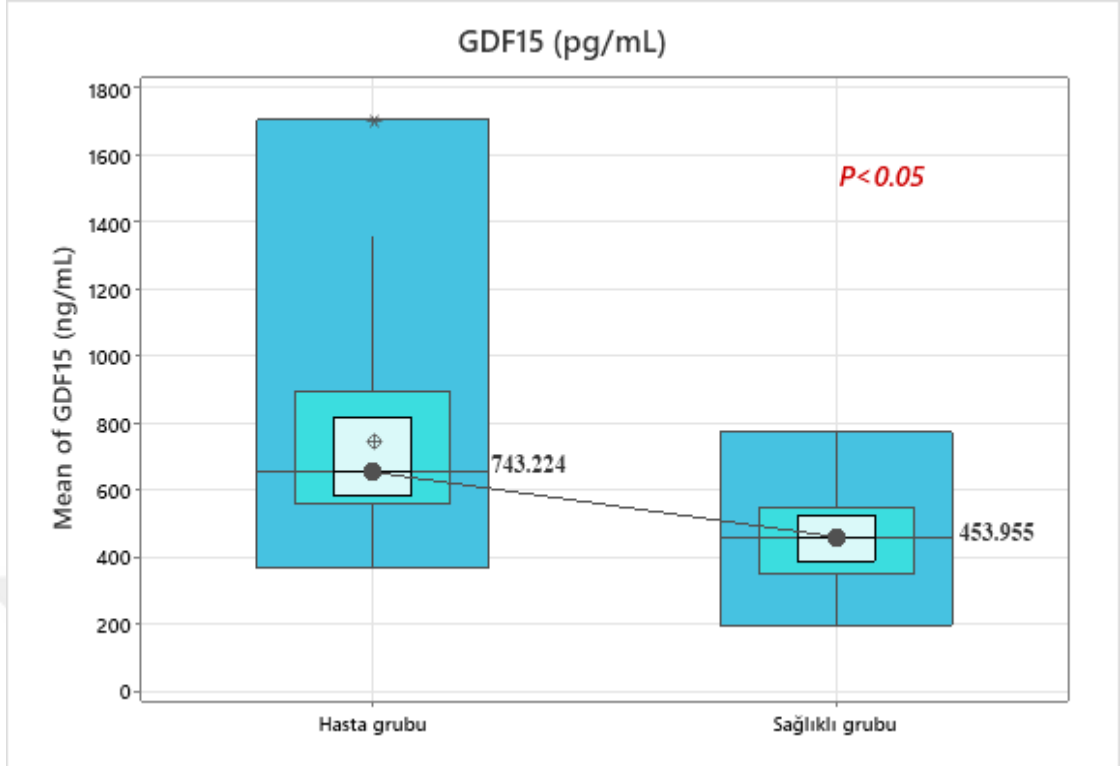
Ayrıca, PSA serum seviyeleri Yaş ($r = -0,028$, $p = 0,424$), Boy ($r = -0,052$, $p = 0,359$), GDF15 ($r = -0,133$, $p = 0,179$), İnsan CTNN β 1 ($r = -0,020$, $p = 0,446$), İnsan CTSB ($r = -0,007$, $p = 0,481$) ve hepsidin hormonu ($r = -0,250$, $p = 0,040$) ile negatif korelasyon göstermiştir. PCa hasta gruplarında BMI ($r = 0.173$, $p = 0.115$), ağırlık ($r = 0.168$, $p = 0.21$) ve Gal-9 ($r = 0.094$, $p = 0.258$) ile pozitif bir korelasyon bulunmuştur. Buna karşılık, PKa hasta gruplarında serum PSA düzeyleri ile insan hepsidin hormonu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmuştur ($P < 0.05$) (Çizelge 4.5).

Çizelge 4.5 PCa hastalarında serum PSA ve klinik belirteçler arasındaki ilişkiler

İşaretleyiciler	r değeri	p-değeri
Yaş (yıl)	-0.028	0.424
² BMI (kg/m)	0.173	0.115
Ağırlık	0.168	0.121
Yükseklik	-0.052	0.359
GDF15 (pg/mL)	-0.133	0.179
GAL-9 (pg/mL)	0.094	0.258
Human CTNN β 1 (ng/mL)	-0.020	0.446
Human CTSB (ng/mL)	-0.007	0.481
Hepcidin Hor. (pg/mL)	-0.250*	0.040

4.2.2 Büyüme farklılaşma faktörü 15 (GDF15) seviyeleri

Katılımcıların büyüme farklılaşma faktörü 15 (GDF15) değerleri hasta ve sağlıklı gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık göstermiştir ($t=6,446$; $p=0,000$). Hasta grubunun GDF15 değeri ($743,22 \pm 277,311$) kontrol grubundan ($453,96 \pm 137,98$) yüksek bulunmuştur (Çizelge 4.3, Şekil 4.6).

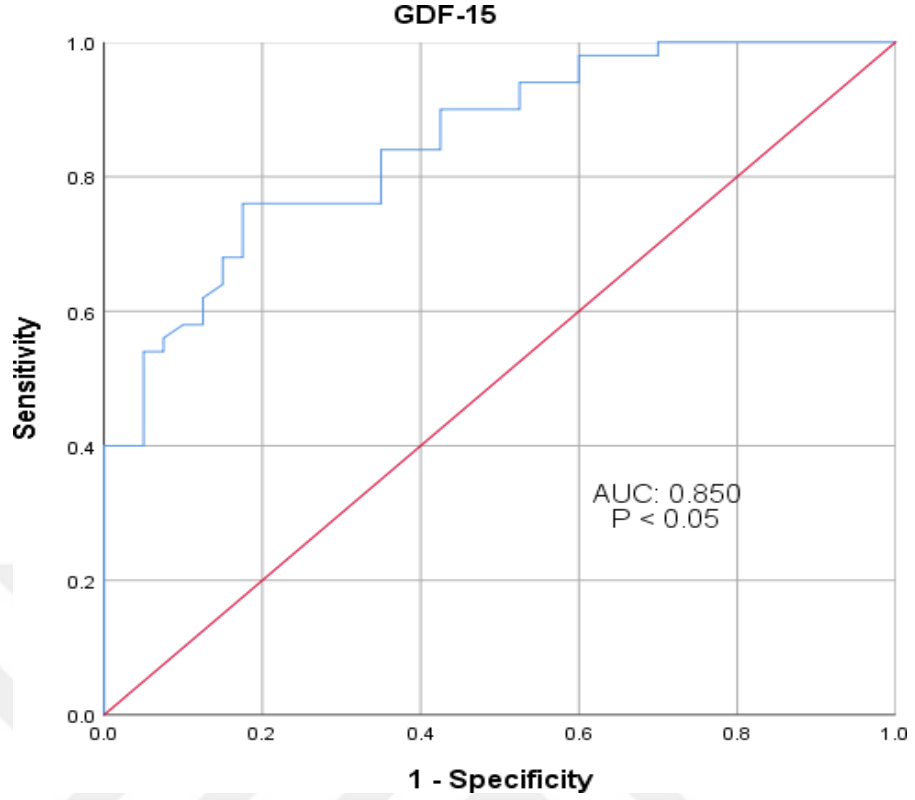


Şekil 4.6 Hasta ve kontrol grupları arasındaki üre GDF15 konsantrasyonları

Kesim skorunu bulmak için yapılan ROC analizi, kesim skorunun 762,40 olduğunu göstermiştir. Duyarlılık ve özgüllük değerleri sırasıyla 0,400 ve 0,025 olarak elde edilmiştir. ROC eğrisi altında kalan alan istatistiksel olarak anlamlıydı (alan=0,861 $p=0,000$). ROC eğrisi altında kalan alan için 0,80'in üzerindeki bir alan oldukça iyi olarak kabul edilir ve ilgili alan 0,861 ile yüksek düzeyde kabul edilmiştir (Çizelge 4.6, Şekil 4.7).

Çizelge 4.6 GDF15'te eğri altında kalan alan

Test Sonucu Değişken(ler)i: GDF15				
Alan	Std. Hata	Asimptotik Sig.	Asimptotik %95 Güven Aralığı	
			Alt Sınır	Üst Sınır
0,850	0,039	0,000	0,773	0,926



Şekil 4.7 GDF15'in performansının ROC eğrisi analizi

ROC eğrisi altındaki alan istatistiksel olarak anlamlıydı (alan=0,850, $p=0,000$). Eğri altındaki alanın yüksek derecede anlamlı olduğu kabul edilir. ROC analizinde kesme puanı 762,40 olarak belirlenmiştir. Duyarlılık için 0,400 ve özgüllük için 0,025 değerleri elde edilmiştir. LR yani olabilirlik değerinin iyi olduğu noktanın 762,40 kesme noktası olduğu görülmüş, bu veriler EK 4'te açıklanmıştır.

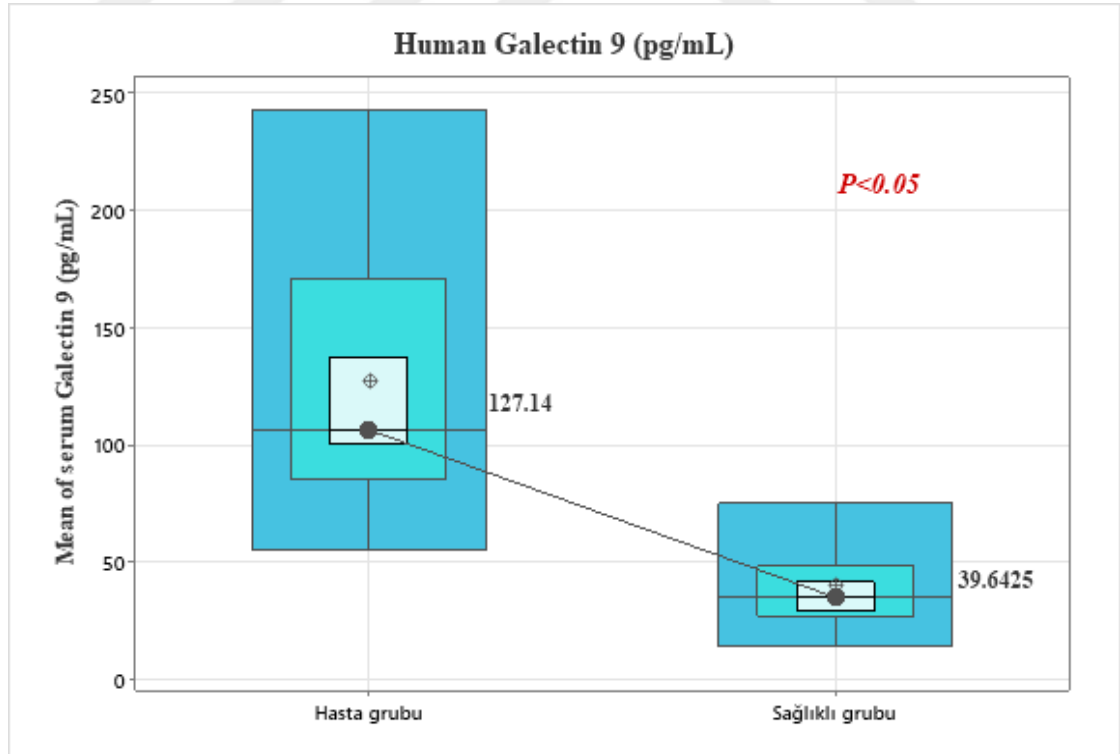
Parametre korelasyonuna göre, GDF15 serum seviyeleri Yaş ($r = -0.059$, $p=0.342$), BMI ($r = -0.041$, $p=0.389$), PSA ($r = -0.133$, $p=0.179$) ve İnsan CTSB ($r = -0.041$, $p=0.388$) ile negatif korelasyon göstermiştir. PCa hasta gruplarında Ağırlık ($r = 0.041$, $p=0.389$), Boy ($r = 0.159$, $p=0.135$), Gal-9 ($r = 0.286$, $p=0.022$), Hepcidin hormonu ($r = 0.018$, $p=0.449$) ile pozitif korelasyon gösterirken. Buna karşılık, PCa hasta gruplarında serum GDF15 düzeyleri ve insan Gal-9 arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki ortaya çıkmıştır ($P < 0,05$) (Çizelge 4.7).

Çizelge 4.7 PCa hastalarında serum GDF15 ve klinik belirteçler arasındaki ilişkiler

İşaretleyiciler	r değeri	p-değeri
Yaş (yıl)	-0.059	0.342
² BMI (kg/m)	-0.041	0.389
Ağırlık	0.041	0.389
Yükseklik	0.159	0.135
PSA (ng/mL)	-0.133	0.179
GAL-9 (pg/mL)	0.286*	0.022
Human CTNNβ1 (ng/mL)	0.208	0.073
Human CTSB (ng/mL)	-0.041	0.388
Hepcidin Hor. (pg/mL)	0.018	0.449

4.2.3 Human GAL-9 düzeyleri

Katılımcıların GAL-9 değerleri gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık göstermiştir ($t=11,136$; $p=0,000$). Hasta grubunun GAL-9 değeri ($127,14 \pm 52,49$) kontrol grubunununkinden ($39,64 \pm 16,28$) daha yüksek bulunmuştur (Çizelge 4.3, Şekil 4.8).

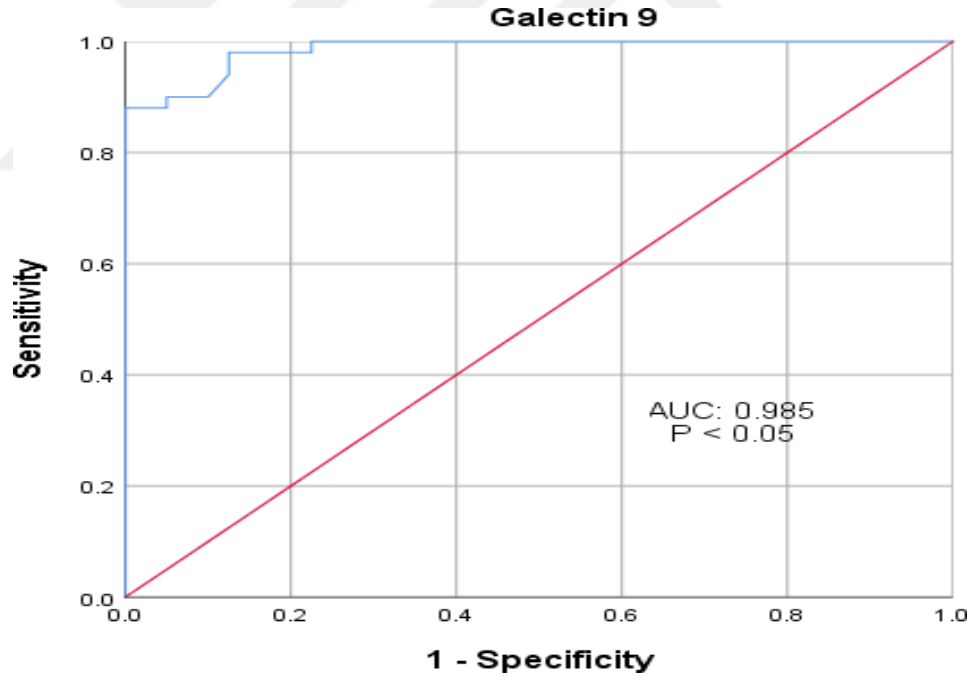


Şekil 4.8 Hasta ve kontrol grupları arasındaki GAL-9 konsantrasyonları

Kesme skorunu bulmak için yapılan ROC analizi, kesme skorunun 74.50 olduğunu göstermiştir. Duyarlılık ve özgüllük değerleri sırasıyla 0,880 ve 0,025 bulunmuştur. ROC eğrisi altındaki alan istatistiksel olarak anlamlı olmuştur (alan=0.985, p=0.0001). ROC eğrisi altında kalan alan için 0,80'in üzerindeki bir alan oldukça iyi olarak kabul edilir ve ilgili alanın 0,940 ile yüksek düzeyde olduğu kabul edilmiştir (Çizelge 4.8, Şekil 4.9).

Çizelge 4.8 GAL-9'da eğri altında kalan alan

GAL-9				
Alan	Std. Hata ^a	Asimptotik Sig.	Asimptotik %95 Güven Aralığı	
			Alt Sınır	Üst Sınır
0,985	0,009	0,000	0,968	1,000



Şekil 4.9 GAL-9'un performansının ROC eğrisi analizi

EK 5'te gösterildiği gibi, eğri altındaki alanın oldukça anlamlı olduğu düşünülmüştür. ROC analizinde kesme puanı 74,50 olarak belirlenmiştir. Duyarlılık için 0,880 ve özgüllük için 0,025 değerleri elde edilmiştir. LR, yani olabilirlik değerinin en yüksek olduğu nokta 74,50 kesme noktası olmuştur (EK 5).

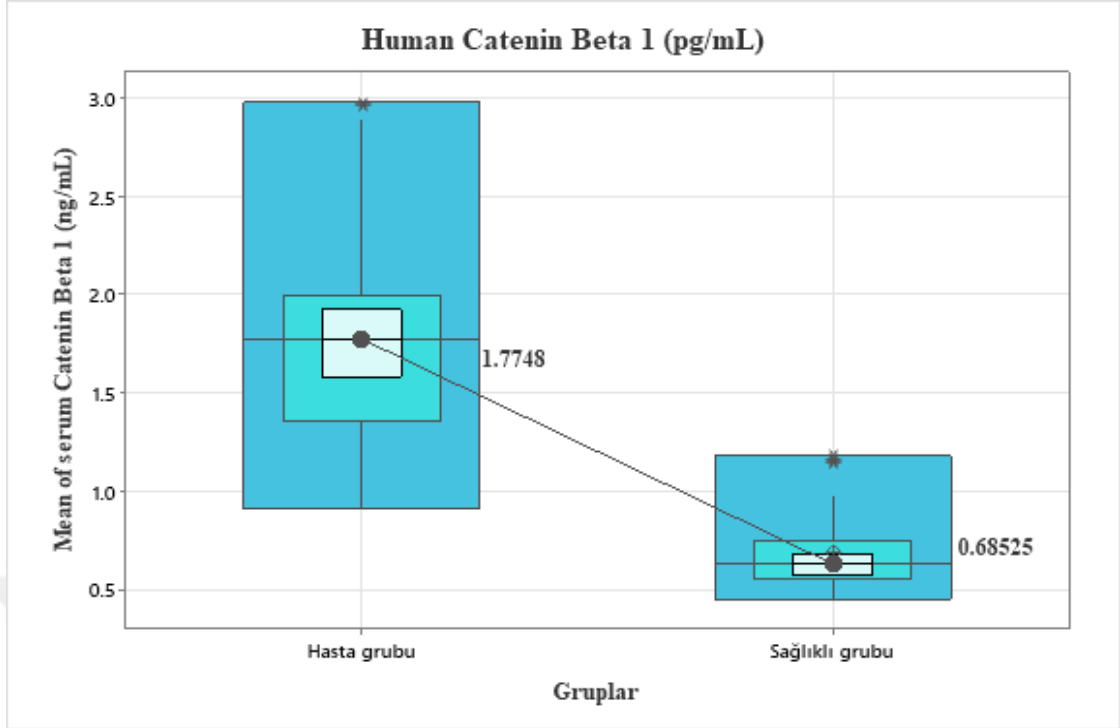
Öte yandan, sonuçlar GAL-9 serum seviyelerinin Yaş ($r = 0.283$, $p = 0.023$), BMI ($r = 0.100$, $p = 0.244$), Ağırlık ($r = 0.191$, $p = 0.092$), Boy ($r = 0.129$, $p = 0.186$), PSA ($r = 0.094$, $p = 0.258$), GDF15 ($r = 0.286$, $p = 0.022$), İnsan CTNN β 1 ($r = 0.319$, $p = 0.012$), İnsan CTSB ($r = 0.079$, $p = 0.294$) ve PCa hasta gruplarında Hepcidin hormonu ($r = 0.136$, $p = 0.174$). Buna karşılık, PCa hasta gruplarında yaş, serum insan GDF15 düzeyleri ve İnsan CTNN β 1 istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki göstermiştir ($P < 0.05$) (Çizelge 4.9).

Çizelge 4.9 PCa hastalarında serum Gal-9 ve klinik belirteçler arasındaki ilişkiler

İşaretleyiciler	r değeri	p-değeri
Yaş (yıl)	0.283*	0.023
² BMI (kg/m)	0.100	0.244
Ağırlık	0.191	0.092
Yükseklik	0.129	0.186
PSA (ng/mL)	0.094	0.258
GDF15 (ng/mL)	0.286*	0.022
Human CTNN β 1 (ng/mL)	0.319*	0.012
Human CTSB (ng/mL)	0.079	0.294
Hepcidin Hormonu (pg/mL)	0.136	0.174

4.2.4 Human Katenin Beta 1 (CTNN β 1) seviyeleri

Katılımcıların insan CTNN β 1 değerleri gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık göstermiştir ($t=13,553$; $p=0,000$). Hasta grubunun insan CTNN β 1 değeri ($1,77\pm0,52$) kontrol grubununkinden ($0,68\pm0,19$) daha yüksek çıkmıştır (Çizelge 4.3, Şekil 4.11).

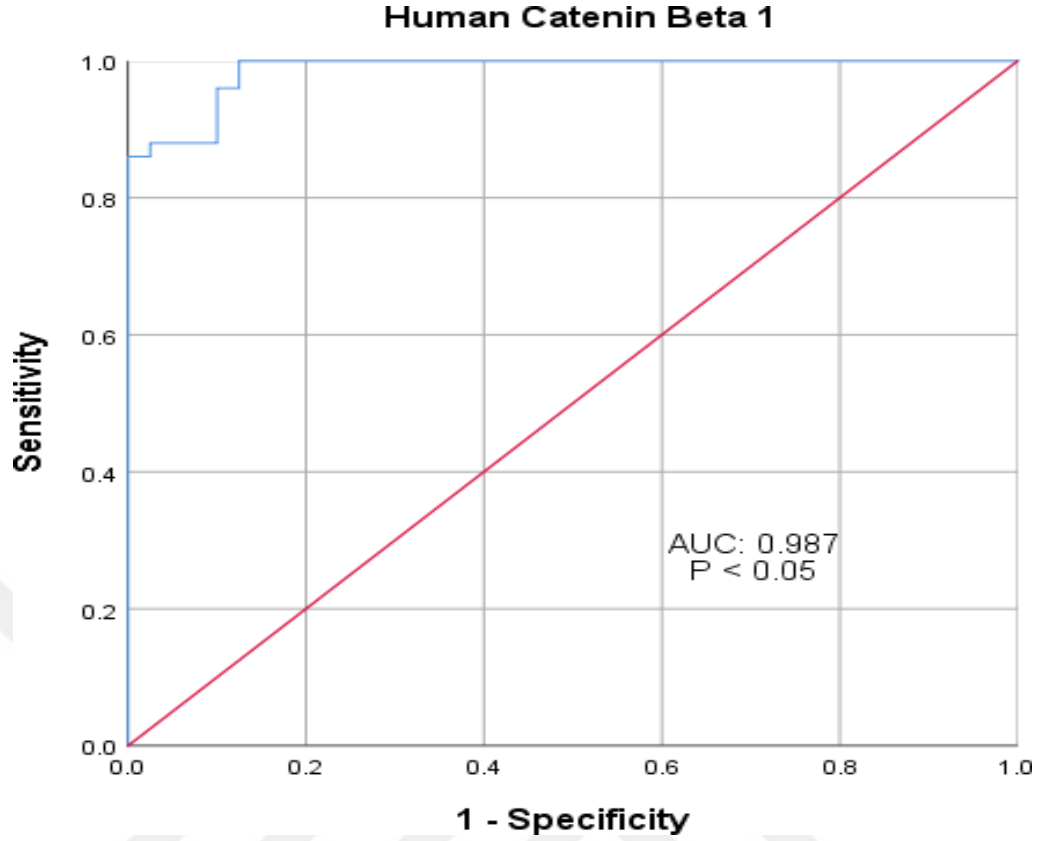


Şekil 4.10 Hasta ve kontrol grupları arasındaki İnsan CTNN β 1 konsantrasyonları

Kesim skorunu bulmak için yapılan ROC analizi, kesim skorunun 1,1780 olduğunu göstermiştir. Duyarlılık ve özgüllük değerleri sırasıyla 0,860 ve 0,025 olarak elde edilmiştir. ROC eğrisi altında kalan alan istatistiksel olarak anlamlı olmuştur (alan=1.000 p=0.000). ROC eğrisi altında kalan alan için 0,80'in üzerindeki bir alan oldukça iyi olarak kabul edilir ve alan 0,987 ile yüksek düzeyde kabul edilmiştir (Çizelge 4.10 Şekil 4.12).

Çizelge 4.10 Human CTNN β 1'de eğri altında kalan alan

Human CTNN β 1				
Alan	Std. Hata ^a	Asimptotik Sig. ^b	Asimptotik %95 Güven Aralığı	
			Alt Sınır	Üst Sınır
.987	.008	.000	.971	1.000
a. Parametrik olmayan varsayım altında				
b. Boş hipotez: gerçek alan = 0,5				



Şekil 4.11 Human CTNNβ1'in performansının ROC eğrisi analizi

EK 6'te gösterildiği gibi, ROC analizi kesme skorunun 0,1155 olduğunu göstermiştir. Duyarlılık için 0,860 ve özgüllük için 0,025 değerleri elde edilmiştir. LR, yani olabilirlik değerinin en yüksek noktası 1,1780 (EK 6) kesme noktası olarak bulunmuştur.

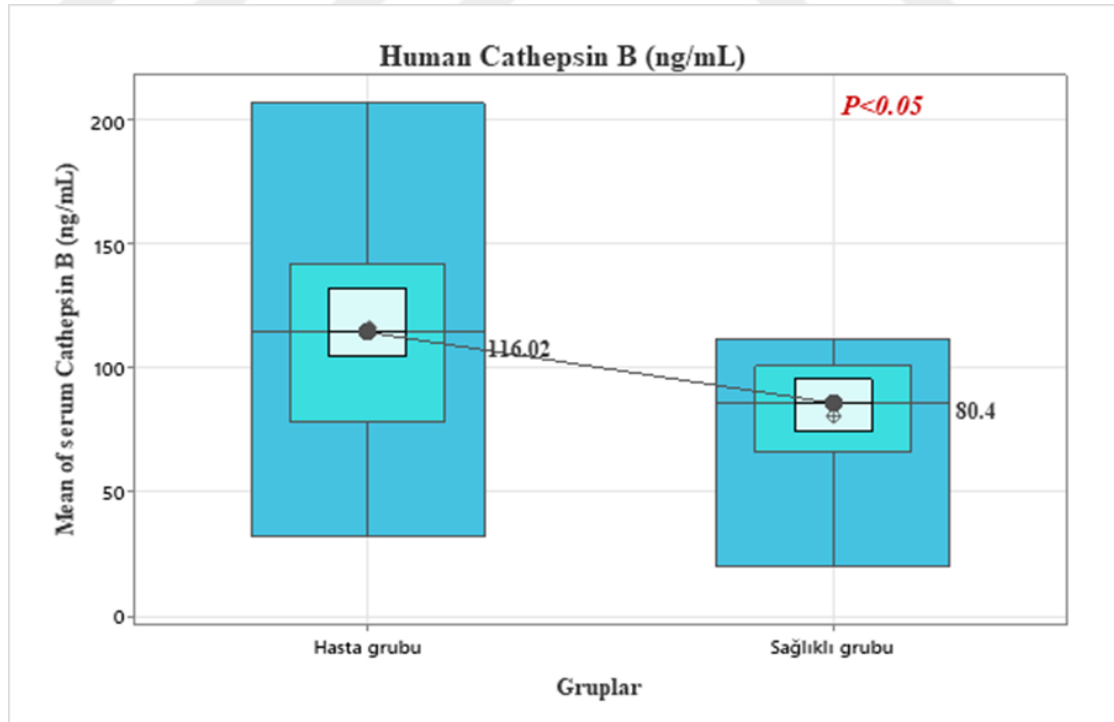
Öte yandan, sonuçlar İnsan CTNNβ1 serum seviyelerinin Yaş ($r = 0.094$, $p = 0.257$), Boy ($r = 0.040$, $p = 0.391$), GDF15 ($r = 0.208$, $p = 0.073$), Gal-9 ($r = 0.319$, $p = 0.012$), İnsan CTSB ($r = 0.034$, $p = 0.408$) ve Hepsidin hormonu ($r = 0.102$, $p = 0.240$) ile pozitif korelasyon göstermiştir. BMI ($r = -0.116$, $p = 0.212$), Ağırlık ($r = -1.198$, $p = 0.249$) ve PSA (ng/mL) ($r = -0.020$, $p = 0.012$) ile negatif korelasyon göstermiştir. Buna karşılık, PCa hasta gruplarında yaş, serum human Catenin Beta 1 ve Gal-9 istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki göstermiştir ($P < 0.05$) (Çizelge 4.11).

Çizelge 4.11 PCa hastalarında Human Catenin Beta 1 ile klinik belirteçler arasındaki ilişkiler

İşaretleyiciler	r değeri	p-değeri
Yaş (yıl)	0.094	0.257
² BMI (kg/m)	-0.116	0.212
Ağırlık	-0.098	0.249
Yükseklik	0.040	0.391
PSA (ng/mL)	-.020	0.446
GDF15 (ng/mL)	0.208	0.073
GAL-9 (pg/mL)	0.319*	0.012
Human CTSB (ng/mL)	0.034	0.408
Hepcidin Hormonu (pg/mL)	0.102	0.240

4.2.5 Human Kathepsin B (CTSB) seviyeleri

Katılımcıların İnsan KTSB değerleri gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık göstermiştir ($t=5,227$; $p=0,0001$). Hasta grubunun insan CTSB değerleri ($116,02 \pm 39,44$) kontrol grubununkinden ($80,40 \pm 24,76$) daha yüksek olmuştur (Çizelge 4.3, Şekil 4.12).

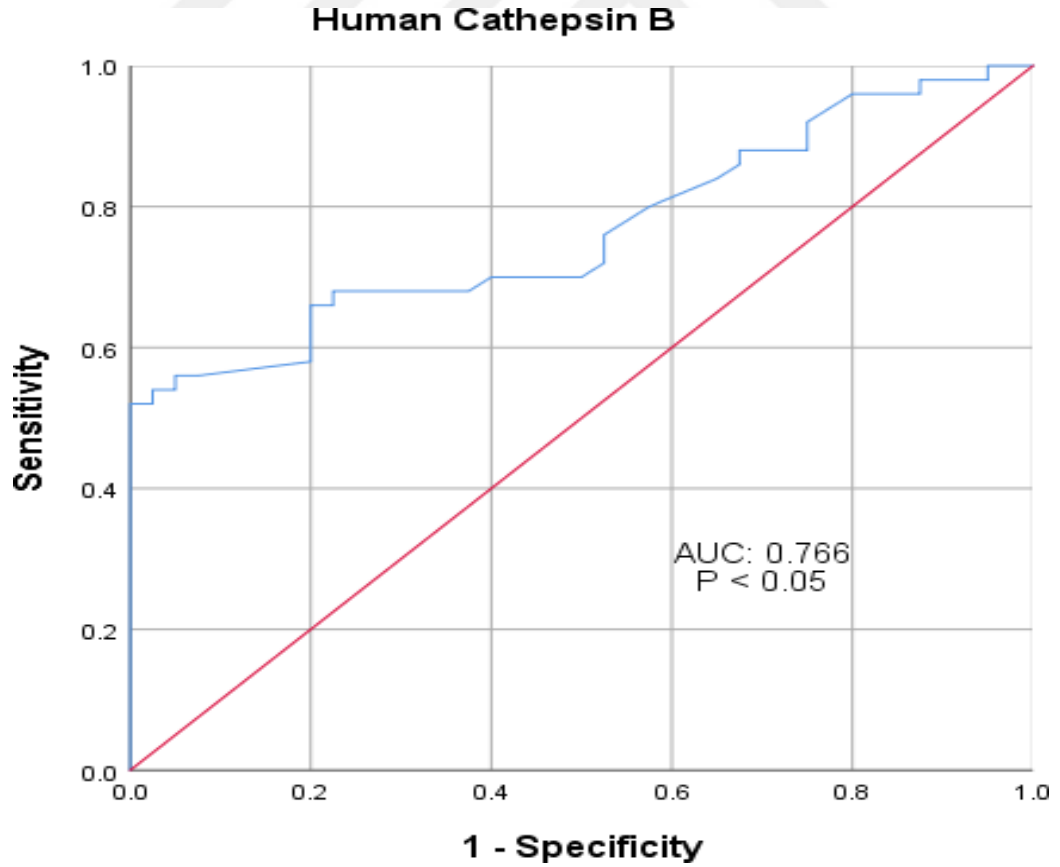


Şekil 4.12 Hasta ve kontrol grupları arasındaki Human CTSB konsantrasyonları

Kesme skorunu bulmak için yapılan ROC analizi, kesme skorunun 138.50 olduğunu göstermiştir. Duyarlılık ve özgüllük için sırasıyla 0,520 ve 0,025 değerleri elde edilmiştir. ROC eğrisi altında kalan alan istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (alan=0.766 p=0.000). ROC eğrisi altındaki alan için, 0,80'in üzerindeki bir alan oldukça iyi olarak kabul edilmiştir ve ilgili alanın yüksek seviye olan 0,766'nın altında olduğu kabul edilmiştir. Ancak, alan istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (Çizelge 4.8, Şekil 4.13).

Çizelge 4.12 Human CTSB'de eğri altında kalan alan

Human CTSB				
Alan	Std. Hata	Asimptotik Sig.	Asimptotik %95 Güven Aralığı	
			Alt Sınır	Üst Sınır
0,766	0,050	0,000	0,668	0,863



Şekil 4.13 İnsan KTSB'nin performansının ROC eğrisi analizi

EK 7'da gösterildiği gibi, eğri altındaki alan anlamlı kabul edilmiştir. ROC analizi, kesme puanının 111.500 olduğunu göstermiştir. Duyarlılık için 0.520 ve özgüllük için 0.025 değerleri elde edilmiştir. LR, yani olabilirlik değerinin en yüksek olduğu nokta 111.500 kesme noktası olmuştur. ROC eğrisi altındaki alan istatistiksel olarak anlamlı olmuştur (alan=0.766, p=0.000).

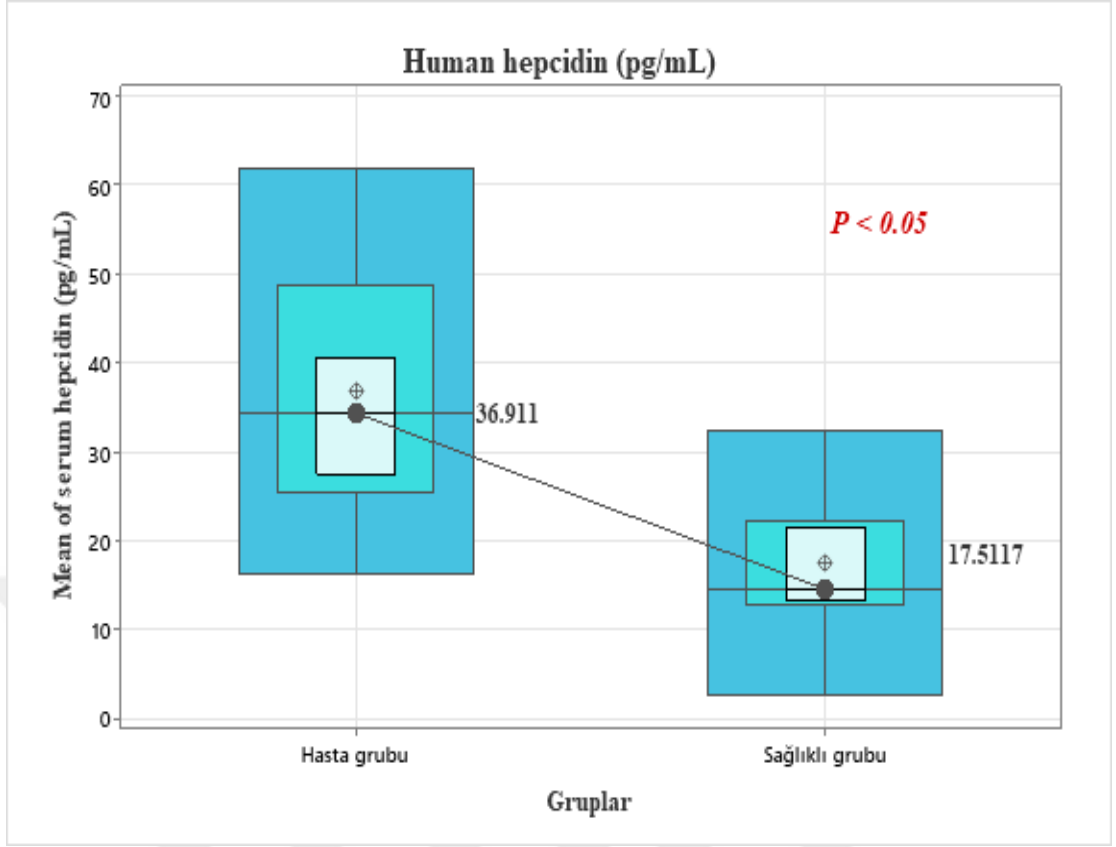
Sonuçlar, İnsan CTSB serum seviyelerinin PCa hasta gruplarında Yaş ($r = 0.157$, $p = 0.138$), Boy ($r = 0.303$, $p = 0.016$), GAL-9 ($r = 0.079$, $p = 0.294$), İnsan CTNN β 1 ($r = 0.034$, $p = 0.408$) ve Hepcidin hormonu ($r = 0.535$, $p = 0.0001$) ile pozitif korelasyon gösterdiğini ortaya koymuştur. Tersine, BMI ($r = -0.266$, $p = 0.031$), Ağırlık ($r = -0.114$, $p = 0.216$), PSA ($r = -0.007$, $p = 0.481$) ve GDF15 ($r = -0.041$, $p = 0.388$) ile negatif bir korelasyon bulunmuştur. Ayrıca, PCa hasta gruplarında BMI, Boy ve Hepcidin hormonu istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki göstermiştir ($P < 0.05$) (Çizelge 4.13).

Çizelge 4.13 PCa hastalarında Human CTSB ile klinik belirteçler arasındaki ilişkiler

İşaretleyiciler	r değeri	p-değeri
Yaş (yıl)	0.157	0.138
² BMI (kg/m)	-0.266*	0.031
Ağırlık	-0.114	0.216
Yükseklik	0.303*	0.016
PSA (ng/mL)	-0.007	0.481
GDF15 (ng/mL)	-0.041	0.388
GAL-9 (pg/mL)	0.079	0.294
Human CTNN β 1 (ng/mL)	0.034	0.408
Hepcidin Hormonu (pg/mL)	0.535**	0.0001

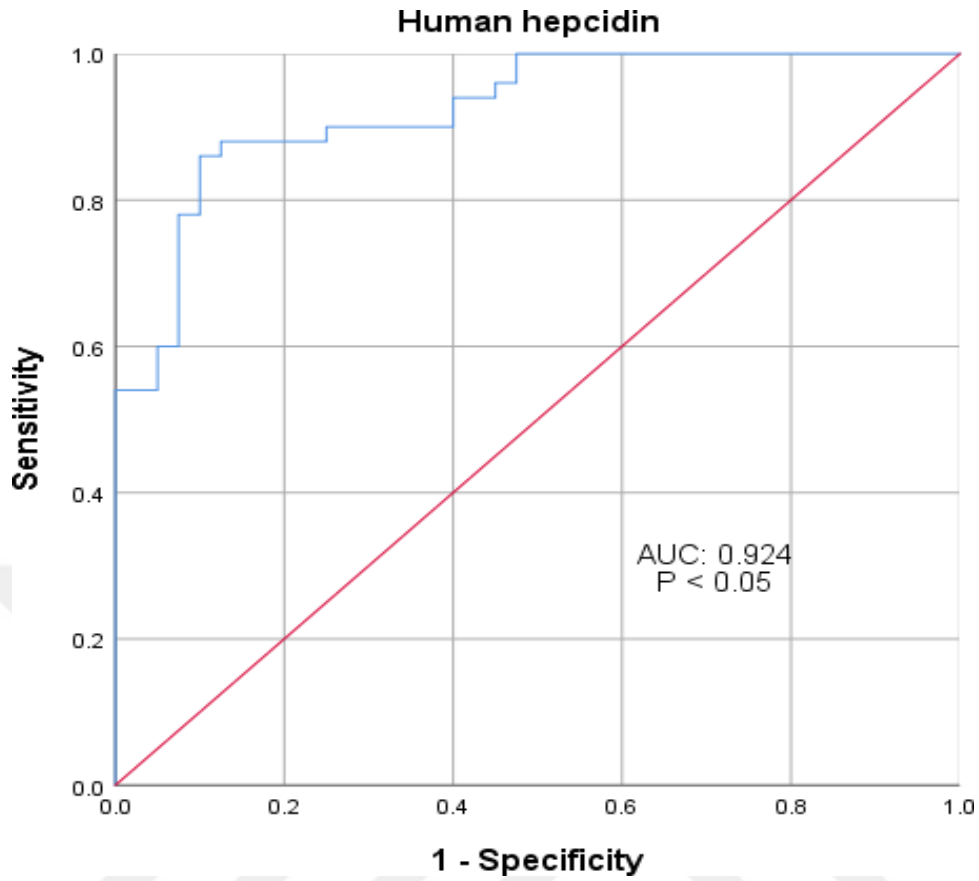
4.2.6 Human Hepcidin seviyeleri

Katılımcıların insan hepsidin hormonu değerleri gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık göstermiştir ($t=09,019$; $p=0,000$). Hasta grubunun hepsidin hormon değeri ($36,91\pm13,45$) kontrol grubundan ($17,51\pm6,34$) yüksek bulunmuştur (Çizelge 4.3, Şekil 4.14).



Şekil 4.14 Hasta ve kontrol grupları arasındaki Human hepcidin konsantrasyonları

Kesim skorunu bulmak için yapılan ROC analizinde kesim skoru 31,790 olarak bulunmuştur. Duyarlılık ve özgüllük değerleri sırasıyla 0,540 ve 0,025 bulunmuştur. ROC eğrisi altında kalan alan istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (alan=0.924, $p=0.0000$). ROC eğrisi altında kalan alan için 0,80'in üzerindeki bir alan oldukça iyi olarak kabul edilir ve ilgili alan 0,924 ile yüksek seviyenin üzerinde kabul edilmiştir (Şekil 4.15, Çizelge 4.9).



Şekil 4.15 Human hepcidin performansının ROC eğrisi analizi

Çizelge 4.14 Human hepcidin'de eğri altında kalan alan

Hepcidin Hor.				
Alan	Std. Hata	Asimptotik Sig.	Asimptotik %95 Güven Aralığı	
			Alt Sınır	Üst Sınır
0,924	0,027	0,000	0,872	0,976

EK 8'de gösterildiği gibi, ROC analizi kesme puanının 31,790 olduğunu göstermiştir. Duyarlılık için 0.540 ve özgüllük için 0.025 değerleri elde edilmiştir. LR'nin en yüksek noktası, yani olabilirlik değeri, 31.790 kesme noktası olarak bulunmuştur. ROC eğrisi altındaki alan istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (alan=0.924, p=0.000). Eğri altında kalan alanın oldukça anlamlı olduğu düşünülmüştür.

Sonuçlar, Hepcidin hormonunun serum seviyelerinin Yaş ($r = 0.208$, $p = 0.073$), Boy ($r = 0.228$, $p = 0.055$), GDF15 ($r = 0.018$, $p = 0.449$), GAL-9 ($r = 0.136$, $p = 0.174$), Human CTNN β 1 ($r = 0.102$, $p = 0.240$) ve Human CTSB ($r = 0.535$, $p = 0.0001$) ile ilişkili bulunmuştur. Buna karşılık, BMI ($r = -0.247$, $p = 0.042$), Ağırlık ($r = -0.138$, $p = 0.169$) ve PSA ($r = -0.250$, $p = 0.040$) ile negatif bir korelasyon bulunmuştur. Ayrıca, PKa hasta gruplarında VKİ, PSA ve İnsan KTSB istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki göstermiştir ($P < 0.05$) (Çizelge 4.14).

Çizelge 4.15 PCa hastalarında Hepcidin Hormonu ile klinik belirteçler arasındaki ilişkiler

İşaretleyiciler	r değeri	p-değeri
Yaş (yıl)	0.208	0.073
² BMI (kg/m)	-0.247*	0.042
Ağırlık	-0.138	0.169
Yükseklik	0.228	0.055
PSA (ng/mL)	-0.250*	0.040
GDF15 (pg/mL)	0.018	0.449
GAL-9 (pg/mL)	0.136	0.174
Human CTNN β 1 (ng/mL)	0.102	0.240
Human CTSB (ng/mL)	0.535**	0.0001

5. DISCUSSION

Bildiğimiz kadarıyla, çalışmamız GAL-9, insan CTNN β 1 ve insan CTSB'nin serum konsantrasyonlarının PCa hastalarında önemini değerlendiren ilk girişim olmuştur.

Galektin-glikan konjugatı metastaz, anjiyogenez, tümör bağışıklığı, proliferasyon ve apoptozda temel bir rol oynamaktadır (Ebrahim vd. 2014, Giordano vd. 2013). GAL-9'un kanserdeki ifadesi kapsamlı bir şekilde incelenmiştir ve tümör hücreleri veya tümör dokularındaki GAL-9 seviyeleri normal kontrollere kıyasla farklıdır. Şimdiye kadar, meme kanseri (Yasinska vd. 2019), HPV ile ilişkili servikal karsinom (Chen vd. 2021), pankreatik karsinom (Seifert vd. 2020), glioblastoma multiforme (Yuan vd. 2020), kutanöz T hücreli lenfoma (Nakajima vd. 2019), kronik lenfositik lösemi (Wdowiak vd. 2019), tümör hücreleri veya tümör dokusu, normal para-kanseröz dokulara kıyasla yüksek veya artmış GAL-9 seviyeleri içermiştir.

Diğer galektinlerden farklı olarak GAL-9, tümör aktivitesini hem destekler hem de inhibe eder ve malign tümörlerde “iki ucu keskin kılıç” etkisi göstermiştir. GAL-9'un tümörlerde ekspresyonu sadece tümör hücresi yapışması veya metastaz ile ilgili değildir, aynı zamanda farklı reseptörlerle etkileşim yoluyla bağışıklık tepkisinin düzenlenmesinde de rol oynamaktadır. GAL-9'un kanserdeki önemi göz önünde bulundurulduğunda, GAL-9 ekspresyonunun hedeflenmesi kanser tedavisinde umut vaat etmiştir (Lv vd. 2023).

Araştırmamız, hasta grubundaki Galectin-9 seviyesinin kontrol grubuna göre daha yüksek olduğunu ortaya koymuştur. Katılımcıların insan GAL-9 değerleri gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık göstermiştir. Ayrıca, ROC eğrisi altındaki alan istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Buna karşılık, PCa hasta gruplarında yaş, serum insan GDF-15 seviyeleri ve İnsan CTNN β 1, GAL-9 ile istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki göstermiştir.

Bulgularımız özellikle Martinez-Bosch ve arkadaşları (2019) tarafından yapılan ve prostat ve mesane kanserlerinde galektin ailesinin farklı üyelerinin ifade düzeylerinin değiştiğini bildiren bir çalışmayla neredeyse benzerlik göstermiştir. Tümör hücrelerinde ve tümör mikroçevresinin bileşen hücre tiplerinde bulunan anormal glikozilasyon paternleri ile birlikte, bunlar malign transformasyon ve tümör ilerlemesi ile sonuçlanabilmiştir. Galektin ailesi proteinlerinin prostat ve mesane kanserinin gelişimi ve ilerlemesindeki rollerinin anlaşılması, bu hastalıkların klinik yönetimini bilgilendirmek için önemli bilgiler sağlayabilmiştir (Martinez-Bosch vd. 2019).

Sharma vd. (2022) tarafından yapılan bir başka çalışma, prostat biyopsilerinde yüksek oranda ifade edilen Gal-1, Gal-3 ve Gal-8'e odaklanmıştır. Bu sonuçlar, ortalama olarak, metastatik PCa örneklerinin negatif kontrollere kıyasla ~ 38 kat artmış prostat spesifik membran antijeni seviyeleri ifade ettiğini ve metastatik PCa hücrelerinde negatif kontrollere kıyasla Gal-3'te ~ 16 kat artış olduğunu göstermiştir. Sonuç olarak, veriler primer prostat kanserinde Gal-3'ün aşırı ekspresyonunun diğer geleneksel olumsuz prognostik faktörlerle ilişkili olduğunu ve bağımsız olarak yüksek dereceli tümörleri öngördüğünü göstermiştir. Ayrıca, Gal-3 endeksi PCa agresifliğinin öngörücü bir biyobelirtecidir (Sharma vd. 2022).

Bulgularımız, kolon kanseri hastaları üzerinde bir çalışma gerçekleştiren Blair ve arkadaşlarının (2021) bulgularıyla neredeyse benzerlik göstermiştir. Bu çalışmaya dahil edilen kolon kanseri hastalarının serum ve plazmalarında galektin 9'un artmış olduğunu bulduktan sonra ($p = 0,0005$), tanımlanmış kolon kanseri olan hastaların serum ve plazma örneklerini ek analiz için evreye göre ayırdıklarını göstermişlerdir.

Ayrıca, bulgularımız Wdowiak vd. (2019) tarafından lösemi hastaları üzerinde yapılan ve 48 lösemili hasta ile 30 kontrol deneğinin serumlarında Gal-9 seviyelerini gösteren sonuçlarla da desteklenmiştir. GAL-9 seviyeleri lösemili hastalarda kontrol grubuna kıyasla anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ($P < 0,0001$).

Ayrıca, Funkhouser vd. (2023) tarafından yapılan bir çalışmada, meme kanseri hastalarında Galectin-1, -3 ve -9 seviyeleri ELISA adı verilen bir teknik kullanılarak

ölçülmüş ve evre, alt tip ve reseptör ekspresyonu gibi tümör özellikleriyle ilişkileri açısından analiz edilmiştir. Çalışma, GAL-9 seviyelerinin meme tümörlerinde önemli ölçüde arttığını, ancak hormon reseptörü pozitif tümörlerde azaldığını, galektin-1 seviyelerinin ise sistemik kanser tedavisi gören hastalarda daha yüksek olduğunu ortaya çıkarmıştır. Bu bulgular kanser ilerlemesi, tedavi yanıtı ve tümör biyolojisi sırasında galektin değişiklikleri hakkında değerli bilgiler sağlamıştır. Galektin inhibitörleri kullanan terapötik hedefler ve meme kanserini teşhis etmek ve izlemek için galektin biyobelirteçlerinin kullanımı üzerine gelecekteki araştırmalar için etkileri bulunmuştur (Funkhouser vd. 2023).

Ek olarak, pankreatik duktal adenokarsinom hastalarında GAL-9 serum seviyelerine göre, pankreatik duktal adenokarsinom hastaları üzerinde bir çalışma yapan Seifert vd. (2020) tarafından yürütülen çalışmalar yapılmıştır. GAL-9 serum seviyelerinin sağlıklı bireyler (medyan 6,68 ng/ml) ve iyi huylu pankreas hastalığı (medyan 6,44 ng/ml) arasında farklılık göstermediğini, ancak pankreatik duktal adenokarsinom hastalarının en yüksek serum GAL-9 seviyelerini (medyan 9,13 ng/ml) gösterdiğini göstermişlerdir.

Shih vd. (2024) tarafından kanserle ilişkili dermatomiyozit hastaları üzerinde yapılan bir çalışmada, GAL-9 serum düzeylerinin kanserle ilişkili dermatomiyozit hastalarında (23,38 ng/ml) sağlıklı kontrollere (6,81 ng/ml, $P < 0,0001$) kıyasla anlamlı derecede yüksek olduğu ve kutanöz dermatomiyozit hastalık alanı şiddet indeksi aktivite skorlarıyla pozitif korelasyon gösterdiği gösterilmiştir. Kanserle ilişkili dermatomiyozit hastalarında anti-kanser tedavisinden sonra serum GAL-9 düzeyleri önemli ölçüde azalmıştır.

İnsan CTNN β 1'e göre kanserli hastalarda. β -katenin, hücrel homeostaz, embriyonik gelişim, organogenez, kök hücre bakımı, hücre çoğalması, göç, farklılaşma, apoptoz ve kanser dahil olmak üzere çeşitli insan hastalıklarının patogeneğinde hayati roller oynayan çok yönlü bir proteindir (Dev Jr vd. 2023).

Normal epitelyal hücrelerde sitoplazmik β -katenin seviyesi düzenlenir ve membran lokalizasyonu görülmüştür. Meme kanseri (Khrantsov vd. 2010), mide kanseri (Wang

vd. 2012), kemik kanseri (Tian vd. 2014), kolorektal kanser (Krausova ve Korinek 2014) ve hepatoselüler karsinom (Raji vd. 2018) dahil olmak üzere birçok kanser hücresinde sitozolik β -katenin, Wnt/ β -katenin yolağı çekirdek bileşenlerinin mutasyonları için yükseltilmiştir.

Kolorektal kanserde β -katenin değişiklikleri üzerine yapılan önceki bir çalışmada, β -katenin aktivasyonunun obez hastalar arasında daha iyi kansere özgü ve genel sağkalım ile ilişkili olduğu ve β -katenin durumunun tümör hücresi davranışını etkilediği bulunmuştur (Morikawa vd. 2011). Bu çalışmanın önemli klinik çıkarımları vardır. Bu nedenle, β -katenin durumunun PCa'da öngörücü bir biyobelirteç olarak hizmet edebileceğini düşündük.

β -katenin sinyali prostat kanserinin ilerlemesinde ve androjen reseptör (AR) aktivitesinin indüksiyonu yoluyla tümör malign fenotiplerinin ve invazyon kapasitesinin kazanılmasında önemli roller oynayabilmektedir (Lee vd. 2016, Yu vd. 2009).

Çalışmamızda, katılımcıların insan CTNN β 1 düzeyi gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık göstermiştir. Hasta grubundaki insan Kathepsin B seviyesi kontrol grubundan daha yüksek çıkmıştır.

ROC analizine göre ROC eğrisi altındaki alan istatistiksel olarak önemli bulunmuştur. Buna karşılık, PCa hasta gruplarında insan CTNN β 1, BMI ve Hepsidin hormonu ile istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki göstermiştir.

Çalışmamızda, prostat kanserli hastalarda PSA seviyelerindeki artışla birlikte PCa'lı hastaların serumunda β -katenin konsantrasyonunun artması, β -katenin seviyelerindeki değişimin PCa'nın gelişimi ve ilerlemesinde önemli olduğunun kanıtıdır. Bu bulgular, β -katenin'in ilerlemiş PCa'nın bir belirteci olabileceğini ve dolayısıyla ilerlemiş kanserlerin tespiti ve zamanında müdahale için yeni bir tanısal veya terapötik hedefi temsil edebileceğini düşündürmektedir.

Francis ve arkadaşları (2013) tarafından yapılan bir çalışma, β -Katenin'in prostat gelişimi için gerekli olduğunu ve prostat epitelinde bu proteinin yüksek seviyelerinin doğal bir özelliğinin skuamöz kader farklılaşmasını yönlendirmek olduğunu göstermiştir. Ayrıca, β -Catenin aşırı ekspresyonunun, bu hastalığın klinik olarak ilgili bir modelinde invaziv prostat kanserini teşvik edebileceğini göstermişlerdir. Bu veriler, insanlarda ölümcül prostat hastalığına yol açan kanser ilerleme yolları hakkında yeni bilgiler sağlamıştır (Francis vd. 2013).

Wang ve arkadaşları (2015) tarafından meme kanseri hastaları üzerinde yapılan bir çalışmada, β -katenin'in meme kanseri hastalarının %36,1'inin çekirdeğinde, sitoplazmasında ve/veya mezenkiminde ifade edildiği bulunmuştur. Ayrıca, tümörler ilerledikçe ekspresyonunun arttığı görülmüştür: histolojik evre I tümörler en düşük β -katenin protein ekspresyon seviyelerine sahipken, evre III tümörler en yüksek seviyeye sahiptir. Bu bulgular, β -katenin'in ilerlemiş meme kanserinin bir belirteci olabileceğini ve dolayısıyla ilerlemiş kanserlerin tespiti ve zamanında müdahale için yeni bir tanı veya tedavi hedefini temsil edebileceğini düşündürmektedir.

Sefidbakht ve arkadaşları (2021) tarafından yapılan bir çalışmada, örneklerin yaklaşık %70'i normal β -katenin membran ekspresyonu göstermiştir. Örneklerin yaklaşık %30'unda ise bu markörün anormal ekspresyonu gözlenmiştir. Ayrıca, anormal β -katenin ekspresyonu ile 50 yaşın üzerindeki meme kanseri hastaları arasında yakın anlamlı bir ilişki gözlenmiştir.

Varma vd. (2020) yaptıkları bir çalışmada, farklı β -katenin ekspresyon paternlerinin meme karsinomu patogenezi ile ilişkisini incelemişlerdir. Bu çalışmada, 82 meme kanseri vakasında β -katenin ekspresyonu immünohistokimya ile değerlendirilmiştir. Meme-invaziv duktal karsinom vakalarının %80'inde anormal β -katenin ekspresyonu görülmüştür (Varma vd. 2020). Ayrıca, Zhu vd. (2022) tarafından akciğer kanseri hastaları üzerinde yapılan bir çalışma, akciğer kanserinin oluşumunun ve gelişiminin Wnt/ β -katenin sinyal yolağı ile yakından ilişkili olduğunu ve Wnt1 ve β -katenin gibi anahtar moleküllerinin akciğer kanseri dokusunda değişen derecelerde ifade edildiğini göstermiştir.

Çalışmamızdaki İnsan CTSB'ye göre, sistein proteazlar tümör ilerlemesi ve metastazında yer alan çoklu moleküler yollarda önemli roller oynamıştır (Kos vd. 2022, Khaket vd. 2019). Papain ailesinin en bol bulunan ve her yerde ifade edilen ekzopeptidazı olan insan CTSB, kolorektal, meme, akciğer, pankreas ve mide kanseri dahil olmak üzere çok sayıda kanser türünde tümör ilerlemesiyle ilişkilendirilmiştir (Talieri vd. 2004, Nouh vd. 2011, Gong vd. 2013, Sun vd. 2016, Abdulla vd. 2017). İnsan CTSB ekspresyonu artmış malignite ve kötü prognoz ile ilişkilidir; bu nedenle, oral skuamöz hücreli karsinom (Yang vd. 2016), servikal kanser (Wu vd. 2012), endometriyal kanser (Devetzi vd. 2009) ve kolorektal kanser (Jechorek vd. 2014) için öngörücü bir biyobelirteç olarak önerilmiştir.

Çalışmamızda, katılımcıların İnsan KTSB düzeyi gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık göstermiştir. Hasta grubundaki Human CTSB seviyesi kontrol grubundan daha yüksek olmuştur.

ROC analizine göre, ROC eğrisi altında kalan alan istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Buna karşılık, PCa hasta gruplarındaki Human CTSB, GAL-9 ile istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki göstermiştir.

Çalışmamızda, GDF15, PSA ve GAL-9 seviyelerindeki artışla birlikte PCa'lı hastaların serumundaki artmış Human CTSB konsantrasyonu, Human CTSB seviyelerindeki değişikliklerin PCa'nın gelişimi ve ilerlemesinde önemli olduğuna dair kanıt sağlamıştır. Bu bulgular, Human CTSB'nin ilerlemiş prostat kanserinin bir belirteci olarak hizmet edebileceğini düşündürmektedir.

Linders ve arkadaşları (2024) tarafından meme kanseri hastaları üzerinde yapılan bir çalışma, CTSB'nin 340 tümörde başarılı bir şekilde skorlandığını göstermiştir. Tüm tümörler bir dereceye kadar CTSB ekspresyonu göstermiştir. Tümörlerin %28'inde CTSB ekspresyonu yüksek olarak değerlendirilmiştir. Ayrıca, neoadjuvan sistemik tedavi uygulanan tümörler ile uygulanmayan tümörler arasında katepsin ekspresyonu açısından anlamlı bir fark bulunmamıştır (Linders vd. 2024).

Kim ve arkadaşları (2020) tarafından yapılan bir çalışma, gerçek dünyadaki papiller tiroid kanseri hasta örneklerinin de daha yüksek seviyelerde CTSB eksprese ettiğini ve artmış seviyelerin lenf nodu metastazı ile ilişkili olduğunu göstermiştir. Bu gözlemler, papiller tiroid kanserinde lenf nodu metastazından sonra klinik prognozu belirlemek için yeni bir strateji sunmuştur. Bu sonuçlar, tiroid kanserinde yüksek CTSB'nin metastatik proteinlerin ekspresyonunu indüklediğini ve böylece lenf nodu metastazına yol açtığını, CTSB'nin iyi ve klinik olarak ilgili bir prognostik belirteç olabileceğini düşündürmektedir (Kim vd. 2020).

Tan ve arkadaşları (2016) tarafından nazofarenks karsinomlu hastalar üzerinde yapılan benzer bir çalışmada, ELISA analizi nazofarenks karsinomlu hastalardan elde edilen serumlarda CTSB konsantrasyonunun $12,5 \pm 3,5$ mg/L olduğunu göstermiştir. CTSB seviyeleri nazofarenks karsinomu hasta popülasyonunda sağlıklı kontrol popülasyonuna kıyasla anlamlı derecede daha yüksek olmuştur ($p = 0.001$). Nazofarenks karsinomlu hastaların serumunda CTSB varlığı tümör düğümü metastaz skorları ile korelasyon göstermiştir ($p = 0.001$). Bu bulgular bizim sonuçlarımızla uyumlu olmuştur.

Abdulla (2017) tarafından kolorektal kanser hastaları üzerinde yapılan bir çalışma, lenf nodu metastazı olan hastaların serumlarında CTSB'nin erken ve geç evre primer tümörlere kıyasla anlamlı derecede yüksek olduğunu göstermiştir. Bu bulgular, CTSB'nin Orta Doğu toplumlarında erken evre kolorektal kanser ve lenf nodu metastazı için önemli bir prognostik biyobelirteç olabileceğini göstermiştir. Kolorektal kanser hastalarında serum CTSB'nin izlenmesi lenf nodu metastazını öngörebilir ve teşhis edebilir. Ayrıca, CTSB kolorektal kanser tedavisinde nanopartikül bazlı ilaçlar için potansiyel bir hedefi temsil edebilir (Abdulla 2017).

Shabbir ve arkadaşları (2022) tarafından oral skuamöz hücreli karsinom hastaları üzerinde yapılan bir çalışma, oral skuamöz hücreli karsinom hastalarında tükürük CTSB seviyelerinin hem histolojik derecelere hem de tümör boyutuna göre kontrol grubuna kıyasla p-değeri ($<0,001$) ile anlamlı şekilde arttığını göstermiştir. En yüksek ortalama CTSB seviyeleri iyi diferansiye oral skuamöz hücreli karsinomda gözlenmiş, bunu az diferansiye oral skuamöz hücreli karsinom ve orta derecede diferansiye oral skuamöz

hücreli karsinom izlemiştir. Bu çalışmanın sonuçları, CTSB'nin farklı histolojik derecelerdeki oral skuamöz hücreli karsinomun teşhisi ve izlenmesi için tükürük biyobelirteci olarak büyük bir değere sahip olduğunu göstermiştir. Bu da sağkalım oranının artmasına ve oral skuamöz hücreli karsinomun prognozunun iyileşmesine yol açacaktır (Shabbir vd. 2022).

Xu ve arkadaşları (2016) tarafından insan mide karsinomu hastaları üzerinde yapılan bir çalışmada, CTSB'nin tümör evresi ilerlemesi (T, N ve TNM evreleri) sırasında aşamalı olarak yukarı doğru düzenlendiği, kötü prognozla bağlantılı olduğu ve tümör boyutundaki artışla ilişkili olduğu bulunmuştur. Ayrıca, yüksek katepsin B ekspresyonu, mide kanseri hücre invazyonunu ve metastazını destekleyen laminin ekspresyonunu azaltmıştır.

Qin ve arkadaşları (2016) tarafından karaciğer kanseri hastaları üzerinde yapılan bir başka çalışmada, 90 hepatik karsinom örneğinin 55'inde (%61,11) ve 90 para-karsinom örneğinin 31'inde (%34,4) CTSB'nin düşük ekspresyon seviyelerini ortaya çıkarmak için immünohistokimyasal analiz kullanılmıştır. CTSB'nin düşük ekspresyonu sağkalım ($P = 0.001$) ve tümör derecesi ($P = 0.007$) ile anlamlı şekilde ilişkilendirilmiştir. Ayrıca, çok değişkenli analiz de CTSB ekspresyonunun hepatoselüler karsinomlu hastalarda sağkalım için bağımsız bir prognostik belirteç olduğunu göstermiştir (Qin vd. 2016).

Ortalama yaşı $67,88 \pm 8,83$ yıl olan erkekleri değerlendirdik. Bunlar, tanı konmamış Pca'nın yaşla birlikte doğal ilerlemesi ve hormonal durumdaki değişiklikler nedeniyle ilerlemiş hastalık barındırması muhtemel yaşlı erkekler olmuştur. Diğer çalışmalar da Pca hastaları arasında bu yaş grubundaki erkekleri belgelemiştir (Pai ve Hegde 2013).

Benli ve arkadaşları (2018) tarafından yapılan bir çalışmada, gruplardaki yaş dağılımının Grup 1 (PCa) için $67,6 \pm 9,4$ yıl ve Grup 2 (kontrol) için $62 \pm 8,5$ yıl olduğu bildirilmiştir. Gruplar arasında yaş açısından farklılıklar vardı ($p < 0.001$).

Prostat kanseri (PCa) dünya genelinde erkeklerde en sık teşhis edilen kanser olup, yılda tahmini 1,6 milyon vaka ve 0,366 milyon ölüm gerçekleşmiştir (Fitzmaurice vd. 2017, Siegel vd. 2018). Serum PSA ölçümünün yaygın kullanımı nedeniyle, çoğu PCa hastasına artık klinik olarak lokalize hastalık tanısı konulmuştur (Grossman vd. 2018). PSA, normal prostat dokusunda ve prostat tümör dokusunda eksprese edilen bir glikoproteindir. PCa'da bazal hücrelerin olmaması nedeniyle, PSA seviyesi PCa hücrelerinde normal prostat bezi hücrelerine göre daha düşüktür ve bu da bazal membranın ve lümen yapısının bozulmasına neden olmuştur. Böylece, dolaşıma çok sayıda PSA salınır (Zheng vd. 2020).

Udoh ve arkadaşları (2020a) tarafından yapılan bir çalışmada, ortalama PSA $56,33 \pm 38,99$ ng/ml olarak kaydedilmiş, ayrıca çoğunluğunun (%47,0) 50 ng/ml'nin üzerinde PSA'ya sahip olduğu görülmüştür. Bu tablo, çoğu araştırmacı serum PSA ile kanserin ilerlemesi arasında doğrudan ve anlamlı bir ilişki olduğunu belgelediğinden, erkek kohortumuzda invaziv hastalığın baskın olma olasılığını göstermektedir (Udoh vd. 2020a).

Zheng ve arkadaşları (2020) tarafından yapılan bir çalışma, prostat kanserinde (PCa) PSA değerlerinin oranının hastalığın daha ileri evrelerine ilerledikçe arttığını göstermiştir. Ayrıca, PSA düzeyi <4 ng/ml olan PCa hastaları genellikle daha genç, daha düşük Gleason derecesi ve daha düşük lenf nodu metastaz oranı gibi daha olumlu tümör özelliklerine sahip olmuştur (Zheng vd. 2020).

Hasta ve sağlıklı gruplarda PSA düzeylerinin dağılımı sırasıyla $6,87 \pm 7,27$ ng/dl ve $0,91 \pm 0,6$ ng/dl olarak belirlenmiştir ve gruplar arasında anlamlı farklılıklar bulunmuştur ($p < 0,001$). PSA değeri ≥ 4 ng/dl olan hastalar için, PSA'daki artışın potansiyel nedenleri dışlanmış ve tekrarlanan ölçümler yüksek PSA seviyelerini doğrulamıştır (Benli vd. 2018).

Çalışmamızda katılımcıların GDF15 değerleri hasta ve sağlıklı gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık göstermiştir. Hasta grubunun GDF15 değeri kontrol grubundan daha yüksek olmuştur. Ayrıca, ROC eğrisi altındaki alan istatistiksel

olarak önemli bulunmuştur. Buna karşılık, PCa hasta gruplarında serum GDF15 düzeyleri ve insan GAL-9 arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki ortaya çıkmıştır ($P < 0.05$).

Prostat karsinogenezinde rol oynayabilecek çeşitli sitokinler arasında en ilgi çekici olanlardan biri, karsinogenezin erken ve geç aşamalarında pleiotropik işlevlere sahip olduğu görülen GDF15'tir (Vaňhara vd. 2012).

Prostat kanseri olan erkeklerin cerrahi ile tedavi edildiği ve daha sonra biyokimyasal nüks açısından takip edildiği bir çalışmada. Seviyeler, eşleştirilmiş prostat benign biyopsi ve tümör cerrahi örneklerinde GDF15'in birlikte ekspresyonu ile ölçülmüştür. GDF15 ekspresyonu, prostat tümörü örneklerinde iyi huylu prostat biyopsisine kıyasla artmıştır; ancak GDF15 ekspresyonu, en düşük ortalama seviyelerin prostat tümörüne bitişik iyi huyluda gözlendiği ve iyi huylu prostat biyopsisinde orta GDF15 ekspresyon seviyelerinin gözlendiği bir model göstermiştir (Sadasivan vd. 2020). GDF-15 ekspresyon profilinin çeşitli kanserlerde iyi tanımlanmış olmasına rağmen, prostat tümörü gelişimindeki spesifik rolü kapsamlı araştırma gerektirmektedir. Çalışmamız sunulan çalışmalar tarafından desteklenmiştir.

Bulgularımız, Khalaf (2021) tarafından yapılan ve hasta grubunun ortalama GDF15'inin kontrol grubundan daha yüksek olduğunu gösteren bir çalışmanın bulgularıyla uyumlu olmuştur. Sonuçlar ayrıca A ve B grupları arasında GDF15 açısından anlamlı farklılıklar olduğunu göstermiştir.

Ayrıca, Banidahir (2021) tarafından yapılan bulgularımıza benzer bir başka çalışmada, serum GDF15 seviyeleri PCa'lı hasta grubunda kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. GDF15 (mg/dl) ortalaması gruplar arasında anlamlı bir farka sahipti; sonuçlar $P < 0.05$ 'te (sırasıyla 53.8 ± 50.8 mg/dl ve 33.4 ± 19.3 mg/dl) (* $P = 0.0352$) olmuştur. Winand ve arkadaşları (2014) tarafından sunulan veriler, serum GDF15 seviyelerinin hızlı hastalık ilerlemesi gösteren metastazlı kanser (Pca) hastalarında önemli ölçüde yüksek olduğunu göstermiştir.

Welsh ve arkadaşları, metastatik prostat kanseri hastalarının serum GDF15 seviyelerinin normal kontrollere göre önemli ölçüde daha yüksek olduğunu keşfetmiştir (Welsh vd. 2003). Daha önce yapılan bir başka çalışmada, 1.000'den fazla primer ve 200 metastatik prostat kanseri örneğinden elde edilen gen ekspresyon verilerinin analizi, metastatik prostat kanserinin primer prostat kanserinden daha az GDF15 eksprese ettiğini ortaya koymuştur. Primer tümördeki GDF15 düşük seviyeleri prostat kanseri hastaları ile ilişkilendirilmiştir (Zhang vd. 2019).

Sonuç olarak, GDF15'in serum konsantrasyonu, özellikle PCa'da benign hiperplazi ve PCa prognozunu öngörebilen yeni ve potansiyel bir biyobelirteçtir. Serumdaki yüksek GDF15 seviyesi, PCa hastalarının agresifliği, metastazı ve kısalmış sağkalımı ile ilişkilidir. Ayrıca, serum PSA ile birlikte GDF15, PCa hastaları için mevcut belirteçlerden daha spesifik bir tanı aracı sağlamıştır (Li vd. 2015).

Katılımcıların hepsidin hormonu seviyeleri gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık göstermiştir, ayrıca hasta grubundaki hepsidin hormonu seviyeleri kontrol grubundan daha yüksek olmuştur.

Ayrıca, ROC eğrisi altındaki alan istatistiksel olarak önemli bulunmuştur. Buna karşılık, PKa hasta gruplarında serum Hepsidin hormon düzeyleri İnsan KTSB, BMI ve PSA ile istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki ortaya koymuştur ($P < 0.05$). Alcantara-Zapata ve arkadaşları (2023) yüksek irtifada yaşayan sağlıklı kişilerde hepsidin ve PSA seviyeleri arasında bir ilişki olmadığını gösterirken, bizim çalışmamızda Human CTSB ve PSA arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmuştur. Bu çalışma bizim bulgularımızla uyummamaktadır.

Çalışmamız, hepsidinin prostat hücreleri tarafından salgılandığını ve iyi huylu prostat hücrelerine kıyasla tüm prostat kanseri hücrelerinde belirgin şekilde yükseldiğini gösteren Tesfay ve diğerlerinin (2015) bulgularıyla uyumlu bulunmuştur. Prostat kanseri hücrelerinde hepsidin transkriptleri de benzer şekilde yükselmiştir.

Khalaf (2021) tarafından yapılan bulgularımıza benzer bir çalışmada, bu çalışmanın verilerinin Kontrol grubu (grup A) ile hasta (Grup B) arasında hepsidin Hormonu seviyesinde anlamlı farklılıklar olduğunu göstermiştir (sırasıyla 2.44 ± 1.91 ; 5.47 ± 3.24). burada PCa hasta grubunun serumundaki hepsidin seviyeleri kontrol grubundan daha fazla olmuştur.

Wang ve arkadaşları (2017) tarafından yapılan bir çalışmada, hepsidinin prostat kanseri hücrelerinde yüksek oranda eksprese edildiği ve hücre içi demir taşınımını artırarak hücre proliferasyonunu, migrasyonunu ve apoptozu düzenleyebildiği ortaya konmuştur.

Traeger ve arkadaşları (2019) tarafından yapılan ve bulgularımızla uyumlu olan bir başka çalışmada, yüksek serum hepsidin ve GDF-15 seviyeleri ile hastalığın agresifliği ve ilerlemesi arasında bir korelasyon olduğu gösterilmiş ve serum hepsidin ve GDF-15 seviyelerinin potansiyel prognostik özellikleri ortaya konmuştur. Veriler, böbrek hücreli karsinom ve üst üriner sistem ürotelyal karsinomlarında serum hepsidin ve GDF-15'in prognostik belirteçler olarak daha fazla değerlendirilmesini desteklemiştir (Traeger vd. 2019).

Kolorektal kanserli hastalarda, kanser dokusundaki hepsidin ekspresyonu T evresiyle ilişkilidir ancak metastazlarla ilişkili görülmemiştir (Xiang 2017). Renal hücreli karsinomda, Kamai ve meslektaşları, renal hücreli karsinomdan muzdarip küçük bir hasta kohortunda hepsidini araştırmıştır. Sonuçlar burada elde edilen sonuçlarla uyumludur: artmış serum hepsidin seviyeleri renal hücreli karsinom metastazı ile ilişkilendirilmiştir (Kamai vd. 2009).

Kolorektal kanserli hastalarda, kanser dokusundaki hepsidin ekspresyonu T evresiyle ilişkiliydi ancak metastazlarla ilişkili bulunamamıştır (Xiang 2017). Renal hücreli karsinomda, Kamai ve meslektaşları renal hücreli karsinomdan muzdarip küçük bir hasta kohortunda hepsidini araştırmışlardır. Sonuçlar burada elde edilen sonuçlarla uyumludur: artmış serum hepsidin seviyeleri renal hücreli karsinom metastazı ile ilişkilendirilmiştir (Kamai vd. 2009).

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Çalışmamız, prostat kanserli hastalarda Galectin-9 (Gal-9), Cathepsin B (CTSB), Beta-Catenin, büyüme farklılaşma faktörü 15 (GDF15) ve hepsidin düzeylerini aydınlatan ve bu parametreler arasında pozitif bir bağlantı olduğunu gösteren ilk çalışma olması nedeniyle önemli bulunmuştur. ROC eğrisi analizi, Gal-9, CTSB, Beta-Catenin ve GDF15 düzeylerinin sol ventrikül hipertrofisi şiddetine sahip PCa hastalarında iyi tanısal belirteçler olduğunu göstermiştir. Çalışmamızın sonuçları, PCa hastalarının serum Gal-9, CTSB, Beta-Catenin, hepcidin ve GDF15 seviyelerinin önemli ölçüde yükseldiğini göstermiştir. Daha da önemlisi, PCa'lı hasta grubunda Gal-9, CTSB, Beta-Catenin, hepcidin ve GDF15 seviyelerinin sağlıklı gruptakilerden daha yüksek olduğunu göstermemiştir. Sonuç olarak, dolaşımdaki Galectin-9, Cathepsin B, Beta-Catenin, hepcidin ve büyüme farklılaşma faktörü 15, PCa hastalarında tümörlerin insidansını ve ilerlemesini izlemek ve tahmin etmek için tanısal biyobelirteçler olarak hizmet edebilir.

Bu yeni çalışma nedeniyle, Galectin-9, Cathepsin B ve Beta-Catenin'in prostat tümörlerini etkilediği biyokimyasal yolu belirlemek ve PCa hastaları için daha etkili bir öngörücü ajan haline getirmek için daha fazla araştırma yapılması gerekecektir.

KAYNAKLAR

- Abdulla, M. 2017. Abstract B06: Cathepsin B expression in colorectal cancer in Middle East populations: Potential value as a tumor biomarker for late stages. *Cancer Research*, 77(3): B06-B06.
- Abdulla, M. H., Valli-Mohammed, M. A., Al-Khayal, K., Al Shkieh, A., Zubaidi, A., Ahmad, R., Al-Saleh, K., Al-Obeed, O. and McKerrow, J. 2017. Cathepsin B expression in colorectal cancer in a Middle East population: Potential value as a tumor biomarker for late disease stages. *Oncology Reports*, 37(6): 3175–3180.
- Adams, J. S. and Hewison, M. 2008. Unexpected actions of vitamin D: new perspectives on the regulation of innate and adaptive immunity. *Nature Clinical Practice Endocrinology and Metabolism*, 4(2): 80-90.
- Agarwal, A. K. and Yee, J. 2019. Hepcidin. *Advances in Chronic Kidney Disease*, 26(4): 298–305.
- Aggarwal, N. and Sloane, B. F. 2014. Cathepsin B: multiple roles in cancer. *PROTEOMICS–Clinical Applications*, 8(5-6): 427-437.
- Akkari, L., Gocheva, V., Kester, J. C., Hunter, K. E., Quick, M. L., Sevenich, L., Wang, H. W., Peters, C., Tang, L. H., Klimstra, D. S., Reinheckel, T. and Joyce, J. A. 2014. Distinct functions of macrophage-derived and cancer cell-derived cathepsin Z combine to promote tumor malignancy via interactions with the extracellular matrix. *Genes and Development*, 28(19): 2134–2150.
- Akkari, L., Gocheva, V., Quick, M. L., Kester, J. C., Spencer, A. K., Garfall, A. L. and Joyce, J. A. 2016. Combined deletion of cathepsin protease family members reveals compensatory mechanisms in cancer. *Genes & development*, 30(2): 220-232.
- Aktary, Z., Bertrand, J. U. and Larue, L. 2016. The WNT-less wonder: WNT-independent β -catenin signaling. *Pigment Cell and Melanoma Research*, 29(5): 524-540.
- Alcantara-Zapata, D. E., Thiersch, M. and Gonzales, G. F. 2023. Association of serum hepcidin with prostate-specific antigen levels in men from high Andean cities of Peru. *International Journal of Health Sciences*, 17(2): 28.
- Alenezi, B. T., Alsubhi, M. H., Jin, X., He, G., Wei, Q. and Ke, Y. 2021. Global development on causes, epidemiology, aetiology, and risk factors of prostate

- cancer: An advanced study. *Highlights on Medicine and Medical Science*, 17: 94-117.
- Alizadeh, M. and Alizadeh, S. 2014. Survey of clinical and pathological characteristics and outcomes of patients with prostate cancer. *Global Journal of Health Science*, 6(7): 49–57.
- Amin, H. Z., Amin, L. Z. and Wijaya, I. P. 2017. Galectin-3: a novel biomarker for the prognosis of heart failure. *Clujul Medical*, 90(2): 129.
- Amuta, A.O. and Barry, A.E. 2015. Influence of family history of cancer on engagement in protective health behaviors. *American Journal of Health Education*, 46: 157–164.
- Anastas, J. N. and Moon, R. T. 2013. WNT signalling pathways as therapeutic targets in cancer. *Nature reviews. Cancer*, 13(1): 11–26.
- Anderson, A. C., Joller, N. and Kuchroo, V. K. 2016. Lag-3, Tim-3, and TIGIT: co-inhibitory receptors with specialized functions in immune regulation. *Immunity*, 44(5): 989-1004.
- Angell, H. K., Bruni, D., Barrett, J. C., Herbst, R. and Galon, J. 2020. The immunescore: colon cancer and beyond. *Clinical Cancer Research*, 26(2): 332-339.
- Arvaniti, E., Fricker, K. S., Moret, M., Rupp, N., Hermanns, T., Fankhauser, C. and Claassen, M. 2018. Automated Gleason grading of prostate cancer tissue microarrays via deep learning. *Scientific Reports*, 8(1): 1-11.
- Asakura, H., Kashio, Y., Nakamura, K., Seki, M., Dai, S., Shirato, Y. and Hirashima, M. (2002). Selective eosinophil adhesion to fibroblast via IFN- γ -induced galectin-9. *The Journal of Immunology*, 169(10): 5912-5918.
- Asrih, M., Wei, S., Nguyen, T. T., Yi, H. S., Ryu, D. and Gariani, K. 2023. Overview of growth differentiation factor 15 in metabolic syndrome. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, 27(9): 1157–1167.
- Assadi, A., Zahabi, A. and Hart, R. A. 2020. GDF15, an update of the physiological and pathological roles it plays: a review. *Pflugers Archiv : European Journal of Physiology*, 472(11): 1535–1546.
- Astorgues-Xerri, L., Riveiro, M. E., Tijeras-Raballand, A., Serova, M., Neuzillet, C., Albert, S., ... & Faivre, S. (2014). Unraveling galectin-1 as a novel therapeutic target for cancer. *Cancer treatment reviews*, 40(2): 307-319.

- Baco, E., Rud, E., Eri, L. M., Moen, G., Vlatkovic, L., Svindland, A. and Ukimura, O. 2016. A randomized controlled trial to assess and compare the outcomes of two-core prostate biopsy guided by fused magnetic resonance and transrectal ultrasound images and traditional 12-core systematic biopsy. *European Urology*, 69(1): 149-156.
- Baek, K. E., Yoon, S. R., Kim, J. T., Kim, K. S., Kang, S. H., Yang, Y. and Lee, H. G. 2009. Upregulation and secretion of macrophage inhibitory cytokine-1 (MIC-1) in gastric cancers. *Clinica Chimica Acta*, 401(1-2): 128-133.
- Balan, V., Nangia-Makker, P. and Raz, A. 2010. Galectins as cancer biomarkers. *Cancers*, 2(2): 592-610.
- Banidahir, S. A. M. 2021. The relationship between growth differentiation factor-15 and testosterone hormone level in prostate cancer patients. Master's Thesis, Cankiri Karatekin University, 71 page, Turkey.
- Bansal, N., Kumar, D., Gupta, A., Chandra, D., Sankhwar, S. N. and Mandhani, A. 2017. Relevance of MIC-1 in the era of PSA as a serum based predictor of prostate cancer: a critical evaluation. *Scientific Reports*, 7(1): 16824.
- Bantis, A., Gonidi, M., Athanassiades, P., Tsolos, C.h, Liossi, A., Aggelonidou, E., Athanassiadou, A. M., Petrakakou, E. and Athanassiadou, P. 2005. Prognostic value of DNA analysis of prostate adenocarcinoma: correlation to clinicopathologic predictors. *Journal of Experimental and Clinical Cancer Research*, 24(2): 273–278.
- Barakzai, M. A. 2019. Prostatic Adenocarcinoma: A Grading from Gleason to the New Grade-Group System: A Historical and Critical Review. *Asian Pacific journal of cancer prevention : APJCP*, 20(3): 661–666.
- Barondes, S. H., Cooper, D. N., Gitt, M. A. and Leffler, H. 1994. Galectins. Structure and function of a large family of animal lectins. *The Journal of Biological Chemistry*, 269(33): 20807–20810.
- Barrera-Ocampo, A., Gutierrez-Vargas, J., Garcia-Segura, L. M. and Cardona-Gómez, G. P. 2012. Glycogen synthase kinase-3 β / β -catenin signaling in the rat hypothalamus during the estrous cycle. *Journal of Neuroscience Research*, 90(5): 1078-1084.
- Barrow, H., Rhodes, J. M. and Yu, L. G. 2011. The role of galectins in colorectal cancer progression. *International Journal of Cancer*, 129(1): 1-8.

- Bastakoty, D. and Young, P. P. 2016. Wnt/ β -catenin pathway in tissue injury: roles in pathology and therapeutic opportunities for regeneration. *The FASEB Journal*, 30(10): 3271.
- Beckham, T. H., Lu, P., Cheng, J. C., Zhao, D., Turner, L. S., Zhang, X. and Liu, X. 2012. Acid ceramidase-mediated production of sphingosine 1-phosphate promotes prostate cancer invasion through upregulation of cathepsin B. *International Journal of Cancer*, 131(9): 2034-2043.
- Bener, A., Al-Hamaq, A. O. and Saleh, N. M. 2013. Association between vitamin D insufficiency and adverse pregnancy outcome: global comparisons. *International Journal of Women's Health*, 523-531.
- Benes, P., Vetvicka, V. and Fusek, M. 2008. Cathepsin D—many functions of one aspartic protease. *Critical Reviews in Oncology/Hematology*, 68(1): 12-28.
- Benli, E., Cirakoglu, A., Ayyıldız, S. N. and Yüce, A. 2018. Comparison of serum uric acid levels between prostate cancer patients and a control group. *Central European journal of urology*, 71(2): 242–247.
- Bergengren, O., Pekala, K. R., Matsoukas, K., Fainberg, J., Mungovan, S. F., Bratt, O. and Carlsson, S. V. 2023. 2022 update on prostate cancer epidemiology and risk factors—a systematic review. *European urology*, 84(2):191-206
- Berwick, D. C. and Harvey, K. 2012. The importance of Wnt signalling for neurodegeneration in Parkinson's disease. *Biochemical Society Transactions*, 40(5): 1123-1128.
- Bi, S., Earl, L. A., Jacobs, L. and Baum, L. G. 2008. Structural features of galectin-9 and galectin-1 that determine distinct T cell death pathways. *Journal of Biological Chemistry*, 283(18): 12248-12258.
- Billesbølle, C. B., Azumaya, C. M., Kretsch, R. C., Powers, A. S., Gonen, S., Schneider, S., Arvedson, T., Dror, R. O., Cheng, Y. and Manglik, A. 2020. Structure of hepcidin-bound ferroportin reveals iron homeostatic mechanisms. *Nature*, 586(7831): 807–811.
- Blagoev, K. B., Iordanov, R., Zhou, M., Fojo, T. and Bates, S. E. 2021. Drug resistant cells with very large proliferative potential grow exponentially in metastatic prostate cancer. *Oncotarget*, 12(1): 15–21.

- Blair, B. B., Funkhouser, A. T., Goodwin, J. L., Strigenz, A. M., Chaballout, B. H., Martin, J. C. and Blenda, A. V. 2021. Increased circulating levels of galectin proteins in patients with breast, colon, and lung cancer. *Cancers*, 13(19): 4819.
- Blanco-Calvo, M., Tarrío, N., Reboredo, M., Haz-Conde, M., García, J., Quindós, M. and Valladares-Ayerbes, M. 2014. Circulating levels of GDF15, MMP7 and miR-200c as a poor prognostic signature in gastric cancer. *Future Oncology*, 10(7): 1187-1202.
- Bonnans, C., Chou, J. and Werb, Z. 2014. Remodelling the extracellular matrix in development and disease. *Nature reviews Molecular Cell Biology*, 15(12): 786-801.
- Bouchelouche, K., Choyke, P. L. and Capala, J. 2010. Prostate specific membrane antigen—a target for imaging and therapy with radionuclides. *Discovery Medicine*, 9(44): 55.
- Bratt, O., Drevin, L., Akre, O., Garmo, H. and Stattin, P. 2016. Family History and Probability of Prostate Cancer, Differentiated by Risk Category: A Nationwide Population-Based Study. *Journal of the National Cancer Institute*, 108(10): 110.
- Bray, F., Ferlay, J., Soerjomataram, I., Siegel, R. L., Torre, L. A. and Jemal, A. 2018. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA: a Cancer Journal for Clinicians*, 68(6): 394-424.
- Brix, K., Dunkhorst, A., Mayer, K. and Jordans, S. 2008. Cysteine cathepsins: cellular roadmap to different functions. *Biochimie*, 90(2): 194-207.
- Brömme, D., Bonneau, P. R., Lachance, P., Wiederanders, B., Kirschke, H., Peters, C. and Vernet, T. 1993. Functional expression of human cathepsin S in *Saccharomyces cerevisiae*. Purification and characterization of the recombinant enzyme. *Journal of Biological Chemistry*, 268(7): 4832-4838.
- Brook, M. N., Ní Raghallaigh, H., Govindasami, K., Dadaev, T., Rageevakumar, R., Keating, D., Hussain, N., Osborne, A., Lophatananon, A., UKGPCS Collaborators, Muir, K. R., Kote-Jarai, Z. and Eeles, R. A. 2023. Family History of Prostate Cancer and Survival Outcomes in the UK Genetic Prostate Cancer Study. *European Urology*, 83(3): 257–266.

- Brookes, M. J., Boulton, J., Roberts, K., Cooper, B. T., Hotchin, N. A., Matthews, G., Iqbal, T. and Tselepis, C. 2008. A role for iron in Wnt signalling. *Oncogene*, 27(7): 966–975.
- Brown, D. A., Lindmark, F., Stattin, P., Bälter, K., Adami, H. O., Zheng, S. L., Xu, J., Isaacs, W. B., Grönberg, H., Breit, S. N. and Wiklund, F. E. 2009. Macrophage inhibitory cytokine 1: a new prognostic marker in prostate cancer. *Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research*, 15(21): 6658–6664.
- Brown, D. A., Ward, R. L., Buckhaults, P., Liu, T., Romans, K. E., Hawkins, N. J. and Breit, S. N. 2003. MIC-1 serum level and genotype: associations with progress and prognosis of colorectal carcinoma. *Clinical Cancer Research*, 9(7): 2642-2650.
- Brubel, R., Bokor, A., Pohl, A., Schilli, G. K., Szereday, L., Bacher-Szamuely, R. and Polgar, B. 2017. Serum galectin-9 as a noninvasive biomarker for the detection of endometriosis and pelvic pain or infertility-related gynecologic disorders. *Fertility and Sterility*, 108(6): 1016-1025.
- Buyyounouski, M. K., Choyke, P. L., McKenney, J. K., Sartor, O., Sandler, H. M., Amin, M. B., Kattan, M. W. and Lin, D. W. 2017. Prostate cancer - major changes in the American Joint Committee on Cancer eighth edition cancer staging manual. *CA: a cancer journal for clinicians*, 67(3): 245–253.
- Čada, Z., Smetana Jr, K., Lacina, L., Plzáková, Z., Štork, J., Kaltner, H. and Gabius, H. J. 2009. Immunohistochemical Fingerprinting of the Network of Seven Adhesion/Growth-Regulatory Lectins in Human Skin and Detection of Distinct Tumour-Associated Alterations. *Folia Biologica (Praha)*, 55: 145-152.
- Cadigan, K. M. 2012. TCFs and Wnt/ β -catenin signaling: more than one way to throw the switch. *Current Topics in Developmental Biology*, 98: 1–34.
- Cao, Y. and Ma, J. 2011. Body mass index, prostate cancer–specific mortality, and biochemical recurrence: a systematic review and meta-analysis. *Cancer Prevention Research*, 4(4): 486-501.
- Cardona-Gomez, P., Perez, M., Avila, J., Garcia-Segura, L. M. and Wandosell, F. 2004. Estradiol inhibits GSK3 and regulates interaction of estrogen receptors, GSK3, and β -catenin in the hippocampus. *Molecular and Cellular Neuroscience*, 25(3): 363-373.

- Carter, H. B., Albertsen, P. C., Barry, M. J., Etzioni, R., Freedland, S. J., Greene, K. L. and Zietman, A. L. 2013. Early detection of prostate cancer: AUA Guideline. *The Journal of Urology*, 190(2): 419-426.
- Carter, H. B., Pearson, J. D., Metter, E. J., Brant, L. J., Chan, D. W., Andres, R. and Walsh, P. C. 1992. Longitudinal evaluation of prostate-specific antigen levels in men with and without prostate disease. *Jama*, 267(16): 2215-2220.
- Carvalho, C., Isakova, T., Collerone, G., Olbina, G., Wolf, M., Westerman, M. and Gutierrez, O. M. 2011. Heparin and disordered mineral metabolism in chronic kidney disease. *Clinical Nephrology*, 76(2): 90.
- Catalona, W. J. and Loeb, S. 2010. Prostate cancer screening and determining the appropriate prostate-specific antigen cutoff values. *Journal of the National Comprehensive Cancer Network*, 8(2): 265-270.
- Catalona, W. J., Richie, J. P., Ahmann, F. R., Hudson, M. L. A., Scardino, P. T., Flanigan, R. C. and Southwick, P. C. 2017. Comparison of digital rectal examination and serum prostate specific antigen in the early detection of prostate cancer: results of a multicenter clinical trial of 6,630 men. *The Journal of Urology*, 197(2S): 200-207.
- Cavallo-Medved, D. and Sloane, B. F. 2003. Cell-surface cathepsin B: understanding its functional significance. *Current Topics in Developmental Biology*, pp 313-341, USA.
- Cavallo-Medved, D., Moin, K. and Sloane, B. 2011. Cathepsin B: basis sequence: mouse. *The AFCS-nature molecule pages*, 22-23.
- Chabot, S., Kashio, Y., Seki, M., Shirato, Y., Nakamura, K., Nishi, N. and Hirashima, M. 2002. Regulation of galectin-9 expression and release in Jurkat T cell line cells. *Glycobiology*, 12(2): 111-118.
- Chagan-Yasutan, H., Ndhlovu, L. C., Lacuesta, T. L., Kubo, T., Leano, P. S. A., Niki, T. and Dimaano, E. M. 2013. Galectin-9 plasma levels reflect adverse hematological and immunological features in acute dengue virus infection. *Journal of Clinical Virology*, 58(4): 635-640.
- Chandrasekar, T., Yang, J. C., Gao, A. C. and Evans, C. P. 2015. Mechanisms of resistance in castration-resistant prostate cancer (CRPC). *Translational Andrology and Urology*, 4(3): 365.

- Chang, S. W., Kallarakkal, T. G. and Abraham, M. T. 2014. Changed expression of E-cadherin and galectin-9 in oral squamous cell carcinomas but lack of potential as prognostic markers. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, 15(5): 2145-2152.
- Charlier, E., Condé, C., Zhang, J., Deneubourg, L., Di Valentin, E., Rahmouni, S. and Gloire, G. 2010. SHIP-1 inhibits CD95/APO-1/Fas-induced apoptosis in primary T lymphocytes and T leukemic cells by promoting CD95 glycosylation independently of its phosphatase activity. *Leukemia*, 24(4): 821-832.
- Chen, D. S. and Mellman, I. 2017. Elements of cancer immunity and the cancer-immune set point. *Nature*, 541(7637): 321-330.
- Chen, G., Shukeir, N., Potti, A., Sircar, K., Aprikian, A., Goltzman, D. and Rabbani, S. A. 2004. Up-regulation of Wnt-1 and β -catenin production in patients with advanced metastatic prostate carcinoma: Potential pathogenetic and prognostic implications. *Cancer: Interdisciplinary International Journal of the American Cancer Society*, 101(6): 1345-1356.
- Chen, K., Cai, Y., Zhang, M., Wu, Z. and Wu, Y. 2018. Both serum and tissue Galectin-1 levels are associated with adverse clinical features in neuroblastoma. *Pediatric Blood and Cancer*, 65(9): e27229.
- Chen, S. J., Karan, D., Johansson, S. L., Lin, F. F., Zeckser, J., Singh, A. P., Batra, S. K. and Lin, M. F. 2007. Prostate-derived factor as a paracrine and autocrine factor for the proliferation of androgen receptor-positive human prostate cancer cells. *The Prostate*, 67(5): 557–571.
- Chen, Y. C., Tan, Q. R., Dang, W., Wang, H. N., Zhang, R. B., Li, Z. Y. and Liu, R. 2012. The effect of citalopram on chronic stress-induced depressive-like behavior in rats through GSK3 β / β -catenin activation in the medial prefrontal cortex. *Brain Research Bulletin*, 88(4): 338-344.
- Chen, Z., Dong, D., Zhu, Y., Pang, N. and Ding, J. 2021. The role of Tim-3/Galectin-9 pathway in T-cell function and prognosis of patients with human papilloma virus-associated cervical carcinoma. *The FASEB Journal*, 35(3): e21401.
- Cheng, J. C., Chang, H. M. and Leung, P. C. 2011. Wild-type p53 attenuates cancer cell motility by inducing growth differentiation factor-15 expression. *Endocrinology*, 152(8): 2987–2995.

- Chenn, A. and Walsh, C. A. 2002. Regulation of cerebral cortical size by control of cell cycle exit in neural precursors. *Science*, 297(5580): 365-369.
- Chhabra, A. and Rani, V. 2018. Gel-based gelatin zymography to examine matrix metalloproteinase activity in cell culture. *Proteases and Cancer: Methods and Protocols*, 83-96.
- Chou, F. C., Chen, H. Y., Kuo, C. C. and Sytwu, H. K. 2018. Role of galectins in tumors and in clinical immunotherapy. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(2): 430.
- Chua, A. C., Klopčič, B., Lawrance, I. C., Olynyk, J. K. and Trinder, D. 2010. Iron: an emerging factor in colorectal carcinogenesis. *World Journal of Gastroenterology*, 16(6): 663–672.
- Clements, M. B., Vertosick, E. A., Guerrios-Rivera, L., De Hoedt, A. M., Hernandez, J., Liss, M. A., Leach, R. J., Freedland, S. J., Haese, A., Montorsi, F., Boorjian, S. A., Poyet, C., Ankerst, D. P. Vickers, A. J. 2022. Defining the Impact of Family History on Detection of High-grade Prostate Cancer in a Large Multi-institutional Cohort. *European Urology*, 82(2): 163–169.
- Clevers, H. and Nusse, R. 2012. Wnt/ β -catenin signaling and disease. *Cell*, 149(6): 1192–1205.
- Compagno, D., Gentilini, L. D., Jaworski, F. M., Pérez, I. G., Contrufo, G. and Laderach, D. J. 2014. Glycans and galectins in prostate cancer biology, angiogenesis and metastasis. *Glycobiology*, 24(10): 899-906.
- Compagno, D., Laderach, D. J., Gentilini, L., Jaworski, F. M. and Rabinovich, G. A. 2013. Delineating the "galectin signature" of the tumor microenvironment. *Oncoimmunology*, 2(4): 6-11.
- Coyne, D. W. 2011. Hepcidin: clinical utility as a diagnostic tool and therapeutic target. *Kidney International*, 80(3): 240-244.
- Crichton, R. 2016. Iron metabolism: from molecular mechanisms to clinical consequences. John Wiley and Sons, 576 page, USA.
- Croci, D. O., Cerliani, J. P., Dalotto-Moreno, T., Méndez-Huergo, S. P., Mascanfroni, I. D., Dergan-Dylon, S., Toscano, M. A., Caramelo, J. J., García-Vallejo, J. J., Ouyang, J., Mesri, E. A., Junttila, M. R., Bais, C., Shipp, M. A., Salatino, M. and

- Rabinovich, G. A. 2014. Glycosylation-dependent lectin-receptor interactions preserve angiogenesis in anti-VEGF refractory tumors. *Cell*, 156(4): 744–758.
- Croucher, P. I., McDonald, M. M. and Martin, T. J. 2016. Bone metastasis: the importance of the neighbourhood. *Nature Reviews Cancer*, 16(6): 373-386.
- Cui, C., Zhou, X., Zhang, W., Qu, Y. and Ke, X. 2018. Is β -catenin a druggable target for cancer therapy?. *Trends in Biochemical Sciences*, 43(8): 623-634.
- Culp, M. B., Soerjomataram, I., Efstathiou, J. A., Bray, F. and Jemal, A. 2020. Recent Global Patterns in Prostate Cancer Incidence and Mortality Rates. *European Urology*, 77(1): 38–52.
- Daher, R., Lefebvre, T., Puy, H. and Karim, Z. 2019. Extrahepatic hepcidin production: The intriguing outcomes of recent years. *World Journal of Clinical Cases*, 7(15): 1926–1936.
- Daugherty, R. L. and Gottardi, C. J. 2007. Phospho-regulation of Beta-catenin adhesion and signaling functions. *Physiology (Bethesda, Md.)*, 22: 303–309.
- De Duve, C. 2005. The lysosome turns fifty. *Nature Cell Biology*, 7(9): 847-849.
- DeBerardinis, R. J. and Chandel, N. S. 2016. Fundamentals of cancer metabolism. *Science Advances*, 2(5): 10-14.
- Denmeade, S. R. and Isaacs, J. T. 2002. A history of prostate cancer treatment. *Nature reviews. Cancer*, 2(5): 389–396.
- Dev Jr, A., Vachher, M. and Prasad, C. P. 2023. β -catenin inhibitors in cancer therapeutics: intricacies and way forward. *Bioengineered*, 14(1): 2251696.
- Devetzi, M., Scorilas, A., Tsiambas, E., Sameni, M., Fotiou, S., Sloane, B. F. and Talieri, M. 2009. Cathepsin B protein levels in endometrial cancer: Potential value as a tumour biomarker. *Gynecologic Oncology*, 112(3): 531–536.
- Devlin, P. M., Holloway, C. L. and Stewart, A. J. 2015. *Brachytherapy: applications and techniques*. Springer Publishing Company, 568 page, USA.
- D'Haene, N., Sauvage, S., Maris, C., Adanja, I., Le Mercier, M., Decaestecker, C., Baum, L. and Salmon, I. 2013. VEGFR1 and VEGFR2 involvement in extracellular galectin-1- and galectin-3-induced angiogenesis. *PloS One*, 8(6): e67029.
- Di Lella, S., Sundblad, V., Cerliani, J. P., Guardia, C. M., Estrin, D. A., Vasta, G. R., & Rabinovich, G. A. 2011. When galectins recognize glycans: from biochemistry to physiology and back again. *Biochemistry*, 50(37): 7842–7857.

- Dias, C., Feng, J., Sun, H., Shao, N. Y., Mazei-Robison, M. S., Damez-Werno, D. and Nestler, E. J. 2014. β -catenin mediates stress resilience through Dicer1/microRNA regulation. *Nature*, 516(7529): 51-55.
- Ding, Q., Mracek, T., Gonzalez-Muniesa, P., Kos, K., Wilding, J., Trayhurn, P. and Bing, C. 2009. Identification of macrophage inhibitory cytokine-1 in adipose tissue and its secretion as an adipokine by human adipocytes. *Endocrinology*, 150(4): 1688-1696.
- Ding, Y., Shen, S., Lino, A. C., Curotto de Lafaille, M. A. and Lafaille, J. J. 2008. Beta-catenin stabilization extends regulatory T cell survival and induces anergy in nonregulatory T cells. *Nature Medicine*, 14(2): 162–169.
- Drummond, F. J., Sharp, L. and Comber, H. 2008. Major inter-laboratory variations in PSA testing practices: results from national surveys in Ireland in 2006 and 2007. *Irish Journal of Medical Science*, 177(4): 317.
- Dube, D. H. and Bertozzi, C. R. 2005. Glycans in cancer and inflammation--potential for therapeutics and diagnostics. *Nature reviews. Drug Discovery*, 4(6): 477–488.
- Earl, L. A., Bi, S. and Baum, L. G. 2011. Galectin multimerization and lattice formation are regulated by linker region structure. *Glycobiology*, 21(1): 6-12.
- Ebrahim, A. H., Alalawi, Z., Mirandola, L., Rakhshanda, R., Dahlbeck, S., Nguyen, D. and Chiriva-Internati, M. 2014. Galectins in cancer: carcinogenesis, diagnosis and therapy. *Annals of Translational Medicine*, 2(9): 3-7.
- EC, 2022. European Commission. Recommendation on prostate cancer screening (COM/2022/474 final). Web site https://health.ec.europa.eu/system/files/2022-09/com_2022-474_act_en.pdf. Accessed 14.04.2024.
- Edgington-Mitchell, L. E., Rautela, J., Duivenvoorden, H. M., Jayatilake, K. M., van der Linden, W. A., Verdoes, M., Bogoyo, M. and Parker, B. S. 2015. Cysteine cathepsin activity suppresses osteoclastogenesis of myeloid-derived suppressor cells in breast cancer. *Oncotarget*, 6(29): 27008–27022.
- El-Mahdy, R. I., Zakhary, M. M., Maximous, D. W., Mokhtar, A. A. and El Dosoky, M. I. 2020. Circulating osteocyte-related biomarkers (vitamin D, sclerostin, dickkopf-1), hepcidin, and oxidative stress markers in early breast cancer: Their impact in disease progression and outcome. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 204: 105773.

- Epstein, J. I., Amin, M. B., Reuter, V. E. and Humphrey, P. A. 2017. Contemporary Gleason Grading of Prostatic Carcinoma: An Update With Discussion on Practical Issues to Implement the 2014 International Society of Urological Pathology (ISUP) Consensus Conference on Gleason Grading of Prostatic Carcinoma. *The American Journal of Surgical Pathology*, 41(4): e1–e7.
- Epstein, J. I., Egevad, L., Amin, M. B., Delahunt, B., Srigley, J. R., Humphrey, P. A. and Grading Committee. 2016a. The 2014 International Society of Urological Pathology (ISUP) Consensus Conference on Gleason Grading of Prostatic Carcinoma: Definition of Grading Patterns and Proposal for a New Grading System. *The American Journal of Surgical Pathology*, 40(2): 244–252.
- Epstein, J. I., Zelefsky, M. J., Sjoberg, D. D., Nelson, J. B., Egevad, L., Magi-Galluzzi, C., Vickers, A. J., Parwani, A. V., Reuter, V. E., Fine, S. W., Eastham, J. A., Wiklund, P., Han, M., Reddy, C. A., Ciezki, J. P., Nyberg, T. and Klein, E. A. 2016b. A Contemporary Prostate Cancer Grading System: A Validated Alternative to the Gleason Score. *European Urology*, 69(3): 428–435.
- Etzioni, R., Gulati, R., Cooperberg, M. R., Penson, D. M., Weiss, N. S. and Thompson, I. M. 2013. Limitations of basing screening policies on screening trials: the US Preventive Services Task Force and prostate cancer screening. *Medical care*, 51(4): 295-300.
- Evans, R., Edwards, A. G., Elwyn, G., Watson, E., Grol, R., Brett, J. and Austoker, J. 2007. 'It's a maybe test': men's experiences of prostate specific antigen testing in primary care. *British Journal of General Practice*, 57(537): 303-310.
- Fang, D., Hawke, D., Zheng, Y., Xia, Y., Meisenhelder, J., Nika, H. and Lu, Z. 2007. Phosphorylation of β -catenin by AKT promotes β -catenin transcriptional activity. *Journal of Biological Chemistry*, 282(15): 11221-11229.
- Fang, Y., Zhang, D., Hu, T., Zhao, H., Zhao, X., Lou, Z. and Ye, L. C. 2019. KMT2A histone methyltransferase contributes to colorectal cancer development by promoting cathepsin Z transcriptional activation. *Cancer Medicine*, 8(7): 3544-3552.
- Felbor, U., Kessler, B., Mothes, W., Goebel, H. H., Ploegh, H. L., Bronson, R. T., & Olsen, B. R. 2002. Neuronal loss and brain atrophy in mice lacking cathepsins B and L. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 99(12): 7883-7888.

- Fendler, W. P., Calais, J., Eiber, M., Flavell, R. R., Mishoe, A., Feng, F. Y. and Emmett, L. 2019. Assessment of 68Ga-PSMA-11 PET accuracy in localizing recurrent prostate cancer: a prospective single-arm clinical trial. *JAMA oncology*, 5(6): 856-863.
- Ferrari, D. V., E Avila, M., A Medina, M., Pérez-Palma, E., I Bustos, B. and A Alarcon, M. 2014. Wnt/ β -catenin signaling in Alzheimer's disease. *CNS & Neurological Disorders-Drug Targets (Formerly Current Drug Targets-CNS & Neurological Disorders)*, 13(5): 745-754.
- Fitzmaurice, C., Allen, C., Barber, R. M., Barregard, L., Bhutta, Z. A., Brenner, H. and Satpathy, M. 2017. Global, regional, and national cancer incidence, mortality, years of life lost, years lived with disability, and disability-adjusted life-years for 32 cancer groups, 1990 to 2015: a systematic analysis for the global burden of disease study. *JAMA Oncology*, 3(4): 524-548.
- Fong, D., Man-Ying Chan, M., Hsieh, W. T., Menninger, J. C. and Ward, D. C. 1992. Confirmation of the human cathepsin B gene (CTSB) assignment to chromosome 8. *Human Genetics*, 89: 10-12.
- Francis, J. C., Thomsen, M. K., Taketo, M. M. and Swain, A. 2013. β -catenin is required for prostate development and cooperates with Pten loss to drive invasive carcinoma. *PLoS Genetics*, 9(1): e1003180.
- Frank, D., Kuhn, C., Brors, B., Hanselmann, C., Lüdde, M., Katus, H. A. and Frey, N. 2008. Gene expression pattern in biomechanically stretched cardiomyocytes: evidence for a stretch-specific gene program. *Hypertension*, 51(2): 309-318.
- Fridman, W. H., Zitvogel, L., Sautès-Fridman, C. and Kroemer, G. 2017. The immune contexture in cancer prognosis and treatment. *Nature reviews Clinical Oncology*, 14(12): 717-734.
- Fuchs, T. J. and Buhmann, J. M. 2011. Computational pathology: Challenges and promises for tissue analysis. *Computerized Medical Imaging and Graphics*, 35(7-8): 515-530.
- Fujimura, J. H. and Rajagopalan, R. 2011. Different differences: the use of 'genetic ancestry' versus race in biomedical human genetic research. *Social Studies of Science*, 41(1): 5-30.

- Funkhouser, A., Shuster, H., Martin, J. C., Edenfield, W. J. and Blenda, A. V. 2023. Pattern Analysis of Serum Galectins-1, -3, and -9 in Breast Cancer. *Cancers*, 15(15): 3809.
- Fütterer, J. J., Briganti, A., De Visschere, P., Emberton, M., Giannarini, G., Kirkham, A. and Villers, A. 2015. Can clinically significant prostate cancer be detected with multiparametric magnetic resonance imaging? A systematic review of the literature. *European Urology*, 68(6): 1045-1053.
- Gandaglia, G., Leni, R., Bray, F., Fleshner, N., Freedland, S. J., Kibel, A., Stattin, P., Van Poppel, H. and La Vecchia, C. 2021. Epidemiology and Prevention of Prostate Cancer. *European Urology Oncology*, 4(6): 877–892.
- Ganz, T. 2006. Hepcidin—a peptide hormone at the interface of innate immunity and iron metabolism. In *Antimicrobial Peptides and Human Disease*. Springer, 183-198.
- Ganz, T. and Nemeth, E. 2012. Hepcidin and iron homeostasis. *Biochimica Et Biophysica Acta*, 1823(9): 1434–1443.
- Gattinoni, L., Zhong, X. S., Palmer, D. C., Ji, Y., Hinrichs, C. S., Yu, Z., Wrzesinski, C., Boni, A., Cassard, L., Garvin, L. M., Paulos, C. M., Muranski, P. and Restifo, N. P. 2009. Wnt signaling arrests effector T cell differentiation and generates CD8+ memory stem cells. *Nature Medicine*, 15(7): 808–813.
- Gekas, C., D'Altri, T., Aligué, R., González, J., Espinosa, L. and Bigas, A. 2016. β -Catenin is required for T-cell leukemia initiation and MYC transcription downstream of Notch1. *Leukemia*, 30(10): 2002–2010.
- Ghabili, K., Tosoian, J. J., Schaeffer, E. M., Pavlovich, C. P., Golzari, S. E., Khajir, G., Andreas, D., Benzon, B., Vuica-Ross, M. and Ross, A. E. 2016. The History of Prostate Cancer From Antiquity: Review of Paleopathological Studies. *Urology*, 97: 8–12.
- Gilgunn, S., Conroy, P. J., Saldova, R., Rudd, P. M. and O'Kennedy, R. J. 2013. Aberrant PSA glycosylation--a sweet predictor of prostate cancer. *Nature reviews. Urology*, 10(2): 99–107.
- Giona, S. 2021. The epidemiology of prostate cancer. Exon Publications, 1-15.
- Giordano, M., Croci, D. O. and Rabinovich, G. A. 2013. Galectins in hematological malignancies. *Current opinion in hematology*, 20(4): 327–335.

- Girotti, M. R., Fernández, M., López, J. A., Camafeita, E., Fernández, E. A., Albar, J. P. and Llera, A. S. 2011. SPARC promotes cathepsin B-mediated melanoma invasiveness through a collagen I/ $\alpha 2\beta 1$ integrin axis. *Journal of Investigative Dermatology*, 131(12): 2438-2447.
- Gocheva, V., Wang, H. W., Gadea, B. B., Shree, T., Hunter, K. E., Garfall, A. L., Berman, T. and Joyce, J. A. 2010. IL-4 induces cathepsin protease activity in tumor-associated macrophages to promote cancer growth and invasion. *Genes and Development*, 24(3): 241–255.
- Gocheva, V., Zeng, W., Ke, D., Klimstra, D., Reinheckel, T., Peters, C. and Joyce, J. A. 2006. Distinct roles for cysteine cathepsin genes in multistage tumorigenesis. *Genes and Development*, 20(5): 543-556.
- Goddard, J. C. 2019. The history of the prostate, part one: say what you see. *Trends in Urology and Men's Health*, 10(1): 28-30.
- Goessling, W., Allen, R. S., Guan, X., Jin, P., Uchida, N., Dovey, M., Harris, J. M., Metzger, M. E., Bonifacino, A. C., Stroncek, D., Stegner, J., Armant, M., Schlaeger, T., Tisdale, J. F., Zon, L. I., Donahue, R. E. and North, T. E. 2011. Prostaglandin E2 enhances human cord blood stem cell xenotransplants and shows long-term safety in preclinical nonhuman primate transplant models. *Cell Stem Cell*, 8(4): 445–458.
- Golla, V. and Kaplan, A. L. 2017. Testosterone Therapy on Active Surveillance and Following Definitive Treatment for Prostate Cancer. *Current Urology Reports*, 18(7): 49.
- Gong, F., Peng, X., Luo, C., Shen, G., Zhao, C., Zou, L. and Zhao, X. 2013. Cathepsin B as a potential prognostic and therapeutic marker for human lung squamous cell carcinoma. *Molecular Cancer*, 12: 1-12.
- Gottardi, C. J. and Peifer, M. 2008. Terminal regions of β -catenin come into view. *Structure*, 16(3): 336-338.
- Grasso, C. S., Wu, Y. M., Robinson, D. R., Cao, X., Dhanasekaran, S. M., Khan, A. P. and Tomlins, S. A. 2012. The mutational landscape of lethal castration-resistant prostate cancer. *Nature*, 487(7406): 239-243.
- Griffioen, A. W. and Thijssen, V. L. 2014. Galectins in tumor angiogenesis. *Annals of Translational Medicine*, 2(9): 10-14.

- Grönberg, H., Adolfsson, J., Aly, M., Nordström, T., Wiklund, P., Brandberg, Y., Thompson, J., Wiklund, F., Lindberg, J., Clements, M., Egevad, L. and Eklund, M. 2015. Prostate cancer screening in men aged 50-69 years (STHLM3): a prospective population-based diagnostic study. *The Lancet. Oncology*, 16(16): 1667–1676.
- Grossman, D. C., Curry, S. J., Owens, D. K., Bibbins-Domingo, K., Caughey, A. B., Davidson, K. W. and US Preventive Services Task Force. 2018. Screening for prostate cancer: US Preventive Services Task Force recommendation statement. *Jama*, 319(18): 1901-1913.
- Guichard, C., Amaddeo, G., Imbeaud, S., Ladeiro, Y., Pelletier, L., Maad, I. B. and Zucman-Rossi, J. 2012. Integrated analysis of somatic mutations and focal copy-number changes identifies key genes and pathways in hepatocellular carcinoma. *Nature Genetics*, 44(6): 694-698.
- Guo, Q., Li, L., Hou, S., Yuan, Z., Li, C., Zhang, W., Zheng, L. and Li, X. 2021. The Role of Iron in Cancer Progression. *Frontiers in Oncology*, 11: 778492.
- Guo, Z., Dose, M., Kovalovsky, D., Chang, R., O'Neil, J., Look, A. T., von Boehmer, H., Khazaie, K. and Gounari, F. 2007. Beta-catenin stabilization stalls the transition from double-positive to single-positive stage and predisposes thymocytes to malignant transformation. *Blood*, 109(12): 5463–5472.
- Hammerich, K. H., Ayala, G. E. and Wheeler, T. M. 2009. Anatomy of the prostate gland and surgical pathology of prostate cancer. Cambridge University, 1-10.
- Hanahan, D. and Weinberg, R. A. 2011. Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell*, 144(5): 646-674.
- Handwiki, 2022. The simplified structure of beta-catenin. Web site: <https://handwiki.org/wiki/index.php?curid=1301793>. Date access: 09.04.2024.
- Harb, H., Stephen-Victor, E., Crestani, E., Benamar, M., Massoud, A., Cui, Y., Charbonnier, L. M., Arbag, S., Baris, S., Cunnigham, A., Leyva-Castillo, J. M., Geha, R. S., Mousavi, A. J., Guennewig, B., Schmitz-Abe, K., Sioutas, C., Phipatanakul, W. and Chatila, T. A. 2020. A regulatory T cell Notch4-GDF15 axis licenses tissue inflammation in asthma. *Nature immunology*, 21(11): 1359–1370.
- Hashimoto, Y., Kondo, C. and Katunuma, N. 2015. An active 32-kDa cathepsin L is secreted directly from HT 1080 fibrosarcoma cells and not via lysosomal exocytosis. *PLoS One*, 10(12): e0145067.

- Hatzinger, M., Hubmann, R., Moll, F. and Sohn, M. 2012. Die Geschichte der Prostatektomie - Von den Anfängen bis DaVinci [The history of prostate cancer from the beginning to DaVinci]. *Aktuelle Urologie*, 43(4): 228–230.
- Haudek, K. C., Spronk, K. J., Voss, P. G., Patterson, R. J., Wang, J. L. and Arnoys, E. J. 2010. Dynamics of galectin-3 in the nucleus and cytoplasm. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects*, 1800(2): 181-189.
- Häuselmann, I. and Borsig, L. 2014. Altered tumor-cell glycosylation promotes metastasis. *Frontiers in Oncology*, 4: 28.
- Heidenreich, A., Bastian, P. J., Bellmunt, J., Bolla, M., Joniau, S., van der Kwast, T. and Mottet, N. 2014. EAU guidelines on prostate cancer. Part 1: screening, diagnosis, and local treatment with curative intent—update 2013. *European Urology*, 65(1): 124-137.
- Hendriks, R. J., Van Oort, I. M. and Schalken, J. A. 2017. Blood-based and urinary prostate cancer biomarkers: a review and comparison of novel biomarkers for detection and treatment decisions. *Prostate Cancer and Prostatic Diseases*, 20(1): 12-19.
- Herbst, A., Jurinovic, V., Krebs, S., Thieme, S. E., Blum, H., Göke, B. and Kolligs, F. T. 2014. Comprehensive analysis of β -catenin target genes in colorectal carcinoma cell lines with deregulated Wnt/ β -catenin signaling. *BMC Genomics*, 15: 74.
- Hirashima, M., Kashio, Y., Nishi, N., Yamauchi, A., Imaizumi, T. A., Kageshita, T. and Nakamura, T. 2002. Galectin-9 in physiological and pathological conditions. *Glycoconjugate Journal*, 19: 593-600.
- Hogendorf, P., Durczyński, A., Skulimowski, A., Kumor, A., Poznańska, G., & Strzelczyk, J. 2018. Growth differentiation factor (GDF-15) concentration combined with Ca125 levels in serum is superior to commonly used cancer biomarkers in differentiation of pancreatic mass. *Cancer Biomarkers*, 21(3): 505-511.
- Hohlbaum, A., Gille, H., Christian, J., Allersdorfer, A., Jaworski, J., Burrows, J. and Audoly, L. 2013. Iron mobilization and pharmacodynamic marker measurements in non-human primates following administration of PRS-080, a novel and highly specific anti-hepcidin therapeutic. In *American Journal of Hematology*, 88(5): 41-44.

- Hong, Y., Manoharan, I., Suryawanshi, A., Majumdar, T., Angus-Hill, M. L., Koni, P. A., Manicassamy, B., Mellor, A. L., Munn, D. H. and Manicassamy, S. 2015. β -catenin promotes regulatory T-cell responses in tumors by inducing vitamin A metabolism in dendritic cells. *Cancer Research*, 75(4): 656–665.
- Houzelstein, D., Gonçalves, I. R., Fadden, A. J., Sidhu, S. S., Cooper, D. N., Drickamer, K. and Poirier, F. 2004. Phylogenetic analysis of the vertebrate galectin family. *Molecular Biology and Evolution*, 21(7): 1177-1187.
- Humphrey, P. A. 2017. *Histopathology of Prostate Cancer*. Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine, 7(10): 22-27.
- Ilic, D., Djulbegovic, M., Jung, J. H., Hwang, E. C., Zhou, Q., Cleves, A. and Dahm, P. 2018. Prostate cancer screening with prostate-specific antigen (PSA) test: a systematic review and meta-analysis. *bmj*, 362: 13-15.
- Irie, A., Yamauchi, A., Kontani, K., Kihara, M., Liu, D., Shirato, Y. and Hirashima, M. 2005. Galectin-9 as a prognostic factor with antimetastatic potential in breast cancer. *Clinical Cancer Research*, 11(8): 2962-2968.
- Jakoš, T., Pišlar, A., Jewett, A. and Kos, J. 2019. Cysteine Cathepsins in Tumor-Associated Immune Cells. *Frontiers in Immunology*, 10: 2037.
- Jakoš, T., Pišlar, A., Pečar Fonović, U. and Kos, J. 2020. Lysosomal peptidases in innate immune cells: implications for cancer immunity. *Cancer Immunology, Immunotherapy : CII*, 69(2): 275–283.
- Jakszyn, P., Fonseca-Nunes, A., Lujan-Barroso, L., Aranda, N., Tous, M., Arija, V. and Agudo, A. 2017. Hepcidin levels and gastric cancer risk in the EPIC-EurGast study. *International Journal of Cancer*, 141(5): 945-951.
- Jechorek, D., Votapek, J., Meyer, F., Kandulski, A., Roessner, A. and Franke, S. 2014. Characterization of cathepsin X in colorectal cancer development and progression. *Pathology, Research and Practice*, 210(12): 822–829.
- Jedeszko, C. and Sloane, B. F. 2004. Cysteine cathepsins in human cancer. *Biological Chemistry*, 385(11): 1017–1027.
- JM Wiener, J., Sun, S. and L Thurmond, R. 2010. Recent advances in the design of cathepsin S inhibitors. *Current Topics in Medicinal Chemistry*, 10(7): 717-732.
- Johann, K., Kleinert, M. and Klaus, S. 2021. The Role of GDF15 as a Myomitokine. *Cells*, 10(11): 2990.

- Johannes, L., Jacob, R. and Leffler, H. 2018. Galectins at a glance. *Journal of Cell Science*, 131(9): 33-36.
- Johns, L. E. and Houlston, R. S. 2003. A systematic review and meta-analysis of familial prostate cancer risk. *BJU international*, 91(9): 789–794.
- Joo, M., Kim, D., Lee, M. W., Lee, H. J. and Kim, J. M. 2023. GDF15 Promotes Cell Growth, Migration, and Invasion in Gastric Cancer by Inducing STAT3 Activation. *International journal of molecular sciences*, 24(3): 2925.
- Jordan, J. B., Poppe, L., Haniu, M., Arvedson, T., Syed, R., Li, V. and Sasu, B. J. 2009. Hecpudin revisited, disulfide connectivity, dynamics, and structure. *Journal of Biological Chemistry*, 284(36): 24155-24167.
- Jovanovic, M., Gajovic, N., Zdravkovic, N., Jovanovic, M., Jurisevic, M., Vojvodic, D. and Arsenijevic, N. 2019. Fecal galectin-1 as a potential marker for colorectal cancer and disease severity. *Vojnosanitetski Pregled*, 76(10): 1037–1044.
- Jovanovic, M., Gajovic, N., Zdravkovic, N., Jovanovic, M., Jurisevic, M., Vojvodic, D. and Jovanovic, I. 2018. Fecal galectin-3: a new promising biomarker for severity and progression of colorectal carcinoma. *Mediators of Inflammation*, 1–11.
- Kageshita, T., Kashio, Y., Yamauchi, A., Seki, M., Abedin, M. J., Nishi, N. and Hirashima, M. 2002. Possible role of galectin-9 in cell aggregation and apoptosis of human melanoma cell lines and its clinical significance. *International Journal of Cancer*, 99(6): 809-816.
- Kamai, T., Tomosugi, N., Abe, H., Arai, K. and Yoshida, K. I. 2009. Increased serum hepcidin-25 level and increased tumor expression of hepcidin mRNA are associated with metastasis of renal cell carcinoma. *BMC Cancer*, 9: 1-9.
- Kamigaito, T., Okaneya, T., Kawakubo, M., Shimojo, H., Nishizawa, O. and Nakayama, J. 2014. Overexpression of O-GlcNAc by prostate cancer cells is significantly associated with poor prognosis of patients. *Prostate Cancer and Prostatic Diseases*, 17(1): 18–22.
- Kandoth, C., McLellan, M. D., Vandin, F., Ye, K., Niu, B., Lu, C. and Ding, L. 2013. Mutational landscape and significance across 12 major cancer types. *Nature*, 502(7471): 333-339.

- Karan, D., Chen, S. J., Johansson, S. L., Singh, A. P., Paralkar, V. M., Lin, M. F. and Batra, S. K. 2003. Dysregulated expression of MIC-1/PDF in human prostate tumor cells. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 305(3): 598-604.
- Kasamatsu, A., Uzawa, K., Nakashima, D., Koike, H., Shiiba, M., Bukawa, H. and Tanzawa, H. 2005. Galectin-9 as a regulator of cellular adhesion in human oral squamous cell carcinoma cell lines. *International journal of molecular medicine*, 16(2): 269-273.
- Kasivisvanathan, V., Rannikko, A. S., Borghi, M., Panebianco, V., Mynderse, L. A., Vaarala, M. H. and Moore, C. M. 2018. MRI-targeted or standard biopsy for prostate-cancer diagnosis. *New England Journal of Medicine*, 378(19): 1767-1777.
- Katoh, S., Ishii, N., Nobumoto, A., Takeshita, K., Dai, S. Y., Shinonaga, R. and Hirashima, M. 2007. Galectin-9 inhibits CD44–hyaluronan interaction and suppresses a murine model of allergic asthma. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 176(1): 27-35.
- Kautz, L., Jung, G., Valore, E. V., Rivella, S., Nemeth, E. and Ganz, T. 2020. Author Correction: Identification of erythroferrone as an erythroid regulator of iron metabolism. *Nature Genetics*, 52(4): 463.
- Kawano, Y. and Kypta, R. 2003. Secreted antagonists of the Wnt signalling pathway. *Journal of Cell Science*, 116(Pt 13): 2627–2634.
- Khaket, T. P., Kwon, T. K. and Kang, S. C. 2019. Cathepsins: Potent regulators in carcinogenesis. *Pharmacology and Therapeutics*, 198: 1–19.
- Khalaf, O. Z. K. 2021. Study of relationship between levels of hepcidine hormone and GDF15 for patients with prostatic cancer and their clinical importance. Master's Thesis, Cankiri Karatekin University, 78 page, Turkey.
- Khramtsov, A. I., Khramtsova, G. F., Tretiakova, M., Huo, D., Olopade, O. I. and Goss, K. H. 2010. Wnt/beta-catenin pathway activation is enriched in basal-like breast cancers and predicts poor outcome. *The American Journal of Pathology*, 176(6): 2911–2920.
- Khurana, P., Yadati, T., Goyal, S., Dolas, A., Houben, T., Oligschlaeger, Y. and Shiri-Sverdlov, R. 2019. Inhibiting extracellular cathepsin D reduces hepatic steatosis in Sprague–Dawley rats. *Biomolecules*, 9(5): 171.

- Kim, C. J., Lee, D. I., Kim, C., Lee, K., Lee, C. H. and Ahn, I. S. 2014. Gold nanoparticles-based colorimetric assay for cathepsin B activity and the efficiency of its inhibitors. *Analytical Chemistry*, 86(8): 3825-3833.
- Kim, E. K., Song, M. J., Jang, H. H. and Chung, Y. S. 2020. Clinicopathologic analysis of cathepsin B as a prognostic marker of thyroid cancer. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(24): 9537.
- Kim, S. and Jeong, S. 2019. Mutation hotspots in the β -catenin gene: lessons from the human cancer genome databases. *Molecules and Cells*, 42(1): 8-16.
- Kirstetter, P., Anderson, K., Porse, B. T., Jacobsen, S. E. and Nerlov, C. 2006. Activation of the canonical Wnt pathway leads to loss of hematopoietic stem cell repopulation and multilineage differentiation block. *Nature Immunology*, 7(10): 1048–1056.
- Klaus, A. and Birchmeier, W. 2008. Wnt signalling and its impact on development and cancer. *Nature Reviews Cancer*, 8(5): 387-398.
- Kobayashi, T., Kuroda, J., Ashihara, E., Oomizu, S., Terui, Y., Taniyama, A. and Taniwaki, M. 2010. Galectin-9 exhibits anti-myeloma activity through JNK and p38 MAP kinase pathways. *Leukemia*, 24(4): 843-850.
- Kolata, G. 2016. Patients of early prostate cancer avoid treatment. <https://health.economictimes.indiatimes.com/news/diagnostics/patients-of-early-prostate-cancer-avoid-treatment/52443040> Date access: 13.04.2024.
- Kong, H. Y. and Byun, J. 2013. Emerging roles of human prostatic Acid phosphatase. *Biomolecules and Therapeutics*, 21(1): 10–20.
- Kos, J., Mitrović, A., Perišić Nanut, M. and Pišlar, A. 2022. Lysosomal peptidases—intriguing roles in cancer progression and neurodegeneration. *FEBS Open Bio*, 12(4): 708-738.
- Krausova, M. and Korinek, V. 2014. Wnt signaling in adult intestinal stem cells and cancer. *Cellular Signalling*, 26(3): 570-579.
- Krueger, S., Kalinski, T., Hundertmark, T., Wex, T., Küster, D., Peitz, U. and Roessner, A. 2005. Up-regulation of cathepsin X in *Helicobacter pylori* gastritis and gastric cancer. *The Journal of Pathology: A Journal of the Pathological Society of Great Britain and Ireland*, 207(1): 32-42.

- Kulaksiz, H., Fein, E., Redecker, P., Stremmel, W., Adler, G. and Cetin, Y. 2008. Pancreatic b-cells express hepcidin, an iron-uptake regulatory peptide. *Journal of Endocrinology*, 197(2): 241-250.
- Kuroda, J., Yamamoto, M., Nagoshi, H., Kobayashi, T., Sasaki, N., Shimura, Y. and Taniwaki, M. 2010. Targeting activating transcription factor 3 by Galectin-9 induces apoptosis and overcomes various types of treatment resistance in chronic myelogenous leukemia. *Molecular Cancer Research*, 8(7): 994-1001.
- Laaf, D., Bojarová, P., Elling, L. and Křen, V. 2019. Galectin–carbohydrate interactions in biomedicine and biotechnology. *Trends in Biotechnology*, 37(4): 402-415.
- Labrie, M., De Araujo, L. O. F., Communal, L., Mes-Masson, A. M. and St-Pierre, Y. 2017. Tissue and plasma levels of galectins in patients with high grade serous ovarian carcinoma as new predictive biomarkers. *Scientific REPORTS*, 7(1): 13244.
- Laderach, D. J., Compagno, D., Toscano, M. A., Croci, D. O., Dergan-Dylon, S., Salatino, M. and Rabinovich, G. A. 2010. Dissecting the signal transduction pathways triggered by galectin-glycan interactions in physiological and pathological settings. *IUBMB Life*, 62(1): 1–13.
- Laderach, D. J., Gentilini, L. D., Giribaldi, L., Delgado, V. C., Nugnes, L., Croci, D. O. and Rabinovich, G. A. 2013. A unique galectin signature in human prostate cancer progression suggests galectin-1 as a key target for treatment of advanced disease. *Cancer Research*, 73(1): 86-96.
- Lahm, H., André, S., Hoeflich, A., Fischer, J. R., Sordat, B., Kaltner, H. and Gabius, H. J. 2001. Comprehensive galectin fingerprinting in a panel of 61 human tumor cell lines by RT-PCR and its implications for diagnostic and therapeutic procedures. *Journal of Cancer Research and Clinical Oncology*, 127: 375-386.
- Lamouille, S., Subramanyam, D., Belloch, R. and Derynck, R. 2013. Regulation of epithelial-mesenchymal and mesenchymal-epithelial transitions by microRNAs. *Current Opinion in Cell Biology*, 25(2): 200–207.
- Lauth, X., Babon, J. J., Stannard, J. A., Singh, S., Nizet, V., Carlberg, J. M. and Westerman, M. E. 2005. Bass hepcidin synthesis, solution structure, antimicrobial activities and synergism, and in vivo hepatic response to bacterial infections. *Journal of Biological Chemistry*, 280(10): 9272-9282.

- Lawrence, R. E. and Zoncu, R. 2019. The lysosome as a cellular centre for signalling, metabolism and quality control. *Nature Cell Biology*, 21(2): 133-142.
- Lawson, J. S. and Glenn, W. K. 2020. Evidence for a causal role by human papillomaviruses in prostate cancer - a systematic review. *Infectious Agents and Cancer*, 15: 41.
- Lawson, J. S. and Glenn, W. K. 2022. Multiple pathogens and prostate cancer. *Infectious Agents and Cancer*, 17(1): 23.
- Lee, C. H., Akin-Olugbade, O. and Kirschenbaum, A. 2011. Overview of prostate anatomy, histology, and pathology. *Endocrinology and Metabolism Clinics of North America*, 40(3): 565-75.
- Lee, J. J., Thomas, I. C., Nolley, R., Ferrari, M., Brooks, J. D. and Leppert, J. T. 2015. Biologic differences between peripheral and transition zone prostate cancer. *The Prostate*, 75(2): 183–190.
- Lee, J., Kim, K., Yu, S. W. and Kim, E. K. 2016. Wnt3a upregulates brain-derived insulin by increasing NeuroD1 via Wnt/ β -catenin signaling in the hypothalamus. *Molecular Brain*, 9: 1-12.
- Lee, M., Hamilton, J. A., Talekar, G. R., Ross, A. J., Michael, L., Rupji, M. and Henry, C. J. 2022. Obesity-induced galectin-9 is a therapeutic target in B-cell acute lymphoblastic leukemia. *Nature Communications*, 13(1): 1157.
- Lee, S. H. and Shen, M. M. 2015. Cell types of origin for prostate cancer. *Current Opinion in Cell Biology*, 37: 35–41.
- Lee, S. H., Luong, R., Johnson, D. T., Cunha, G. R., Rivina, L., Gonzalgo, M. L. and Sun, Z. 2016. Androgen signaling is a confounding factor for β -catenin-mediated prostate tumorigenesis. *Oncogene*, 35(6): 702-714.
- Leinonen, M. K., Miettinen, J., Heikkinen, S., Pitkaniemi, J. and Malila, N. 2017. Quality measures of the population-based Finnish Cancer Registry indicate sound data quality for solid malignant tumours. *European journal of cancer (Oxford, England : 1990)*, 77: 31–39.
- Lerner, L., Hayes, T. G., Tao, N., Krieger, B., Feng, B., Wu, Z., Nicoletti, R., Chiu, M. I., Gyuris, J. and Garcia, J. M. 2015. Plasma growth differentiation factor 15 is associated with weight loss and mortality in cancer patients. *Journal of Cachexia, Sarcopenia and Muscle*, 6(4): 317–324.

- Levina, E., Oren, M. and Ben-Ze'ev, A. 2004. Downregulation of β -catenin by p53 involves changes in the rate of β -catenin phosphorylation and Axin dynamics. *Oncogene*, 23(25): 4444-4453.
- Levine, A. J. and Oren, M. 2009. The first 30 years of p53: growing ever more complex. *Nature Reviews Cancer*, 9(10): 749-758.
- Li, J., Veltri, R. W., Yuan, Z., Christudass, C. S. and Mandecki, W. 2015. Macrophage inhibitory cytokine 1 biomarker serum immunoassay in combination with PSA is a more specific diagnostic tool for detection of prostate cancer. *PloS One*, 10(4): e0122249.
- Li, P., Lv, H., Zhang, B., Duan, R., Zhang, X., Lin, P., Song, C. and Liu, Y. 2022. Growth Differentiation Factor 15 Protects SH-SY5Y Cells From Rotenone-Induced Toxicity by Suppressing Mitochondrial Apoptosis. *Frontiers in aging neuroscience*, 14: 869558.
- Li, Y., Feng, J., Geng, S., Geng, S., Wei, H., Chen, G. and Li, Y. 2011. The N-and C-terminal carbohydrate recognition domains of galectin-9 contribute differently to its multiple functions in innate immunity and adaptive immunity. *Molecular Immunology*, 48(4): 670-677.
- Liang, M., Ueno, M., Oomizu, S., Arikawa, T., Shinonaga, R., Zhang, S. and Hirashima, M. 2008. Galectin-9 expression links to malignant potential of cervical squamous cell carcinoma. *Journal of Cancer Research and Clinical Oncology*, 134: 899-907.
- Lichtenstein, R. G. and Rabinovich, G. A. 2013. Glycobiology of cell death: when glycans and lectins govern cell fate. *Cell Death & Differentiation*, 20(8): 976-986.
- Lilien, J. and Balsamo, J. 2005. The regulation of cadherin-mediated adhesion by tyrosine phosphorylation/dephosphorylation of beta-catenin. *Current Opinion in Cell Biology*, 17(5): 459-465.
- Lim, C. Y. and Zoncu, R. 2016. The lysosome as a command-and-control center for cellular metabolism. *Journal of Cell Biology*, 214(6): 653-664.
- Lin, F., Tuffour, A., Hao, G., Peprah, F. A., Huang, A., Zhou, Y. and Zhang, H. 2023. Distinctive modulation of hepcidin in cancer and its therapeutic relevance. *Frontiers in Oncology*, 13: 1141603.

- Lindahl, B. 2013. The story of growth differentiation factor 15: another piece of the puzzle. *Clinical Chemistry*, 59(11): 1550-1552.
- Linders, D. G., Bijlstra, O. D., Fallert, L. C., Dekker-Ensink, N. G., March, T. L., Pool, M. and Crobach, A. S. L. 2024. Immunohistochemical Evaluation of Cathepsin B, L, and S Expression in Breast Cancer Patients. *Molecular Imaging and Biology*, 1-11.
- Lines, K. E., Chelala, C., Dmitrovic, B., Wijesuriya, N., Kocher, H. M., Marshall, J. F. and Crnogorac-Jurcevic, T. 2012. S100P-binding protein, S100PBP, mediates adhesion through regulation of cathepsin Z in pancreatic cancer cells. *The American Journal of Pathology*, 180(4): 1485-1494.
- Lipkowitz, M. S., Leal-Pinto, E., Rappoport, J. Z., Najfeld, V. and Abramson, R. G. 2001. Functional reconstitution, membrane targeting, genomic structure, and chromosomal localization of a human urate transporter. *The Journal of Clinical Investigation*, 107(9): 1103-1115.
- Liu, J., Sun, B., Yin, H. and Liu, S. 2016. Hepcidin: a promising therapeutic target for iron disorders: a systematic review. *Medicine*, 95(14): e3150.
- Liu, J., Xiao, Q., Xiao, J., Niu, C., Li, Y., Zhang, X. and Yin, G. 2022. Wnt/ β -catenin signalling: function, biological mechanisms, and therapeutic opportunities. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, 7(1): 3-9.
- Liu, R., Dang, W., Jianting, M., Su, C., Wang, H., Chen, Y. and Tan, Q. 2012. Citalopram alleviates chronic stress induced depression-like behaviors in rats by activating GSK3 β signaling in dorsal hippocampus. *Brain Research*, 1467: 10-17.
- Liu, X., Chi, X., Gong, Q., Gao, L., Niu, Y., Chi, X. and Yang, W. 2015. Association of serum level of growth differentiation factor 15 with liver cirrhosis and hepatocellular carcinoma. *PloS One*, 10(5): 11-16.
- Liu, X., Yang, P. and Hart, G. 2014. O-GlcNAcylation modifies the metastatic properties of prostate cancer cells (789.5). *The FASEB Journal*, 28: 789-795.
- Liu, Z., Guo, H., Zhu, Y., Xia, Y., Cui, J., Shi, K. and Chen, S. 2021. TP53 alterations of hormone-naïve prostate cancer in the Chinese population. *Prostate Cancer and Prostatic Diseases*, 24(2): 482-491.
- Lockhart, S. M., Saudek, V. and O'Rahilly, S. 2020. GDF15: A Hormone Conveying Somatic Distress to the Brain. *Endocrine reviews*, 41(4): 9-14.

- Loeb, S., Gonzalez, C. M., Roehl, K. A., Han, M., Antenor, J. A. V., Yap, R. L. and Catalona, W. J. 2006. Pathological characteristics of prostate cancer detected through prostate specific antigen based screening. *The Journal of Urology*, 175(3): 902-906.
- Lophatananon, A., Stewart-Brown, S., Kote-Jarai, Z., Olama, A. A. A., Garcia, S. B., Neal, D. E., Hamdy, F. C., Donovan, J. L., Giles, G. G., Fitzgerald, L. M., Southey, M. C., Pharoah, P., Pashayan, N., Gronberg, H., Wiklund, F., Aly, M., Stanford, J. L., Brenner, H., Dieffenbach, A. K., Arndt, V. and Muir, K. 2017. Height, selected genetic markers and prostate cancer risk: results from the PRACTICAL consortium. *British Journal of Cancer*, 117(5): 734–743.
- Lutgens, S. P., Cleutjens, K. B., Daemen, M. J., & Heeneman, S. 2007. Cathepsin cysteine proteases in cardiovascular disease. *The FASEB Journal*, 21(12): 3029-3041.
- Lv, Y., Ma, X., Ma, Y., Du, Y., & Feng, J. 2023. A new emerging target in cancer immunotherapy: Galectin-9 (LGALS9). *Genes & Diseases*, 10(6): 2366-2382.
- Lytton, B. 2001. Prostate cancer: a brief history and the discovery of hormonal ablation treatment. *The Journal of Urology*, 165(6 Pt 1): 1859–1862.
- Ma, Y., Huang, Z., Jian, Z. and Wei, X. 2021. The association between hepatitis C virus infection and renal cell cancer, prostate cancer, and bladder cancer: a systematic review and meta-analysis. *Scientific Reports*, 11(1): 10833.
- MacDonald, B. T., Tamai, K. and He, X. 2009. Wnt/ β -catenin signaling: components, mechanisms, and diseases. *Developmental cell*, 17(1): 9-26.
- Maguschak, K. A. and Ressler, K. J. 2011. Wnt signaling in amygdala-dependent learning and memory. *Journal of Neuroscience*, 31(37): 13057-13067.
- Mahal, B. A., Alshalalfa, M., Kensler, K. H., Chowdhury-Paulino, I., Kantoff, P., Mucci, L. A., Schaeffer, E. M., Spratt, D., Yamoah, K., Nguyen, P. L. and Rebbeck, T. R. 2020. Racial Differences in Genomic Profiling of Prostate Cancer. *The New England Journal of Medicine*, 383(11): 1083–1085.
- Mai, J., Sameni, M., Mikkelsen, T. and Sloane, B. F. 2002. Degradation of extracellular matrix protein tenascin-C by cathepsin B: an interaction involved in the progression of gliomas. *Biological Chemistry*, 383(9): 1407–1413.

- Mantovani, F., Collavin, L. and Del Sal, G. 2019. Mutant p53 as a guardian of the cancer cell. *Cell Death and Differentiation*, 26(2): 199-212.
- Marshall, S. and Taneja, S. 2015. Focal therapy for prostate cancer: The current status. *Prostate International*, 3(2): 35–41.
- Martinez-Bosch, N., Rodriguez-Vida, A., Juanpere, N., Lloreta, J., Rovira, A., Albanell, J. and Navarro, P. 2019. Galectins in prostate and bladder cancer: tumorigenic roles and clinical opportunities. *Nature Reviews Urology*, 16(7): 433-445.
- Masaldan, S., Clatworthy, S. A. S., Gamell, C., Meggyesy, P. M., Rigopoulos, A. T., Haupt, S., Haupt, Y., Denoyer, D., Adlard, P. A., Bush, A. I. and Cater, M. A. 2018. Iron accumulation in senescent cells is coupled with impaired ferritinophagy and inhibition of ferroptosis. *Redox biology*, 14: 100–115.
- Matsuoka, N., Kozuru, H., Koga, T., Abiru, S., Yamasaki, K., Komori, A. and Migita, K. 2019. Galectin-9 in autoimmune hepatitis: correlation between serum levels of galectin-9 and M2BPGi in patients with autoimmune hepatitis. *Medicine*, 98(35), 22-26.
- Mazon, J. J. and Gerbaulet, A. 1998. The centenary of discovery of radium. *Radiotherapy and oncology : journal of the European Society for Therapeutic Radiology and Oncology*, 49(3): 205–216.
- Mechref, Y., Hu, Y., Garcia, A., Zhou, S., Desantos-Garcia, J. L. and Hussein, A. 2012. Defining putative glycan cancer biomarkers by MS. *Bioanalysis*, 4(20): 2457–2469.
- Mehta, R. S., Chong, D. Q., Song, M., Meyerhardt, J. A., Ng, K., Nishihara, R. and Chan, A. T. 2015. Association between plasma levels of macrophage inhibitory cytokine-1 before diagnosis of colorectal cancer and mortality. *Gastroenterology*, 149(3): 614-622.
- Mendez-Huergo, S. P., Hockl, P. F., Stupirski, J. C., Maller, S. M., Morosi, L. G., Pinto, N. A. and Rabinovich, G. A. 2019. Clinical relevance of galectin-1 and galectin-3 in rheumatoid arthritis patients: differential regulation and correlation with disease activity. *Frontiers in Immunology*, 9: 3057.
- Merani, S., Chen, W. and Elahi, S. 2015. The bitter side of sweet: the role of galectin-9 in immunopathogenesis of viral infections. *Reviews in Medical Virology*, 25(3): 175-186.

- Merle, U., Fein, E., Gehrke, S. G., Stremmel, W. and Kulaksiz, H. 2007. The iron regulatory peptide hepcidin is expressed in the heart and regulated by hypoxia and inflammation. *Endocrinology*, 148(6): 2663-2668.
- Messner, E. A., Steele, T. M., Tsamouri, M. M., Hejazi, N., Gao, A. C., Mudryj, M. and Ghosh, P. M. 2020. The androgen receptor in prostate cancer: Effect of structure, ligands and spliced variants on therapy. *Biomedicines*, 8(10): 422.
- Mikhaylov, G., Klimpel, D., Schaschke, N., Mikac, U., Vizovisek, M., Fonovic, M. and Vasiljeva, O. 2014. Selective targeting of tumor and stromal cells by a nanocarrier system displaying lipidated cathepsin B inhibitor. *Angewandte Chemie*, 126(38): 10241-10245.
- Miller J. R. 2002. The Wnts. *Genome biology*, 3(1): 3-7.
- Miller, D. C., Hafez, K. S., Stewart, A., Montie, J. E. and Wei, J. T. 2003. Prostate carcinoma presentation, diagnosis, and staging: an update from the National Cancer Data Base. *Cancer: Interdisciplinary International Journal of the American Cancer Society*, 98(6): 1169-1178.
- Mills, F., Bartlett, T. E., Dissing-Olesen, L., Wisniewska, M. B., Kuznicki, J., Macvicar, B. A. and Bamji, S. X. 2014. Cognitive flexibility and long-term depression (LTD) are impaired following β -catenin stabilization in vivo. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 111(23): 8631-8636.
- Mimeault, M., Johansson, S. L. and Batra, S. K. 2013. Marked improvement of cytotoxic effects induced by docetaxel on highly metastatic and androgen-independent prostate cancer cells by downregulating macrophage inhibitory cytokine-1. *British Journal of Cancer*, 108(5): 1079–1091.
- Mishra, R., Grzybek, M., Niki, T., Hirashima, M. and Simons, K. 2010. Galectin-9 trafficking regulates apical-basal polarity in Madin–Darby canine kidney epithelial cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 107(41): 17633-17638.
- Mitrović, A., Mirković, B., Sosić, I., Gobec, S. and Kos, J. 2016. Inhibition of endopeptidase and exopeptidase activity of cathepsin B impairs extracellular matrix degradation and tumour invasion. *Biological Chemistry*, 397(2): 165-174.
- Mitterberger, M., Horninger, W., Aigner, F., Pinggera, G. M., Steppan, I., Rehder, P. and Frauscher, F. 2010. Ultrasound of the prostate. *Cancer Imaging*, 10(1): 40-48.

- Mizunoe, Y., Kobayashi, M., Tagawa, R., Nakagawa, Y., Shimano, H. and Higami, Y. 2019. Association between lysosomal dysfunction and obesity-related pathology: a key knowledge to prevent metabolic syndrome. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(15): 3688.
- Moghoofei, M., Keshavarz, M., Ghorbani, S., Babaei, F., Nahand, J. S., Tavakoli, A., Mortazavi, H. S., Marjani, A., Mostafaei, S. and Monavari, S. H. 2019. Association between human papillomavirus infection and prostate cancer: A global systematic review and meta-analysis. *Asia-Pacific Journal of Clinical Oncology*, 15(5): 59–67.
- Mohamed, M. M. and Sloane, B. F. 2006. Multifunctional enzymes in cancer. *Nature Reviews Cancer*, 6(10): 764-775.
- Moon, H. Y., Becke, A., Berron, D., Becker, B., Sah, N., Benoni, G. and van Praag, H. 2016. Running-induced systemic cathepsin B secretion is associated with memory function. *Cell Metabolism*, 24(2): 332-340.
- Morgentaler, A. and Traish, A. M. 2009. Shifting the paradigm of testosterone and prostate cancer: the saturation model and the limits of androgen-dependent growth. *European Urology*, 55(2): 310–320.
- Morikawa, T., Kuchiba, A., Yamauchi, M., Meyerhardt, J. A., Shima, K., Nosho, K., Chan, A. T., Giovannucci, E., Fuchs, C. S. and Ogino, S. 2011. Association of CTNNB1 (beta-catenin) alterations, body mass index, and physical activity with survival in patients with colorectal cancer. *JAMA*, 305(16): 1685–1694.
- Morin, P. J., Sparks, A. B., Korinek, V., Barker, N., Clevers, H., Vogelstein, B. and Kinzler, K. W. 1997. Activation of β -catenin-Tcf signaling in colon cancer by mutations in β -catenin or APC. *Science*, 275(5307): 1787-1790.
- Morishita, A., Oura, K., Tadokoro, T., Shi, T., Fujita, K., Tani, J., Atsukawa, M. and Masaki, T. 2023. Galectin-9 in Gastroenterological Cancer. *International journal of molecular sciences*, 24(7): 6174.
- Moriwaki, K., Noda, K., Furukawa, Y., Ohshima, K., Uchiyama, A., Nakagawa, T. and Miyoshi, E. 2009. Deficiency of GMDS leads to escape from NK cell-mediated tumor surveillance through modulation of TRAIL signaling. *Gastroenterology*, 137(1): 188-198.
- Moriwaki, K., Shinzaki, S. and Miyoshi, E. 2011. GDP-mannose-4, 6-dehydratase (GMDS) deficiency renders colon cancer cells resistant to tumor necrosis factor-

- related apoptosis-inducing ligand (TRAIL) receptor-and CD95-mediated apoptosis by inhibiting complex II formation. *Journal of Biological Chemistry*, 286(50): 43123-43133.
- Mosimann, C., Hausmann, G. and Basler, K. 2009. Beta-catenin hits chromatin: regulation of Wnt target gene activation. *Nature reviews. Molecular Cell Biology*, 10(4): 276–286.
- Mottet, N., van den Bergh, R. C., Briers, E., Van den Broeck, T., Cumberbatch, M. G., De Santis, M. and Cornford, P. 2021. EAU-EANM-ESTRO-ESUR-SIOG guidelines on prostate cancer—2020 update. Part 1: screening, diagnosis, and local treatment with curative intent. *European Urology*, 79(2): 243-262.
- Mrizak, D., Martin, N., Barjon, C., Jimenez-Pailhes, A. S., Mustapha, R., Niki, T. and Delhem, N. 2015. Effect of nasopharyngeal carcinoma-derived exosomes on human regulatory T cells. *Journal of the National Cancer Institute*, 107(1): 12-17.
- Murillo-Garzón, V. and Kypta, R. 2017. WNT signalling in prostate cancer. *Nature Reviews Urology*, 14(11): 683-696.
- Murray, T. B. 2021. The pathogenesis of prostate cancer. Exon Publications, 29-41.
- Mustafa, M., Salih, A. F., Illzam, E. M., Sharifa, A. M., Suleiman, M. and Hussain, S. S. 2016. Prostate cancer: pathophysiology, diagnosis, and prognosis. *IOSR Journal of Dental and Medical Sciences*, 15(6): 04-11.
- Najafi, A., Chaechi Nosrati, M. R., Ghasemi, E., Navi, Z., Yousefi, A., Majidiani, H., Ghaneialvar, H., Sayehmiri, K., Galvan-Ramirez, M. L. and Fakhar, M. 2019. Is there association between *Trichomonas vaginalis* infection and prostate cancer risk?: A systematic review and meta-analysis. *Microbial Pathogenesis*, 137: 103752.
- Nakajima, R., Miyagaki, T., Kamijo, H., Oka, T., Shishido-Takahashi, N., Suga, H. and Sato, S. 2019. Possible therapeutic applicability of galectin-9 in cutaneous T-cell lymphoma. *Journal of Dermatological Science*, 96(3): 134-142.
- Nakayama, M., Sakai, E., Echizen, K., Yamada, Y., Oshima, H., Han, T. S. and Oshima, M. 2017. Intestinal cancer progression by mutant p53 through the acquisition of invasiveness associated with complex glandular formation. *Oncogene*, 36(42): 5885-5896.

- Naseem, R. H., Hedegard, W., Henry, T. D., Lessard, J., Sutter, K. and Katz, S. A. 2005. Plasma cathepsin D isoforms and their active metabolites increase after myocardial infarction and contribute to plasma renin activity. *Basic Research in Cardiology*, 100: 139-146.
- NCHS, 2020. National Center for Health Statistics. Available online: www.cdc.gov/nchs. Access date: 15.04.2024.
- NCI, 2020. National Cancer Institute. Available online: www.seer.cancer.gov. Access Date: 15.04. 2024.
- Nelson, W. G., Brawley, O. W., Isaacs, W. B., Platz, E. A., Yegnasubramanian, S., Sfanos, K. S., Lotan, T. L. and De Marzo, A. M. 2022. Health inequity drives disease biology to create disparities in prostate cancer outcomes. *The Journal of Clinical Investigation*, 132(3): 22-26.
- Ng, K. L. 2021. The etiology of prostate cancer. *Exon Publications*, 17-27.
- Ni, J., Lan, F., Xu, Y., Nakanishi, H. and Li, X. 2022. Extralysosomal cathepsin B in central nervous system: Mechanisms and therapeutic implications. *Brain Pathology*, 32(5): e13071.
- Ni, Y., Hai, Z., Zhang, T., Wang, Y., Yang, Y., Zhang, S. and Liang, G. 2019. Cathepsin B turning bioluminescence “on” for tumor imaging. *Analytical Chemistry*, 91(23): 14834-14837.
- Nicotra, G., Castino, R., Follo, C., Peracchio, C., Valente, G. and Isidoro, C. 2010. The dilemma: does tissue expression of cathepsin D reflect tumor malignancy? The question: does the assay truly mirror cathepsin D mis-function in the tumor?. *Cancer Biomarkers*, 7(1): 47-64.
- Nishi, N., Itoh, A., Fujiyama, A., Yoshida, N., Araya, S. I., Hirashima, M. and Nakamura, T. 2005. Development of highly stable galectins: truncation of the linker peptide confers protease-resistance on tandem-repeat type galectins. *FEBS Letters*, 579(10): 2058-2064.
- Niu, Y., Zhang, W., Shi, J., Liu, Y., Zhang, H., Lin, N., Li, X., Qin, L., Yang, Z. and Su, Q. 2021. The Relationship Between Circulating Growth Differentiation Factor 15 Levels and Diabetic Retinopathy in Patients With Type 2 Diabetes. *Frontiers in Endocrinology*, 12: 627395.

- Nobumoto, A., Nagahara, K., Oomizu, S., Katoh, S., Nishi, N., Takeshita, K. and Hirashima, M. 2008. Galectin-9 suppresses tumor metastasis by blocking adhesion to endothelium and extracellular matrices. *Glycobiology*, 18(9): 735-744.
- Nouh, M. A., Mohamed, M. M., El-Shinawi, M., Shaalan, M. A., Cavallo-Medved, D., Khaled, H. M., & Sloane, B. F. 2011. Cathepsin B: a potential prognostic marker for inflammatory breast cancer. *Journal of Translational Medicine*, 9: 1-8.
- Noureldin, M. E., Connor, M. J., Boxall, N., Miah, S., Shah, T. and Walz, J. 2020. Current techniques of prostate biopsy: an update from past to present. *Translational Andrology and Urology*, 9(3): 1510.
- Obaldo, J. M. and Hertz, B. E. 2021. The early years of nuclear medicine: A Retelling. *Asia Oceania Journal of Nuclear Medicine and Biology*, 9(2): 207–219.
- Oesterling, J. E., Jacobsen, S. J., Chute, C. G., Guess, H. A., Girman, C. J., Panser, L. A. and Lieber, M. M. 1993. Serum prostate-specific antigen in a community-based population of healthy men: establishment of age-specific reference ranges. *Jama*, 270(7): 860-864.
- Ohya, C., Hosono, M., Nitta, K., Oh-eda, M., Yoshikawa, K., Habuchi, T., Arai, Y. and Fukuda, M. 2004. Carbohydrate structure and differential binding of prostate specific antigen to Maackia amurensis lectin between prostate cancer and benign prostate hypertrophy. *Glycobiology*, 14(8): 671–679.
- Olson, O. C. and Joyce, J. A. 2015. Cysteine cathepsin proteases: regulators of cancer progression and therapeutic response. *Nature Reviews Cancer*, 15(12): 712-729.
- Onur, M. R., Orhan, Ý., Fýrdolaþ, F., Onur, R. and Kocakoç, E. 2007. Clinical and radiological evaluation of ejaculatory duct obstruction. *Archives of Andrology*, 53(4): 179-186.
- Oomizu, S., Arikawa, T., Niki, T., Kadowaki, T., Ueno, M., Nishi, N. and Hirashima, M. 2012. Cell surface galectin-9 expressing Th cells regulate Th17 and Foxp3+ Treg development by galectin-9 secretion. *PloS One*, 7(11): e48574.
- Orlandi, R., De Bortoli, M., Ciniselli, C. M., Vaghi, E., Caccia, D., Garrisi, V. and Bongarzone, I. 2014. Hepcidin and ferritin blood level as noninvasive tools for predicting breast cancer. *Annals of Oncology*, 25(2): 352-357.

- Ornstein, D. L. and Zacharski, L. R. 2007. Iron stimulates urokinase plasminogen activator expression and activates NF-kappa B in human prostate cancer cells. *Nutrition and Cancer*, 58(1): 115–126.
- Packer, J. R. and Maitland, N. J. 2016. The molecular and cellular origin of human prostate cancer. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1863(6): 1238–1260.
- Packer, N. H., von der Lieth, C. W., Aoki-Kinoshita, K. F., Lebrilla, C. B., Paulson, J. C., Raman, R., Rudd, P., Sasisekharan, R., Taniguchi, N. and York, W. S. 2008. Frontiers in glycomics: bioinformatics and biomarkers in disease. An NIH white paper prepared from discussions by the focus groups at a workshop on the NIH campus, Bethesda MD (September 11-13, 2006). *Proteomics*, 8(1): 8–20.
- Pai, K. and Hegde, P. 2013. Diagnostic correlation between serum PSA, gleason score and bone scan results in prostatic cancer patients with bone metastasis. *British Biomedical Bulletin*, 421 page, UK.
- Pan, C. C., Potter, S. R., Partin, A. W. and Epstein, J. I. 2000. The prognostic significance of tertiary Gleason patterns of higher grade in radical prostatectomy specimens: a proposal to modify the Gleason grading system. *The American Journal of Surgical Pathology*, 24(4): 563–569.
- Panwar, B., McCann, D., Olbina, G., Westerman, M. and Gutiérrez, O. M. 2018. Effect of calcitriol on serum hepcidin in individuals with chronic kidney disease: a randomized controlled trial. *Bmc Nephrology*, 19: 1-8.
- Patel, S., Homaei, A., El-Seedi, H. R. and Akhtar, N. 2018. Cathepsins: Proteases that are vital for survival but can also be fatal. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 105, 526-532.
- Patturajan, M., Nomoto, S., Sommer, M., Fomenkov, A., Hibi, K., Zangen, R. and Sidransky, D. 2002. Δ Np63 induces β -catenin nuclear accumulation and signaling. *Cancer Cell*, 1(4): 369-379.
- Pena, C., Mirandola, L., Figueroa, J. A., Hosiriluck, N., Suvorava, N., Trotter, K. and Cobos, E. 2014. Galectins as therapeutic targets for hematological malignancies: a hopeful sweetness. *Annals of Translational Medicine*, 2(9): 6-8.
- Perera, R. M. and Zoncu, R. 2016. The lysosome as a regulatory hub. *Annual Review of Cell and Developmental Biology*, 32: 223-253.

- Pernar, C. H., Ebot, E. M., Wilson, K. M. and Mucci, L. A. 2018. The Epidemiology of Prostate Cancer. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, 8(12): 24-30.
- Pierorazio, P. M., Walsh, P. C., Partin, A. W. and Epstein, J. I. 2013. Prognostic Gleason grade grouping: data based on the modified Gleason scoring system. *BJU International*, 111(5): 753–760.
- Pigeon, C., Ilyin, G., Courselaud, B., Leroyer, P., Turlin, B., Brissot, P. and Loréal, O. 2001. A new mouse liver-specific gene, encoding a protein homologous to human antimicrobial peptide hepcidin, is overexpressed during iron overload. *The Journal of Biological Chemistry*, 276(11): 7811–7819.
- Polakis, P. 2000. Wnt signaling and cancer. *Genes and Development*, 14(15): 1837-1851.
- Prentice, A. M. 2017. Clinical implications of new insights into hepcidin-mediated regulation of iron absorption and metabolism. *Annals of Nutrition and Metabolism*, 71(3): 40-48.
- Purohit, R. S., Shinohara, K., Meng, M. V. and Carroll, P. R. 2003. Imaging clinically localized prostate cancer. *Urologic Clinics*, 30(2): 279-293.
- Qin, L., Chen, J., Wang, J., Ye, J., Tan, H. and Xu, L. 2016. Expression of cathepsin B in human hepatocellular carcinoma and its prognostic significance. *Int. J. Clin. Exp. Pathol.*, 9(2): 1343-1350.
- Raji, R. J., Sasikumar, R. and Jacob, E. 2018. Multiple roles of adenomatous polyposis coli gene in Wnt signalling—a computational model. *Biosystems*, 172: 26-36.
- Ramos, E., Kautz, L., Rodriguez, R., Hansen, M., Gabayan, V., Ginzburg, Y. and Ganz, T. 2011. Evidence for distinct pathways of hepcidin regulation by acute and chronic iron loading in mice. *Hepatology*, 53(4): 1333-1341.
- Rani, A., Dasgupta, P. and Murphy, J. J. 2019. Prostate Cancer: The Role of Inflammation and Chemokines. *The American Journal of Pathology*, 189(11): 2119–2137.
- Rauf, A., Shariati, M. A., Khalil, A. A., Bawazeer, S., Heydari, M., Plygun, S. and Aljohani, A. S. 2020. Hepcidin, an overview of biochemical and clinical properties. *Steroids*, 160: 108661.
- Rawla P. 2019. Epidemiology of Prostate Cancer. *World Journal of Oncology*, 10(2): 63–89.

- Reed, A. B. 2011. The history of radiation use in medicine. *Journal of vascular surgery*, 53(1): 3S–5S.
- Reiser, J., Adair, B. and Reinheckel, T. 2010. Specialized roles for cysteine cathepsins in health and disease. *The Journal of Clinical Investigation*, 120(10): 3421-3431.
- Ren, Z. J., Cao, D. H., Zhang, Q., Ren, P. W., Liu, L. R., Wei, Q., Wei, W. R. and Dong, Q. 2019. First-degree family history of breast cancer is associated with prostate cancer risk: a systematic review and meta-analysis. *BMC Cancer*, 19(1): 871.
- Reyes, J. and Yap, G. S. 2023. Emerging roles of growth differentiation factor 15 in immunoregulation and pathogenesis. *The Journal of Immunology*, 210(1): 5-11.
- Rossi, A., Deveraux, Q., Turk, B. and Sali, A. 2004. Comprehensive search for cysteine cathepsins in the human genome. *Biological Chemistry*, 385(5): 363-372.
- Rossi, E. 2005. Hepcidin--the iron regulatory hormone. *The Clinical biochemist. Reviews*, 26(3): 47–49.
- Roth, P., Junker, M., Tritschler, I., Mittelbronn, M., Dombrowski, Y., Breit, S. N. and Wischhusen, J. 2010. GDF-15 contributes to proliferation and immune escape of malignant gliomas. *Clinical Cancer Research*, 16(15): 3851-3859.
- Roth-Konforti, M. E., Bauer, C. R. and Shabat, D. 2017. Unprecedented Sensitivity in a Probe for Monitoring Cathepsin B: Chemiluminescence Microscopy Cell-Imaging of a Natively Expressed Enzyme. *Angewandte Chemie International Edition*, 56(49): 15633-15638.
- Rude, T., Walter, D., Ciprut, S., Kelly, M. D., Wang, C., Fagerlin, A., Langford, A. T., Lopor, H., Becker, D. J., Li, H., Loeb, S., Ravenell, J., Leppert, J. T. and Makarov, D. V. 2021. Interaction between race and prostate cancer treatment benefit in the Veterans Health Administration. *Cancer*, 127(21): 3985–3990.
- Russo, G. I., Calogero, A. E., Condorelli, R. A., Scalia, G., Morgia, G. and La Vignera, S. 2020. Human papillomavirus and risk of prostate cancer: a systematic review and meta-analysis. *The aging male : the official journal of the International Society for the Study of the Aging Male*, 23(2): 132–138.
- Sadasivan, S. M., Chen, Y., Gupta, N. S., Han, X., Bobbitt, K. R., Chitale, D. A. and Rybicki, B. A. 2020. The interplay of growth differentiation factor 15 (GDF15)

- expression and M2 macrophages during prostate carcinogenesis. *Carcinogenesis*, 41(8): 1074-1082.
- Sadot, E., Geiger, B., Oren, M. and Ben-Ze'ev, A. 2001. Down-regulation of β -catenin by activated p53. *Molecular and Cellular Biology*, 21(20): 6768-6781.
- Saghebasl, S., Davaran, S., Rahbarghazi, R., Montaseri, A., Salehi, R. and Ramazani, A. 2018. Synthesis and in vitro evaluation of thermosensitive hydrogel scaffolds based on (PNIPAAm-PCL-PEG-PCL-PNIPAAm)/Gelatin and (PCL-PEG-PCL)/Gelatin for use in cartilage tissue engineering. *Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition*, 29(10): 1185-1206.
- Saldova, R., Fan, Y., Fitzpatrick, J. M., Watson, R. W. and Rudd, P. M. 2011. Core fucosylation and alpha2-3 sialylation in serum N-glycome is significantly increased in prostate cancer comparing to benign prostate hyperplasia. *Glycobiology*, 21(2): 195–205.
- Sandeman, K. 2023. Building Blocks of Prostate Cancer Diagnostics. Doctoral Dissertation, University of Helsinki, 100 page, Finland.
- Sanman, L. E., van der Linden, W. A., Verdoes, M. and Bogoy, M. 2016. Bifunctional probes of cathepsin protease activity and pH reveal alterations in endolysosomal pH during bacterial infection. *Cell Chemical Biology*, 23(7): 793-804.
- Sato, M., Nishi, N., Shoji, H., Seki, M., Hashidate, T., Hirabayashi, J. and Nakamura, T. 2002. Functional analysis of the carbohydrate recognition domains and a linker peptide of galectin-9 as to eosinophil chemoattractant activity. *Glycobiology*, 12(3): 191-197.
- Sautès-Fridman, C., Petitprez, F., Calderaro, J. and Fridman, W. H. 2019. Tertiary lymphoid structures in the era of cancer immunotherapy. *Nature Reviews Cancer*, 19(6): 307-325.
- Schmeichel, K. L. and Bissell, M. J. 2003. Modeling tissue-specific signaling and organ function in three dimensions. *Journal of Cell Science*, 116(12): 2377-2388.
- Schwartz, A. J., Goyert, J. W., Solanki, S., Kerk, S. A., Chen, B., Castillo, C., Hsu, P. P., Do, B. T., Singhal, R., Dame, M. K., Lee, H. J., Spence, J. R., Lakhal-Littleton, S., Vander Heiden, M. G., Lyssiotis, C. A., Xue, X. and Shah, Y. M. 2021. Hepcidin sequesters iron to sustain nucleotide metabolism and mitochondrial function in colorectal cancer epithelial cells. *Nature Metabolism*, 3(7): 969–982.

- Schwarz, P., Kübler, J. A., Strnad, P., Müller, K., Barth, T. F., Gerloff, A. and Kulaksiz, H. 2012. Hepcidin is localised in gastric parietal cells, regulates acid secretion and is induced by *Helicobacter pylori* infection. *Gut*, 61(2): 193-201.
- Sebo, T. J., Cheville, J. C., Riehle, D. L., Lohse, C. M., Pankratz, V. S., Myers, R. P., Blute, M. L. and Zincke, H. 2002. Perineural invasion and MIB-1 positivity in addition to Gleason score are significant preoperative predictors of progression after radical retropubic prostatectomy for prostate cancer. *The American Journal of Surgical Pathology*, 26(4): 431–439.
- Sefidbakht, S., Saeedipour, H., Saffar, H. and Mirzaian, E. 2021. Determination of β -catenin Expression in Breast Cancer and Its Relationship with Clinicopathologic Parameters. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention: APJCP*, 22(11): 3493–3498.
- Seifert, A. M., Reiche, C., Heiduk, M., Tannert, A., Meinecke, A. C., Baier, S. and Seifert, L. 2020. Detection of pancreatic ductal adenocarcinoma with galectin-9 serum levels. *Oncogene*, 39(15): 3102-3113.
- Senapati, S., Rachagani, S., Chaudhary, K., Johansson, S. L., Singh, R. K. and Batra, S. K. 2010. Overexpression of macrophage inhibitory cytokine-1 induces metastasis of human prostate cancer cells through the FAK-RhoA signaling pathway. *Oncogene*, 29(9): 1293–1302.
- Sfoungaristos, S. and Perimenis, P. 2013. Clinical and pathological variables that predict changes in tumour grade after radical prostatectomy in patients with prostate cancer. *Canadian Urological Association journal = Journal de l'Association des Urologues du Canada*, 7(1-2): E93–E97.
- Shabbir, A., Waheed, H., Ahmed, S., Shaikh, S. S. and Farooqui, W. A. 2022. Association of salivary Cathepsin B in different histological grades among patients presenting with oral squamous cell carcinoma. *BMC Oral Health*, 22(1): 63.
- Shah, R. B. and Zhou, M. 2019. Prostate biopsy interpretation: an illustrated guide. Springer, 212 page, USA.
- Shang, S., Hua, F. and Hu, Z. W. 2017. The regulation of β -catenin activity and function in cancer: therapeutic opportunities. *Oncotarget*, 8(20): 33972–33989.
- Sharma, S., Cwiklinski, K., Sykes, D. E., Mahajan, S. D., Chevli, K., Schwartz, S. A. and Aalinkel, R. 2022. Use of Glycoproteins—Prostate-Specific Membrane

- Antigen and Galectin-3 as Primary Tumor Markers and Therapeutic Targets in the Management of Metastatic Prostate Cancer. *Cancers*, 14(11): 2704.
- Shih, Y., Chen, S., Huang, J., Chen, Y., Zhu, Z., Zhao, Q., Zhao, X., Xue, F., Xiang, J., Chen, X., Zhu, X., Pan, M., Wu, J., Zheng, J., Li, H. and Cao, H. 2024. Serum level of galectin-9 as a potential biomarker for high risk of malignancy in dermatomyositis. *Rheumatology (Oxford, England)*, 63(1): 251–258.
- Shin, J. Y. and Shim, J. Y. 2013. Low vitamin D levels increase anemia risk in Korean women. *Clinica Chimica Acta*, 421: 177-180.
- Shorning, B. Y., Dass, M. S., Smalley, M. J. and Pearson, H. B. 2020. The PI3K-AKT-mTOR Pathway and Prostate Cancer: At the Crossroads of AR, MAPK, and WNT Signaling. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(12): 4507.
- Siddiqui, J. A., Pothuraju, R., Khan, P., Sharma, G., Muniyan, S., Seshacharyulu, P., Jain, M., Nasser, M. W. and Batra, S. K. 2022. Pathophysiological role of growth differentiation factor 15 (GDF15) in obesity, cancer, and cachexia. *Cytokine & Growth Factor Reviews*, 64: 71–83.
- Sideras, K., de Man, R. A., Harrington, S. M., Polak, W. G., Zhou, G., Schutz, H. M. and Bruno, M. J. 2019. Circulating levels of PD-L1 and Galectin-9 are associated with patient survival in surgically treated Hepatocellular Carcinoma independent of their intra-tumoral expression levels. *Scientific Reports*, 9(1): 10677.
- Siegel, R. L., Miller, K. D. and Jemal, A. 2018. Cancer statistics, 2018. *CA: a Cancer Journal for Clinicians*, 68(1): 7-30.
- Siegel, R. L., Miller, K. D., Fuchs, H. E. and Jemal, A. 2022. Cancer statistics, 2022. *CA: a Cancer Journal for Clinicians*, 72(1): 7–33.
- Siegel, R.L., Miller, K.D. and Jemal, A. 2017. Cancer statistics, 2017. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 67: 7–30.
- Simoes, G. F., Sakuramoto, P., dos Santos, C. B., Furlan, N. K. C. and Augusto, T. M. 2018. An overview on prostate pathophysiology: new insights into prostate cancer clinical diagnosis. *Pathophysiology-Altered Physiological*, 224 page, USA.
- Sinha, A. A., Jamuar, M. P., Wilson, M. J., Rozhin, J. and Sloane, B. F. 2001. Plasma membrane association of cathepsin B in human prostate cancer: biochemical and immunogold electron microscopic analysis. *The Prostate*, 49(3): 172–184.

- Sinha, A. A., Morgan, J. L., Wood, N., Betre, K., Reddy, A., Wilson, M. J. and Ramanani, D. M. 2007. Heterogeneity of cathepsin B and stefin A expression in Gleason pattern 3+ 3 (score 6) prostate cancer needle biopsies. *Anticancer Research*, 27(3B): 1407-1413.
- Sloane, B. F., Yan, S., Podgorski, I., Linebaugh, B. E., Cher, M. L., Mai, J. and Moin, K. 2005. Cathepsin B and tumor proteolysis: contribution of the tumor microenvironment. In *Seminars in cancer biology*. Academic Press, 15 (2): 149-157.
- Smith, E. M., Alvarez, J. A., Kearns, M. D., Hao, L., Sloan, J. H., Konrad, R. J. and Tangpricha, V. 2017. High-dose vitamin D3 reduces circulating hepcidin concentrations: A pilot, randomized, double-blind, placebo-controlled trial in healthy adults. *Clinical Nutrition*, 36(4): 980-985.
- Smith, E. M., Alvarez, J. A., Martin, G. S., Zughaier, S. M., Ziegler, T. R. and Tangpricha, V. 2015. Vitamin D deficiency is associated with anaemia among African Americans in a US cohort. *British Journal of Nutrition*, 113(11): 1732-1740.
- Spanopoulou, A. and Gkretsi, V. 2020. Growth differentiation factor 15 (GDF15) in cancer cell metastasis: from the cells to the patients. *Clinical and Experimental Metastasis*, 37(4): 451–464.
- Steinhart, Z. and Angers, S. 2018. Wnt signaling in development and tissue homeostasis. *Development*, 145(11): 16-18.
- Stoka, V., Turk, V. and Turk, B. 2016. Lysosomal cathepsins and their regulation in aging and neurodegeneration. *Ageing Research Reviews*, 32: 22-37.
- Stoka, V., Vasiljeva, O., Nakanishi, H. and Turk, V. 2023. The Role of Cysteine Protease Cathepsins B, H, C, and X/Z in Neurodegenerative Diseases and Cancer. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(21): 15613.
- Sun, C. C., Vaja, V., Babitt, J. L. and Lin, H. Y. 2012. Targeting the hepcidin–ferroportin axis to develop new treatment strategies for anemia of chronic disease and anemia of inflammation. *American Journal of Hematology*, 87(4): 392-400.
- Sun, Q., Zhang, Y., Liu, M., Ye, Z., Yu, X., Xu, X. and Qin, Y. 2019. Prognostic and diagnostic significance of galectins in pancreatic cancer: a systematic review and meta-analysis. *Cancer Cell International*, 19: 1-14.

- Sun, T., Jiang, D., Zhang, L., Su, Q., Mao, W. and Jiang, C. 2016. Expression profile of cathepsins indicates the potential of cathepsins B and D as prognostic factors in breast cancer patients. *Oncology Letters*, 11(1): 575–583.
- Sung, H., Ferlay, J., Siegel, R. L., Laversanne, M., Soerjomataram, I., Jemal, A., & Bray, F. 2021. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA: a Cancer Journal for Clinicians*, 71(3): 209-249.
- Sung, H., Ferlay, J., Siegel, R. L., Laversanne, M., Soerjomataram, I., Jemal, A. and Bray, F. 2021. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA: a Cancer Journal for Clinicians*, 71(3): 209-249.
- Suzuki, H., Toba, K., Kato, K., Ozawa, T., Tomosugi, N., Higuchi, M. and Fukuda, N. 2009. Serum hepcidin-20 is elevated during the acute phase of myocardial infarction. *The Tohoku Journal of Experimental Medicine*, 218(2): 93-98.
- Szpaderska, A. M. and Frankfater, A. 2001. An intracellular form of cathepsin B contributes to invasiveness in cancer. *Cancer Research*, 61(8): 3493-3500.
- Taftachi, R., Ayhan, A., Ekici, S., Ergen, A. and Ozen, H. 2005. Proliferating-cell nuclear antigen (PCNA) as an independent prognostic marker in patients after prostatectomy: a comparison of PCNA and Ki-67. *BJU International*, 95(4): 650–654.
- Taghiloo, S., Norozi, S. and Asgarian-Omran, H. 2022. The effects of Pi3k/Akt/Mtor signaling pathway inhibitors on the expression of immune checkpoint ligands in acute myeloid leukemia cell line. *Iranian Journal of Allergy, Asthma and Immunology*, 21(2): 178-188.
- Talieri, M., Papadopoulou, S., Scorilas, A., Xynopoulos, D., Arnogianaki, N., Plataniotis, G. and Agnanti, N. 2004. Cathepsin B and cathepsin D expression in the progression of colorectal adenoma to carcinoma. *Cancer Letters*, 205(1): 97-106.
- Tan, G., Liu, Q., Tang, X., Kang, T., Li, Y., Lu, J. and Tang, F. 2016. Diagnostic values of serum cathepsin B and D in patients with nasopharyngeal carcinoma. *BMC Cancer*, 16: 1-7.

- Tang, C. E., Tan, T., Li, C., Chen, Z. C., Ruan, L., Wang, H. H. and Xiao, Z. Q. 2010. Identification of Galectin-1 as a novel biomarker in nasopharyngeal carcinoma by proteomic analysis. *Oncology Reports*, 24(2): 495-500.
- Teachmeanatomy, 2024. TeachMeSeries Ltd. Web sites <https://teachmeanatomy.info/pelvis/the-male-reproductive-system/prostate-gland/>.
Date access: 13.04.2024
- Terasawa, Y., Hotani, T., Katayama, Y., Tachibana, M., Mizuguchi, H. and Sakurai, F. 2015. Activity levels of cathepsins B and L in tumor cells are a biomarker for efficacy of reovirus-mediated tumor cell killing. *Cancer Gene Therapy*, 22(4): 188-197.
- Terris, B., Blaveri, E., Crnogorac-Jurcevic, T., Jones, M., Missiaglia, E., Ruzsniowski, P., Sauvanet, A. and Lemoine, N. R. 2002. Characterization of gene expression profiles in intraductal papillary-mucinous tumors of the pancreas. *The American Journal of Pathology*, 160(5): 1745–1754.
- Tesfay, L., Clausen, K. A., Kim, J. W., Hegde, P., Wang, X., Miller, L. D., Deng, Z., Blanchette, N., Arvedson, T., Miranti, C. K., Babitt, J. L., Lin, H. Y., Peehl, D. M., Torti, F. M. and Torti, S. V. 2015. Hepcidin regulation in prostate and its disruption in prostate cancer. *Cancer research*, 75(11): 2254–2263.
- Thijssen, V. L., Hulsmans, S. and Griffioen, A. W. 2008. The galectin profile of the endothelium: altered expression and localization in activated and tumor endothelial cells. *The American Journal of Pathology*, 172(2): 545-553.
- Thomas, C. E., Guillet, R., Queenan, R. A., Cooper, E. M., Kent, T. R., Pressman, E. K. and O'Brien, K. O. 2015. Vitamin D status is inversely associated with anemia and serum erythropoietin during pregnancy. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 102(5): 1088-1095.
- Thompson, J., Lawrentschuk, N., Frydenberg, M., Thompson, L., Stricker, P. and Usanz. 2013. The role of magnetic resonance imaging in the diagnosis and management of prostate cancer. *BJU International*, 112(2): 6–20.
- Tian, J., He, H. and Lei, G. 2014. Wnt/ β -catenin pathway in bone cancers. *Tumor Biology*, 35: 9439-9445.
- Tirkes, T. 2020. *Prostate MRI Essentials: A Practical Guide for Radiologists*. Springer Nature, 345 page, USA.

- Torti, S. V. and Torti, F. M. 2020. Iron and Cancer: 2020 Vision. *Cancer Research*, 80(24): 5435–5448.
- Traeger, L., Ellermann, I., Wiethoff, H., Ihbe, J., Gallitz, I., Eveslage, M. and Steinbicker, A. U. 2019. Serum Hepcidin and GDF-15 levels as prognostic markers in urothelial carcinoma of the upper urinary tract and renal cell carcinoma. *BMC Cancer*, 19: 1-10.
- Tsai, V. W., Brown, D. A. and Breit, S. N. 2018. Targeting the divergent TGF β superfamily cytokine MIC-1/GDF15 for therapy of anorexia/cachexia syndromes. *Current Opinion in Supportive and Palliative Care*, 12(4): 404–409.
- Tsuboi, Y., Abe, H., Nakagawa, R., Oomizu, S., Watanabe, K., Nishi, N. and Hirashima, M. 2007. Galectin-9 protects mice from the Shwartzman reaction by attracting prostaglandin E2-producing polymorphonuclear leukocytes. *Clinical Immunology*, 124(2): 221-233.
- Tsui, K. H., Hsu, S. Y., Chung, L. C., Lin, Y. H., Feng, T. H., Lee, T. Y., Chang, P. L. and Juang, H. H. 2015. Growth differentiation factor-15: a p53- and demethylation-upregulating gene represses cell proliferation, invasion, and tumorigenesis in bladder carcinoma cells. *Scientific Reports*, 5: 12870.
- Türeci, Ö., Schmitt, H., Fadle, N., Pfreundschuh, M. and Sahin, U. 1997. Molecular definition of a novel human galectin which is immunogenic in patients with Hodgkin's disease. *Journal of Biological Chemistry*, 272(10): 6416-6422.
- Turk, V., Stoka, V., Vasiljeva, O., Renko, M., Sun, T., Turk, B. and Turk, D. 2012. Cysteine cathepsins: from structure, function and regulation to new frontiers. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Proteins and Proteomics*, 1824(1): 68-88.
- Tzelvels, L., Protogerou, V. and Varkarakis, I. 2022. Denonvilliers' fascia: the prostate border to the outside world. *Cancers*, 14(3): 688.
- Udoh, E. A., Akaiso, O. E. and Ukpog, A. E. 2020a. Correlation between prostate volume and Gleason score in patients diagnosed with prostate cancer. A 2-year hospital based study. *Age (Years)*, 67(8.83): 48-91.
- Udoh, E. A., David, D. E. and Eyo, A. E. 2020b. Relationship between serum prostate specific antigen (PSA) and Gleason score in patients diagnosed with prostate cancer. A hospital based study. *EAS J. Med Surg*, 2(2): 47-52.

- Unger, J. M., Hershman, D. L., Till, C., Tangen, C. M., Barlow, W. E., Ramsey, S. D., Goodman, P. J. and Thompson, I. M., Jr. 2018. Using Medicare Claims to Examine Long-term Prostate Cancer Risk of Finasteride in the Prostate Cancer Prevention Trial. *Journal of the National Cancer Institute*, 110(11): 1208–1215.
- Valenta, T., Hausmann, G. and Basler, K. 2012. The many faces and functions of β -catenin. *The EMBO Journal*, 31(12): 2714–2736.
- Valkenburg, K. C., Graveel, C. R., Zylstra-Diegel, C. R., Zhong, Z. and Williams, B. O. 2011. Wnt/ β -catenin Signaling in Normal and Cancer Stem Cells. *Cancers*, 3(2): 2050–2079.
- Van Der Crujisen-Koeter, I. W., Vis, A. N., Roobol, M. J., Wildhagen, M. F., De Koning, H. J., Van Der Kwast, T. H. and Schröder, F. H. 2005. Comparison of screen detected and clinically diagnosed prostate cancer in the European randomized study of screening for prostate cancer, section Rotterdam. *The Journal of Urology*, 174(1): 121-125.
- Vaňhara, P., Hampl, A., Kozubík, A. and Souček, K. 2012. Growth/differentiation factor-15: prostate cancer suppressor or promoter?. *Prostate Cancer and Prostatic Diseases*, 15(4): 320-328.
- Varki, A. and Crocker, P. R. 2009. I-type lectins. *Essentials of Glycobiology*. 2nd edition. Cold Spring Harbor Laboratory Press, 475 page, USA.
- Varma, K., Chauhan, A., Bhargava, M., Misra, V. and Srivastava, S. 2020. Association of different patterns of expression of beta-catenin and cyclin D1 with pathogenesis of breast carcinoma. *Indian Journal of Pathology and Microbiology*, 63(1): 13-18.
- Vasiljeva, O., Reinheckel, T., Peters, C., Turk, D., Turk, V. and Turk, B. 2007. Emerging roles of cysteine cathepsins in disease and their potential as drug targets. *Current Pharmaceutical Design*, 13(4): 387-403.
- Vela, D. and Vela-Gaxha, Z. 2018. Differential regulation of hepcidin in cancer and non-cancer tissues and its clinical implications. *Experimental and Molecular Medicine*, 50(2): e436.
- Verma, S. and Rajesh, A. 2011. A clinically relevant approach to imaging prostate cancer. *American Journal of Roentgenology*, 196(3): 1-10.
- Vidak, E., Javoršek, U., Vizovišek, M. and Turk, B. 2019. Cysteine cathepsins and their extracellular roles: shaping the microenvironment. *Cells*, 8(3): 264.

- Vidoni, C., Follo, C., Savino, M., Melone, M. A. and Isidoro, C. 2016. The Role of Cathepsin D in the Pathogenesis of Human Neurodegenerative Disorders. *Medicinal Research Reviews*, 36(5): 845–870.
- Vizovišek, M., Fonović, M. and Turk, B. 2019. Cysteine cathepsins in extracellular matrix remodeling: Extracellular matrix degradation and beyond. *Matrix Biology*, 75: 141-159.
- Vladoiu, M. C., Labrie, M. and St-Pierre, Y. 2014. Intracellular galectins in cancer cells: potential new targets for therapy. *International Journal of Oncology*, 44(4): 1001-1014.
- Voronkov, A. and Krauss, S. 2013. Wnt/beta-catenin signaling and small molecule inhibitors. *Current Pharmaceutical Design*, 19(4): 634–664.
- Wada, J. and Kanwar, Y. S. 1997. Identification and characterization of galectin-9, a novel β -galactoside-binding mammalian lectin. *Journal of Biological Chemistry*, 272(9): 6078-6086.
- Wada, J., Ota, K., Kumar, A., Wallner, E. I. and Kanwar, Y. S. 1997. Developmental regulation, expression, and apoptotic potential of galectin-9, a beta-galactoside binding lectin. *The Journal of Clinical Investigation*, 99(10): 2452–2461.
- Wallentin, L., Hijazi, Z., Andersson, U., Alexander, J. H., De Caterina, R., Hanna, M. and Granger, C. B. 2014. Growth differentiation factor 15, a marker of oxidative stress and inflammation, for risk assessment in patients with atrial fibrillation: insights from the Apixaban for Reduction in Stroke and Other Thromboembolic Events in Atrial Fibrillation (ARISTOTLE) trial. *Circulation*, 130(21): 1847-1858.
- Walter, L. C., Bertenthal, D., Lindquist, K. and Konety, B. R. 2006. PSA screening among elderly men with limited life expectancies. *Jama*, 296(19): 2336-2342.
- Wan, Y. and Fu, J. 2023. GDF15 as a key disease target and biomarker: linking chronic lung diseases and ageing. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 1-14.
- Wang, F., Liu, A., Bai, R., Zhang, B., Jin, Y., Guo, W. and Liu, L. 2017. Hepcidin and iron metabolism in the pathogenesis of prostate cancer. *J. Buon*, 22(5): 1328-32.
- Wang, J., Chen, L., Li, Y. and Guan, X. Y. 2011. Overexpression of cathepsin Z contributes to tumor metastasis by inducing epithelial-mesenchymal transition in hepatocellular carcinoma. *PloS One*, 6(9): e24967.

- Wang, J., Liu, W., Li, J. C., Li, M., Li, B. and Zhu, R. 2021. Hepcidin Downregulation Correlates With Disease Aggressiveness And Immune Infiltration in Liver Cancers. *Frontiers in Oncology*, 11: 714756.
- Wang, J., Zheng, M., Yang, X., Zhou, X. and Zhang, S. 2023. The Role of Cathepsin B in Pathophysiologies of Non-tumor and Tumor tissues: A Systematic Review. *Journal of Cancer*, 14(12): 2344–2358.
- Wang, K., Chen, Z., Wu, R., Yin, J., Fan, M. and Xu, X. 2018. Prognostic role of high gal-9 expression in solid tumours: a meta-analysis. *Cellular Physiology and Biochemistry*, 45(3): 993-1002.
- Wang, S., Tian, Y., Wu, D., Zhu, H., Luo, D., Gong, W. and Zhang, Z. 2012. Genetic variation of CTNNB1 gene is associated with susceptibility and prognosis of gastric cancer in a Chinese population. *Mutagenesis*, 27(6): 623-630.
- Wang, X., Yang, Z., Tian, H., Li, Y., Li, M., Zhao, W., Zhang, C., Wang, T., Liu, J., Zhang, A., Shen, D., Zheng, C., Qi, J., Zhao, D., Shi, J., Jin, L., Rao, J. and Zhang, W. 2017. Circulating MIC-1/GDF15 is a complementary screening biomarker with CEA and correlates with liver metastasis and poor survival in colorectal cancer. *Oncotarget*, 8(15): 24892–24901.
- Wang, Y., Li, J., Feng, L., Yu, J., Zhang, Y., Ye, D. and Chen, H. Y. 2016. Lysosome-targeting fluorogenic probe for cathepsin B imaging in living cells. *Analytical Chemistry*, 88(24): 12403-12410.
- Wang, Z. A. and Shen, M. M. 2011. Revisiting the concept of cancer stem cells in prostate cancer. *Oncogene*, 30(11): 1261–1271.
- Wang, Z. A., Mitrofanova, A., Bergren, S. K., Abate-Shen, C., Cardiff, R. D., Califano, A. and Shen, M. M. 2013. Lineage analysis of basal epithelial cells reveals their unexpected plasticity and supports a cell-of-origin model for prostate cancer heterogeneity. *Nature Cell Biology*, 15(3): 274–283.
- Wang, Z., Zhang, H., Hou, J., Niu, J., Ma, Z., Zhao, H. and Liu, C. 2015. Clinical implications of β -catenin protein expression in breast cancer. *International Journal of Clinical and Experimental Pathology*, 8(11): 14989.
- Ward, A. D., Crukley, C., McKenzie, C. A., Montreuil, J., Gibson, E., Romagnoli, C. and Fenster, A. 2012. Prostate: registration of digital histopathologic images to in

- vivo MR images acquired by using endorectal receive coil. *Radiology*, 263(3): 856-864.
- Watson, J. L. 2018. Your guide to cancer prevention; Chapter 1. Overview of Cancer. Oncology Nursing Society, pp 1-11, USA.
- Wdowiak, K., Gallego-Colon, E., Francuz, T., Czajka-Francuz, P., Ruiz-Agamez, N., Kubeczko, M. and Wojnar, J. 2019. Increased serum levels of Galectin-9 in patients with chronic lymphocytic leukemia. *Oncology Letters*, 17(1): 1019-1029.
- Wdowiak, K., Spychałowicz, W., Fajkis, M. and Wojnar, J. 2016. Galectins in hematological malignancies—role, functions and potential therapeutic targets. *Advances in Hygiene and Experimental Medicine*, 70: 95-103.
- Weide, B., Schäfer, T., Martens, A., Kuzkina, A., Uder, L., Noor, S. and Wischhusen, J. 2016. High GDF-15 serum levels independently correlate with poorer overall survival of patients with tumor-free stage III and unresectable stage IV melanoma. *Journal of Investigative Dermatology*, 136(12): 2444-2452.
- Weinreb, J. C., Barentsz, J. O., Choyke, P. L., Cornud, F., Haider, M. A., Macura, K. J. and Verma, S. 2016. PI-RADS prostate imaging—reporting and data system: 2015, version 2. *European Urology*, 69(1): 16-40.
- Welsh, J. B., Sapinoso, L. M., Kern, S. G., Brown, D. A., Liu, T., Bauskin, A. R. and Hampton, G. M. 2003. Large-scale delineation of secreted protein biomarkers overexpressed in cancer tissue and serum. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 100(6): 3410-3415.
- Wiersma, V. R., de Bruyn, M., Helfrich, W. and Bremer, E. 2013. Therapeutic potential of Galectin-9 in human disease. *Medicinal Research Reviews*, 33(S1): 102-126.
- Wilson, A. H. 2014. The prostate gland: a review of its anatomy, pathology, and treatment. *Jama*, 312(5): 562-562.
- Wiltse, L. L. and Pait, T. G. 1998. Herophilus of Alexandria (325-255 B. C.). The father of anatomy. *Spine*, 23(17): 1904–1914.
- Wischhusen, J., Melero, I. and Fridman, W. H. 2020. Growth/differentiation factor-15 (GDF-15): from biomarker to novel targetable immune checkpoint. *Frontiers in Immunology*, 11: 542-657.

- Wu, D., Wang, H., Li, Z., Wang, L., Zheng, F., Jiang, J., Gao, Y., Zhong, H., Huang, Y. and Suo, Z. 2012. Cathepsin B may be a potential biomarker in cervical cancer. *Histology and Histopathology*, 27(1): 79–87.
- Xiang, Y., Zhu, Z., Han, G., Ye, X., Xu, B., Peng, Z., Ma, Y., Yu, Y., Lin, H., Chen, A. P. and Chen, C. D. 2007. JARID1B is a histone H3 lysine 4 demethylase up-regulated in prostate cancer. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 104(49): 19226–19231.
- Xiang-Tao, P. 2017. Expression of hepcidin and neogenin in colorectal cancer. *Open Medicine*, 12(1): 184-188.
- Xiao, Q., Werner, J., Venkatachalam, N., Boonekamp, K. E., Ebert, M. P. and Zhan, T. 2022. Cross-talk between p53 and Wnt signaling in cancer. *Biomolecules*, 12(3): 453.
- Xie, H., Huang, Z., Sadim, M. S. and Sun, Z. 2005. Stabilized beta-catenin extends thymocyte survival by up-regulating Bcl-xL. *Journal of Immunology (Baltimore, Md. : 1950)*, 175(12): 7981–7988.
- Xing, Y., Takemaru, K. I., Liu, J., Berndt, J. D., Zheng, J. J., Moon, R. T. and Xu, W. 2008. Crystal structure of a full-length β -catenin. *Structure*, 16(3): 478-487.
- Xu, H. and Ren, D. 2015. Lysosomal physiology. *Annual Review of Physiology*, 77: 57-80.
- Xu, L., Peng, S., Zhang, N., Liu, R., Huang, Q., Li, X. and Wang, J. 2016. Expression status of cathepsin B may as a prognostic marker for human gastric carcinoma. *Int J Clin Exp Pathol*, 9(7): 6988-6998.
- Xu, W. and Kimelman, D. 2007. Mechanistic insights from structural studies of beta-catenin and its binding partners. *Journal of Cell Science*, 120(19): 3337–3344.
- Xu, Y., Alfaro-Magallanes, V. M. and Babitt, J. L. 2021. Physiological and pathophysiological mechanisms of hepcidin regulation: clinical implications for iron disorders. *British Journal of Haematology*, 193(5): 882–893.
- Xu, Y., Banerjee, D., Huelsken, J., Birchmeier, W. and Sen, J. M. 2003. Deletion of β -catenin impairs T cell development. *Nature Immunology*, 4(12): 1177-1182.
- Yadati, T., Houben, T., Bitorina, A. and Shiri-Sverdlov, R. 2020. The Ins and Outs of Cathepsins: Physiological Function and Role in Disease Management. *Cells*, 9(7): 1679.

- Yan, D., Wang, H. W., Bowman, R. L. and Joyce, J. A. 2016. STAT3 and STAT6 signaling pathways synergize to promote cathepsin secretion from macrophages via IRE1 α activation. *Cell Reports*, 16(11): 2914-2927.
- Yan, S. and Sloane, B. F. 2003. Molecular regulation of human cathepsin B: implication in pathologies. *Biological Chemistry*, 384(6): 845–854.
- Yang, F., Li, X., Sharma, M., Sasaki, C. Y., Longo, D. L., Lim, B. and Sun, Z. 2002. Linking β -catenin to androgen-signaling pathway. *Journal of Biological Chemistry*, 277(13): 11336-11344.
- Yang, W. E., Ho, C. C., Yang, S. F., Lin, S. H., Yeh, K. T., Lin, C. W. and Chen, M. K. 2016. Cathepsin B Expression and the Correlation with Clinical Aspects of Oral Squamous Cell Carcinoma. *PloS One*, 11(3): e0152165.
- Yasinska, I. M., Sakhnevych, S. S., Pavlova, L., Teo Hansen Selnø, A., Teuscher Abeleira, A. M., Benlaouer, O. and Sumbayev, V. V. 2019. The Tim-3-Galectin-9 pathway and its regulatory mechanisms in human breast cancer. *Frontiers in Immunology*, 10: 1594.
- Yee, D. S., Tang, Y., Li, X., Liu, Z., Guo, Y., Ghaffar, S. and Zi, X. 2010. The Wnt inhibitory factor 1 restoration in prostate cancer cells was associated with reduced tumor growth, decreased capacity of cell migration and invasion and a reversal of epithelial to mesenchymal transition. *Molecular Cancer*, 9: 1-14.
- Yeh, Y., Guo, Q., Connelly, Z., Cheng, S., Yang, S., Prieto-Dominguez, N. and Yu, X. 2019. Wnt/Beta-catenin signaling and prostate cancer therapy resistance. *Prostate Cancer: Cellular and Genetic Mechanisms of Disease Development and Progression*, 351-378.
- Yokoyama, N. N., Shao, S., Hoang, B. H., Mercola, D. and Zi, X. 2014. Wnt signaling in castration-resistant prostate cancer: implications for therapy. *American Journal of Clinical and Experimental Urology*, 2(1): 27.
- Yoshida, H., Teraoka, M., Nishi, N., Nakakita, S. I., Nakamura, T., Hirashima, M., & Kamitori, S. 2010. X-ray structures of human galectin-9 C-terminal domain in complexes with a biantennary oligosaccharide and sialyllactose. *Journal of Biological Chemistry*, 285(47): 36969-36976.
- Young, B. and Zaritsky, J. 2009. Heparin for clinicians. *Clinical Journal of the American Society of Nephrology*, 4(8): 1384-1387.

- Young, H. H. 1909. XV. Cancer of the Prostate: A Clinical, Pathological and Post-Operative Analysis of 111 Cases. *Annals of Surgery*, 50(6): 1144–1233.
- Yu, X., Wang, Y., DeGraff, D. J., Wills, M. L. and Matusik, R. J. 2011. Wnt/ β -catenin activation promotes prostate tumor progression in a mouse model. *Oncogene*, 30(16): 1868-1879.
- Yu, X., Wang, Y., Jiang, M., Bieri, B., Roy-Burman, P., Shen, M. M. and Matusik, R. J. 2009. Activation of β -Catenin in mouse prostate causes HGPIN and continuous prostate growth after castration. *The Prostate*, 69(3): 249-262.
- Yuan, F., Ming, H., Wang, Y., Yang, Y., Yi, L., Li, T. and Yang, X. 2020. Molecular and clinical characterization of Galectin-9 in glioma through 1,027 samples. *Journal of Cellular Physiology*, 235(5): 4326-4334.
- Yuan, Y., Zhang, C. J., Gao, M., Zhang, R., Tang, B. Z. and Liu, B. 2015. Specific light-up bioprobe with aggregation-induced emission and activatable photoactivity for the targeted and image-guided photodynamic ablation of cancer cells. *Angewandte Chemie International Edition*, 54(6): 1780-1786.
- Zehir, A., Benayed, R., Shah, R. H., Syed, A., Middha, S., Kim, H. R. and Berger, M. F. 2017. Mutational landscape of metastatic cancer revealed from prospective clinical sequencing of 10,000 patients. *Nature Medicine*, 23(6): 703-713.
- Zhan, T., Rindtorff, N. and Boutros, M. 2017. Wnt signaling in cancer. *Oncogene*, 36(11): 1461-1473.
- Zhang, D., Zhao, S., Li, X., Kirk, J. S. and Tang, D. G. 2018b. Prostate Luminal Progenitor Cells in Development and Cancer. *Trends in Cancer*, 4(11): 769–783.
- Zhang, J. and Ma, L. 2012. MicroRNA control of epithelial-mesenchymal transition and metastasis. *Cancer Metastasis Reviews*, 31(3-4): 653–662.
- Zhang, J., Kuang, Y., Wang, Y., Xu, Q. and Ren, Q. 2017. Notch-4 silencing inhibits prostate cancer growth and EMT via the NF- κ B pathway. *Apoptosis : an International Journal on Programmed Cell Death*, 22(6): 877–884.
- Zhang, W., Hu, C., Wang, X., Bai, S., Cao, S., Kobelski, M. and Zhan, Y. 2019. Role of GDF15 in methylseleninic acid-mediated inhibition of cell proliferation and induction of apoptosis in prostate cancer cells. *PLoS One*, 14(9): e0222812.
- Zhang, Z. Y., Dong, J. H., Chen, Y. W., Wang, X. Q., Li, C. H., Wang, J. and Wang, X. D. 2012. Galectin-9 acts as a prognostic factor with antimetastatic potential in

- hepatocellular carcinoma. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, 13(6): 2503-2509.
- Zhang, Z., Cheng, L., Li, J., Farah, E., Atallah, N. M., Pascuzzi, P. E. and Liu, X. 2018a. Inhibition of the Wnt/ β -catenin pathway overcomes resistance to enzalutamide in castration-resistant prostate cancer. *Cancer Research*, 78(12): 3147-3162.
- Zhao, B. and Xue, B. 2016. Self-regulation of functional pathways by motifs inside the disordered tails of beta-catenin. *BMC Genomics*, 17: 513-526.
- Zhao, B., Li, R., Cheng, G., Li, Z., Zhang, Z., Li, J., Zhang, G., Bi, C., Hu, C., Yang, L., Lei, Y. and Wang, Q. 2018a. Role of hepcidin and iron metabolism in the onset of prostate cancer. *Oncology Letters*, 15(6): 9953–9958.
- Zhao, C. F. and Herrington, D. M. 2016. The function of cathepsins B, D, and X in atherosclerosis. *American Journal of Cardiovascular Disease*, 6(4): 163.
- Zhao, D. M., Yu, S., Zhou, X., Haring, J. S., Held, W., Badovinac, V. P., Harty, J. T. and Xue, H. H. 2010. Constitutive activation of Wnt signaling favors generation of memory CD8 T cells. *Journal of Immunology*, 184(3): 1191–1199.
- Zhao, D., Wang, X. and Zhang, W. 2018b. GDF15 predict platinum response during first-line chemotherapy and can act as a complementary diagnostic serum biomarker with CA125 in epithelial ovarian cancer. *BMC Cancer*, 18: 1-10.
- Zhao, L., Lee, B. Y., Brown, D. A., Molloy, M. P., Marx, G. M., Pavlakis, N., Boyer, M. J., Stockler, M. R., Kaplan, W., Breit, S. N., Sutherland, R. L., Henshall, S. M. and Horvath, L. G. 2009. Identification of candidate biomarkers of therapeutic response to docetaxel by proteomic profiling. *Cancer Research*, 69(19): 7696–7703.
- Zhao, Z. M., Reynolds, A. B. and Gaucher, E. A. 2011. The evolutionary history of the catenin gene family during metazoan evolution. *BMC Evolutionary Biology*, 11: 198.
- Zheng, Z., Zhou, Z., Yan, W., Zhou, Y., Chen, C., Li, H. and Ji, Z. 2020. Tumor characteristics, treatments, and survival outcomes in prostate cancer patients with a PSA level < 4 ng/ml: a population-based study. *BMC cancer*, 20: 1-7.
- Zhou, Q., Chen, J., Feng, J. and Wang, J. 2018b. E4BP4 promotes thyroid cancer proliferation by modulating iron homeostasis through repression of hepcidin. *Cell Death and Disease*, 9(10): 987.

- Zhou, X., Sun, L., Jing, D., Xu, G., Zhang, J., Lin, L. and Lin, H. 2018a. Galectin-9 expression predicts favorable clinical outcome in solid tumors: a systematic review and meta-analysis. *Frontiers in Physiology*, 9: 452.
- Zhu, R., Liu, C., Tang, H., Zeng, Q., Wang, X., Zhu, Z. and Zhong, Y. 2015. Serum galectin-9 levels are associated with coronary artery disease in Chinese individuals. *Mediators of Inflammation*, 1–13.
- Zhu, W., Wang, H. and Zhu, D. 2022. Wnt/ β -catenin signaling pathway in lung cancer. *Medicine in Drug Discovery*, 13: 100113.
- Zlotta, A. R., Egawa, S., Pushkar, D., Govorov, A., Kimura, T., Kido, M., Takahashi, H., Kuk, C., Kovylna, M., Aldaoud, N., Fleshner, N., Finelli, A., Klotz, L., Sykes, J., Lockwood, G. and van der Kwast, T. H. 2013. Prevalence of prostate cancer on autopsy: cross-sectional study on unscreened Caucasian and Asian men. *Journal of the National Cancer Institute*, 105(14): 1050–1058.

EKLER

EK 1. Doktora tezi için numune toplanmasına ilişkin etik izin

EK 2. Doktora tez savunma sınavı için fen bilimleri Enstitüsü'nden onay

EK 3. Elde edilen Cut-off skorlarına göre PSA'nın duyarlılık ve özgüllük değerleri

EK 4. Elde edilen cut-off skorlarına göre GDF15'nin duyarlılık ve özgüllük değerleri

EK 5. Elde edilen cut-off skorlarına Göre Gal-9'nın duyarlılık ve özgüllük değerleri

EK 6. Elde edilen cut-off skorlarına göre human Katenin Beta 1 (CTNN β 1)'nin duyarlılık ve özgüllük değerleri

EK 7. Elde edilen cut-off skorlarına göre human Cathepsin B (CTSB)'nin duyarlılık ve özgüllük değerleri

EK 8. Elde edilen cut-off skorlarına göre human Hepcidin 'nin duyarlılık ve özgüllük değerleri





EK 3. Elde edilen cut-off skorlarına göre PSA'nın duyarlılık ve özgüllük değerleri
Eğrinin Koordinatları

Büyük veya Eşitse Pozitif	Duyarlılık	1 - Özgüllük	LR
-0,6830	1,000	1,000	1
0,3405	1,000	0,975	1,025641
0,3840	1,000	0,950	1,052632
0,4080	1,000	0,925	1,081081
0,4485	1,000	0,900	1,111111
0,4855	1,000	0,875	1,142857
0,5060	1,000	0,850	1,176471
0,5545	1,000	0,825	1,212121
0,5975	1,000	0,800	1,25
0,6170	1,000	0,775	1,290323
0,6325	1,000	0,750	1,333333
0,6635	1,000	0,725	1,37931
0,7005	1,000	0,700	1,428571
0,7175	1,000	0,675	1,481481
0,7250	1,000	0,650	1,538462
0,7440	1,000	0,625	1,6
0,7590	1,000	0,600	1,666667
0,7630	1,000	0,575	1,73913
0,7645	1,000	0,550	1,818182
0,7890	1,000	0,525	1,904762
0,8150	1,000	0,500	2
0,8190	1,000	0,475	2,105263
0,8500	1,000	0,450	2,222222
0,9030	1,000	0,425	2,352941
0,9300	1,000	0,375	2,666667
0,9350	1,000	0,350	2,857143
0,9770	1,000	0,325	3,076923
1,0485	1,000	0,300	3,333333
1,0950	1,000	0,275	3,636364
1,1150	1,000	0,250	4
1,1450	1,000	0,225	4,444444
1,1905	1,000	0,200	5
1,2115	1,000	0,175	5,714286
1,2495	1,000	0,150	6,666667
1,3000	1,000	0,125	8
1,3145	1,000	0,100	10
1,3730	1,000	0,075	13,33333
1,4600	1,000	0,050	20
1,6100	1,000	0,025	40

5,1650	1,000	0,000
9,4500	0,980	0,000
10,3500	0,960	0,000
10,5000	0,940	0,000
11,0500	0,920	0,000
11,7000	0,900	0,000
11,9500	0,880	0,000
12,2500	0,860	0,000
13,0500	0,840	0,000
13,8000	0,780	0,000
14,3500	0,760	0,000
14,8500	0,740	0,000
15,7000	0,720	0,000
17,6500	0,680	0,000
19,2000	0,660	0,000
19,5500	0,640	0,000
20,0500	0,600	0,000
20,9500	0,580	0,000
21,9500	0,560	0,000
22,7500	0,540	0,000
23,5000	0,500	0,000
25,0000	0,480	0,000
26,4500	0,460	0,000
27,9500	0,440	0,000
29,2000	0,420	0,000
29,5000	0,400	0,000
30,0500	0,380	0,000
31,2500	0,360	0,000
32,2500	0,340	0,000
32,9500	0,320	0,000
33,9500	0,300	0,000
34,7000	0,280	0,000
35,1500	0,260	0,000
35,7000	0,240	0,000
36,2000	0,220	0,000
36,9500	0,200	0,000
37,5500	0,180	0,000
37,7500	0,160	0,000
38,1500	0,140	0,000
38,7000	0,120	0,000
39,3000	0,100	0,000
40,1000	0,080	0,000
40,8000	0,060	0,000
41,5000	0,040	0,000
43,0000	0,000	0,000

EK 4. Elde edilen cut-off skorlarına göre GDF15'nin duyarlılık ve özgüllük değerleri

Büyük veya Eşitse Pozitif	Duyarlılık	1 - Özgüllük	LR
194,1000	1,000	1,000	1
205,3000	1,000	0,975	1,025641
237,8500	1,000	0,950	1,052632
261,4500	1,000	0,925	1,081081
266,5500	1,000	0,900	1,111111
282,5000	1,000	0,875	1,142857
303,5500	1,000	0,850	1,176471
321,4000	1,000	0,825	1,212121
338,2500	1,000	0,800	1,25
346,5500	1,000	0,775	1,290323
348,1000	1,000	0,750	1,333333
356,4000	1,000	0,725	1,37931
372,4000	1,000	0,700	1,428571
383,2500	1,000	0,675	1,481481
387,3500	1,000	0,650	1,538462
390,2500	1,000	0,625	1,6
392,5500	1,000	0,600	1,666667
404,3000	0,980	0,600	1,633333
415,8000	0,960	0,600	1,6
419,6000	0,960	0,575	1,669565
425,3000	0,960	0,550	1,745455
431,7000	0,960	0,525	1,828571
440,6500	0,940	0,525	1,790476
451,4500	0,920	0,525	1,752381
460,0000	0,920	0,500	1,84
472,5000	0,920	0,475	1,936842
483,0500	0,920	0,450	2,044444
485,3000	0,920	0,425	2,164706
489,8000	0,900	0,425	2,117647
494,2500	0,880	0,425	2,070588
495,5000	0,860	0,425	2,023529
498,6500	0,860	0,400	2,15
501,8500	0,860	0,375	2,293333
507,0000	0,860	0,350	2,457143
513,4000	0,840	0,350	2,4
516,5500	0,820	0,350	2,342857
525,5000	0,800	0,350	2,285714
534,4500	0,780	0,350	2,228571
538,2500	0,780	0,325	2,4

542,1500	0,780	0,300	2,6
544,0500	0,780	0,275	2,836364
547,1500	0,780	0,250	3,12
552,2500	0,780	0,225	3,466667
558,0000	0,780	0,200	3,9
563,7500	0,780	0,175	4,457143
569,5000	0,760	0,175	4,342857
573,3500	0,740	0,175	4,228571
574,6000	0,720	0,175	4,114286
575,8500	0,700	0,175	4
577,7500	0,700	0,150	4,666667
580,1500	0,680	0,150	4,533333
582,7000	0,660	0,150	4,4
586,7000	0,640	0,125	5,12
595,0000	0,620	0,125	4,96
605,8500	0,600	0,125	4,8
617,3500	0,580	0,125	4,64
625,6000	0,580	0,100	5,8
630,0500	0,560	0,075	7,466667
638,0500	0,540	0,075	7,2
646,3500	0,540	0,050	10,8
650,4500	0,520	0,050	10,4
652,8500	0,500	0,050	10
655,4000	0,480	0,050	9,6
663,9000	0,460	0,050	9,2
703,7500	0,440	0,050	8,8
740,0500	0,420	0,050	8,4
747,4500	0,400	0,050	8
762,4000	0,400	0,025	16
784,0000	0,400	0,000	
800,5500	0,380	0,000	
823,0500	0,360	0,000	
847,9500	0,340	0,000	
858,2000	0,320	0,000	
862,0000	0,300	0,000	
873,7500	0,280	0,000	
888,8500	0,260	0,000	
894,3500	0,240	0,000	
917,8500	0,220	0,000	
942,1000	0,200	0,000	
945,5000	0,180	0,000	
948,1000	0,160	0,000	
959,8500	0,140	0,000	
1016,7500	0,120	0,000	
1073,7000	0,100	0,000	

1179,2000	0,080	0,000
1313,5000	0,060	0,000
1358,0000	0,040	0,000
1533,5000	0,020	0,000
1706,0000	0,000	0,000



EK 5. Elde edilen cut-off skorlarına göre Gal-9'nın duyarlılık ve özgüllük değerleri

A'dan Büyük veya A'ya Eşitse Pozitif	Duyarlılık	1 - Özgüllük	LR
7,9000	1,000	1,000	1
9,3500	1,000	0,975	1,025641
10,4000	1,000	0,950	1,052632
12,5000	1,000	0,925	1,081081
15,0000	1,000	0,900	1,111111
17,0000	1,000	0,875	1,142857
19,0000	1,000	0,850	1,176471
21,0000	1,000	0,825	1,212121
22,5000	1,000	0,800	1,25
24,0000	1,000	0,775	1,290323
25,5000	1,000	0,725	1,37931
26,5000	1,000	0,700	1,428571
27,5000	1,000	0,625	1,6
28,5000	1,000	0,575	1,73913
29,5000	1,000	0,550	1,818182
31,5000	1,000	0,525	1,904762
33,5000	1,000	0,475	2,105263
34,5000	1,000	0,450	2,222222
37,0000	1,000	0,375	2,666667
40,0000	1,000	0,325	3,076923
41,5000	0,960	0,325	2,953846
42,5000	0,960	0,300	3,2
45,0000	0,960	0,275	3,490909
47,5000	0,940	0,250	3,76
48,5000	0,900	0,250	3,6
50,5000	0,900	0,225	4
53,5000	0,860	0,225	3,822222
55,5000	0,820	0,225	3,644444
57,0000	0,820	0,200	4,1
58,5000	0,820	0,175	4,685714
61,0000	0,820	0,125	6,56
63,5000	0,780	0,125	6,24
64,5000	0,760	0,125	6,08
66,0000	0,740	0,125	5,92
69,0000	0,720	0,100	7,2
72,0000	0,720	0,050	14,4
73,5000	0,700	0,050	14
74,5000	0,700	0,025	28
75,5000	0,700	0,000	
76,5000	0,680	0,000	

78,0000	0,660	0,000
80,5000	0,640	0,000
83,5000	0,620	0,000
85,5000	0,600	0,000
92,0000	0,560	0,000
99,0000	0,540	0,000
100,5000	0,520	0,000
101,5000	0,500	0,000
103,0000	0,480	0,000
104,5000	0,460	0,000
106,5000	0,440	0,000
108,5000	0,420	0,000
111,0000	0,400	0,000
115,5000	0,380	0,000
125,5000	0,360	0,000
134,5000	0,340	0,000
138,0000	0,320	0,000
141,5000	0,300	0,000
144,0000	0,280	0,000
152,5000	0,240	0,000
168,0000	0,220	0,000
177,5000	0,200	0,000
181,5000	0,180	0,000
190,0000	0,160	0,000
199,0000	0,140	0,000
202,5000	0,120	0,000
206,0000	0,100	0,000
213,0000	0,080	0,000
221,5000	0,060	0,000
233,0000	0,040	0,000
241,5000	0,020	0,000
244,0000	0,000	0,000

EK 6. Elde edilen cut-off skorlarına göre human Katenin Beta 1 (CTNN β 1)'nin duyarlılık ve özgüllük değerleri

A'dan Büyük veya A'ya Eşitse Pozitif	Duyarlılık	1 - Özgüllük	LR
-0,9770	1,000	1,000	1
0,0280	1,000	0,975	1,025641
0,0345	1,000	0,925	1,081081
0,0370	1,000	0,850	1,176471
0,0395	1,000	0,825	1,212121
0,0415	1,000	0,800	1,25
0,0425	1,000	0,775	1,290323
0,0435	1,000	0,750	1,333333
0,0450	1,000	0,725	1,37931
0,0465	1,000	0,700	1,428571
0,0480	1,000	0,675	1,481481
0,0500	1,000	0,575	1,73913
0,0520	1,000	0,525	1,904762
0,0545	1,000	0,475	2,105263
0,0585	1,000	0,450	2,222222
0,0640	1,000	0,425	2,352941
0,0680	1,000	0,400	2,5
0,0705	1,000	0,375	2,666667
0,0730	1,000	0,300	3,333333
0,0745	1,000	0,250	4
0,0785	1,000	0,200	5
0,0835	1,000	0,175	5,714286
0,0880	1,000	0,150	6,666667
0,0915	1,000	0,125	8
0,0935	1,000	0,100	10
0,0990	1,000	0,075	13,33333
0,1080	1,000	0,050	20
0,1155	1,000	0,025	40
0,1810	1,000	0,000	
0,3710	0,980	0,000	
0,6550	0,960	0,000	
0,8485	0,940	0,000	
0,9230	0,920	0,000	
0,9920	0,900	0,000	
1,0295	0,880	0,000	
1,0450	0,860	0,000	
1,0590	0,840	0,000	
1,0655	0,820	0,000	

1,0950	0,800	0,000
1,1420	0,780	0,000
1,1830	0,760	0,000
1,2775	0,740	0,000
1,4020	0,720	0,000
1,4760	0,700	0,000
1,5525	0,680	0,000
1,6425	0,660	0,000
1,7000	0,640	0,000
1,7225	0,620	0,000
1,7925	0,600	0,000
1,9120	0,580	0,000
1,9645	0,560	0,000
1,9705	0,540	0,000
1,9760	0,520	0,000
1,9840	0,500	0,000
2,0040	0,480	0,000
2,0215	0,460	0,000
2,0265	0,420	0,000
2,0305	0,400	0,000
2,0355	0,380	0,000
2,0395	0,360	0,000
2,0820	0,340	0,000
2,1270	0,320	0,000
2,1425	0,300	0,000
2,1795	0,280	0,000
2,3640	0,260	0,000
2,5485	0,240	0,000
2,5925	0,220	0,000
2,7125	0,200	0,000
2,8285	0,180	0,000
2,8985	0,160	0,000
2,9730	0,140	0,000
3,0085	0,120	0,000
3,0305	0,080	0,000
3,0475	0,060	0,000
3,0630	0,040	0,000
3,0795	0,020	0,000
4,0920	0,000	0,000

EK 7. Elde edilen cut-off skorlarına göre human Cathepsin B (CTSB)'nın duyarlılık ve özgüllük değerleri

A'dan Büyük veya A'ya Eşitse Pozitif	Duyarlılık	1 - Özgüllük	LR
15,0000	1,000	1,000	1
18,0000	0,980	1,000	0,98
27,5000	0,980	0,950	1,031579
35,5000	0,980	0,925	1,059459
38,0000	0,980	0,900	1,088889
47,5000	0,980	0,875	1,12
57,0000	0,960	0,875	1,097143
60,5000	0,960	0,850	1,129412
62,5000	0,960	0,825	1,163636
64,0000	0,960	0,800	1,2
65,5000	0,920	0,750	1,226667
66,5000	0,900	0,750	1,2
68,0000	0,880	0,750	1,173333
69,5000	0,880	0,700	1,257143
71,0000	0,880	0,675	1,303704
73,0000	0,860	0,675	1,274074
74,5000	0,840	0,650	1,292308
76,5000	0,800	0,575	1,391304
78,5000	0,760	0,525	1,447619
80,0000	0,740	0,525	1,409524
83,0000	0,720	0,525	1,371429
86,0000	0,700	0,500	1,4
88,5000	0,700	0,475	1,473684
91,5000	0,700	0,400	1,75
94,0000	0,680	0,400	1,7
95,5000	0,680	0,375	1,813333
97,5000	0,680	0,350	1,942857
100,5000	0,680	0,300	2,266667
102,5000	0,660	0,300	2,2
103,5000	0,660	0,275	2,4
104,5000	0,640	0,275	2,327273
105,5000	0,580	0,275	2,109091
107,0000	0,560	0,175	3,2
109,0000	0,540	0,175	3,085714
110,5000	0,540	0,150	3,6
112,0000	0,520	0,150	3,466667
114,5000	0,500	0,150	3,333333
117,5000	0,480	0,150	3,2

120,0000	0,460	0,150	3,066667
121,5000	0,440	0,125	3,52
123,0000	0,440	0,100	4,4
125,0000	0,420	0,100	4,2
126,5000	0,420	0,075	5,6
127,5000	0,400	0,075	5,333333
129,0000	0,380	0,075	5,066667
133,0000	0,360	0,075	4,8
138,5000	0,300	0,050	6
141,5000	0,260	0,050	5,2
142,5000	0,240	0,050	4,8
143,5000	0,220	0,050	4,4
147,0000	0,180	0,050	3,6
150,5000	0,160	0,050	3,2
156,0000	0,140	0,050	2,8
164,0000	0,120	0,050	2,4
171,5000	0,100	0,000	
177,0000	0,080	0,000	
180,5000	0,060	0,000	
192,0000	0,040	0,000	
204,0000	0,020	0,000	
208,0000	0,000	0,000	

EK 8. Elde edilen cut-off skorlarına göre human Hepcidin 'nın duyarlılık ve özgüllük değerleri

A'dan Büyük veya A'ya Eşitse Pozitif	Duyarlılık	1 - Özgüllük	LR
0,0640	1,000	1,000	1
1,1305	1,000	0,975	1,025641
1,2210	1,000	0,950	1,052632
1,3830	1,000	0,925	1,081081
1,5235	1,000	0,900	1,111111
1,5565	1,000	0,875	1,142857
1,6515	1,000	0,850	1,176471
1,7880	1,000	0,825	1,212121
1,8980	1,000	0,800	1,25
1,9480	1,000	0,775	1,290323
1,9715	1,000	0,750	1,333333
2,0235	1,000	0,725	1,37931
2,0810	1,000	0,700	1,428571
2,2565	1,000	0,675	1,481481
2,4175	1,000	0,650	1,538462
2,4280	1,000	0,625	1,6
2,5355	1,000	0,600	1,666667
2,6355	1,000	0,575	1,73913
2,6390	1,000	0,550	1,818182
2,6940	1,000	0,525	1,904762
2,7565	1,000	0,500	2
2,7850	1,000	0,475	2,105263
2,8200	1,000	0,450	2,222222
2,8535	1,000	0,425	2,352941
2,8845	1,000	0,400	2,5
2,9375	1,000	0,375	2,666667
2,9790	1,000	0,350	2,857143
3,0140	0,980	0,350	2,8
3,0850	0,980	0,325	3,015385
3,1440	0,980	0,300	3,266667
3,1650	0,980	0,275	3,563636
3,2740	0,980	0,250	3,92
3,4085	0,960	0,250	3,84
3,4615	0,960	0,225	4,266667
3,5710	0,940	0,225	4,177778
3,6985	0,920	0,225	4,088889
3,7765	0,920	0,200	4,6
3,8480	0,920	0,175	5,257143

3,8910	0,920	0,150	6,133333
3,9070	0,920	0,125	7,36
3,9625	0,920	0,100	9,2
4,0155	0,900	0,100	9
4,0765	0,880	0,100	8,8
4,1600	0,860	0,100	8,6
4,2260	0,860	0,075	11,46667
4,2840	0,860	0,050	17,2
4,3300	0,840	0,050	16,8
4,4330	0,820	0,050	16,4
4,5265	0,800	0,050	16
4,5705	0,780	0,050	15,6
4,6315	0,760	0,050	15,2
4,6635	0,740	0,050	14,8
4,7545	0,740	0,025	29,6
4,8965	0,720	0,025	28,8
4,9495	0,700	0,025	28
5,1080	0,700	0,000	
5,2665	0,680	0,000	
5,3965	0,660	0,000	
5,5595	0,640	0,000	
5,6160	0,620	0,000	
5,7255	0,600	0,000	
5,8500	0,580	0,000	
5,9235	0,560	0,000	
6,1485	0,540	0,000	
6,4945	0,520	0,000	
6,7095	0,500	0,000	
6,7950	0,480	0,000	
6,9355	0,460	0,000	
7,2055	0,440	0,000	
7,3905	0,420	0,000	
7,5250	0,400	0,000	
7,8330	0,380	0,000	
8,1580	0,360	0,000	
8,4230	0,340	0,000	
8,5980	0,320	0,000	
8,6315	0,300	0,000	
8,6375	0,280	0,000	
8,7985	0,260	0,000	
9,1210	0,240	0,000	
9,6250	0,220	0,000	
9,9805	0,200	0,000	
10,0290	0,180	0,000	
10,1960	0,160	0,000	

10,4435	0,140	0,000
10,5760	0,120	0,000
11,0975	0,100	0,000
11,6735	0,080	0,000
11,8635	0,060	0,000
12,0415	0,040	0,000
12,1325	0,020	0,000
13,1590	0,000	0,000



