



**AKCİĞER KANSERİ HASTALARININ SERUMLARINDA
GLUTATYON PEROKSİDAZ ENZİMİ, HİPOKSİ
İNDÜKLENEBİLİR FAKTÖR ALFA-1 VE DİĞER
BİYOKİMYASAL BELİRTEÇLERİN KLİNİK VE
BİYOKİMYASAL DEĞERLENDİRMESİ**

Marwah JAZMI ABDULWAHID AL-ASADI
Tıbbi Biyokimya Ana Bilim Dalı

Tez Danışmanı
Prof. Dr. Ahmet KIZILTUNÇ

Yüksek Lisans Tezi-2024



SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
Graduate School of Health Sciences

**AKCİĞER KANSERİ HASTALARININ SERUMLARINDA
GLUTATYON PEROKSİDAZ ENZİMİ, HİPOKSİ
İNDÜKLENEBİLİR FAKTÖR ALFA-1 VE DİĞER
BİYOKİMYASAL BELİRTEÇLERİN KLİNİK VE
BİYOKİMYASAL DEĞERLENDİRMESİ**

Marwah JAZMI ABDULWAHID AL-ASADI

**Tıbbi Biyokimya Ana Bilim Dalı
Yüksek Lisans Tezi**

**Tez Danışmanı
Prof. Dr. Ahmet KIZILTUNÇ**

ERZURUM

2024

İÇİNDEKİLER

İÇİNDEKİLER	I
TEŞEKKÜR	V
ÖZET	VI
ABSTRACT.....	VII
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	VIII
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	XI
TABLolar DİZİNİ	XII
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	4
2.1. Akciğer Kanseri	4
2.1.1. Epidemiyoloji.....	5
2.1.2. Akciğer Kanseri Türleri	5
2.1.2.1. Küçük Hücreli Dışı Akciğer Karsinomu	6
2.1.2.2. Küçük Hücreli Akciğer Karsinomu	7
2.1.2.3. Metastatik Kanserler	8
2.1.3. Akciğer Kanserinin Belirti ve Semptomları	8
2.1.4. Risk Faktörleri	9
2.1.4.1. Tütün.....	9
2.1.4.2. Asbest.....	11
2.1.4.3. Radon	11
2.1.4.4. Yerli Biyokütle Yakıtları	11
2.1.4.5. Hava Kirliliği	12
2.1.4.6. Diyet ve Beslenme	12
2.1.4.7. Radyasyon.....	13

2.1.4.8. Genetik Faktörler	13
2.2. Hipoksi-İndüklenebilir Faktörler (HIF'ler)	13
2.2.1. Hif-1 Yapısı	16
2.2.2. HIF-1 α Yolunun Düzenlenmesi.....	18
2.2.3. HIF'nin Belirli Hücresel Süreçlerdeki Rolü.....	19
2.2.3.1. Vasküler Büyüme ve Yeniden Şekillenme	19
2.2.3.2. Hücresel Metabolizma	20
2.2.3.3. HIF-1 α ve Akut İnflamasyonun Çift Yönlü İlişkisi.....	21
2.2.3.4. Apoptoz.....	22
2.3. Akciğer Kanseri ve HIF1- α	24
2.4. Reaktif Oksijen Türleri	25
2.4.1. Oksidatif Stres.....	28
2.5. Glutasyon Peroksidaz	28
2.5.1. Glutasyon Peroksidaz 1	29
2.5.1.1. GPX-1'in Mekanizmaları	31
2.5.1.2. Akciğer Kanseri ve GPx-1	32
2.6. Katalaz	33
2.7. Süperoksit Dismutazlar	34
2.8. Selenyum	35
2.9. Karaciğer Enzimleri	36
3. MATERYAL VE METOT.....	38
3.1. Materyal	38
3.1.1. Etik Kurul Onayı.....	38
3.1.2. Çalışma ve Kontrol Gruplarının Belirlenmesi	38
3.1.3. Numunelerin Toplanması ve Hazırlanması	39

3.2. Cihazlar /Malzeme/Kit Markası.....	39
3.3. Yöntem.....	42
3.3.1. Glutasyon Peroksidaz I Ölçümü.....	42
3.3.2. Reaktif Hazırlama	43
3.3.3. Deney Prosedürü.....	44
3.3.4. Hesaplamalar	45
3.3.5. Hipoksi-İndüklenebilir Faktör 1 Alfa	46
3.3.5.1. Deney Prensibi	46
3.3.5.2. Reaktif Hazırlama	47
3.3.5.3. Deney Prosedürü.....	48
3.3.5.4. Sonuçların Hesaplanması.....	49
3.4. İstatistiksel Analiz.....	49
4. BULGULAR.....	51
4.1. Hasta ve Kontrol Gruplarının Demografik Özellikleri	51
4.1.1. Yaş	51
4.1.2. Cinsiyet	51
4.1.3. Hastalarda Karaciğer Enzimleri Sonuçları	52
4.1.4. Akciğer Kanseri Hastalarının Metastaz Durumu.....	55
4.2. Hasta ve Kontrol Gruplarının Serum Glutasyon Peroksidaz 1 (GPX-1) Konsantrasyonları	55
4.3. Hasta ve Kontrol Gruplarının Serum HIF1- α Konsantrasyonları.....	56
4.4. Korelasyon	57
5. TARTIŞMA.....	60
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	73
KAYNAKLAR	74

EKLER	103
EK-1. ETİK BİLDİRİM VE İNTİHAL BEYAN FORMU.....	103
EK-2. ETİK KURUL ONAY FORMU	104



TEŞEKKÜR

Danışmanım Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Ahmet KIZILTUNÇ'a ve her aşamada bana destek olan Doç. Dr. Hilal KIZILTUNÇ ÖZMEN'e en içten şükranlarımı sunarım. Ayrıca, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı hocalarıma özel teşekkür ederim. Büyük yardımları için eşime, aileme ve meslektaşlarıma çok çok teşekkür ederim.

Marwah JAZMI ABDULWAHID AL-ASADI

ÖZET

Akciğer Kanseri Hastalarının Serumlarında Glutasyon Peroksidaz Enzimi, Hipoksi İndüklenebilir Faktör Alfa-1 ve Diğer Biyokimyasal Belirteçlerin Klinik ve Biyokimyasal Değerlendirmesi

Amaç: Bu çalışmada akciğer kanserli hastalarda glutasyon peroksidaz I (GPX I), hipoksi-indüklenebilir faktör-1 alfa (HIF-1 α) düzeylerini belirlemek ve GPX I ile HIF-1 α arasındaki korelasyonu araştırmak amaçlanmıştır.

Materyal ve Metod: Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'nun 06/07/2023 tarih ve 26 sayılı kararında akciğer kanseri tanısı ile bildirilen 60 kişi. (TC 1)'dir. Deneysel çalışmalar Atatürk Üniversitesi Klinik Biyokimya Anabilim Dalı Laboratuvarlarında gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmadaki gönüllüler kontrol grubu olarak 60 sağlıklı gönüllü ve ikinci grup olarak akciğer kanseri ile 60 hasta belirlendi.

Bulgular: Hastaların cinsiyeti, erkek ve kadın arasında istatistiksel olarak ($P \leq 0.05$) anlamlıydı. Erkek hastaların oranı (%95). Kadın hastaların oranı ise %5'tir. Hastaların yaşları gruplar arasında istatistiksel olarak ($P = 0.01$) anlamlıydı. 40-50 yaş grubundakilerin oranı (%10). 51-60 yaş grubundakilerin oranı ise %21,7'dir. 61-70 yaş grubundakilerin oranı (%46,6). Ayrıca 70> yaş grubunun oranı (%21,7) bulunmaktadır. Bulgular, GPx1 konsantrasyonunun hastalarda (63.493 ± 22.47) kontrol grubuna (240.701 ± 62.39) kıyasla önemli ölçüde ($P < 0.05$) azaldığını gösterdi. HIF1- α konsantrasyonu, kontrol grubuna ($1,374 \pm 0,59$) kıyasla hastalarda ($4,452 \pm 1,91$) anlamlı ($P = 0,05$) artış gösterdi. Akciğer kanseri hastalarının serum HIF1- α ile GPx-1 değerleri arasındaki ilişki incelendiğinde bu iki parametre arasında negatif korelasyon gözlemlendi ($r: -0,1058$; $p=0,05$). Akciğer kanseri hastalarının serum HIF1- α ile yaş değerleri arasındaki ilişki incelendiğinde bu iki parametre arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulundu ($r: 0,3918$; $p=0,05$). Akciğer kanseri hastalarının serum HIF1- α ile cinsiyet değerleri arasındaki ilişki incelendiğinde bu iki parametre arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunamadı ($r: 0,1226$; $p=0,05$).

Sonuç: Bu çalışmanın sonuçları, akciğer kanserli hastalarda HIF1- α düzeyleri ile bazı sosyo-demografik özellikler arasında bir ilişki olduğunu göstermiştir. Sonuçlar, yaş, cinsiyet ve sigara içmenin HIF1- α ile pozitif korelasyona sahip olduğunu, GPX-1 için ise HIF1- α ile negatif korelasyon gösterdiğini göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: Akciğer kanseri, GPX-1, HIF1- α , küçük hücreli dışı akciğer kanseri

ABSTRACT

Clinical and Biochemical Assessment of Glutathione Peroxidase Enzyme, Hypoxia Inducible Factor Alpha1 and Other Biochemical Markers in Sera of Patients with Lung Cancer Disease

Aim: The current study was aimed to estimate the levels of glutathione peroxidase I (GPx), hypoxia-inducible factor-1 alpha (HIF-1 α), and study the correlation between hypoxia-inducible factor-1 α and glutathione peroxidase I (GPx) in lung cancer patients.

Materials and methods: 60 subjects, reported for lung cancer in the Atatürk University Faculty of Medicine Clinical Research Ethics Committee's decision number 26 dated 06/07/2023. (TC 1). Experimental work was carried out at Laboratories of clinical biochemistry department, Atatürk University, Turkey. The volunteers in current study were divided as follow: 60 healthy volunteers as control group. 60 patents with lung cancer as a second group. 60 healthy volunteers as control group. 60 patents with lung cancer as a second group.

Results: The gender of patients, were significant statistically at ($P \leq 0.05$) between male and female. The percentage of male patients at (95%). Whereas, the percentage of female patients at (5%). The age of patients, were significant statistically at ($P = 0.01$) between groups. The percentage of 40-50 years' group at (10%). Whereas, the percentage of 51-60 years' group at (21.7%). The percentage of 61-70 years' group at (46.6%). Moreover, the percentage of 70> years group at (21.7%). The findings showed that GPx1 concentration demonstrated significant ($P < 0.05$) reduced in patients (63.493 ± 22.47) compared to control group (240.701 ± 62.39). HIF1- α concentration demonstrated significant ($P = 0.05$) elevated in patients (4.452 ± 1.91) compared to control group (1.374 ± 0.59). When the relationship between serum HIF1- α and GPx-1 values of lung cancer patients was examined, a negative correlation was observed between these two parameters ($r: -0.1058$; $p = 0.05$). When the relationship between serum HIF1- α and age values of lung cancer patients was examined, statistically significant relationship was found between these two parameters ($r: 0.3918$; $p = 0.05$). When the relationship between serum HIF1- α and gender values of lung cancer patients was examined, no statistically significant relationship was found between these two parameters ($r: 0.1226$; $p = 0.05$).

Conclusions: the results of the current study showed an association between HIF1- α levels and some Socio-demographic characteristics in lung cancer patients. The results show that age, gender and smoking has a positive correlation with HIF1- α , while for GPX-1 showed a negative correlation with HIF1- α .

Keywords: GPX-1, HIF1- α , lung cancer, non-small cell lung cancer

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

µg	: Mikrogram
µL	: Mikrolitre
°C	: Derece Celsius
AEC	: Alveolar epitel hücreleri
AhR	: Aril hidrokarbon reseptörü
ALI	: Akut akciğer hasarı
AM	: Alveolar makrofajlar
ARNT	: Aril Hidrokarbon Nükleer Yer Değiştirici
CAT	: Katalaz
cm	: Santimetre
EDTA	: Etilendiamintetraasetik asit
eNOS	: Endotelyal nitrik oksit sentaz
ETC	: Elektron taşıma zinciri
FOR	: Serbest oksijen radikalleri
g	: Gram
GDH	: Glutamat dehidrojenaz
GPx	: Glutasyon peroksidaz
GR	: Glutasyon redüktaz
GSH	: Glutasyon
H₂O₂	: Hidrojen peroksit
HDAC1	: Histon deasetilaz 1
HIF-1α	: Hipoksi ile indüklenebilir faktör-1 alfa
HO-1	: Hem oksijenaz-1
HRE	: Hipoksi tepki elemanı

IL-6	: İnterlökin-6
IPAS	: İnhibitör PAS
Kg	: Kilogram
L	: Litre
LC	: Akciğer Kanseri
LCC	: Büyük hücreli karsinom
LDCT	: Düşük Doz Siegel Bilgisayarlı Tomografi
LET	: Doğrusal Enerji Transferi
Mg	: Miligram
ml	: Mililitre
NF-κB	: Nükleer faktör kappa B
Ng	: Nano gram
NO	: Nitrik oksit
NOX	: NADPH oksidaz
NSCLC	: Küçük olmayan hücreli akciğer kanseri
O₂⁻	: Süperoksit radikalleri
ODD	: Oksijene bağlı bozunma
ODDD	: Oksijene bağımlı bozunma alanı
OH⁻	: Hidroksil radikali
PHD	: Prolil hidroksilaz
POD	: Peroksidaz
ROS	: Reaktif oksijen türleri
RT	: Radyoterapi
SCLC	: Küçük hücreli akciğer karsinomu
SDF	: Stromal kaynaklı faktör

SECIS	: Sn ekleme sırası
-SH	: Sülfhidril
SOD	: Süperoksit dismutaz
SSC	: Skuamöz hücreli karsinom
SST	: Serum ayırıcı tüpler
TAD	: Transaktivasyon etki alanları
TCA	: Trikarboksilik asit
VCAM-1	: Vasküler hücre adezyon proteini 1
VEGF	: Vasküler endotel büyüme faktörü
VHL	: Başlangıç Hippel–Lindau
WHO	: Dünya Sağlık Örgütü

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Şekil No</u>	<u>Sayfa No</u>
Şekil 2.1. Akciğer kanserinin nedenleri, nikotin bağımlılığı ve tütün dumanındaki toksinler.....	10
Şekil 2.2. Hipoksi indüklenebilir faktör (HIF) sistemi: prolil-4-hidrosilaz ile düzenleme (PHD).....	14
Şekil 2.3. bHLH-PAS ailesi ile ilgili proteinler için fonksiyonel alanlar	17
Şekil 2.4. HIF-1 α yol regülasyonunun diferansiyel miktarları.....	19
Şekil 2.5. GPX-1'in süperoksitleri uzaklaştırmak için enzimatik mekanizmaları	32
Şekil 2.6. Katalaz reaksiyonundaki adımlar: (a) ilk adım; (b) ikinci adım.	34
Şekil 3.1. Çalışmada kullanılan cihazlar	41
Şekil 3.2. Önerilen standart çözeltilerin seyreltilmesi	44
Şekil 3.3. GPX1'in Standart Eğrisi.....	45
Şekil 3.4. Standart çözeltilerin seyreltilmesi	47
Şekil 3.5. Hipoksi ile indüklenebilir faktör 1 alfa'nın (HIF1- α) standart grafiği.....	49
Şekil 4.1. Hastalarda karaciğer enzimlerinin aktivitesi.	52
Şekil 4.2. İncelenen gruplarda serum GPX-1 (U/ml) düzeyleri	56
Şekil 4.3. İncelenen gruplarda serum HIF1- α düzeyleri.....	57
Şekil 4.4. Akciğer kanseri hastalarında HIF1- α (ng/mL) ile yaş arasındaki korelasyon	58
Şekil 4.5. Akciğer kanseri hastalarında HIF1- α (ng/mL) ve GPX-1 (U/mL) arasındaki korelasyon	59
Şekil 4.6. Akciğer kanseri hastalarında GPx-1 ile yaş arasındaki korelasyon	59
Şekil 5.1. Radyasyon ve kimyasal onkolojik virüslerin etkileri ile GPX-1 ve HIF-1 α nın ilişkisi	72

TABLÖLAR DİZİNİ

<u>Tablo No</u>	<u>Sayfa No</u>
Tablo 2.1. Küçük hücreli dışı akciğer kanserinin alt tipleri	7
Tablo 3.1. Bu çalışmada kullanılan araçların listesi	40
Tablo 3.2. GPx-1 ve HIF1- α ölçümünde kullanılan kitler ve cihazlar.....	40
Tablo 3.3. GPX-1 testi için kullanılan reaktifler.....	43
Tablo 3.4. GPX-1 testi için önerilen standart çözeltilerin seyreltilmesi	43
Tablo 3.5. HIF1- α testi için kullanılan reaktifler	46
Tablo 3.6. HIF1- α testi için önerilen standart çözeltilerin seyreltilmesi.....	47
Tablo 4.1. Hasta ve kontrol grubunun yaş ortalaması.....	51
Tablo 4.2. Hastalarda örneklem çalışmasının cinsiyete göre dağılımı.....	51
Tablo 4.3. Hastalarda karaciğer enzimlerinin aktivitesi.....	52
Tablo 4.4. Akciğer kanserli hastalarda karaciğer enzimleri düzeyleri.....	53
Tablo 4.5. Akciğer kanserli hastaların metastaz durumları.....	55
Tablo 4.6. İncelenen gruplarda serum GPX-1 konsantrasyonu	55
Tablo 4.7. Çalışılan gruplarda serum HIF1- α konsantrasyonu	56
Tablo 4.8. Hasta ve kontrol gruplarının serum GPX-1 ve HIF1- α konsantrasyonları ...	57
Tablo 4.9. Çalışılan parametreler arasındaki korelasyonlar	58

1. GİRİŞ

Torre ve arkadaşlarına (Torre ve ark., 2015) göre, akciğer kanseri hem erkekler hem de kadınlar için küresel olarak kansere bağlı ölümlerin önde gelen nedenidir. Genellikle akciğer kanserlerinin çoğunluğuna (yaklaşık %85) küçük hücreli dışı akciğer kanseri (KHDAK) neden olur. Akciğer kanseri tedavisinin seyri, tümörün evresine, kanserin türüne (küçük ve küçük hücreli olmayan) ve hastanın genel sağlığına göre belirlenir. Evre III KHDAK olan hastalar, hastalıklarının şiddeti ve yeri açısından heterojendir (Silvestri ve ark., 2013). Klinik olarak fark edilebilir lenf nodu hastalığı olan hastaların çoğu, tam doz radyasyon tedavisini (RT) platin bazlı kemoterapi ile birleştiren eşzamanlı kemoradyoterapi ile tedavi edilir (Pless ve ark., 2015).

Akciğer kanseri, inflamasyon ve hipoksi ile karakterizedir. Hipoksi ile indüklenebilir faktör-1 alfa (HIF-1 α), akciğer kanserinin gelişimi, değerlendirilmesi ve prognozunda rol oynar. Aynı zamanda birkaç genin transkripsiyonu yoluyla anjiyogenez ve metastazı başlatır. Kemoterapötik ilaç direnci HIF-1 α ile ilişkilidir (Deben ve ark., 2018). Araştırmalara göre, sigara içmek akciğer kanseri gelişiminde etkilidir. Bu yolun oksidatif hasara karşı hücrel koruma potansiyeli, HIF-1 α üzerinde etkili olabilecek yöntemlerle araştırılmaktadır (Li ve ark., 2017; Lu ve ark., 2018). Bu sürecin ele alınmasının antimetastatik bir etkiye yol açabileceğine inanılmaktadır (Yoshikawa ve ark., 2017).

Son araştırmalar, HIF-1 α 'nın tümör saldırganlığı ile bağlantılı olabileceğini ve akciğer kanseri için prognostik bir faktör olabileceğini göstermiştir (Lin ve ark., 2017; Wohlkoenig ve ark., 2017; Yang ve ark., 2017). Akciğer kanseri hastalarının kemo-direnciyle bağlantılı olduğuna inanılmaktadır (Sowa ve ark., 2017). Araştırmalar, akciğer kanserinde tedavi direncinin hipoksiye yol açmasına ve glutamin metabolizması ile

karmaşık bir şekilde bağlantılı olduğunu ve hipoksiye bağlı glutamat dehidrojenaz (GDH) üretimi için HIF-1 α yükselmesinin gerekli olduğunu göstermiştir (Jiang ve ark., 2017).

Çok sayıda çalışma, oksidatif stres ile kanser gelişimi arasında bir bağlantı olduğunu göstermiştir. Reaktif oksijen türleri (ROS) DNA'da doğrudan veya dolaylı hasara ve gen mutasyonlarına neden olarak kanser gelişiminde rol oynarlar (An ve ark., 2016; Kondo ve ark., 1999; Sosa ve ark., 2013). Ayrıca, ROS ile anjiyogenez ve metastaz arasında bir ilişki belirlenmiştir (Sosa ve ark., 2013). Oksidatif stres oluşumuna karşı direnç, glutatyon peroksidaz (GPX), katalaz (CAT) ve süperoksit dismutaz (SOD) gibi antioksidan enzimler tarafından sağlanır (Brigelius-Flohé & Maiorino, 2013; Sosa ve ark., 2013).

Glutatyon redüktaz aktivitesi, enzim fonksiyonu için GSSG'den sabit bir GSH tedariki sağladığından, GPX-1 aktivitesi sıklıkla bu aktivite ile eşzamanlı olarak tartışılır. Crawford ve ark. (2000), GPX-1, akciğer ve diğer organların epitel dokularında eksprese edilir. Enzim, proteinlere, lipitlere ve DNA'ya oksidatif hasarı durdurmak için hidrojen ve lipid peroksidleri detoksifiye eden enzimatik antioksidan savunma sisteminin bir bileşenidir (Arthur, 2001)

GPX-1 en yaygın GPX izoformu olan ve 1973'te tanımlanan ilk selenoprotein'dir (Nirgude ve ark. (Nirgude & Choudhary, 2021)). GPX-1 öncelikle eritrositlerin, karaciğerin, akciğerlerin ve böbreğin sitozol ve mitokondrilerinde bulunan ve birden fazla organda yaygın olarak eksprese edilmektedir. Son zamanlarda birçok çalışma, GPX-1'in gen ekspresyonlarını ve biyokimyasal işlevlerini inceleyerek, tümörler de dahil olmak üzere çeşitli hastalıkların (Nöropsikiyatrik bozukluklar (Sharma ve ark., 2021), akciğer iltihabı (Vlahos & Bozinovski, 2013) ve metabolik hastalıklar (Huang ve ark., 2018)) ortaya çıkması ve ilerlemesindeki rollerini ortaya koymuşlardır.(Huang ve ark., 2018), Çok sayıda araştırma, GPX-1 gen varyantları ile kanser riskleri ve hasta sağkalımı

arasındaki karmaşık ilişkilerini ortaya konmuştur. Ayrıca, çoklu kanserlerde GPX-1'in anormal ekspresyonu, onkogenez ve kanserin ilerlemesi ile yakından ilişkilidir (Kipp, 2017).

Çalışmamızın amacı şu şekildedir;

- Akciğer kanseri hastalarında GPX-1 düzeylerinin tahmin edilmesi.
- Akciğer kanseri hastalarında HIF-1 α düzeylerini tahmin edilmesi.
- Akciğer kanseri hastalarında HIF-1 α ve GPX-1 arasındaki korelasyonun incelemesi.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. Akciğer Kanseri (AK)

Akciğer kanseri (AK), başlangıçta hiçbir belirti göstermeme eğiliminde olan ve genellikle geç tespit edilmesi nedeniyle, küresel olarak kansere bağlı ölümlerin önde gelen hastalıklarındandır (NaSiM, 2019). Histolojik alt tipe göre AK öncelikle iki büyük gruba ayrılır: küçük hücreli akciğer karsinomu (KHAK) ve küçük hücreli dışı akciğer karsinomu (KHDAK). Ancak tüm AK hastalarının %85'i KHDAK vakasıdır. Büyük hücreli karsinom, adenokarsinom ve skuamöz hücreli karsinom, küçük hücreli dışı akciğer kanserinin histolojik alt tipleridir. Bunlar arasında adenokarsinom tipi en sık görülen alt tiptir (Stapelfeld ve ark., 2020). Düşük Doz Bilgisayarlı Tomografi (DDBT) ile AK taramasının mortaliteyi azaltmada faydalı olduğu gösterildiğinden, kullanımı giderek genişlemektedir (NaSiM, 2019).

AK için düşük sağkalım oranının en önemli nedenlerinden biri tanı anındaki ileri evre ve tanının gecikmesidir. AK için en iyi tedavi yöntemi, etkili ve erken tanı, ayrıntılı etiyoloji, doğru zamanda ilaç seçimini söyleyebiliriz. Sonuç olarak, özellikle yeni biyobelirteç arayışının acil olduğu yüksek riskli popülasyonlarda AK'nin erken teşhisi çok önemlidir (Nooreldeen & Bach, 2021).

Adenokarsinom, skuamöz hücreli karsinom (SHK) ve büyük hücreli karsinom (BHK), küçük hücreli dışı karsinomun (KHDK) üç ana türüdür. Sonuç olarak, NSCLC'nin alt tipi tanımlanmıştır, ancak yalnızca sınırlı sayıda küçük biyopsi ve sitoloji örneği "NSCLC" adını korumaktadır. Nöroendokrin farklılaşma gösteren diğer kanserler KHAK'nin yanında yer almaktadır. Küçük biyopsiler ve sitoloji örnekleri için basitleştirilmiş sınıflandırma, adenokarsinomları diğer akciğer kanseri türlerinden ayırt etmeye odaklanarak bu değişikliğin nasıl yansıtıldığıdır. Rezeksiyon örneklerinde,

prognoz için önemli olan doku tiplerini belirlemek için daha kapsamlı histolojik alt tiplendirme kullanılmaktadır. (Brambilla ve ark., 2014; Brambilla ve ark., 2015).

2.1.1. Epidemiyoloji

Tüm kanser türleri arasında 18.4 ölüm oranı ile akciğer kanseri (AK) en sık teşhis edilen kanserdir ve kanser hastalıklarıyla ilgili tüm teşhislerin %11.6'sını oluşturmaktadır. Aynı zamanda her iki cinsiyet için de dünya çapında kansere bağlı ölümlerin önde gelen nedenidir (Oudkerk ve ark., 2021). Yapılan tahminlere göre ABD'de 236.740 yeni AK vakası olacak ve aynı durumdan 130.180 ölüm bekleniyor. AK riski yaşla birlikte artsa da, beşinci on yıldan önce vakalar nadirdir (Siegel ve ark., 2018).

Geçmişte, erkeklerin kadınlardan daha yüksek AK insidans oranlarına sahip olduğu biliniyordu ancak, bu eşitsizlik son zamanlarda kadınlarda insidans oranında bir artışa doğru bir kayma ile daralmıştır (MacRosty & Rivera, 2020). Son birkaç on yılda, hem erkeklerde hem de kadınlarda, adenokarsinom alt tipinin insidansı, skuamöz hücreli alt tipten daha hızlı artmıştır. Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ), 2004 yılından bu yana akciğer adenokarsinomunun histolojik alt tip listesinin en üstüne yükseldiğini bildirmektedir. Tütün kullanımının tarihsel modelindeki bu değişiklik, akciğer kanserindeki artışla bağlantılı olabilir. AK mortalite modelindeki cinsiyet çeşitliliği, tarih boyunca son 50 yılda tütün kullanımındaki farklılıkları göstermektedir (Schwartz & Cote, 2016).

2.1.2. Akciğer Kanseri Türleri

Akciğer tümörlerinin çoğu karsinomlar veya epitel hücrelerinden kaynaklanan kanserlerdir. Bir histopatolog tarafından mikroskop altında gözlenen kanserli hücrelerin büyüklüğüne ve görünümüne bağlı olarak, akciğer karsinomunun iki ana formu vardır: küçük hücreli akciğer karsinomu (% 16.8) ve küçük hücreli dışı akciğer karsinomu (% 80.4). Durumun prognozu ve klinik yönetimi, histolojik kriterlere dayanan bu sınıflandırmadan önemli ölçüde etkilenmektedir (Kabir ve ark., 2007).

2.1.2.1. Küçük Hücreli Dışı Akciğer Karsinomu (KHDAK)

Karşılaştırılabilir tedavi ve prognozlar nedeniyle, küçük hücreli dışı akciğer karsinomları birlikte sınıflandırılır. Skuamöz hücreli akciğer kanseri, adenokarsinom ve büyük hücreli akciğer karsinomu üç ana alt tiptir. Akciğer kanseri vakalarının %31,1'ini oluşturan skuamöz hücreli akciğer karsinomu (Morandi ve ark., 2006), tipik olarak merkezi bronşlara yakın başlar. Kanserin çekirdeğinde kavitasyon ve nekroz gözlemlemek tipiktir. Diğer kanser türleriyle karşılaştırıldığında, iyi diferansiye skuamöz hücreli akciğer tümörleri sıklıkla daha yavaş büyür (Veronesi ve ark., 2006).

Akciğer tümörlerinin %29,4'ü adenokarsinomdan kaynaklanmaktadır (Morandi ve ark., 2006; Sánchez-Mora ve ark., 2007). Genellikle, periferik akciğer dokusu başladığı yerdir. Sigara içmek, vakaların çoğunda adenokarsinom ile bağlantılıdır. Bununla birlikte, adenokarsinom, hiç sigara içmeyenler ("hiç sigara içmeyenler") arasında'da en yaygın akciğer kanseri türüdür (Subramanian & Govindan, 2007; Yoon & Gibson). adenokarsinomun bir alt tipi olan bronşioalveolar karsinom, hiç sigara içmeyen kadınlarda bile yaygındır ve tedaviye farklı yanıt verebilir. Büyük hücreli akciğer karsinomu, akciğer yüzeyine yakın bir yerde oluşan ve tüm akciğer kanseri vakalarının %10,7'sini oluşturan hızlı büyüyen bir türdür. Bu tür sıklıkla farklılaşmadan yoksundur ve hızla yayılır (Veronesi ve ark., 2006).

Küçük hücreli dışı akciğer kanserinin alt tipleri Tablo 2.1. 'de gösterilmiştir (Sha ve ark., 2019).

Tablo 2.1. Küçük hücreli dışı akciğer kanserinin alt tipleri

Histolojik alt tip		Tüm akciğer kanserlerinin sıklığı (%)
Skvamöz hücreli akciğer karsinomu		31.1
Adenokarsinom	Adenokarsinom (başka türlü belirtilmemiş)	23.2
	Bronşioalveoler karsinom	3
	Adenoskvamöz karsinom	1.2
	Papiller adenokarsinom	0.7
	Mukoepidermoid karsinom	0.1
	Adenoid kistik karsinom	0.04
	Diğer tanımlanmış adenokarsinom	1.1
Büyük hücreli karsinom		10.7
Dev hücreli ve iğsi hücreli karsinom		0.4
Diğer/tanımlanmamış küçük hücreli dışı akciğer karsinomu		8.9

2.1.2.2. Küçük Hücreli Akciğer Karsinomu (KHAK)

Yaygın olarak "yulaf hücreli karsinom" olarak bilinen küçük hücreli akciğer kanseri (KHAK) gelişme sıklığı daha düşüktür. Genellikle majör ve sekonder bronşlarda, daha büyük solunum yollarında başlar ve hızla önemli bir boyuta genişler. "Yulaf" hücrelerinde nöroendokrin hormonları tutan vezikülleri olan çok sayıda nörosekretuar granülün varlığı, endokrin sistem ile paraneoplastik hastalık arasında bir bağlantı olduğunu düşündürmektedir. Başlangıçta kemoterapiye daha duyarlı olmasına rağmen, prognoz sonuçta daha kötüdür ve ilk ortaya çıktığında sıklıkla metastaz yapar (Morandi ve ark., 2006).

İki tip küçük hücreli akciğer kanseri vardır: sınırlı evre ve geniş evre. Akciğer kanserinin bu özel formu yüksek bir sigara içme korelasyonuna sahiptir (Barbone ve ark., 1997).

2.1.2.3. Metastatik Kanserler

Vücudun diğer bölgelerinden gelen tümörler sıklıkla akciğere metastaz yapar. Bu malignitelerin oluşum yeri onları tanımlamak için kullanıldığından, meme kanserinden kaynaklanan bir akciğer metastazı hala meme kanseri olarak kabul edilir. Göğüs röntgeninde, sıklıkla tanınabilir küresel bir görünüme sahiptirler. Genel olarak, primer akciğer maligniteleri beyin, kemik, karaciğer ve adrenal bezlere yayılır (Seo ve ark., 2001).

2.1.3. Akciğer Kanserinin Belirti ve Semptomları

Akciğer kanserini düşündüren semptomlar şunları içerir (Hamilton ve ark., 2005):

- Dispne (nefes darlığı)
- hemoptizi (kan tükürme)
- kronik öksürük veya düzenli öksürük düzeninde değişiklik
- Hırıltı
- göğüs ağrısı veya karın ağrısı
- kaşeksi (kilo kaybı), yorgunluk ve iştahsızlık
- Disfoni (Kılık ses)
- tırnakların çomaklaşması (nadir)
- disfaji (yutma güçlüğü).

Kanserli büyüme hava yolunu tıkarsa solunum problemleri ortaya çıkabilir. Bu, tıkanıklığın arkasında sekresyonların birikmesine neden olarak hastayı pnömoni riskine sokabilir. Akciğer tümörleri genellikle bol miktarda kana sahiptir. Kanserlin yüzeyinin kırılma olması mümkündür, bu da hava yoluna akmasına neden olabilir. Bundan sonra,

bu kan öksürülebilir. Paraneoplastik semptomlar olarak adlandırılan semptomlar, tümörün tipine bağlı olarak ilk başta hastalığa dikkat çekebilir (Honnorat & Antoine, 2007).

Bu durumlar arasında akciğer kanseri vakalarında hiperkalsemi, uygunsuz antidiüretik hormon sendromu (SIADH) ve Lambert-Eaton miyastenik sendromu (oto-antikorlardan kaynaklanan kas güçsüzlüğü bulunur. Akciğerdeki apeksleri için adlandırılan pancoast tümörleri (Jones & Detterbeck, 1998), yerel sempatik sinir sistemini istila edebilir ve terleme düzenlerinin değişmesine, gözlerdeki kaslarla ilgili sorunlara (Horner sendromu olarak bilinir) ve brakiyal pleksusun invazyonundan kaynaklanan el zayıflığına neden olabilir.

Ateş, kilo kaybı ve kemik ağrısı gibi çok sayıda spesifik olmayan akciğer kanseri belirtisi, yaşlılarda eşlik eden hastalıklarla karıştırılabilir (Treat ve ark., 2002). Semptomlar ortaya çıktığında ve bir hasta tıbbi yardım istediğinde, çoğu durumda kanser asıl noktadan ilerlemiştir. Sırt ağrısı ve muhtemelen omurilik sıkışmasına neden olabilen beyin, karaciğer ve omurga yaygın metastaz bölgeleridir. Akciğer kanseri hastalarının %10'u tanı anında herhangi bir belirti göstermez; bu maligniteler rutin göğüs röntgenleri sırasında tesadüfen gözükür (Subramanian & Govindan, 2007).

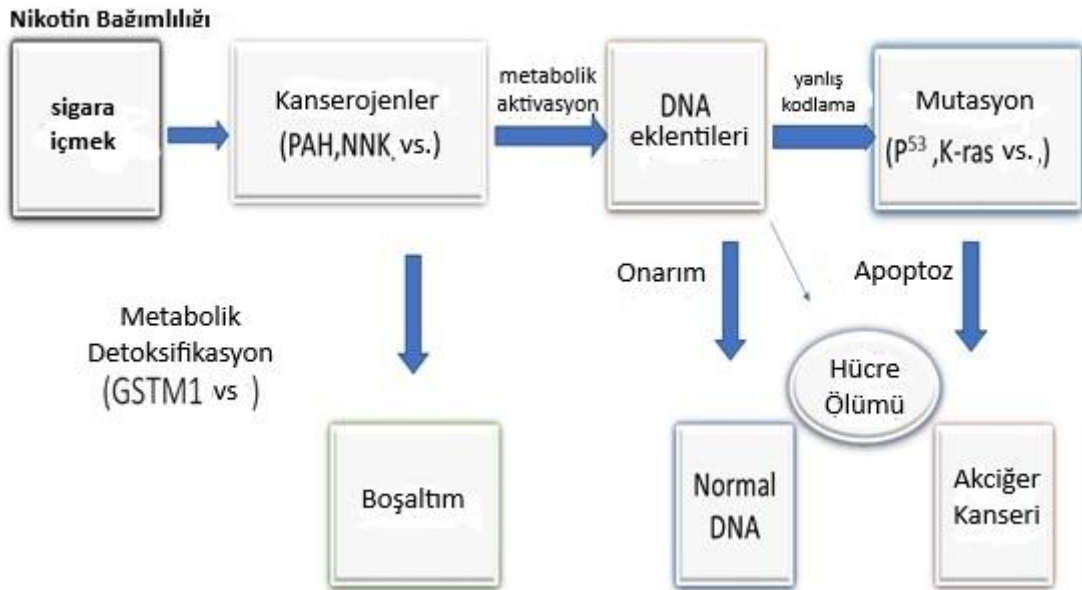
2.1.4. Risk Faktörleri

2.1.4.1. Tütün

Dünya çapında, sigara içmek AK'nin birincil nedeni olarak kabul edilmektedir ve artan AK oranları yaygın sigara bağımlılığı ile ilişkilendirilmiştir. Küresel olarak erkeklerde yeni AK oluşumlarının yaklaşık %80'i ve kadınlarda %50'si her yıl sigara içmekten kaynaklanmaktadır (Schwartz & Cote, 2016). Çok sayıda gösterge, doz-yanıt ilişkisi ve biyolojik nedensellik de dahil olmak üzere, sigara içme ve AK riski arasında nedensel bir ilişkinin varlığını güçlü bir şekilde desteklemektedir (Filner & Ost, 2008).

1950'lerden beri yapılan çok sayıda epidemiyolojik çalışma, ilacın akciğer dokusu üzerindeki zararlı etkilerini ortaya çıkardıktan sonra halk sağlığı tütünün kanserojen niteliklerinin farkına vardı (Şekil 2.1) (Metintaş, 2023).

Sürekli sigara içenler, hiç sigara içmeyenlere göre 20-50 kat daha yüksek bir riske sahiptir ve AK riskinin en önemli belirleyicilerinden biri sigara içme süresidir. Bu nedenle, AK riskini azaltmak için, gençler de dahil olmak üzere her yaştan sigara içicisine sigarayı bırakmada yardımcı olabilecek sigara karşıtı girişimler gibi bazı etkili müdahaleler uygulanmalıdır (Malhotra ve ark., 2016). Bir çalışma'da, filtreli sigara içmenin emilen katran miktarını azaltırken tüketilen nitrozamin miktarını artırdığını buldular, bu da bunun skuamöz hücreli karsinomdan adenokarsinoma patolojik geçişte önemli bir unsur olduğunu düşündürdü (Stellman ve ark., 1997).



Şekil 2.1. Akciğer kanserinin nedenleri, nikotin bağımlılığı ve tütün dumanındaki toksinler.

Sigara içenlerin birincil nikotin bağımlılığı, sigarayı bırakmalarını engeller. Tütün dumanı partikül maddesinde bulunan nitrozaminler ve polisiklik aromatik hidrokarbonlar gibi akciğer kanserine özgü birçok kanserojen, salınmadan veya eklentiler oluşturmak

için DNA'ya bağlanmadan önce sindirilmelidir. DNA'nın eklenmesi apoptozu onarabilir veya tetikleyebilir. P53 veya RAS gibi önemli genlerdeki yanlış kodlanmış mutasyonlar devam ederse, genomik kararsızlığa yol açabilir ve bu da daha sonra fazla mutasyon hasarına ve nihayetinde kansere neden olabilir.

2.1.4.2. Asbest

Asbest AK'de en iyi bilinen mesleki nedenlerinden biri, 1800'lerin sonlarından sonra inşaat da dahil olmak üzere ticari uygulamalar için yaygın olarak kullanılan, dirençli ve yangına dayanıklı, doğal olarak oluşan lifli bir yapıdır. İçinde olan iki ana lif formu: serpantin ve amfibol'dur. Asbest lifleri sadece AK'e neden olmakla kalmaz, aynı zamanda asbestoz, interstisyel akciğer hastalığı ve tipik olarak plevral efüzyon olarak kendini gösteren plevral hastalık gibi diğer ciddi akciğer rahatsızlıklarını da indükleyebilir. Krizotil ve amfibolün her ikisi de interstisyel akciğer hastalığına neden olma potansiyeline sahipken, amfibol daha fibrojeniktir (Cruz ve ark., 2011).

2.1.4.3. Radon

İnert, tatsız ve renksiz radyoaktif gaz radonu radyumdan üretilir ve solunum epitelinin hücre DNA'sına zarar veren yüksek enerjili alfa parçacıkları açığa çıkarır. Organizmaların yaşamları boyunca maruz kaldıkları radyasyonun yaklaşık %50'si bu kaynaktan gelmektedir. Radon, sigaradan sonra AK'nin en yaygın ikinci nedeni olarak kabul edilmektedir ve ABD'de AK nedeniyle yaklaşık 20.000 ölüme neden olmaktadır (Lorenzo-Gonzalez ve ark., 2019). Sigara ve radon, AK riskini artırmak için birlikte çalışır (Silvestri ve ark., 2009).

2.1.4.4. Yerli Biyokütle Yakıtları

Dünya nüfusunun yaklaşık yarısı, özellikle Güney Asya'da, evlerinde yemek pişirmek ve ısıtmak için odun, kömür ve tarım artıkları gibi işlenmemiş biyokütle yakıtları kullanıyor. İç mekan emisyonları nedeniyle evler'de, benzen ve polisiklik

aromatik hidrokarbonlar gibi çeşitli kanserojen maddeler gözüktür (Barta ve ark., 2019). Bazı araştırmalara göre, biyokütle yakıtlarının kullanılması AK riskini artırmaktadır. Ayrıca, katı olmayan yakıt kullanıcılarıyla karşılaştırıldığında, Asya'daki kömür kullanıcılarının birleştirilmiş bir analizi, 4.93 kat daha yüksek AK insidansı (%95 AK: 3.73-6.52) göstermiştir (Hosgood III ve ark., 2010).

2.1.4.5. Hava Kirliliği

AK için iyi bilinen önemli bir risk faktörü, fabrikalardan ve arabalardan uzun süreli duman tahliyesinin neden olduğu hava kirliliğidir (Raaschou-Nielsen ve ark., 2010). Ekolojik araştırmalar, AK örneklerinin neredeyse yarısının şehirlerde gerçekleştiğini göstermiştir. Bu, kırsal bölgelerle karşılaştırıldığında, metropol alanların otomobillerden ve endüstriyel kaynaklardan gelen duman hacmi nedeniyle daha yüksek hava kirliliği seviyelerine sahip olması nedeniyle daha olasıdır. Bir dizi kohort ve vaka kontrol çalışması, AK ile hava kirliliği arasında güçlü bir korelasyon olduğunu ortaya koymuştur (Yorifuji ve ark., 2010).

2.1.4.6. Diyet ve Beslenme

İnsan diyetlerinin hem mutajenik hem de antimutajenik bileşenler içerdiği yaygın olarak kabul edilmektedir. Batı ülkelerinde yağ ve sodyum oranı yüksek işlenmiş gıdalar tüketilmekte, bu da sağlıksız vücut koşullarının teşvik edilmesine yol açmakta ve bu popülasyonda kansere bağlı ölümlerin üçte birini oluşturmaktadır (Franken ve ark., 2012). Kanser türlerinin yaklaşık %30'unun diyetten kaynaklandığı tahmin edilmektedir. AK riskinin turpgillerden sebzelerle ters orantılı olduğu keşfedilmiştir (Büchner ve ark., 2010; Lam ve ark., 2010). Uzun zamandır beta-karoten ve retinol gibi bazı özel mikro besinlerin antikanserojen özelliklere sahip olduğuna inanılmaktadır (Peto ve ark., 1981). Çok sayıda araştırma, vitamin alımının ve serum vitamin düzeylerinin AK riski

üzerindeki etkisini değerlendirmiştir. Kalsiyum alımının hem sigara içen hem de içmeyenlerde AK riskini azalttığı gösterilmiştir (Mahabir ve ark., 2010).

2.1.4.7. Radyasyon

İyonlaştırıcı radyasyona maruz kalan popülasyonlar üzerindeki etkilerini değerlendiren çalışmalara göre, iyonlaştırıcı radyasyonla bağlantılı en yaygın kanser türlerinden biri akciğer kanseridir (LC). X-ışınları gibi düşük doğrusal enerji transferi (LET) radyasyonu ve nötronlar gibi yüksek LET radyasyonu, enerji transfer hızına bağlı olarak LC'ye bağlı iki radyasyon şeklidir. Yüksek LET radyasyonu, düşük LET radyasyonundan daha yüksek yoğunlukta iyonlaşmaya neden olduğundan, eşit dozlarda bile daha büyük doku hasarına neden olabilir (Alberg ve ark., 2013).

2.1.4.8. Genetik Faktörler

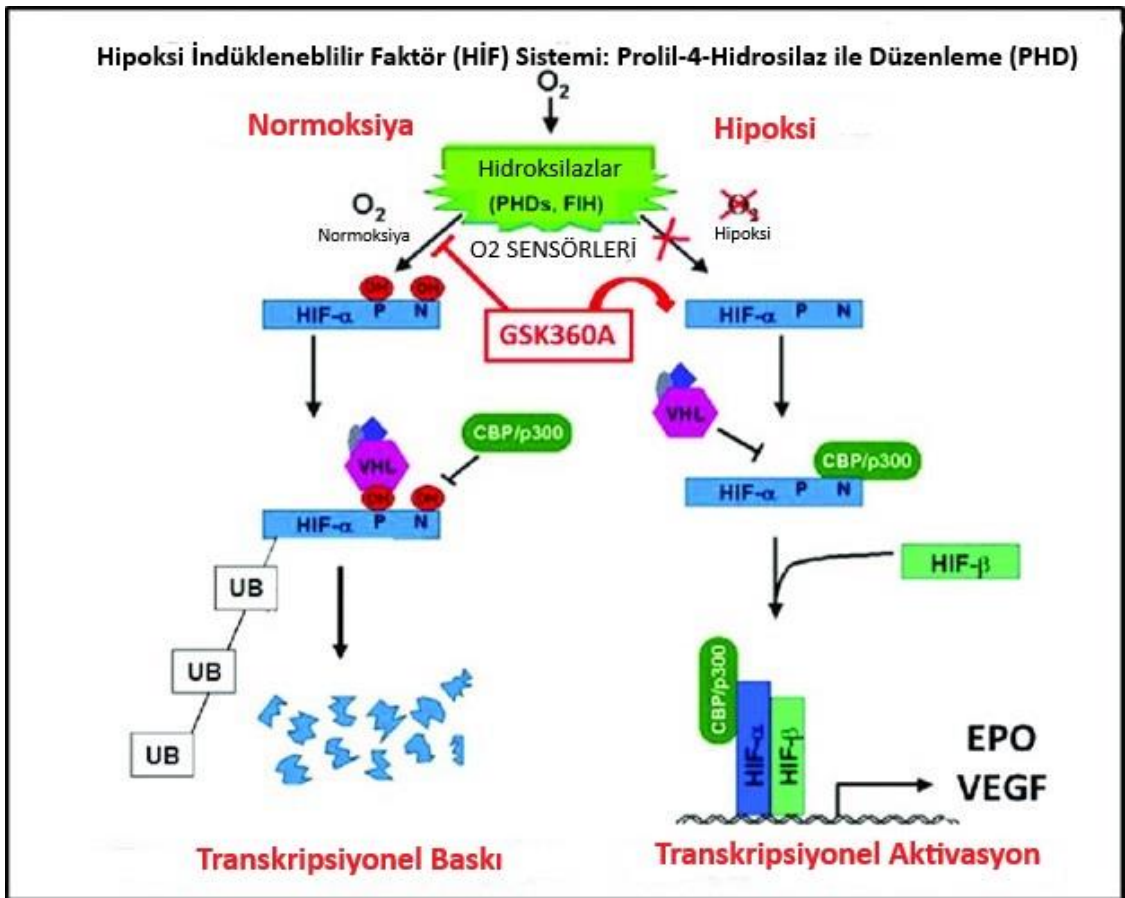
Çok sayıda çalışma, sigara ve diğer çevresel değişkenlerin akciğer kanseri vakalarının %80'inden fazlasını oluşturduğunu göstermektedir. Tersine, genetik yatkınlığın AK vakalarının %20'sinden daha azını oluşturduğuna inanılmaktadır (Coté ve ark., 2012) AK riskinin artmasına katkıda bulunan genetik değişkenler hakkında araştırma yetersizliği vardır. AK hastalarının birinci derece akrabalarında sigara içimi kontrol edildikten sonra AK riski yüksektir (Coté ve ark., 2012).

2.2. Hipoksi-İndüklenebilir Faktörler (HIF'ler)

Hipoksiye adaptif yanıtın birincil düzenleyicisi, hipoksi ile indüklenebilir faktörler (HIF'ler) olarak bilinen nükleer transkripsiyon faktörleri ailesidir. HIF-1, HIF-2 ve HIF-3'ü içeren bu transkripsiyon faktörleri, eritropoez, metabolizma, anjiyogenez ve diğer hipoksik adaptasyonlarla ilgili çeşitli genlerin transkripsiyonunu düzenler. HIF-1 alfa ve HIF-1 beta alt birimleri birleşerek hipoksi ile indüklenebilir faktör 1 (HIF-1) oluşturur. Oksijene bağlı bozunma (ODD) alanındaki prolin kalıntılarının dioksijenaz prolin hidroksilaz (PHD) tarafından hidroksilasyonu (Jaakkola ve ark., 2001) (Şekil 2-2), her

üç HIF için de oksijen algılamının temelidir. PHD'ler, kataliz için bir demir kofaktörüne ihtiyaç duyduklarından hücre içi demir için sensör görevi görür (Xu ve ark., 2017).

Ayrıca, prolin kalıntısı hidroksilasyonu, Von Hippel-Lindau (VHL) içeren E3-ligaz kompleksinin ve müteakip proteazom bozunmasının tanınması için bir etkileşim iskelesi olarak işlev görür; Öte yandan, asparagin kalıntısı hidroksilasyonu, siklik adenosin monofosfat yanıt elemanı bağlayıcı proteinin (p300/CBP) ve Histon asetiltransferaz p300'ün alımını inhibe eder (Lando ve ark., 2002).



Şekil 2.2. Hipoksi indüklenebilir faktör (HIF) sistemi: prolil-4-hidroksilaz ile düzenleme (PHD)

Şekil 2.2. Normoksi altında, hidroksilazlar, bir ko-substrat olarak oksijen kullanarak HIF-α üzerindeki belirli prolin (P) ve asparaginil (N; N; FIH yoluyla) amino asit kalıntılarının hidroksilasyonunu katalize eder. HIF, PHD tarafından prolin

hidroksilasyonu yoluyla yıkım için işaretlenmiştir (ubikitinasyon (UB), VHLE3 ubikitin ligaz (VHL) etkileşiminden kaynaklanır ve daha sonra ubikitin-proteazom yolu hızlı bozulmaya neden olur). HIF- α karboksi-terminal aktivasyon alanının korunmuş asparaginil kalıntı hidroksilasyonu, DNA ve HIF- α 'ye bağlanmak için gerekli olan CBP / p300 transkripsiyonel ko-aktivatörü ile etkileşimi de önler. Sonuç olarak, HIF- α hasar görür ve HIF sistemi normoksi altında "transkripsiyonel baskı" yaşar. PHD'ler ve FIH hipoksik ortamlarda baskılanır. VHL, proteinin hidroksillenmemiş formlarına bağlanmazsa HIF- α parçalanmaz. Koaktivatör CBP / p300'ün hidroksillenmemiş HIF- α , HIF- β ve DNA'ya bağlanmasını takip eden HIF sistemi "Transkripsiyonel Aktivasyon", çok çeşitli hedef genlerin ekspresyonunu daha da yukarı düzenler. Bu hedef genlerin artan ekspresyonu anjiyogeneze yol açar (örneğin, vasküler endotelyal büyüme faktörü; VEGF) ve kırmızı kan hücresi sentezi (örneğin, eritropoietin; EPO), serbest radikallerin temizlenmesi ve kök hücrelerin hedeflenmesi ve farklılaşması. PHD'leri baskılayarak, HIF transkripsiyonel aktivasyonuna neden olarak, EPO ve VEGF hedef genlerinin ekspresyonunu yukarı regüle ederek ve EPO ve VEGF proteinlerinin sentezini artırarak GSK360A hipoksiyi taklit eder (Schofield & Ratcliffe, 2004).

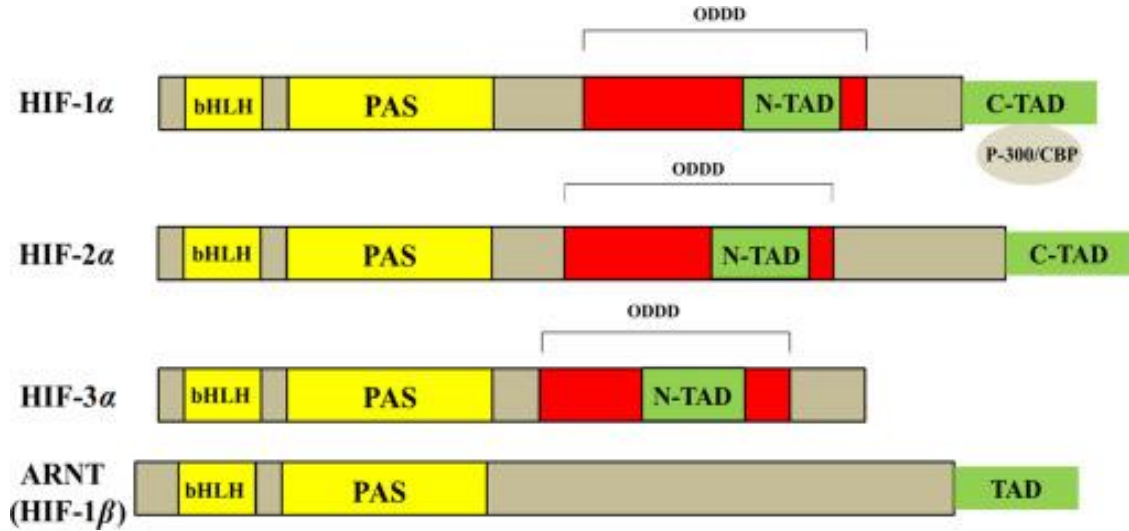
HIF'ler, hipoksi varlığında stabilize edilir ve çekirdeğe translokasyona taşınır, burada aril hidrokarbon nükleer translokator (ARNT) olarak da adlandırılan HIF-1 β ile heterodimerize olurlar (Stolze ve ark., 2002). HIF'ler, hipoksi varlığında stabilize edilir ve çekirdeğe translokasyona taşınır, burada aril hidrokarbon nükleer translokator (ARNT) olarak da adlandırılan HIF-1 β ile heterodimerize olurlar (Stolze ve ark., 2002). P300 / CBP kompleksi ve diğer ko-aktivatörlerle birlikte, bu heterodimer kompleksi, hedef promotörlerin hipoksi yanıt elemanı (HRE) içinde bulunan çekirdek DNA dizisi 5' - TACGTG-3' 'e bağlanır. Shimoda ve Semenza'ya (2011) göre, HIF-1 α , inflamatuvar akciğer hasarının patofizyolojisinde en sık yer alan izoformdur. Hedef promotörlerin

HRE'sinde bulunan çekirdek DNA dizisine bağlanır ve anjiyogenez ve inflamasyon gibi çeşitli süreçlerde yer alan 200'den fazla geni aktive eder (Semenza, 2014).

2.2.1. HIF-1 Yapısı

Transkripsiyon faktörü HIF-1 heterodimeriktir ve iki alt birimden oluşur: HIF-1 α (veya analogları HIF-2 α ve HIF-3 α) ve HIF-1 β . Hipoksik ortamlar, oksijene duyarlı bir alt birim olan HIF-1 α üretimini indükler. HIF-1 β ise yapısal olarak ifade edilir. HIF-1 β , HIF-1 α 'dan önce keşfedildiğinden ve aril hidrokarbon reseptörünün (AhR) heterodimerik bir ortağı olduğu bulunduğu bulundugundan, aril hidrokarbon nükleer translokatorü (ARNT) olarak da bilinir. AhR'nin çekirdeğe translokasyonu, HIF-1 β 'nın ona bağlanmasıyla kolaylaştırılır (Wang ve ark., 1995). Bu iki bileşen bHLH-PAS protein ailesinin üyeleridir, çünkü (Jiang ve ark., 1996), Drosophila'da bulunan ve bazik-sarmal-döngü-sarmal (bHLH) motifine sahip iki nükleer protein (Per ve Sim, PAS) ile yapısal benzerlikleri paylaşırlar (Şekil 2.2).

bHLH proteinlerinin tanımlanabilir alanları (b, HLH, PAS ve TAD), hem kendi transkripsiyonlarını hem de diğer aile üyelerinin ekspresyonunu kontrol etmelerini sağlar. Genel olarak konuşursak, bHLH-PAS motifleri, hedef genler üzerindeki HRE-DNA dizisine bağlanmak ve HIF-1 α ve HIF-1 β alt birimleri arasında heterodimer oluşumu için gereklidir. Baz alanlarının, HRE'yi gen üzerinde bağlamak için gerekli DNA bağlanma yeteneklerine sahip olduğu, HLH motifinin ise diğer proteinlerle dimerizasyon bölgesi olduğu keşfedildi. Dikkat çekici bir şekilde, PAS'ın bu protein ailesinin tüm üyeleri (HIF-1 α , ARNT, AhR ve PAS) tarafından paylaşılan ve diğer tüm protein sınıflarında bulunmayan tek alan olduğu keşfedildi.



Şekil 2.3. bHLH-PAS ailesi ile ilgili proteinler için fonksiyonel alanlar (bHLH, PAS, TAD). HIF-1α ve HIF-2α, yüksek derecede amino asit dizisi benzerliklerini paylaşıyor ve her ikisinin de iki farklı TAD'si vardır (C-TAD ve N-TAD). Buna karşılık, HIF-3α sadece N-TAD'ye sahiptir

bHLH-PAS ailesi ile ilgili proteinler için fonksiyonel alanlar Şekil 2.3.'de gösterilmiştir (Georgina ve Wei 2015).

NH₂-terminali (N-TAD) ve COOH-terminali (C-TAD) transaktivasyon alanları (TAD'ler) HIF-1α alt biriminde bulunur. HIF-1α'nın transkripsiyonel aktivitesi bu iki alana atfedilir (Li ve ark., 1996). Hipoksi olduğunda, C-TAD, HIF-1α geninin transkripsiyonunu değiştirmek için CBP / p300 gibi ko-aktivatörlerle etkileşime girer. HIF-1α'nın bozunmaya karşı stabilizasyonu N-TAD'ye atfedilir. Ayrıca, her HIF-α alt birimi, yapılarının hepsinin N-TAD ile örtüşen oksijene bağlı bir bozunma alanına (ODDD) sahip olması bakımından HIF-1β'dan farklıdır. O₂ düzenlemesinin kararlılığına, Şekil 2-2'de görüldüğü gibi bu ODDD alanı aracılık eder. HIF-α'nın yakından ilişkili olduğu bilinen üç izoformu vardı: HIF-1α, HIF-2α ve HIF-3α (Bruick & McKnight, 2001).

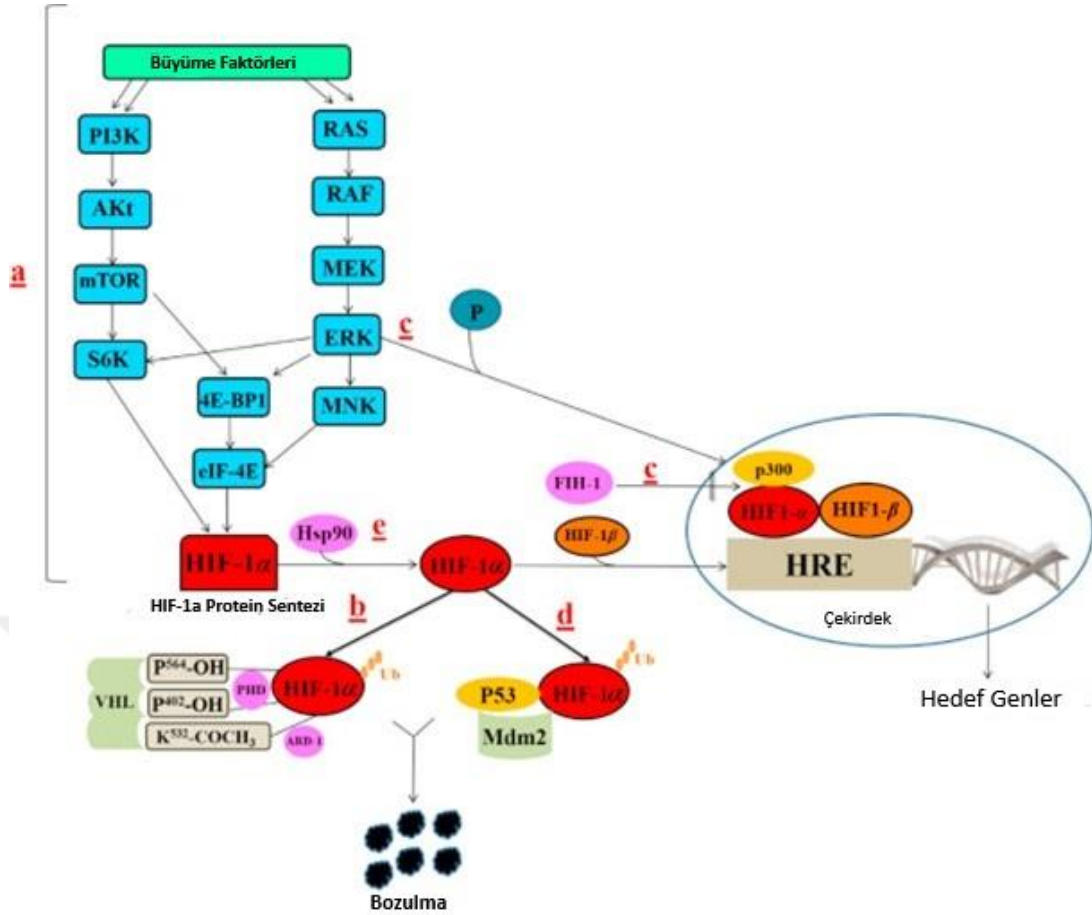
HIF-2α, HIF-3α'nın aksine, HIF-1α (%48 dizi benzerliği) ile kayda değer derecede amino asit dizisi benzerliği sergiler. Benzer kimlikleri, HRE'lerle bağlantı kurma ve HIF-1β ile hetero-dimerize olma konusundaki ortak yeteneklerini açıklayabilir. HIF-1α ve HIF-2α'nın doku dağılım modellerinin farklı olduğunu belirtmek ilginçtir. Vücut HIF-1α'yı yaygın

olarak eksprese ederken, HIF-2 α ekspresyonu belirli dokularla daha sınırlıdır. HIF-3 α 'nın eklenmiş bir versiyonu olan inhibitör PAS'ın (IPAS) tanımlanmasından önce, HIF-3 α hakkında hiçbir şey bilinmiyordu. HIF-1 α ve HIF-2 α 'nın C-TAD'si ile karşılaştırıldığında, bu alan hiçbir içsel transaktivasyon aktivitesi göstermez ve HIF-1/DNA bağlanma yeteneği üzerinde baskın-negatif kontrol olarak işlev görür (Makino ve ark., 2001).

2.2.2. HIF-1 α Yolunun Düzenlenmesi

HIF-1 α proteininin konsantrasyonunun ve aktivitesinin, hücreler içindeki yaşam döngüsünün çeşitli aşamalarında kontrol edildiği keşfedildi. HIF-1 α , O₂ seviyelerinden bağımsız olarak birçok büyüme faktörü ve diğer sinyal moleküllerini içeren bir dizi sinyal olayı tarafından yapısal olarak kopyalanır ve üretilir (Şekil 2-3). Normoksik koşullar altında, HIF-1 α hızlı bir şekilde bozunur ve tipik olarak sadece beş dakikalık nispeten kısa bir yarı ömre sahiptir (Salceda & Caro, 1997). Tersine, hipoksik koşullarda, hidroksilasyon, asetilasyon, ubiquitinasyon ve fosforilasyon süreçlerini içeren ulusötesi sonrası değişiklikleri içeren bir dizi mekanizmanın HIF-1 α stabilitesini ve transkripsiyonel aktivitesini yönettiği gösterilmiştir (Kallio ve ark., 1997).

HIF-1 α yol regülasyonunun diferansiyel miktarları Şekil 2.4.'de gösterilmiştir (Georgina ve Wei 2015).



Şekil 2.4. HIF-1 α yol regülasyonunun diferansiyel miktarları Ras / Raf / MEK: Sıçan sarkomu / hızlı hızlandırılmış fibrosarkom / MAPK / ERK kinaz; (a) Büyüme faktörleri ile ilişkili yollar; (b) pVHL ile ilgili yollar; (c) FIH-1 yolu; (d) Mdm2-p53 aracılı ubiquitinasyon ve proteazomal bozunma yolu; (e) Hsp90. Bu yollar, HIF-1 α aktivitesini (e, c) kontrol etmek için HIF-1 α sentezini (a), stabiliteyi (b, d, e) veya transaktivasyonu (HIF-1 α) kontrol eder

2.2.3. HIF'nin Belirli Hücresel Süreçlerdeki Rolü

2.2.3.1. Vasküler Büyüme ve Yeniden Şekillenme

Oksijen dağıtımında yer alan genler, HIF'ler tarafından yukarı regüle edilir. Hipoksik dokularda teşvik edilen hızlı anjiyogenez ve vaskülarizasyon bu etkinin tezahürleridir. Arteriyel damar sistemini oluşturan üç katman vardır. Endotel hücreleri, tunika intima olarak bilinen en derin tabakayı oluşturur. (J. Li ve ark., 2019), tunika intimadaki hipoksi hipertrofi ve subendotelyal ödemlere neden olur. Daha yüksek endotelyal hücre bariyeri geçirgenliği, belki de aktin lifi modifikasyonlarının ve pro-

mitojenik ve vazokonstriktif maddelerin daha yüksek salgılanmasının bir sonucu olarak hipoksik stresle de ilişkilendirilmiştir. Prototipik pro-mitojenik faktör vasküler endotel büyüme faktörü (VEGF), hipoksiye yanıt olarak alveolar makrofajlar ve alveolar epitel hücreleri (AEC) gibi hem endotelyal hem de endotel olmayan hücreler tarafından salınan güçlü bir anjiyojenik ajandır (Kouvaras ve ark., 2019; J. Li ve ark., 2019). Endotel hücreleri, kök hücreleri hipoksik ve vaskülarize bölgelere çeken HIF-1 α regülasyonuna yanıt olarak stromal kaynaklı faktör (SDF)-1 üretir (Gras ve ark., 2016).

Son araştırmalara göre, HIF'ler, vasküler yeniden şekillenme ve vazokonstriksiyonda rol oynayan endotelin-1 ve trombospondin-1 faktörlerinin salınımında da rol oynayabilir (Gras ve ark., 2016; Labrousse-Arias ve ark., 2016). Ayrıca, HIF'ler çeşitli akciğer hasarı ve kalıcı hipoksi senaryolarında alveolarizasyonu ve vasküler yeniden şekillenmeyi destekler (Choi ve ark., 2015; Vadivel ve ark., 2014). Ek olarak, monositik soy hücrelerinin ve interlekin-6 (IL-6) gibi inflamatuvar sitokinlerin akışının, bu değişiklikleri indüklemek için hipoksi ile uyum içinde çalıştığı gösterilmiştir (Epelman ve ark., 2014).

2.2.3.2. Hücresel Metabolizma

HIF'ler oksijene bağımlı süreçleri kısıtlayarak metabolizmayı glikolitik yoldan aşağı yönlendirir. Bir zamanlar oksijen sınırlı olduğu için glikolitik yolun hipoksik ortamlarda kullanıldığı düşünülüyordu. Bununla birlikte, araştırmalar HIF-1 α 'nın hipoksiye (%1 O₂) maruz kaldığında oksidatif fosforilasyonu tamamlayamadığını göstermektedir. Reaktif oksijen türleri (ROS) seviyeleri çok yüksek olduğunda, bu hücreler sonunda apoptoz yaşarlar. Özellikle, HIF'ler, bir elektron taşıma zinciri (ETC) sonucu olan ROS oluşumunu azaltır. Warburg etkisi, HIF sinyalleme tarafından teşvik edilen aerobik glikoliz reaksiyonuna verilen isimdir (Li ve ark., 2019; Samanta & Semenza, 2017).

Glikolitik enzimler aldolaz A, fosfoglisarat kinaz 1, enolaz 1, fosfofruktokinaz 2 ve piruvat kinaz, hipoksiye yanıt olarak HIF tarafından yukarı regüle edilir ve bu enzimlerin hepsinin promotör bölgelerinde HRE'lere sahip olduğu keşfedilmiştir (Rodríguez-Prados ve ark., 2010). HIF-1 α ayrıca laktat dehidrojenaz ve piruvat dehidrojenaz kinazın aktivitesini artırır. Hipoksik koşullar altında, HIF-1 α , glikolizi daha da teşvik etmek için çok önemli bir glikoz taşıyıcısı olan GLUT1'i yukarı regüle eder (Tibboel ve ark., 2015). Ek olarak, immünojenik bir uyarana yanıt olarak, inflamasyonun α -glukan reseptörü dektin-1 tarafından düzenlenen AKT-mTOR-HIF-1 α yolunun aerobik glikolize dönüşmesine neden olabileceği gösterilmiştir (Cheng, 2014). Ayrıca, Eckle ve meslektaşları, ventilatör kaynaklı akut akciğer hasarı (ALI) modellerini kullanarak, HIF-1 α 'nın normoksida bile stabilize edildiğini, akciğer hasarının ilerlemesini durdururken trikarboksilik asit döngüsünü (TCA) ve glikolizi desteklediğini gösterdi (Eckle ve ark., 2013). Süksinat ve fumarat, HIF-1 α aktivitesini stabilize ederek PHD aktivitesini inhibe eder. (Tannahill ve ark., 2013), süksinat, IL1 β 'nin aracılık ettiği akut inflamasyonun önemli bir düzenleyicisidir ve özellikle makrofajlarda HIF-1 α 'yı stabilize eder. Ağır yaralı travma hastalarında süksinatın plazma düzeyinin mortaliteyi öngördüğü gösterilmiştir. Son olarak, HIF'ler mitokondriyal biyosentezi aşağı regüle ederken mitofajiği artırır (D'alessandro ve ark., 2017).

2.2.3.3. HIF-1 α ve Akut İnflamasyonun Çift Yönlü İlişkisi

Enflamasyon ve hipoksi arasındaki ilişki yaygın olarak kurulmuştur. Nükleer faktör kappa B (NF- κ B), hipoksiye ek olarak HIF-1 α 'yı aktive eden önemli bir faktördür. Bu transkripsiyon faktörü, NF- κ B inhibitörleri olan IKK α ve IKK β kinazlar tarafından düzenlenir. Bu kinazlar, hipoksik ortamlarda meydana gelen fosforile edildikten sonra parçalanmasına ve NF- κ B'nin salınmasına neden olan I κ B α - β 'yi fosforile eder (D'alessandro ve ark., 2017). Buna karşılık, NF- κ B, HIF transkripsiyonunu artırma

yeteneğine sahiptir (Jiang ve ark., 2010). HIF-1 α , TAK-TAB kompleksinin ve CDK6'nın NF- κ B'yi tutmasına neden olarak negatif bir geri besleme döngüsüne katkıda bulunur (Bandarra ve ark., 2015). HIF'ler ayrıca, IKK/NF- κ B yoluna ek olarak, NF- κ B'nin aşağı akış efektörü olduğu PI3K/AKT yolunu da düzenler (J. Zhang ve ark., 2014).

Sonuç olarak,'de interlökin-1 β (IL-1 β), IL-6, MIP-1, TNF- α , hidrojen peroksit ve prostaglandinler gibi çok sayıda proinflamatuvar protein doğrudan HIF-1 α tarafından düzenlenir (Bandarra ve ark., 2015; Fernandez-Bustamante ve ark., 2013). Bu nedenle, NF- κ B ve HIF-1 α arasında karşılıklı bir bağlantı vardır. Alveolar epitelin hipoksi inflamasyonunda oynadığı rol, laboratuvarımız ve diğerleri tarafından tanımlanmıştır. Tip II AEC'ler, hem vasküler hücre adezyon proteini 1 ve hücreler arası adezyon molekülü 1 (ICAM-1) gibi lökosit ekstrasvazasyonu için yapışkan faktörlerin hem de dolaşımdaki lökositler (VCAM-1) için işe alım sinyalleri görevi gören CCL20 (kemokin ligand 20), CCL2 ve CXCL1 gibi kemotaktik faktörlerin önemli bir kaynağıdır (Suresh ve ark., 2019; Suresh ve ark., 2014).

Benzer şekilde, tip II AEC'ler IL-6, IL-1 β , GM-CSF ve MIP-2 gibi çok çeşitli proinflamatuvar mediatörler üretir. Son araştırmaların, HIF'lerin iltihabı azaltmaya yardımcı olan bir molekül olan hücre dışı adenosini düzenlediği bir yöntem belirlediğini belirtmek ilginçtir. HIF-1 α ile hem oksijenaz-1 (HO-1) modülasyonu da çok önemli bir anti-inflamatuvar süreç olarak kabul edilmiştir (Sturrock ve ark., 2018; Suresh ve ark., 2019).

2.2.3.4. Apoptoz

Apoptozda, HIF'lerin çok yönlü bir rolü vardır. HIF'lerin apoptozu teşvik ettiği veya inhibe ettiği çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir (Saint-Martin ve ark., 2019; Zhao ve ark., 2018). Gerçekten de, kesin hücre tipinin, dış koşulların ve belirli patofizyolojinin, HIF'lerin iç ve dışsal apoptotik yollarda nasıl çalıştığını etkilediği görülmektedir. Genel

olarak, apoptozda iki farklı düzenleyici mekanizma söz konusudur. Bcl-2 protein ailesinin etkileşen üç alt grubu, içsel yoldaki DNA hasarına yanıt olarak salınır. Bcl-2 ve Bcl-xL gibi anti-apoptotik özelliklere sahip proteinler ilk grubu oluşturur. Bak ve Bax proteinlerini içeren ikinci grup, apoptotik sinyalleme için gereklidir ve sitokrom c'nin sitozole salınmasına ve mitokondriyal dış zar geçirgenliğine aracılık etmekten sorumludur (Saint-Martin ve ark., 2019; Wei ve ark., 2001).

Grup 2 proteinlerini kontrol eden ve Bax ve Bak'ın oligomerizasyonunu tetikleyen Bid ve Bim gibi proteinler üçüncü grubun bir parçasıdır (Puthalakath & Strasser, 2002). Apoptozom kompleksini oluşturmak için sitozolik sitokrom c, Apaf-1 ve pro-kaspaz 9'a bağlanır, bu da daha sonra apoptoza neden olmak için kaspaz 3 ve kaspaz 7'yi aktive eder. Bir ölüm ligandı, dışsal yoldaki plazma zarının dış broşüründeki bir ölüm reseptörüne bağlanır. AEC bağlamında HIF'ler ve apoptoz arasındaki ilişki üzerine laboratuvarımız tarafından yürütülenler de dahil olmak üzere çok sayıda araştırma tarafından pro-apoptotik bir bağlantı önerilmektedir (Sherman ve ark., 2018).

HIF'ler ve p53 arasındaki ilişki de bir dizi çalışmada tanımlanmıştır (Chen ve ark., 2003; Sánchez-Puig ve ark., 2005) . P53'ün proliferatif genlerin, tümör baskılayıcı genlerin ve apoptotik sinyal yollarının ana düzenleyicisi olarak işlevi, bu konuya büyük ilgi uyandırmıştır. Bir protein ile HIF'in ODD alanı arasındaki doğrudan etkileşimin p53'ü stabilize ettiği öne sürülmüştür. HIF'ler ve p53 arasındaki farklı ilişki mekanizmaları ve indüksiyon, HIF-1 α ve p53 ubiquitin ligaz Mdm2'nin yanı sıra VHL kompleksi ve p53 arasındaki ek temaslarla önerilmektedir (Chen ve ark., 2003; Ullah ve ark., 2017).

HIF'lerin anti-apoptotik işlevini destekleyen verilerin çoğu, kanser hücre dizileri üzerine yapılan araştırmalardan toplanmıştır (Masoud & Li, 2015); Bu verilerin akciğer hasarına kesin olarak uygulanabilirliğini belirlemek için daha fazla araştırmaya ihtiyaç vardır. Böyle bir çalışmada, Fas ve kaspaz 3'ün azaltılmış ekspresyonunun, bir PHD

inhibitörü kullanılarak daha yüksek HIF-1 α aktivitesi ile bağlantılı olduğu gösterilmiştir (Nagamine ve ark., 2016). Son olarak, HIF-1 α 'nın klinik olarak daha anlamlı araştırmalarda hipoksi bronşiyal epitel hücrelerinde Mcl-1 ekspresyonunu aşağı regüle ettiği gösterilmiştir (Liu ve ark., 2006).

2.3. Akciğer Kanseri ve HIF1- α

Tümör hücresi agresifliği, anjiyogenez, metastaz ve lokal nüks, malignitelerin biyolojisini anlamak için önemli olan hipoksi ile ilişkilidir (Yasuo ve ark., 2011). Tümör hücrelerinin hızlı çoğalması ve insan katı tümörlerinde tümör kütlelerinde kan dağılımının göreceli olarak olmaması, tümör hücrelerinde veya kan damarlarından izole edilen "hipoksik hücrelerde" düşük oksijen seviyelerine yol açar (Yasuo ve ark., 2011). Hipoksi, kanser gelişiminde tipik bir patojenik durumdur ve tümör büyümesini uyarabilir. Hipoksik koşullarda glikoliz, kanser hücresi hareketi ve büyümesi için enerji sağlar (P. Zhang ve ark., 2014).

Tümörde oksijen mevcudiyetinin azalması tedavi direncini artırır ve tümör büyümesini ve metastazı teşvik eder (Yasuo ve ark., 2011). Xu ve ark. (2022) KOAH içerenlerden alınan 55 bronşiyal örneği inceledi ve HIF-1 α 'nın kronik hava yolu iltihabı olan sigara içenlerin hava yollarında kanser öncesi epitel lezyonlarının gelişimine katkıda bulunduğunu buldu. HIF-1 α ayrıca kanser kök hücrelerini taklit eden özelliklerin oluşumunu ve bronşiyal epitelin epitelial-mezenkimal geçişini teşvik eder (Xu ve ark., 2022). Hipoksi, oksijene duyarlı HIF-1 α alt biriminin protein stabilitesini iyileştirerek HIF-1 sinyalini başlatır. HIF-1 α , normoksik koşullarda kararsızlığa ve bozulmaya eğilimlidir (Xu ve ark., 2022).

Hipoksi ile İndüklenebilir Faktör 1'in Tümör İmmün Kaçınmadaki İşlevi. Hipoksik ortamlarda, PHD fonksiyonu baskılandığında HIF-1 α birikir. 19 proteazomal dirençli HIF-1 α proteini ve HIF-1 β 'nın kombinasyonu, dimerizasyon yoluyla benzersiz

yollar başlatır. Bununla birlikte, diğer çalışmalar HIF-1a'nın inflamatuvar hücrelerin enerji metabolizması için kritik olduğunu ve onu inhibe etmenin ciddi bir immün yetmezliğe neden olduğunu göstermiştir (Xu ve ark., 2022). Tümörle ilişkili hipoksi, kanserin büyümesi ve yayılması için gereklidir. Hipoksi ile indüklenebilir transkripsiyon faktörlerinin (HIF'ler) ekspresyonu, aktivasyonu ve stabilizasyonu, malign hücrelerin hayatta kalmasını, çoğalmasını, hareketliliğini ve uyarlabilirliğini destekler (Shurin & Umansky, 2022).

HIF-1 α inhibitörleri, anti-tümör bağışıklığını arttırmak için olası bir terapötik seçenektir. Ayrıca, küçük hücreli dışı akciğer kanserinde inhibitör bileşiklerin ve HIF-1 α inhibisyonunun terapötik kombinasyonunu değerlendirmek için deneysel destek sağladıklarını belirtmektedir (Luo ve ark., 2017). Tümörler, hipoksik stres ortaya çıktığında bu kısıtlamaları aşmak için yeni kan kanalları oluşturabilir (Cui ve ark, 2023). HIF-1 α hücrenin çekirdeğine ulaştığında ve HIF-1 β ile bir heterodimer oluşturduğunda, hipoksik koşulların onu stabilize ettiğini göster(Shurin & Umansky, 2022). Son araştırmalar, hipoksinin kötü huylu hücrelerin daha fazla PD-L1 ekspresyonu yapmasına neden olmak için HIF-1 α ve HIF-2 α 'yı kullanabileceğini göstermektedir (Shurin & Umansky, 2022).

2.4. Reaktif Oksijen Türleri (ROS)

Normal oksijen metabolizması sırasında singlet oksijen, hidrojen peroksit (H₂O₂), hidroksil radikali (OH⁻), süperoksit radikalleri (O₂⁻) ve ROS üretilir. Arslan ve ark. (2014), serbest radikaller, farklı serbest radikal türlerini dönüştüren dizi reaksiyonlarını başlatma yeteneğine sahiptir. ROS türlerinin bağlantılı olduğu birçok hastalık kategorisinden biri kanserdir (Arslan ve ark., 2014). Ayrıca, ROS'ların tümör hücrelerinin motilitesini arttırdığı ve metastaz olasılığını arttırdığı belgelenmiştir. Enzimatik bileşenlerden (katalaz, glutatyon peroksidaz, süperoksit dismutaz, vb.) oluşan

çeşitli hücrel savunma mekanizmalarının, ROS zararlı etkilerini düzenlediği iyi bilinmektedir. Epidemiyolojik literatürdeki çalışmalar, düşük antioksidan seviyeleri ile daha yüksek kanser riski arasında bir bağlantı olduğunu keşfetmiştir (Gecit ve ark., 2012; Glasauer & Chandel, 2014).

Serbest radikaller çeşitli şekillerde tanımlanır, ancak genel olarak, moleküler veya atomik yörüngede eşleşmemiş elektronlara sahip, oldukça reaktif olan kimyasal ürünler olarak tanımlanırlar. Atomik elektronlar yörünge olarak bilinen bölgelerde hareket eder. Her yörüngede zıt yönlerde hareket eden en fazla iki elektron görülebilir. Serbest radikaller için üç farklı yük vardır: pozitif, negatif ve nötr. Biyolojik sistemlerdeki birincil mekanizmaları elektron taşımasıdır. Serbest radikal reaksiyonları, nötrofiller ve makrofajlar gibi bağışıklık sistemi hücrelerinin savunma mekanizmaları için gerekli olmasına rağmen, serbest radikallerin aşırı üretimi doku hasarına ve hücre ölümüne neden olur (Arslan ve ark., 2014; Wang ve ark., 2014).

Atomlar, uzamsal bölgede çiftler halinde bulunan yörüngede dönen elektronlara sahiptir. Atomların teması, bağların oluşumuna neden olur ve bu da moleküler yapının oluşumuna yol açar (Arslan ve ark., 2014). Yaygın olmayan bileşenler, tek bir elektrona sahip atomik veya molekül yapıları olan serbest oksijen radikalleri olarak adlandırılır. Bu moleküller, diğer moleküllerle kolaylıkla elektron alışverişi yaptıkları için reaktif oksijen radikalleri (ROR) veya serbest oksijen radikalleri (FOR) olarak da bilinir. Normal bir metabolizma süreci olan oksidasyon, vücuda birçok yönden zarar veren ve kanser ve kalp hastalığı gibi bazı ciddi kronik hastalıkların gelişiminde ilk adım olan serbest radikallerin üretimine yol açar. Yaşlanma sürecinde ve birçok hastalığın etyopatogenezinde ROS hasarı bu çalışmanın ana odak noktasıdır. Bazı karmaşık biyolojik mekanizmalar insan yaşlanmasına ve kronik hastalıklara yol açar. Bu karmaşık süreçleri daha iyi anlamak için birçok teori ortaya konmuş ve deneylerde test edilmiştir. Yaşlanma ile ilgili teoriler son

yıllarda deneysel yöntemler ve moleküler genetikteki gelişmelerle açıklığa kavuşturulmuştur. Telomer erozyonu, genomik kararsızlık, DNA mutasyonları ve yaşlanan hücrelerde değişen gen profilleri, hücrede ROS'un neden olduğu artan hasarın altında yatan birincil mekanizmalardır (Wei & Pang, 2005).

Vücut, serbest radikallerin üretimine yol açan oksijeni kullanır. Eşlenmemiş elektron içeren atomlar veya moleküller, hücre hasarıyla sonuçlanan bir olaylar zincirini başlatır. Katabolik reaksiyonlara ek olarak, vücutta serbest radikallerin oluşumuna katkıda bulunan diğer değişkenler arasında radyasyon, alkol alımı, sigara, kötü diyetler ve çevre kirliliği bulunur. Serbest radikaller bağışıklığı bozarak bir dizi hastalığa ve erken yaşlanmaya neden olur (Gökpınar ve ark., 2006). Antioksidanlar, hücreye zarar veren durumların tedavisinde ve bu konuda dejeneratif hastalıkların önlenmesinde çok önemli bir role sahiptir. Araştırmalar, antioksidanların serbest radikallere karşı koymaya ve hücreleri zarardan korumaya hizmet ettiğini göstermiştir. Karada bulunan gıdalar dışında, mikroalg türleri antioksidan kimyasallar bağlamında önemli bir rol oynamaktadır. Beta-karoten, astaksantin, zeaksantin ve lutein gibi önemli antioksidan niteliklere sahip pigment bileşikler, nitrojen yoksunluğu, yüksek ışık yoğunluğu ve yüksek tuzluluk gibi stres koşulları altında yetiştirilen bazı mikroalg türlerinin hücre duvarlarında birikebilir. Bu nedenle, mikroalgler farklı koşullar altında kültürlenebilir ve özellikleri, biyoteknoloji bağlamında hücreler üzerinde farklı fizyolojik streslere neden olacak şekilde değiştirilebilir. Sonuç olarak, ekili hücrelerin amaçlanan üründen daha fazlasını vereceği garanti edilebilir (Gökpınar ve ark., 2006).

Oksidatif stres, özellikle alkol, UV radyasyonu, sigara dumanı ve diğer oksidanlar gibi çeşitli çevresel uyaranlara yanıt olarak moleküler oksijenin ROS'a dönüşümünün sonucu olan lipid peroksidasyonundan kaynaklanır. Bu nedenle, vücuttaki ROS çok aşamalı bir karsinogenez sürecini desteklemektedir (Fuchs-Tarlovsky, 2013).

2.4.1. Oksidatif Stres

Çevresel toksisiteyi çok aşamalı bir kanserojen sürece bağlamada önemli bir unsur oksidatif strestir. Ayrıca, kanser gelişimi gibi birçok aktivitenin birikmesi oksidatif stresin bir özelliğidir. Endojen ve ekzojen uyarılar, ROS üretimine neden olur. Karsinogenezin bu aşamalarının tümü ROS'a duyarlıdır (Fuchs-Tarlovsky, 2013). Bu nedenle, hücrelerdeki oksidan ve antioksidan seviyeleri arasındaki dengesizlik oksidatif stres olarak adlandırılır (Hristova & Penev, 2014).

Hücrelerdeki serbest radikal hasarının, yaşlanma sürecinde ve yaşlanma ile ilişkili dejeneratif hastalıklarda (özellikle ateroskleroz, katarakt, diyabet, nörolojik hastalıklar, bağışıklık sistemi anormallikleri ve kanser oluşumu) önemli bir faktör olduğu düşünülmektedir. Yaklaşık 50 hastalık etiyolojisi oksidatif stresle ilişkilendirilmiştir (Derviş, 2011). Biyolojik ve biyokimyasal sistemlerde katalaz (CAT), glutatyon peroksidaz (GPX), glutatyon redüktaz (GR) ve süperoksit dismutaz (SOD) enzimleri antioksidan özellikler gösterir. Hücre, antioksidan savunma mekanizması ile serbest radikaller ve diğer reaktif kimyasallar tarafından oksidatif hasardan korunur. Bu nedenle SOD, CAT, GPX gibi antioksidan enzimler bu savunma mekanizması için çok önemlidir. Hücrelerin antioksidan savunma mekanizmaları serbest radikallerin olumsuz etkilerini sınırlar (Gülçin, 2002).

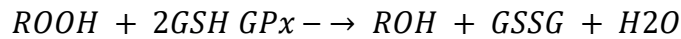
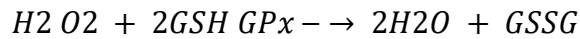
2.5. Glutatyon Peroksidaz

Glutatyon peroksidazlar (GPX) adı verilen başka bir izoenzim sınıfı, kofaktör olarak indirgenmiş glutatyon (GSH) kullanarak H_2O_2 'yi metabolize edebilir. Bu gruptan GPX-1 ve GPX-4 mitokondride bulunur (Chang ve ark., 2016)(Chen ve diğerleri, 2016; Idelchik ve diğerleri, 2017). Selenosistein, hem GPX-1 hem de GPX-4'ün aktif bölgesi için gerekli amino asittir (Memeli-selenoproteomların Karakterizasyonu.Pdf, t.y.). Hücre içi ROS üretimi, GPX-1 aşırı ekspresyonu ile baskılanır (Idelchik ve ark., 2017).

Kromozom 3p'de bulunan GPX-1 geninin heterozigotluk kaybı, akciğer kanseri de dahil olmak üzere birçok kanser türünde erken karsinogenez sırasında tipik bir durumdur (Idelchik ve ark., 2017). Antioksidanlar genellikle hücrelerin dışında bulunur, ancak hücrelerin içinde de bulunabilirler (Sarıkaya ve Doğan, 2020).

Hücre içinde biriken hidroperoksitleri uzaklaştırma görevi GPX enziminin görevidir. Alt birimlerinden biri Se atomu içerdiği için hücreleri sayısız zarardan koruyan bir selenoenzim olduğu düşünülmektedir. Glutasyon redoks döngüsü, hücre içi hidroperoksitlerin ortadan kaldırılmasında önemli bir süreçtir. GPX, dört selenyum atomunu bağladığı ve glutasyon peroksidazın katalitik aktivitesini sağladığı için bir selenosistein molekülü olarak sınıflandırılır (Mans ve ark., 2022).

İndirgenmiş glutasyon formu (GSH) tarafından katalize edilen glutasyon peroksidaz, hidrojen peroksit ve lipid peroksitlerle etkileşime girerek ve başka bir glutasyon molekülü (GSSG formu) ile bir glutasyon köprüsü oluşturarak detoksifikasyona yardımcı olur (Mans ve ark., 2022). γ -glutamil bağı ve sülfhidril (-SH) grubunu GSH'nin iki yapısal özelliği olarak tanımlanmıştır. Hidroperoksitler, GSH-Px'tir sitozolik enzim GPX tarafından indirgenir. Eritrositlerde oksidatif strese karşı en güçlü antioksidan ve fagositik hücrelerde de birçok önemli işlevi yapmaktadır (Mans ve ark., 2022).



2.5.1. Glutasyon Peroksidaz 1

Glutasyon peroksidaz 1 Enzimatik antioksidan savunmanın bir bileşeni olarak, (GPX-1, EC 1.11.1.9), hidrojen ve lipid peroksitleri detoksifiye ederek, proteinlere, lipitlere ve DNA'ya gelen oksidatif hasarı azaltır (Ravn-Haren ve ark., 2006). Kromozom 3p21, ekspresyon ürünü esas olarak böbrekler, karaciğer ve akciğerler dahil olmak üzere yüksek oksijen gerilimine sahip dokularda bulunan GPX-1 genini içerir (Zhao ve ark.,

2018). Kromozom 3p21, ekspresyon ürünü esas olarak böbrekler, karaciğer ve akciğerler dahil olmak üzere yüksek oksijen gerilimine sahip dokularda bulunan GPX-1 genini içerir (Arsova-Saradinovska ve ark., 2009).

Akciğer ve diğer organ epitel dokularında eksprese edilen GPX-1 enzimi, selenyuma bağımlıdır ve GPX-1 geni tarafından kodlanır. Vücudun en önemli antioksidan enzimlerinden biridir ve sağlıklı hücreleri oksidatif stresin zararlı etkilerinden korumaya yardımcı olan ROS parçalanmasına önemli ölçüde katkıda bulunur; (Brigeliuss-Flohé & Maiorino, 2013). Raschou-Nielsen ve ark. (2007), Enzim, hidrojen ve lipid peroksitleri detoksifiye ederek DNA'yı, proteinleri ve lipitleri oksidatif hasardan korur. Enzimatik antioksidan savunmanın bir bileşenidir (Arthur, 2001).

GPX-1 genin, transkripsiyon oryantasyonu negatiftir ve beş farklı transkript varyantı vardır (Brigeliuss-Flohé & Flohé, 2020). Moleküler ağırlığı 22-23 kDa olan saflaştırılmış aktif insan GPX-1 proteini, dört özdeş alt birimden oluşan bir homotetramerdir. Her monomerde yaklaşık 208 amino asit vardır (Kipp, 2017). 21. amino asit, selenosistein, selenyum proteini olarak bilinen GPX-1 proteininde bulunan selenyumı üretmek için UGA durdurma kodonundaki translasyonel kodlama işlemi sırasında gelişmekte olan polipeptit zincirine eklenir. Ekzon 1, selenosistein kodonunun kodlama dizisini içerir. Selenyum hücre iskeletini kodlamayan proteinlerde, UGA durdurma kodon dizisi genellikle translasyonu sonlandırır. Öte yandan, UGA'nın bir durdurma sinyalinin ziyade bir Sec kodonu olarak tanınması için gerekli olan selenoprotein mRNA'nın 3' UTR'sinde Sec ekleme dizisi (SECIS) veya Sec ekleme dizisi olarak bilinen korunmuş bir kök döngü yapılı cis-etkili eleman bulunur (Hubert ve ark., 1996).

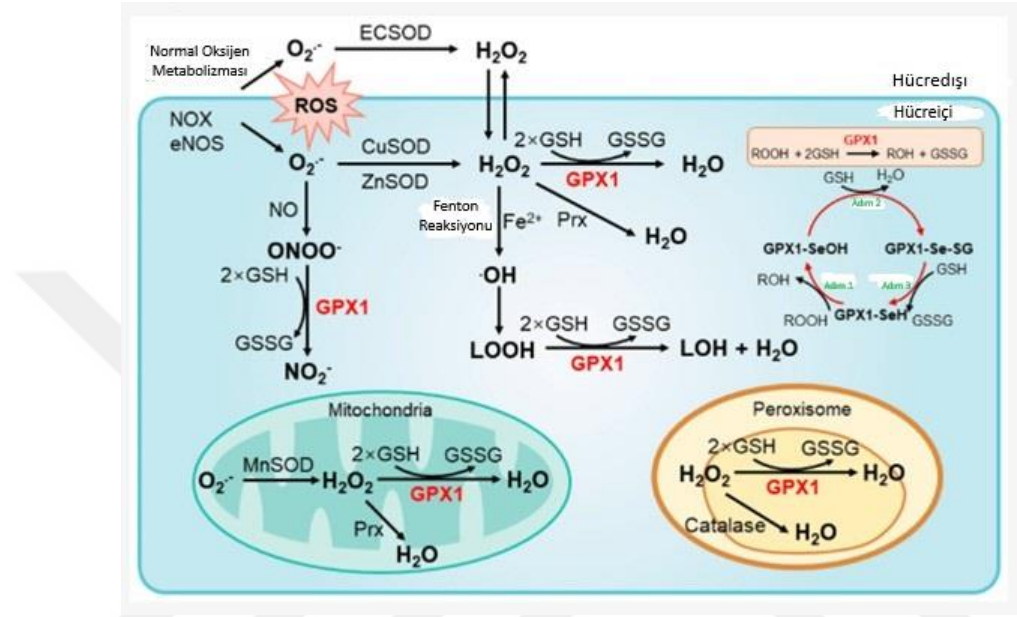
2.5.1.1. GPX-1'in Mekanizmaları

En yaygın olarak ifade edilen GPX üyelerinden biri, tüm hücrelerde bulunan ancak çoğunlukla sitoplazma, mitokondri, çekirdek ve peroksizomlarda bulunan GPX-1'dir. $O_2^{\cdot-}$ sıklıkla düzenli oksijen metabolizması ile üretilir ve ayrıca bağlanmamış endotelial nitrik oksit sentaz (eNOS) ve NADPH oksidaz (NOX) dahil olmak üzere bir dizi başka enzim tarafından katalize edilebilir. $O_2^{\cdot-}$ sitoplazmada, hücre dışı matrikste ve peroksizomlar ve mitokondri gibi bazı organellerde baskındır. H_2O_2 , $O_2^{\cdot-}$ 'den iki aşamalı bir katalitik reaksiyon kullanılarak üretilebilir. Enzimler, $O_2^{\cdot-}$ 'nin hidrojen peroksit ve ardından H_2O_2 'a dönüşümünü katalize eder (Gonzalez-Flores ve ark., 2013; Lubos ve ark., 2011).

$O_2^{\cdot-}$ Farklı hücre altı konumlarda bulunan katalitik enzimler aynı değildir. $O_2^{\cdot-}$ 'nin hidrojen peroksit dönüşümü, hücre dışı matrikste bulunan SOD, sitoplazmada bulunan bakır veya çinko, SOD ve mitokondride bulunan MnSOD tarafından katalize edilir. Daha sonra, CAT, Prx ve GPX-1 enzimleri hidrojen peroksiti azaltır. (Gonzalez-Flores ve ark., 2013). Onu katalize eden ana enzimler sitoplazmada GPX-1 ve Prx 1,2, mitokondride GPX-1 ve Prx 3,5 ve peroksizomda CAT ve GPX-1'dir. H_2O_2 ve serbest demir (Fe^{2+}), belirli oksidatif stres durumları altında Fenton tarzı reaksiyona girebilir, bu da peroksidatif hasar yoluyla lipitlere zarar veren tehlikeli hidroksil radikalleri ($OH^{\cdot}$) ve lipid hidroperoksitleri (LOOH) ile sonuçlanır. Ayrıca, $O_2^{\cdot-}$ ve $NO^{\cdot}$, peroksinitrit radikalleri ($ONOO^{\cdot}$) oluşturmak için birleşebilir (Gonzalez-Flores ve ark., 2013; Lubos ve ark., 2011). Ek olarak, GPX-1, peroksitleri parçalayan üç aşamalı bir dairesel reaksiyonu katalize eder (Şekil 2-4). Yıkım reaksiyonunun bir sonucu olarak selenosistein aktif bölgesinde bazı stabil ara değişiklikler oluşur. Selenik asit ($SeOH$), peroksit ($ROOH$ veya hidrojen peroksit) aktif GPX-1- SeH ile birleştiğinde üretilir. Elenik asit, tek bir GSH molekülü tarafından GPX-1- $Se-SG$ ve suya indirgenir. GPX-1- $Se-SG$ enzimi daha sonra

başka bir GSH molekülü tarafından GPX-1-SeH ve GSSG'ye dönüştürülür (Lubos ve ark., 2011).

GPX-1'in süperoksitleri uzaklaştırmak için enzimatik mekanizmaları Şekil 2.5.'de Gösterilmiştir (Zhao ve ark., 2022).



Şekil 2.5. GPX-1'in süperoksitleri uzaklaştırmak için enzimatik mekanizmaları

2.5.1.2. Akciğer Kanseri ve GPx-1

Akciğer kanseri üzerinde çok sayıda faktörün etkisi olduğu bilinmektedir. Serbest radikallerin ve ROS'inin karsinogenezin başlamasında ve ilerlemesinde önemli bir rol oynadığı yaygın olarak kabul edilmektedir (Zachara ve ark., 2004). Akciğer hücreleri, özellikle alt solunum yollarındakiler, yüksek miktarda oksijen ve diğer oksidanları içerir. Sigara içmenin akciğer kanseri vakalarının %85-90'ının nedeni olduğu varsayılmaktadır ve sigara da önemli bir oksidan kaynağıdır. Sigara dumanından çıkan kurum çok sayıda serbest radikal içerir (Zachara ve ark., 2004). Dokulardaki bu kimyasalların detoksifikasyonu, organizmanın kansere karşı savunmasını güçlendirebilir. Akciğer hücreleri, hücrelerin içindeki oksidanları parçalamak için çalışan bir antioksidan mekanizmaya sahiptir. Reaktif oksijen türlerinin zararlı etkilerine karşı birincil savunma

mekanizması, Se-bağımlı GSH-Px gibi antioksidan enzimlerden oluşur (Zachara ve ark., 2004).

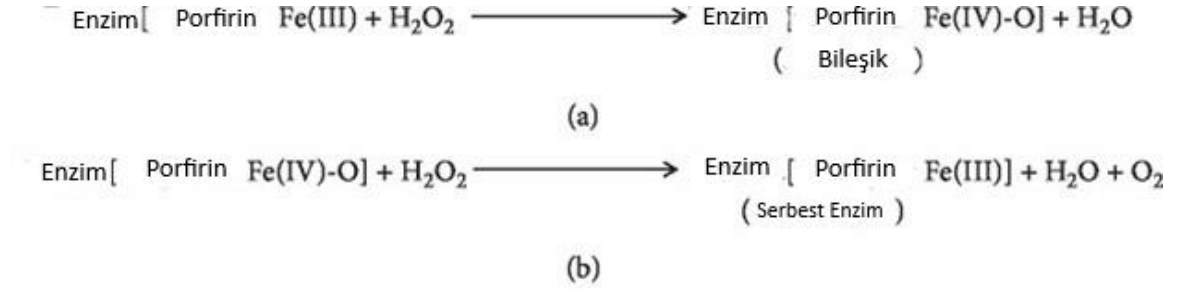
Kanser, kardiyovasküler hastalık, romatoid artrit, bağışıklık sistemi hasarı ve reperfüzyon hasarı gibi birçok hastalık, hidrojen peroksit, lipid hidroperoksitler, süperoksitler, hidroperoksi ve hidroksil radikalleri gibi çeşitli oksijen radikalleri ile ilişkilendirilmiştir (Saydam ve ark., 1997). Sigara dumanının, akciğerdeki nötrofilleri, makrofajları ve diğer beyaz kan hücrelerini O_2^- ve H_2O_2 üretmeye teşvik edebilen H_2O_2 içerme olasılığı vardır (Zachara ve ark., 2004).

H_2O_2 , glutatyon peroksidaz ve katalaz tarafından detoksifiye edilir . Glutatyon peroksidaz, H_2O_2 ve lipid peroksitlerin indirgenmiş glutatyon aracılı detoksifikasyonunu katalize eder. Sonuç olarak, membran lipidlerini ve hemoglobini peroksit oksidasyonundan korur (Mans ve ark., 2022). GPX-1, hidrojen peroksit, lipid peroksit ve peroksinitriti katalize etmek ve hücre içi oksidatif stresi azaltmak için bir substrat olarak glutatyon kullanır (Zhao ve ark., 2018). GPX-1, birçok malignitede hem tümör baskılayıcı hem de promotör olarak karmaşık, çelişkili roller oynamasına rağmen, çoğu kanser türünde anormal bir şekilde yükselir (Zhao ve ark., 2018). Bu enzim, çok sayıda sinyal yoluna dahil olması sayesinde invazyon, apoptoz, hücre proliferasyonu, bağışıklık tepkisi ve kemorezistans dahil olmak üzere tümörlerin biyolojik özelliklerini etkileyebilir (Zhao ve ark., 2018).

2.6. Katalaz

En önemli antioksidan enzimler arasında (CAT) bulunur. Hemen hemen tüm aerobik organizmalar bunu içerir. İki aşamalı bir işlemde (CAT), iki hidrojen peroksit molekülünü bir oksijen molekülüne ve iki su molekülüne dönüştürür . Aynısı, Lardinois ve Ivancich ve ark. (1997). Bir hidrojen peroksit molekülünün indirgenmesi, reaksiyon yolundaki ilk adım olan bir porfirin π -katyon radikaline sahip bir kovalent oksiferil türü

(FeIVO) olan spektroskopik olarak benzersiz bir ara kimyasal I'in (Şekil 2-5(a)) oluşturulmasıyla sonuçlanır. Serbest enzim, oksijen ve su, bileşik I, bir elektron kaynağından (ikinci hidrojen peroksit molekülü) iki elektron transferini içeren redoks reaksiyonları ile indirgendiğinde ikinci adım işleminde (Şekil 2-5(b)) üretilir (Mans ve ark., 2022).



Şekil 2.6. Katalaz reaksiyonundaki adımlar: (a) ilk adım; (b) ikinci adım.

İnsanda kromozom 11, CAT enzimini kodlayan CAT genini içerir. CAT'ın, hepsinin oksidatif stres koşullarına bağlı olduğu bilinen apoptoz baskılama, iltihaplanma ve mutajenez süreçlerinde yer alan çok önemli bir enzim olduğu belgelenmiştir (Yabuki ve ark., 1999).

Diabetes mellitus, vitiligo, kardiyovasküler rahatsızlıklar, Wilson hastalığı, hipertansiyon, anemi, bazı dermatolojik durumlar, Alzheimer hastalığı, bipolar bozukluk ve şizofreni dahil olmak üzere çok sayıda hastalık katalaz eksikliği veya disfonksiyonu ile bağlantılıdır (Habib ve ark., 2010).

2.7. Süperoksit Dismutazlar (SOD'ler)

Süperoksit dismutazlar (SOD'ler) adı verilen metaloenzimler ökaryotlarda ve bazı prokaryotlarda bulunur. Hücre dışı bölmede (Cu, Zn-SOD veya SOD3), mitokondriyal matris ve iç zarda (Mn-SOD veya SOD2) ve sitozol ve mitokondriyal zarda (Cu, Zn-SOD veya SOD1) bulunurlar (Okado-Matsumoto & Fridovich, 2001).

Joe McCord ve Irwin Fridovich SOD'ları 1969'da keşfettiğinden beri, antioksidan savunmada önemli bir rol oynadıkları iyi bilinmektedir. İnsanlarda ve hayvan modellerinde iskemi/reperfüzyonla ilişkili hastalıklarda oksidan/antioksidan süreçlerin işlevinin belirlenmesi, büyük ölçüde I. Fridovich ve ortaklarının çalışmalarıyla mümkün olmuştur (Collino ve ark., 2013).

Redoks metabolizmasında önemli bir sensör H_2O_2 'dir. Bu maddenin seviyeleri oksidatif stres için çok önemlidir: fizyolojik koşullarda, 1 ila 10 nM arasındaki H_2O_2 hücre içi konsantrasyonları, oksidatif stres olarak bilinen fizyolojik ve adaptif süreçlerde yer alan stres tepkisine aracılık eder; 100 nM'yi aşan konsantrasyonlar, indüklenen inflamatuvar yanıtın hücre hasarına neden olduğu oksidatif sıkıntıya neden olur (Singh ve ark., 2017). İlgili enzimlerin tümü, H_2O_2 'nin sentezi ve uzaklaştırılmasında rol oynayan endojen antioksidan sistemi dikkate alındığında normal veya patolojik olarak sınıflandırılabilen paralel bir ikili role sahiptir. Bu nedenle, SOD aktivitesinin iki farklı anlamı olabilir (Hargitai ve ark., 2021): Birincisi, SOD'nin aktivitesi, H_2O_2 birikimini H_2O 'ya dönüştürerek nötralize eden CAT, GPx veya Prx/Trx enzimleri ile senkronize olduğunda, bir antioksidan enzim olarak işlev görür; ikincisi, H_2O_2 aşırı toplanabildiğinden, ROS'un aşırı üretimine ve hücre toksisitesine neden olabileceğinden, SOD bir pro-oksidan olarak işlev görebilir (Singh ve ark., 2017).

2.8. Selenyum

Selenyumun 1973'te glutatyon peroksidaz enziminin aktif çekirdeğinin çok önemli bir parçası olduğu bulundu. 20 yıldan kısa bir süre sonra, bilim adamları selenyum atomlarının diğer enzimlerin aktif bölgelerinde de bulunduğunu keşfettiler. Örneğin, iyodotironin deiodazın aktif merkezi selenosistein tarafından inşa edilmiştir. Araştırmacılar, bu keşifler ve çok sayıda selenoprotein ve selenoenzimin tanımlanması

sonucunda bu elementin insan vücudu için önemi hakkında kapsamlı araştırmalar yapmaya başladılar (Tsuji ve ark., 2021).

1950'lerde selenyum eksikliği ve E vitamini eksikliğinin incelenen sıçanlarda ani karaciğer nekrozuna ve ayrıca kas distrofisine neden olan selenyum birikiminin artmasına neden olduğunun keşfi, bilim adamlarının merakını uyandırdı (Duntas & Benvenga, 2015). Selenyumun 1973'te glutatyon peroksidaz enziminin aktif çekirdeğinin çok önemli bir parçası olduğu bulundu.

2.9. Karaciğer Enzimleri

Karaciğer biyokimyasal testleri, rutin laboratuvar testlerinin otomasyonu nedeniyle ABD'de en sık sipariş edilen testlerden'dir. 1999'dan 2002'ye kadar 6823 denek üzerinde yapılan ABD popülasyonuna dayalı bir çalışma, deneklerin %8.9'unda yüksek alanin aminotransferaz (ALT) ve deneklerin %4.9'unda aspartat aminotransferaz (AST) gösterdi (Sparling, 2016).

ALT seviyeleri, son zamanlarda bir tartışma konusu olmuştur, çünkü yeni çalışmalar, testin duyarlılığını artırmak için daha düşük bir ALT kesimine ihtiyaç duyulduğunu göstermektedir. Mevcut ALT kesimlerinin, altta yatan olası subklinik karaciğer hastalığı olan hastalar kullanılarak tanımlandığına ve dolayısıyla testin duyarlılığını azalttığına inanılmaktadır (Sparling, 2016).

AST'de, ALT gibi karaciğerde bulunan bir enzimdir, ancak varlığının ALT kadar az olmadığı başka bölgelere de sahiptir. Bu bölgeler öncelikle iskelet kası, kalp kası, böbrek dokusu ve beyindir. Standart testlerde farklılaşmayan ve çok az klinik değeri olan 2 izoenzim olarak ortaya çıkar. Alkalen fosfataz (ALP), esas olarak hepatobiliyer sistemde, kemikte, plasentada ve daha az oranda bağırsak dokusunda bulunan bir enzimdir. ALP, çoklu defosforilasyon reaksiyonlarında rol oynar. Normal aralık 30-120

IU/L arasındadır. ALP, kemik büyümesi ile ilişkili artmış osteoblastik aktivite nedeniyle çocuklarda ve ergenlerde genellikle daha yüksektir (Bahnemiri ve ark., 2022).

Gama glutamil transferaz (GGT), pankreas, seminal veziküller, böbrekler, safra yolları ve karaciğer dahil olmak üzere vücuttaki birçok organda bulunan bir enzimdir. Yükselmesi, diğer karaciğer biyokimyasal testlerinde bir yükselme eşlik ettiğinde genellikle bir hepatobiliyer hastalık için önemli kabul edilir. Genellikle safra yolu hastalığında, sitokrom indükleyici ilaçlarda ve alkol kullanımında yükselir.

Laktat dehidrogenaz (LDH) vücutta yaygın olarak bulunan bir enzimdir, esas olarak karaciğerdeki Kupffer hücreleri tarafından alınan/atılan birden fazla izoenzime sahiptir (Cabrera-Abreu & Green, 2002).

3. MATERİYAL VE METOT

3.1. Materyal

Bu çalışma Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'nun 06/07/2023 tarih ve 26 sayılı kararı ile onaylanmıştır. (EK 1)'dir.

3.1.1. Etik Kurul Onayı

Atatürk Üniversitesi Klinik Araştırmalar ve Etik Kurulu'nun 30.09.2021 tarih ve 67 sayılı kararı (toplantı no: 06) ile çalışmanın etik kurallara (EC-3) uygun olduğuna dair onay alınmıştır.

3.1.2. Çalışma ve Kontrol Gruplarının Belirlenmesi

Araştırma deneysel türde bir araştırmadır. Çalışmaya Erzurum'da yaşayan 41-85 yaş aralığındaki 60 Akciğer kanseri hastası ve Erzurum'da yaşayan 40-72 yaş aralığındaki 60 sağlıklı gönüllü olmak üzere toplam 120 kişi dahil edildi. Çalışmanın hasta grubu için Atatürk Üniversitesi Sağlık Uygulama ve Araştırma Merkezi Radyasyon Onkolojisi Anabilim Dalı'na başvuran ve düzenli takibi yapılan 60 akciğer kanserli hasta rastgele seçilmiştir. 60 kişilik kontrol grubu, rutin kontroller için hastanemize gelen ve araştırmacı yakınlarından seçilen ve herhangi bir kronik hastalığı olmayan kişilerden oluşturuldu.

Çalışma grubuna dahil edilen akciğer kanserli hastalar (n=60) kadın ve erkek bireylerden oluşurken, akciğer kanseri olan ve diğer kanser türleri de tercih edildi. Kontrol grubu oluşturulurken (n=60) herhangi bir kronik hastalığı olan kişiler çalışmaya dahil edilmedi. Bazı akciğer kanserlerinde Covid-19 hastalarında seviyelerin arttığı bilinmektedir. Çalışma pandemi dönemine denk geldiği için aktif olarak Covid-19 salgını yaşamayan bireyler seçilen hasta ve kontrol grubuna dahil edildi. Kriterlere uyan hastalar çalışmaya dahil edilmeden önce, "Bilgilendirilmiş Gönüllü Onam Formu"nu okuttuktan ve onam alındıktan sonra çalışma hakkında bilgilendirildi.

Atatürk Üniversitesi Eğitim ve Araştırma Hastanesi Radyasyon Onkolojisi Bölümü'nde akciğer kanseri tanısı alan hastalardan sorumlu hekim eşliğinde alınan kan örnekleri santrifüj edilerek serum kısımları alınarak -80°C'de derin dondurucuda saklandı. Erzurum ilinde yaşayan herhangi bir kronik hastalığı olmayan sağlıklı gönüllüler, araştırma hakkında bilgilendirilip "Bilgilendirilmiş Gönüllü Onam Formu"nu okuttuktan ve onayları alındıktan sonra kontrol grubu olarak çalışmaya dahil edildi.

3.1.3. Numunelerin Toplanması ve Hazırlanması

Hastalar ve kontrol grupları otururken antekubital venden kan örnekleri alındı. Serum ekstrete etmek için pıhtı aktivatörü olan jel ayırıcı tüpler kullanıldı. Numuneler 4000 rpm'de on dakika santrifüjlendikten sonra, süpernatantın tüplerdeki bölümleri ayrıldı. Toplanan serumlar derin dondurucuda -80°C'de çalışma gününe kadar bekletildi. Daha sonra kilitlenebilir kapaklı etiketli mikrosantrifüj tüplerine aktarıldılar. Dondurulmuş numuneler, tahlilden bir gün önce başlayarak -20°C, +4°C ve oda sıcaklığında kademeli olarak çözülde. Serum örnekleri kullanılarak, ticari kitlerde verilen talimatlara uygun olarak glutatyon peroksidaz 1 (GPX-1) ve hipoksi-indüklenebilir faktör 1 α 'y1 (HIF1- α) tespit etmek için enzime bağılı immünosorbent ölçümü (ELISA) yöntemi kullanıldı.

3.2. Cihazlar /Malzeme/Kit Markası

Mevcut çalışmada, parametreleri caydırmak için kullanılan alet ve cihazları ve kitleri göstermiştir (Tablo 3.1).

Tablo 3.1. Bu çalışmada kullanılan araçların listesi

Alet -leri	Şirket	Ülke
ELISA (Elisa Türkçesi)	Labon Laboratuvarı	China
Ayarlanabilir Hacimli Otomatik Pipet (100-1000 µL)	Axygen Teknolojisi	ABD
Ayarlanabilir Hacimli Otomatik Pipet (20-200 µL)	Axygen Teknolojisi	ABD
Ayarlanabilir Hacimli 8 Kanallı Otomatik Pipet (10-100 µL)	Eppendorf Araştırma Artı	Almanya
Tek Kullanımlık Pipet Ucu (200 µL)	ISOLAB Laboratuvarı	Almanya
Tek Kullanımlık Pipet Ucu (1000 µL)	ISOLAB Laboratuvarı	Almanya
Kilit Kapaklı Mikro Santrifüj Tüpü (1.5 mL)	ISOLAB Laboratuvarı	Almanya
Mikroplaka Okuyucu BIO	TEK PowerWave XS	ABD
Vorteks Velp Scientifica	ZX3 Serisi	İtalya
İnkübatör Inovia Teknolojisi,	SC-200- 1001 Serisi	Türkiye
Santrifüj Beckman Coulter	Allegra X-30R	ABD
Derin Dondurucu (-80°C)	Nüve DF 290	Türkiye
Buzdolabı (+4°C)	Arçelik 5231 NFY,	Türkiye
Saf Su Cihazı	MINIpure mps'im	Türkiye

Tablo 3.2. GPx-1 ve HIF1-α ölçümünde kullanılan kitler ve cihazlar

Kimyasal Materyal ve Reaktifler	Marka İsmi
İnsan GPX-1 ELISA Kiti	Laboratuvar BT, editör. China
İnsan HIF1-α ELISA Kiti	Laboratuvar BT, editör. China

Kricka JYP. İmmünokimyasal Teknikler. İçinde: Carl A. Burtis DEB, editör. Tietz Klinik Kimya ve Moleküler Teşhisinin Temelleri. Yedinci baskı Amerika Birleşik Devletleri: Elsevier; 2015. sayfa 248.



Şekil 3.1. Çalışmada kullanılan cihazlar

3.3. Yöntem

Enzim immünoassay (EIA), bağışıklık tepkilerini tanımlamak ve ölçmek için bir enzimin katalitik özelliklerini kullanan bir immünokimyasal test tekniğidir. Popüler enzime bağlı immünosorbent testi (ELISA) tekniği, EIA tekniklerinden biridir. Reaksiyon bileşenlerinden biri katı faz yüzeyine bağlı olduğundan, bu teknik heterojen nitelikler gösterir. Spesifik olmayan adsorpsiyon, kimyasal bağlanma veya immünokimyasal bağlanma olabilen bu bağlama, bağlı reaktifin serbest etiketli olandan ayrılmasını kolaylaştırır. Antikoru katı faz ile bağlanmasına izin vermek için, ELISA yöntemi ile değerlendirilecek antijeni içeren bir kalibratör veya numune önemli bir süre inkübe edilmiş halde bırakılır. İnkübasyon dönemini takiben, ortam yıkanır ve ilk adımda bağlı olanla aynı olmayan yeni bir antikor eklenir. Sonuç olarak, katı faz antikoru, antijen ve enzime bağlı antikordan oluşan bir sandviç kompleksi oluşturulur. Bağlanmamış antikor reaksiyon ortamından yıkadıktan sonra, enzimin substratı ilave edilir. Ortama eklenen substrat, numune veya kalibratördeki antijen miktarı tarafından oluşturulan sandviç kompleksinde bulunan enzim tarafından ürüne dönüştürülür. Bu nedenle, reaksiyon ortamında oluşturulan ürün miktarı, ölçülmesi gereken antijene tam olarak karşılık gelir.

3.3.1. Glutasyon Peroksidaz I Ölçümü

Enzime bağlı bir immünosorbent testi (ELISA) bu kitin ne olduğudur (şekil: 3-2). İnsan GPX-1 antikoru plaka üzerinde önceden kaplanmıştır. Numuneden GPX-1 eklediğimizde, kuyucuklardaki kaplanmış antikorlara bağlanır. Bunu takiben, numunedeki GPX-1, biyotinile edilmiş İnsan GPX-1 Antikoru ilavesiyle bağlanır. Daha sonra, biyotinile GPX-1 antikoru streptavidin-HRP'ye bağlanır. Bir yıkama gerçekleştirildiğimizde, inkübasyondan sonra bağlanmamış streptavidin-HRP çıkarılır. Substrat çözeltisini eklediğimizden sonra, renk İnsan GPX-1 konsantrasyonu ile doğru

orantılı olarak değişir. Asidik bir durdurma çözeltisinin eklenmesi işlemi sonlandırır ve absorbands 450 nm'de ölçüldü. GPX-1 için kullanılan reaktifler Tablo 3.3'de gösterilmiştir.

Tablo 3.3. GPX-1 testi için kullanılan reaktifler

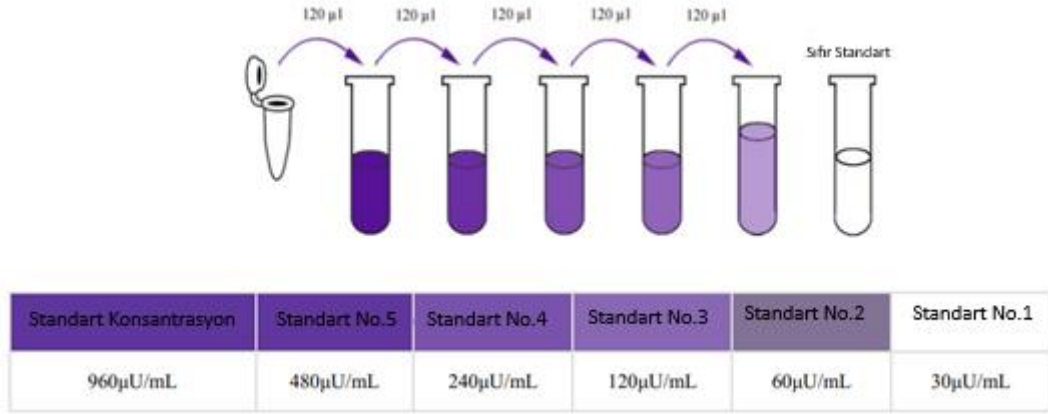
Bileşen	Miktar
Standart çözelti (960 μ U/mL)	0,5 ml x1
Önceden kaplanmış ELISA plakası	12 * 8 kuyulu şeritler x1
Standart seyreltici	3ml x1
Streptavidin-HRP	6ml x1
Çözümü durdur	6ml x1
Substrat çözümü A	6ml x1
Substrat çözeltisi B	6ml x1
Yıkama tamponu Konsantresi (25x)	20ml x1
Biyotinile İnsan GPX-1 antikoru	1 ml x1
Kullanıcı talimatı	2
Plaka kapatıcı	2 adet fotoğraf

3.3.2. Reaktif Hazırlama

Kullanmadan önce tüm reaktifler oda sıcaklığına getirilmelidir. Normal 480 μ U/mL standart stok çözeltisi oluşturmak için, standardın 120 μ l'ünü (960 μ U/mL) 120 μ l standart seyreltici ile sulandırdık. Seyreltme üretmeden önce, standardı hafif çalkalama ile 15 dakika beklettik. Yinelenen standart noktalar oluşturmak için, 240 μ U/mL, 120 μ U/mL, 60 μ U/mL ve 30 μ U/mL çözeltiler sağlamak için standart stok çözeltisini (480 μ U/mL) standart seyreltici kullanarak 1:2'lik adımlarla seyrelttik. Kalan çözeltinin bir ay içinde kullanılması ve -20°C'de dondurulması gerekir.

Tablo 3.4. GPX-1 testi için önerilen standart çözeltilerin seyreltilmesi

480 (μ U / mL)	Standart No.5	120ul Orijinal standart + 120ul Standart seyreltici
240(μ U / mL)	Standart No.4	120ul Standart No.5 + 120ul Standart seyreltici
120(μ U / mL)	Standart No.3	120ul Standart No.4 + 120ul Standart seyreltici
60(μ U / mL)	Standart No.2	120ul Standart No.3 + 120ul Standart seyreltici
30(μ U / mL)	Standart No.1	120ul Standart No.2 + 120ul Standart seyreltici



Şekil 3.2. Önerilen standart çözeltilerin seyreltilmesi

Yıkama Tamponu: 20 ml Yıkama Tamponu Konsantresini 25 kat deiyonize veya damıtılmış suya seyrelterek 500 ml 1x Yıkama Tamponu elde ettik. Konsantrede kristaller oluşmuşsa, kristaller tamamen eriyene kadar hafifçe karıştırdık.

3.3.3. Deney Prosedürü

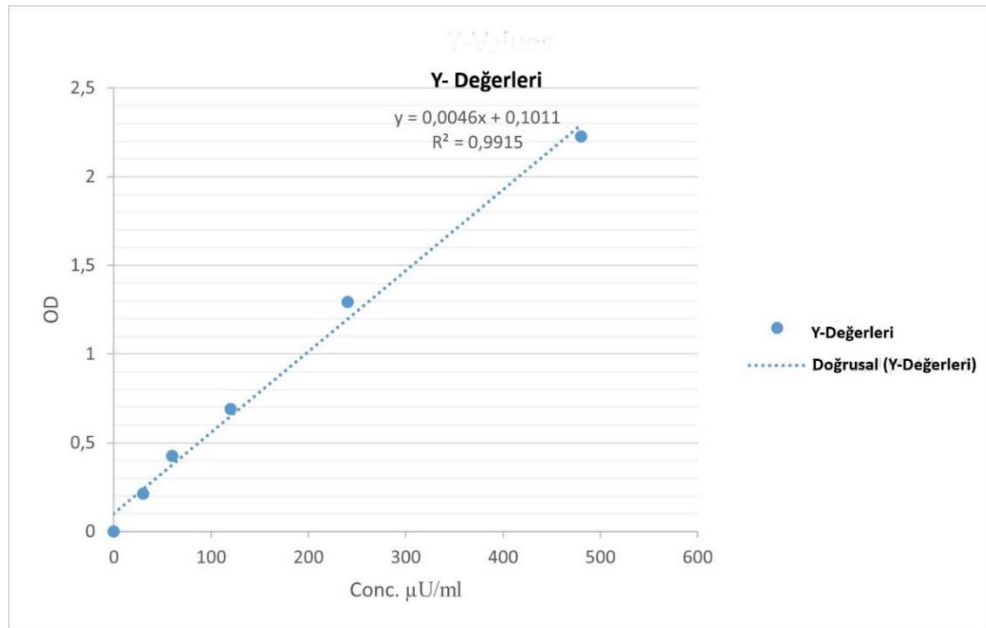
- Tüm reaktifleri, standart çözeltileri ve numuneleri talimatlara göre hazırladık. Kullanmadan önce tüm reaktifler oda sıcaklığında olmalıdır. Deney için oda sıcaklığı kullandık.
- Test için gereken şerit miktarını belirledik. Kullanmak için şeritleri çerçevelerin içine yerleştirdik. Kullanılmayan şeritlerin 2 ila 8°C arasında tutulması gerekir.
- Standart kuyuya 50 µl standart ekledik. Not: Standart çözelti biyotinile antikor içerdiğinden, standart kuyuya antikor eklemedik.
- Numune kuyucukları 40 µl malzeme ile doldurulmalı idi, ardından 10 µl İnsan GPX-1 antikor, 50 µl streptavidin-HRP ve boş bir kontrol kuyusu ile doldurduk. İyice karıştırdıktan sonra, plakaya bir dolgu macunu uyguladık ve 37°C'de 60 dakika inkübe ettik.
- Sızdırmazlık maddesini çıkardıktan sonra plakayı beş kez yıkamak için yıkama tamponu kullandık. Her yıkama için, kuyuları 30 ila 60 saniye boyunca 300 µl

yıkama tamponunda beklettik. Her bir kuyuyu aspire ettik veya boşalttık. Plakayı kağıt havlu veya emen başka bir madde kullanarak kuruladık.

- Her bir oyuğa 50 µl substrat çözeltisi A eklenmeli idi, ardından 50 µl substrat çözeltisi B ekledik.
- Her kuyucuğa 50µl Durdurma Çözeltisi ekledikten sonra, mavi renk hemen sarıya dönüştü.
- Durdurma çözeltisini ekledikten sonra, 10 dakika içinde, 450 nm'ye ayarlanmış bir mikropłaka okuyucu kullanarak her bir kuyucuğun optik yoğunluğunu (OD değeri) ölçtük.

3.3.4. Hesaplamalar

Yatay (X) eksenindeki konsantrasyona karşı dikey (Y) eksenindeki her standart için ortalama OD'yi çizerek standart bir eğri oluşturduk ve grafikteki noktalar boyunca en uygun eğriyi çizdik. Bu hesaplamalar en iyi şekilde bilgisayar tabanlı eğri uyurma yazılımı ile yapılabilir ve en iyi uyum çizgisi, tablo 3.3.' de gösterildiği gibi regresyon analizi ile belirlenebilir.



Şekil 3.3. GPX1'in standart eğrisi

3.3.5. Hipoksi-İndüklenebilir Faktör 1 Alfa (HIF1- α)

3.3.5.1. Deney Prensibi

Enzime bağlı bir immünosorbent testi (ELISA) bu kitin amacıdır. İnsan HIF1- α antikoru plaka üzerinde önceden kaplanmıştır. Bir kez ekledikten sonra, numunenin HIF1- α 'sı kuyucuklardaki kaplanmış antikorlara bağlanır. Bunu takiben, biyotinile edilmiş bir insan HIF1- α antikoru eklenir ve numunenin HIF1- α 'sına bağlanır. Bundan sonra, streptavidin-HRP eklenir ve biyotinile edilmiş HIF1- α antikoru buna bağlanır. Bir yıkama aşaması sonrasında, inkübasyondan sonra bağlanmamış streptavidin-HRP çıkarılır. Substrat çözeltisini ekledikten sonra, renk insan HIF1- α konsantrasyonu ile doğru orantılı olarak değişir. Asidik bir durdurma çözeltisinin eklenmesi işlemi sonlandırır ve absorbans 450 nm'de ölçülür. HIF1- α için kullanılan reaktifler Tablo 3.5'de gösterdik.

Tablo 3.5. HIF1- α testi için kullanılan reaktifler

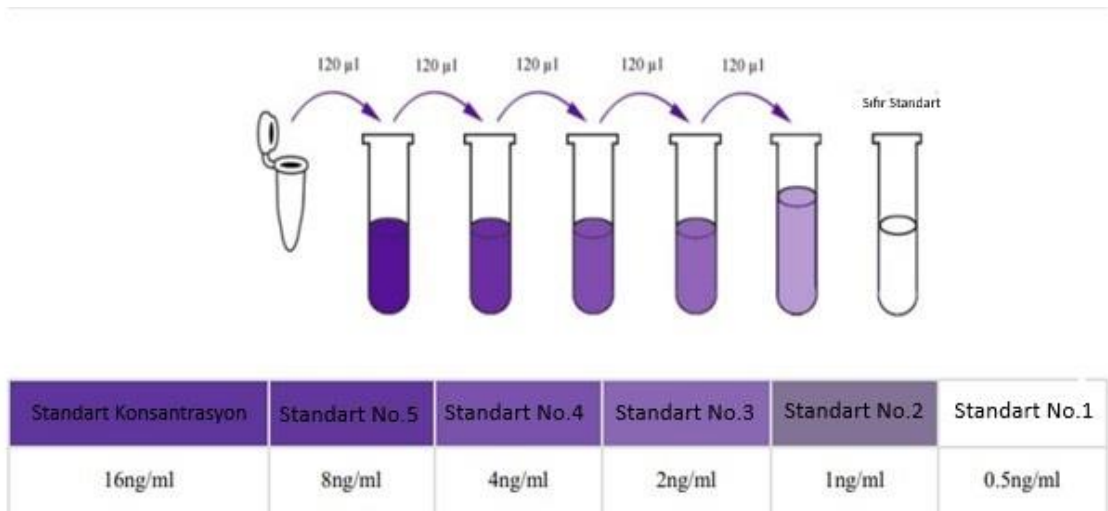
Bileşen	Miktar
Standart çözelti (960 μ U/mL)	0,5 ml x1
Önceden kaplanmış ELISA plakası	12 x 8 kuyulu şeritler x1
Standart seyreltici	3ml x1
Streptavidin-HRP	6ml x1
Çözümü durdur	6ml x1
Substrat çözeltisi A	6ml x1
Substrat çözeltisi B	6ml x1
Yıkama tamponu Konsantresi (25x)	20ml x1
Biyotinile İnsan GPX-1 antikoru	1 ml x1
Kullanıcı talimatı	2
Plaka kapatıcı	2 adet fotoğraf

3.3.5.2. Reaktif Hazırlama

Kullanmadan önce tüm reaktifler oda sıcaklığına getirilmelidir. Normal 8 ng/ml'lik standart bir stok çözeltisi oluşturmak için, standardın 120µl'ünü (16ng/ml) 120µl standart seyreltici ile sulandırdık. Seyreltme üretmeden önce, standardı hafif çalkalama ile 15 dakika beklettik. 4ng/ml, 2ng/ml, 1ng/ml ve 0.5ng/ml çözeltiler oluşturmak için standart stok çözeltisini (8ng/ml) standart seyreltici ile 1:2 oranında seri olarak seyrelttik. Kalan çözeltinin bir ay içinde kullanılması ve -20°C'de dondurulması gerekir.

Tablo 3.6. HIF1-α testi için önerilen standart çözeltilerin seyreltilmesi

8(ng/ml)	Standart No.5	120ul Orijinal standart + 120ul Standart seyreltici
4(ng/ml)	Standart No.4	120ul Standart No.5 + 120ul Standart seyreltici
2(ng/ml)	Standart No.3	120ul Standart No.4 + 120ul Standart seyreltici
1(ng/ml)	Standart No.2	120ul Standart No.3 + 120ul Standart seyreltici
0.5(ng/ml)	Standart No.1	120ul Standart No.2 + 120ul Standart seyreltici



Şekil 3.4. Standart çözeltilerin seyreltilmesi

Temiz Tampon Yıkama Tamponunu (20 ml) seyrelttik. 500 ml 1x yıkama Tamponu, deiyonize veya damıtılmış suda 25 kez konsantre edilerek elde ettik. Konsantrede kristaller oluşmuşsa, tamamen eriyene kadar hafif bir hareketle karıştırmak gerekmektedir.

3.3.5.3. Deney Prosedürü

Tüm reaktifler, standart çözeltiler ve numuneler talimatlara göre. Kullanmadan önce oda sıcaklığında olmalıdır. Deney için oda sıcaklığı kullanıldı.

Deney için gereken şerit miktarını belirledik. Kullanmak için şeritleri çerçevelerin içine yerleştirdik. Kullanılmayan şeritlerin 2 ila 8°C arasında tutulması gerekmektedir.

Standart kuyuya 50µl standart ekledik. Not: Standart çözeltiye antikor eklemedik çünkü standart çözelti zaten biyotinile antikor içerir.

Numune kuyucuklarını 40 µl numune ile doldurduk, ardından 10 µl İnsan HIF1-α antikoru, 50 µl streptavidin-HRP ve standart kuyucuklar (boş kontrol kuyusu değil) ile doldurduk. İyice karıştırdık. Plakaya bir dolgu macunu uyguladık. 37°C'de 60 dakika inkübe ettik.

Sızdırmazlık maddesini çıkardık ve plakayı beş kez yıkamak için yıkama tamponu kullandık. Her yıkama için, kuyuları 30 ila 60 saniye boyunca 300 µl yıkama tamponunda beklettik. Her bir kuyuyu aspire ettik veya boşalttık. Otomatik bir yıkama sistemi kullanıyorsanız beş kez yıkama tamponu ile yıkayın. Plakayı kağıt havlu veya emen başka bir madde kullanarak kuruladık.

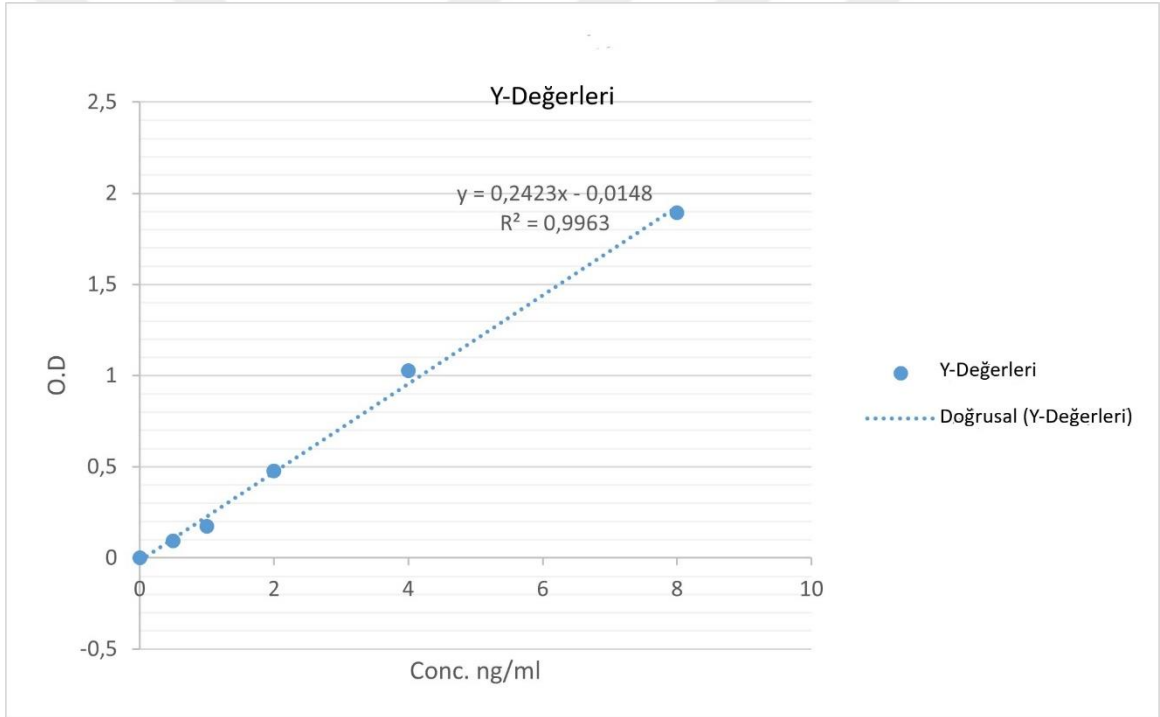
Her bir oyuga 50 µl substrat çözeltisi A ekledik, ardından 50 µl substrat çözeltisi B eklenmelidir.

Her oyuga 50µl durdurma çözeltisi eklendiğinde, mavi renk tonu anında sarıya dönüştü.

Durdurma çözeltisini ekledikten sonra, 10 dakika içinde, 450 nm'ye ayarlanmış bir mikropłaka okuyucu kullanarak her bir kuyucuğun optik yoğunluğunu (OD değeri) ölçüldü.

3.3.5.4. Sonuçların Hesaplanması

Yatay (X) eksenindeki konsantrasyona karşı dikey (Y) eksenindeki her standart için ortalama OD'yi çizerek standart bir eğri oluşturduk ve grafikteki noktalar boyunca en uygun eğriyi çizdik. Bu hesaplamalar en iyi şekilde bilgisayar tabanlı eğri uydurma yazılımı ile yapılandı.



Şekil 3.5. Hipoksi ile indüklenebilir faktör 1alfa'nın (HIF1-α) standart grafiğı.

3.4. İstatistiksel Analiz

Bu çalışmadan elde edilen veriler SPSS 22.0 paket programı (Statistical Package for Social Science, Chicago, IL, USA.) kullanılarak analiz edilmiştir. Verilerin normal bir dağılım izleyip izlemediğini incelemek için Shapiro-Wilk testi kullanıldı. Sayısal değişkenler için oluşturulan tanımlayıcı istatistikler, normal dağılım gösteren parametreler için ortalama $\pm$ standart sapma (Mean $\pm$ SD), normal olmayan dağılıma

sahip parametreler için medyan $\pm$ IQR (25. ve 75. persentil) (IQR: Çeyrekler arası aralık) olarak ifade edilmiştir. Çalışma G Power örneği için gereken minimum hasta sayısı.

Hesaplamak için hesaplama yazılımı (sürüm 3.1.9.4) kullanıldı. Minimum örnek sayısını hesaplamak için 0.05'lik Tip I hata (α) ve 0.95'lik Tip II hata ($1-\beta$) kullanılmıştır. Sonuç olarak, bağımsız gruplarda t testi kullanılarak, her grup için minimum örneklem büyüklüğü 35 katılımcı (Cohen's f: 0.8) olarak belirlenmiştir. Çalışmada yer alan katılımcı sayısının her grupta başlangıçtaki 60'ın üzerine %20 oranında arttığı tespit edilmiştir.



4. BULGULAR

4.1. Hasta ve Kontrol Gruplarının Demografik Özellikleri

4.1.1. Yaş

Bu çalışmanın hasta grubu olarak Atatürk Üniversitesi Araştırma ve Uygulama Hastanesi Radyasyon Onkolojisi Anabilim Dalı'na Erzurum ve çevre illerden gelen ve yaşları 59 ile 85 arasında değişen (63.73 ± 9.27 yıl) 60 akciğer kanserli hasta dahil edildi. Araştırmanın kontrol grubunu Erzurum'da yaşayan ve herhangi bir kronik hastalığı olmayan 41-52 yaş arası 60 sağlıklı kişi gönüllü (45.73 ± 7.91 yıl) oluşturmuştur. Akciğer kanserli hastalar ile kontrol grubunun yaş ortalamaları karşılaştırıldığında tablo 4.1'de gösterildiği gibi istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı ($p < 0.05$).

Tablo 4.1. Hasta ve kontrol grubunun yaş ortalaması

	Hasta (n=60)	Kontrol (n=60)
Ort $\pm$ SS	63.73 ± 9.27	45.73 ± 7.91
Medyan (IQR)	62.00 (41.00 - 85.00)	43.00 (41.00 - 52.00)
min –maks	41.00-85.00	34.00-61.00 arası
*p değeri	=0,0001	

Ort $\pm$ SS: ortalama $\pm$ standart sapma, IQR: inter quartile range.

4.1.2. Cinsiyet

Hastaların cinsiyetleri kadın ve erkek arasında istatistiksel olarak ($P \leq 0.05$) anlamlıydı. Erkek hastaların yüzdesi (% 95)iken, Kadın hastaların yüzdesi ise (%5) idi (Tablo 4.2).

Tablo 4.2. Hastalarda örneklem çalışmasının cinsiyete göre dağılımı

	n=60	%
Erkek	57	95
Kadın	3	5
Toplam	60	100%

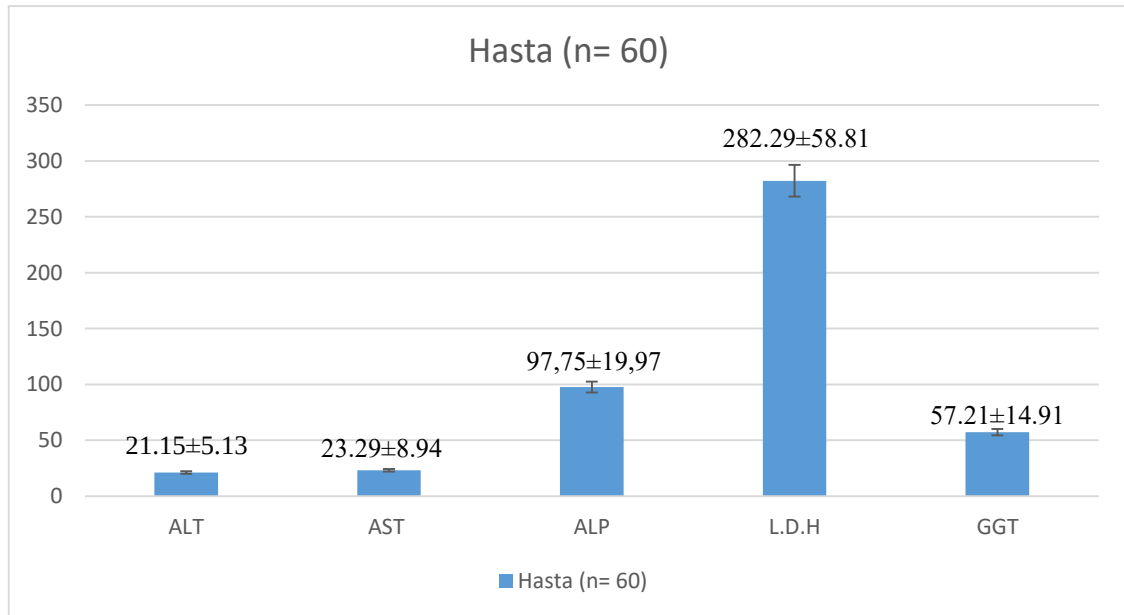
4.1.3. Hastalarda Karaciğer Enzimleri Sonuçları

Tablo 4.4 ve 4.5'te akciğer kanserli hastalarda karaciğer enzim düzeyleri (AST ve ALT, ALP, LDH, GGT) gösterilmiştir, hastalar arasında farklı düzeyler gözlenmiştir.

Şekil (4.1)'de gösterildiği gibi, ALT aktivite ortalaması (21.15 ± 5.13), AST aktivitesi ortalaması (23.29 ± 8.94), ALP aktivitesi ortalaması (97.75 ± 19.97), LDH aktivitesi ortalaması (282.29 ± 58.81) ve GGT aktivitesi ortalaması (57.21 ± 14.91) olan hastalarda karaciğer enzimlerinin aktivitesi gösterilmiştir.

Tablo 4.3. Hastalarda karaciğer enzimlerinin aktivitesi

Parametre	ALT(U/L)	AST (U/L)	ALP(U/L)	LDH(U/L)	GGT(U/L)
Ortalama $\pm$ SD	21.15 ± 5.13	23.29 ± 8.94	97.75 ± 19.97	282.29 ± 58.81	57.21 ± 14.91
Medyan	25.8	27.5	139.3	139.3	53.6
Min-Max	12.89-51.9	11.21-38.4	49.38-238.1	164.3-495.2	36.5-135



Şekil 4.1. Hastalarda karaciğer enzimlerinin aktivitesi.

Tablo 4.4. Akciğer kanserli hastalarda karaciğer enzimleri düzeyleri

Hasta No.	ALT(U/L)	AST (U/L)	ALP(U/L)	L.D.H(U/L)	GGT(U/L)
1.	9.6	14	70.2	187.3	67.2
2.	31	23	75	213	34
3.	17.4	23.1	72	217	50
4.	6	15.7	79.1	231.8	27.5
5.	27	24	126	231	34
6.	28.7	31.9	91.2	228	68.3
7.	7.5	18.2	100	353	85
8.	8.4	15.9	112	400	75
9.	22.5	21.4	82	319	63
10.	57	32	141	164	60.1
11.	76	60	153	232	58.3
12.	26.3	18.3	125	290	83.3
13.	37	17	117	473	73.6
14.	29.4	25.1	125	378	80.3
15.	9,4	19.5	130	274	58.2
16.	41.3	26.5	110.6	291	39
17.	25.1	21.5	86	273	40
18.	9.3	21,6	97	354.1	12.6
19.	27.5	17.4	71.3	380	18
20.	51.9	27.9	238	327	22.9
21.	14.9	25.4	93.4	304.4	76
22.	29.3	31.5	133	307	65
23.	20.6	18.6	137	375	56
24.	9.8	14.4	50.5	264.9	44
25.	14	15	79	190	25.6
26.	30	20.7	85	315.4	50.1
27.	19	14	141	179	68
28.	16.3	22.1	116	276.3	56.7
29.	19.9	28.7	100	292.4	17.9
30.	6.6	18.2	69.7	216.5	135
31.	15.3	22.1	55.4	211	20.6
32.	25.6	31.3	63.2	154	76.6
33.	17.4	22.5	100	265	78.1
34.	21.9	27.5	123.7	301.3	84.1
35.	22.9	22.1	155	435	43.9
36.	21.5	19.5	143	367	68
37.	30.1	18.2	122	154	98

Tablo 4.4. (Devamı)

Hasta No.	ALT(U/L)	AST (U/L)	ALP(U/L)	L.D.H(U/L)	GGT(U/L)
38.	37.2	22.8	132	132	11.2
39.	19.2	26.1	162	122	43.6
40.	21.1	44,9	122.1	187	57.8
41.	13.4	19,2	133	167	66.4
42.	12.1	17.3	43	154	76
43.	24.6	18.5	23	432	89.1
44.	24	29.9	67	435	101.6
45.	39.4	34.7	78	237.8	19.6
46.	27.6	35.3	56	233	23.9
47.	20.5	15.9	23	321.6	66.9
48.	22.7	25.1	67	345	70.1
49.	23	38.4	88	423	74.3
50.	10.4	25.3	29	267	33.7
51.	37	22	87	297	56.9
52.	6	14	65	240	23.7
53.	13	14	56	234.3	67.9
54.	5	10	134	495	86.9
55.	18	29	170	309	73.2
56.	15	23.1	76	397	74.1
57.	15.3	27.1	52	326	51.8
58.	4	8	60	271	46.9
59.	31.5	35.1	78	211.5	48.7
60.	21.5	22.4	90	276	54.3

4.1.4. Akciğer Kanseri Hastalarının Metastaz Durumu

Hastalığın evrelemesi iki kısma ayrılır: Metastatik Olmayan ve Metastatik olan. Metastatik olmayanlar Evre I-III olarak ayrılırken, metastatik olanlar Evre IV olarak alındı. Çalışmamızda metastatik olmayan 59 (Evre I-III) hasta bulunurken metastatik 1 hasta (Evre IV) bulundu.

Tablo 4.5. Akciğer kanserli hastaların metastaz durumları

	Metastatik olmayan (n=59)	Metastatik (n=1)
Evre I	9	–
Evre II-III	50	–
Evre IV	1	1

4.2. Hasta ve Kontrol Gruplarının Serum Glutatyon Peroksidaz 1 (GPX-1)

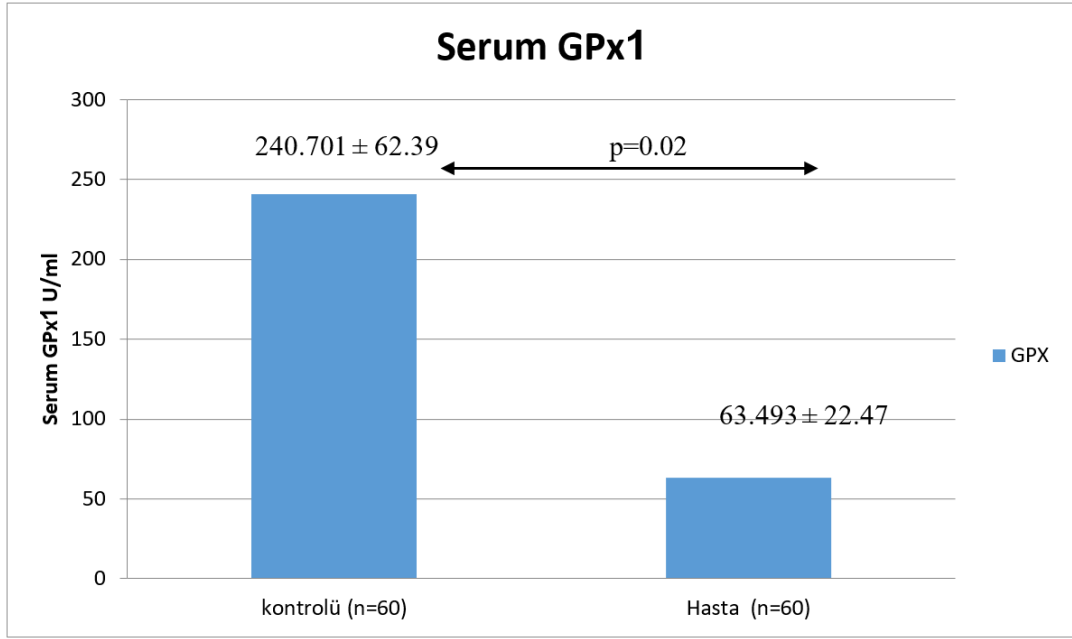
Konsantrasyonları

Tablo 4.5 Şekil 4.2'de gösterildiği gibi, GPX1 konsantrasyonunun kontrol grubuna (240.701 ± 62.39) kıyasla hastalarda (63.493 ± 22.47) anlamlı ($P < 0.05$) azaldığı akciğer kanseri hastalarında serum GPX-1 konsantrasyonlarını göstermektedir.

Tablo 4.6. İncelenen gruplarda serum GPX-1 konsantrasyonu

Parametre	Kontrol (n=60)	Hasta (n=60)
Ortalama $\pm$ SD	240.701 ± 62.39	63.493 ± 22.47
Medyan	152	43
Min-Max	177.0-303.0	40.0-86.0
P-Değeri	P=0.02	

p: Hasta ve kontroller arasında



Şekil 4.2. İncelenen gruplarda serum GPX-1 (U/ml) düzeyleri

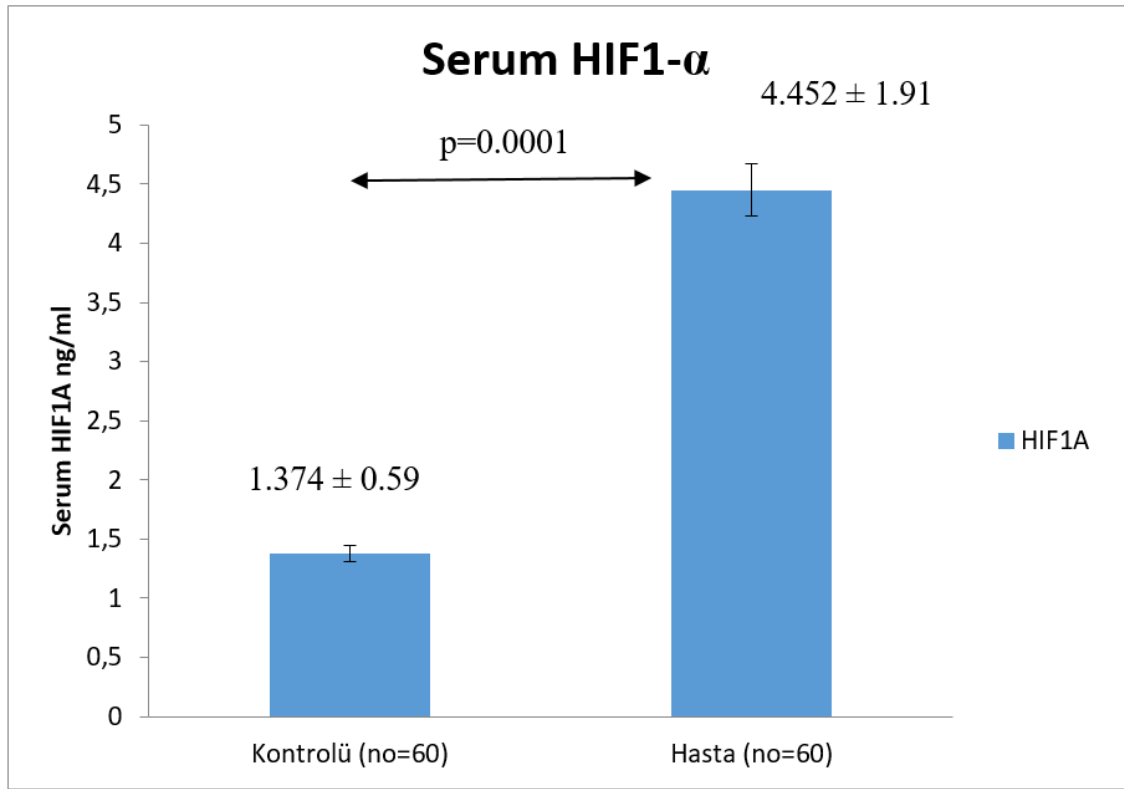
4.3. Hasta ve Kontrol Gruplarının Serum HIF1- α Konsantrasyonları

Tablo 4.6, Şekil 4.3'te gösterildiği gibi, kontrol grubuna (1.374 ± 0.59) kıyasla hastalarda (4.452 ± 1.91) HIF1- α konsantrasyonunun anlamlı ($P < 0.05$) yüksek olduğu akciğer kanseri hastalarında HIF1- α konsantrasyonlarını göstermektedir.

Tablo 4.7. Çalışılan gruplarda serum HIF1- α konsantrasyonu

Parametre	Kontrol (n=60)	Hasta (n=60)
HIF1 - α (ng/ml)	$1,374 \pm 0,59$	4.452 ± 1.91
Medyan	0.982	3.181
Min-Max	0.784-1.964	2.542-6.362
P-Değeri	P=0.0001	

p: Hasta ve kontroller arasında



Şekil 4.3. İncelenen gruplarda serum HIF1- α düzeyleri

Tablo 4.8. Hasta ve kontrol gruplarının serum GPX-1 ve HIF1-α konsantrasyonları

	GPx-1 (U/mL)		HIF1-α (ng/mL)	
	Hasta (n=60)	Kontrol (n = 60)	Hasta (n=60)	Kontrol (n=60)
Ort ± SS	63.493 ± 22.47	240.701 ± 62.39	4.452 ± 1.91	1,374 ± 0,59
Medyan (IQR)	43 (32.00 - 79.00)	152 (128.00 - 287.00)	3,181 (2,38 - 5,61)	0,982 (0,75 - 1,65)
Min –Max	40.0-86.0	177.0-303.0	247.00 - 12628.00	0.784-1.964
p değeri	=0,05*		=0,05*	

p<0.05 hasta ve kontrollerin karşılaştırılmasında istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi, Ortalama ± SD: ortalama±standart sapma, IQR: çeyrekler arası aralık

4.4. Korelasyon

Tablo (4.8), HIF1- α, yaş, cinsiyet ve GPx-1 ilişkisinin çalışıldığı mevcut çalışmanın bazı parametreleri arasındaki ilişkileri göstermektedir.

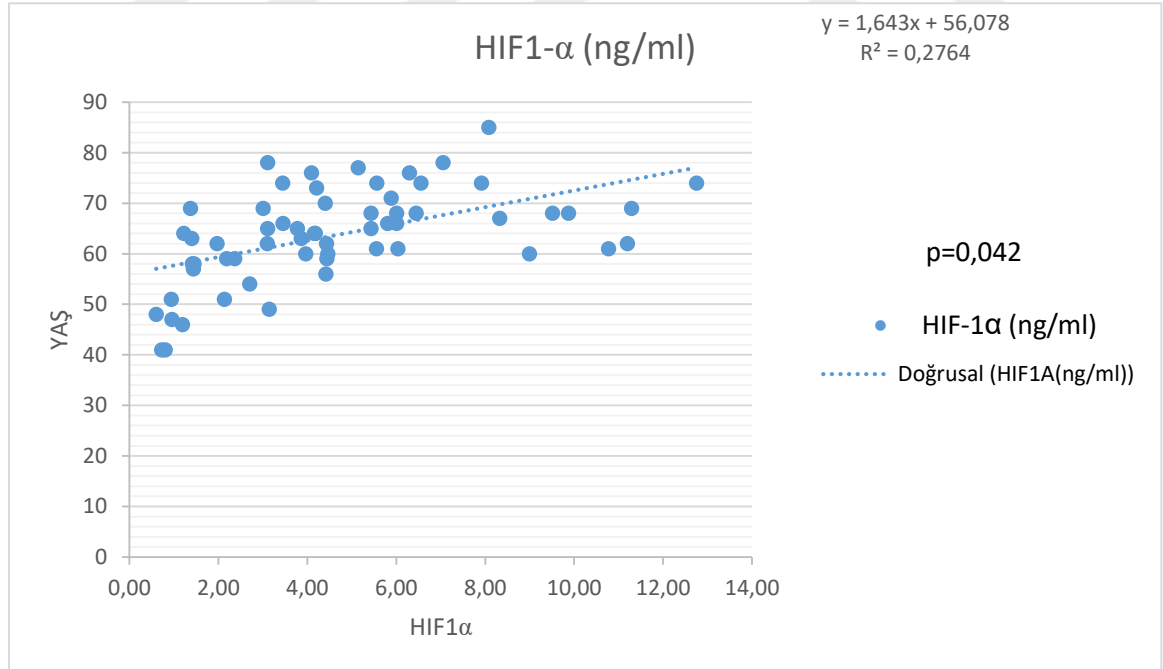
Akciğer kanserli hastaların serum HIF1-α ve GPX-1 değerleri arasındaki ilişki incelendiğinde, bu iki parametre arasında negatif korelasyon gözlemlendi (r: -0.1058;

$p < 0.05$). Akciğer kanserli hastaların serum HIF1- α ve yaş değerleri arasındaki ilişki incelendiğinde, bu iki parametre arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulundu (r : 0.3918; $p > 0.05$). Akciğer kanserli hastaların serum HIF1- α ile cinsiyet değerleri arasındaki ilişki incelendiğinde, bu iki parametre arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmadı (r : 0.1226; $p > 0.05$). Akciğer kanserinde GPX-1 ile yaş ve cinsiyet konsantrasyonları arasındaki ilişki Tablo 4.8'de gösterilmiştir.

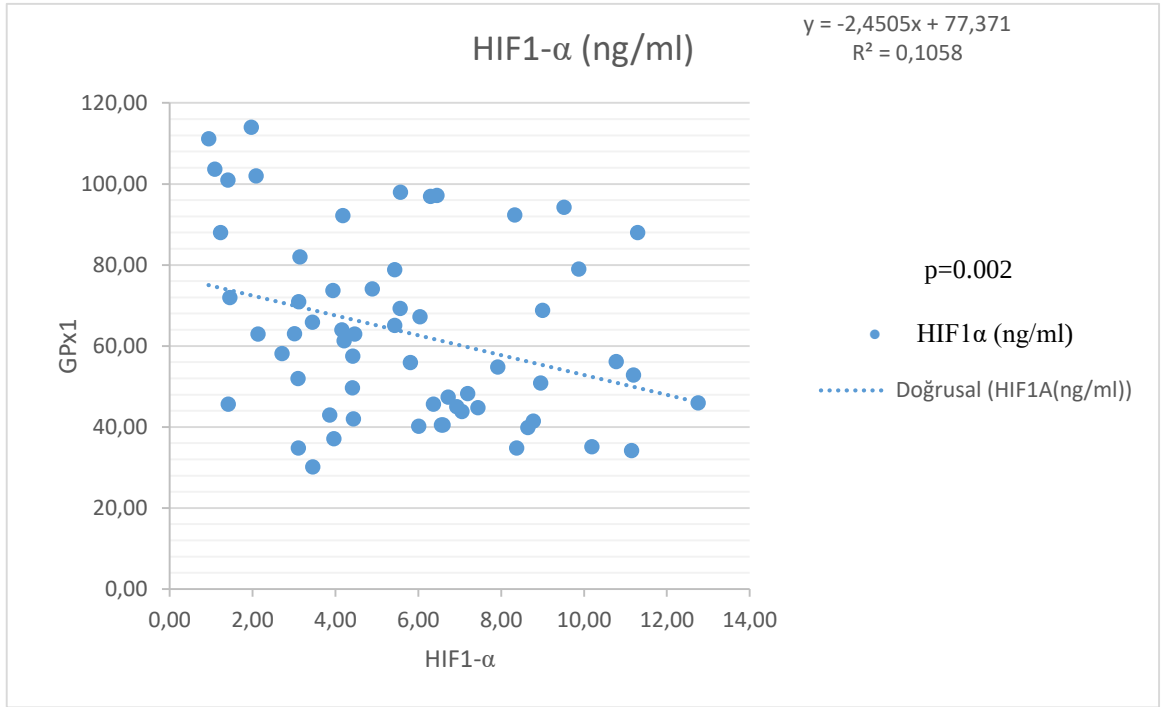
Tablo 4.9. Çalışılan parametreler arasındaki korelasyonlar

	GPX-1 (U/mL)		HIF1- α (ng/mL)	
	r	p	r	p
YAŞ	0.1117	0.072	0.3918	0.042
Cinsiyet	0.8911	0.001	0.1226	0.135
GPX-1	-	-	0.1058	0.002

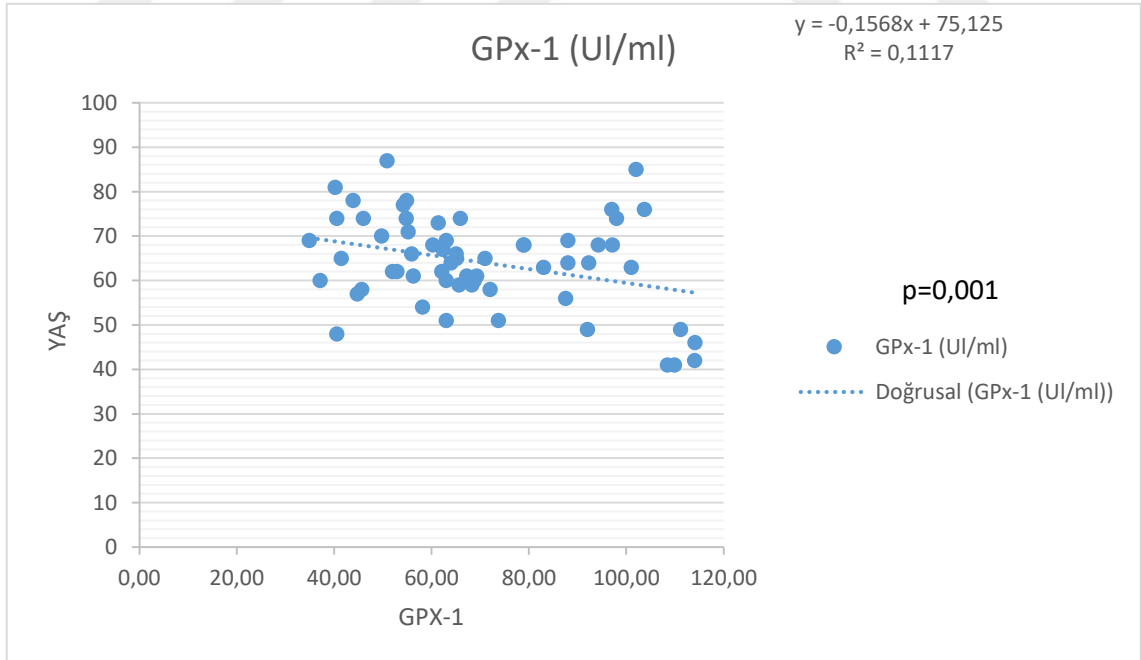
* $p < 0.05$ değişkenlerin korelasyon analizinde istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi, r: Korelasyon



Şekil 4.4. Akciğer kanseri hastalarında HIF1- α (ng/mL) ile yaş arasındaki korelasyon



Şekil 4.5. Akciğer kanseri hastalarında HIF1-α (ng/mL) ve GPx-1 (U/mL) arasındaki korelasyon



Şekil 4.6. Akciğer kanseri hastalarında GPx-1 ile yaş arasındaki korelasyon

5. TARTIŞMA

Yaş dağılımına göre 60 hastanın 41'inin (%68.3) 60 yaşından büyük olduğu saptandı. Bu oran önceki araştırmalara göre marjinal olarak daha yüksekti (Akl ve ark., 2013; Hussein & Karadakh, 2018). Irak gibi gelişmekte olan ülkelerde daha uzun yaşam beklentisi bunu açıklamaya yardımcı olabilir. Dünyanın dört bir yanından çok sayıda yazar da bulgulara katılmıştır (Karlıkaya & Cakir Edis, 2005; Khoshnaw ve ark., 2015; Suliman ve ark., 2006). Ek olarak, mevcut bulgu Al-alusi (2002) ve Al-Kafaji (2004) tarafından yapılan önceki araştırmalarla tutarlıdır. Çoğu yetişkin malignitenin insidans oranlarının yaşla birlikte katlanarak arttığı ve kanserlerin çoğunun yaşamın altıncı, yedinci ve sekizinci on yıllarında geliştiği yaygın olarak kabul edilmektedir (Al-Rahim, 2007)

Görüldüğü gibi (Tablo 4.2) araştırmanın yaş dağılımı, incelenen hastaların çoğunun 60 yaş ve üzerinde olduğunu göstermektedir. Bu sonuç, çalışmalarındaki katılımcıların çoğunun 50 yaşından büyük olduğunu tespit eden Qian ve Hou'nun (2016) bulgularıyla uyumludur. Ek olarak, Weiss ve ark. (2017), çalışma katılımcılarının çoğunluğunun altmış yaşın üzerinde olduğunu bulmuşlardır (Weiss ve ark., 2017). Farklı bir çalışma (Tang ve ark., 2017), örneklemin büyük kısmının yaş grubuna (51-60 yaş) ait olduğunu keşfetti.

Erkek-kadın oranı (%95) Mısır ve Irak'ta yapılan araştırmalarla karşılaştırıldı, bu da bu ülkelerdeki kadınların daha az sigara içmesi ve daha az endüstriyel ve çevresel kirlenmeye maruz kalmasıyla açıklanabilir (Akl ve ark., 2013; Khoshnaw ve ark., 2015). Sigara içme açısından, tüm patolojik kategorilerde, hastaların yaklaşık %91.9'u ya sigara içiyordu ya da daha önce sigara içme öyküsü vardı (geçmişte sigara içenler ve eski sigara içenler), daha önce çok sayıda çalışmanın gösterdiği gibi (Jemal ve ark., 2011; Rawat ve ark., 2009). Akciğer kanseri, 1980-1984 döneminde Iraklı erkekler arasında mesane

kanserinden (%13.1) sonra (MOH 1997) en sık görülen ikinci kanserdi (%11.9). İnsidans ve prevalanstaki bu artış, büyük olasılıkla sigara içen erkek sayısındaki artış veya günlük tüketimdeki artışın bir sonucu olarak erkeklerde de gözlenmiştir.

Sigara içmek tüm akciğer kanseri vakalarının %80 ila %90'ını oluşturur ve önlenmesi tedavi etmekten daha kolaydır. Öksürük en sık görülen klinik bulgu olup, bunu hemoptizi (%64.1), dispne (%48.2) ve göğüs ağrısı (%20.8) izlemektedir. Bu bulgular diğer tüm çalışmalarla uyumludur ve tıp ve cerrahi ders kitaplarında bulunanlarla aynıdır. Sigara içenlerin ve içmeyenlerin yüzdeleri sırasıyla %91.7 ve %8.3'tür. Bu sonuçlar, hem sigara içenlerin hem de sigarayı bırakmış olanların yüzdelerinin %88 ile %90.2 arasında değiştiği, diğer Irak çalışmalara göre daha yüksektir; bu sonuçlar veri toplama yöntemi ile ilgili olabilir (Al-Kafaji, 2004).

Bu çalışmadaki hastaların yaptıkları iş türü açısından, bulgular, hastaların çoğunluğunun emekli bireyler olduğunu, işsizlere ek olarak toplamın %60'ını oluşturduğunu ve sonuçta düşük aylık gelirli insanlar oldukları anlamına geldiğini göstermiştir. Aylık gelir, hastaların öz bakımı ne kadar iyi anladıkları üzerinde bir etkiye sahip olabilir; Yoksulluğun, kanser riskini artırabilecek ve ailenin mali kısıtlamaları nedeniyle erken teşhisi erteleyebilecek önemli bir risk faktörü olduğu düşünülmektedir. Cancer Research UK (2012) makalelerinde bu bulguyu desteklemektedir. Çalışma, düşük ve orta gelirli ülkelerde kanser prevalansı arttıkça dünya çapında kanser ve kansere bağlı ölüm riskinin arttığını keşfetti (Al-Kafaji, 2004).

Hastalara ayrıca, sağlıklı kontrollerle karşılaştırıldığında akciğer kanseri hastalarının ALT aktivitesinde herhangi bir değişiklik olmadığı da gösterilmiştir, Tablo (4.4)' de gösterildiği gibi sağlıklı kontrolle karşılaştırıldığında AST aktivitesinde anlamlı bir değişiklik olmazken; bu enzimatik değişiklikler, karaciğer metastazı olarak adlandırılan kanser hücrelerinin karaciğere yayılmasından kaynaklanabilir ve yapılan

çalışmalar, kanserli hastaların %25-50'sinde karaciğer metastazı gözlendiğini göstermiştir, çünkü kanser genellikle karaciğere yayılır ve çift kanlanma nedeniyle kanser hücrelerinin çoğalması için uygun bir koşul sağlar (Vogl ve ark., 2015) ve ALT aktivitesindeki bu önemli farklılıklar, bu enzimin karaciğerde, akciğerlerde ve diğer organlarda eser miktarda bol olmasından kaynaklanıyor olabilir (Luke ve ark, 2015), AST, karaciğer ve böbrekler gibi vücudun diğer organlarına kıyasla kalpte büyük miktarlarda atar (Gowda ve ark., 2009).

Giderek artan sayıda klinik çalışma, GGT, LDH ve kötü sağkalım oranı arasında bir ilişki olduğunu göstermiştir (Del Bello ve ark., 1999). Daha önce, Staudigl ve ark. (2015), serum GGT düzeylerinin metastazı olan meme kanseri hastaları için ayrı bir prognostik parametre olarak hizmet edebileceğini göstermiştir (Staudigl ve ark., 2015). 411 intrahepatik kolanjiokarsinom hastasının analizinde, Yin ve ark. (2013), yüksek serum GGT düzeylerinin invaziv tümör davranışlarını tahmin etmek için zayıf bir prognostik gösterge olarak hizmet edebileceğini bulmuşlardır (Yin ve ark., 2013). Yang ve ark. (2015) 639 hastada serum ALT, ALP, LDH ve GGT düzeylerinin kötü prognoz ve yüksek dereceli özofagus epitelyal displazisi gelişimi ile ilişkili olduğunu göstermiştir (Yang ve ark., 2015). Venöz tümör trombüslü metastatik olmayan renal hücreli karsinomu olan hastalarda, Luo ve ark. (2017), ameliyat öncesi GGT seviyelerinin bağımsız bir prognostik gösterge olarak hareket edebileceğini göstermiştir (Luo ve ark., 2017). Yüksek GGT düzeylerinin, yaşam tarzı ile ilişkili endometriyal kanser sağkalım biyobelirteci çalışmasında çok önemli bir risk faktörü olduğu gözlenmiştir (Edlinger ve ark., 2013). Mekanik olarak, tümör oluşumu açısından, yüksek GGT seviyeleri ve vasküler invazyon ile lenf nodu tutulumu arasında ilişki kurmak için kesin mekanizma bilinmemektedir (Seebacher ve ark., 2012). Metastatik aktivitenin, hücre dışı ve hücre içi GSH metabolizmasını düzenleyen melanomda GGT'nin aşırı ekspresyonu ile

desteklenebileceği öne sürülmüştür (Obrador ve ark., 2002). Yüksek GGT seviyelerinin bu yöntemle tümör büyümesini teşvik etmesi mümkündür. Çok sayıda rapor, yüksek serum GGT seviyeleri ile tümör başlangıcı, ilerlemesi, nüksü ve metastazı arasındaki bağlantıyı doğrulamış olsa da, GGT'nin karsinogenezdeki tam rolünü daha fazla açıklığa kavuşturmak için hala acil bir ihtiyaç vardır (Xia ve ark., 2016).

Sanayileşmiş ülkelerin çoğunda kanser, dünya çapında en yaygın ikinci ölüm nedeni ve ana morbidite ve mortalite nedenlerinden biri olarak yer almaktadır. Sigarada çok sayıda oksitleyici ajan, reaktif oksijen türü ve kanserojen madde bulunduğu bilinmektedir ve bir hücrenin DNA'sına, zarlarına ve makromoleküllerine zarar verebilir. Sigara katranı ve dumanında reaktif oksijen radikalleri üretmenin yanı sıra, sigara içmek antioksidan savunma mekanizmalarını bozarak oksidatif stresi şiddetlendirebilir. Tehlikeye atılmış bir antioksidan sistem, serbest radikallerin birikmesini teşvik edebilir. Daha yüksek bir kanser riskinin, hayati antioksidanların kan seviyelerinin azalmasıyla bağlantılı olduğu keşfedilmiştir (Diplock, 1991).

Antioksidan ağın çok işlevli nitelikleri ve uyarlanabilirliği, ağın dinamik etkileşimlerinin plazmayı çeşitli heterojen kaynaklardan gelen radikal saldırılara karşı ne kadar iyi koruduğunu göstermektedir. Glutatyon öncelikle radikal reaksiyonların otokatalitik yayılmasını önleyen zincir kıran bir antioksidan olarak işlev görür (Sivalokanathan ve ark., 2006). Sağlığın varsayılan bir belirteci ve metabolik bir düzenleyici olarak GSH, geniş çapta dağılmış bir hücrel indirgeyicidir. Kan glutatyon düzeylerinin morbidite ve ölümü öngördüğü düşünülmektedir. GSH, hücreleri serbest radikallere ve elektrofillere karşı savunmak için gereklidir. HO[•]'yi nötralize ederek, GSH doğrudan serbest radikal temizleyici olarak işlev görebilir (Lang ve ark., 1992).

Hem enzimatik hem de enzimatik olmayan antioksidanlar, glutatyon peroksidazlar (GPX'ler) yenilenirler. GPX'ler, lipid hidroperoksitlerin ve H₂O₂'nin detoksifiye

edilmesinden sorumludur. Ksenobiyotiklerin veya oksidatif stres ürünlerinin detoksifikasyonunda, glutatyon-S-transferaz (GST) aktiviteleri doğrudan GSH'yi kullanır (Board ve diğerleri, 2013). Ayrıca GSH, glutaredoksin (GRX) enzimlerinin katalize ettiği tersinir glutatyonilasyon/deglutatyonilasyon süreçlerinde doğrudan kullanılır (Board & Menon, 2013). Ayrıca GSH, glutaredoksin (GRX) enzimlerinin katalize ettiği tersinir glutatyonilasyon/deglutatyonilasyon süreçlerinde doğrudan kullanılır (Hanschmann ve ark., 2013).

Tümör hücreleri daha fazla reaktif oksijen türü (ROS) ürettiğinden, glutatyon peroksidazlar (GPX'ler) gibi antioksidan savunmaları da aktive ederler. Grup PX'ler, işlem sırasında iki GSH molekülünü oksitlerken, su ve eşleşen lipid alkollerini üretmek için H_2O_2 , organik hidroperoksitler ve/veya lipid hidroperoksitlerin indirgenmesini katalize eden birkaç enzim ailesine ait enzimlerdir. İnsanlarda çeşitli dokularda sekiz GPX izozimine (GPX 1-8) sahip olduğu bulunmuştur. Bunlardan beşi, oksidatif strese karşı savunma için çok önemli olan selenoproteinlerdir (GPX 1-4 ve GPX6) (Margis ve ark., 2008).

Tehlikeye atılmış bir antioksidan sistem, serbest radikallerin birikmesini teşvik edebilir. Daha yüksek kanser riskinin, hayati antioksidanların kan seviyelerinin azalmasıyla bağlantılı olduğu keşfedilmiştir (Diplock, 1991). Öte yandan, kanser aktivitelerinin neden olduğu antioksidatif metabolizmadaki anormalliklerin antioksidan sistemi tehlikeye atmış olması akla yatkındır. Reaktif oksijen türlerini doğrudan uzaklaştırdıkları için SOD, CAT ve GPx gibi enzimler ana antioksidan enzimler olarak kabul edilir. Peroksit seviyelerini düşürerek veya ana antioksidan enzimler için sürekli bir metabolik ara ürün tedariki sağlayarak, ikincil antioksidan enzimler (GST gibi) reaktif oksijen türlerinin detoksifikasyonuna yardımcı olur. Antioksidanların hücre

ölümsüzleşmesi ve transformasyonunun yanı sıra karsinogenezin başlangıcını ve gelişimini önlediği gösterilmiştir (Halliwell & Gutteridge, 2015).

Liu ve ark. (2002), C vitamini, α - tokoferol, karotenoidler, glutatyon-Stransferaz ve GPX gibi çeşitli plazma antioksidanlarının tükenmesi, akciğer kanserinin birincil nedeni olan sigara içimi ile ilişkilendirilmiştir. Ayrıca, antioksidanlara karşı yaşa bağlı adaptif bir yanıt olduğu ve bunun da yalnızca oksidatif strese karşı bir etki sağlayamayan yaşlı sigara içenlerde plazma GPX aktivitesinde önemli bir azalmaya neden olduğu öne sürülmüştür (Hulea ve ark., 1995). Karsinogenez süreci boyunca ROS'un bazı enzimleri etkisiz hale getirebileceği düşünülmektedir (Dincer ve ark., 2007; Dursun ve ark., 2006). Benzer şekilde ileri klinik evreleri olan hastalarda bu enzimlerin aktivitesinde istatistiksel olarak anlamlı bir azalma bildirmiştir. Benzer şekilde, mevcut çalışmamız akciğer kanseri hastalarının SOD, CAT ve GPX aktivitelerinin kontrol grubununkinden önemli ölçüde daha düşük olduğunu bulmuştur (Manoharan ve ark., 2005; Namysłowski ve ark., 2003).

Çok sayıda araştırma, oksidatif stres ölçümlerinin kanser hastaları ve sağlıklı kontroller arasında farklılık gösterdiğini doğrulamıştır. Serum oksidatif stres göstergeleri, sağlıklı kişilerin yanı sıra iyi huylu meme tümörleri ve meme kanseri olanlarda (Feng ve ark., 2012). İyi huylu ve kötü huylu tümörleri olan hastalar, sağlıklı kontrollere kıyasla daha yüksek kan oksidatif stres parametreleri seviyelerine sahipti; Öte yandan, bu hastalar önemli ölçüde daha düşük antioksidan enzim seviyelerine sahipti. Tiroid, kolorektal ve özofagus kanserleri benzer sonuçlar göstermiştir (Huang ve ark., 2018; Wu ve ark., 2017).). Peddireddy ve ark. (2012), lipid peroksidasyonu ve DNA hasarını destekleyen oksidan/antioksidan dengesindeki bir başarısızlık, akciğer kanseri etiolojisinde daha yüksek oranda oksidatif stresin rol oynayabileceğini düşündürmektedir (Peddireddy ve ark., 2012). Önceki çalışmaya göre, akciğer kanseri hastaları ile sağlıklı kontroller

arasında ileri oksidasyon protein ürünü seviyelerinde önemli bir fark vardı (Korkmaz ve ark., 2014).

Küresel olarak, akciğer kanseri en ölümcül kanserlerden biridir. Çeşitli ilaçların bulunmasına rağmen, hasta sağkalımı düşük kalmaktadır. Hücre büyümesi, katı tümörlerde, özellikle tümör kütlesi içinde sıklıkla eksik olan yeterli oksijen kaynağına bağlıdır. Tümör hipoksisi, neoanjiyogenezi teşvik eder, bu da kanser hücrelerini kemoterapi ve radyasyona karşı daha dirençli hale getirir ve bu da agresif davranışı önceden bildirir (Tátrai ve ark., 2017). Mevcut çalışmaya göre, akciğer kanseri olan hastalarda önemli ölçüde daha yüksek serum HIF-1 α seviyeleri vardı. HIF-1 ve HIF-2, katı tümörlerin büyümesi ve hayatta kalması için kritik nükleer transkripsiyon faktörleridir ve ayrıca hipoksiye hücrel yanıtı koordine ederler. Hipoksi meydana geldiğinde, HIF-1 α , HIF-1 β bileşeni ile heterodimerize ederek tümör çekirdeğindeki hipoksi-yanıt elemanına (HRE) bağlanır. Bu şekilde, HIF-1, eritropoietin veya vasküler endotelial büyüme faktörleri (VEGF'ler) gibi anjiyogenez, göç ve sağkalımda rol oynayan bir dizi geni aktive eder (Semenza, 2013).

Bazı deneysel bulgular ve araştırmacıların HIF-1 α ile küçük hücreli dışı akciğer kanserinin prognozu ve malignitesi arasında olumlu bir korelasyon önermesine yol açmıştır. İmmünohistokimiyayı kullanarak, Andersen ve ark. (2011), evre I-III A NSCLC'li seçilmemiş 335 hastanın tümör ve stromal doku örneklerini evrelendirdi. Tümör hücrelerinde yüksek HIF-1 ekspresyonu olan hastaların, düşük HIF-1 ekspresyonu olan hastalara göre beş yıllık sağkalım oranının önemli ölçüde daha düşük olduğunu keşfettiler. Matrikste yüksek HIF-1 ekspresyonu olan hastalar, HIF-1 ekspresyonu düşük olan hastalara göre anlamlı derecede daha yüksek beş yıllık sağkalım oranına sahipti. Aynı zamanda, kötü prognozun skuamöz hücreli karsinom hücrelerinde yüksek HIF-1

ekspresyonu ve stromada düşük ekspresyonu ile yüksek oranda ilişkili olduğu keşfedildi (Andersen ve ark., 2011).

Yang ve ark (2016), akciğer kanserinde HIF-1 α 'nın prognostik işlevi hakkında ek bilgi edinmek için bir meta-analiz yaptılar. Üç araştırma (Hirami ve ark., 2004; Park ve ark., 2011; Qian & Hou, 2016) hiçbir ilişki ortaya koymadı, dört çalışma (Andersen ve ark., 2011; Enatsu ve ark., 2006; Huang ve ark., 2017; Swinson ve ark., 2004) NSCLC ve HIF-1 α arasında güçlü bir ilişki olduğunu göstermiştir. Alt grup analizi, büyük heterojenlik düzeyinin etnik köken ile açıklanabileceğini öne sürdü. Sonuç olarak, KHK dokularında HIF-1 α ekspresyonu pozitif olan hastaların, negatif HIF-1 α ekspresyonu olanlara göre daha kötü bir genel sağkalım oranına sahip olduğu belirlendi. Bu, HIF-1 α 'nın akciğer kanseri tedavisinde tedavi için uygun bir hedef ve aynı zamanda öngörücü bir biyobelirteç olabileceği anlamına gelir. Yukarıda bahsedilen çalışma, HIF-1 ve NSCLC arasında doğrudan bir bağlantı kurmaktadır, ancak birkaç çalışma, HIF-1 α 'nın bir dizi farklı gen ve kimyasal yoluyla vücut üzerinde dolaylı bir etkiye sahip olabileceğini keşfetmiştir. DNA metilasyonu (Wei ve ark., 2018) gibi tümör prognozunu tahmin etmek için moleküler özelliklerin kullanımı artmıştır (Shen ve ark., 2018).

Çok sayıda tümör, HIF prolin 4-hidroksilazların (EGLN'ler) ekspresyonu ile ilişkili bir prognoza sahiptir (Couvelard ve ark., 2008; Peurala ve ark., 2012; Xie ve ark., 2012). HIF-1 α parçalayıcı enzimler, EGLN1, EGLN2 ve EGLN3 tarafından kodlanan proteinler, HIF-1 α 'nın iki prolin kalıntısını (Pro-402 ve Pro-564) hidroksilleyebilir. Zhang ve ark. (2019), Kanser Genom Atlası'ndan alınan gen ekspresyon verilerini, erken evre KHK olan 1230 hastanın tümör dokusu örneklerinden alınan EGLN DNA metilasyon verileriyle birleştirerek metilasyon ve genel sağkalım arasındaki ilişkiyi inceledi. Araştırmalar, tümör dokularında HIF-1 α ve EGLN3 ekspresyonu arasında negatif bir korelasyon olduğunu ortaya koymuştur.

Chang ve ark. (2016), tümör nekrozu ile HIF-1 α 'nın aşırı ekspresyonu ve programlanmış ölüm 1 (PD-L1) arasındaki bağlantıyı araştırmak için 112 pulmoner pleomorfik karsinom (PPC) (Wang ve ark., 2023) ile bir deney yaptı. Bulgular, 122 hastanın 86'sında (veya %70.5) PD-L1 membran reaktivitesine sahipken, 122 PPC'nin 92'sinde (veya %75.4) HIF-1 α aşırı ekspresyonu olduğunu ortaya koydu.

Bu bulgular HIF-1 α ve PD-L1 ekspresyonu arasındaki ilişkiyi yeniden doğrulamıştır. Ancak PD-L1 ekspresyonunun tümörün bağışıklık sisteminden kaçma yeteneğini geliştirebileceğini ve ortalamanın altında klinik sonuçlara yol açabileceğini de gösterdiler. Guo ve ark. (2019) göre, bir dizi insan kanserinin, genel sağkalımın zayıf bir prognostik göstergesi ve yeni immünoterapi ilaçlarına olumlu yanıt vermenin öngörücü bir işareti olduğu düşünülen PD-L1'i aşırı eksprese ettiği gösterilmiştir. Hipoksik kanser hücrelerinde, bir transkripsiyon faktörü olan HIF-1 α , PD-L1 ekspresyonunu artırmak için PD-L1 promotöründeki hipoksi yanıt elemanına doğrudan bağlanır (Guo ve ark., 2019). Mesane, beyin, meme, serviks, kolon, endometriyum, akciğer, orofarenks, pankreas, deri ve mide insan kanserlerinde artan hasta mortalitesi, tümör biyopsilerinde HIF-1 α aşırı ekspresyonu ile bağlantılıdır (Semenza, 2010). Lenf nodu pozitif (Schindl ve ark., 2002) ve nodu negatif (Bos ve ark., 2003) olan hastalardan alınan örneklerin immünohistokimya analizi, meme kanserinde yüksek HIF-1 α seviyeleri göstermiştir. Lenf nodu durumuna bağlı olarak, tanısal meme kanseri örnekleri en yüksek HIF-1 α seviyelerini gösteren hastalar önemli ölçüde daha düşük sağkalım oranlarına sahipti. Düşüm negatif hasta sonuç tahmini için immünohistokimyasal tahlilleri standartlaştırma çabasıyla, yakın tarihli bir çalışma (Charpin ve ark., 2012), analiz edilen meme kanseri hastalarının %90'ından fazlasında hasta sonucunu tahmin edebilen HIF-1 α dahil olmak üzere beş belirteçten oluşan oldukça öngörücü bir imza keşfetti. HIF-2 α ayrıca kötü kanser sonuçları ve uzak nüks ile ilişkilendirilmiştir (Helczynska ve ark., 2008).

Ayrıca, yüksek HIF-1 α ekspresyonunun kansere bağılı ölümlerin çoğunu oluşturan akciğer, prostat, meme ve kolon karsinomları gibi çoklu kanser formlarıyla bağlantılı olduğu belgelenmiştir (Wachters ve ark., 2013). HIF-1 α ekspresyonu, tümörlerin anjiyogenezini, proliferasyonunu ve metabolizmasını etkileyebilir. Raporlara göre, hipoksi olduğunda, HIF-1 α seviyelerinde bir artış var. Bu da, VEGF yoluyla tümör anjiyogenezinde bir artışa yol açar ve tümör büyümesinde bir artışa, hipoksik alanların yayılmasına ve akciğer kanseri hastaları için kötü bir prognoza neden olur (Zhong ve ark., 1999).

Hipoksi, birçok katı tümör tipinin ortak bir özelliğidir. İntratümöral hipoksi, düşük oksijenli bir ortamda hayatta kalan, epitelyal-mezenkimal geçişe uğrayan, daha hareketli ve invaziv olan ve hipoksi ile indüklenebilir faktör-1 α (HIF-1 α) aktivasyonu tarafından yönlendirilen gen ekspresyonu değişiklikleri gösteren tümör hücrelerini seçer. Bu nedenle, HIF-1 α 'yı hedeflemek, tümör büyümesi için çok önemli olan çoklu yolları bozmak için çekici bir stratejidir. Bu çalışmada, hipoksinin akciğer kanserinde HIF-1 α 'nın S-glutasyonilasyonunu ve protein düzeylerini arttırdığını gösterdik. Bu etki, oksitlenmiş glutasyonun yanı sıra glutasyon tükenmesinin azaltılmasıyla önemli ölçüde önlenir, bu da S-glutasyonilasyonunun ve protein-glutasyon karışık disülfidlerin oluşumunun HIF-1 α protein seviyeleri ile ilişkili olduğunu gösterir (Jeon ve diğerleri, 2018). Ayrıca, glutaredoksin 1'i eksprese eden akciğer kanseri hücreleri, hipoksik koşullar altında HIF-1 α 'yı indüklemeye ve hipoksiye duyarlı genleri eksprese etmeye dirençlidir. Bu nedenle, tümör hipoksisi tarafından indüklenen HIF-1 α 'nın S-glutasyonilasyonu, yeni ilaçların geliştirilmesi için yeni bir terapötik hedef olabilir.

Bu çalışmada GPX-1 aktivitesinin yaşla birlikte azaldığı hipotezi araştırılmıştır. Yaş ve GPX aktivitesinin önemli ve bağımsız bir advers ilişkiye sahip olduğu bulundu. GPX aktivitesi ile yaş arasındaki ilişki, orta yaşlı katılımcıları (55-69 yaş) içeren bir

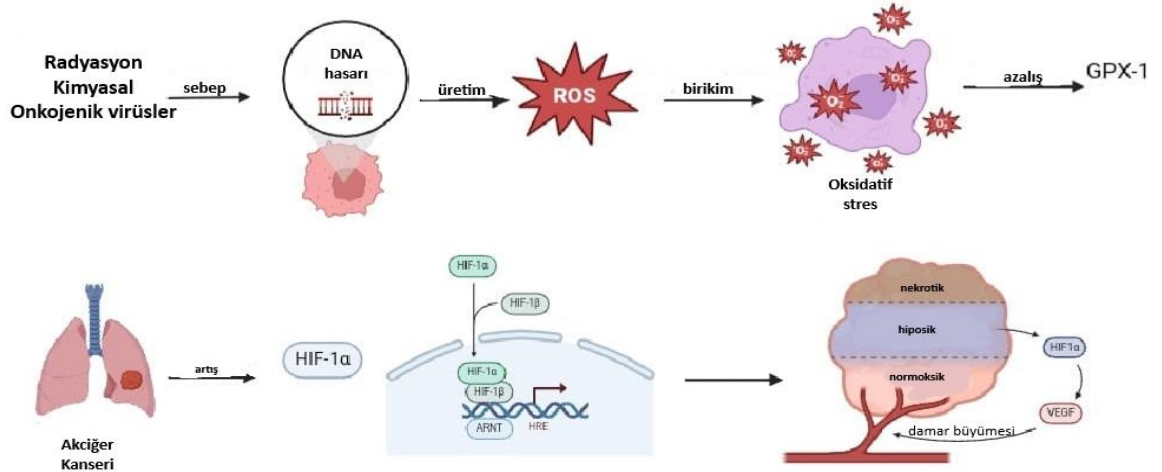
çalışmada bulunamamıştır (Mulholland ve ark., 1999); Öte yandan, 4-97 yaş arası katılımcıları içeren bir çalışma, GPX aktivitesinin 65 yaşına kadar nispeten sabit olduğunu ve bu noktada azalmaya başladığını ortaya koymuştur (Artur ve ark., 1992). Genç bireylere kıyasla daha yüksek miktarda hidrojen peroksit ve daha düşük GPX aktivitesi seviyeleri gösteren yaşlı kişilerden alınan nötrofillerin in vitro araştırmaları bu bulguyu doğrulamaktadır (Ito ve ark., 1998). Bu çalışmanın bulguları, GPX aktivitesindeki düşüşün, potansiyel olarak önemli karışıklıkları hesaba kattıktan sonra bile, 40 yaşın ötesinde önemli, istikrarlı ve yaşa bağlı olduğuna dair daha fazla kanıt sunmaktadır. Çok sayıda yerleşik GPX aktivitesi karıştırıcısını hesaba katma yeteneğimizin ve çalışmamızın ortalama yaşının daha önce atıfta bulunulan çok sayıda çalışmanın maksimum yaşı ile karşılaştırılabilir olmasının bir sonucu olarak, bu çalışma, yüksek serbest radikal seviyelerinden en çok etkilenen popülasyon segmentinde GPX aktivitesinin azaldığına dair önemli kanıtlar sunmaktadır (Åkesson & Steen, 1987).

Yaş, bir organizmanın hipoksiye dayanma yeteneğini etkiler. Bert (1870), genç hayvanların düşük oksijen seviyelerine olgun hayvanlardan daha dirençli olduğunu keşfetti. Yenidoğanların hem klinik hem de deneysel araştırmalarda gösterilen hipoksiye karşı kayda değer toleransının nasıl elde edildiği açık değildir (Bickler, 2004). HIF-1 α ve HIF-2 α protein ekspresyonu ve konsantrasyonunda yaşa bağlı değişiklikler gösterilmiştir (He ve ark., 2019). İnsanlar yaşlandıkça, miyokardlarının HIF-1 α seviyesi genç insanlara göre artmıştır.

Dişilerin erkeklerden daha fazla miktarda HIF1- α eksprese ettiğini bulduk, bu da bu hücrelerde daha yüksek PHD2 ekspresyonuna bağlı olabilir. Ayrıca, prostat kanseri hücre hatlarında ERb, HIF1- α 'yi stabilize edebilir (Dey ve ark., 2015). Kadınlarda, bu yollardan herhangi biri HIF1- α yükselmesine neden olabilir. Ancak özellikle, HIF1- α 'nin transaktivasyon yeteneğinin temel bir inhibitörü olan asparaginil hidroksilaz veya FIH,

kadınlarda çok daha düşük konsantrasyonlarda bulunur (Sim ve ark., 2018). Östrojenin FIH üzerindeki potansiyel etkisini araştırmak için hem erkeklere hem de kadınlara östrojen uygulandı. Sonuçlar, FIH mRNA seviyelerinde önemli bir düşüş gösterdi.

Tagawa ve ark. (2008), sigara içmek, inflamasyon, proteoliz ve oksidatif stres gibi bir dizi patolojik süreci şiddetlendirir ve bunların tümü pulmoner hücre düzensizliğine ve kronik obstrüktif akciğer hastalığının (KOAH) başlamasına neden olabilir. (Tagawa ve ark., 2008). Yasuo ve ark. (2011), HIF-1 α bu nedenle sigaraya bağlı akciğer patolojisinin patofizyolojisinde rol oynayabilir. Bu çalışmanın HIF-1 α aktivasyonunun ROS'a bağımlı olduğunu keşfetmesi bir başka yenilikçi bulgudur. Hem in vitro hem de in vivo sigara içmenin pulmoner dokularda ve hücrelerde oksidatif strese ve iltihaplanmaya neden olduğu gösterilmiştir. (Yasuo ve ark., 2011). Çok sayıda rapor, sigara içmenin oksidatif strese ve ROS oluşumuna neden olduğunu göstermektedir (Nyunoya ve ark., 2009), sigara içmenin oksidatif strese ve ROS oluşumuna neden olduğunu göstermektedir (Nyunoya ve ark., 2009), Sigara içme ve HIF-1 α arasındaki ilişkinin mevcut çalışmanın bulguları bu önceki araştırmalarla açıklanmaktadır. Ek raporlar, sigara içmeye maruz kalmanın HIF-1 α aktivitesini etkilediğini göstermektedir. Michaud ve ark. (2003), sigara maruziyeti, hipoksik ortamlarda HIF-1 α ekspresyonunu azalttığı için VEGF'yi bloke ederek anjiyogenezi engellemiştir. Öte yandan, Zhang ve meslektaşları (2007), tütün kullanımının birincil bileşeni olan nikotinin, insan KHDAK HIF-1 α proteininin birikmesini ve VEGF üretimini indüklediğini göstermiştir. Ayrıca, Sun ve ark. (2011), radyasyon ve kimyasal onkolojik virüsler skuamöz hücreli kanserde normoksik HIF-1 α aktivasyonunu arttırdığını göstermiştir (Zhang ve ark., 2007). Ayrıca, Sun ve ark. (2011), Radyasyon ve kimyasal onkolojik virüslerin skuamöz hücreli kanserde normoksik HIF-1 α aktivasyonunu arttırdığını göstermiştir (Sun ve ark., 2011).



Şekil 5.1. Radyasyon ve kimyasal onkolojik virüslerin etkileri ile GPX-1 ve HIF-1 α nın ilişkisi

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Sonuç

- Mevcut çalışmanın sonuçlarına dayanarak, erkeklerin kadınlara göre akciğer kanserine daha yatkın olduğu ve bunun sigara içilmesine ve erkeklerde kadınlara göre yüksek sigara içme oranına bağlı olabileceği bulunmuştur.
- Sonuçlarımıza göre akciğer kanserine karşı en savunmasız yaş grupları arasında 50 yaşın üzerindeki yer alırken, 50 yaşın altındaki yaş grupları en düşük yüzdeye sahiptir.
- Mevcut çalışma, GPX1'in akciğer kanseri hastalarında sağlıklı kontrollere kıyasla önemli ölçüde azaldığını ve GPX1'in akciğer kanserini değerlendirmek ve teşhis etmek için önemli bir faktör olarak kabul edilebileceğini bulmuştur.
- Sonuçlar, Hipoksi ile HIF1 α 'nın akciğer kanseri hastalarında sağlıklı kontrollere kıyasla anlamlı olarak daha yüksek olduğunu ve HIF1 α 'nın akciğer kanserini değerlendirmek ve teşhis etmek için önemli bir faktör olarak kabul edilebileceğini buldu.
- Çalışmamız, akciğer kanseri hastalarında GPX1 ve HIF1 α arasında güçlü bir negatif ilişki olduğunu gösterdi.

Öneri

- Akciğer kanseri hastalarında bazı hematolojik parametrelerin ve HIF1 α ile korelasyonlarının incelenmesi.
- Akciğer kanseri hastalarında GPX1 ve HIF1 α ekspresyonundan sorumlu bazı genlerin incelenmesi.
- Akciğer kanseri hastalarında bazı enzimatik ve hormonal parametrelerin tahmin edilmesi ve bunların GPX1 ve HIF1 α ile ilişkilendirilmesi.

KAYNAKLAR

- Åkesson, B., & Steen, B. (1987). Plasma selenium and glutathione peroxidase in relation to cancer, angina pectoris and short-term mortality in 68 year old men. In *Trace Elements in Man and Animals* 6 (pp. 357-358). Springer.
- Akl, Y. M., Emam, R. H., Sabry, I. M., & Ali, A. A. (2013). Clinico-pathological profile of bronchogenic carcinoma cases presented to Chest Department, Cairo University in the last 10 years. *Egyptian Journal of Chest Diseases and Tuberculosis*, 62(4), 705-712.
- Al-Kafaji, A. (2004). *Lung cancer in Iraq 2001-2003* A dissertation submitted to the College of Medicine–Bag. University: 65].
- Al-Rahim, Y. A. (2007). Lung Cancer in a sample of Iraqi patients. *Al-Kindy College Medical Journal*, 4(1), 53-59.
- Alberg, A. J., Brock, M. V., Ford, J. G., Samet, J. M., & Spivack, S. D. (2013). Epidemiology of lung cancer. *Chest*, 143(5), e1S-e29S.
- An, B. C., Jung, N.-K., Park, C. Y., Oh, I.-J., Choi, Y.-D., Park, J.-I., & Lee, S.-w. (2016). Epigenetic and glucocorticoid receptor-mediated regulation of glutathione peroxidase 3 in lung cancer cells. *Molecules and cells*, 39(8), 631-638.
- Andersen, S., Eilertsen, M., Donnem, T., Al-Shibli, K., Al-Saad, S., Busund, L.-T., & Bremnes, R. M. (2011). Diverging prognostic impacts of hypoxic markers according to NSCLC histology. *Lung Cancer*, 72(3), 294-302.
- Arslan, A., Demir, H., Ozbay, M. F., & Arslan, H. (2014). Evaluation of lipid peroxidation and some antioxidant activities in patients with primary and metastatic liver cancer. *Journal of Cancer Therapy*, 2014.
- Arsova-Saradinovska, Z., Matevska, N., Eken, A., Petrovski, D., Banev, S., Dzikova, S., Georgiev, V., Sikole, A., Erdem, O., & Sayal, A. (2009). Glutathione peroxidase

- 1 (GPX1) genetic polymorphism, erythrocyte GPX activity, and prostate cancer risk. *International Urology and Nephrology*, 41, 63-70.
- Arthur, J. (2001). The glutathione peroxidases. *Cellular and Molecular Life Sciences CMLS*, 57, 1825-1835.
- Artur, Y., Herbeth, B., Guémouri, L., Lecomte, E., Jeandel, C., & Siest, G. (1992). Age-related variations of enzymatic defenses against free radicals and peroxides. *Free radicals and aging*, 359-367.
- Bahnemiri, M. G., Mirabedini, S., Mohammadi, P., Barmaki, H., Qaffaripour, Z., Rezapour, M., & Alijanpour, M. (2022). Determination of serum alkaline phosphatase reference in healthy children aged 1-18 years. *Caspian Journal of Internal Medicine*, 13(4), 749.
- Bandarra, D., Biddlestone, J., Mudie, S., Müller, H.-A. J., & Rocha, S. (2015). HIF-1 α restricts NF- κ B-dependent gene expression to control innate immunity signals. *Disease models & mechanisms*, 8(2), 169-181.
- Barbone, F., Bovenzi, M., Cavallieri, F., & Stanta, G. (1997). Cigarette smoking and histologic type of lung cancer in men. *Chest*, 112(6), 1474-1479.
- Barta, J. A., Powell, C. A., & Wisnivesky, J. P. (2019). Global epidemiology of lung cancer. *Annals of global health*, 85(1).
- Bickler, P. E. (2004). Clinical perspectives: neuroprotection lessons from hypoxia-tolerant organisms. *Journal of Experimental Biology*, 207(18), 3243-3249.
- Board, P. G., & Menon, D. (2013). Glutathione transferases, regulators of cellular metabolism and physiology. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects*, 1830(5), 3267-3288.
- Bos, R., Van der Groep, P., Greijer, A. E., Shvarts, A., Meijer, S., Pinedo, H. M., Semenza, G. L., Van Diest, P. J., & Van der Wall, E. (2003). Levels of hypoxia-

- inducible factor-1 α independently predict prognosis in patients with lymph node negative breast carcinoma. *Cancer: Interdisciplinary International Journal of the American Cancer Society*, 97(6), 1573-1581.
- Brambilla, C., Laffaire, J., Lantuejoul, S., Moro-Sibilot, D., Mignotte, H., Arbib, F., Toffart, A.-C., Petel, F., Hainaut, P., & Rousseaux, S. (2014). Lung squamous cell carcinomas with basaloid histology represent a specific molecular entity. *Clinical cancer research*, 20(22), 5777-5786.
- Brambilla, E., Burke, A., Marx, A., Nicholson, A. G., & Travis, W. D. (2015). *WHO classification of tumours of the lung, pleura, thymus and heart*. International Agency for Research on Cancer.
- Brigelius-Flohé, R., & Flohé, L. (2020). Regulatory phenomena in the glutathione peroxidase superfamily. *Antioxidants & redox signaling*, 33(7), 498-516.
- Brigelius-Flohé, R., & Maiorino, M. (2013). Glutathione peroxidases. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects*, 1830(5), 3289-3303.
- Bruick, R. K., & McKnight, S. L. (2001). A conserved family of prolyl-4-hydroxylases that modify HIF. *Science*, 294(5545), 1337-1340.
- Büchner, F. L., Bueno-de-Mesquita, H. B., Ros, M. M., Overvad, K., Dahm, C. C., Hansen, L., Tjønneland, A., Clavel-Chapelon, F., Boutron-Ruault, M.-C., & Touillaud, M. (2010). Variety in fruit and vegetable consumption and the risk of lung cancer in the European prospective investigation into cancer and nutrition. *Cancer epidemiology, biomarkers & prevention*, 19(9), 2278-2286.
- Cabrera-Abreu, J. C., & Green, A. (2002). γ -Glutamyltransferase: value of its measurement in paediatrics. *Annals of clinical biochemistry*, 39(1), 22-25.

- Chang, Y.-L., Yang, C.-Y., Lin, M.-W., Wu, C.-T., & Yang, P.-C. (2016). High co-expression of PD-L1 and HIF-1 α correlates with tumour necrosis in pulmonary pleomorphic carcinoma. *European Journal of Cancer*, 60, 125-135.
- Charpin, C., Tavassoli, F., Secq, V., Giusiano, S., Villeret, J., Garcia, S., Birnbaum, D., Bonnier, P., Lavaut, M. N., & Boubli, L. (2012). Validation of an immunohistochemical signature predictive of 8-year outcome for patients with breast carcinoma. *International journal of cancer*, 131(3), E236-E243.
- Chen, D., Li, M., Luo, J., & Gu, W. (2003). Direct interactions between HIF-1 α and Mdm2 modulate p53 function. *Journal of Biological Chemistry*, 278(16), 13595-13598.
- Cheng, S.-C. (2014). mediated aerobic glycolysis as metabolic basis– α mTOR-and HIF-1. *Science*, 1250684, 345.
- Choi, C. W., Lee, J., Lee, H. J., Park, H.-S., Chun, Y.-S., & Kim, B. I. (2015). Deferoxamine improves alveolar and pulmonary vascular development by upregulating hypoxia-inducible factor-1 α in a rat model of bronchopulmonary dysplasia. *Journal of Korean Medical Science*, 30(9), 1295.
- Collino, M., Rogazzo, M., Pini, A., Benetti, E., Rosa, A. C., Chiazza, F., Fantozzi, R., Bani, D., & Masini, E. (2013). Acute treatment with relaxin protects the kidney against ischaemia/reperfusion injury. *Journal of cellular and molecular medicine*, 17(11), 1494-1505.
- Coté, M. L., Liu, M., Bonassi, S., Neri, M., Schwartz, A. G., Christiani, D. C., Spitz, M. R., Muscat, J. E., Rennert, G., & Aben, K. K. (2012). Increased risk of lung cancer in individuals with a family history of the disease: a pooled analysis from the International Lung Cancer Consortium. *European Journal of Cancer*, 48(13), 1957-1968.

- Couvelard, A., Deschamps, L., Rebours, V., Sauvanet, A., Gatter, K., Pezzella, F., Ruzsniwski, P., & Bedossa, P. (2008). Overexpression of the oxygen sensors PHD-1, PHD-2, PHD-3, and FIH Is associated with tumor aggressiveness in pancreatic endocrine tumors. *Clinical cancer research*, 14(20), 6634-6639.
- Cruz, C. S. D., Tanoue, L. T., & Matthay, R. A. (2011). Lung cancer: epidemiology, etiology, and prevention. *Clinics in chest medicine*, 32(4), 605-644.
- D'alessandro, A., Moore, H. B., Moore, E. E., Reisz, J. A., Wither, M. J., Ghasasbyan, A., Chandler, J., Silliman, C. C., Hansen, K. C., & Banerjee, A. (2017). Plasma succinate is a predictor of mortality in critically injured patients. *Journal of Trauma and Acute Care Surgery*, 83(3), 491-495.
- Deben, C., Deschoolmeester, V., De Waele, J., Jacobs, J., Van den Bossche, J., Wouters, A., Peeters, M., Rolfo, C., Smits, E., & Lardon, F. (2018). Hypoxia-induced cisplatin resistance in non-small cell lung cancer cells is mediated by HIF-1 α and mutant p53 and can be overcome by induction of oxidative stress. *Cancers*, 10(4), 126.
- DEL BELLO, B., Paolicchi, A., COMPORTI, M., Pompella, A., & MAELLARO, E. (1999). Hydrogen peroxide produced during γ -glutamyl transpeptidase activity is involved in prevention of apoptosis and maintenance of proliferation in U937 cells. *The FASEB Journal*, 13(1), 69-79.
- Derviş, E. (2011). Oral antioksidanlar. SB. *Haseki Eğitim Hastanesi, Dermatoloji Kliniği. Dermatolojik Dergisi*, 2 (1): 263, 267.
- Dey, P., Velazquez-Villegas, L. A., Faria, M., Turner, A., Jonsson, P., Webb, P., Williams, C., Gustafsson, J.-Å., & Ström, A. M. (2015). Estrogen receptor β 2 induces hypoxia signature of gene expression by stabilizing HIF-1 α in prostate cancer. *PLoS One*, 10(5), e0128239.

- Dincer, Y., Himmetoglu, S., Akcay, T., Ersoy, E. Y., Gunes, K. N., & Tortum, O. (2007). Prognostic significances of oxidative DNA damage evaluated by 8-hydroxydeoxyguanosine and antioxidant enzymes in patients undergoing resection of gastric and colon carcinoma. *Neoplasma*, 54(2), 131-136.
- Diplock, A. T. (1991). Antioxidant nutrients and disease prevention: an overview. *The American journal of clinical nutrition*, 53(1 Suppl), 189S-193S.
- Duntas, L. H., & Benvenga, S. (2015). Selenium: an element for life. *Endocrine*, 48, 756-775.
- Dursun, H., Bilici, M., Uyanik, A., Okcu, N., & Akyüz, M. (2006). Antioxidant enzyme activities and lipid peroxidation levels in erythrocytes of patients with oesophageal and gastric cancer. *Journal of international medical research*, 34(2), 193-199.
- Eckle, T., Brodsky, K., Bonney, M., Packard, T., Han, J., Borchers, C. H., Mariani, T. J., Kominsky, D. J., Mittelbronn, M., & Eltzschig, H. K. (2013). HIF1A reduces acute lung injury by optimizing carbohydrate metabolism in the alveolar epithelium. *PLoS biology*, 11(9), e1001665.
- Edlinger, M., Concin, N., Concin, H., Nagel, G., Ulmer, H., & Goebel, G. (2013). Lifestyle-related biomarkers and endometrial cancer survival: elevated gamma-glutamyltransferase as an important risk factor. *Cancer epidemiology*, 37(2), 156-161.
- Enatsu, S., Iwasaki, A., Shirakusa, T., Hamasaki, M., Nabeshima, K., Iwasaki, H., Kuroki, M., & Kuroki, M. (2006). Expression of hypoxia-inducible factor-1 alpha and its prognostic significance in small-sized adenocarcinomas of the lung. *European journal of cardio-thoracic surgery*, 29(6), 891-895.

- Epelman, S., Lavine, K. J., & Randolph, G. J. (2014). Origin and functions of tissue macrophages. *Immunity*, 41(1), 21-35.
- Feng, J.-F., Lu, L., Zeng, P., Yang, Y.-H., Luo, J., Yang, Y.-W., & Wang, D. (2012). Serum total oxidant/antioxidant status and trace element levels in breast cancer patients. *International journal of clinical oncology*, 17, 575-583.
- Fernandez-Bustamante, A., Klawitter, J., Wilson, P., Elkins, N. D., Agazio, A., Shibata, T., Uchida, K., Christians, U., & Repine, J. E. (2013). Early increase in alveolar macrophage prostaglandin 15d-PGJ2 precedes neutrophil recruitment into lungs of cytokine-insufflated rats. *Inflammation*, 36, 1030-1040.
- Filner, J. J., & Ost, D. (2008). Principles of staging as applied to nonsmall cell lung cancer. *Current opinion in pulmonary medicine*, 14(4), 287-291.
- Franken, B., De Groot, M. R., Mastboom, W. J., Vermes, I., van der Palen, J., Tibbe, A. G., & Terstappen, L. W. (2012). Circulating tumor cells, disease recurrence and survival in newly diagnosed breast cancer. *Breast Cancer Research*, 14, 1-8.
- Fuchs-Tarlovsky, V. (2013). Role of antioxidants in cancer therapy. *Nutrition*, 29(1), 15-21.
- Gecit, I., Aslan, M., Gunes, M., Pirincci, N., Esen, R., Demir, H., & Ceylan, K. (2012). Serum prolidase activity, oxidative stress, and nitric oxide levels in patients with bladder cancer. *Journal of cancer research and clinical oncology*, 138, 739-743.
- Glasauer, A., & Chandel, N. S. (2014). Targeting antioxidants for cancer therapy. *Biochemical pharmacology*, 92(1), 90-101.
- Gonzalez-Flores, J. N., Shetty, S. P., Dubey, A., & Copeland, P. R. (2013). The molecular biology of selenocysteine. *Biomolecular concepts*, 4(4), 349-365.

- Gowda, S., Desai, P. B., Hull, V. V., Avinash, A. K., Vernekar, S. N., & Kulkarni, S. S. (2009). A review on laboratory liver function tests. *The Pan african medical journal*, 3.
- Gökpınar, Ş., Koray, T., Akçiçek, E., Göksan, T., & Durmaz, Y. (2006). Algal Antioksidanlar. *Su Ürünleri Dergisi*, 23(1), 85-89.
- Gras, E., Belaidi, E., Briançon-Marjollet, A., Pépin, J.-L., Arnaud, C., & Godin-Ribuot, D. (2016). Endothelin-1 mediates intermittent hypoxia-induced inflammatory vascular remodeling through HIF-1 activation. *Journal of applied physiology*, 120(4), 437-443.
- Guo, R., Li, Y., Wang, Z., Bai, H., Duan, J., Wang, S., Wang, L., & Wang, J. (2019). Hypoxia-inducible factor-1 α and nuclear factor- κ B play important roles in regulating programmed cell death ligand 1 expression by epidermal growth factor receptor mutants in non-small-cell lung cancer cells. *Cancer science*, 110(5), 1665-1675.
- Gülçin, İ. (2002). Isırgan otunun (*Urtica dioica*) antioksidant aktivitesinin belirlenmesi, oksidatif enzimlerinin karakterizasyonu ve bazı in vivo etkilerinin incelenmesi.
- Habib, L. K., Lee, M. T., & Yang, J. (2010). Inhibitors of catalase-amyloid interactions protect cells from β -amyloid-induced oxidative stress and toxicity. *Journal of Biological Chemistry*, 285(50), 38933-38943.
- Halliwell, B., & Gutteridge, J. M. (2015). *Free radicals in biology and medicine*. Oxford university press, USA.
- Hamilton, W., Peters, T. J., Round, A., & Sharp, D. (2005). What are the clinical features of lung cancer before the diagnosis is made? A population based case-control study. *Thorax*, 60(12), 1059-1065.

- Hanschmann, E.-M., Godoy, J. R., Berndt, C., Hudemann, C., & Lillig, C. H. (2013). Thioredoxins, glutaredoxins, and peroxiredoxins—molecular mechanisms and health significance: from cofactors to antioxidants to redox signaling. *Antioxidants & redox signaling*, 19(13), 1539-1605.
- Hargitai, R., Kis, D., Persa, E., Szatmári, T., Sáfrány, G., & Lumniczky, K. (2021). Oxidative stress and gene expression modifications mediated by extracellular vesicles: an in vivo study of the radiation-induced bystander effect. *Antioxidants*, 10(2), 156.
- He, Y., Munday, J. S., Perrott, M., Wang, G., & Liu, X. (2019). Association of age with the expression of hypoxia-inducible factors HIF-1 α , HIF-2 α , HIF-3 α and VEGF in lung and heart of tibetan sheep. *Animals*, 9(9), 673.
- Helczynska, K., Larsson, A.-M., Holmquist Mengelbier, L., Bridges, E., Fredlund, E., Borgquist, S., Landberg, G., Pahlman, S., & Jirstrom, K. (2008). Hypoxia-inducible factor-2 α correlates to distant recurrence and poor outcome in invasive breast cancer. *Cancer research*, 68(22), 9212-9220.
- Hirami, Y., Aoe, M., Tsukuda, K., Hara, F., Otani, Y., Koshimune, R., Hanabata, T., Nagahiro, I., Sano, Y., & Date, H. (2004). Relation of epidermal growth factor receptor, phosphorylated-Akt, and hypoxia-inducible factor-1 α in non-small cell lung cancers. *Cancer Letters*, 214(2), 157-164.
- Honnorat, J., & Antoine, J.-C. (2007). Paraneoplastic neurological syndromes. *Orphanet journal of rare diseases*, 2, 1-8.
- Hosgood III, H. D., Boffetta, P., Greenland, S., Lee, Y.-C. A., McLaughlin, J., Seow, A., Duell, E. J., Andrew, A. S., Zaridze, D., & Szeszenia-Dabrowska, N. (2010). In-home coal and wood use and lung cancer risk: a pooled analysis of the

- International Lung Cancer Consortium. *Environmental health perspectives*, 118(12), 1743-1747.
- Hristova, M., & Penev, M. (2014). Oxidative stress and cardiovascular diseases. *Trakia Journal of Science*, 12(3), 296-303.
- Huang, J.-Q., Zhou, J.-C., Wu, Y.-Y., Ren, F.-Z., & Lei, X. G. (2018). Role of glutathione peroxidase 1 in glucose and lipid metabolism-related diseases. *Free Radical Biology and Medicine*, 127, 108-115.
- Huang, Q., Feng, J., Wu, R., Yang, Y., Dai, C., Li, J., Liao, Y., Xiang, M., Wang, D., & Du, X.-B. (2017). Total oxidant/antioxidant status in sera of patients with esophageal cancer. *Medical science monitor: international medical journal of experimental and clinical research*, 23, 3789.
- Hubert, N., Walczak, R., Sturchler, C., Myslinski, E., Schuster, C., Westhof, E., Carbon, P., & Krol, A. (1996). RNAs mediating cotranslational insertion of selenocysteine in eukaryotic selenoproteins. *Biochimie*, 78(7), 590-596.
- Hulea, S., Olinescu, R., Nita, S., Crocna, D., & Kummerow, F. (1995). Cigarette smoking causes biochemical changes in blood that are suggestive of oxidative stress: a case-control study. *Journal of environmental pathology, toxicology and oncology: official organ of the International Society for Environmental Toxicology and Cancer*, 14(3-4), 173-180.
- Hussein, Z. S., & Karadakh, K. A. (2018). Radiological and clinicopathological findings in large case series study of lung cancer in Erbil City/Iraq. *Medical Journal of Babylon*, 15(4), 391-395.
- Idelchik, M. d. P. S., Begley, U., Begley, T. J., & Melendez, J. A. (2017). Mitochondrial ROS control of cancer. *Seminars in cancer biology*,

- Ito, Y., Kajkenova, O., Feuers, R. J., Udupa, K. B., Desai, V. G., Epstein, J., Hart, R. W., & Lipschitz, D. A. (1998). Impaired glutathione peroxidase activity accounts for the age-related accumulation of hydrogen peroxide in activated human neutrophils. *The Journals of Gerontology Series A: Biological Sciences and Medical Sciences*, 53(3), M169-M175.
- Jaakkola, P., Mole, D. R., Tian, Y.-M., Wilson, M. I., Gielbert, J., Gaskell, S. J., Kriegsheim, A. v., Hebestreit, H. F., Mukherji, M., & Schofield, C. J. (2001). Targeting of HIF- α to the von Hippel-Lindau ubiquitylation complex by O₂-regulated prolyl hydroxylation. *Science*, 292(5516), 468-472.
- Jemal, A., Bray, F., Center, M. M., Ferlay, J., Ward, E., & Forman, D. (2011). Global cancer statistics. *CA: a cancer journal for clinicians*, 61(2), 69-90.
- Jiang, B.-H., Rue, E., Wang, G. L., Roe, R., & Semenza, G. L. (1996). Dimerization, DNA binding, and transactivation properties of hypoxia-inducible factor 1. *Journal of Biological Chemistry*, 271(30), 17771-17778.
- Jiang, H., Zhu, Y. S., Xu, H., Sun, Y., & Li, Q. F. (2010). Inflammatory stimulation and hypoxia cooperatively activate HIF-1 α in bronchial epithelial cells: involvement of PI3K and NF- κ B. *American Journal of Physiology-Lung Cellular and Molecular Physiology*, 298(5), L660-L669.
- Jiang, Z.-F., Wang, M., Xu, J.-L., & Ning, Y.-J. (2017). Hypoxia promotes mitochondrial glutamine metabolism through HIF1 α -GDH pathway in human lung cancer cells. *Biochemical and biophysical research communications*, 483(1), 32-38.
- Jones, D. R., & Detterbeck, F. C. (1998). Pancoast tumors of the lung. *Current opinion in pulmonary medicine*, 4(4), 191-197.
- Kabir, Z., Bennett, K., & Clancy, L. (2007). Lung cancer and urban air-pollution in Dublin: a temporal association? *Irish medical journal*, 100(2), 367-369.

- Kallio, P. J., Pongratz, I., Gradin, K., McGuire, J., & Poellinger, L. (1997). Activation of hypoxia-inducible factor 1 α : posttranscriptional regulation and conformational change by recruitment of the Arnt transcription factor. *Proceedings of the national academy of sciences*, 94(11), 5667-5672.
- Karlikaya, C., & Cakir Edis, E. (2005). Lung cancer histopathology in the Thrace region of Turkey and comparison with national data. *Tuberk Toraks*, 53(2), 132-138.
- Khoshnaw, N., Mohammed, H. A., & Abdullah, D. A. (2015). Patterns of cancer in Kurdistan-results of eight years cancer registration in Sulaymaniyah Province-Kurdistan-Iraq. *Asian Pac J Cancer Prev*, 16(18), 8525-8531.
- Kipp, A. P. (2017). Selenium-dependent glutathione peroxidases during tumor development. *Advances in cancer research*, 136, 109-138.
- Kondo, S., Toyokuni, S., Iwasa, Y., Tanaka, T., Onodera, H., Hiai, H., & Imamura, M. (1999). Persistent oxidative stress in human colorectal carcinoma, but not in adenoma. *Free Radical Biology and Medicine*, 27(3-4), 401-410.
- Korkmaz, G., Inal, B., Ortakoylu, G., Irmak, H., Kara, A., Gelisgen, R., Ogurlu, O., & Uzun, H. (2014). Changes in oxidative stress parameters and antioxidant status in lung cancer: Western blot analysis of nitrotyrosine and protein carbonyls content. *Clinical Laboratory*, 60(4), 599-607.
- Kouvaras, E., Christoni, Z., Siasios, I., Malizos, K., Koukoulis, G., & Ioannou, M. (2019). Hypoxia-inducible factor 1-alpha and vascular endothelial growth factor in cartilage tumors. *Biotechnic & Histochemistry*, 94(4), 283-289.
- Labrousse-Arias, D., Castillo-Gonzalez, R., Rogers, N. M., Torres-Capelli, M., Barreira, B., Aragonés, J., Cogolludo, A., Isenberg, J. S., & Calzada, M. J. (2016). HIF-2 α -mediated induction of pulmonary thrombospondin-1 contributes to hypoxia-

- driven vascular remodelling and vasoconstriction. *Cardiovascular research*, 109(1), 115-130.
- Lam, T. K., Ruczinski, I., Helzlsouer, K. J., Shugart, Y. Y., Caulfield, L. E., & Alberg, A. J. (2010). Cruciferous vegetable intake and lung cancer risk: a nested case-control study matched on cigarette smoking. *Cancer epidemiology, biomarkers & prevention*, 19(10), 2534-2540.
- Lando, D., Peet, D. J., Whelan, D. A., Gorman, J. J., & Whitelaw, M. L. (2002). Asparagine hydroxylation of the HIF transactivation domain: a hypoxic switch. *Science*, 295(5556), 858-861.
- Lang, C. A., Naryshkin, S., Schneider, D. L., Mills, B. J., & Lindeman, R. D. (1992). Low blood glutathione levels in healthy aging adults. *The Journal of laboratory and clinical medicine*, 120(5), 720-725.
- Li, B., Li, C., Zhu, M., Zhang, Y., Du, J., Xu, Y., Liu, B., Gao, F., Liu, H., & Cai, J. (2017). Hypoxia-induced mesenchymal stromal cells exhibit an enhanced therapeutic effect on radiation-induced lung injury in mice due to an increased proliferation potential and enhanced antioxidant ability. *Cellular Physiology and Biochemistry*, 44(4), 1295-1310.
- Li, H., Ko, H. P., & Whitlock, J. P. (1996). Induction of phosphoglycerate kinase 1 gene expression by hypoxia: Roles of ARNT and HIF1 α . *Journal of Biological Chemistry*, 271(35), 21262-21267.
- Li, J., Li, S. X., Gao, X. H., Zhao, L. F., Du, J., Wang, T. Y., Wang, L., Zhang, J., Wang, H. Y., & Dong, R. (2019). HIF1A and VEGF regulate each other by competing endogenous RNA mechanism and involve in the pathogenesis of peritoneal fibrosis. *Pathology-Research and Practice*, 215(4), 644-652.

- Li, Y., Jia, A., Wang, Y., Dong, L., Wang, Y., He, Y., Wang, S., Cao, Y., Yang, H., & Bi, Y. (2019). Immune effects of glycolysis or oxidative phosphorylation metabolic pathway in protecting against bacterial infection. *Journal of Cellular Physiology*, 234(11), 20298-20309.
- Lin, C.-S., Liu, T.-C., Lee, M.-T., Yang, S.-F., & Tsao, T. C.-Y. (2017). Independent prognostic value of hypoxia-inducible factor 1- α expression in small cell lung cancer. *International journal of medical sciences*, 14(8), 785.
- Liu, X. H., Yu, E. Z., Li, Y. Y., & Kagan, E. (2006). HIF-1 α has an anti-apoptotic effect in human airway epithelium that is mediated via Mcl-1 gene expression. *Journal of Cellular Biochemistry*, 97(4), 755-765.
- Lorenzo-Gonzalez, M., Torres-Duran, M., Barbosa-Lorenzo, R., Provencio-Pulla, M., Barros-Dios, J. M., & Ruano-Ravina, A. (2019). Radon exposure: a major cause of lung cancer. *Expert review of respiratory medicine*, 13(9), 839-850.
- Lu, L., Xu, H., Yang, P., Xue, J., Chen, C., Sun, Q., Yang, Q., Lu, J., Shi, A., & Liu, Q. (2018). Involvement of HIF-1 α -regulated miR-21, acting via the Akt/NF- κ B pathway, in malignant transformation of HBE cells induced by cigarette smoke extract. *Toxicology Letters*, 289, 14-21.
- Lubos, E., Loscalzo, J., & Handy, D. E. (2011). Glutathione peroxidase-1 in health and disease: from molecular mechanisms to therapeutic opportunities.
- Luo, C., Xu, B., Fan, Y., Yu, W., Zhang, Q., & Jin, J. (2017). Preoperative gamma-glutamyltransferase is associated with cancer-specific survival and recurrence-free survival of nonmetastatic renal cell carcinoma with venous tumor thrombus. *BioMed Research International*, 2017.
- MacRosty, C. R., & Rivera, M. P. (2020). Lung cancer in women: a modern epidemic. *Clinics in chest medicine*, 41(1), 53-65.

- Mahabir, S., Forman, M. R., Dong, Y. Q., Park, Y., Hollenbeck, A., & Schatzkin, A. (2010). Mineral intake and lung cancer risk in the NIH-American Association of Retired Persons Diet and Health study. *Cancer epidemiology, biomarkers & prevention*, 19(8), 1976-1983.
- Makino, Y., Cao, R., Svensson, K., Bertilsson, G., Asman, M., Tanaka, H., Cao, Y., Berkenstam, A., & Poellinger, L. (2001). Inhibitory PAS domain protein is a negative regulator of hypoxia-inducible gene expression. *Nature*, 414(6863), 550-554.
- Malhotra, J., Malvezzi, M., Negri, E., La Vecchia, C., & Boffetta, P. (2016). Risk factors for lung cancer worldwide. *European Respiratory Journal*, 48(3), 889-902.
- Manoharan, S., Kolanjiappan, K., Suresh, K., & Panjamurthy, K. (2005). Lipid peroxidation & antioxidants status in patients with oral squamous cell carcinoma. *Indian journal of medical research*, 122(6), 529.
- Mans, D. R., Frierson, P., Pawirodihardjo, J., & Djotaroeno, M. (2022). Phenolic compounds and antioxidant activities of eight species of fabaceae that are commonly used in traditional medical practices in the republic of Suriname. In *Medicinal Plants*. IntechOpen.
- Margis, R., Dunand, C., Teixeira, F. K., & Margis-Pinheiro, M. (2008). Glutathione peroxidase family—an evolutionary overview. *The FEBS journal*, 275(15), 3959-3970.
- Masoud, G. N., & Li, W. (2015). HIF-1 α pathway: role, regulation and intervention for cancer therapy. *Acta Pharmaceutica Sinica B*, 5(5), 378-389.
- Metintaş, S. (2023). Epidemiology of Lung Cancer. In *Airway diseases* (pp. 1-45). Springer.

- Morandi, U., Casali, C., & Rossi, G. (2006). Bronchial typical carcinoid tumors. *Seminars in thoracic and cardiovascular surgery*,
- Mulholland, C., Elwood, P. C., Davis, A., Thurnham, D., Kennedy, O., Coulter, J., Fehily, A., & Strain, J. (1999). Antioxidant enzymes, inflammatory indices and lifestyle factors in older men: a cohort analysis. *QJM*, 92(10), 579-585.
- Nagamine, Y., Tojo, K., Yazawa, T., Takaki, S., Baba, Y., Goto, T., & Kurahashi, K. (2016). Inhibition of prolyl hydroxylase attenuates fas ligand-induced apoptosis and lung injury in mice. *American journal of respiratory cell and molecular biology*, 55(6), 878-888.
- Namysłowski, G., Sobczak, A., & Uhma, E. (2003). Activity of the enzymatic antioxidant system depends on the clinical stage of laryngeal cancer. *Otolaryngologia Polska= The Polish Otolaryngology*, 57(1), 39-43.
- NaSiM, F. (2019). Sabath bF, eapeN ga. *Lung cancer. Med Clin North Am*, 103, 463-473.
- Nirgude, S., & Choudhary, B. (2021). Insights into the role of GPX3, a highly efficient plasma antioxidant, in cancer. *Biochemical pharmacology*, 184, 114365.
- Nooreldeen, R., & Bach, H. (2021). Current and future development in lung cancer diagnosis. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(16), 8661.
- Nyunoya, T., Monick, M. M., Klingelutz, A. L., Glaser, H., Cagley, J. R., Brown, C. O., Matsumoto, E., Aykin-Burns, N., Spitz, D. R., & Oshima, J. (2009). Cigarette smoke induces cellular senescence via Werner's syndrome protein down-regulation. *American journal of respiratory and critical care medicine*, 179(4), 279-287.
- Obrador, E., Carretero, J., Ortega, A., Medina, I., Rodilla, V., Pellicer, J. A., & Estrela, J. M. (2002). γ -Glutamyl transpeptidase overexpression increases metastatic growth of B16 melanoma cells in the mouse liver. *Hepatology*, 35(1), 74-81.

- Okado-Matsumoto, A., & Fridovich, I. (2001). Subcellular distribution of superoxide dismutases (SOD) in rat liver: Cu, Zn-SOD in mitochondria. *Journal of Biological Chemistry*, 276(42), 38388-38393.
- Oudkerk, M., Liu, S., Heuvelmans, M. A., Walter, J. E., & Field, J. K. (2021). Lung cancer LDCT screening and mortality reduction—evidence, pitfalls and future perspectives. *Nature reviews Clinical oncology*, 18(3), 135-151.
- Park, S., Ha, S. Y., Cho, H. Y., Chung, D. H., Kim, N. R., Hong, J., & Cho, E. K. (2011). Prognostic implications of hypoxia-inducible factor-1 α in epidermal growth factor receptor-negative non-small cell lung cancer. *Lung Cancer*, 72(1), 100-107.
- Peddireddy, V., Siva Prasad, B., Gundimeda, S. D., Penagaluru, P. R., & Mundluru, H. P. (2012). Assessment of 8-oxo-7, 8-dihydro-2'-deoxyguanosine and malondialdehyde levels as oxidative stress markers and antioxidant status in non-small cell lung cancer. *Biomarkers*, 17(3), 261-268.
- Peto, R., Doll, R., Buckley, J. D., & Sporn, M. (1981). Can dietary beta-carotene materially reduce human cancer rates? *Nature*, 290(5803), 201-208.
- Peurala, E., Koivunen, P., Bloigu, R., Haapasaari, K.-M., & Jukkola-Vuorinen, A. (2012). Expressions of individual PHDs associate with good prognostic factors and increased proliferation in breast cancer patients. *Breast cancer research and treatment*, 133, 179-188.
- Pless, M., Stupp, R., Ris, H.-B., Stahel, R. A., Weder, W., Thierstein, S., Gerard, M.-A., Xyrafas, A., Früh, M., & Cathomas, R. (2015). Induction chemoradiation in stage IIIA/N2 non-small-cell lung cancer: a phase 3 randomised trial. *The Lancet*, 386(9998), 1049-1056.

- Puthalakath, H., & Strasser, A. (2002). Keeping killers on a tight leash: transcriptional and post-translational control of the pro-apoptotic activity of BH3-only proteins. *Cell Death & Differentiation*, 9(5), 505-512.
- Qian, H., & Hou, L. (2016). Psychological impact of revealing a diagnosis of lung cancer to patients in China. *Journal of thoracic disease*, 8(10), 2879.
- Raaschou-Nielsen, O., Bak, H., Sørensen, M., Jensen, S. S., Ketznel, M., Hvidberg, M., Schnohr, P., Tjønneland, A., Overvad, K., & Loft, S. (2010). Air pollution from traffic and risk for lung cancer in three Danish cohorts. *Cancer epidemiology, biomarkers & prevention*, 19(5), 1284-1291.
- Ravn-Haren, G., Olsen, A., Tjønneland, A., Dragsted, L. O., Nexø, B. A., Wallin, H., Overvad, K., Raaschou-Nielsen, O., & Vogel, U. (2006). Associations between GPX1 Pro198Leu polymorphism, erythrocyte GPX activity, alcohol consumption and breast cancer risk in a prospective cohort study. *Carcinogenesis*, 27(4), 820-825.
- Rawat, J., Sindhwani, G., Gaur, D., Dua, R., & Saini, S. (2009). Clinico-pathological profile of lung cancer in Uttarakhand. *Lung India*, 26(3), 74-76.
- Rodríguez-Prados, J.-C., Través, P. G., Cuenca, J., Rico, D., Aragonés, J., Martín-Sanz, P., Cascante, M., & Boscá, L. (2010). Substrate fate in activated macrophages: a comparison between innate, classic, and alternative activation. *The Journal of Immunology*, 185(1), 605-614.
- Sarikaya, E., & Doğan, S. (2020). Glutathione peroxidase in health and diseases. *Glutathione system and oxidative stress in health and disease*, 49.
- Saint-Martin, A., Martínez-Ríos, J., Castañeda-Patlán, M. C., Sarabia-Sánchez, M. A., Tejeda-Muñoz, N., Chinney-Herrera, A., Soldevila, G., Benelli, R., Santoyo-Ramos, P., & Poggi, A. (2019). Functional interaction of hypoxia-inducible factor

- 2-alpha and autophagy mediates drug resistance in colon cancer cells. *Cancers*, 11(6), 755.
- Salceda, S., & Caro, J. (1997). Hypoxia-inducible factor 1 α (HIF-1 α) protein is rapidly degraded by the ubiquitin-proteasome system under normoxic conditions: its stabilization by hypoxia depends on redox-induced changes. *Journal of Biological Chemistry*, 272(36), 22642-22647.
- Samanta, D., & Semenza, G. L. (2017). Maintenance of redox homeostasis by hypoxia-inducible factors. *Redox biology*, 13, 331-335.
- Sánchez-Mora, N., Parra-Blanco, V., Cebollero-Presmanes, M., Carretero-Albiñana, L., Herranz, M., & Alvarez-Fernández, E. (2007). Mucoepidermoid tumors of the bronchus. Ultrastructural and immunohistochemical study. Histiogenic correlations. *Histology and histopathology*.
- Sánchez-Puig, N., Veprintsev, D. B., & Fersht, A. R. (2005). Binding of natively unfolded HIF-1 α ODD domain to p53. *Molecular cell*, 17(1), 11-21.
- Schindl, M., Schoppmann, S. F., Samonigg, H., Hausmaninger, H., Kwasny, W., Gnant, M., Jakesz, R., Kubista, E., Birner, P., & Oberhuber, G. (2002). Overexpression of hypoxia-inducible factor 1 α is associated with an unfavorable prognosis in lymph node-positive breast cancer. *Clinical cancer research*, 8(6), 1831-1837.
- Schofield, C. J., & Ratcliffe, P. J. (2004). Oxygen sensing by HIF hydroxylases. *Nature reviews Molecular cell biology*, 5(5), 343-354.
- Schwartz, A. G., & Cote, M. L. (2016). Epidemiology of lung cancer. *Lung cancer and personalized medicine: Current knowledge and therapies*, 21-41.
- Seebacher, V., Polterauer, S., Grimm, C., Rahhal, J., Hofstetter, G., Bauer, E., Husslein, H., Leipold, H., Marth, C., & Reinthaller, A. (2012). Prognostic significance of

- gamma-glutamyltransferase in patients with endometrial cancer: a multi-centre trial. *British journal of cancer*, 106(9), 1551-1555.
- Semenza, G. L. (2010). Defining the role of hypoxia-inducible factor 1 in cancer biology and therapeutics. *Oncogene*, 29(5), 625-634.
- Semenza, G. L. (2013). HIF-1 mediates metabolic responses to intratumoral hypoxia and oncogenic mutations. *The Journal of clinical investigation*, 123(9), 3664-3671.
- Semenza, G. L. (2014). Oxygen sensing, hypoxia-inducible factors, and disease pathophysiology. *Annual Review of Pathology: Mechanisms of Disease*, 9, 47-71.
- Seo, J. B., Im, J.-G., Goo, J. M., Chung, M. J., & Kim, M.-Y. (2001). Atypical pulmonary metastases: spectrum of radiologic findings. *Radiographics*, 21(2), 403-417.
- Sharma, G., Shin, E.-J., Sharma, N., Nah, S.-Y., Mai, H. N., Nguyen, B. T., Jeong, J. H., Lei, X. G., & Kim, H.-C. (2021). Glutathione peroxidase-1 and neuromodulation: Novel potentials of an old enzyme. *Food and Chemical Toxicology*, 148, 111945.
- Shen, S., Zhang, R., Guo, Y., Loehrer, E., Wei, Y., Zhu, Y., Yuan, Q., Moran, S., Fleischer, T., & Bjaanæs, M. M. (2018). A multi-omic study reveals BTG2 as a reliable prognostic marker for early-stage non-small cell lung cancer. *Molecular oncology*, 12(6), 913-924.
- Sherman, M. A., Suresh, M. V., Dolgachev, V. A., McCandless, L. K., Xue, X., Zir, L., Machado-Aranda, D., Shah, Y. M., & Raghavendran, K. (2018). Molecular characterization of hypoxic alveolar epithelial cells after lung contusion indicates an important role for HIF-1 α . *Annals of surgery*, 267(2), 382-391.
- Shurin, M. R., & Umansky, V. (2022). Cross-talk between HIF and PD-1/PD-L1 pathways in carcinogenesis and therapy. *The Journal of clinical investigation*, 132(9).

- Siegel, R. L., Miller, K. D., & Jemal, A. (2018). Cancer statistics, 2018. *CA: a cancer journal for clinicians*, 68(1), 7-30.
- Silvestri, G. A., Alberg, A. J., & Ravenel, J. (2009). The changing epidemiology of lung cancer with a focus on screening. *Bmj*, 339.
- Silvestri, G. A., Gonzalez, A. V., Jantz, M. A., Margolis, M. L., Gould, M. K., Tanoue, L. T., Harris, L. J., & Detterbeck, F. C. (2013). Methods for staging non-small cell lung cancer: Diagnosis and management of lung cancer: American College of Chest Physicians evidence-based clinical practice guidelines. *Chest*, 143(5), e211S-e250S.
- Sim, J., Cowburn, A. S., Palazon, A., Madhu, B., Tyrakis, P. A., Macías, D., Bargiela, D. M., Pietsch, S., Gralla, M., & Evans, C. E. (2018). The factor inhibiting HIF asparaginyl hydroxylase regulates oxidative metabolism and accelerates metabolic adaptation to hypoxia. *Cell metabolism*, 27(4), 898-913. e897.
- Singh, N., Gupta, V. K., Kumar, A., & Sharma, B. (2017). Synergistic effects of heavy metals and pesticides in living systems. *Frontiers in chemistry*, 5, 70.
- Sivalokanathan, S., Ilayaraja, M., & Balasubramanian, M. P. (2006). Antioxidant activity of Terminalia arjuna bark extract on N-nitrosodiethylamine induced hepatocellular carcinoma in rats. *Molecular and cellular biochemistry*, 281, 87-93.
- Sosa, V., Moliné, T., Somoza, R., Paciucci, R., Kondoh, H., & LLeonart, M. E. (2013). Oxidative stress and cancer: an overview. *Ageing research reviews*, 12(1), 376-390.
- Sowa, T., Menju, T., Chen-Yoshikawa, T. F., Takahashi, K., Nishikawa, S., Nakanishi, T., Shikuma, K., Motoyama, H., Hijiya, K., & Aoyama, A. (2017). Hypoxia-

- inducible factor 1 promotes chemoresistance of lung cancer by inducing carbonic anhydrase IX expression. *Cancer medicine*, 6(1), 288-297.
- Sparling, D. W. (2016). *Ecotoxicology essentials: environmental contaminants and their biological effects on animals and plants*. Academic Press.
- Stapelfeld, C., Dammann, C., & Maser, E. (2020). Sex-specificity in lung cancer risk. *International journal of cancer*, 146(9), 2376-2382.
- Staudigl, C., Concin, N., Grimm, C., Pfeiler, G., Nehoda, R., Singer, C. F., & Polterauer, S. (2015). Prognostic relevance of pretherapeutic gamma-glutamyltransferase in patients with primary metastatic breast cancer. *PLoS One*, 10(4), e0125317.
- Stellman, S. D., Muscat, J. E., Thompson, S., Hoffmann, D., & Wynder, E. L. (1997). Risk of squamous cell carcinoma and adenocarcinoma of the lung in relation to lifetime filter cigarette smoking. *Cancer: Interdisciplinary International Journal of the American Cancer Society*, 80(3), 382-388.
- Stolze, I., Berchner-Pfannschmidt, U., Freitag, P., Wotzlaw, C., Rössler, J., Frede, S., Acker, H., & Fandrey, J. (2002). Hypoxia-inducible erythropoietin gene expression in human neuroblastoma cells. *Blood, The Journal of the American Society of Hematology*, 100(7), 2623-2628.
- Sturrock, A., Woller, D., Freeman, A., Sanders, K., & Paine, R. (2018). Consequences of hypoxia for the pulmonary alveolar epithelial cell innate immune response. *The Journal of Immunology*, 201(11), 3411-3420.
- Subramanian, J., & Govindan, R. (2007). Lung cancer in never smokers: a review. *Journal of clinical oncology*, 25(5), 561-570.
- Suliman, M. I., Jibrán, R., & Majeed, M. Z. (2006). Demographics of bronchogenic carcinoma patients and frequency of cell types. *Gomal Journal of Medical Sciences*, 4(1).

- Sun, W., Chang, S. S., Fu, Y., Liu, Y., & Califano, J. A. (2011). Chronic CSE treatment induces the growth of normal oral keratinocytes via PDK2 upregulation, increased glycolysis and HIF1 α stabilization. *PLoS One*, 6(1), e16207.
- Suresh, M. V., Balijepalli, S., Zhang, B., Singh, V. V., Swamy, S., Panicker, S., Dolgachev, V. A., Subramanian, C., Ramakrishnan, S. K., & Thomas, B. (2019). Hypoxia-inducible factor (HIF)-1 α promotes inflammation and injury following aspiration-induced lung injury in mice. *Shock*, 52(6), 612-621.
- Suresh, M. V., Ramakrishnan, S. K., Thomas, B., Machado-Aranda, D., Bi, Y., Talarico, N., Anderson, E., Yatrik, S. M., & Raghavendran, K. (2014). Activation of hypoxia-inducible factor-1 α in type 2 alveolar epithelial cell is a major driver of acute inflammation following lung contusion. *Critical care medicine*, 42(10), e642-e653.
- Swinson, D. E., Jones, J. L., Cox, G., Richardson, D., Harris, A. L., & O'Byrne, K. J. (2004). Hypoxia-inducible factor-1 α in non small cell lung cancer: Relation to growth factor, protease and apoptosis pathways. *International journal of cancer*, 111(1), 43-50.
- Tagawa, Y., Hiramatsu, N., Kasai, A., Hayakawa, K., Okamura, M., Yao, J., & Kitamura, M. (2008). Induction of apoptosis by cigarette smoke via ROS-dependent endoplasmic reticulum stress and CCAAT/enhancer-binding protein-homologous protein (CHOP). *Free Radical Biology and Medicine*, 45(1), 50-59.
- Tang, Y., Qiao, G., Xu, E., Xuan, Y., Liao, M., & Yin, G. (2017). Biomarkers for early diagnosis, prognosis, prediction, and recurrence monitoring of non-small cell lung cancer. *OncoTargets and therapy*, 4527-4534.
- Tannahill, G., Curtis, A., Adamik, J., Palsson-McDermott, E., McGettrick, A., Goel, G., Frezza, C., Bernard, N., Kelly, B., & Foley, N. (2013). Succinate is an

- inflammatory signal that induces IL-1 β through HIF-1 α . *Nature*, 496(7444), 238-242.
- Tátrai, E., Bartal, A., Gacs, A., Paku, S., Kenessey, I., Garay, T., Hegedűs, B., Molnár, E., Cserepes, M. T., & Hegedűs, Z. (2017). Cell type-dependent HIF1 α -mediated effects of hypoxia on proliferation, migration and metastatic potential of human tumor cells. *Oncotarget*, 8(27), 44498.
- Tibboel, J., Groenman, F. A., Selvaratnam, J., Wang, J., Tseu, I., Huang, Z., Caniggia, I., Luo, D., Van Tuyl, M., & Ackerley, C. (2015). Hypoxia-inducible factor-1 stimulates postnatal lung development but does not prevent O₂-induced alveolar injury. *American journal of respiratory cell and molecular biology*, 52(4), 448-458.
- Torre, L. A., Bray, F., Siegel, R. L., Ferlay, J., Lortet-Tieulent, J., & Jemal, A. (2015). Global cancer statistics, 2012. *CA: a cancer journal for clinicians*, 65(2), 87-108.
- Treat, J., Schiller, J., Quoix, E., Mauer, A., Edelman, M., Modiano, M., Bonomi, P., Ramlau, R., & Lemarie, E. (2002). ZD0473 treatment in lung cancer: an overview of the clinical trial results. *European Journal of Cancer*, 38, S13-S18.
- Tsuji, P. A., Santesmasses, D., Lee, B. J., Gladyshev, V. N., & Hatfield, D. L. (2021). Historical roles of selenium and selenoproteins in health and development: the good, the bad and the ugly. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(1), 5.
- Ullah, K., Rosendahl, A.-H., Izzi, V., Bergmann, U., Pihlajaniemi, T., Mäki, J. M., & Myllyharju, J. (2017). Hypoxia-inducible factor prolyl-4-hydroxylase-1 is a convergent point in the reciprocal negative regulation of NF- κ B and p53 signaling pathways. *Scientific Reports*, 7(1), 17220.

- Vadivel, A., Alphonse, R. S., Etches, N., van Haaften, T., Collins, J. J., O'Reilly, M., Eaton, F., & Thebaud, B. (2014). Hypoxia-inducible factors promote alveolar development and regeneration. *American journal of respiratory cell and molecular biology*, 50(1), 96-105.
- Veronesi, G., Morandi, U., Alloisio, M., Terzi, A., Cardillo, G., Filosso, P., Rea, F., Facciolo, F., Pelosi, G., & Gandini, S. (2006). Large cell neuroendocrine carcinoma of the lung: a retrospective analysis of 144 surgical cases. *Lung Cancer*, 53(1), 111-115.
- Vlahos, R., & Bozinovski, S. (2013). Glutathione peroxidase-1 as a novel therapeutic target for COPD. *Redox Report*, 18(4), 142-149.
- Vogl, T. J., Emam, A., Naguib, N. N., Eichler, K., & Zangos, S. (2015). How effective are percutaneous liver-directed therapies in patients with non-colorectal liver metastases? *Viszeralmedizin*, 31(6), 406-413.
- Wachters, J. E., Schrijvers, M. L., Slagter-Menkema, L., Mastik, M., de Bock, G. H., Langendijk, J. A., Kluin, P. M., Schuuring, E., van der Laan, B. F., & van der Wal, J. E. (2013). Prognostic significance of HIF-1a, CA-IX, and OPN in T1–T2 laryngeal carcinoma treated with radiotherapy. *The Laryngoscope*, 123(9), 2154-2160.
- Wang, G. L., Jiang, B.-h., Rue, E. A., & Semenza, G. L. (1995). Hypoxia-inducible factor 1 is a basic-helix-loop-helix-PAS heterodimer regulated by cellular O₂ tension. *Proceedings of the national academy of sciences*, 92(12), 5510-5514.
- Wang, J., Wang, K., Wang, Y., Lin, S., Zhao, P., & Jones, G. (2014). A novel application of pulsed electric field (PEF) processing for improving glutathione (GSH) antioxidant activity. *Food chemistry*, 161, 361-366.

- Wang, P., Wang, X.-Y., Man, C.-F., Gong, D.-D., & Fan, Y. (2023). Advances in hyperbaric oxygen to promote immunotherapy through modulation of the tumor microenvironment. *Frontiers in Oncology*, 13.
- Wei, M. C., Zong, W.-X., Cheng, E. H.-Y., Lindsten, T., Panoutsakopoulou, V., Ross, A. J., Roth, K. A., MacGregor, G. R., Thompson, C. B., & Korsmeyer, S. J. (2001). Proapoptotic BAX and BAK: a requisite gateway to mitochondrial dysfunction and death. *Science*, 292(5517), 727-730.
- Wei, Y., Liang, J., Zhang, R., Guo, Y., Shen, S., Su, L., Lin, X., Moran, S., Helland, Å., & Bjaanæs, M. M. (2018). Epigenetic modifications in KDM lysine demethylases associate with survival of early-stage NSCLC. *Clinical epigenetics*, 10, 1-11.
- Wei, Y., & Pang, C. (2005). The Role of Mitochondria in human aging process. *Biotech International*, 17, 8-13.
- Weiss, J., Yang, H., Weiss, S., Rigney, M., Copeland, A., King, J. C., & Deal, A. M. (2017). Stigma, self-blame, and satisfaction with care among patients with lung cancer. *Journal of psychosocial oncology*, 35(2), 166-179.
- Wohlkoenig, C., Leithner, K., Olschewski, A., Olschewski, H., & Hrzenjak, A. (2017). TR3 is involved in hypoxia-induced apoptosis resistance in lung cancer cells downstream of HIF-1 α . *Lung Cancer*, 111, 15-22.
- Wu, R., Feng, J., Yang, Y., Dai, C., Lu, A., Li, J., Liao, Y., Xiang, M., Huang, Q., & Wang, D. (2017). Significance of serum total oxidant/antioxidant status in patients with colorectal cancer. *PLoS One*, 12(1), e0170003.
- Xia, J., Song, P., Sun, Z., Sawakami, T., Jia, M., & Wang, Z. (2016). Advances of diagnostic and mechanistic studies of γ -glutamyl transpeptidase in hepatocellular carcinoma. *Drug Discoveries & Therapeutics*, 10(4), 181-187.

- Xie, G., Zheng, L., Ou, J., Huang, H., He, J., Li, J., Pan, F., & Liang, H. (2012). Low expression of prolyl hydroxylase 2 is associated with tumor grade and poor prognosis in patients with colorectal cancer. *Experimental Biology and Medicine*, 237(7), 860-866.
- Xu, M.-M., Wang, J., & Xie, J.-X. (2017). Regulation of iron metabolism by hypoxia-inducible factors. *Sheng li xue bao:[Acta Physiologica Sinica]*, 69(5), 598-610.
- Xu, R., Wang, F., Yang, H., & Wang, Z. (2022). Action sites and clinical application of HIF-1 α inhibitors. *Molecules*, 27(11), 3426.
- Yabuki, M., Kariya, S., Ishisaka, R., Yasuda, T., Yoshioka, T., Horton, A. A., & Utsumi, K. (1999). Resistance to nitric oxide-mediated apoptosis in HL-60 variant cells is associated with increased activities of Cu, Zn-superoxide dismutase and catalase. *Free Radical Biology and Medicine*, 26(3-4), 325-332.
- Yang, F., Zhang, S., Yang, H., Luo, K., Wen, J., Hu, Y., Hu, R., Huang, Q., Chen, J., & Fu, J. (2015). Prognostic significance of gamma-glutamyltransferase in patients with resectable esophageal squamous cell carcinoma. *Diseases of the Esophagus*, 28(5), 496-504.
- Yang, N., Liang, Y., Yang, P., & Ji, F. (2017). Propofol suppresses LPS-induced nuclear accumulation of HIF-1 α and tumor aggressiveness in non-small cell lung cancer. *Oncology reports*, 37(5), 2611-2619.
- Yasuo, M., Mizuno, S., Kraskauskas, D., Bogaard, H. J., Natarajan, R., Cool, C. D., Zamora, M., & Voelkel, N. (2011). Hypoxia inducible factor-1 α in human emphysema lung tissue. *European Respiratory Journal*, 37(4), 775-783.
- Yin, X., Zheng, S.-S., Zhang, B.-H., Zhou, Y., Chen, X.-H., Ren, Z.-G., Qiu, S.-J., & Fan, J. (2013). Elevation of serum γ -glutamyltransferase as a predictor of aggressive tumor behaviors and unfavorable prognosis in patients with intrahepatic

- cholangiocarcinoma: analysis of a large monocenter study. *European journal of gastroenterology & hepatology*, 25(12), 1408-1414.
- Yoon, H., & Gibson, M. K. 92 Molecular Outcome Prediction. *ESOPHAGEAL*, 771.
- Yorifuji, T., Kashima, S., Tsuda, T., Takao, S., Suzuki, E., Doi, H., Sugiyama, M., Ishikawa-Takata, K., & Ohta, T. (2010). Long-term exposure to traffic-related air pollution and mortality in Shizuoka, Japan. *Occupational and environmental medicine*, 67(2), 111-117.
- Yoshikawa, Y., Takano, O., Kato, I., Takahashi, Y., Shima, F., & Kataoka, T. (2017). Ras inhibitors display an anti-metastatic effect by downregulation of lysyl oxidase through inhibition of the Ras-PI3K-Akt-HIF-1 α pathway. *Cancer Letters*, 410, 82-91.
- Zachara, B. A., Włodarczyk, Z., Masztalerz, M., Adamowicz, A., Gromadzinska, J., & Wasowicz, W. (2004). Selenium concentrations and glutathione peroxidase activities in blood of patients before and after allogenic kidney transplantation. *Biological trace element research*, 97, 1-13.
- Zhang, J., Guo, H., Zhu, J. S., Yang, Y. C., Chen, W. X., & Chen, N. W. (2014). Inhibition of phosphoinositide 3-kinase/Akt pathway decreases hypoxia inducible factor-1 α expression and increases therapeutic efficacy of paclitaxel in human hypoxic gastric cancer cells. *Oncology Letters*, 7(5), 1401-1408.
- Zhang, P., Yao, Q., Lu, L., Li, Y., Chen, P.-J., & Duan, C. (2014). Hypoxia-inducible factor 3 is an oxygen-dependent transcription activator and regulates a distinct transcriptional response to hypoxia. *Cell reports*, 6(6), 1110-1121.
- Zhang, Q., Tang, X., Zhang, Z.-F., Velikina, R., Shi, S., & Le, A. D. (2007). Nicotine induces hypoxia-inducible factor-1 α expression in human lung cancer cells via

nicotinic acetylcholine receptor-mediated signaling pathways. *Clinical cancer research*, 13(16), 4686-4694.

Zhao, X., Liu, L., Li, R., Wei, X., Luan, W., Liu, P., & Zhao, J. (2018). Hypoxia-inducible factor 1- α (HIF-1 α) induces apoptosis of human uterosacral ligament fibroblasts through the death receptor and mitochondrial pathways. *Medical science monitor: international medical journal of experimental and clinical research*, 24, 8722.

Zhong, H., De Marzo, A. M., Laughner, E., Lim, M., Hilton, D. A., Zagzag, D., Buechler, P., Isaacs, W. B., Semenza, G. L., & Simons, J. W. (1999). Overexpression of hypoxia-inducible factor 1 α in common human cancers and their metastases. *Cancer research*, 59(22), 5830-5835.

EKLER

EK-1. ETİK BİLDİRİM VE İNTİHAL BEYAN FORMU



SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
Graduate School of Health Sciences

ETİK BİLDİRİM VE İNTİHAL BEYAN FORMU¹

Öğrencinin Adı ve Soyadı	Marwah Al-Asadi
Öğrencinin Numarası	
Ana Bilim Dalı	Tıbbi Biyokimya
Öğrencinin Kayıtlı Olduğu Program Türü	Yüksek Lisans

Yukarıda bilgileri verilen tezin intihal tespit yazılımıyla (Turnitin) yapılan tarama sonucunda elde edilen benzerlik oranları aşağıdaki gibidir. Beyan edilen bilgilerin doğru olduğunu, aksi hâlde doğacak hukuki sorumlulukları kabul ve beyan ederiz.

Bölümler	Benzerlik Oranı	Maksimum Benzerlik Oranları
I. Giriş	% 10	% 15
II. Genel Bilgiler	% 4	% 35
III. Materyal ve Metod	%11	% 35
IV. Bulgular	%10	% 15
V. Tartışma	%1	% 20

Not: Yedi kelimeye kadar benzerlikler ile Başlık, Kaynakça, İçindekiler, Teşekkür, Dizin ve Ekler kısımları tarama dışı bırakılabilir. Yukarıdaki azami benzerlik oranları yanında tek bir kaynaktan olan benzerlik oranlarının %5'den büyük olmaması gerekir.

EK-2. ETİK KURUL ONAY FORMU



**ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ TIP
FAKÜLTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALAR
ETİK KURULU**



Bölümü : Dekanlık
Servisi : Klinik Araştırmalar Etik Kurulu
Sayı : B.30.2.ATA.0.01.00/SS6
Konu : Etik Kurul Kararı

06.07.2023

Sayın:Prof. Dr. Ahmet KIZILTUNÇ
Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı
Öğretim Üyesi

Değerlendirilmek üzere Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'na başvuruda bulunduğunuz "Akciğer kanseri hastalarının serumlarında glutatyon peroksidaz enzimi, hipoksi indüklenebilir faktör alfa-1 ve diğer biyokimyasal belirteçlerin klinik ve biyokimyasal değerlendirmesi" isimli bilimsel tez çalışmasına ait Kurul Kararı ekte sunulmuştur.

Bilgilerinizi ve gereğini rica ederim.



**ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ TIP
FAKÜLTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALAR
ETİK KURULU**



KARAR

ETİK KURUL BİLGİLERİ	ETİK KURULUN ADI	Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu
	AÇIK ADRESİ:	Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığı
	TELEFON	+90 442 234 65 11
	FAKS	+90 442 236 09 68
	E-POSTA	atatipetikkurul@gmail.com
SORUMLU ARAŞTIRMACI UNVANI/ADI/SOYADI		Prof. Dr. Ahmet KIZILTUNÇ
ARAŞTIRMACININ AÇIK ADI		Akciğer kanseri hastalarının serumlarında glutatyon peroksidaz enzimi, hipoksi indüklenebilir faktör alfa-1 ve diğer biyokimyasal belirteçlerin klinik ve biyokimyasal değerlendirmesi
KARAR BİLGİLERİ	Toplantı Sayısı:5 Karar No:26	Tarih:06.07.2023
	Yukarıda bilgileri verilen başvuru dosyası ile ilgili belgeler araştırmanın/çalışmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş ve çalışmanın bütçesinin Kendisi tarafından karşılanması koşulu ile yapılmasında bilimsel ve etik açıdan sakınca olmadığına oy birliği ile karar verildi. Klinik Araştırmalar Hakkında Yönetmelik kapsamında yer alan araştırmalar/çalışmalar için Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu'ndan izin alınması gerekmektedir. Araştırmacıya çalışmalarında başarılar dileriz.	