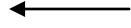
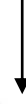
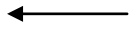


Adınızı soyadınızı giriniz

Tez kabul edildikten sonra yapılan **sabit ciltte sırt yazısı** bu şablona göre yazılacak. Yazılar tek satır olacak
Cilt sırtı yazıların yönü yukarıdan aşağıya
(sol yandaki gibi) olacak .



Tez, Yüksek Lisans'sa, YÜKSEK LİSANS TEZİ;
Doktora ise DOKTORA TEZİ ifadesi kalacak



Tez Sınavının yapılacağı yılı yazınız



**T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

(DOKTORA TEZİ)

**GALEKTİN-3 GEN VARYANTLARININ VE
EKSPRESYONLARININ KÜÇÜK HÜCRELİ DİŞİ
AKCİĞER KANSERİNDE İNCELENMESİ**

ŞULE TERZİOĞLU UŞAK

**DANIŞMAN
PROF.DR. İLHAN YAYLIM**

**MOLEKÜLER TIP ANABİLİM DALI
MOLEKÜLER TIP PROGRAMI**

İSTANBUL-2019

TEZ ONAYI

DOKTORA TEZİ ONAYI

İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İ.Ü. Aziz Sancar Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü Moleküler Tıp Anabilim Dalı, Moleküler Tıp Programında Doktora öğrencisi **Şule TERZİOĞLU UŞAK** tarafından **Prof. Dr. İlhan YAYLIM**'in danışmanlığında hazırlanan **“Galektin 3 Gen Varyantlarının ve Ekspresyonlarının Küçük Hücreli Dışı Akciğer Kanseri İncelenmesi”** başlıklı tez aşağıdaki jüri üyeleri tarafından 22/03/2019 tarihinde yapılan Tez Savunma Sınavında başarılı bulunmuş ve Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

**Jüri Başkanı
(Danışman)**

Prof. Dr. İlhan YAYLIM
İ.Ü. Aziz Sancar DETAE
Moleküler Tıp Anabilim Dalı

Jüri

Prof. Dr. Ali Osman GÜROL
İ.Ü. Aziz Sancar DETAE
İmmünoloji Anabilim Dalı

Jüri

Prof. Dr. Akif TURNA
İ.Ü. Cerrahpaşa CTF Göğüs
Cerrahisi A.D.

Jüri

Doç. Dr. Özlem KÜÇÜKHÜSEYİN
İ.Ü. Aziz Sancar DETAE
Moleküler Tıp Anabilim Dalı

Jüri

Dr. Öğr. Üyesi Cem
HOROZDOĞLU
İstanbul Gelişim Univ. Tıbbi
Hizn ve Teknik A.D.

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığı beyan ederim.

Şule Terzioğlu Uşak



İTHAF

Aileme ithaf ediyorum.

TEŞEKKÜR

İstanbul Üniversitesi Aziz Sancar Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü Moleküler Tıp Anabilim Dalı kurucusu, emekli öğretim üyesi Prof. Dr. Turgay İsbir'e, halen Moleküler Tıp Anabilim Dalı Başkanı ve doktora tez eğitimimi üstlenen, her zaman kalbini ve kapısını öğrencilerine açan örnek bilim insanı Prof. Dr. İlhan Yaylım'a, çalışma kapsamında hasta ve sağlıklı bireylerin tayini ve gerekli biyolojik örneklerin teminatı konusunda yardımcı olan Cerrahpaşa Tıp Fakültesi öğretim üyelerinden Göğüs Cerrahisi Anabilim Dalı bünyesinde görev yapan Prof. Dr. Akif Turna ve ekibine, tez çalışmama bilgileri ve destekleyici önerileri ile katkıda bulunan bölüm öğretim üyelerinden kıymetli Doç. Dr. Özlem Küçük Hüseyin ve İstanbul Gelişim Üniversitesi'nden Dr. Öğr. Üyesi Cem Horozoğlu'na,

Tezimin yapımı esnasında yardımcı olan fedakar, sevgili arkadaşım İstanbul Biruni Üniversitesi'nden Öğr. Gör. Şeyda Ercan'a, yazı işleri ve teknik destekleri ile işlerimi hızlandıran dahil olduğum anabilim dalından Arş. Gör. Mehmet Tolgahan Hakan'a, deney sonuçları analizinde yardım eden MSc. Saime Turan'a,

Tecrübesiyle hep yanımda olan Bezmialem Vakıf Üniversitesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı'ndan sevgili hocam Dr. Öğr. Üyesi Birsan Elibol'a,

Manevi destekleriyle beni ayakta tutan, akademik süreçteki her adımda elimi bırakmayan canım Anneme, her daim arkamda hissettiğim canım Babama, her zaman beni motive eden Ablam ve Abime, ve sabır, hoşgörü, umutla destekleyen Eşime, ve bana bu süreçte yüce 'annelik' mesleğinde yandal yaptıran Kızıma,

Son olarak, doktora programı eğitimim esnasında Ulusal Burs Programı (2211-E) kapsamında bana oldukça destekleyici bir burs sağlayan "Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu'na (TÜBİTAK)" sonsuz teşekkürlerimi arz ederim.

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: : TDK-2018-27977.

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI	İİ
BEYAN.....	İİİ
İTHAF.....	İV
TEŞEKKÜR.....	V
İÇİNDEKİLER	VI
TABLolar LİSTESİ.....	İX
ŞEKİLLER LİSTESİ	Xİ
SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ	Xİİ
ÖZET	XV
ABSTRACT.....	XVI
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	1
2.1. Akciğer Kanseri	1
2.1.1. “Küçük Hücreli Akciğer Kanseri”	1
2.1.2. “Küçük Hücreli Dışı Akciğer Kanseri (KHDAK)”	2
2.1.2.1. “Adenokarsinom”.....	2
2.1.2.2. “Skuamoz Hücreli Karsinom”.....	3
2.1.2.3. “Büyük Hücreli Karsinom”	3
2.1.3. Akciğer Kanserinin Epidemiyolojisi.....	3
2.1.4. Akciğer Kanserinin Etiyolojisi.....	4
2.1.4.1. Sigara ve Tütün Ürünleri.....	4
2.1.4.2. Mesleki ve Çevresel Faktörler	5
2.1.4.3. Yaş, Cinsiyet ve Irk.....	6
2.1.4.4. Beslenme	7
2.1.4.5. Enfeksiyonlar	7
2.1.4.6. Geçirilmiş Akciğer Öykülü Hastalıkları	8
2.1.4.7. Kalıtsal yatkınlık	9
2.1.5. Akciğer Kanserinin Moleküler Genetiği.....	10
2.1.5.1. Onkojenik aktivasyon mekanizmaları.....	11
2.1.5.2. Tümör baskılayıcı genlerin inaktivasyon mekanizmaları	14

2.1.5.3. Epigenetik mekanizmalar	16
2.1.6. Akciğer Kanserinin Kliniği	17
2.1.6.1. Bulgular	17
2.1.6.2. Tanı	17
2.1.6.3. Evreleme	18
2.1.6.4. Prognoz	19
2.1.7. Akciğer kanserinde tedavi	20
2.1.7.1. KHAK'ta tedavi yaklaşımları	21
2.1.7.2. KHDAK'ta tedavi yaklaşımları	21
2.1.7.3. KHDAK'ta moleküler hedefleme	23
2.2. Galektinler	24
2.2.1. Galektin-3	26
2.2.2. Galektin-3 ve kanserle ilişkisi	34
2.2.3. Galektin-3 ve akciğer kanseri	37
2.2.4. KHDAK'ta Galektin 3 ve Rolü	38
2.2.5. Galektin-3 Gen Polimorfizmleri ve Kanser İlişkisi	38
3. GEREÇ VE YÖNTEM	40
3.1. Gereçler	40
3.1.1. Örneklerin Elde Edilmesi	40
3.1.2. Kullanılan Kimyasallar	41
3.1.3. Kullanılan Kitler	41
3.1.4. Kullanılan Cihazlar	43
3.1.5. Kullanılan Solüsyonlar	44
3.1.5.1. "Eritrosit Parçalama Tamponu" ("Red Blood Cell Lysis Buffer, RBL")	44
3.1.5.2. "0.5 M Disodyumetilendiamintetraasetat (EDTA)" "(pH 8.0)"	44
3.1.5.3. "4 M Sodyum Klorür (NaCl)"	44
3.1.5.4. "Lökositleri Parçalama Tamponu (White Blood Cell Buffer, WBL)"	44
3.1.5.5. "1 M Tris Tamponu (Stok)"	44
3.1.5.6. "9.5 M Amonyum Asetat"	44
3.1.5.7. "Sodyum Dodesil Sülfat (%10, SDS)"	45
3.1.5.8. "Proteinaz K Solüsyonu (20 mg/ml)"	45
3.2. Yöntemler	45
3.2.1. LGALS3 TaqMan SNP Genotipleme Testi	45

3.2.1.1. DNA İzolasyonu (Tuzla Çöktürme).....	45
3.2.1.2. DNA Kalitesinin Belirlenmesi	45
3.2.1.3. TaqMan SNP Genotipleme Testi	46
3.2.2. Galektin-3 Ekspresyon Analizi	47
3.2.2.1. Doku Homojenizasyonu.....	47
3.2.2.2. RNA İzolasyonu.....	48
3.2.2.3. RNA Kalitesinin Belirlenmesi	48
3.2.2.4. cDNA Eldesi	48
3.2.2.5. Kantitatif Gerçek Zamanlı Polimeraz Zincir Reaksiyonu (qPZR).....	49
3.2.3. Serum Galektin-3 Düzeyinin ELİZA Metoduyla Belirlenmesi	51
3.3. İstatiksel Analiz	52
4. BULGULAR.....	54
4.1. Galektin-3 Geni rs4644 ve rs4652 Varyantlarının Dağılım Analizi	56
4.2. Galektin-3 Gen Ekspresyon Düzeyinin Değerlendirilmesi.....	61
4.3. Serum Galektin-3 Seviyesinin Galektin-3 Geninin rs4644 ve rs4652 Varyantlarında Değişim Analizi	64
4.4. ROC Eğrisi Analizi	70
4.5. Çoklu Değişkenli Regresyon Analizi.....	72
4.6. Haplotipleme Analizi	73
5. TARTIŞMA	74
FORMLAR	101
ETİK KURUL KARARI	103
İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI.....	106
ÖZGEÇMİŞ	107

TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 3-1: TaqMan SNP genotipleme testi için RT-qPCR protokolü.....	46
Tablo 3-2: TaqMan SNP genotipleme testi için qPZR koşulları	47
Tablo 3-3: cDNA sentez protokolü.....	49
Tablo 3-4: cDNA sentez koşulları	49
Tablo: 3-5: Kullanılan primer dizileri.....	50
Tablo 3-6: Galektin-3 ve GAPDH gen ekspresyon analizleri için qPZR protokolü	50
Tablo 3-7: Galektin-3 ve GAPDH gen ekspresyon analizleri için qPZR koşulları	51
Tablo 4-1: Çalışma gruplarına ait bilgiler.....	54
Tablo 4-2: Hastaların klinik ve patolojik özellikleri.....	55
Tablo 4-3: KHDAK ve sağlıklı kontrollerde galektin-3 rs4644 A/C genotiplemesi.....	57
Tablo 4-4: Galektin-3 rs4644 A/C genotiplerinin hastaların patolojik parametreleri ile karşılaştırılması.....	58
Tablo 4-5: KHDAK ve sağlıklı kontrollerde galektin-3 rs4652 A/C genotiplemesi.....	60
Tablo 4-6: Galektin-3 rs4652 A/C genotiplerinin hastaların patolojik parametreleri ile karşılaştırılması.....	60
Tablo 4-7: Hastalarda galektin-3 mRNA ekspresyon incelemesi.....	62
Tablo 4-8: KHDAK hastaları ve sağlıklı kontrollerde serum galektin-3 düzeyleri.....	65
Tablo 4-9: Hastaların patoloji bulguları ve serum galektin-3 düzeyleri.....	65
Tablo 4-10: Hastaların patoloji bulguları ve serum galektin-3 düzeylerinin rs4644 genotiplere göre dağılımı	66
Tablo 4-11: Galektin-3 rs4644 A/C genotiplerine göre hasta ve kontrollerde serum galektin-3 düzeyleri	68
Tablo 4-12: Hastaların patoloji bulguları ve serum galektin-3 düzeylerinin rs4652 genotiplere göre dağılımı	68
Tablo 4-13: Galektin-3 rs4652 A/C genotiplerine göre hasta ve kontrollerde serum galektin-3 düzeyleri	70
Tablo 4-14: KHDAK hasta ve sağlıklı kontroller arasında serum galektin-3 düzeyleri için ROC eğrisi analizi.....	71
Tablo 4-15: Çalışma gruplarında çoklu lojistik regresyon analizi.....	72

Tablo 4-16: rs4644 ve rs4652 polimorfizmlerine ait haplotip frekansları, Ki-kare (X^2) ve p değerleri	73
---	----



ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2-1: Akciğer kanserindeki moleküler değişimler (78).....	11
Şekil 2-2: Galektin ailesi. A) Yapılarına göre galektinler; B) Galektinlerin hücre-hücre ve hücre-matriks etkileşimleri (129).....	25
Şekil 2-3: Galektinlerin kanser mekanizmasındaki rolleri (131).....	26
Şekil 2-4: Galektin-3 protein yapısı (133)	27
Şekil 2-5: Galektin-3'ün hücre içi ve dışı ligant ve fonksiyonları (143).....	28
Şekil 2-6: Galektin-3'ün hücre içinde etkileştiği moleküller (137).....	29
Şekil 2-7: Galektin-3'ün hücre dışında etkileştiği moleküller (137)	30
Şekil 2-8: Galektin-3'ün nükleositoloplazmik transport yolları (149)	31
Şekil 2-9: Galektin-3'ün post-translasyonel modifikasyonları (158)	33
Şekil 2-10: Galektin-3'ün kanser mekanizmasındaki roller (160).....	34
Şekil 4-1: rs4644 varyantının KHD AK'lı hastalarda allel dağılımı	56
Şekil 4-2: rs4644 varyantının sağlıklı kontrollerde allel dağılımı	56
Şekil 4-3: rs4652 varyantının KHD AK'lı hastalarda allel dağılımı	59
Şekil 4-4: rs4652 varyantının sağlıklı kontrollerde allel dağılımı	59
Şekil 4-5: Hastalar arasında rölatif galektin-3 mRNA ekspresyon dağılımı	63
Şekil 4-6: Hastaların kontrollere oranla galektin-3 mRNA ekspresyon düzeylerinin kümülatif incelenmesi.....	64
Şekil 4-7: KHD AK hasta ve sağlıklı kontroller arasında serum galektin-3 düzeyleri için ROC eğrisi	71
Şekil 4-8: Haplotiplendirme verileri	73

SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ

KHDAK:	Küçük hücreli dışı akciğer kanseri
KHAK:	Küçük hücreli akciğer kanseri
SNP:	Tek nükleotit polimorfizmi
DSÖ:	Dünya Sağlık Örgütü
KT:	Kemoterapi
RT:	Radyoterapi
EGFR:	Epidermal büyüme faktörü reseptörü
PAH:	Polisiklik aromatik hidrokarbonlar
NNK:	Nitrozamin 4-(metil nitrozamin)-1-(3 piridil)-1- butanon
DNA:	Deoksiribo nükleik asit
KRAS:	Kirsten sıçan sarkoma 2 viral onkogen homologu
HPV:	Human papilloma virüsün
EBV:	Ebstein bar virüsü
HIV:	İnsan bağışıklık yetmezlik virüsü
KOAH:	Kronik obstruktif akciğer hastalığı
LOH:	Heterozigosite kaybı
BRAF:	V-raf murin sarkomu viral onkogen homologu B
ERBB2:	Epidermal büyüme faktörü reseptörü 2
ALK:	Anaplastik lenfoma kinaz
ROS1:	Proto-onkogen tirozin-protein kinaz 1
MET:	Mezenkimal epitelyal geçiş geni
FGFR1:	Fibroblast büyüme faktörü 1
PZR:	Polimeraz zincir reaksiyonu
MAPK:	Mitojen aktif protein kinaz

EML4: Ekinoderm mikrotübül benzeri protein 4

TSG: Tümör baskılayıcı gen

RB1: Retinoblastom 1

STK11/LKB1: Serin-treonin kinaz 11

PS: Paraneoplastik sendromlar

TNM: Tümör, nod, metastaz

PD-1: Programlanmış hücre ölüm reseptörü-1

PDL-1: Programlanmış hücre ölüm reseptörü ligandı-1

CRD: Karbonhidrat tanıma domain

CLS: Kolajen benzeri sekans

MMP: Matriks metalloproteinaz

CBP70: Glkolize nükleer lektin

AIP1: Aktin ilişkili protein 1

SMN: Survival motor nöron

snRNA: Küçük nükleer ribonükleik asit

NES: Nükleer export sinyali

ER: Endoplazmik retikulum

PSA: Prostat spesifik antijen

DISC: Ölüm indükleyen sinyal kompleksi

TNF: Tümör nekroz faktörü

TRAIL: Tümör nekroz faktörü ilişkili apoptoz indükleyen ligant

IFN- γ : İnterferon gamma

MUC1: Müsin bileşeni 1

TAM: Tümör ilişkili makrofaj

UTR: Translate olmayan bölge

qPZR: Kantitatif gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu

ELİZA: Enzim bağı immünabzorbant tahlili

RBL: Eritrosit parçalayıcı tampon çözeltisi

NaOH: Sodyum hidroksit

EDTA: Etilendiamin tetraasetik asit

NaCl: Sodyum klorür

WBL: Lökosit parçalayıcı tampon çözeltisi

HCl: Hidroklorik asit

SDS: Sodyum dodesil sülfat

OD: Optik yoğunluk

GAPDH: Gliseraldehit 3 fosfat dehidrojenaz

LD: Bağlantı dengesizliği

MGB: Majör oyuk bağlayıcı

NsSNP: Eş olmayan SNP

TGFbeta: Transforme büyüme faktörü beta

ÖZET

Terzioğlu Uşak, Ş. Galektin-3 Gen Varyantlarının ve Ekspresyonlarının Küçük Hücreli Dışı Akciğer Kanseri İncelenmesi. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Moleküler Tıp ABD. Doktora Tezi. İstanbul. 2019.

“Küçük hücreli dışı akciğer kanseri (KHDAK)”, akciğer kanserlerinin %85-90’lık kısmını oluşturmaktadır. Galektin-3, kanser türlerinde deregülasyonu ile bilinen β -galaktozit bağlayıcı bir proteindir. Çalışmalarda, farklı kanser türlerine karşı genetik duyarlılık kapsamında tek nükleotit polimorfizmler (SNP) ile kanser gelişimi arasında korelasyonlar tespit edilmiştir. Bu çalışmadaki amaç, KHDAK hasta ve sağlıklı kontrol bireyleri arasında galektin-3 rs4644 ve rs4652 SNP’lerinin genotip ve allel dağılımı ile galektin-3 ekspresyon düzeylerini ilişkilendirmektir. Bu kapsamda, olguların periferik kanlarından izole edilmiş DNA örneklerinde SNP genotipleme, tümörlü ve sağlıklı çevre dokularından elde edilmiş cDNA örneklerinde kantitatif gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu (qPZR) ile galektin-3 ekspresyonu ve serum örneklerinde enzim ilişkili immünabsorbent tahlili (ELİZA) ile galektin-3 düzeyleri belirlenmiştir. Elde edilen bulgularda hasta ve kontroller arasında rs4644 ve rs4652 SNP’lerine ait genotip, allel dağılımları fark gözlenmemiştir. Ancak, rs4652 AA genotipli hastalarda anjiyolenfatik invazyon varlığı anlamlılık göstermiştir ($p=0,04$). Galektin-3’ün tümör ve sağlıklı çevre dokular arasında gen ekspresyonlarında farklılık bulunamamıştır ($p=0,509$). Serum galektin-3 düzeyleri hastalarda ($26,05 \pm 1,77$ ng/ml) kontrollere ($11,62 \pm 1,30$ ng/ml) göre istatistiksel anlamlı yükselmiş olup ($p<0,001$), rs4644 SNP AC/CC genotipli hastalarda ($26,02 \pm 1,72$; $28,8 \pm 3,43$ ng/ml) ilgili genotipleri taşıyan kontrollere göre ($12,08 \pm 2,05$; $12,27 \pm 1,80$ ng/ml) anlamlı yüksek (“ $p<0,001$ / $p<0,001$ ”), ve rs4652 AA/AC/CC genotipli hastalarda ($28,76 \pm 3,43$; $26,50 \pm 1,86$ ng/ml) ilgili kontrollere göre ($11,70 \pm 2,36$; $12,08 \pm 1,76$ ng/ml) anlamlı yüksek elde edilmiştir (“ $p=0,001$ / $p<0,001$ ”). Ayrıca, rs4644 ve rs4652 SNP’lerine ait AC genotipi taşıyan hastalarda serum galektin-3 seviyesi damar invazyon varlığı olanlarda yüksek kaydedilmiştir (“ $p=0,03$ ve $p=0,019$ ”).

Anahtar Kelimeler: KHDAK, Galektin-3, Polimorfizm, Gen ekspresyonu, ELİZA.

Bu çalışma, “İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi” tarafından desteklenmiştir. Proje No: TDK-2018-27977.

ABSTRACT

Terzioglu-Usak, S. Investigation of Gen Variants and Expressions of Galectin-3 in Non Small Cell Lung Cancer. İstanbul University, Institute of Health Science, Molecular Medicine, PhD Thesis.İstanbul. 2019.

Non-small cell lung cancer (NSCLC) accounts for 85-90 percentage among all lung cancers. Galectin-3 is a β -galactoside binding protein and known for its deregulation in cancer. In previous studies, correlations between “single nucleotide polymorphisms (SNP)” and cancer development have been identified in the context of genetic susceptibility to several types of cancer. In this study, it was aimed to associate expression levels of galectin-3 with genotype and allele distribution of rs4644 and rs4652 SNPs of galectin-3 between NSCLC patients and healthy control individuals. For this purpose, SNPs rs4644 and rs4652 in galectin-3 were studied using TaqMan SNP genotyping. Gene expression levels of galectin-3 between patients and healthy subjects were analysed by qPCR. Serum levels of galectin-3 were measured by ELISA. There were no remarkable differences in genotype and allele distribution of SNPs, and in gene expression levels of galectin-3 between the patients and controls (“ $p > 0.05$ ”). However, the presence of angiolymphatic invasion was found remarkable in patients with rs4652 AA genotype ($p=0,04$)/ Serum levels of galectin-3 were significantly higher in patients (26.05 ± 1.77 ng / ml) than controls (11.62 ± 1.30 ng / ml) ($p < 0,001$). SNP rs4644 AC/CC genotypes were associated with higher serum galectin-3 levels in patients ($26,02 \pm 1,72$; $28,8 \pm 3,43$ ng / ml) compared to controls ($12,08 \pm 2,05$; $12,27 \pm 1,80$ ng/ml) ($p < 0,001$ / $p < 0,001$), and SNP rs4652 with AA/AC/CC genotypes were associated with higher serum galectin-3 levels in patients ($28,76 \pm 3,43$; $26,50 \pm 1,86$ ng/ml) compared to corresponding controls ($11,70 \pm 2,36$; $12,08 \pm 1,76$ ng/ml) (“ $p=0,001/p < 0,001$ ”). Serum galectin-3 level has been shown to be a significant pathological value for the presence of vascular invasion among patients who had AC genotypes for both SNPs rs4644 and rs4652 (“ $p = 0.03$ and $p = 0.019$ ”).

Key Words: NSCLC, Galectin-3, Polymorphism, Gene expression, ELISA.

The present work was supported by the “Research Fund of İstanbul University”. Project No. TDK-2018-27977.

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Akciğer kanseri bilinen en yaygın ve ölümlü sonuçlanan kanser türlerinden biridir. Akciğer kanserlerinin yaklaşık % 85-90 arasındaki bölümünü “küçük hücreli dışı akciğer” kanserleri (KHDAK) oluştururken geri kalan kısmını “küçük hücreli akciğer” kanserleri oluşturmaktadır (1). KHDAK ise boyut, biçim ve kimyasal yapı açısından farklılık gösteren “skuamoz hücreli” (yassı) karsinom, “adenokarsinom” ve “büyük hücreli” (farklılaşmamış) karsinom olarak 3 alt ana tür bulundurmaktadır. Sigara kullanımı gibi çevresel şartların da patogenezi tetiklediği akciğer kanserinin etiyolojisi henüz tam anlamıyla bilinmemekle beraber gen mutasyonları, gen silinmeleri ve ilgili poliformik genler hastalığın oluşmasında zemin hazırlamaktadır (2).

Galektin-3, 29–35 kDa ağırlığında β -galaktozit bağlayıcı, lektin ailesinin bir üyesi ve kanser türlerinde deregülasyonu bilinen bir proteindir. Sitoplazmada, çekirdekte ve hücre yüzeyinde eksprese olan galektin-3 hücre adezyonu, hücre aktivasyonu, kemoatraksiyon, hücre büyümesi ve farklılaşması, hücre döngüsü ve apoptozda görev almaktadır (3). Kolorektal, meme, gastrointestinal, yumurtalık, melanoma ve akciğer kanserlerinde serum galektin-3 seviyesindeki artış ile hastalığın metastatik agresifliği arasında pozitif bir ilişki olduğuna dair kanıtlar mevcuttur (4).

Galektin-3 geni (lektin, galaktosit bağlayan çözünebilen 3, LGALS3) kromozom 14q21 üzerine yerleşmiştir. Galektin-3 insan popülasyonunda polimorfik bir genidir. Rs4644(+191 A>C, His64'den Pro64'e) ve rs4652 (+292 A>C, Pro98'den Thr98'ye) iki genel bilinen galektin-3'e ait tek nükleotid polimorfizmleridir (SNP) (5). Hücre ve uyarıcı tipine bağlı olarak galektin-3 apoptozu arttırabilme ya da azaltabilme kapasitesine sahiptir. Örneğin, galektin-3 için His64 genotipine sahiplerde meme kanseri görülme insidansının yüksek olduğu gözlenmiştir (6). Korkmaz ve arkadaşları yaptıkları çalışmada kolorektal kanser hastalarında, prognozda önemli müsin sıvısına galektin-3 rs4644 CC varyantlı hastalarda belirgin rastlandığını ve bu varyasyonun tümör boyutu ve hastalığın safhası ile doğru orantılı olduğunu kaydetmişlerdir (7). KHDAK hastalarının kemoterapiye farklı cevap vermeleri üzerine yapılan bir çalışmada ise galektin-3 için rs4652 polimorfizmi taşıyanların rs4644 polimorfizmi taşıyan hastalara nazaran platinyum ağırlıklı kemoterapiye daha yüksek cevap verdiği vurgulanmıştır (8).

Galektin-3'ün J82 insan bağırsak kanseri hücre hattında fazla ifadesi ise hücre proliferasyonundan sorumlu Akt yolağını aktive etmiş, TRAIL ilişkili apoptoza direnci arttırmıştır (9). Öte yandan, meme karsinom hücrelerinde His64 genotipi içeren galektin-3'ün yüksek ifadesiyle bu hücrelerin kemoterapi ajanlarından sisplatin ve doksorubisine karşı direnç kazandığı savunulurken (10, 11), tümör baskılayıcı genlerden PTEN'i upregüle edip, Akt yolağını inaktive ederek TRAIL ilişkili apoptoza hassasiyeti arttırdığı bulunmuştur (12, 13).

Görüldüğü üzere çoğunlukla kanser hücre hatlarında yapılan çalışmalarda kanser gelişiminde hedef genlerin farklı ifadeleri veya kemoterapiye farklı cevaplar oluşturmaları galektin-3 polimorfizm varlığının kanser mekanizmasında etkin modulator olarak düşünmeye sevketmiştir. Kanser türüne bağlı olarak galektin-3'ün çift yüzlü davranışından His64/Pro64 polimorfik dengesi sorumlu olduğu düşünülmektedir.

Bu çalışmada hiçbir tedavi almamış KHDAK hastalarında ve sağlıklı kontrollerde galektin-3 varyasyon dağılımı ve ekspresyon düzeylerini belirleyerek galektin-3'ün rs4644 ve rs4652 SNP'leri ile hastalığın etiyopatogenezi ve progresyon düzeyini ilişkilendirip galektin-3'ü KHDAK hastalarında muhtemel biyobelirteç olarak önermeyi amaçlamaktayız. Elde edilecek bu muhtemel kazanımlar KHDAK hastalarında galektin-3 molekülünün dahil edilebileceği hastalık risk ve progresyonunda önerilecek önemli biyobelirteçlerden biri olup olamayacağı konusuna ışık tutarak, galektin-3 ile ilgili moleküler kanser mekanizmaları araştıran literatürlere temel oluşturabileceği kanaatindeyiz. Çalışmamız akciğer kanserlerinde galektin-3 SNP, ekspresyon ve serum galektin-3 düzeylerinin bir arada araştırıldığı özgün bir çalışma niteliğindedir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Akciğer Kanseri

Akciğer kanseri bilinen en yaygın ve ölümcül malignite türlerinden biridir. Son yıllarda yapılan çalışmalarla akciğer kanserlerinin klinik, radyolojik ve histolojik görünüşleri yanında antijenik özelliklerini belirleyen protein yapılarının tedavide önemli ipuçları verdiği yapılan çalışmalarla kanıtlanarak akciğer kanserinin sınıflandırılmasında yeniliklere ihtiyaç duyulmuştur. Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ), diğer organ ve sistemlerde olduğu gibi, akciğer tümörlerinin sınıflandırmasında da tanı ve tedavi alanındaki gelişmeleri izleyerek girişimlerde bulunmaktadır. İlk olarak 1967’de başlayan akciğer tümör sınıflandırması; 1981, 1999 ve 2004 yıllarında değişik isimlerle yayınlanmıştır. 2015 DSÖ Akciğer Tümörleri Sınıflandırması önemli yenilikler getirerek akciğer tümörlerinin histolojik ve patolojik özelliklerini ve akciğer kanseri oluşumu ve ilerlemesinin altında yatan moleküler farklılıkları irdelemeyi amaçlamıştır (14).

Yayılımı, büyüme hızı, metastaz kapasitesi, kemoterapi ve/veya radyoterapiye yanıtına göre ve hücrelerin morfolojilerine görüntülerine dayanarak akciğer kanseri temelde iki ana alt tiple sınıflandırılabilir: “küçük hücreli akciğer kanseri” ve “küçük hücreli dışı akciğer kanseri” (KHDAK). KHDAK akciğer kanserlerinin %85’lik bir kısmını oluştururken, KHAK ise kalan %15’inden sorumludur (15).

2.1.1. “Küçük Hücreli Akciğer Kanseri”

“Küçük hücreli akciğer kanseri” akciğer kanserleri arasında %10-15’lik oranla görülmektedir. Erken evreli hastalarda 14-18 ay sağkalım, ileri evreli hastalarda 6-8 ay ortalama sağkalımla oldukça kötü prognozludur (16). KHAK, Kultchitsky tip III olarak bilinen nöroendokrin hücrelerden kökenlenir ve histolojik olarak ince taneli nükleer kromatinli, küçük, yuvarlak veya füzyon şekilli, sitoplazması az tümör hücrelerinden oluşur. Nükleolusu yok denecek kadar görülmesi zordur (17). KHAK, sigara kullanımı ile doğru orantılı, hızla büyüyen ve metastazı erken yapan bir akciğer kanseridir. Ektopik hormon salgılamasına neticesinde ortaya çıkan klinik hormon sendromlarının en yaygın rastlanıldığı türdür. Genellikle lobar ve ana bronşlarda santral yerleşimli olarak görülür. Kanama ve nekroz sık görülür. Yüksek miktarda lenf nodlarına ve komşu

yapılara invazyon yaparak lenfatik de yayılır. Hastaların çoğu tanı aşamasında yaygın hastalığa sahip olduklarından cerrahi şansları kalmaz, kemoterapi (KT) ve radyoterapi (RT) tedavisi alırlar. Rezeksiyon işlemi, metastaz olmayan, katı pulmoner nodül halindeki KHAK hastalarında mümkün olur. KT ve RT sonucunda tümör çoğunlukla tamamen ortadan kalkar, fakat yakın zaman sonra rekürrens daha yaygın hastalık halinde kendini gösterir (18).

2.1.2. “Küçük Hücreli Dışı Akciğer Kanseri (KHDAK)”

“Küçük hücreli dışı akciğer kanserinden (KHDAK)” tüm akciğer kanserlerinin yaklaşık %85-90 kısmını oluşturur. Önceki yıllarda sadece histoloji baz alınarak yapılan tedavi sonuçlarında farklılık yansımaması KHDAK’ın alt tipleri arasında ayrım yapılmasına gerek olmadığını düşündürmüştür. 2004 DSÖ raporunda akciğer adenokarsinomlarının az bir kısmında “epidermal büyüme faktör reseptörü (epidermal growth factor receptor; EGFR)” mutasyonun saptanması ve bu tümörlerin EGFR tirozin kinaz inhibitörlerine duyarlı olduğunun görülmesiyle varolan bakış açısı radikal bir şekilde değişmiştir. Sonrasında bazı kemoterapötiklerin (bevasizumab ve pemetrekset) skuamoz hücreli karsinom ve adenokarsinomda etki ve yan etkilerinin farklı olduğunun görülmesi KHDAK’ın alt tiplerinin klinik önemini daha da arttırmıştır (14). KHDAK’ın bilinen 3 ana alt tipi bulunmaktadır: “adenokarsinom, skuamoz hücreli karsinom ve büyük hücreli karsinom”.

2.1.2.1. “Adenokarsinom”

Tüm akciğer kanserlerinin yaklaşık %40-50’sini oluşturur. Sigara içmeyen bayanlarda en yaygın saptanan akciğer kanseridir (19). Son yıllarda bileşen ve invazyon niteliğine göre yeniden sınıflandırma ile adenokarsinomlar müsin salgısı olsun ya da olmasın akciğerin papiller, nodüler, alveoler ve bronkoalveoler epitelin adenomatöz malign tümörleri olarak belirlenmektedir. Sıklıkla periferik yerleşimli olan adenokarsinom kitle görünüm ve pnömonik infiltrasyon şeklinde izlenebilir. Daha evvelden parankimdeki skar dokusundan türeyebilir ve bu yüzden “skar karsinomu” olarak da bilinebilir (17).

2.1.2.2. “Skvamoz Hücreli Karsinom”

Akciğer kanserleri arasında %20-30 oranda ve sigara kullanımı ile doğrudan ilişkili, çoğunlukla santral merkezli ve kaviteleşme görülebilen akciğer kanseri türüdür. Akciğerlerde merkeze daha yakın olan büyük hava yollarından yani bronşiyollerin duvarlarından kaynaklanır. Bronş içine yayılan kitle adenokarsinomdan daha geç metastaz yapar ve genellikle lokal yayılım eğilimindedir(20).

2.1.2.3. “Büyük Hücreli Karsinom”

Hızla gelişen bir kanser tipi olan büyük hücreli, farklılaşmamış karsinom, tüm bronkojenik karsinomların yaklaşık % 10'luk bir kısmını oluşturur. Sıklıkla sigara kullanımı ile doğrudan ilişkili, metastazı erken yapan kötü prognozlu bir tiptir. Tümör yapısı çoğunlukla geniş hacimli, iyi sınırlanmış, nekrotik kitlelerden oluşur ve genellikle subplevral merkezleşme, yaygın metastaza ve lokal invazyon yatkındır (21).

2.1.3. Akciğer Kanserin Epidemiyolojisi

DSÖ verilerine göre kansere bağlı her 5 ölümden 1'inde akciğer kanseri vakası tanımlanmıştır (%19,4, toplam 1.59 milyon ölüm). Akciğer kanseri, dünya genelinde erkekler arasında en yaygın rastlanan bir kanser türüdür (%16,7, yıllık 1,2 milyon yeni olgu). Kadınlarda ise tahmin edilen insidans hızları çoğunlukla düşüktür (%8,7, yıllık “583.000” yeni olgu) (22).

Türkiye’de kanser, kardiyovasküler sisteme bağlı gelişen hastalıklardan sonra en sık ikinci mortalite sebebidir ve kanserler arasında en yaygın ölüme neden olan tür akciğer kanseridir (23). “Sağlık Bakanlığı Kanser Daire Başkanlığı’nın 2012 yılı istatistiklerine göre” akciğer kanserinin ülkemizde görülme sıklığı bütün nüfus ve erkeklerde 1. (tüm kanserlerin arasında %21,8 oranla); kadınlarda ise ilk 5. (tüm kanserlerin arasında %4,9 oranla) sıradadır. Ayrıca, “Türk Toraks Derneği’nin 2009” yılına ait “Türkiye’nin akciğer kanseri haritası” başlıklı projesinde her yıl Türkiye’de “29.314” yeni akciğer kanseri vakasının ortaya çıktığı bulunmuştur. Yine bu çalışma sonuçlarına göre vakaların tanı aşamasında %47’si metastatik evrede, %37’si lokal ileri evrede iken, yalnızca %16’sı operasyona uygun evrede teşhis edilmektedir (24).

2.1.4. Akciğer Kanserinin Etiyolojisi

Akciğer kanserinin oluşumu tek bir sebebe bağlanamaz. Akciğer kanserinin etiyolojisi ve patogenezinin anlaşılması için çalışmalar devam ederken mevcut risk odak konuları arasında sigara, dumana maruziyet, mesleki akciğer kanserojenleri, radyasyon ve iç ve dış hava kirliliği, sosyoekonomik eşitsizlikler, yaşam tarzı (diyet, fiziksel aktivite vb.), kalıtsal faktörler yer almaktadır. Bu risk faktörlerine dayanan akciğer kanseri risk tahmin modelleri geliştirilmiştir, ancak klinik olarak yararlı risk sınıflandırması sağlamak için yeterli değildir. Akciğer kanseri riski ve erken teşhis için umut veren biyobelirteçlerin tanımlanması ve beraberinde geniş klinik uygulaması umut verici hedefler olarak nitelendirilmiştir (25).

2.1.4.1. Sigara ve Tütün Ürünleri

Akciğer kanserine sebep olan başlıca sebep uzun süreli sigara kullanımı ve tütün dumanına maruziyettir. Dünya genelinde akciğer kanseri vakalarının yaklaşık “%90’ı” sigara kullanıcılarındandır. Türkiye’de ise akciğer kanseri hastalarının “%88,7’sinde” sigara geçmişi mevcuttur. Sigara ve akciğer kanseri bağlantısı ilk olarak “1950” yılında gösterilmiş ve yapılan araştırmalarla daha sonra doğrulanmıştır. Akciğer kanserinin riski sigara kullanıcılarında 24-36 kat daha fazla tespit edilmiştir. Günlük tüketilen sigara miktarı, içilen sene sayısı ile doğru, sigaraya başlama yaşı ile ters orantıda artış göstermektedir (26). Ülkemizdeki 2009-2013 yılları arasındaki verilere göre erkeklerde akciğer kanseri insidansı 100.000’de 56’dan 51’e düşerken, kadınlar arasında 100.000’de 16’dan 18’e yükselmiştir. Erkeklerde görülen bu azalma, Türkiye’de sigarayı bırakma kampanyalarının caydırıcı, olumlu bir neticesi olarak görülmektedir (27).

İlginç olarak, pasif sigara kullanıcılarında akciğer kanseri gelişme riski % 20-30 oranla arttığı tespit edilmiştir (US, 2006). Örneğin, sigara kullanan erkeklerle evli sigara içmeyen bayanlarda akciğer kanserine yakalanma riski 1,3-2,5 kat artmakta (Steliga, 2011) ve 7 yaş altı grubun maruziyet riski daha yükselmektedir (26). Bu korkutucu tablonun altında yatan sebep ise sigara dumanının barındırdığı kanserojen maddelerdir.

Sigara dumanı 4000’den fazla kimyasal madde içermekte ve bunlardan en az 60 adeti karsinojen özellik taşımaktadır. Sigara dumanındaki önemli karsinojenler, “polisiklik aromatik hidrokarbonlar (PAH)”, “aromatik aminler”, “nitrozaminler” ile “benzen”, “vinil klorid”, “arsenik” ve “krom” gibi diğer organik ve inorganik element ve bileşiklerden oluşmaktadır. Bunlar arasında, 7 nikotin nitrozasyonu sonucu oluşan

“nitrozamin 4-(metil nitrozamin)-1-(3 piridil)-1- butanon (NNK)” en kuvvetli ve etkin mutajen karsinojendir. Sigara dumanında bulunan “PAH” ve “NNK” gibi tütün karsinojenleri kansere neden olan kimyasalların deoksiribo nükleik asite (DNA) kovalent olarak bağlanmasıyla DNA katımları (adduct) meydana gelir ve DNA tamir mekanizmaları bu katımları ayırabilir ya da hasara uğramış hücreyi kontrollü hücre ölümü olan apoptoza götürebilir (28). Bu katımların kontrolsüz çoğalması ise önemli onkogenik ve tümör baskılayıcı genleri içeren sinyal yollarının aktivasyonuna aracılık edebilir. Örneğin, “NNK’lar” Kirsten sıçan sarkoma 2 viral onkogen homologu (KRAS) aktivasyonu ile sonuçlanan DNA mutasyonlarından sorumlu tutulmuşlardır (29, 30). Ayrıca, sigara içmeyenlere ve diğer kanser türlerine oranla, sigaraya bağlı olarak tümör baskılayıcı genlerde en sık G:C ve T:A transversiyonu gelişmekte olduğu tespit edilmiştir (31).

2.1.4.2. Mesleki ve Çevresel Faktörler

Mesleki maruziyet (gemi yapımı, yapı malzemeleri, çanak. çömlek, matbaa) ile ilişkili kanserlerin başında akciğer kanseri gelmektedir. 2000 yılında, akciğer kanseri oluşumunun erkeklerde %15, kadınlarda ise %5 oranla mesleki maruziyet sorumlu bulunmuştur (26). “Uluslararası Kanser Araştırmaları Ajansı” mesleki karsinojenler olarak asbest, arsenik, berilyum, kadmiyum, bisklorometileter, kromiyum, nikel, radon, silika ve vinil klorid gibi tanımlamıştır. Dünyada mesleki karsinojenlere maruziyet nedeniyle akciğer kanserinden “152.000” ölüm ve “1,6 milyon” sakatlığa bağlı kayıp yıl (disability adjusted life year) kaydedilmiştir. Bunlar arasında yaklaşık yarısı ise asbest ve radon ile ilişkilidir (32, 33).

Sigara ve dumanı, karsinojen maddelerin aktivasyon hızını arttırmaktadır. Hatta akciğer kanseri riski, sigara kullanan asbest işçilerinde (gemi, inşaat, uçak ve otomobil yapımında veya tekstil endüstrisinde ısıya ve kimyasal maddelere dayanıklı kullanılan malzemelere maruz kalan çalışanlarda) 92 kat fazla iken, sigara kullanmayan asbest işçilerinde sadece 5 kat sık görülür (34).

Sigara ve radon etkileşmesi de sinerjik etki yaratır ve buna bağlı kanser riski “1,3-1,8” oranı arasındadır (34, 35). Radon, “Amerika Birleşik Devletleri Çevre Koruma Ajansı” tarafından sigara dumanından sonra gelen akciğer kanserinin ikinci önemli sebebi (%10) olarak bildirilmiştir (36). Radon kimyasal inert bir gaz olup uranyum parçalanma ürünüdür. Radondan üretilen alfa (α) partikülleri inhale

edildiklerinde “pulmoner epitel” ya da diğer hücrelerle direkt etkileşerek DNA hasarına neden olabilirler. Toprakta doğal olarak bulunması belirtilmiş akciğer kanser risk faktörünü kuvvetlendirmektedir. İyi hava almayan radon miktarı yüksek olan maden veya tünel ortamlarındaki işçilerde radona bağlı akciğer kanseri riskinin arttığı gözlenmiştir (37, 38).

Hava kirliliğinin barındırdığı karsinojenlerin gerek direk etkisi gerekse kronik inflamatuvar etkisi ile akciğer kanseri gelişimini hızlandırmaktadır (39). Yapılan çeşitli kohort ve olgu kontrol çalışmalarına göre hava kirliliği akciğer kanseri oluşma riskine %20-30 oranında sebep olmaktadır (39, 40). Türkiye’de yapılan bir çalışmada kent merkezlerinde yaşayanlarda diğer etkenlerden bağımsız olarak akciğer kanseri riski “2,19” kat fazla bulunmuştur. Bu sonuç, il merkezlerindeki hava kirliliği ve egzoz dumanları gibi kentsel maruz kalımların sağlığımız üzerindeki önemini göstermektedir (41).

Sosyoekonomik durumu düşük olanlarda da akciğer kanseri gelişme riski 2-6 kat fazla olması, bu insanların etiyolojideki faktörlere daha çok maruziyeti ile ilişkili olduğu düşündürmektedir (26).

2.1.4.3. Yaş, Cinsiyet ve Irk

Yaşlılık hastalığı olarak bilinen kanserde, akciğer kanseri için durum 50 yaş ve altı mortalite oranını azaltırken, 70 yaş ve üzeri özellikle sigara hikayesi olanlarda akciğer kanseri görülme riskini arttırmaktadır. Erkekler arasında yaşa bağlı akciğer kanseri insidansı kadınlardan daha yüksektir, ancak erkekler arasında da azalan akciğer kanseri insidansı ile birlikte bu fark gittikçe azalmaktadır (42, 43).

Erkekler arasında kansere bağlı ölümlerde başlıca sorumlu tutulan akciğer kanseri, 1930’lardan sonra kadınlarda sigara içme oranlarının artması ve kadınların erkeklere göre sigaraya daha hassasiyeti ile bile birlikte yükselen bir hızda artmakta iken 2005’te bu hız kadınlar arasında plato yapmıştır (%0,2 artış hızı ile) (44). Ayrıca, hormon replasman uygulamaları (progesteron ve östrojen gibi) kadınlarda artan akciğer kanseri riski ile ilişkilendirilmiştir. Benzer şekilde östrojen replasman tedavisi adenokarsinom riskinde bariz artışla ilişkilendirilmiştir. Erken menopozda (“≤40 yaş”) beklenileceği üzere azalan adenokarsinom riski ile ilişkili bulunmuştur (45, 46).

Akciğer kanserinde ırk faktörü bazı mutasyonların ırklar arasında görülme sıklıklarının farklılık göstermesiyle etkilidir. Çin merkezli 306 akciğer kanserli hasta üstünde yapılan bir çalışmada sebep mutasyonlardan EGFR'nin bu kohortta daha yüksek bir frekansta mutasyona uğradığı, KRAS'ın ise sadece %10,1'inde mutasyona uğramış şekilde bulunduğu saptanmıştır. Beyaz ırkta ise KRAS'ın EGFR'nin iki katı kadar daha fazla oranda mutasyon gösterdiği bilinmektedir (47).

2.1.4.4. Beslenme

Diyete bağlı faktörlerin akciğer kanseri ile yakın ilişkili olduğu iddia edilmektedir. Serumda düşük antioksidan düzeyleri akciğer kanseri riski ile bağlantılı olarak, beta-karoten, vitamin A, C ve E (“ α -takoferol”) gibi antioksidanların akciğer kanserine karşı koruyucu etkileri gösterilmiştir (48, 49). Beslenmesinde turuncgiller, yeşil sebzeler ile balık gibi beta-karoten/retinol oranı yüksek besinler alan insanlarda akciğer kanseri riski 0,59'a düştüğü göreceli gösterilmiştir (50). Birçok epidemiyolojik çalışmada vitamin A açısından fakir diyet alanlarda, vitamin A bakımından zengin beslenenlere göre akciğer kanser gelişme riski “4,6” kat daha yüksek bulunmuştur (34). Sigaranın diyetle kazanılan vitaminlerin düzeyini bilhassa vitamin C'nin miktarını düşürdüğü bulunmuştur. Sigara kullanan ve kullanmayanlarda, vitamin C, taze meyve ve sebze alımının riski akciğer kanserinin tüm histopatolojik tiplerinde ve hem bayan hem erkeklerde azalttığı bildirilmiştir. Doymuş yağ ve kolesterolce zengin diyetin akciğer kanserİ gelişim riskini arttırdığı, öte yandan yeşil çayın kanserden koruyucu özelliği ve metastazı önlediği; folat eksikliğinin ise bronşiyal epitelde premalign lezyonlara sebep olduğu öne sürülmektedir (51, 52).

2.1.4.5. Enfeksiyonlar

Onkogenik virüslerin akciğer kanseri gelişimine sebep olabilecekleri düşünülmektedir. Human papilloma virüsünün (HPV) bilhassa serotip 16 ve 18'inin diğer serotiplere oranla bazı çalışmalarda akciğer kanserine sebep olma ihtimali gösterilmişse de diğer çalışmalardaki bulgular benzer değildir (53-55). HPV serotiplerinin E6 ve E7 onkogenleri aracılı trakeal epitel hücrelerde kansere sebep olduğu tespit edilmiştir (36). HPV E6 proteini p53 geninin degradasyonuna sebep olurken, E7 proteinin de retinoblastomun inaktivasyonuna sebep olduğu bilinmektedir (56, 57). 2016 yılına ait bir araştırmada HPV ilişkili akciğer kanseri olgusunun coğrafi farklılıkları göre değişkenlik gösterdiği savunulmuştur. HPV'ye maruz kalmış Tayvanlı

kadınların akciğer kanserine yakalanma olasılıklarının daha yüksek olduğu bulunurken Çin’de yapılan bir araştırmada HPV antikoru (bir maruziyet belirtisi) ile akciğer kanseri gelişimi arasında ilişki bulunamamıştır (58).

Ebstein bar virusü (EBV), Asyalılarda akciğer kanserinin nadir bir tipi olan lenfoepitelyoma benzeri bir karsinomla ilişkilendirilmiştir. Ayrıca, “BK virüs”, “JC Virüs”, “insan sitomegalo virüs”, “simian virüs 40” ve “kızamık virüsü” de akciğer kanseri etiolojisinde etkenler arasında yer almakla beraber literatürde zıt çalışmalar da yer almaktadır (36, 59-61).

Klamidya pnömoni ve mikobakteriyum tüberkülozis ile akciğer kanserinin bilhassa sigara kullananlarda ilişkilendirildiği çalışmalar mevcuttur (62). Klamidya pnömonia, akut solunum yolu enfeksiyonlarının genel bir nedeni olarak bilhassa sigara dumanına maruz kalan kişilerde akciğer kanseri gelişimine zemin hazırladığı savunulmuştur. Klamidya yaygın olarak bir onkojenik patojen olarak bilinmese de bazı araştırmacılar enfeksiyon sonucu oluşan inflamasyon ve beraberindeki DNA hasarına neden olan reaktif oksijen türlerine açığa çıkararak mutasyon riskini arttırdığını savunmuşlardır (36).

Ayrıca, henüz yeni sayılabilecek bir virüs olarak Tork Teno virüs DNA’sı idiyopatik pulmoner fibrozisli akciğer kanserli vakalarda yüksek oranda tespit edilmiştir (36).

İnsan bağışıklık yetmezlik virüsü (HIV) ile enfeksiyon da akciğer kanseri için risk olarak görülmektedir. Güncel tedaviler neticesinde AIDS nedenli mortalite oranları giderek düşse de AIDS’e bağlı olmayan akciğer kanseri gibi tümör kaynaklı ölümler gittikçe artmaktadır. Sigara kullanımı HIV ile enfekte kişilerde en önemli risk unsuru olmakla beraber immünbaskılama ve buna bağlı olarak insan herpes virüs 8, HPV, EBV gibi onkojenik virüsler tarafından eş zamanlı enfeksiyonlar da akciğer kanseri insidansını arttırdığı savunulmaktadır (36, 63).

2.1.4.6. Geçirilmiş Akciğer Öykülü Hastalıkları

Bazı geçirilmiş akciğer öykülü hastalıklar ile artan akciğer kanseri ilişkilendirilmiştir. Başlıca olarak “kronik obstruktif akciğer hastalığı (KOAH)” gelir. Son yıllarda tamamlanan geniş kohort çalışmaları da KOAH ile 2-4 kat daha artan akciğer kanseri gelişme riskini kaydetmişlerdir (Turner ve ark.,2007; Loganathan ve

ark., 2006). Bununla birlikte akciğer kanserli vakaların %50'den fazlasında yaş, cinsiyet ve sigara hikayesinden bağımsız olarak spirometrik şekilde GOLD evre 2 ve daha yüksek derecede hava yolu tıkanması ile seyreden KOAH izlenmiştir (Young ve ark., 2009). Alfa-1 antitripsin eksikliği de akciğer kanseri riskini 2 kat artırır (Loganathan ve ark., 2006). Tüberküloz, abse, bronşektazi, pulmoner emboli, intersitisyel akciğer hastalığı ve pnömoni gibi akciğerde hasar izi bırakan hastalıkların kanser gelişimine yatkın oldukları ve akciğer tüberkülozu yaşamış olgularda ise kansere yakalanma riskinin 8 kat daha fazla olduğu öngörülmektedir (64). Ayrıca, Sistemik lupus eritemesius birlikteliğinde (65), Klinefelter sendromunda (66) akciğer kanseri riskinin arttığına yönelik bilgiler vardır. Ayrıca, akciğer kanseri riskinin idiyopatik pulmoner fibrozisli olgularda da görülme sıklığı fazladır. Türkiye'deki akciğer kanserli hastaların genel profiline bakıldığında hastaların % 0,3'lük bir kısmında idiyopatik fibrozis, %2,9' kısmında ise akciğer tüberkülozuna bağlı sekonder gelişen fibroze dayalı kanser geliştiği tespit edilmiştir (67).

2.1.4.7. Kalıtsal yatkınlık

Akciğer kanserinin en önemli etiyolojik sebebi sigara olmasına karşın ağır sigara içicilerin sadece %10- 20'sinde akciğer kanseri izlenmiştir (68). Ailesel soy ağacının analizi sonucu akciğer kanserinde genetik yatkınlık olduğuna dair görüşler yapılan olgu-kontrol çalışmalarıyla kuvvetlenmiştir. Yapılan çoğu araştırmada akciğer kanseri görülen ailelerde görülmeyene göre akciğer kanserine yakalanma riski 2 ile 5 kat daha yüksek bulunmuştur (69). Konak faktörleri kişisel farklı duyarlılıkta önemli rol oynarlar.

Son zamanlarda kazanılan bir bulgu, sigara içmeyen ve tümörlerinde EGFR mutasyonları olan KHDAK hastalarının aile akciğer kanseri öyküleri alkalın fosfotaz anaplastik lenfoma kinaz yeniden düzenlemesi veya KRAS mutasyonuna sahip olanlara göre daha fazla olduğuna dairdir (70).

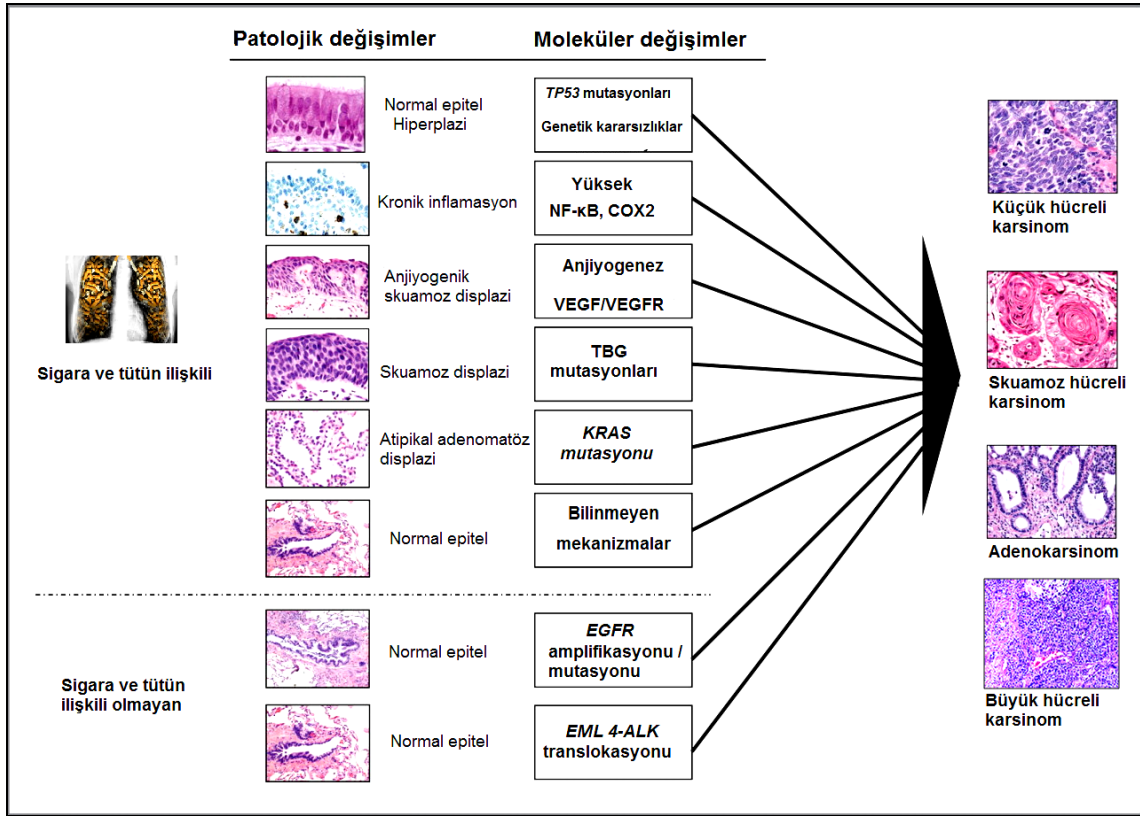
Bir çalışmada 40-49 yaşlar arasında sigara kullanmayan 277 vakanın aile öyküsünde en az bir birinci derece akrabada akciğer karsinomu varlığında riskin 7,2 kat arttığı kaydedilmiştir (71). Akciğer dokusunda emilen, metabolize edilen ve biriken tütün ve diğer karsinojenlerin “düşük penetrans-yüksek frekanslı genleri”, “yüksek penetrans-düşük frekanslı genleri” ve “kazanılmış genetik polimorfizmleri” hedef olarak DNA hasar tamir mekanizmaları regülasyonundaki etkileriyle sigara

kullanımının akciğer kanseri gelişim zeminini genetik faktörlerle birleşerek hazırladığı bilinmektedir (72-77). Ancak, birden fazla bulunan kalıtsal ilişkilere rağmen akciğer kanserindeki hedef genler tam olarak halen belirlenememiştir.

2.1.5. Akciğer Kanserin Moleküler Genetiği

Akciğer kanseri, dünya çapında kanser kaynaklı ölümlerin en başında geldiğinden son yıllarda yapılan araştırmalarla hastalığın patogenezi daha detaylı anlama ve tedavi yaklaşımlarını belirlemede büyük gelişmeler kaydedilmiştir. İlgili birçok moleküle sürücü (driver) mutasyonlar ve moleküler değişiklikler tanımlanmıştır. Bu sürücü mutasyonlar ve moleküler değişiklikler kanserin temel gelişme mekanizmalarından sorumlu tutulmaktadır (14). Bu genetik dönüşümlerin birçoğu sigara içme statüsü ve özellikle ırksal ve cinsiyet farklılıkları ile ilişkilidir, bu da akciğer karsinogenez mekanizmalarına konakçı faktörlerin kanser gelişimi ve progresyonunda rolüne dair bir kavrayış sağlayabilir.

Karsinogenez çoğul genetik ve epigenetik değişiklikleri içeren çok adımlı bir süreç boyunca gelişir. Akciğer karsinogenezinin oluşumunda etkin başlıca genetik değişimler arasında onkogenlerin mutasyon sonucu hiperaktivasyonu, tümör baskılayıcı genlerin susması veya delesyonu sonucunda inaktivasyonu, hücre siklusu regülasyonunda rol alan genlerde meydana gelen değişimler, DNA hasar tamirinde rol oynayan genlerdeki değişimler, büyüme faktörleri ve ilgili reseptörlerine ilişkin aktivasyon değişimleri, allel kayıpları (“heterozigosite kaybı – LOH”), kromozomal kararsızlık ve/veya dengesizlikler ve promotor hipermetilasyonundaki epigenetik değişimler olabilir.



Şekil 2-1: Akciğer kanserindeki moleküler değişimler (78)

Akciğer kanserinde onkojenlerin aktivasyonuna ve tümör baskılayıcı genlerin inaktivasyonuna yol açan biyolojik olarak önemli genetik değişikliklerin tanımlanması, daha fazla terapötik fırsat sağlama potansiyeline yönelme amaçlı devam etmektedir.

2.1.5.1. Onkojenik aktivasyon mekanizmaları

Yapılan gelişmelerle epidermal büyüme faktörü reseptörü (EGFR), Kirsten sıçan sarkomaviral onkogen (KRAS), “v-Raf murin sarkomu viral onkogen homoloğu B (BRAF)”, insan “epidermal büyüme faktörü reseptörü 2 (ERBB2)” mutasyonları, “anaplastik lenfoma kinaz (ALK)”, “proto-onkojen tirozin-protein kinaz 1 ROS (ROS1)”, ve “RET” proto-onkojenindeki gibi rearanjmanlar, ve” mezenkimal epitelyal geçiş geni (MET)”, “fibroblast büyüme faktörü 1 (FGFR1)” genlerindeki gibi amplifikasyonlar akciğer kanseri ilişkili onkogenlerin aktivasyonuna sebep gösterilmiştir.

EGFR (ERBB1) geni kromozom 7p12-13 koluna yerleşkeli ve hücre zarı reseptörleri tirozin kinaz ailesine aittir. Epidemal büyüme faktörünün bağlanmasıyla EGFR aracılı sinyal yolları (“PI3K / AKT / mTOR”, “RAS / RAF / MAPK” ve “JAK / STAT”) uyarılarak hücre proliferasyonu, hayatta kalma, farklılaşma,

neovaskülarizasyon, invazyon ve metastaz gibi çeşitli onkojenik fonksiyonların düzenlenmesinde rol oynarlar. Akciğer adenokarsinomlarının %20'lik kısmında EGFR mutasyonu saptanır (79). Sekanslama veya polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) metotları aracılığıyla saptanan mutasyonlar genellikle 18-21. ekzonlar arasında bulunur. Ekzon 20 üzerinde tespit edilen mutasyonlar çoğunlukla tedaviye dirençli değişimlerdir. EGFR tirozin kinaz inhibitörlerle tedavi alan hastaların büyük çoğunluğunda bu tedavi sürecinde EGFR mutasyonlarına bağlı, ikincil olarak ortaya çıkan bir mutasyon olan T790M sebebiyle, inhibitor ilacına karşı gelişen direnç neticesinde hastalığın relapsı görülür.

KRAS, RAS ailesinin proto-onkogenler (insanlarda KRAS, NRAS ve HRAS) ailesinin bir parçasıdır. Hücre çoğalmasını, farklılaşmasını ve hayatta kalmasını düzenleyen sinyal iletim yollarının (RAS/RAF/MEK/MAPK ve PI3-K) kontrolünde kritik rol oynayan bir G-proteinini kodlar. KRAS mutasyonu akciğer adenokarsinomlarında PZR veya sekanslama yöntemleriyle tespit edilebilen onkojenik değişikliklerden en sık (“%20-30”) görülenlerden biridir. Sigara kullanıcılarında KRAS mutasyonu genellikle saptanır. Sigara bileşenlerinden PAH ve nitrozaminlerle KRAS geninde G/T transversiyonları oluşurken sigara kullanmayanlarda G/A transisyonu görülür (80). KRAS mutasyonuna tespit edilen tümörler çoğunlukla EGFR ve ALK gibi diğer onkojenik değişiklikleri içermediklerinden bu vakalarda hangi onkojenik değişikliğin sürücü olduğunu ortaya çıkarmak için hastanın hedefe yönelik tedaviye cevabı yol gösterici olmaktadır (81).

BRAF hücre proliferasyonunu kontrol eden mitojen aktif protein kinaz (MAPK) ailesinin alt proteinleriyle ras proteinlerinin bağlantısını sağlayan bir serin tireonin kinazdır. Artmış transformasyon ve kinaz aktivitesine sebep olan mutasyonu ile akciğer adenokarsinomlarının yaklaşık %5'inde PZR ve sekanslama yöntemleriyle tespit edilir. BRAF mutasyonlarının hemen hemen %50'lilik bir kısmını V600E mutasyonları teşkil eder (82).

ERBB2 (HER2/neu) 17. kromozom üzerine yerleşmiş bir tirozin kinaz reseptörüdür. ERBB2 amplifikasyonu akciğer adenokarsinomlarında %10 ile 20'lik bir kısmında tespit edilirken, ERBB2 mutasyonları ise %2 ile 4 görülme sıklığındadır (83). ERBB2 aşırı ekspresyonu veya gen amplifikasyonu tespit edilen tümörlerde ek olarak KRAS ve EGFR mutasyonları gibi diğer sürücü onkogenik mutasyonlar da görülebilir. Bu durumun ERBB2 değişimlerine bağlı sürücü onkogenik

farklılaşmalardan daha çok, kanserin ilerleyişi ve ilaç tedavilerine karşı sonradan kazanılmış dirençleri ile ilgili olabileceğini akıllara getirmektedir (84).

Myc gen ailesi üyeleri olan c-myc, n-myc ve l-myc DNA'ya bağlanan bir nükleer fosfoproteini kodlarlar. DNA sentezinin başlamasında, hücre proliferasyonunda ve farklılaşmasında bu proteinler görev alırlar. Bu gen sıklıkla amplifikasyon ve transkripsiyon regülasyonlarındaki bozukluklarla onkogen haline dönüşebilmektedir. “KHAK”ların %18-31'i, “KHDAK”ların ise % 8-20'lik bir kısmında myc aktivasyonu görülür. c-myc amplifikasyonu olan hücrelerde ise büyüme faktörüne azalan gereksinim neticesinde hücre döngüsünde G1 fazı kısaltarak proliferasyon ile sonuçlanır. c-myc'nin, tümör büyüme hızında artış ve sağkalımda azalma ile ilgili olduğu da savunulmaktadır (85).

ALK rearanjmanı ALK geni üzerinde meydana gelen sıralı kromozomal değişimlerdir. Akciğer adenokarsinomları arasında %5'lik bir oranla saptanır. 2007 yılına ait bir çalışmada Japon “KHDAK”lı hastalarda ALK enziminin “ekinoderm mikrotübül benzeri protein 4 (EML4)” geni ile kromozomal translokasyonu sonucunda EML4-ALK füzyon protein oluşturdukları tespit edilmiştir (86). Bu mutasyonun saptandığı vakaların birçoğu yaşları genç, sigara kullanmayan ya da hafif sigara kullananlar arasındadır.

ROS1, ALK'ye benzer şekilde akciğer adenokarsinomları arasında %1-2 oranında görülen 4 sıralı kromozomal değişimlere uğramış insülin reseptör ailesine ait bir tirozin kinaz reseptörüdür. ALK gibi ROS1 rearranjmanı tespit edilen vakalar da bir tirozin kinaz inhibitörü olarak bilinen krizotinibe cevap verir (87, 88). ROS1 rearranjmanı diğer onkogenik değişimlerden KRAS, BRAF, ve EGFR'lar ile bir arada görülebilirler.

RET geni üzerinde meydana gelen bir dizi kromozomal değişimler akciğer adenokarsinomlarının hemen hemen %1-2'lik bölümünde görülür ve çoğunlukla sigara kullanmayan hastalarda tespit edilir. RET geninde meydana gelen değişiklikler arasında en çok karşılaşılan KIF5B-RET füzyonudur. Bu güne kadar yapılan klinik araştırmalarda RET rearranjmanı tespit edilen vakalarda birden çok hedefli kinaz inhibitörlerine karşı sınırlı cevap alındığı ve bu durumda hedefe yönelik etki gösteren yeni ilaçların geliştirilmesi gerekliliği bilinmektedir (89).

MET, kromozom 7q21-q31 üzerinde bulunan bir proto-onkogen olarak hepatosit büyüme faktörü reseptörü olarak da bilinen bir membran tirozin kinaz reseptörünü kodlar ve ligandın bağlanmasıyla “RAS / RAF / MEK / MAPK”, “PI3K / AKT” ve “c-SRC” kinaz yolları dahil alt akış yollarında sinyal iletimini sağlar. MET amplifikasyonu ve Met mutasyonu birbirini dışlayan onkogenik değişimler olmamakla beraber MET amplifikasyonu görülen vakalarda eş zamanlı MET mutasyonu olan ekzon 14 kaybı da görülebilmektedir. MET amplifikasyonu ile EGFR inhibitörlerine karşı direnç mekanizmaları oluşabilirken, öte yandan ekzon 14 bölgesinde kaybı olan vakalarda MET inhibitörlerine cevap alındığını kanıtlayan çalışmalar mevcuttur (90, 91). Ayrıca, MET amplifikasyonuna sahip vakalarda artan krizotinib cevabı gelişebileceği de gösterilmiştir (92).

FGFR1, MAPK ve PI3K yollarının aktivasyonu yoluyla hücre çoğalmasını düzenleyen bir membran reseptör tirozin kinazdır. FGFR1'in amplifikasyonu, *in vitro* olarak küçük moleküllü inhibisyona hassas olan KHDAK hücre hatları üzerinde onkogenik etkiye sahip olduğu gösterilirken, KHAK'ların yaklaşık %20'sinin FGFR1 amplifikasyonunu desteklediği gösterilmiştir, ancak adenokarsinomlarda anormal durum nadirdir (93).

2.1.5.2. Tümör baskılayıcı genlerin inaktivasyon mekanizmaları

Tümör baskılayıcı gen (tumor suppressor gene; TSG) fonksiyonunun kaybı, önemli bir karsinogenez mekanizmasıdır ve akciğer kanserinde sıklıkla inaktive olan TSG'ler arasında TP53, retinoblastom 1 (RB1), serin-treonin kinaz 11 (STK11/LKB1), FHIT ve PTEN yer alır.

TP53 kromozom 17p.13 üzerinde bulunarak, hasar görmüş DNA'nın bölgelerini tanımlayan ve bağlayan veya hasarlı hücrede apoptozu sağlayan çok sayıda farklı genin ekspresyonunu kontrol eden bir transkripsiyon faktörü olarak hareket eden bir nükleer fosfoproteinini kodlar. TP53 inaktivasyonu, akciğer kanserinde 17p.13'lük hemizigot delesyonu, TP53 lokusunu içeren küçük hücreli karsinomların %90'ında ve KHDAK'ın yaklaşık %65'inde meydana gelen en önemli genetik anormalliklerden biridir (94). TP53'te inaktive edici mutasyonlar (çoğunlukla DNA bağlayıcı alandaki kayıp (missense) mutasyonları) KHAK karsinomlarının %80-100 arasında bildirilmiştir. KHDAK'ta TP53 mutasyonları pozitif sigara içme öyküsü veya çevresel tütün dumanına maruz kalma ile ilişkilendirilmiştir. Farklı tiplerde TP53 mutasyonlarının mutasyonel

spektrumu tütün gemişiolanlarda farklıdır. Örneğın; sigara içenlerde G:T transversiyonları sıklıkla iken tütün dumanına maruz kalanlarda G:C transversiyonları görülürken hiç sigara kullanmayanların CpG dinökleotitlerinde G'den A'ya transisyonlar görölmüştür (95). TP53 gen mutasyonları EGFR ve KRAS mutasyonları ile ilişkili olarak da ortaya çıkabilmektedir (96).

RB, kromozom 13q.14 bölgesindeve çocukluk çağı retinoblastomlarında görölen bir nükleer fosfoproteindir. Fosforlanmasıyla hücre döngüsü ilerlemesinin kontrolü, transkripsiyon ve hücre farklılaşması ve çoğalması arasındaki dengeyi sağlar. Akciğer kanserinde RB genindeki silinmeler, anlamsız mutasyonlar, patojenik uç birleştirme (splicing) varyasyonları ve kromozomal silinmeler fosforlanmış Rb yolağını bozarak hücrenin çoğalmasının devam etmesine ve anti büyüme faktörlerine karşı duyarsız hale gelmesine sebep olur. KHK'ların %90 ve KHDK'ların %15-30'undan fazlasında RB ifadesi ya yoktur ya da anormaldir. Bunlarla beraber fosforlanmış RB durumunun KHDK'lı hastalarda prognostik bir önemi yoktur (97).

LKB1, mTOR'u inhibe eden bir serin-tireonin kinazı kodlayan ve hücre döngüsü, kromatin yeniden modelleme, hücre polaritesi ve enerji metabolizmasının düzenlenmesi de dahil olmak üzere bir dizi biyolojik süreçte rol oynayan kromozom 19p.13 üzerinde bulunan bir TSG'dir. LKB1 akciğer adenokarsinomlarının yaklaşık %11-30'unda meydana gelen LKB1'in inaktivasyonu kesilmiş proteinler üreten çeşitli somatik mutasyonlar veya delesyonlarla meydana gelebilir, bu da onu akciğer adenokarsinomunda üçüncü yaygın genetik aberasyon haline getirmiştir. LKB1 mutasyonları ile sigara içimi öyküsü erkeklerde bir ilişki olduğuna dair kanıtlar vardır ve KRAS mutasyonları ile korelasyon da bildirilmiştir (98).

FHIT, bir tümör baskılayıcı genidir. Gen kaybı ile meydana gelen diadenosin tetrafosfat birikimi sonucunda DNA sentezi ve hücre çoğalması stimüle edilmiş olur. İmmünohistokimya boyalarında KHDK'lı örneklerde FHIT ifadesinin % 49 azaldığı bulunmuştur ve bu oran kronik sigara içicilerde ve erken evre KHDK'lı hastalarda barizdir (97).

PTEN, PI- (3,4,5) -tinfosfatın defosforile edilmesiyle PI3K / AKT / mTOR sinyal yolunu inhibe eden kromozom 10 üzerinde bir lipit ve protein fosfatazı kodlar. PTEN'in TSG fonksiyonunun inaktivasyonu, ligand bağlanması bağımsız olarak AKT / protein kinaz B'nin sınırsız aktivasyonuna yol açar. PTEN mutasyonları

KHDAK'ın %5'inde nadiren görülür ve sigara içme öyküsü ile ilişkilidir. Buna karşılık, indirgenmiş protein ekspresyonu, yaklaşık %75 oranında KHDAK'ta bildirilmiştir (99).

2.1.5.3. Epigenetik mekanizmalar

Geçtiğimiz birkaç yıl boyunca, araştırmacılar, insan genomunda kromatin yeniden modelleme, histon modifikasyonları ve DNA metilasyonu seviyesindeki epigenetik değişikliklerin, malign transformasyonu değiştirmek için kritik tümör baskılayıcıları ve onkojenlerin ekspresyon modellerini etkilediğini belirlemişlerdir. CpG adalarının anormal hiper ve hipometilasyonu akciğer kanserlerinin %15-80'i arasında en sık görülen bulgulardır. CDKN2A, FHIT, APC, p16 ve RASSF1A dahil olmak üzere tanımlanmış birkaç genin hedeflenen metilasyona özgü PZR ve kısıtlama yer işareti genomik tarama (restriction landmark genomic scanning) gibi teknolojiler kullanılarak genellikle metillenmiş olduğu görülmektedir (100). Epigenetik analizler klinik çalışmalara entegre edilmeye çalışılmaktadır. Spesifik genler için metilasyon analizi, noninvaziv örnekler kullanılarak biyobelirteç keşif çabaları uygulanmaktadır. Belinsky ve arkadaşları, balgam örneklerinde önceden belirlenmiş genlerin bir panelindeki metilasyon paternlerinin analizi sonucunda sigara içenler arasında akciğer kanserinin yüksek riskli nihai gelişimi için tahmini değere sahip olduğunu göstermişlerdir (101). De Fraipont ve arkadaşları, Fransız Intergroup (IFCT-0002) faz 3 çalışması kapsamında evre I ile II KHDAK'ta neoadjuvan tedavisinin RASSF1a ve DAPK1'in metilasyonu için tümör numunelerini incelemişler ve her iki genin metilasyonunun prognostik etkinlik gösterdiğini saptamışlardır (102).

miRNA'lar, kodlayıcı olmayan gen düzenleyici RNA örnekleri olarak son yirmi yılda araştırmacılar insan genomunun geniş kodlanmamış kısımlarının da fonksiyonel olduğunu kanıtlamışlardır. Profilleme çalışmaları, akciğer tümörü ve bitişik olmayan akciğer dokuları arasında miRNA ekspresyonunda global farklılıklar gösterilmiştir. Evre 1 adenokarsinomlarında yapılan çalışmalar miR-155'in artmış olduğunu ve Let-7a2'nin azalmış sağkalım ile korele olduğunu göstermiştir (103). Saito ve arkadaşları miR-21'in üç bağımsız kohortta erken akciğer evre kanserlerinin kötü sonuçları ile tutarlı bir şekilde korele olduğunu belirlemişlerdir (104). Birçok çalışma, KHAK'ta adenokarsinoma kıyasla aşırı eksprese edilen miR-205'in histolojileri ayırt etmek için kullanılabileceğini önermişlerdir (105). Klinik ortamda miRNA'nın rolü

belirsizliğini koruyarak, tekrarlanabilirliği gösteren büyük, ileriye dönük profil çalışmaları beklemektedir.

2.1.6. Akciğer Kanserinin Kliniği

2.1.6.1. Bulgular

Akciğer kanserli vakaları şikayet ve bulguları sebebiyle hastalar arasında çoğunlukla karşılaşılan “KOA”’dan ayırt etmek zordur. Tümörün lokal, bölgesel, metastatik veya sistemik etkileri ile akciğer kanserli vakaların %90’ından fazlası tanı döneminde semptomatik özelliklere sahiptir (106).

Akciğer kanseri için 40 yaşın üstü erkeklerde özellikle sigara kullanma hikayesi olanlarda öksürüğün karakter değiştirmesi önemli bir erken teşhis belirteçtir. Akciğer kanseri yaygın olarak kemik, böbreküstü bezleri, karaciğer ve beyin gibi organlara metastaz yaptığından bu sistemlere ait belirti ve bulgulardan da teşhiste yararlanılabilir.

Paraneoplastik sendromlar (PS) tümörün varlığına bağlı olarak tümörün ortadan kaldırılmasıyla gerileyebilen, tümörün fiziksel ve metastatik etkileri sonucundan ziyade belirtilerdir. PS’ların mekanizmaları tam anlamıyla çözülmüş değildir. Akciğer tümörlerli dokuların bazılarındaki tümör hücrelerinden salgılanan hormon veya hormona benzeyen aktif maddelerin salgılanması görülebilir. Bazılarının nedenleri peptidlerin ektojik salınımı olarak görülse de diğer savunuculara göre tümör hücreleri bu özel salgılarını doku boşluklarına vererek bunların dokuya karşı antijenik özellikler oluşturup belirtilerin meydana çıkarmaları olabilir (34). Akciğer kanserleri içinde PS’ın en sık görüldüğü tür “KHAK”’tır.

2.1.6.2. Tanı

Akciğer kanserli vakalarda semptom ve bulguların hastalığa özgün nitelikte olmamasıyla beraber hastaların çoğunun asemptomatik olması erken tanı yöntemlerinin geliştirilmesine ihtiyaç duyulmasına sebep olmuştur, çünkü akciğer kanserli vakaların birçoğuna tanı esnasında ileri evrede teşhis konulmaktadır (evre III, IV). Hatta bu ileri evredeki vakaların çoğunda hastalık metastazlı halde tespit edilmektedir (107). Bu sebeple günümüzde, metastazlar oluşmadan akciğer kanserinin prelinik olarak tanımlanması yani asemptomatik dönemde yakalanması son derece önem taşımaktadır.

Akciğer kanseri tanısında takı edilecek tanı uygulamalarının seçimi hastanın genel durumu, primer tümörün tipi, boyutu, lokalizasyonu, ve metastaz varlığı ile

ilişkilidir. Tanı esnasında doğru bir anamnez ve detaylı bir fizik muayene gereklidir. Genelde uygulanan tanısal yöntemler arasında; semptom ve bulgular tespiti ve fizik muayene sonrasında laboratuvar, balgam sitolojisi tetkiki, radyoloji inceleme, bilgisayarlı tomografi, magnetik rezonans, pozitron emisyon tomografisi, bronkoskopi ve sintigrafik bulguların incelenmesi, transtorasik iğne aspirasyonu uygulaması, torsesiz, toroskopi, video yardımcı torasik cerrahi ve mediastinoskopi gibi invaziv ve non-invaziv girişimler yer alır (107).

2.1.6.3. Evreleme

Tanı sonrasında akciğer kanserli hastaların prognozları hakkında en etkin tedavi yöntemine karar vermek ve tedaviye alınan yanıtları bilimsel olarak karşılaştırabilmek için hastalığın anatomik yaygınlığının belirlenmesi yani evrelendirilmesi gerekir. Bu nedenle “Uluslararası Kanser Mücadele Birliği” ve “Amerikan Kanser Birliği” tarafından Mountain’ın öneri ve görüşleriyle 1996 yılında yeni bir evreleme sistemi geliştirilmiştir. Akciğer kanserine ait tümör, nod ve metastaz (TNM) evreleme sisteminin yedinci versiyonu 2009 yılı Eylül ayında yayınlanmış ve 2010 yılı Ocak ayında da yürürlüğe konulmuştur. Güncel revizyon hali “Uluslararası Akciğer Kanseri Çalışma Derneği Yürütme Projesi” tarafından önerilmiştir. Projeye 100.000’den fazla vaka, 19 ülke ve 46 merkez katılımıyla analizler tamamlanmıştır. Önerilerle beraber sekizinci TNM sınıflandırması Ocak 2017’de yürürlüğe girmiştir (108).

T faktörü primer tümörün niteliklerini kapsamaktadır. Bu kapsamda yapılan değerlendirmeler tümörün boyutu, komşuluk ve invazyon özellikleri ve ilişkili nodüller gibi faktörlere dayanmaktadır. Primer tümörün tespit edilmediği ancak balgam veya bronkoskopik sıvılarda malign hücrelerin saptandığı sadece görüntüleme yöntemleri ya da bronkoskopik olarak belirlenemeyen tümörler Tx, herhangi bir tümör bulgusunun olmaması T0, karsinoma in situ tümör ise Tis olarak değerlendirilmektedir. Tümör boyutu 5 santimetreye kadar olan tümörler birer santimetre arayla T1a, T1b, T1c, T2a, T2b olarak adlandırılırken 5 santimetreden büyük ancak 7 santimetre ve altındaki tümörler T3, 7 santimetreden büyük tümörler ise T4 olarak tanımlanmaktadır (109, 110). N sınıflaması olarak bilinen nodal sınıflama toraks boyunca yerleşen lenf nodlarının metastatik tutulumunun adlandırılmasıdır (15). Son güncel evreleme sisteminde uzak organ metastazı olmaması M0, karşı akciğerde metastatik nodüller, plevral veya perikardiyal metastatik nodüller veya malign plevral veya perikardiyal

efüzyon M1a, tek bir ekstratorasik organda, tek metastaz M1b, bir veya birden çok organda çoklu ekstratorasik metastaz ise M1c olarak adlandırılmaktadır (109, 111).

TNM sisteminin yeniden geliştirilmesi ile de KHDAK'lı hastalar, yapılacak tedavi ve prognoz yönünden evre IA, IB, IIA, IIB, IIIA, IIIB ve IV şeklinde sınıflara ayrıştırılmıştır (112). Özet olarak; KHDAK'da hastalığın anatomik 4 evresi vardır aşağıda açıklandığı gibi belirlenir:

Evre 1: Tümör akciğerin sadece küçük bir bölümüne yerleşmiştir ve herhangi bir lenf bezesine henüz yayılma göstermemiştir.

Evre 2: Hastalık en yakın lenf bezelerine yayılmıştır veya lenf bezlerine yayılmadan önce göğüs kafesi, diyafram, akciğer veya kalp etrafındaki zara atlamıştır.

Evre 3: Tümör iki akciğer arasındaki mediasten denilen boşluğa veya buradaki lenf bezelerine yayılmıştır veya akciğer zarı, göğüs kafesi veya diyafram tutulumu ile birlikte lenf bezi yayılımı göstermiştir.

Evre 4: Tümör uzak organlara veya diğer akciğere yayılmıştır veya akciğer zarları veya kalp zarları arasında sıvı toplanmasına sebep vermiştir.

KHAK'lı hastalarda ise TNM sistemi yerine Veterans Yönetimi Akciğer Kanseri çalışma grubu tarafından önerilen evreleme sistemi kullanılmaktadır (34). KHAK'ta hastalık "sınırlı hastalık" ve "yaygın hastalık" olmak üzere anatomik olarak ikiye evreye ayrılmıştır:

"Sınırlı hastalık": Bu evrede kanser, göğüs kafesinin ve akciğerin sadece bir tarafında, ve komşu lenf bezelerde bulunmaktadır (%30).

"Yaygın hastalık": Bu evrede kanser, akciğerin diğer yarısına veya vücudun diğer bölgelerine yayılma göstermiştir (%70).

2.1.6.4. Prognoz

Akciğer kanserinde, hastalar genelde belirtilerin ortaya çıkışından itibaren 1 sene içerisinde yaşamlarını kaybederler. Bu denli ölüm oranlarının fazla olduğu akciğer kanserinin tanı ve prognoz belirlenmesinde klinik, endoskopik ve radyolojik yöntemlerin yanı sıra kanda laktat dehidrojenaz, nöron spesifik enolaz, ve kanser embriyogenik antijen gibi enzim aktiviteleri ölçümleri de belirleyici parametrelerdir (34). Prognoz hastanın yaşına, kanserli hücre tipine ve kanserin evresine göre değişir.

Bu parametreler göz önünde bulundurulduğunda KHAK ve KHDAK olarak iki grupta ele alınması da mantıklı görülmektedir.

KHDAK'lı hastaların KHAK'lı hastalara nazaran daha iyimser bir prognoza sahip oldukları bilinmektedir. Evre ilerledikçe de prognoz da kötüleşirken beş yıllık yaşam şansı evre I'de % 70, evre II'de % 30-50, evre III'de % 10 ve metastaz varlığında ise bu değerler daha da düşüktür (113). Periferik tümörlerde ise daha iyi prognoz gözlenmiştir. KHDAK'ta hücre tipine ek olarak esas alınan hastaların performans durumu, iştahsızlık ve beraberinde gelen az zamanda 4,5-5 kg'dan fazla kilo kaybı ve hastalığın yayılımı prognozda önemli etkenlerdir. Performans durumu çok iyi hatta %100 olan cerrahi işlem görmeyecek vakalarda ortalama yaşam süresi 9 ay, % 80-90 olanlarda 6-9 ay, % 60-70 olanlarda 3-6 ay, % 40-50 olanlarda 2 ay ve % 20-30 olanlarda ise 1 aydır. Hücre tipine göre sınıflandırıldığında bronkioloalveolar karsinom diğerleri arasında % 61 ile en iyi beş yıllık sağkalım oranına sahip tümör tipidir. Bronkioloalveolar karsinomu daha sonra adenokarsinom, skuamöz hücreli karsinom, büyük hücreli karsinom ve adenoskuamöz karsinom sırasıyla gelmektedir (114). KHAK'ta ise prognoz, tedavisi yapılmamış sınırlı hastalığa sahip vakalarda yaygın hastalığa sahip vakalara oranla daha iyimserdir. Sınırlı hastalığı olan vakalarda yaşam süresi ortalama 15-20 ay ön görülürken yaygın hastalıkta bu süre 8-12 aydır (115).

Yapılan son çalışmalarla, akciğer kanserinde bilhassa KHDAK'ta olmak üzere birçok biyolojik ve moleküler biyobelirtecin sağkalımla ilişkili prognostik önemi tespit edilmiştir. Örneğin, EGFR ve KRAS gen mutasyonları ile EML4-ALK füzyonlarının varlığı KHDAK'ta prognostik belirteçlerdir ve böylece hedefe yönelik tedavide kullanılan ilaç içeriği belirlemede yardımcıdırlar (116).

2.1.7. Akciğer kanserinde tedavi

Akciğer kanserinde tedavi, hücrelere göre farklılık gösteren akciğer kanseri tipleri ve hastalığın evresine göre cerrahi, KT (ilaçla tedavi), RT (ışın tedavisi) seçeneklerinin bazıları ya da tümü hastanın veya hastalığın özelliğine göre farklı sıralarla uygulanmasından oluşmaktadır. Bu tedavilerdeki amaç hastalığı mümkün oldukça ortadan kaldırmak, mümkün değilse sınırlamak, sağkalımı uzatmak ve en önemlisi hastanın yaşam kalitesini arttırmaktır.

2.1.7.1. KHAK'ta tedavi yaklaşımları

KHAK'lı hastaların genel özellikleri incelendiğinde hastalık ilerleme hızının iki katına çıkış süresi, hızlı büyüme fraksiyonu ve erken dönemde metastaz kabiliyeti özellikleriyle olguların 3'te 2'sinde tanı esnasında hematojen metastaz yaygın olarak görülmektedir. KHAK'ta tedavi planı hastalığın sınırlı ve yaygın evrede olmasına göre değişkenlik gösterir. Kimyasala duyarlı tümörlerin genelde olması nedeniyle temel tedavi kemoterapidir. Cerrahi uygulama vakaların sadece % 2-5'lik bir bölümünde ve evre IAB ve IIA hastalarda mümkündür. Sınırlı hastalıkta KT ve RT ile birlikte elde edilen başarılarla lokal kontrol artmakta ve yaşam süresi uzamaktadır. Burada, radyoterapiye erken dönemde KT (sisplatin + etopozid) eklenmesi önerilir. Tam veap alınan olgularda profilaktik kraniyal ışınlama (prophylactic cranial irradiation; PCI) uygulaması yapılır. Bilhassa vakaların 5'te 4'ünde kemoterapiye cevap alınarak, sağkalım süresi 8-14 ay daha uzatılmaya çalışılmaktadır. Yaygın hastalıkta ise genel olarak öncelikle 2 kür kemoterapi uygulandıktan sonra tedaviye yanıt alınırsa 4 kür tamamlanır. Bu ilk basamak tedavi uygulamalarında gelişme kaydedilmeyen vakalarda veya relaps vakalarında topotekan tedavisi uygulanabilir. Cevap hiç olmadığında ve primer tümör büyük hatta semptomatik geliyorsa palyatif dozda RT verilir. Hastanın yaşlı ve genel durumu da kötümser ise KT, ona da cevap vermiyorsa destek tedavi uygulanabilir. Yaygın hastalıkta tedaviye tam cevap var ise torasik radyoterapi ve PCI da seçenekler arasında görülebilir. Bu kapsamdaki tedaviler ile sınırlı vakaların %15-20'lik kısmı iki yıldan daha çok , %5-12'lik kısmı 5 yıl, yaygın hastalığa sahip olanların % 2'den azı ise 5 yıl ortalama yaşam süresine sahiptirler. Kemoterapiden önce ise sınırlı hastalıkta yaşam süresi ortalama 3,1 ay iken yaygın hastalıkta bu süre ortalama 1,4 ay olarak belirlenmiştir. Kemoterapi ile bu kısa süreçler sınırlı hastalıkta 12-16 aya kadar çıkabilirken yaygın hastalıkta 7-12 aya kadar uzayabilmektedir (117-119).

2.1.7.2. KHDAK'ta tedavi yaklaşımları

KHDAK'lı hastalar arasında 1/3'lük bir kısım veya daha az sayıda vaka sınırlı, lokalize kansere sahip olarak tanı konulurlar (evre I, II). 1/3'lük bir bölümü ise lokal yayılmış evre IIIA-B durumundadırlar. Kalan 1/3'ünde ya da yarı kısmında da klinik olarak tespit edilebilen uzak metastazlar görülür (evre IV). Bu tümörlere karşı en etkin tedavi cerrahi iken bu hastaların ancak %20-25'lik bir kısmına cerrahi işlem uygulanabilmektedir. KHDAK'ta evre I ve II medikal olarak cerrahiye uygun olgularda

anatomik rezeksiyon uygulanarak sağkalım %60-80 oranında standart cerrahi yaklaşımla sağlanabilmektedir. Erken evrede teşhis edilen KHDAK'lı hastalarda optimal prosedür lobektomidir. Erken evre akciğer kanseri vakalarında video eşlikli torakoskopik cerrahi, açık torakotomiye alternatif bir yöntem olarak uygun görülebilir ve evre I tümörlü hastalarda bu uygulamalar seçkin bir yaklaşım olarak bilinir. Cerrahi işlemle rezeksiyon operasyonu uygulanan patolojik evre II tüm vakalarında, 4 cm ve üstündeki evre IB vakalarda adjuvan kemoterapi endikasyonu mevcuttur (120). Adjuvan kemoterapi uygulamalarında platin bazlı ilaçlar önerilmektedir ve üzerine en fazla çalışmalar yapılmış KT protokolü vinorelbin + sisplatin kombinasyonundan oluşmaktadır (121). Cerrahi işleme uygun olmayan evre IIIA-B vakalarda en uygun tedavi yöntemi ise eş zamanlı KT'dir. Eğer eş zamanlı KT tedavisi yaş ve/veya komorbiditeler sebepleriyle uygun görülüyorsa ardışık KT önerilebilir. Literatürde KT kombinasyonları olarak sisplatin + vinca alkaloid, sisplatin + etoposid, sisplatin + pemetreksetin (skuamoz olmayan histolojide) verildiği eş zamanlı ve birbirini takip eden tedavilerin etkinlikleri kıyaslanmış olup paklitaksel karboplatinle diğer protokollerin kıyaslandığı faz 3 aşamasına ait bir araştırma bulunmamaktadır. Adjuvan, neoadjuvan veya konsolidasyon amaçlı immünoterapi altında programlanmış hücre ölüm reseptörü-1 ("programmed death receptor 1; PD-1") ve ligandının ("programmed death receptor ligand 1; PDL-1") inhibitörlerinin kullanımına yönelik çok merkezli çalışmalar devam etmektedir, ancak rutin uygulamalarda henüz yer verilmemiştir (122). Son zamanlarda ortaya sürülen akciğer kanserinde immünoterapi çoğunlukla "PD-1/PD-L1" yolağının blokajıyla KHDAK karsinomunun tedavisini amaçlamaktadır. Tümör hücrelerine infiltre edilen immün hücrelerinde PDL1 immünekspresyonunun analizi ile immünoterapi tedavisine uygun hastalar belirlenebilmektedir (123). Hedefe yönelik bu tedavilerin evre IV'teki vakalarda çok önemli bir yeri bulunmaktadır. İleri evre IV KHDAK'ta tedavi amacı hastanın yaşam kalitesini arttırarak, tedavi kaynaklı yan etkileri en aza indirip hayatta kalma süresini uzatmak amaçlı sisplatin bazlı kombinasyon (gemcitabin, vinorelbin, paklitaksel ve dosetaksel) KT uygulanması veya metastazlar nedeniyle semptomlu olgularda palyatif RT endikesinden oluşmaktadır (124).

2.1.7.3. KHDAK'ta moleküler hedefleme

KHDAK'ta şimdiye kadar bahsedilen moleküler mekanizmaların varlığı tedavideki moleküler hedeflemede yardımcı olmaktadır. EGFR mutasyonları ve ALK yeniden düzenlemeleri klinik olarak en yaygın hedefler arasında yer alır, ancak mutasyonların prevalansı farklı bölgelerdeki hasta popülasyonları arasında farklılık göstermektedir. Bu etnik farklılık EGFR mutasyonlarının yanında diğer sürücü onkojenik mutasyon profillerinde (ALK, KRAS, MET vb.) ve histolojide farklılıkların varlığı ile hedefe yönelik tedavide tümör yanıtında da değişimler oluşturmaktadır (125).

Günümüzde ilerlemiş akciğer kanserinin moleküler seviyede hedefe yönelik ve yaygın olarak kullanılan tedavi yöntemi EGFR tirozin kinazını hedefleyen gefitinib ve erlotinib ilaçlarıdır. Her ne kadar hedefe yönelik tedavi geliştirilse de KHDAK hastalarında sonuçlar genellikle eksik ve geçicidir. Hedeflenen ajanlara intrinsik, adaptif direnç veya kazanılmış direnç gelişebilir. İntrinsik direnç terapiye karşı duyarsız sürücü mutasyonların varlığından da kaynaklanabilir. Örneğin, EGFR ekzon 20'de eklemelerle oluşan mutasyon EGFR tirozin kinaz inhibitörlerine tedaviyi duyarsızlaştırır ya da BCL2L11 genindeki delesyon polimorfizmi veya nükleer (NF- κ B) faktörünün aktivasyonu apoptotik cevabı bozar (126). Bu sebeple, KHDAK'ta tedavide bir test algoritması düşünüldüğünde EGFR ile başlayan bireysel hedefler, negatif ise, ALK füzyon geni veya uygunsa diğer potansiyel hedeflere moleküler incelemelere yönlendirilmektedir.

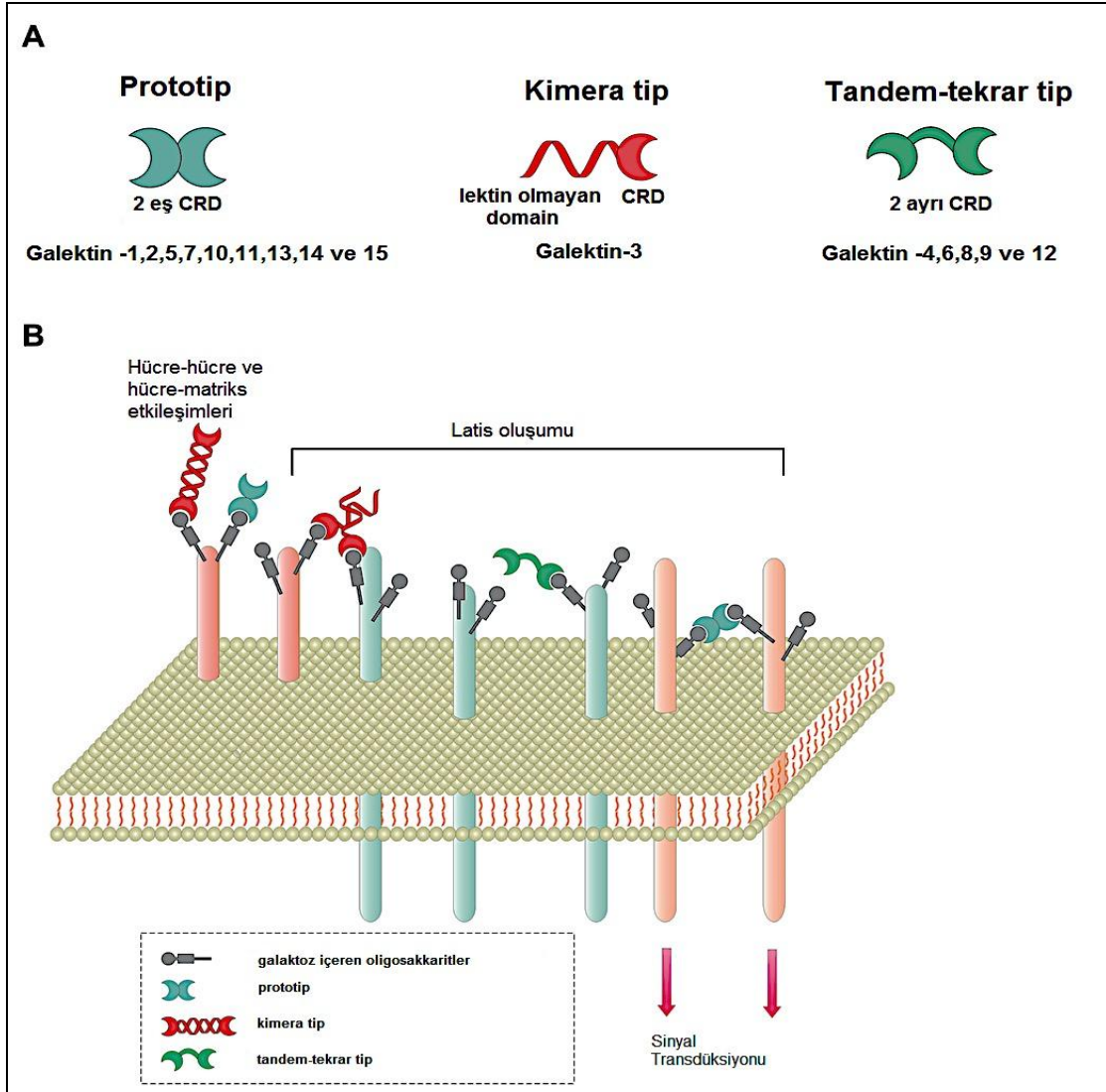
KHDAK'ta kemoterapiye hastalar arası farklı yanıtın oluşması belirsizliği korurken genetik faktörlerin etkili olduğu sebep olarak düşünülmektedir. KHDAK'ta tek nükleotid poliformizmlerinin (single nucleotide polymorphism; SNP) kemoterapiye direnç gösterme ve toksisite oluşturmadaki şiddeti altında yatan detaylı mekanizma ise hala araştırılmaktadır. Örneğin, çözünebilen lektin ailesine ait olan galektinler kanser patolojisinde önemli rol alırlar. Bu ailenin bir üyesi olan Galektin-3 proteinini kodlayan LGALS3 gen varyantlarının mevcudiyeti ise KHDAK'lı hastalar arası kemoterapiye farklı yanıtta belirleyici bir biyobelirteç olarak öne sürülmektedir (127).

2.2. Galektinler

Galektinler, β -galaktozit içeren glikanlara bağlanan bir veya iki karbonhidrat tanıma alanından (carbohydrate recognition domain; CRD) oluşan bir lektin ailesidir. Bugüne kadar memelilerde tanımlanan 15 galektinden 11 tanesi insanlarda hem hücre içi hem de hücre dışı olarak etkilerini gösterir. Galektinler, glikokonjugatlarla etkileşimler yoluyla biyolojik fonksiyonlarını spesifik gerçekleştirirler. Galektinler N-asetilkoltosamin dizileri için yüksek oranda korunmuş CRD'ler ile yüksek afiniteye sahiptirler. Tüm galektinler en az bir CRD'ye sahiptir. Galektinler CRD'lerin sayısı ve yapısı itibarıyla üç ana gruba ayrılırlar: prototipik galektinler, tandem-tekrar galektinler ve kimerik galektinler. Galektin-1, -2, -5, -7, -10, -11, -13, -14 ve -15 dahil olmak üzere prototipik galektinler, homodimer oluşturmak için iki özdeş CRD içerir ve bu nedenle zaman zaman dimerik galektinler olarak bilinir. Galektin-4, -6, -8, -9 ve -12 dahil olmak üzere, tandem-tekrarlı galektinler, tek bir polipeptit içeren bağlayıcı alanlarla bağlanmış en az iki ayrı CRD ihtiva etme ile karakterize edilirler. Galektin-3 ise omurgalılarda tanımlanan tek kimerik galektin olarak tek bir CRD ve büyük bir amino-terminal alanı içerir ve bu da çoklu-özdeş alt birimlerin ortak görünümü ile



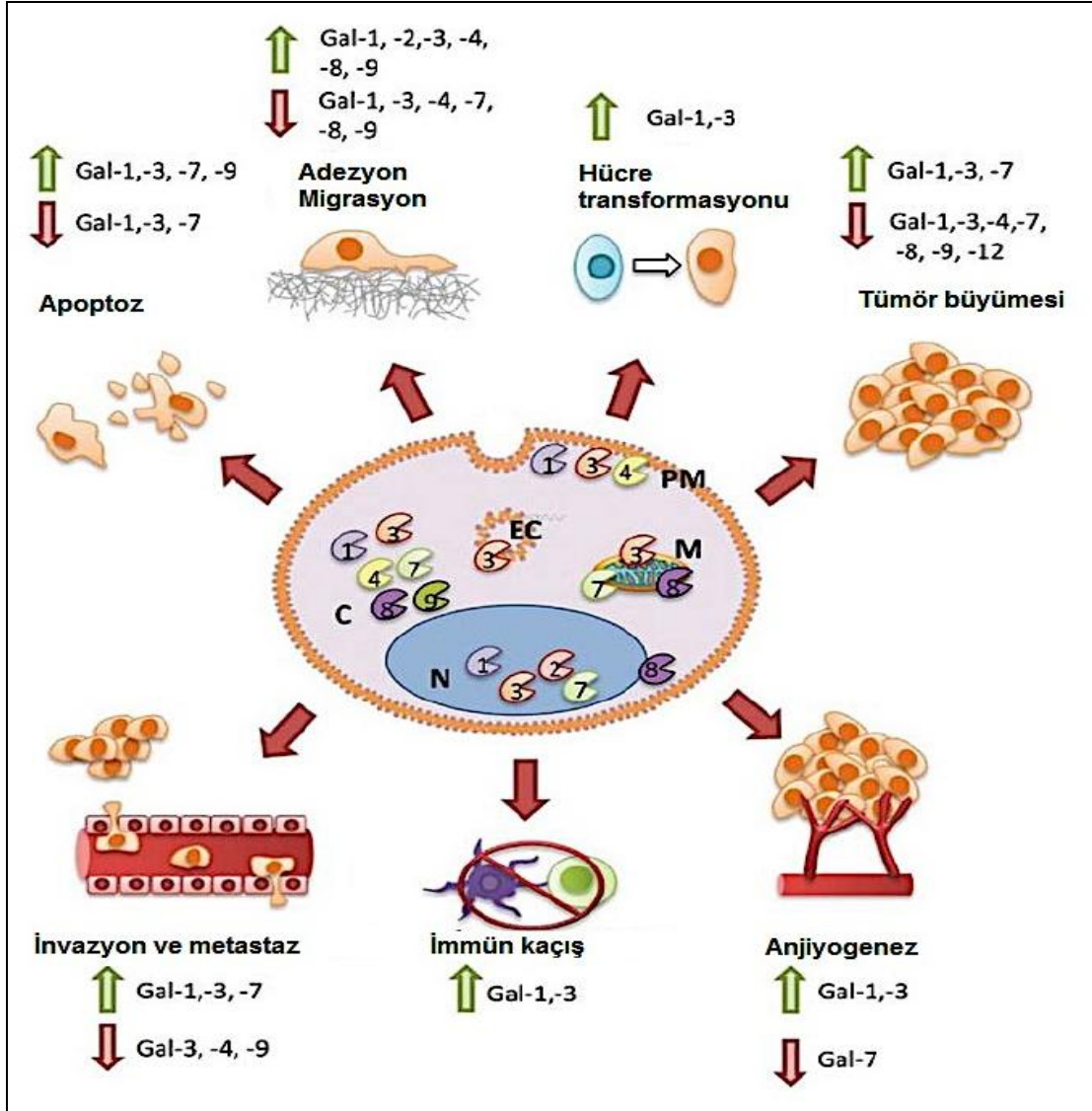
sonuçlanan, kendi kendine katlanmaya katkıda bulunur (128) (Şekil 2-2A).



Şekil 2-2: Galektin ailesi. A) Yapılarına göre galektinler; B) Galektinlerin hücre-hücre ve hücre-matriks etkileşimleri (129)

Galektinler, homotipik ve heterotipik etkileşimlerle hücreler arasındaki belirli etkileşimlere aracılık edebilirler; ayrıca hücreler ve hücre dışı matris bileşenleri arasındaki bağları kolaylaştırırlar (Şekil 2-2B). Bu hücre-hücre ve hücre-matriks etkileşimlerinin yanı sıra hücre yüzeyindeki galektin sinyalleri, sinyal yollarını modüle edebilir ve böylece hücresel fonksiyonları değiştirebilir. Galektinler, hücrelerin

farklılaşması ve organların gelişimi sırasında modüle edilirler, ancak bu modülasyondaki hatalar bir dizi fizyolojik ve patolojik durumda ortaya çıkar. Örnek olarak; apoptoz, anjiyogenez, hücre migrasyonu ve tümör immün kaçışı gibi çeşitli fonksiyonlarla değişmiş galektin düzeyleri kanser biyolojisinde rol oynarlar (130).

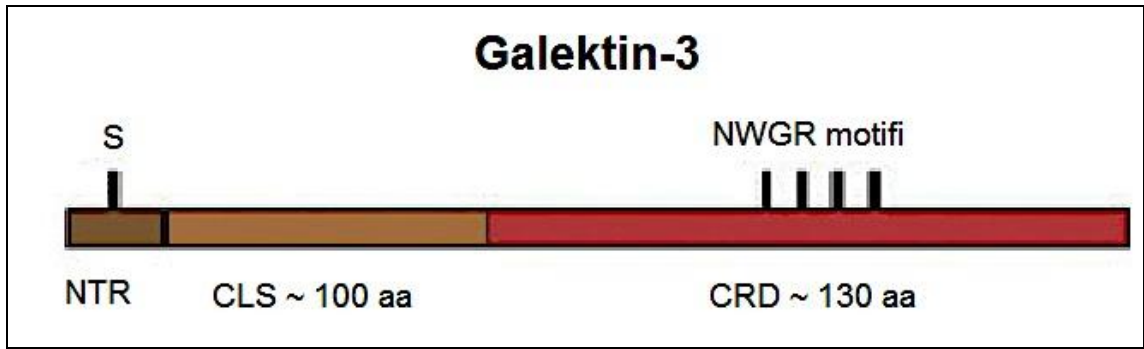


Şekil 2-3: Galektinlerin kanser mekanizmasındaki rolleri (131)

2.2.1. Galektin-3

Galektin-3 kimera tipli galaktoz bağlayan lektin ailesine ait 29-35 kDA ağırlığında, çeşitli memeli dokularında ekspresyon gösteren bir proteindir. Galektin-3 pentamerizasyon gösteren tek galektin çeşididir. Galektin-3, kromozom 14 [lokus q21-q22] üzerinde yer alan 6 ekzon ve 5 introndan oluşan LGALS3 geni tarafından kodlanır. LGALS3 geni, toplam yaklaşık 17 kb toplam genomu kapsayan 6 ekzon ve 5 introndan oluşur. Ekson I ve ekson II'nin bir kısmı, genin translasyonu yapılmamış bölgesini

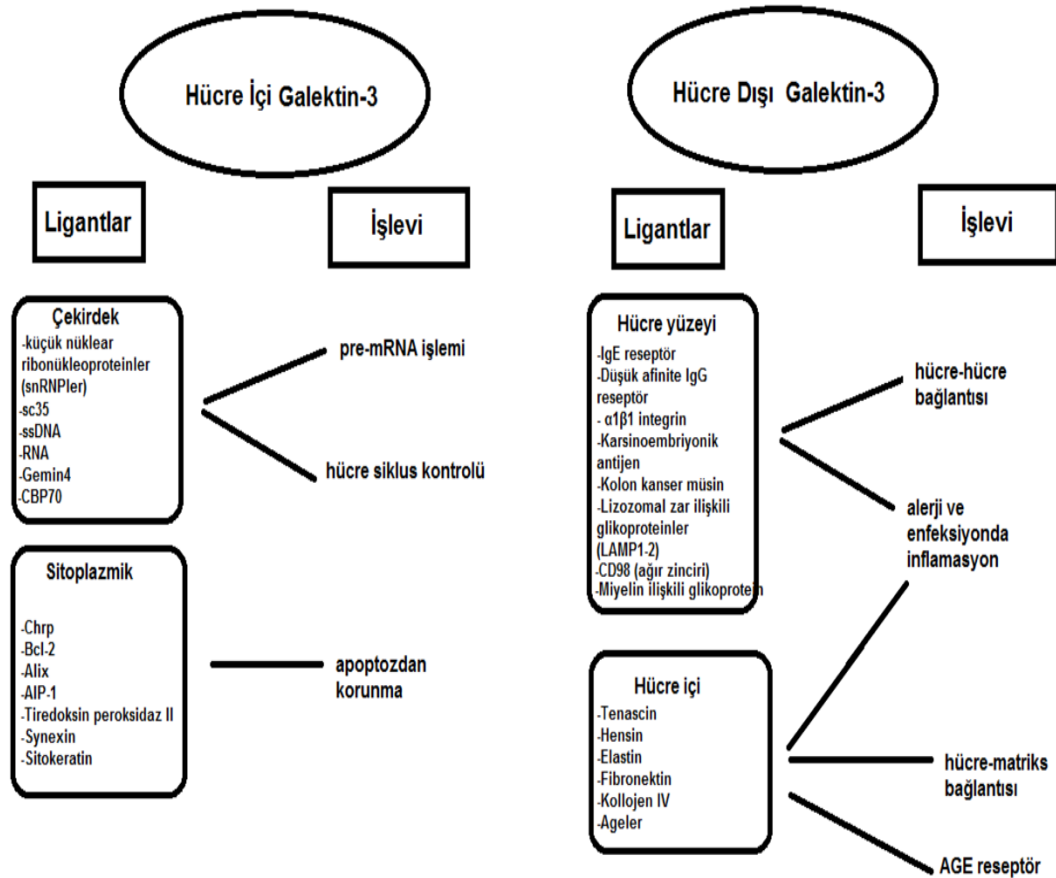
kodlarken, translasyon başlatma bölgesi ekzon II'nin diğer kısmında yer almaktadır (132). Amino (N) terminal bölgesi ekzon III ile kodlanırken, karbonhidrat tanıma (CRD) bölgesi ise ekzon IV, V ve VI ile kodlanır. Galektin-3'ün protein yapısında 12 amino asitlik (aa)serin-6-fosforilasyon (S) bölgesi içeren bir N terminal alanı ve glisin-prolin-tirozin tekrarlarından oluşan yaklaşık 100 aa.'lık kollajen benzeri bir diziye (CLS) sahip, metalloproteinazlar (MMP 2, MMP 9) tarafından kesime açık bir N terminal bölgesi ve anti-apoptotik Bcl-2 ailesi proteinlerinde bulunan BH1 motiflerine benzeyen NWGR motifi içeren yaklaşık 130 aa.'lık CRD bölgesi alanı içeren C terminal bölgesi mevcuttur (133)(Şekil 2-4).



Şekil 2-4: Galektin-3 protein yapısı (133)

Galektin-3 sitoplazma ve nükleus arasında taşınır. Baskın olarak sitoplazmada bulunan galektin-3 nükleusta, hücre membran yüzeyinde veya hücre dışında bulunmasına göre farklılık gösteren ligantlarıyla multifonksiyonel özellik kazanmaktadır. Hücre dışı ligantları olarak galektin-3 laminin, fibronectin, tenasin, kondroitin sülfat ve Mac-2 bağlayıcı protein gibi glikosile edilmiş hücre dışı matris bileşenlerine bağlanır. Integrinler gibi bazı hücre-yüzey yapışma molekülleri, bir integrinin bir veya her iki alt ünitesinin hücre dışı alanlarına bağlanma yoluyla galektin-3 ve galektinler için ligantlardır; integrin aktivasyonunu pozitif veya negatif olarak modüle edebilir ve hücre dışı ligantlarla bağlanmayı etkileyebilir. Fare makrofajındaki galektin-3 için ana ligant, aksi takdirde CD11b / 18 olarak bilinen integrin α M β 2'nin α alt birimidir. Ayrıca, galektin-3 laktoz bağımlı bir şekilde CRD alanı yoluyla integrin α 1 β 1 ile etkileşime girer. Galektin-3 ayrıca CD98 antijeninin endojen bir çapraz bağlayıcı olduğu ve integrin aracılı yapışmanın aktivasyonuna yol açtığı görülmektedir (134-136). Hücre içi ligantları olarak galektin-3'ün hücre içindeki birkaç proteinle etkileşime girdiği de bilinmektedir, örneğin: sitokeratinler, karbonhidrat bağlama protein 70 (CBP70), Chrp , Gemin4, Alix / arsenit indüklenen protein 1 (AIP-1), Bcl-2,

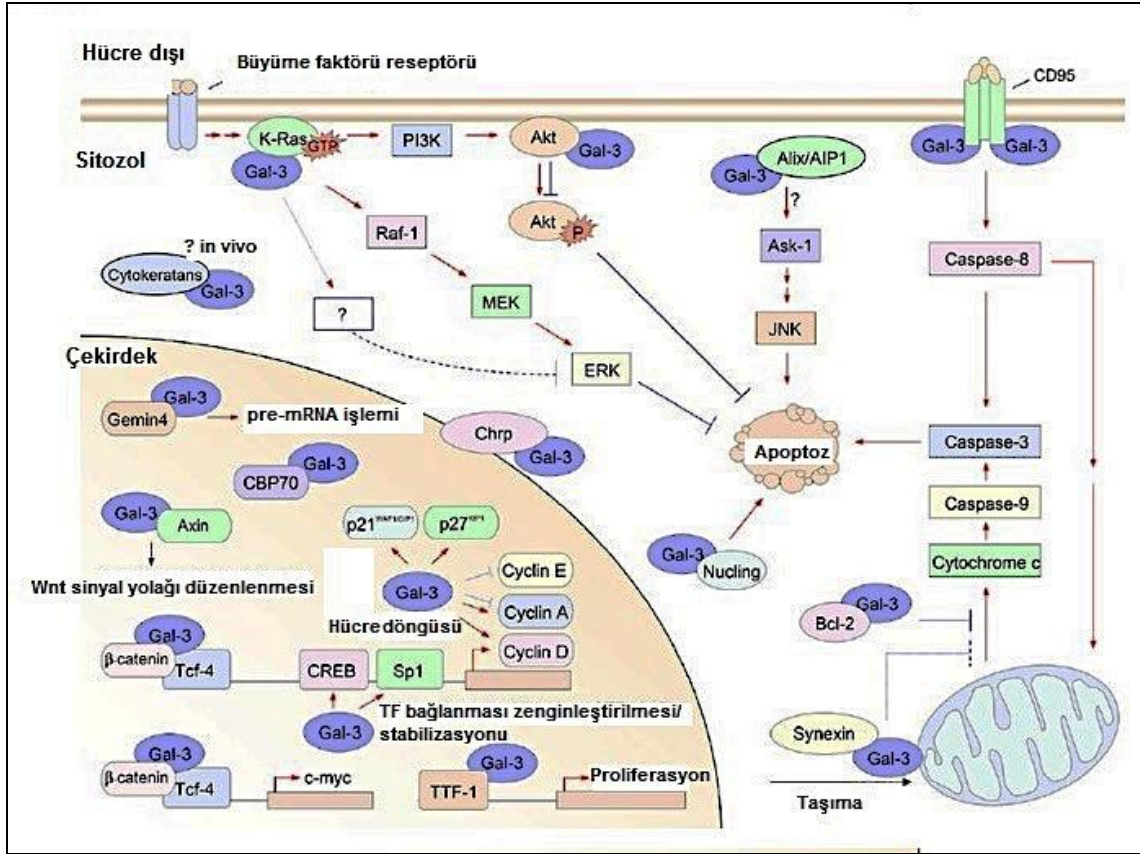
β -katenin, K-ras (137, 138). Bahsedilen hücre içi ligandların hemen hemen hepsinin, lektin-glikokonjugat etkileşimlerinden ziyade protein-protein yoluyla galektin-3 ile etkileşime girdiğini belirtmekte fayda vardır. Tek istisna sitokeratinlerdir. Nükleer galektin-3, yaklaşık 15 polipeptit içeren bir makromoleküler kompleks olan Gemin-4 motor nöronun hayatta kalması (“survival of motor neuron, SMN”) proteini (Gemin-2, Gemin-3 proteinlerini içeren) ile etkileşebilir. Ayrıca, galektin-3 nükleusta gen ekspresyonunda ve premRNAların çekirdek içi splicinglerinde de rol alır (139, 140). Galektin-3, nükleer ekstraktlardaki küçük nükleer ribonükleoprotein (snRNP) parçacıkları ile birleşir. Burada, tespit edilebilir en erken memeli prespliceozom kompleksi (E-kompleksi) (141) ve heterojen nükleer ribonükleoprotein kompleksi (H-kompleksi) (142) tanımlanmıştır.



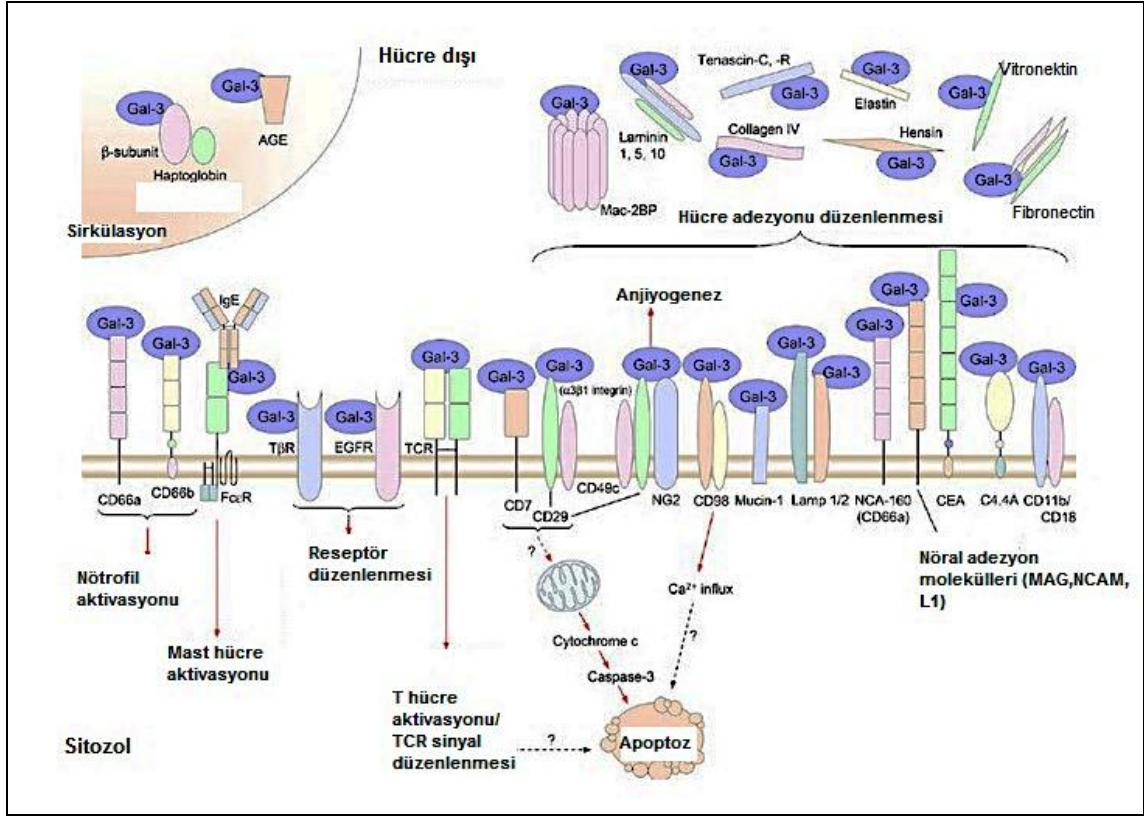
Şekil 2-5: Galektin-3’ün hücre içi ve dışı ligant ve fonksiyonları (143)

Özet olarak bakıldığında galektin-3 proteininin biyolojik rolü, çeşitli hücreler lokalizasyonu ile tanımlanır. Hücre dışı galektin-3, epitel hücre ve ekstrasellüler

matriks interaksiyonlarını sağlarken; sitoplazmik galektin-3, kanser hücrelerinin agresif fenotipini görülerek; nükleusta bulunan galektin-3'e ters görevde rol oynar (144).

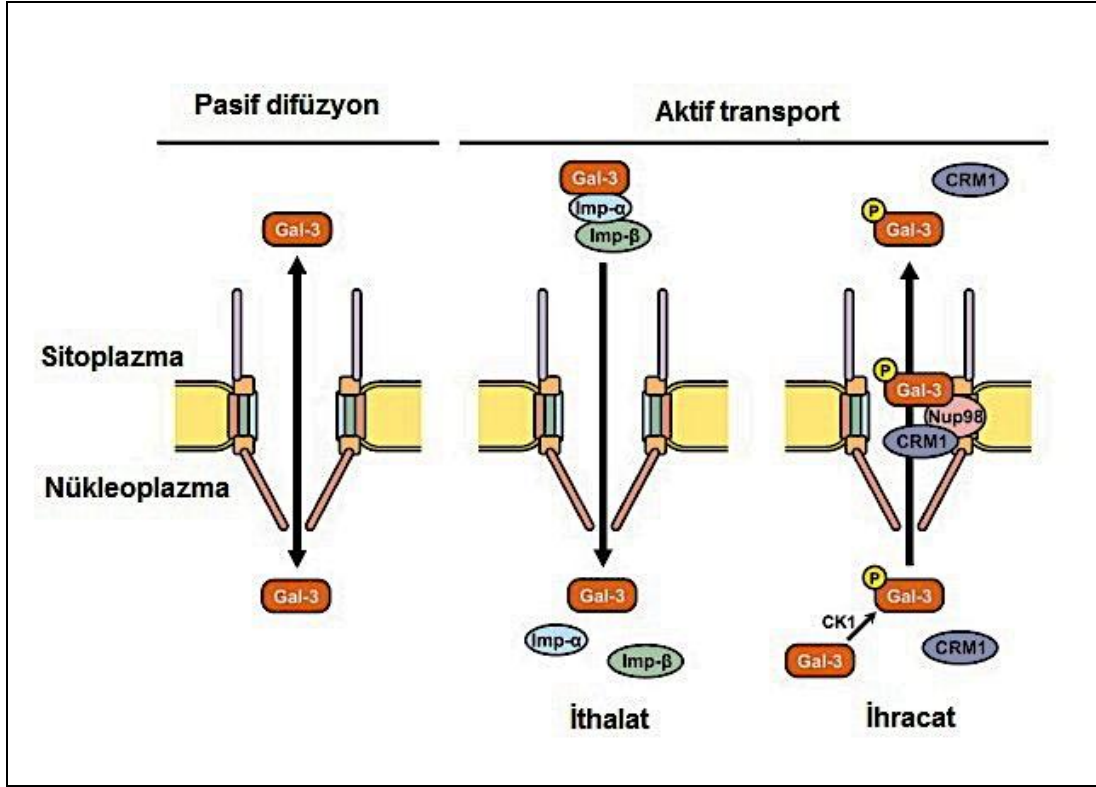


Şekil 2-6: Galektin-3'ün hücre içinde etkileştiği moleküller (137)



Şekil 2-7: Galektin-3'ün hücre dışında etkileştiği moleküller (137)

Nükleus ve sitoplazma bölümleri arası galektin-3 transportu nükleer porlar yoluyla galektin-3'ün fosforilasyona bağlı olarak importinler tarafından yönetilir. Nükleer lokalizasyon dizileri, murin galektin-3'te ((253) ITLT (256)) (145) ve insan galektin-3'te (223) HRVKKL (228)) (146) tanımlanmıştır. İnsan galektin-3 dizisinin nükleer porlardan geçiş için importin- α 'ya bağlandığı da gösterilmiştir. Ek olarak, lösin bakımından zengin bir nükleer ihracat sinyali (nuclear export signal, NES), murin galektin-3'ün 241-249 pozisyonlarında bulunmuştur (147) Bütün bu diziler CRD içerisindedir. Bununla birlikte, galektin-3'ün N terminali, aktif nükleer transporta katkıda bulunabilir. Aslında, kazein kinazı 1 tarafından Ser6'da galektin-3'ün fosforilasyonu (148) nükleer ihracatında ve anti-apoptotik aktivitesinde rol oynar (3).

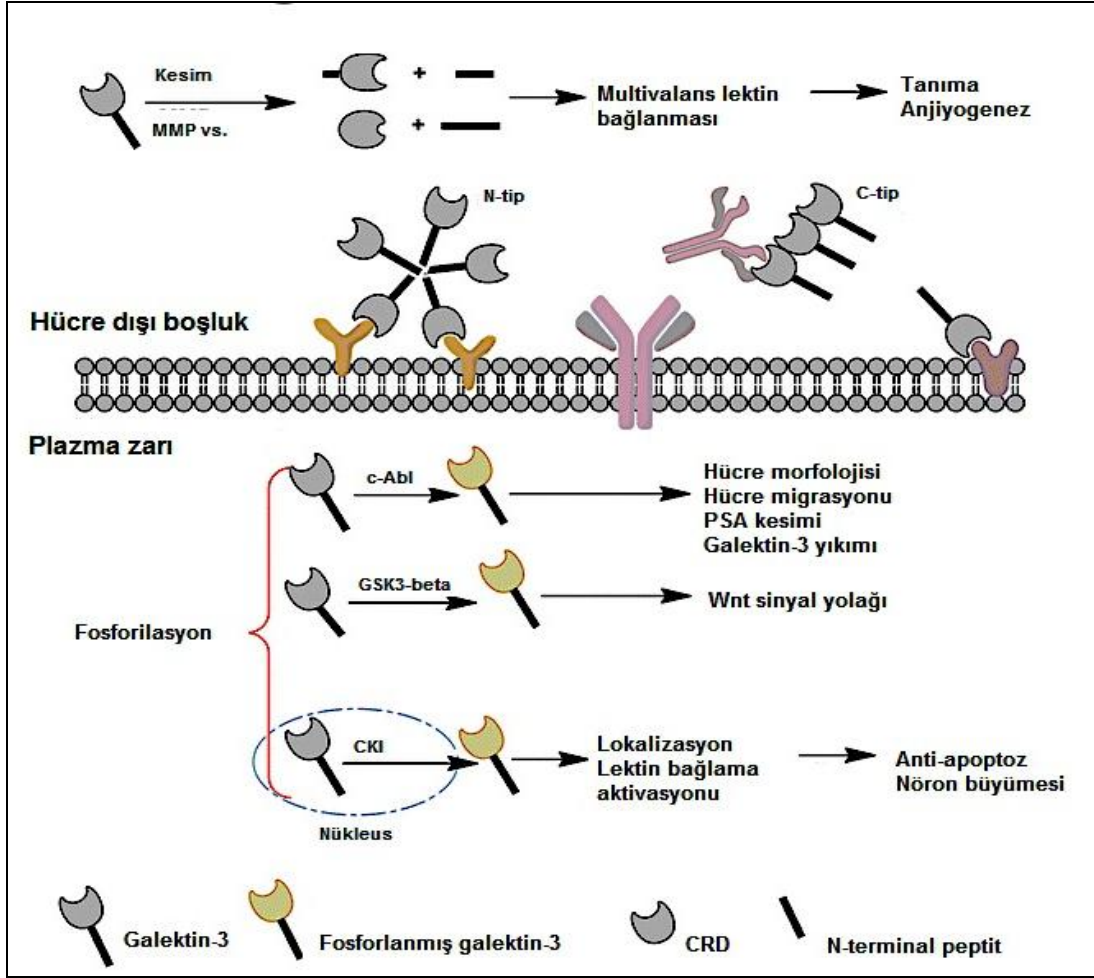


Şekil 2-8: Galektin-3'ün nükleositoplazmik transport yolları (149)

Galektin-3'ün salgılanması sitoplazmada serbest ribozomlarda gerçekleşir ve endoplazmik retikulum (ER) içine translokasyon için herhangi bir sinyal diziliminden yoksundur. ER / golgi ağını geçmese de galektin-3'ün hücre dışı bir konuma sahip olduğuna dair bol miktarda kanıt vardır. Bu proteinin, ER ve Golgi sistemi boyunca klasik salgı yolundan bağımsız olan, eksoitoz denilen yeni ve tamamıyla anlaşılmayan bir mekanizma ile hücrelerden salgılandığı gösterilmiştir. Galektin-3 salgılanmasında 89-96 (Tyr-Pro-Ser-Ala-Pro-Gly-Ala-Tyr) kalıntılarını içeren galektin-3 N-terminal dizisinin kısa bir bölümünün kritik bir rol oynadığı bulunmuştur. Bununla birlikte, bu sekans, CAT-füzyon proteininin doğrudan salgılanmasına neden olmak için yeterli değildir; bu, galektin-3'ün N-terminal sekansının geniş bir alanı bağlamında işlediğini gösterir. İmmünohistokimyasal çalışmalar, Galektin-3 sekresyonundaki ilk adımın, plazma zarının sitoplazmik tarafında birikimi olduğunu göstermiştir (150-153).

Post-translasyonel değişiklikler, bir proteinin işlevsel çeşitliliğini, bozunması veya kimyasal modifikasyonlar eklemesi yollarıyla etkili bir şekilde değiştirebilir; böylece aktivite, lokalizasyon ve ligand etkileşimi düzenlenir. Galektin-3 post-translasyonel olarak ise sınırlı olarak proteoliz ve fosforilasyon modifikasyonlara maruz kalır. Hücre dışı galektin-3 MMP'ler ve prostata özgü antijen (PSA) gibi farklı

moleküller ile bölünebilir. MMP'ye bağlı işlem, kesik biçimine yol açar. Bu kesilmiş galektin-3 formu, galektin-3 multimerizasyonunu ve biyolojik fonksiyonlarını engeller. Galektin-3'ün yapısal varyantları, SNP'ler veya tam galektin-3'ün spesifik bölgelerinde fosforilasyon nedeniyle proteolizle etkileşime girer. Örneğin, His64 için Pro64 değişikliği beraberindeki galektin-3 fonksiyonundaki değişiklikler, meme ve prostat kanseri insidansı ile ilişkilendirilmiştir. Aslında, bu P64H ikamesi MMP-2 ve -9 bölünmelerine karşı hassasiyetle de gösterilmiştir (154, 155). Fosforilasyon ise, galektin-3'ün ligantlarla etkileşimini değiştirerek proteinin konformasyonel değişikliklerini içerir. Bu post-translasyonel modifikasyonun fizyolojik önemi açık olmamasına rağmen, galektin-3'ün fosforilasyonunun hücre içi fonksiyonunu ve translokasyonunu modüle edebileceği öne sürülmüştür. Galektin-3, N-terminal Ser'de (Ser6 ve Ser12) veya Tyr bölgelerinde fosforile edilebilir. Örneğin, serin fosforilasyon, laminin ve muslin'e diferansiyel bağlanmayla ilişkilidir, bunun yanında nükleer ihracatta ve galektin-3'ün antiapoptotik aktivitesinde rol oynamıştır. C-Abl kinazın aracılık ettiği galektin-3'ün tirozin fosforilasyonu ise hücre motilitesi, lizozomal bozunma, yarıma inhibisyonu ve galektin-3'ün salgılanması için gerekli gibi görünmektedir (148, 150, 156, 157). Bu nedenle, post-translasyonel değişiklikler, galektin-3'ün işlevsel karmaşıklığını artırır.



Şekil 2-9: Galectin-3'ün post-translasyonel modifikasyonları (158)

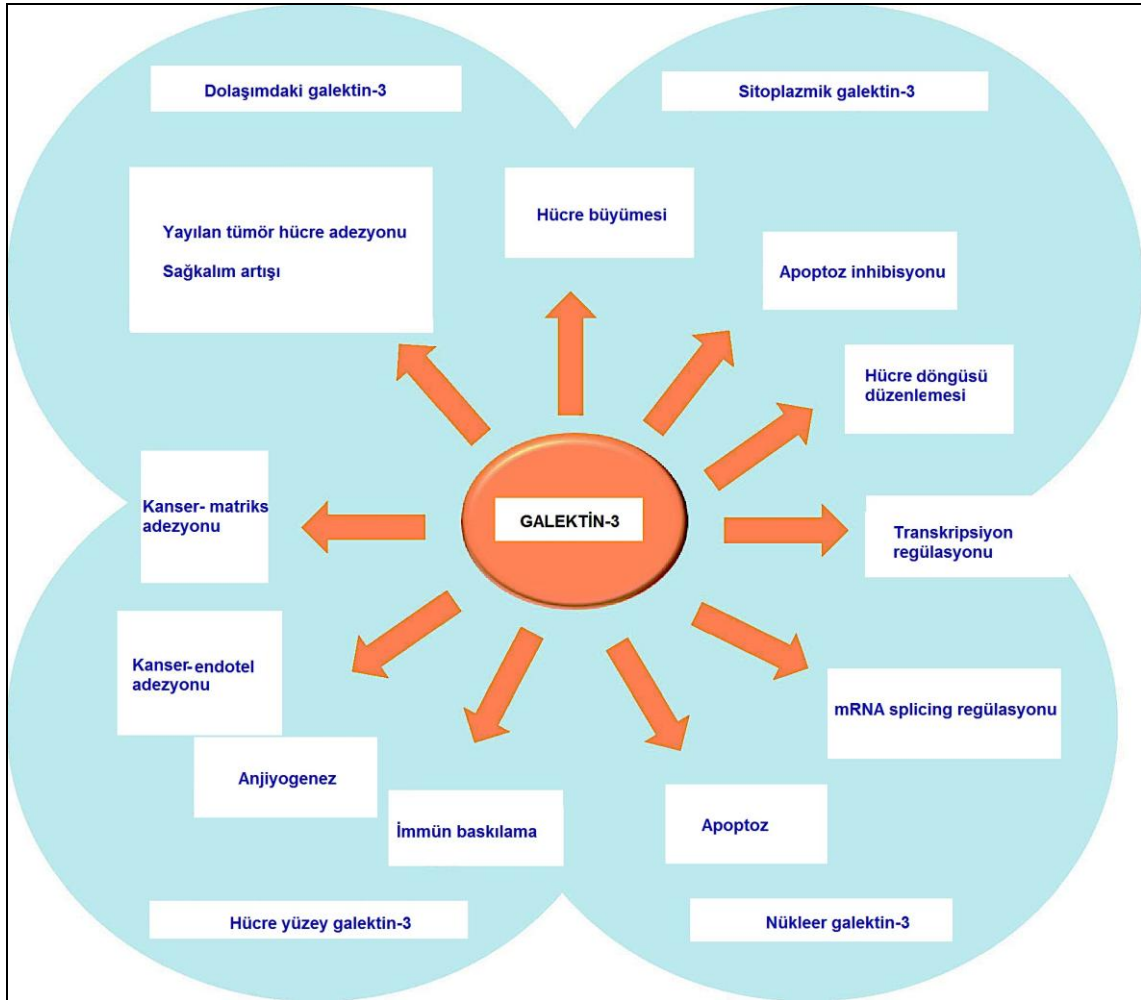
Galectin-3'ün dokularda ekspresyon dağılımına bakıldığında ise yetişkinlerde her yerde bulunurken; farelerde embriyogenez sırasında yapılan deneyler, ekspresyonun doku ve zamana bağlı olduğuna işaret etmektedir. Galectin-3 ekspresyonu esas olarak epitel hücreleri ve miyeloid / amoeboid hücreleri ile ilgili olmasına rağmen, birçok farklı hücre tipinde tespit edilmiştir. Örneğin, küçük intestinal epitel hücreleri, kolonik epitel, korneal ve konjonktival epitel, olfaktör epitel, epitel hücreleri böbrek, akciğer, timus, meme ve prostat. Ayrıca tükürük bezlerinin duktal hücrelerinde, pankreas, böbrek, göz, intrahepatik safra kanallarında, fibroblastlarda, kondrositlerde ve osteoblastlarda, osteoklastlarda, keratinositlerde, schwann hücrelerinde ve gastrik mukozada, endotelial hücrelerde ve çeşitli dokularda endotelial hücrelerde tespit edilmiştir (137).

Görüldüğü üzere galectin-3 hücre içi ve dışı lokalizasyonlarına bağlı etkileştiği liganları ve post-translasyonel modifikasyonları ile hücresel homeostaz, hücre adezyonu, anjiyogenez, hücre sinyalleme, hücre büyüme, farklılaşma, hücre

döngüsü ve apoptoz, kanser progresyonu, metastaz, tumoröenez gibi çeşitli biyolojik süreçlere dahil olduğu bildirilmiştir (159).

2.2.2. Galektin-3 ve kanserle ilişkisi

Galektin-3, hücre yapışması, hücre aktivasyonu, hücre büyümesi, farklılaşması, hücre döngüsü ve apoptoz gibi hücre biyolojisi ile ilişkili olaylarda yer alır. Yapılan araştırmalarda galektin-3'ün inflamasyon, fibrozis, kalp hastalıkları ve kansere dahil olduğu kanıtlanmıştır (137).



Şekil 2-10: Galektin-3'ün kanser mekanizmasındaki roller (160)

Galektin-3 ekspresyonu, sindirim, üreme, solunum, sinir, idrar ve hematolojik sistemlerin kanseri dahil olmak üzere çok sayıda kanser dokusunda gözlenmektedir. Bir galektin farklı kanser türlerinde artmış ekspresyon sergileyebilir ya da başka türlerde ekspresyonu azalabilir. Şöyle ki; belirli bir kanser, belirli galektinlerin ekspresyon düzeylerini arttırırken diğerlerinin ekspresyon düzeylerinin azalmasına neden olabilir.

Örneğin, galektin-3 ekspresyonu heterojen olup, tiroid kanseri, akciğer kanseri ve sindirim sistemi ve üriner sistem tümörlerinin çoğunda tanımlanan ekspresyon düzeylerinin artmasıyla birlikte, üreme sistemi tümörlerinde azalmış ekspresyon seviyeleri gözlenmiştir (130). Preklinik çalışmalarda galektin-3 fazla ya da az ekspresyonunun kanser gelişimini etkileyen sinyal yollarına ise literatürde açıklık getirilmiştir. Bir in vitro örnekte galektin-3'ün J82 insan bağırsak kanseri hücre hattında fazla ekspresyonu hücre proliferasyonundan sorumlu Akt yolağını aktive etmiş, TRAIL ilişkili apoptoza direnci arttırmıştır (9). Mazurek ve arkadaşlarının insan kolon kanser hücre hattı üzerinde çalışmasında ise galektin-3'ün ölüm reseptörlerini immobilize ederek, DISC (death inducing signaling complex) formasyonunu ve apoptozu başlatan proteazların (kaspazlar; prokaspaz 8) devreye girmesini bloke ettiğini göstermişler ve yeni özgün bir tumor nekroz faktör(TNF) ilişkili apoptoz uyarıcı ligant (TRAIL) direnç kazanım yolağı önerisinde bulunmuşlardır (127). Dahası, gastrit kanser hücrelerinde artmış galektin-3 ekspresyonunun “interferon gamma (IFN- γ)”ya “AKT/GSK-3 β /SHP2” sinyalizasyon yolağı üzerinden hücre sel yanıtı sızlığa katkıda bulunduğ u savunulmaktadır (161). Bir çalışmada tümörden üretilen galektin-3'ün tümör matrislerinde IFN- γ 'yı ele geçirdiğ i ve daha sonra IFN- γ kaynaklı kemokin gradyanlarını down-regüle ettiğ i gösterilmiştir. İnsan tümör biyopsilerinde galektin 3 inhibisyonuna bağı lı IFN- γ ile indüklenen CXCL-9 kemokininindeki ifade artış ından hareketle tümör hücrelerinde galektin-3 blokajının tümörde T hücresi infiltrasyonu ve aktivasyonunun artabileceğ i ihtimalleri düşünölmektedir (162).

Galektinler salgılandığından, dolaşımdaki seviyeleri, malignitelerin varlığını tahmin etmek için yararlı biyo-belirteçler olarak kullanılabilirler. Tiroid kanseri hastalarında galektin-1 ve -3'ün dolaşımdaki ve dokudaki düzeylerinin yükseldiğ i görölmüş tür (163). Bununla beraber melanomada galektin-3 ve meme kanserinde galektin-8 ekspresyonları ile beraber dolaşımdaki artmış seviyeleri klinik vakalarda kaydedilmiştir (164). Öte yandan, tiroid tümörleri üzerinde yapılan bir çalışmada dolaşımdaki galektin düzeyleri ile doku galektin seviyeleri arasında bir farklılık gözlemlenmemiştir (165). Literatür var olan çelişkili sonuçlar, galektinlerin klasik olmayan sekresyon yolları ve tümör hücrelerindeki hücre sel sinyal yollarının anormal aktivitesi de dahil olmak üzere birçok nedenden kaynaklanabilir (130). Ayrıca, kanser hastalarının dolaşımlarında da artan galektin-3 seviyesi kanser hücrelerindeki yüzeyi ilişkili musin 1'e (MUC1) bağlanarak ve bunun sonucu da hücre yüzey moleküllerinden

CD44 ve ligantlarından E-selektin maruziyet ile metastaz mekanizmasından sorumlu tutulmuştur (166). Galektin-3'ün MUC1 ile etkileşimi sonucunda MUC1'in EGFR ile ilişkisinin arttığı, EGFR homo-/heterodimerizasyonunun oluşumu ile artmış ve uzun süreli EGFR aktivasyonu ve sinyalleşmesinin teşvik edildiği bulunmuştur (167).

Kanser prognozu ve galektin ekspresyon seviyesi arasındaki ilişkiyi belirlemek için literatürde çalışmalar mevcuttur. Kanser prognoz çalışmalarında galektin-3, çoğunlukla kanser türlerine bağlı olarak farklı ekspresyon profilleri ortaya koymuştur. Beyin kanserinde galektin-3'ün artmış ekspresyonu (168), akut miyeloid lösemi ve kolorektal kanser (169) daha kötü genel sağkalım süreleri ve oranları ile ilişkilirken, galektin-3 ekspresyonunun artması gastrikte iyileşmiş sağkalım oranı ile ilişkilendirilmiştir (170). Kanser prognozunun tahmin edilmesine yardımcı olarak, galektin seviyeleri farklı kanser tiplerindeki aşama ve derecelerle de ilgili bilgi verebilmektedir. Örneğin, kolon kanserinde galektin-3 ekspresyonunun kolon kanseri evresi ve tümör derecesi arasında pozitif bir korelasyon da bildirilmiştir (171).

Kanser tedavi yanıtını tahmin etmek için de dolaşımdaki galektinler için yararlı biyo-belirteçler olarak seçilebilirler. Dolaşımdaki galektin-3 ekspresyon seviyesi, ilerlemiş melanomalı hastalarda değerli bir prognostik belirteç olarak sunulmuştur (172). Meme ve gastrointestinal kanserde metastatik ve metastatik olmayan hastalıklar arasında serum galektin-3 ekspresyon düzeyi ise anlamlı olarak farklı bulunmuştur (173). Kolon kanserinde de metastatik ve metastatik olmayan hastalar arasında serum galektin-3 ve galektin-4 ekspresyon düzeyleri farklılık göstermiştir (164). Serum galektinleri, kanser hastalarında terapötik cevabı izlemek için de yararlıdır. Önceki bir çalışmada, pankreatik kanseri olan hastalarda cerrahi sonrası serum galektin-3 ekspresyon seviyesi anlamlı şekilde azaldığı gösterilmiştir (174).

Galektin inhibitörleri kullanılarak yapılan klinik denemelerde T hücrelerinin anti-tümör etkilerine müdahale eden artmış galektinlere karşı pozitif sonuçlar elde edilmiştir. Bu nedenle tümör tedavisinde kombinasyon terapisi kullanmanın (galektin inhibitörleri, kemoterapi ve immün kontrol noktası blokajları) tedavide büyük gelişmeler gösterebileceği umutları yer almaktadır. Bu konuda bildirilenlerden iki klinik çalışmada galektin-3 inhibitörü DG-MD-02 ile beraber ya ipilimumab (anti CTLA-4) ya da pemrolizumab (anti-PD-1) kullanılarak KHDAK, melanom, yassı hücreli baş ve boyun kanserleri tanısı almış hastaların tedavilerinde olumlu sonuçlar alınmıştır (128). Bu denemelerden olumlu yanıtlar alınmasına rağmen ayrıntılı mekanizmalar net değildir

ve daha fazla klinik denemenin uygulanması gerekmektedir. Başka bir galektin-3 inhibitörü olan GCS-100, faz II klinik denemesinde relaps olmuş kronik lenfositik lösemili yaşlı hastaları tedavi etmek için kullanılmıştır; 24 hastanın 6'sında kısmi yanıtlar ile sonuçlanmıştır (175). Katı tümörlerin tedavisi için bir faz I klinik çalışmasında ise, GCS-100, 24 hastanın 16'sında hastalığı stabilize etmiştir (176). Yakın zamandaki bir klinik öncesi çalışma, GCS-100'ün, hastalığın ilerlemesini sınırlamakta ve KRAS mutant KHDAK ve pankreatik kanserlerin ve KRAS'dan türetilmiş spontan kanser modellerinden sağkalımı arttırmakta etkili olduğunu göstermiştir. Bu yeni klinik öncesi verilerin ışığında, GCS-100, kombinasyon terapisinde kullanıldığında daha güçlü bir anti-tümör cevabına sahip olabileceği öne sürülmektedir (177).

Özet olarak, dolaşımdaki galektin-3 düzeyleri birçok kanserin saptanması ve hastalık prognozu ve terapötik etkinliğin tahmin edilmesi için potansiyel biyobelirteç olabilirler.

2.2.3. Galektin-3 ve akciğer kanseri

Akciğer kanserinde galektin-3'ün rolü geniş ölçüde araştırılmıştır. Galektin-3 ekspresyonu, bronşiyal epitel hücreleri, bronşiyal kıkırdağın kondrositleri, alveolar duvarın pnömositleri, alveolar makrofajlar ve interstisyel fibroblastlar dahil olmak üzere normal akciğer hücrelerinde yaygın olarak gözlemlenir (178). Galektin-3 KHDAK'ta hücre dışı ve hücre içi alanlarda bulunabilir; öyle ki skuamoz hücreli karsinomda galektin-3 sitoplazmada tespit edilirken, adenokarsinomda sitoplazma ve nukleusta gözlenmiştir (179). DLKP akciğer kanseri hücrelerinde galektin-3'ün aşırı ekspresyonu, hücre mobilite ve invazivliğini artırarak hücre dışı matriks bileşenlerine yapışmalarını arttırdığı kaydedilmiştir (180). A549 hücrelerinde galektin-3'ün aşırı ekspresyonu, küre oluşturma kapasitesini (kansere kök hücrelerinin bir karakteri) teşvik ettiği; H1299 hücrelerinde galektin-3'ün in vitro baskılanması, kanser kökeni ile ilişkili genleri, bunların küre oluşturma kapasitesini, tümörjenikliği, sisplatin ve paklitaksel ile azalan kemodirenci; in vivo olarak, H1299 hücrelerinde galektin-3'ün baskılanması, NOD / SCID farelerinde tümör başlatıcı kapasiteyi etkilediği gözlemlenmiştir (181). Bu kanser kök hücresi oluşumunun EGFR/c-Myc/Sox2 aksisi boyunca uyarılarak aktif olduğu da önerilmektedir (182). Lewis akciğer karsinoması taşıyan farelerde, galektin-3'ün artmış ekspresyonu, sisplatine maruz kalmanın ardından tümör mikroçevresine miyeloid türevli supresör hücrelerin göçünü teşvik ederek, tümör mikroçevresinin

immün baskılayıcı durumuna katkıda bulunduğu gösterilmiştir (183). Galektin-3 ayrıca bir prognostik işaretleyici olarak kullanılabilir; nükleer galektin-3 ekspresyonu, KHDAK nüksü için bağımsız bir prediktif faktör olarak ortaya sunulmuştur (184). Dahası, galektin-3 knock-outunun akciğer karsinogenezinin zayıflamasına neden olmasıyla karsinogenezle ilişkili B hücresi reseptörleri, ERK/MAPK ve peroksizom proliferatörü ile aktive edilen reseptör sinyal yollarında galektin-3'ün düzenleyici bir rol aldığını düşündürmektedir (185).

2.2.4. KHDAK'ta Galektin 3 ve Rolü

KHDAK'ların orta ila yüksek seviyelerde galektin-3 ifade ettikleri ve genellikle asgari seviyelerde bile ifade etmeyen KHAK'ların aksine, kemoresistant oldukları gösterilmiştir. Galektin-3'ün ana patern ifadesi KHDAK'ta sitoplazmiktir, ancak nükleer galektin-3 ve tiroid transkripsiyon faktörü-1' in eş zamanda birbirinden bağımsız olarak ifadesi ise kötü bir klinik sonuç ile ilişkilendirilmiştir (186). Nükleer galektin-3 ekspresyonu adenokarsinomlar ve skuamöz hücreli karsinomlarda nüks için bağımsız bir prediktif faktör olarak kullanılır (178). İnsan pulmoner adenokarsinoma hücrelerinde, galektin-3'ü yüksek oranda ifade ederek sitotoksik T hücrelerinin apoptozunu indüklediği gösterilmiştir (156). KHDAK'ta makrofajlardan salgılanan galektin-3'ler genelde bu sürece katkıda bulunarak tümör ilişkili makrofajları (TAM) immünosupresif ve ön-tümöral hale getirmektedirler.

2.2.5. Galektin-3 Gen Polimorfizmleri ve Kansere İlişkisi

Galektin-3 proteini kodlayan LGALS3, insan popülasyonunda polimorfik bir gendir. LGALS3'te intronik, ekzonik ve translate edilmemiş bölgelerde (untranslated region; UTR) birden fazla SNP lokusu tanımlanmıştır. Galektin-3 geninin kodlama bölgesinde üç yaygın SNP tanımlanmıştır: rs4644, rs4652 ve rs10148371. Rs4644 ve rs4652 SNP lokusları literatürde en çok çalışılan LGALS3 variantları arasındadır. SNP rs4644, LGALS3 +191 C>A taşıyan galektin-3 varyantında, LGALS3'ün 64. pozisyonundaki histidin(His64) kalıntısı bir prolin(Pro64) kalıntısı ile değiştirilirken; SNP rs4652'yi taşıyan varyantta, yani LGALS3 +292 A> C, LGALS3'ün 98. pozisyonundaki tireonin (Thr98) bir prolin (Pro98) kalıntısı ile değiştirilir (5). LGALS3 genindeki varyasyonların otoimmün hastalıklar ve kanserler gibi çeşitli patolojik durumlarla da ilişkili olduğu bulunmuştur (5, 187, 188).

Hücre ve uyarıcı tipine bağlı olarak galektin-3 genindeki polimorfik ayrılıklıklar apoptozu arttırabilme ya da azaltabilme kapasitesini değiştirebildiği gibi hastalarda kemoterapiye yanıtta da farklı sonuçlar yaratmaktadır. Örneğin, meme kansinom hücrelerinde His64 genotipi içeren galektin-3'ün yüksek ifadesiyle bu hücrelerin kemoterapi ajanlarından cisplatin ve doksorubisine direnç kazandığı savunulurken (10, 11, 189), bu hücrelerde galektin-3'ün aşırı ifadesinin tümör baskılayıcı genlerden PTEN'i upregüle edip, Akt yolağını inaktive ederek TRAIL ilişkili apoptoza hassasiyeti arttırdığı bilinmektedir (12, 13). Meme kanseri ve galektin-3 arasındaki ilişkiye bir başka örnek ise galektin-3 için His64 genotipine sahiplerde meme kanseri görülme insidansının yüksek olduğudur (6). Korkmaz ve arkadaşları yaptıkları çalışmada, kolorektal kanser hastalarında prognozda önemli müsin sıvısına LGALS3 rs4644 CC varyantlı hastalarda belirgin rastlandığını ve bu varyasyonun tümör boyutu ve hastalığın safhası ile doğru orantılı olduğunu kaydetmişlerdir (7). Öte yandan, rs4652'nin glioma prognoz ve tümör safhasıyla doğrudan ilişkisi olduğu gösterilmiştir (187). Ayrıca, Tayvanlı romatoid arteritli hastalarda rs4644'ün galektin-3'ün matriks metalloproteinazlar (MMP) tarafından kesiminde etkili olduğu gösterilmiştir. His64 MMP-2 ve -9 tarafından kesilebilirken, Pro64 kesilime dirençlidir (5). Son yıllarda yapılan başka bir çalışmada ise galektin-3 gen varyantlarından rs4652 C aleli ve rs11125 T alelinin servikal kanserde risk faktörlerini oluşturabileceği ve bunların potansiyel olarak prognozu etkileyebileceği bildirilmiştir (190). KHDAK ve galektin-3 polimorfizmine dayalı yapılan literatürdeki tek çalışmada ise, KHDAK hastalarının kemoterapiye farklı cevap vermeleri üzerine galektin-3 için rs4652 polimorfizmi taşıyanların rs4644 polimorfizmi taşıyan hastalara nazaran platinyum ağırlıklı kemoterapiye daha yüksek cevap verdiğini vurgulanmıştır (8).

Görüldüğü üzere çoğunlukla kanser hücre hatlarında yapılan çalışmalarla galektin-3 polimorfizmine bağlı apoptotik yolda hedef genlerin farklı ifadeleri ve galektin-3 polimorfizm ve ifadesinin platinyum bazlı kemoterapide farklı yanıtlara sebep olması galektin-3'ü kanser gelişimi mekanizmalarında dahil ve etkin bir modülatör olarak düşünmeye sevketmiştir. Kanser türüne bağlı olarak galektin-3'ün çift yüzlü davranışından His64/Pro64 polimorfik dengesi sorumlu olduğu düşünülmektedir.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Gereçler

3.1.1. Örneklerin Elde Edilmesi

“Bezmialem Vakıf Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu”na 01.03.2017 tarihli toplantıda 71306642-050.01.04- sayılı karar numarası ve etik kurul onayıyla bu çalışmada yer alan “küçük hücreli dışı akciğer kanseri (KHDAK)” hastaları ve sağlıklı bireylerin klinikte tespitleri ve operasyonları Prof. Dr. Akif Turna, Uzm. Dr. Hasan Volkan Kara ve ekibi tarafından “İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Göğüs Cerrahisi Anabilim Dalı”nda gerçekleştirilmiştir. Tümöre yönelik kemoterapi, radyoterapi, gibi herhangi spesifik bir tedavi uygulanmış hastalar çalışmaya dâhil edilmemiştir. Sağlıklı kontrol grubu olarak, anamnezinde veya halen akciğer dışı malignitesi olmayan sağlıklı kontrol bireyleri çalışma hakkında bilgilendirildikten sonra çalışmaya dâhil edilmiştir. İlgili parametreler göz önünde bulundurularak sınıflandırılan kan ve doku örnekleri “İstanbul Üniversitesi Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü Moleküler Tıp Anabilim Dalı”na soğuk zincirde getirilmiştir.

Gen varyantlarının incelenmesi amacıyla klinikte “KHDAK” tanısı konulmuş 65 hasta ve aynı klinikte toplam 160 olgudan, yukarıda belirtilen etik kurulun izniyle bilgilendirilmiş onam formu beraberinde 1 adet 10 ml EDTA’lı tüpe kanlar alınmıştır. Toplanan periferik kan örneklerinden tuzla çöktürme yöntemiyle genomik DNA’lar izole edilmiştir (191). Nanodrop spektrofotometresi kullanılarak konsantrasyonları ve saflıkları belirlenerek yapılacak SNP genotiplemesine kadar elde edilen DNA’lar -20°C’de saklanmıştır.

Gen ekspresyon analizi için ise “KHDAK” tanısı konulmuş vakalardan cerrahi rezeksiyon operasyonu ile alınan, 14 tümör doku örneği ve bu her tümör dokusuna ait 14 tümörlü olmayan sağlıklı çevre dokusu internal kontrol olarak kullanılmak amacıyla toplam 28 doku örneğinden Trizol ile total RNA izolasyonu yapılmış ve elde edilen RNA örnekleri “Kantitatif Gerçek Zamanlı Polimeraz Zincir Reaksiyonu (quantitative real time polymerase chain reaction; qPCR)” işlemine kadar RNAlater solüsyonu içeren kriyojenik tüplerde -80°C’de muhafaza edilmiştir.

Son olarak, sağlıklı ve hasta bireylerin periferik kanlarından izole edilmiş ve

deney anına kadar -80°C’de saklanmış 30 hasta ve 30 kontrol serum örneklerinde galektin-3 düzeyleri enzim bağılı immünabzorbant tahlili (enzyme linked immunoabsorbent assay; ELİZA) yöntemiyle belirlenmiştir.

3.1.2. Kullanılan Kimyasallar

- “Amonyum asetat (Sigma A-8920)”
- “Amonyum klorür (Sigma A-5666)”
- % 99 Etil alkol “(Merck)”
- “Etilen Diamin Tetra Asetik Asit (EDTA)” “(Sigma, 9884)”
- “Hidroklorik asit” “(Sigma, H1758)”
- Paslanmaz çelik boncuk (Next Advances, 0.9-2 mm SSB14B-RNA)
- Potasyum bikarbonat (Merck K-126223552)
- Proteinaz K (Sigma, P2308)
- RNAlater
- RNasezap (AMBION)
- Sodyum dodesil sulfat (Sigma L-5750)
- “Sodyum hidroksit (Merck C754962)”
- Sodyum Klorid (NaCl) (Sigma, S3014)
- Tris Baz (BioChemika, 93362)
- TRizol (Invitrogen, Carlsbad, CA, USA) (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Almanya)

3.1.3. Kullanılan Kitleler

- Applied Biosystems™ LGALS3 TaqMan® SNP Genotyping Assay (Thermo Fisher Scientific) (rs4644, C___7593635_1_, katalog no: 4351379; rs4652; C___7593636_30, katalog no: 4351379)
- qPCR Probes Master low Rox (Jena Bioscience, PCR 361)
- “High-Capacity cDNA Reverse Transcription Kit” “(Applied Biosystems, Cheshire, UK)”
- SensiFAST™ SYBR® No-ROX (BIOLINE, BIO-98005)
- Human Galectin-3 ELISA Kit (Invitrogen by Thermo Fisher Scientific, BMS279-4)

3.1.4. Kullanılan Cihazlar

- Buzdolabı (+ 4 °C Beko, Arçelik)
- Biorad, CFX Connect Real Time System
- Derin Dondurucu (-20 °C Beko, Arçelik)
- Derin Dondurucu (-80°C Forma Scientific)
- Çeker Ocak (Opaş, Kermanlar)
- Distile su cihazı (Millipore)
- Etüv (Heraeus) (Nüve)
- Güç kaynağı (Stratagene)
- Hassas terazi (Shimadzu, Mettler)
- Hibridizasyon fırını (Techne)
- Isı bloğu (Fisher scientific, 111004)
- Laminar kabin (Thermo Scientific)
- Magna Lyser (Roche)
- Masaüstü mini santrifüj (Eppendorf)
- Multiskan GO (Thermo Scientific)
- Otomatik pipetler (Thermo Scientific, Rainin)
- PZR cihazı (Thermal Cycler) (BioRad)
- PH metre (Corning)
- Soğutmalı santrifüj (Heraeus)
- Spektrofotometre (NanoDrop2000)
- Su banyoları (Fischer Scientific)
- İnkübatörler (37°C, 56°C Elektro Mag)
- Orbital çalkalayıcı (Thermo Scientific)
- Otoklav
- Vorteks (Biosan)
- Veriti 96-well Thermal Cycler (Applied Biosystem)

3.1.5. Kullanılan Solüsyonlar

3.1.5.1. “Eritrosit Parçalama Tamponu” (“Red Blood Cell Lysis Buffer, RBL”)

8.74 g amonyum klorür içine 1 g potasyum bikarbonat, 200 µl 0.5 M EDTA katılarak bir erlen içinde 900 ml distile su eklenerek karıştırılıp çözeltinin pH’sı 1 N sodyum hidroksit (NaOH) ile 7.4’e ayarlanmıştır. Ardından balon joje içine aktarılarak 1 litreye distile su ile tamamlanmıştır. Çözelti, ısıya dayanabilen cam şişeler ile 120°C’de 15 dakika otoklavlanarak +4°C’de saklanmıştır.

3.1.5.2. “0.5 M Disodyumetilendiaminteraasetat (EDTA)” “(pH 8.0)”

186.1 g EDTA 800 ml distile su eklenerek manyetik karıştırıcı üstünde temiz bir beher içinde çözündürülmüş ve pH’sı 8.0’e NaOH çözeltisi ile ayarlanıp distile su ile 1 litreye tamamlanmıştır. Ardından 120°C’de 15 dakika boyunca otoklavlanmıştır.

3.1.5.3. “4 M Sodyum Klorür (NaCl)”

233.6 gram NaCl 800 ml distile su eklenerek manyetik karıştırıcı üstünde temiz bir erlen içinde çözündürülmüş ve balon jojeye aktarılarak distile su ile 1 litreye tamamlanmıştır. Daha sonra 120°C’de 15 dakika boyunca otoklavlanarak sterilize edilmiştir.

3.1.5.4. “Lökositleri Parçalama Tamponu (White Blood Cell Buffer, WBL)”

25 ml 4 M NaCl ve 50 ml 0.5 M EDTA çözeltileri balon jojeye eklenerek 1 litreye distile su ile tamamlanmıştır. Daha sonra 120°C’de 15 dakika otoklavlanarak oda sıcaklığında saklanmak üzere sterilize edilmiştir.

3.1.5.5. “1 M Tris Tamponu (Stok)”

121.1 g Tris tozu üzerine 42 µl hidroklorik asit (HCl) eklenerek yaklaşık 800 ml distile su içerisinde manyetik karıştırıcı üzerinde çözündürülmüş ve ardından balon jojeye aktarılarak 1 litreye distile su ile tamamlanmıştır. 120°C’de 15 dakika otoklavlanarak sterilize edilerek stok halde saklanmıştır.

3.1.5.6. “9.5 M Amonyum Asetat”

73.22 g amonyum asetat üzerine 80 ml distile su eklenerek manyetik karıştırıcı üzerinde bir beher içinde çözündürülmüştür. Daha sonra bir balon jojeye aktarılarak distile su ile 100 ml’ye tamamlanmıştır. 0.22 mikronluk filtreden geçirilip sterilize

edilerek +4°C’de saklanmıştır.

3.1.5.7. “Sodyum Dodesil Sülfat (%10, SDS)”

10 g SDS tartılarak 80 ml su eklenip bir beher içinde manyetik karıştırıcı üstünde karıştırılmış ve pH’sı 7.2’ye ayarlanmıştır. 0.22 mikronluk filtreden geçirilip sterilize edilerek oda sıcaklığında saklanmıştır.

3.1.5.8. “Proteinaz K Solüsyonu (20 mg/ml)”

20 mg Proteinaz K, bir eppendorf içinde steril distile su ile 1 ml’ye tamamlanarak -20 °C’de saklanmıştır.

3.2. Yöntemler

3.2.1. LGALS3 TaqMan SNP Genotipleme Testi

3.2.1.1. DNA İzolasyonu (Tuzla Çöktürme)

EDTA’lı tüplere alınan periferik kan örneği falkon tüplere eşit olarak paylaştırılıp üzerilerine 3 katı kadar RBL eklenerek +4 °C’de 20 dakika bekletildikten sonra yine +4 °C koşullarında 1500 rpm hızda 10 dakika boyunca sentrifüj edilmiştir. Sentrifüj sonrasında üstteki kısım (supernatant) atılarak alttaki kısım (pellet) elle vurmak suretiyle tamamen homojenize edilmiştir. Pellet üzerine tekrar başlangıç hacmin 2 katı kadar “RBL” eklenerek +4 °C’de 1500 rpm hızda 10 dakika boyunca bir kez daha sentrifüj işlemi uygulanmıştır. Pellet süspanse hale getirilerek üzerine 10 ml “WBL”, 50 µl “Proteinaz K”, 500 µl “%10 SDS” eklenerek 56 °C’de su banyosunda gece boyunca bekletilmiştir. Ertesi gün, her 1 ml. örnek başına 0.37 ml. olacak şekilde 9.5 M amonyum asetat çözeltisi eklendikten sonra hafifçe karıştırılarak +4 °C’de 4500 rpm’de 25 dakika santrifüj edilerek proteinler çöktürülmüştür. DNA’yı içinde barındıran supernatant kısmı temiz falkon tüplere aktararak üzerilerine hacminin 2 katı kadar saf etil alkol eklenmiştir. Alkol içerisinde belirgin hale gelen DNA steril bir pipet ucuyla dikkatli bir şekilde 1,5 ml’lik eppendorf tüp içerisine alınmıştır. DNA %70’lik etil alkol ile yıkandıktan sonra oda ısısında kurutularak üzerine eklenen distile su içerisinde çözdürülmüştür. Elde edilen genomik DNA -20 °C’de muhafaza edilmiştir.

3.2.1.2. DNA Kalitesinin Belirlenmesi

NanoDrop2000 spektrofotometrede 260 nm dalga boyunda çift iplikçikli DNA (dsDNA)’nın ışığı soğurma (optical density; OD) ölçümü yapılarak konsantrasyonu

aşağıdaki gibi belirlenmiştir. 260 nm'deki OD 280 nm'deki OD'ye oranlanarak da DNA'nın saflık derecesi bulunmuştur.

$$\text{dsDNA konsantrasyonu} = 50 \mu\text{g/mL} \times \text{OD}_{260} \times \text{dilüsyon faktörü}$$

3.2.1.3. TaqMan SNP Genotipleme Testi

Saflıkları ve konsantrasyonları nanospektrofotometre ile tekrar kontrol edilen DNA'lar, qPZR işlemine tabii tutularak Taqman SNP prob aracılı galektin-3 geninin rs4644 ve rs4652 varyantlarının genotiplemesi belirtilen protokolde (Tablo 3-1) ve koşullarda (Tablo 3-2) yapılmıştır.

Tablo 3-1: TaqMan SNP genotipleme testi için RT-qPCR protokolü

Kimyasallar	Miktarları (µl)
Prob Master Karışımı	10
LGALS3 Primer Prob Karışımı:	
C__7593635_1_ SNP ID: rs4644 Chr.14: 55138217 on GRCh38 kayıp mutasyon, transversiyon yer değiştirme, intragenik	1
C__7593636_30 SNP ID: rs4652 Chr.14: 55138318 on GRCh38 transversiyon yer değiştirme, kayıp mutasyon, intragenik	
Distile su	7
DNA (<500ng/test)	2
Toplam	20

Tablo 3-2: TaqMan SNP genotipleme testi için qPZR koşulları

Sıcaklık (°C)	Zaman (saniye)	Döngü sayısı
95	120	1
95	15	40
60	60	40

TaqMan SNP genotipleme testi, saflaştırılmış genomik DNA örneklerinde spesifik SNP allellerini amplifiye etmek ve saptamak için TaqMan 5' nükleaz analiz kimyası kullanır. Bu çalışmada TaqMan® problemleri, 5' ucuna ve söndürücü bir boyaya (minör oluklu bağlayıcı (MGB)) bağlı bir floresan raportör boyaya ("A" a özgü VIC® ve "C" aleline özgü FAM®) sahiptir. Amplifikasyon, gerçek zamanlı bir PZR cihazı (Biorad, CFX Connect Real Time System) ile gerçekleştirilmiştir. Amplifikasyon sırasında, her bir benzersiz şekilde etiketlenmiş prob, tercihen, farklı afiniteye sahip olan ilgili SNP'nin iki allelinden birine bağlanır. Amplifikasyon ilerledikçe Taq polimeraz enzimi bağlı probu ayırır ve bir flüoresan sinyali üretilir. Floresan sinyaller, gerçek zamanlı PZR enstrümantasyonuna adanmış sekans tespit yazılımı kullanılarak otomatik olarak yorumlanmıştır. Sadece VIC boyadan gelen bir flüoresan sinyali, Allel "A" için homozigotluğa işaret eder; sadece FAM boya flüoresansının varlığı, Allel "C" için homozigotluğa işaret eder ve her iki flüoresan sinyalinin varlığı, Allel "A" / Allel "C" heterozigotluğunu gösterir.

3.2.2. Galektin-3 Ekspresyon Analizi

3.2.2.1. Doku Homojenizasyonu

Akciğer kanserli vakalardan cerrahi işlem esnasında rezekte doku örnekleri derhal "RNAlater" içeren kriyojenik tüplere konularak -80 °C'de aniden donması sağlanıp böylelikle analiz edilecek RNA gibi materyallerinin kaybı önlenmiştir. Analiz öncesi, donmuş doku örnekleri küçük parçalara ayrılarak üzerlerine 8-10 adet paslanmak çelik boncuklar eklenip 700-1000 µl Trizol (Roche) solüsyonu eşliğinde "MagnaLyser" da 4500 rpm'de 20-30 saniye süreyle homojenize edilmiştir.

3.2.2.2. RNA İzolasyonu

Homojenize örnekler oda sıcaklığında 5 dakika bekletildikten sonra üzerlerine 150 µl kloroform (200 µl kloroform 1 ml trizol içine) eklenerek tüp, el yordamıyla kuvvetli bir şekilde 15 saniye çalkalanmıştır. Örnekler oda ısısında 2-3 dakika daha bekletilmenin ardından 12.000 g hızla +4 °C'de 15 dakika santrifüj edilmiştir. Süpernatant, tüp 45° açı ile pipet yardımıyla temiz başka bir tüpe aktarılmıştır. Protein ekstraktı orta fazda olup muhtemel ileriki deneylerde kullanılmak amacıyla saklanmıştır. Yeni bir temiz bir ependorf tüpe alınan süpernatant üzerine 375 µl %100 izopropil alkol (500 µl %100 izopropil alkol 1 ml trizol için) eklenmiştir. Oda ısısında tekrar 10 dakika bekletildikten sonra 12.000 g hızla +4 °C'de 10 dakika yine santrifüj edilmiştir. Süpernatant atılarak pellet üzerine 750 µl %75 etil alkol (1 ml % 75 etil alkol 1 ml trizol için) eklenmiştir. Bu adımda elde edilen RNA -20 °C'de en az 1 yıl veya +4 °C'de 1 hafta saklanarak kullanılabilir haldedir. Etil alkol eklenmesiyle RNA çok kısa süre süreliğine vorteksenerek 7500 g hızda +4 °C'de 5 dakika boyunca santrifüj edildikten sonra süpernatant atılıp pellet 5-10 dakika kurumaya bırakılmış sonrasında da 20 µl RNase free su içerisinde çözülmüştür. Su banyosunda 55-60 °C'de ya da ısı bloğu üzerinde 10-15 dakika bekletilme süresi sonunda RNA'lar -80 °C'de muhafaza edilmiştir.

3.2.2.3. RNA Kalitesinin Belirlenmesi

NanoDrop2000 spektrofotometrede 280 nm dalga boyunda RNA'nın OD ölçümü yapılarak konsantrasyonu belirlenmiştir. 260 nm'deki OD, 230 ve 280 nm'deki OD'lere oranlanarak da RNA'nın saflık derecesi bulunmuştur.

$$\text{RNA konsantrasyonu} = 40 \mu\text{g/mL} \times \text{OD}_{260} \times \text{dilüsyon faktörü}$$

3.2.2.4. cDNA Eldesi

İzole edilen RNA örnekleri NanoDrop spektrofotometri ile ölçülüp, 100 ng/µl olacak şekilde eşit konsantrasyonda High-Capacity cDNA Reverse Transcription Kit (LifeTech) sentez kiti ile kitin önerdiği protokol (Tablo 3-3) ve koşullarda (Tablo 3-4) cDNA'ya 0,2 ml'lik steril PZR tüpleri içerisinde çevrilmiştir.

Tablo 3-3: cDNA sentez protokolü

Kimyasallar	Miktarları (µl)
Nükleaz free distile su	3,2
10X RT tamponu	2
25X dNTP karışımı (100mM)	0.8
10X RT random primer	2
Reverse transkriptaz (50 U/µl)	1
RNase inhibitör (20 U/µl)	1
RNA	10
Toplam	20

Tablo 3-4: cDNA sentez koşulları

Sıcaklık (°C)	25	37	85	+4
Zaman (dakika)	10	120	5	∞

Reaksiyon işlemi sonunda elde edilen cDNA örnekleri gerçek zamanlı PZR analizine kadar -20 °C’de muhafaza edilmiştir.

3.2.2.5. Kantitatif Gerçek Zamanlı Polimeraz Zincir Reaksiyonu (qPZR)

QPZR işlemi aşağıda belirtilen protokol (Tablo 3-5) ve koşullarda (Tablo 3-6) koşullarda Veriti 96 well thermal cycler (Applied Biosystems) cihazı aracılığıyla

yapılmıştır. Galektin-3 gen ekspresyon seviyesi protein kodlayan tüm ekzonlar dizisinin cDNA'sı kullanılarak kantitatif olarak gerçek zamanlı housekeeping gen ekspresyonu (gliseraldehit 3-fosfat dehidrogenaz, GAPDH) referans alınarak belirlenmiştir.

Tablo: 3-5: Kullanılan primer dizileri

	LGALS3	GAPDH
İleri primer	5'-GTGCCTCGCATGCTGATAAC-3'	5'-TGCACCACCAACTGCTTAGC -3'
Geri primer	5'-GCAACCTTGAAGTGGTCAGG-3'	5'-GGCATGGACTGTGGTCATGAG-3'

Tablo 3-6: Galektin-3 ve GAPDH gen ekspresyon analizleri için qPZR protokolü

Kimyasallar	Miktarları (µl)
Syber green	5
Nükleaz free distile su	3,5
İleri primer	0,5
Geri primer	0,5
cDNA	0,5
Toplam	10

Tablo 3-7: Galektin-3 ve GAPDH gen ekspresyon analizleri için qPZR koşulları

	Sıcaklık (°C)	Zaman (dakika)	Döngü sayısı
Ön denatürasyon	95	10	
Denatürasyon	95	0,30	
Primer bağlanması	60	1	35
Yeni zincir uzaması	72	1	
Son uzama	72	7	
Son uzama	+4	∞	

3.2.3. Serum Galektin-3 Düzeyinin ELİZA Metoduyla Belirlenmesi

KHDAK'lı 30 hasta ve sağlıklı 30 kontrol bireylerinden kuru tüplere alınan periferik kan +4 °C'de 4500 rpm hızla 5 dakika boyunca sentrifüj edilmiş, sonrasında süpernatant olan serum eşit miktarlarda alikotlanarak analiz anına kadar -80 °C'de saklanmıştır.

Analizden bir gece önce -20 °C'ye, sabahında da +4 °C'ye çıkarılan serum örnekleri kademeli olarak çözündürülmüştür. Analiz öncesi ise tüm örnekler oda sıcaklığında kısa bir vorteks ve spin ardından Human sGalectin-3 ELISA test (Invitrogen) kitinin önerdiği protokol sırasıyla uygulanmıştır.

Kısaca, Galektin-3'e karşı spesifik antikor kaplanmış 96 kuyucuk plak öncelikle 400 µl yıkama solüsyonu ile iki kez yıkanmıştır. Ardından, kitin içinden hazır bulunan konsantre standard solüsyonu 1:1 seyreltme faktörü ile hesaplanarak standart seyreltme solüsyonuyla seri seyreltmeler (0,43 - 60 ng/ml aralığında) yapılarak 100 µl olacak şekilde kuyucuklara yüklenmiştir. Daha sonra, örnek kuyularında hasta ve serumlarından 50 µl ve örnek seyreltme solüsyonundan 50 µl olacak şekilde karıştırılarak çalkalayıcı üzerinde oda sıcaklığında üstü sarılı halde 1 saat bekletilmiştir. Bekleme süresi sonrasında tüm kuyular 400 µl yıkama solüsyonu ile 4 kez yıkanmıştır.

Son yıkamada tamamıyla yıkama solüsyonunun uzaklaştırılmasından sonra tüm kuyular 50 µl HRP konjuge deteksiyon antikör solüsyonu ile çalkalayıcı üzerinde oda sıcaklığında üstü sarılı halde 1 saat daha bekletilmiştir. Bekleme sonrasında yıkama işlemleri tekrar edilmiştir. Daha sonra kuyucuklara kromojen solüsyonları (kromojen A+B) 50' şer µl olacak şekilde yüklenerek 30 dakika oda sıcaklığında bekletilmiştir. Kuyulardaki renk değişiminin belirginleşmesinin ardından reaksiyon 50 µl/kuyucuk olacak şekilde durdurma solüsyonu eklenip bekletmeden spektrofotometri (Multiskan Go, Thermo Scientific) cihazında 450 nm'de tüm kuyucuklar kolorimetrik okutulmuş, standart kuyularının absorbans değerlerinde göre çizilen standart eğrisine göre hasta ve kontrol örneklerindeki galektin-3 konsantrasyonları hesaplanmıştır. Kitin tahlil aralığı 0,47-30 ng/ml, ölçüm hassasiyeti 0,29 ng/ml iken, interassay CV'si % 5,4 ve intrassay CV'si % 7,5'tur.

3.3. İstatiksel Analiz

Bu çalışmada galektin-3 geninin rs4644 ve rs4652 SNP genotiplemesinin hasta ve kontrollere dağılımı SPSS Version 17.0 programı kullanılarak istatistiksel olarak incelenmiştir. Genotip ve allellerin görülme frekansının gruplar arası farklılıklarının analizinde Ki Kare, Fisher's Exact Testi ve sayısal değerlendirmeler olarak Student-t testleri kullanılmıştır. Çalışma gruplarının kendi içinde genotip dağılımı analizi Kruskal Wallis testi ile karşılaştırılmıştır.

Galektin-3 proteinin hasta ve kontrollü bireylerin serum düzey karşılaştırmaları için ise yine GraphPad Prism (version 8.0.0) programı aracılı parametrik olmayan Man Whitney U analizi uygulanmıştır. Galektin-3 geninin tümör ve sağlıklı çevre dokularda ekspresyon analiz sonuçları GraphPad Prism (version 8.0.0) programı aracılı Man Whitney U analizi kullanılarak istatistiksel açıdan değerlendirilmiştir.

Ayrıca, ROC (receiver operating characteristics curve) analizi yine SPSS Version 17.0 programı kullanılarak elde edilmiştir.

Ek olarak, galektin-3 serum düzeyleri ve cinsiyet, sigara kullanımı arasındaki ilişki çoklu değişkenli regresyon analizi ile gösterilmiştir.

Son olarak SNP'ler arasındaki bağlantı dengesizliğinin (linkage disequilibrium; LD) hesaplanması ve haplotip bloklarının belirlenmesi için Haploview 4.2 programı kullanılmıştır.

İstatiksel anlamlılık sınır $p < 0,05$ olarak kabul edilmiştir.



4. BULGULAR

Çalışmaya “İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Göğüs Cerrahisi Anabilim Dalı”nda KHDAK tanısı konulan 65 akciğer kanseri hastaları ile bu klinikte tetkik edilen, kronik hastalık ya da malignite hikayesi bulunmayan 95 sağlıklı kontrol birey dahil edilmiştir. Tüm bu olguların verileri kendi içinde sınıflandırılarak genotipleme, ekspresyon ve protein ölçümü deneylerinde analiz edilmiş, istatistiksel açıdan değerlendirilmiştir.

Çalışmamıza dahil edilen KHDAK hastaları ve sağlıklı kontrol grubuna ait özellikler Tablo 4-1’de özetlenmiştir. Yaş parametresine göre yapılan değerlendirme sonucunda kontrol grubunun yaş ortalaması $53,9 \pm 13,5$ hasta grubunun yaş ortalaması $60,14 \pm 11,9$ şeklinde bulunmuştur. Buna göre hasta ile kontrol grubu arasında yaş parametresi açısından istatistiksel anlamlılık mevcut değildir. Olgular arası cinsiyet dağılımı değerlendirildiğinde KHDAK olgularının 54’ü erkek 11’i kadın, sağlıklı kontrollerin 48’i erkek 47’si kadından oluşmaktadır. Cinsiyet farklılığının KHDAK hasta ve sağlıklı kontrollerde istatistiksel anlamlılığı ileri derecede bulunmuştur ($p < 0,001$). Sigara içme durumu ile KHDAK’lı bireylerin varlığı sağlıklı bireylerin sigara içme durumuna göre anlamlı bir şekilde doğru orantılı bulunmuştur ($p = 0,04$) (Tablo 4-1)

Tablo 4-1: Çalışma gruplarına ait bilgiler

Parametreler			KHDAK Hastalar (n= 65)	Sağlıklı Kontroller (n= 95)	p
Yaş (yıl) Ortalama $\pm$ (SD)			60,14 $\pm$ 11,9	53,9 $\pm$ 13,5	‘p=0,146’
Cinsiyet	Erkek	n	54	48	p<0,001
		%	83,1	50,5	
	Kadın	n	11	47	
		%	16,9	49,5	
Sigara içme durumu	Var	n	55	67	p=0,04
		%	84,6	70,5	
	Yok	n	10	28	
		%	15,4	29,5	

n:birey sayısı; SD: standart deviasyon

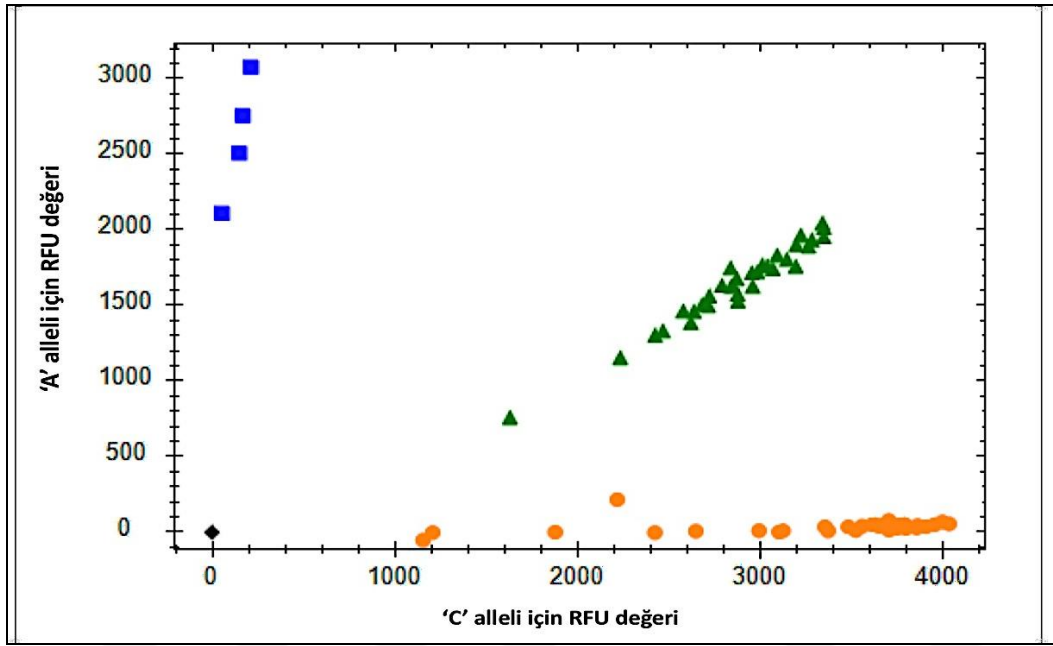
Çalışma grubuna ait KHDAK'lı hastaların klinik ve patolojik bulguları ise Tablo 4-2'deki gibi deteylandırılmıştır.

Tablo 4-2: Hastaların klinik ve patolojik özellikleri

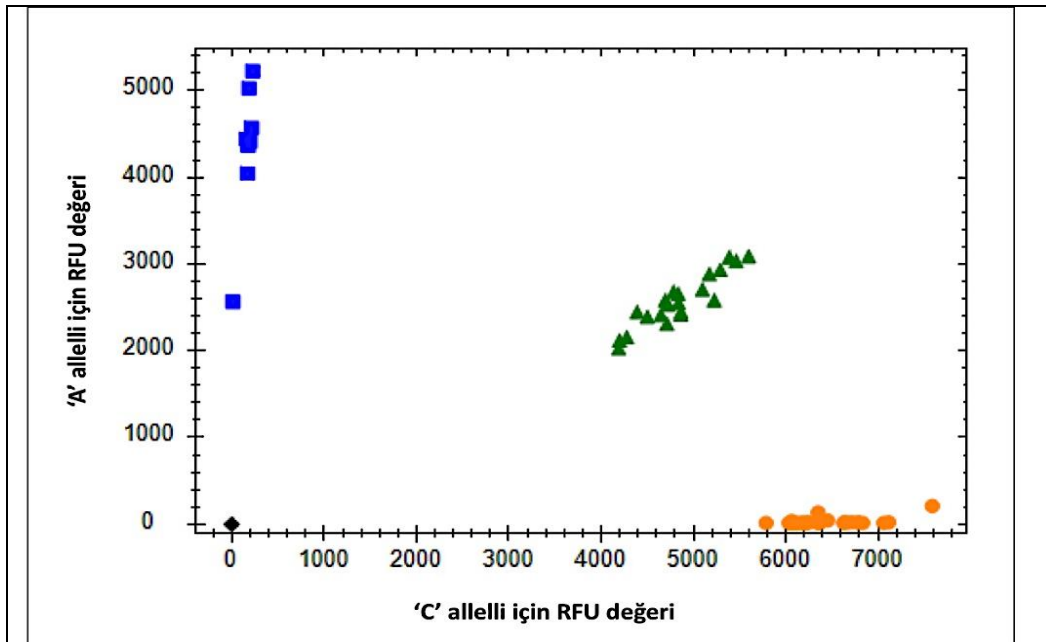
Parametreler	KHDAK'lı Hastalar
	n (%)
Tümör derecesi	
T1	17 (39,5)
T2	16 (37,2)
T3	10 (23,3)
T4	-
Lenf nod metastazı	
No	29 (67,4)
N1	14 (32,6)
N2	-
Histolojik tip	
Büyük hücreli	2 (3,6)
Skvamöz hücreli	24 (43,6)
Adenokarsinom	25 (45,5)
Diğer	4 (7,3)
Perinöral invazyon varlığı	
Var	19 (29,2)
Yok	46 (70,8)
Anjiyolenfatik invazyon	
Var	36 (55,4)
Yok	29 (44,6)
Damar invazyonu	
Var	19 (29,2)
Yok	46 (70,8)
Uzak metastaz	
Var	1 (2,3)
Yok	42 (97,7)

4.1. Galektin-3 Geni rs4644 ve rs4652 Varyantlarının Dağılım Analizi

qPZR aracılı TaqMan problu SNP genotipleme analizinde reaksiyon içerisinde A/C allelleri farklı floresan boyalarla işaretlenmiş ve reaksiyon sırasında rs4644 varyantı için A/C allel dağılımı toplamda 150 olgu arasından hastalarda şekil 4-1 ve sağlıklı kontroller şekil 4-2'deki gibi temsili dağılım göstermektedir.



Şekil 4-1: rs4644 varyantının KHDAK'lı hastalarda allel dağılımı



Şekil 4-2: rs4644 varyantının sağlıklı kontrollerde allel dağılımı

Galektin-3 rs4644 gen polimorfizmi sonuçları değerlendirildiğinde genotip ve allel dağılımı açısından KHDAK hastaları ve sağlıklı bireyler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmamıştır ($p>0.05$) (Tablo 4-3).

Tablo 4-3: KHDAK ve sağlıklı kontrollerde galektin-3 rs4644 A/C genotipleme

Genotip/Allel	KHDAK Hastalar	Sağlıklı Kontroller	<i>p</i>
	n (%)	n (%)	
AA	4 (6,2)	15 (15,8)	'p=0,099'
AC	30 (46,2)	32 (33,7)	
CC	31 (47,7)	48 (50,5)	
A Alleli	38 (29,23)	62 (32,6)	'p=0,519'
C Alleli	92 (70,8)	128 (67,4)	

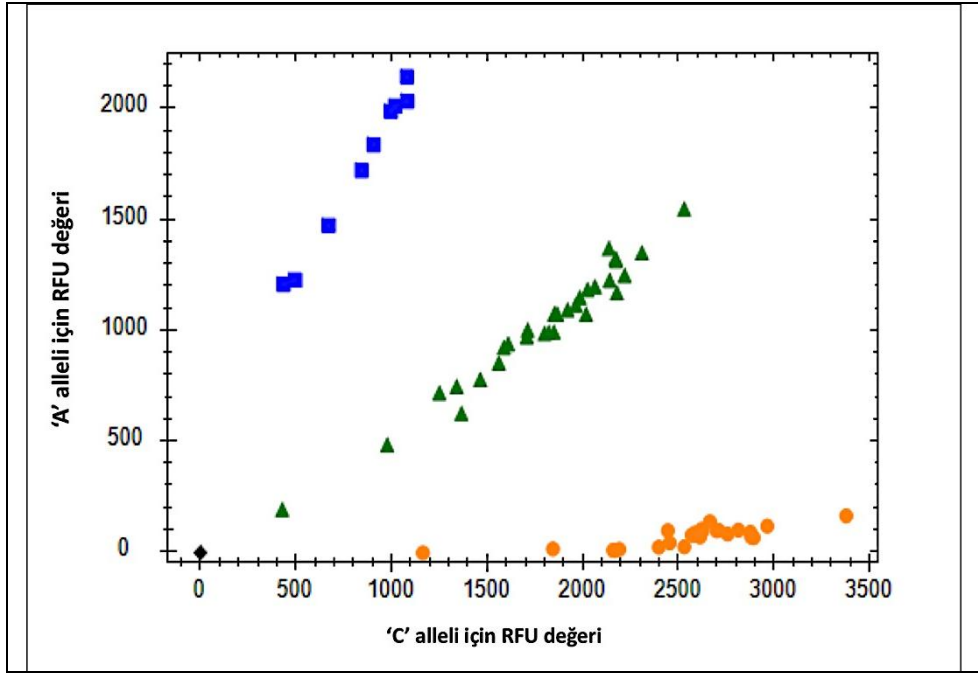
Galektin-3 geni rs4644 varyantının genotip ve allel dağılımları KHDAK hastalarının histopatolojik bulgularına göre değerlendirildiğinde tümör evresi, lenfatik metastaz, perinöral invazyon, anjiyolenfatik invazyon ve damar invazyonu varlığı genotip ve allel dağılımları ile beraber incelenmiş olup istatistiksel olarak anlamlılık bulunamamıştır ($p>0,05$) (Tablo 4-4).

Tablo 4-4: Galektin-3 rs4644 A/C genotiplerinin hastaların patolojik parametreleri ile karşılaştırılması

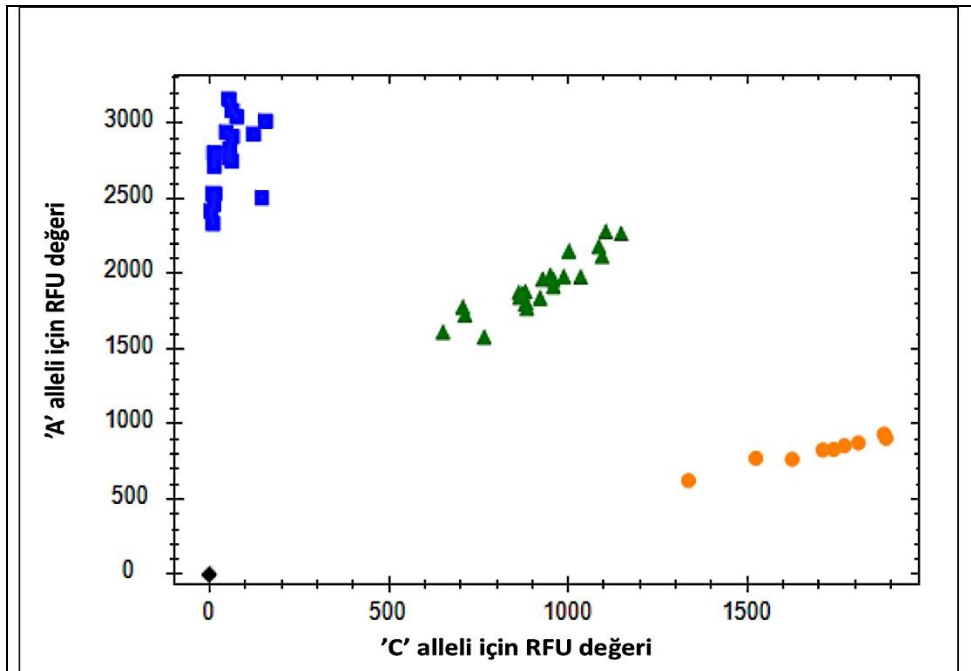
	Galektin-3 rs4644 A/C		
	n (%)		
	AA	AC	CC
Tümör evresi			
T3+ T4	1 (9,1)	4 (36,4)	6 (54,5)
T1+ T2	3 (9,4)	13 (40,6)	16 (50)
Lenf Nod Metastazı			
N1, N2, N3	0 (0)	5 (35,7)	9 (64,3)
N0	4 (13,8)	12 (41,4)	13 (44,8)
Perinöral invazyon varlığı			
Yok	3 (6,5)	22 (47,8)	21 (45,7)
Var	1 (5,3)	8 (42,1)	10 (52,6)
Anjiyolenfatik invazyon varlığı			
Yok	2 (6,9)	16 (55,2)	11 (37,9)
Var	2 (5,6)	14 (38,9)	20 (55,6)
Damar invazyonu varlığı			
Yok	2 (4,3)	23 (50)	21 (45,7)
Var	2 (10,5)	7 (36,8)	10 (52,6)

n: birey sayısı; gruplararası istatistik analizi Kikare (χ^2) testi ile gerçekleştirilmiştir.

Galektin-3 geni rs4652 A/C varyantına ait allel dağılımı KHDAK hasta (Şekil 4-3) ve kontrol bireyleri (Şekil 4-4) ayrı ayrı olmak üzere temsili gösterilmiştir.



Şekil 4-3: rs4652 varyantının KHDAK'lı hastalarda allel dağılımı



Şekil 4-4: rs4652 varyantının sağlıklı kontrollerde allel dağılımı

Veri analiz sonuçlarına bakıldığında genotip ve allel dağılımı açısından KHDAK hastaları ve kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmamıştır ($p>0,05$) (Tablo 4-5).

Tablo 4-5: KHDAK ve sağlıklı kontrollerde galektin-3 rs4652 A/C genotipleme

Genotip/Allel	KHDAK Hastalar	Sağlıklı Kontroller	<i>p</i>
	n (%)	n (%)	
AA	27 (41,5)	37 (38,9)	'p=0,602'
AC	29 (44,6)	39 (41,1)	
CC	9 (13,8)	19 (20)	
A Alleli	83 (63,8)	113 (59,5)	'p=0,430'
C Alleli	47 (36,2)	77 (40,5)	

Galektin-3 rs4652 gen polimorfizmi ve hastaların patolojik parametre karşılaştırma sonuçlarına göre ise anjiyolenfatik invazyon varlığında, AA genotip taşıma frekansı hastalarda %52,8 olarak tespit edilirken, yokluğunda bu değer %27,6 olarak düşük bulunmuştur. Aradaki fark istatistiksel olarak anlamlıdır ($p=0,04$, OR: 1,913, %95 CI: 0,983-3,723) (Tablo 4-6).

Tablo 4-6: Galektin-3 rs4652 A/C genotiplerinin hastaların patolojik parametreleri ile karşılaştırılması

	Galektin-3 rs4652 A/C (n%)		
	AA	AC	CC
Tümör evresi			
T3+ T4	6 (54,5)	3 (27,3)	2 (18,2)
T1+ T2	15 (46,9)	11 (34,4)	6 (18,8)
Lenf Nod Metastazı			
N1, N2, N3	9 (64,3)	4 (28,6)	1 (7,1)

N0	12 (41,4)	10 (34,5)	7 (24,1)
Perinöral invazyon varlığı			
Yok	17 (37)	24 (52,2)	5 (10,9)
Var	10 (52,6)	5 (26,3)	4 (21,1)
Anjiyolenfatik invazyon varlığı			
Yok	*8 (27,6)	18 (62,1)	3 (10,3)
Var	*19 (52,8)	11 (30,6)	6 (16,7)
Damar invazyonu varlığı			
Yok	18 (39,1)	23 (50)	5 (10,9)
Var	9 (47,4)	6 (31,6)	4 (21,1)

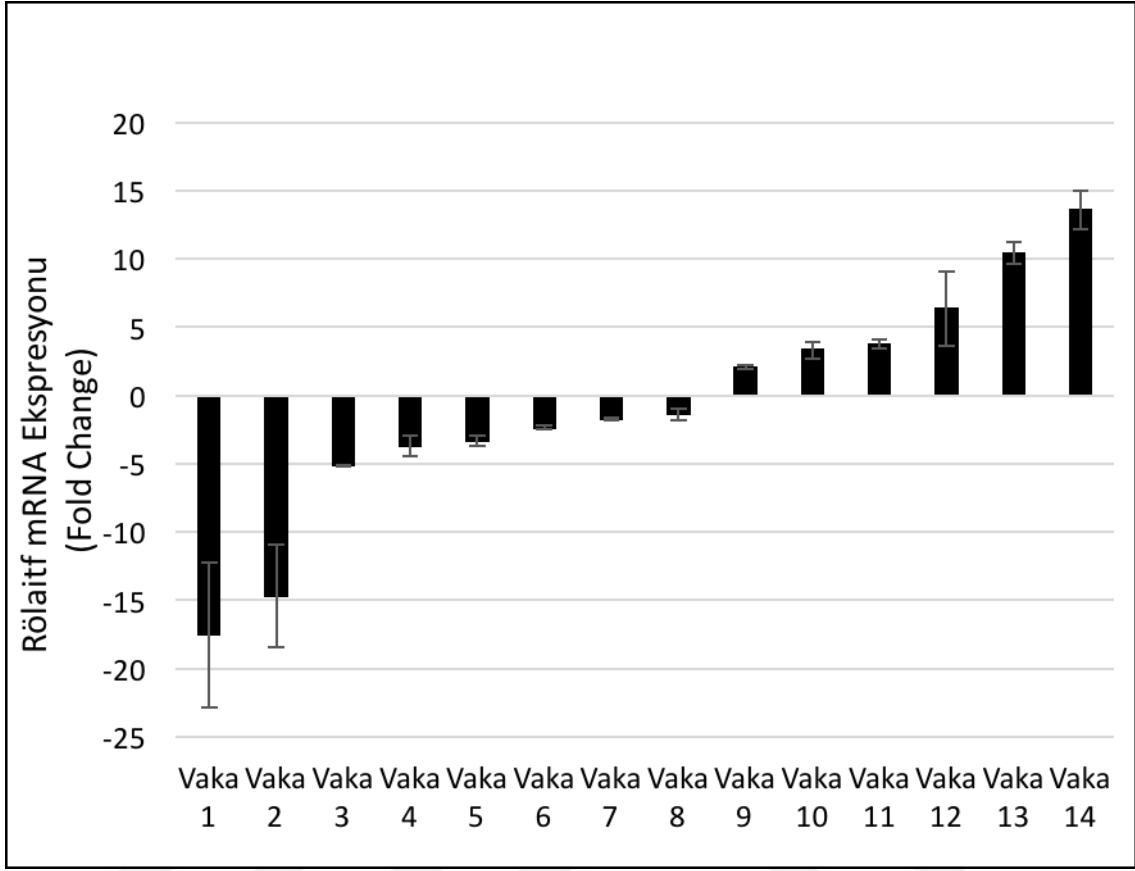
n: birey sayısı; gruplararası istatistik analizi Kikare (χ^2) testi ile gerçekleştirilmiştir

4.2. Galektin-3 Gen Ekspresyon Düzeyinin Değerlendirilmesi

Çalışma grubu içerisindeki 14 vakanın tümörlü ve sağlıklı çevre dokularında galektin-3 mRNA ekspresyon düzeyi qPZR ile incelenmiştir. Elde edilen hedef gen olan galektin-3'e ait duplike çalışılmış ortalama Ct değerleri "housekeeping" olarak seçilen GAPDH'e ait yine ortalama Ct değerlerinden çıkarılarak delta Ct değerleri hesaplanmıştır. Daha sonra tümörlü dokuya ait delta Ct değeri control dokuya ait Ct değerinden çıkarılacak delta delta Ct değerlerine ulaşılmıştır. Kat değişimini ifadesi 2 üzeri delta delta Ct değerlerinin hesaplanmasıyla bulunmuş, delta delta Ct değerinin negatif ya da pozitif olması bu kat değişimine genin rölatif olarak düşük ya da yüksek oranda ekspresyonu olarak yansımıştır. Duplike örneklerin kendi aralarındaki standart hataları da hesaplanmıştır. Tablo 4-7'de görüldüğü üzere galektin-3 mRNA ekspresyon seviyesi düşük ($0 < \text{kat değişimi} < 1$) vakalarda şekil 4-5'teki görünürlülüğü arttırmak amaçlı $1/\text{kat değişimi}$ değerleri alınarak görselleştirilmiştir.

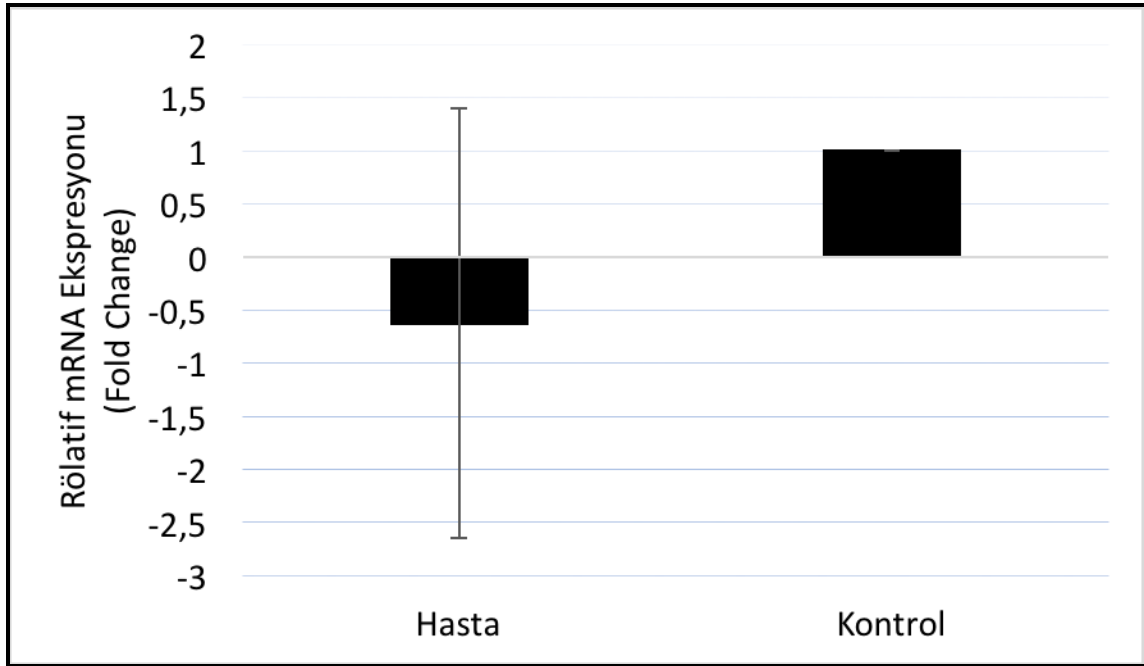
Tablo 4-7: Hastalarda galektin-3 mRNA ekspresyon incelemesi

Hastalar	Kat değişimi	Galektin-3 mRNA ekspresyonu	Katlı değişim
Vaka 1	0,06	Düşük	-16,67
Vaka 2	0,07	Düşük	-14,29
Vaka 3	0,19	Düşük	-5,26
Vaka 4	0,28	Düşük	-3,57
Vaka 5	0,30	Düşük	-3,33
Vaka 6	0,42	Düşük	-2,38
Vaka 7	0,59	Düşük	-1,69
Vaka 8	0,80	Düşük	-1,25
Vaka 9	2,06	Yüksek	2,06
Vaka 10	3,20	Yüksek	3,20
Vaka 11	3,73	Yüksek	3,73
Vaka 12	5,08	Yüksek	5,08
Vaka 13	10,37	Yüksek	10,37
Vaka 14	13,40	Yüksek	13,40



Şekil 4-5: Hastalar arasında rölatif galektin-3 mRNA ekspresyon dağılımı

Görüldüğü üzere hastalar arası galektin-3 mRNA ekspresyon düzeyi heterojendir. Gen ekspresyon düzeyleri valide edilmiştir. Kümülatif gen ekspresyon düzeyleri hasta ve kontrol grupları arasında kıyaslandığında Galektin-3 mRNA ekspresyonunun 0,63 kat azaldığı fakat bu farkın anlamlı olmadığı paired olmayan Man Whitney U testi ile ($p=0,5089$) şekil 4-6'daki gibi gösterilmiştir.



Şekil 4-6: Hastaların kontrollere oranla galektin-3 mRNA ekspresyon düzeylerinin kümülatif incelenmesi

4.3. Serum Galektin-3 Seviyesinin Galektin-3 Geninin rs4644 ve rs4652 Varyantlarında Değişim Analizi

KHDAK'lı hastalarda serum galektin-3 düzeyleri kontrol grubu ile karşılaştırıldığında hastalarda galektin-3 serum düzeyleri ($26,05 \pm 1,77$ ng/ml) kontrol grubuna göre ($11,62 \pm 1,30$ ng/ml) daha yüksek oranda tespit edilmiş olup aradaki fark istatistiksel olarak ileri düzeyde anlamlı bulunmuştur ($p < 0,001$). Gruplar arası dağılım Mann-Whitney U analizi ve grup içi dağılım Kruskal-Wallis Testi ile saptanmıştır (Tablo 4-8).

Tablo 4-8: KHDAK hastaları ve sağlıklı kontrollerde serum galektin-3 düzeyleri

Parametre	KHDAK Hastalar	Sağlıklı Kontroller	<i>p</i>
	Ortalama ± SH	Ortalama ± SH	
Serum Galektin-3 (ng/ml)	26,05 ± 1,77	11,62 ± 1,30	p<0,001

SH: standart hata

Galektin-3 kan serum seviyesi KHDAK hastalarının histopatolojik bulgularına göre değerlendirildiğinde tümör evresi, nod metastaz varlığı, perinöral invazyon, anjiyolenfatik invazyon ve damar invazyonu varlığı genotip ve allel dağılımları ile incelendiğinde istatistiksel olarak anlamlılık bulunamamıştır ($p>0,05$) (Tablo 4-9).

Tablo 4-9: Hastaların patoloji bulguları ve serum galektin-3 düzeyleri

Galektin-3 düzeyleri (ng/mL)	Ortalama ± SH	<i>p</i>
Tümör derecesi		
T3+ T4	27,98 ± 3,70	'p=0,551'
T1+ T2	25,40 ± 2,03	
Nod metastazı varlığı		
N1, N2, N3	31,28 ± 3,80	'p=0,118'
N0	24,08 ± 1,86	
Perinöral invazyon		
Var	27,43 ± 2,86	'p=0,422'
Yok	24,56 ± 2,04	
Anjiyolenfatik invazyon		
Var	26,80 ± 2,01	'p=0,126'
Yok	21,70 ± 2,26	

Damar invazyonu		
Var	25,91 ± 2,55	'p=0,945'
Yok	26,16 ± 2,52	

SH: standart hata

KHDAK`lı hastalarda damar invazyonu varlığında, galektin-3 rs4644 gen polimorfizmine ait AC genotipini taşıyan bireylerin serum galektin-3 düzeyleri (30,81±2,04) damar invazyonu olmayan hastalara (23,03±1,85) oranla daha yüksek oranda tespit edilmistir. Aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (p=0,03) (Tablo 4-10).

Tablo 4-10: Hastaların patoloji bulguları ve serum galektin-3 düzeylerinin rs4644 genotiplere göre dağılımı

Parametreler	AA	p	AC	p	CC	p
Tümör evresi ortalama ± SH						
T3+T4	9,72		27,61± 2,71		32,90± 6,22	
T1+T2	19,42± 1,16	'0,667'	26,02± 2,40	'0,933'	26,39± 4,12	'0,315'
Nod metastazı varlığı ortalama ± SH						
N+	-		26,98± 2,85		33,86± 5,79	
N-	16,19± 3,3	-	26,41± 2,26	'1,000'	24,52± 3,57	'0,247'
Perinöral invazyon ortalama ± SH						
Var	9,72		27,89± 1,92		29,56± 4,96	
Yok	19,4± 1,16	'0,667'	24,42± 2,73	'0,445'	27,36± 4,53	'1,000'
Damar invazyonu ortalama ± SH						

Var	9,72		*30,81± 2,04		24,52± 3,57	
Yok	19,42± 1,16	'0,667'	*23,03± 1,85	*p=0,03	33,86± 5,79	'0,247'
Anjiyolenfatik invazyon						
ortalama ± SH						
Var	9,72		26,39± 1,94		28,76± 3,43	
Yok	19,42± 1,16	'0,667'	23,97± 4,35	'0,641'	-	-

SH: standart hata

Galektin-3 rs4644 gen polimorfizmi ve serum galektin-3 düzeyleri değerlendirildiğinde, gruplararası analiz sonrasında AC genotipli hastalarda galektin-3 serum düzeyi ($26,02 \pm 1,72$ ng/ml) kontrol grubuna ($12,08 \pm 2,05$ ng/ml) göre daha yüksek miktarda saptanmış olup aradaki fark istatistiksel olarak ileri düzeyde anlamlı bulunmuştur ($p<0,001$) (Tablo 4-11). Galektin-3 rs4644 gen polimorfizmi ve serum galektin-3 düzeyleri değerlendirildiğinde, gruplararası analiz sonrasında CC genotipli hastalarda galektin-3 serum düzeyi ($28,8 \pm 3,43$ ng/ml) kontrol grubuna ($12,27 \pm 1,80$ ng/ml) göre daha yüksek miktarda saptanmış olup aradaki fark istatistiksel olarak ileri düzeyde anlamlı bulunmuştur ($p<0,001$) (Tablo 4-11). Galektin-3 rs4644 gen polimorfizmi ve serum galektin-3 düzeyleri yine incelendiğinde hasta grubumuzda C alleli taşıyanlarda (AC+CC) serum galektin-3 düzeyleri ($27,28 \pm 1,81$ ng/ml) kontrol grubuna göre ($12,19 \pm 1,32$ ng/ml) daha yüksek oranda bulunmuş olup aradaki fark istatistiksel olarak ileri düzeyde anlamlılığa ulaşmıştır ($p<0,001$) (Tablo 4-11).

Tablo 4-11: Galektin-3 rs4644 A/C genotiplerine göre hasta ve kontrollerde serum galektin-3 düzeyleri

	Galektin-3 rs4644 A/C genotipi					
	AA		AC		CC	
Serum galektin-3 (ng/mL)	ortalama $\pm$ SH	<i>p</i>	ortalama $\pm$ SH	<i>p</i>	ortalama $\pm$ SH	<i>p</i>
KHDAK hastalar	16,19 $\pm$ 3,3		26,02 $\pm$ 1,72		28,8 $\pm$ 3,43	
Sağlıklı kontroller	4,74 $\pm$ 3,3	'p=0,104'	12,08 $\pm$ 2,05	p<0,001	12,27 $\pm$ 1,80	p<0,001

SH: standart hata

Serum galektin-3 düzeylerinin galektin-3 rs4652 genotiplerine göre dağılımı incelendiğinde; Kruskal-Wallis testi sonuçlarına göre, KHDAK'lı galektin-3 rs4652 gen polimorfizmine ait AC genotipini taşıyan, damar invazyon varlığı olan hastalarda serum galektin-3 düzeyleri (31,94 $\pm$ 2,20) damar invazyonu olmayan hastalara (22,87 $\pm$ 1,37) oranla daha yüksek oranda tespit edilmiştir. Aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (p=0,019) (Tablo 4-12).

Tablo 4-12: Hastaların patoloji bulguları ve serum galektin-3 düzeylerinin rs4652 genotiplere göre dağılımı

Parametreler	AA	<i>p</i>	AC	<i>p</i>	CC	<i>p</i>
Tümör evresi						
ortalama $\pm$ SH						
T3+T4	32,9 $\pm$ 6,22		28,05 $\pm$ 3,78		18,0 $\pm$ 8,28	
T1+T2	26,4 $\pm$ 4,14	'0,315'	26,87 $\pm$ 2,39	'1,000'	21,46 $\pm$ 3,59	'0,800'
Nod metastazı varlığı						

ortalama $\pm$ SH						
N+	33,86 $\pm$ 5,79		24,61 $\pm$ 2,73		31,72	
N-	24,52 $\pm$ 3,57	'0,247'	28,02 $\pm$ 2,32	'0,500'	18,02 $\pm$ 2,75	>0,05
Perinöral invazyon ortalama $\pm$ SH						
Var	29,56 $\pm$ 4,96		27,33 $\pm$ 2,77		22,57 $\pm$ 6,62	
Yok	27,36 $\pm$ 4,53	'1,000'	25,94 $\pm$ 2,68	'0,914'	18,04 $\pm$ 1,54	'0,700'
Damar invazyonu ortalama $\pm$ SH						
Var	24,52 $\pm$ 3,57		*31,94 $\pm$ 2,20		17,99 $\pm$ 8,28	
Yok	33,86 $\pm$ 5,79	'0,247'	*22,87 $\pm$ 1,37	*p=0,019	21,46 $\pm$ 3,59	'0,800'
Anjiyolenfatik invazyon ortalama $\pm$ SH						
Var	28,76 $\pm$ 3,43		27,13 $\pm$ 2,15		20,74 $\pm$ 5,02	
Yok	-	-	23,97 $\pm$ 4,35	'0,533'	19,42 $\pm$ 1,16	'1,000'

SH: standart hata

Galektin-3 rs4652 gen polimorfizmi ve serum galektin-3 düzeyleri değerlendirildiğinde, gruplararası analiz sonrasında AA genotipli hastalarda galektin-3 serum düzeyi (28,76 $\pm$ 3,43 ng/ml) kontrol grubuna (11,70 $\pm$ 2,36 ng/ml) göre daha yüksek miktarda saptanmış olup aradaki fark istatistiksel olarak ileri düzeyde anlamlı bulunmuştur (p=0,001) (Tablo 4-13). Galektin-3 rs4652 gen polimorfizmi ve serum galektin-3 düzeyleri değerlendirildiğinde, gruplararası analiz sonrasında AC genotipli hastalarda galektin-3 serum düzeyi (26,50 $\pm$ 1,86 ng/ml) kontrol grubuna (12,08 $\pm$ 1,76 ng/ml) göre daha yüksek miktarda saptanmış olup aradaki fark istatistiksel olarak ileri düzeyde anlamlı bulunmuştur (p<0,001) (Tablo 4-13). Ayrıca, hasta (20,31 $\pm$ 3,20 ng/ml) ve kontrol (10,22 $\pm$ 3,76 ng/ml) grubu arasında CC genotipi dağılımı için düşük derecede anlamlı fark vardır (p= 0,075) (Tablo 4-13). Galektin-3 rs4652 gen polimorfizmi ve galektin-3 serum düzeyleri incelendiğinde; hasta grubumuzda A alleli

tasıyanlarda (AC+AA) serum galektin-3 düzeyleri ($27,69 \pm 1,97$ ng/ml) kontrol grubuna göre ($11,95 \pm 1,38$ ng/ml) daha yüksek oranda bulunmuş olup aradaki fark istatistiksel olarak ileri düzeyde anlamlılığa ulaşmıştır ($p < 0,001$) (Tablo 4-13).

Tablo 4-13: Galektin-3 rs4652 A/C genotiplerine göre hasta ve kontrollerde serum galektin-3 düzeyleri

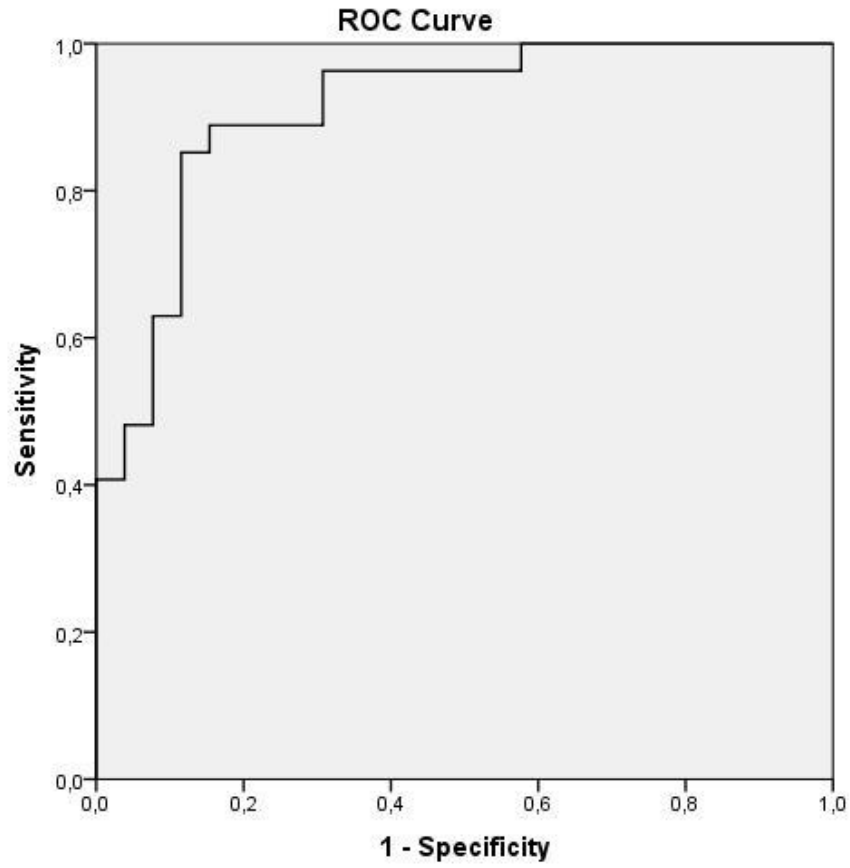
	Galektin-3 rs4652 A/C genotipi					
	AA		AC		CC	
Serum galektin-3 (ng/mL)	ortalama $\pm$ SH	<i>p</i>	ortalama $\pm$ SH	<i>p</i>	ortalama $\pm$ SH	<i>p</i>
KHDAK hastalar	$28,76 \pm 3,43$		$26,50 \pm 1,86$		$20,31 \pm 3,20$	
Sağlıklı kontroller	$11,70 \pm 2,36$	$p=0,001$	$12,08 \pm 1,76$	$p<0,001$	$10,22 \pm 3,76$	$p=0,075$

SH: standart hata

4.4. ROC Eğrisi Analizi

Bir testin tanısal performansı veya hastalıklı vakaları normal vakalardan ayırt etmek için bir testin doğruluğu, Alıcı Çalışma Karakteristik (receiver operating characteristic curve, ROC) eğrisi analizi kullanılarak değerlendirilir (Metz, 1978; Zweig ve Campbell, 1993).

Bu çalışmada ELİZA sonucunda elde edilen serum galektin-3 düzeylerinin doğruluğunu KHDAK hasta ve sağlıklı grup arasında belirginliğini kuvvetlendirmek adına ROC eğrisi analizine başvurulmuştur. Sonuç olarak da serum galektin-3 parametresinde $17,089$ ng/ml'nin üstündeki değerler için % 88 duyarlılık, % 84 özgünlükle hasta grubumuzun olduğu söylenebilir (Şekil 4-7) (Tablo 4-14).



Şekil 4-7: KHDAC hasta ve sağlıklı kontroller arasında serum galektin-3 düzeyleri için ROC eğrisi

Tablo 4-14: KHDAC hasta ve sağlıklı kontroller arasında serum galektin-3 düzeyleri için ROC eğrisi analizi

Alan	SH	p	95% CI
0,910	,040	,000	0,832- 0,988

4.5. Çoklu Değişkenli Regresyon Analizi

Çalışma sonunda yapılan çoklu değişkenli regresyon analizinde; cinsiyet, sigara kullanımı ve serum galektin-3 düzeyleri birlikte incelenmiştir. Analiz sonucuna göre; sigara kullanımının varlığı ve galektin-3 serum düzeylerinin yüksekliğinin küçük hücreli dışı akciğer kanserine ait değerlendirilebilir önemli parametrelerden olduğu saptanmıştır (Tablo 4-14).

Tablo 4-15: Çalışma gruplarında çoklu lojistik regresyon analizi

Değişkenler	<i>p</i>	Odd Ratio	95 %CI
Hasta, Kontrol oranı			
Galektin-3 serum düzeyi (ng/ml)	0,000	57,431	9,085 – 363,046
Cinsiyet	0,554	2,002	0,201 – 19,948
Sigara Kullanımı	0,030	21,730	1,357 – 348,056

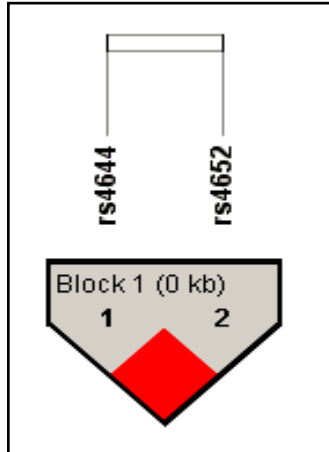
CI: confidence interval (güven aralığı)

4.6. Haplotipleme Analizi

Tek nükleotid polimorfizmleri arasındaki bağlantı dengesizliğinin (linkage disequilibrium; LD) hesaplanması ve haplotip bloklarının belirlenmesi için (Şekil 4-7) Haploview 4.2 programı kullanılmıştır. rs4644 ve rs4652 polimorfizmlerine ait CA, AC ve CC haplotip frekansları Tablo-4-15'te gösterilmektedir. Haplotip analizi sonucunda KHDAK vakaları ile galektin-3 haplotip frekansları arasında anlamlı bir ilişki bulunamamıştır (D' : 1.0, $LOD = 41.86$, $r^2 = 0.776$, $p > 0.05$).

Tablo 4-16: rs4644 ve rs4652 polimorfizmlerine ait haplotip frekansları, Ki-kare (χ^2) ve p değerleri

Blok	Frekans	Hasta	Kontrol	χ^2	p
rs4644/rs4652					
CA	0.612 (%61.2)	0,638	0,595	0.622	0.43
AC	0.313 (%7.5)	0,292	0,326	0.416	0.51
CC	0.075 (%31.2)	0,069	0,079	0.105	0.74



Şekil 4-8: Haplotiplendirme verileri

5. TARTIŞMA

Akciğer kanseri, ağırlıklı olarak küçük hücreli olmayan akciğer kanseri (KHDAK), dünya çapında kanser ölümlerinin önde gelen nedenlerinden biridir ve 5 yıllık sağkalım oranı %16'dır (192). Onkolojinin çeşitli alanlarında yapılan büyük ilerlemelere rağmen, akciğer kanserlerinin tedavisi ve sonuçları önemli ölçüde iyileşmemiştir. Sigaradan kaçınma stratejilerine ek olarak akciğer kanseri etiyolojisinde yer alan biyolojik yolları anlamak, klinikte değerli olabilecek anahtar biyomolekülleri tanımlamak, öngörücü, prognostik veya tanı belirteçlerini ortaya koymak için veya yeni hedefe yönelik tedavilerin geliştirilmesi için önem arz etmektedir. Akciğer kanserleri diğer insan tümörlerinde olduğu gibi DNA sekansı veya ekspresyondaki anormalliklerden kaynaklanabilmektedir. Şimdiye kadar KHDAK'a sebep olan birçok sürücü mutasyon tanımlanmıştır. Ancak, akciğer kanserinin genetik arka planını araştıran çoğu çalışma, tümörde gelişen somatik mutasyonlardan bağımsız olarak germlinedaki akciğer kanseri ile ilişkilendirilebilecek SNP'lerle ilgilenmektedir (193, 194). SNP, genomdaki tek bir nükleotidin (veya diğer paylaşılan dizinin) bir bireydeki biyolojik bir türün veya eşlenmiş kromozomların üyeleri arasında farklılaştığı zaman meydana gelen bir DNA dizisi varyasyonudur. SNP'ler, insan popülasyonunda bildirilen varyasyonların %90'ının varyasyonlarının ve kaynağının en basit şeklidir (195). Bunlar, eş anlamlı SNP'ler, eş anlamlı olmayan SNP'ler (nsSNP'ler) ve 3'UTR, 5'UTR ve intronik varyantlar dahil birçok türde olabilir. NsSNP'lerin kodlanmış proteinlerin fonksiyonel çeşitliliğinde önemli bir rol oynaması ve birçok hastalık durumuyla bağlantılı olması muhtemeldir. Bu SNP'ler protein çözünürlüğünü azaltarak veya protein yapısını destabilize ederek protein fonksiyonunu etkileyebilir (196). Promoter veya intronik bölgelerdeki diğer varyantlar ise, transkripsiyonu değiştirerek ve sonradan transkripsiyon faktörü bağlama bölgeleri veya ekleme bölgeleri yoluyla translasyonu değiştirerek gen regülasyonunu etkileyebilir (197). Kanser olgularında tümörde ve normal eşleştirilmiş DNA'da (SNP'ler) bulunan yapısal varyasyonlar, bir hastanın kemoterapiye veya hedefe yönelik terapilere verdiği cevabı değiştirmenin yanı sıra, yan etkilerin türünü ve şiddetini belirleyen genetik faktörler olarak da katkıda bulunabilir (198). Kanserde SNP'lerin, gen ve protein ekspresyonunu düzenleyebildiği ve kötü prognozla ilişkili olabileceği birçok çalışmada bulunmuştur. Bu genetik polimorfizmi yararlı bir klinik prognostik belirteç olarak kullanmak ve moleküler mekanizmasını

açıklığa kavuşturmak için, akciğer kanseri ve / veya diğer kanser türleri hakkında geniş çaplı klinik çalışmalar gerekmektedir.

LGALS3'te intronik, eksonik ve translasyon edilmemiş bölgeleri (UTR'ler) barındıran birkaç SNP tanımlanmıştır. Galektin-3 genindeki varyasyonların, kanserler ve otoimmün hastalıklar gibi çeşitli patolojik durumlarla da ilişkili olduğu bulunmuştur (199, 200). Galektin-3 geninin 3. ekzonu üzerindeki iki galektin-3 SNP sitesinin (rs4644 ve rs4652) protein düzeyini belirlediği yakın zamanda bildirilmiştir. SNP rs4644, galektin3 +191 C> A, galektin-3'ün kalıntı 64. kalıntı bölgesinde histidini proline (64 His to 64 Pro) değiştirir. SNP rs4652 ise, galektin-3 +292 A> C, 98. residue bölgesinde treonini proline (98 Thr to 98 Pro) değiştirir.

Bu tez çalışmasında hiçbir tedavi almamış KHDAK hasta ve sağlıklı kontrollerden oluşan olgularda galektin-3 gen varyasyon dağılımı, ekspresyonu ve kodladığı protein olan serum galektin-3 varlığını tayin edilip spesifik polimorfizmlerle (rs4644 ve rs4652) hastalığın etiyopatogenezi ve progresyon düzeyini ilişkilendirerek galektin-3 genini KHDAK hastalarında muhtemel biyobelirteç olarak önerme amaçlanmıştır.

Çalışma kapsamındaki olguların demografik bilgileri analiz edildiğinde hasta ve kontrol grubunda yaş farkında anlamlılık saptanmamıştır. Öte yandan cinsiyet dağılımına bakıldığında hastaların yüzde 83,1', erkek iken yüzde 16,9'luk geri kalan kısmı bayanlardan oluşmaktadır. Bu durumda KHDAK riskinin erkeklerde bayanlara göre 4,9 kat artmış olduğu bulunmuştur. Ülkemizde erkek cinsiyette halen yüksek oranda KHDAK'a rastlandığı bilgisini savunan Kacan ve arkadaşlarının çalışma sonuçlarıyla da bulgumuz bağdaşmaktadır (201). Sigara kullanımının bilhassa erkek cinsiyetine paralel olarak KHDAK riskini kullanmayanlara göre yüzde 85 arttırdığı bilinmektedir. Bizim çalışma grubumuzda da %84,6 oranla sigara içenlerde hastalık görülürken, hastaların %15,4'ünde sigara izlenmemiştir.

Galektin-3 genine ait SNP'lerin KHDAK ve kontrol grubu arasında allel ve genotip dağılımı incelendiğinde rs4644 ve rs4652 varyantlarının anlamlı bir rolüne bu çalışma grubunda ulaşılamamıştır. Literatürde ise KHDAK hastaları üzerinde yapılan tek bir çalışmada rs4644'den ziyade rs4652'nin KHDAK'lı hastalarda platinyum bazlı kemoterapi cevabı ve prognozu ile ilişkili olduğu kaydedilmiştir (8). Öte yandan, farklı kanser türlerinde farklı SNPlerin çift yüzlü rolleri kanıtlanmıştır. Örneğin, rs4644'ün MMP kesilimine yatkınlığa ve ilaca bağlı apoptoza direnç kazanılmasına yol açmasıyla

meme kanseri insidansı ile ilişkilendirilmişken (10), bir başka çalışmada rs4644'ün prostat kanserinde pozitif koruyuculuğu ile ilgili bir ilişki sunulmuştur (155). Ayrıca, rs4652 SNP'sine ait AA genotipli Çinli bir popülasyonda gliomaya yakalanma riskini arttırdığı da belirlenmiştir (187). Bu kanıtlayıcı ışığında bizim çalışma grubunda hasta ve kontrol arasında istatistiksel anlamlılığa ulaşılmamasındaki en etken sebep olgu sayısının kısıtlılığı olabilir.

Hastaların tümör evresi, lenf nodu metastazı, perinöral invazyon, anjiyolenfatik invazyon, damar invazyon varlığı gibi patolojik parametreleri ile rs4644 ve rs4652 SNP genotiplerinin yüzde dağılımı karşılaştırıldığında ise anjiyolenfatik invazyon varlığı olan hastaların rs4652 AA homozigot genotipine sahip hastalarda istatistiksel anlamda bir artış gösterdiği kaydedilmiştir. Evre I-IIA KHDAK'lı hastalar üzerinde yapılan çalışmalarda anjiyolenfatik invazyon varlığının uzun süreli sağkalımın gelişimi ve yeniden nüks için olumsuz bir prognostik faktör olduğu literatürde tespit edilmiştir (202). Bu bilgi ışığında çalışma grubumuzda rs4652 AA genotipe sahip hastaların sağkalım sürelerinin daha kısa ve hastalığın yeniden oluşma riskini daha fazla taşıdıklarına dair öngörü sunulabilir.

Hastaların akciğer tümörlü ve sağlıklı çevre doku örneklerinde galektin-3 gen ekspresyonunu incelediğimizde hastalar arası heterojen bir ekspresyon profil gözlenirken, kümülatif yaklaşıldığında tümörlü dokuda gen ekspresyonun sağlıklı çevre dokusuna oranla 0.63 kat azaldığı, ancak bu oranın istatistiksel anlamlılığa ulaşmamıştır. KHDAK'lı tümör dokuları üzerinde yapılan immün boyamalarda galektin-3'ün KHAK'lı dokularda daha az ekspresyonu (179) ve kanser evresi ilerleyişi ile galektin-3 ekspresyonunun çekirdekten sitoplazmaya kaydığı (186) araştırmalarda sabittir, ancak literatürde kanser hücre tipine bağlı olarak galektin-3 ekspresyonu değişkenlik göstermektedir. Galektin-3'ün farklı tümör fenotiplerinde farklı davranışları ve etkileri, galektin-3'ün hücre adhezyonunda direkt bir rolünden ziyade hücre-matriks bağlantısını sağlayan ve sağkalım, proliferasyon, ve motilite gibi fonksiyonları düzenleyen integrinler gibi molekülleri düzenleyerek indirekt bir rol aldığını akla getirmektedir. Bu farklılık gösteren fenotipik özellikler, farklı organlara ait farklı tümörlerde ya da aynı tipteki tümörlerin matriks parçalayıcı enzim sentezi ya da spesifik karşı-reseptörler sentezlenmesi gibi olaylardan kaynaklanıyor olabilir. Bizim çalışmamızda literatürle uyuşmayan KHDAK'ta galektin-3 ekspresyonu düşen profil ise örnek sayısı artırılarak istatistiksel anlamlı hale getirilebilir.

Serum galektin-3 düzeylerindeki değişmelerin bazı kanser türlerinde prognostik bir faktör olarak klinik öneme sahip olduğu bilinmektedir. Galektin-3'ün hücre yüzeyi, sitoplazma veya nükleustaki dağılımı onun spesifik rolünü etkilediği bilinmektedir. Dolaşımdaki multimerik çözülebilir galektin-3, homotipik agregasyon, immün kaçak ve gelişmiş sağkalımı indükleyerek ve kan yoluyla taşınan hücrelerin ikincil bölgelere yönlendirilmesini desteklediği bulunmuştur. Tümör stromal hücrelerinden ve/veya kanser başlatıcı hücrelerden salgılanan galektin-3 immünsüpresif özellikler sergileyip ve sitokin salınımını modüle ederek kanser gelişim sürecinde rol aldığı da savunulmaktadır (181). Bu sebeple çalışma grubumuzdaki bazı hasta ve kontrollerde serum galektin-3 seviyeleri karşılaştırıldığında hasta serum galektin-3 düzeyi ortalamasının kontrol grubuna göre ileri derecede anlamlı yüksek olduğunu kaydedilmiştir. Ancak, hastaların tümör derecesi, nod metastaz, perinöral invazyon, anjiyolenfaik invazyon damar invazyonu gibi patolojik bulguları açısından serum galektin-3 seviyeleri değerlendirdiğimizde anlamlı bir ilişkiye ulaşılamamıştır. Bulgular literatürle açık bir şekilde uyuşmakta olup dolaşımdaki galektin-3 düzeylerini sağlıklı kontrollerde karşılaştıran birçok çalışmada, melanom, akciğer, meme, kolorektal, overyan ve baş-boyun kanserleri ve non-Hodgkin lenfoma gibi çeşitli kanser türlerine sahip hastalarda dolaşımdaki galektin-3'te anlamlı artışlar görölmüştür (173). Ayrıca, serum düzeyindeki bu yükselme ile hastaların klinik ve tümöral özellikleri arasında anlamlı farklılığa yine bu kanser türlerinde rastlanamamıştır. Bu bağlamda serum galektin-3 seviye tespitlerinin hastaların klinik ve tümöral özelliklerine bakılmaksızın serbest tanı veya tarama testlerine yararlı ek bir prognostik araç olarak tamamlayıcı belirteçler olabileceği düşünölebilir.

Hasta ve kontrol grupları arasında serum galektin-3 düzeyleri ile rs4644 ve rs4652 genotiplerinin dağılımı karşılaştırıldığında ise ayrı ayrı iki SNP için de anlamlı farklılıklar bulunmuştur. Rs4644 C>A polimorfizmi için CA ve CC genotipli hastaların sağlıklı kontrollere oranla serum galektin-3 düzeyleri yüksek bulunmuştur. Rs4652 A>C polimorfizmi için ise AA ve AC genotiplerine sahip hastalarda kontrol grubuna oranla daha yüksek serum galektin-3 düzeyi kaydedilmiştir. Literatürde bugüne kadar KHDAK'lı hastalarda veya farklı bir kanser türünde serum galektin-3 düzeyinin galektin-3 SNP genotiplerine göre dağılımını örnekleyen bir çalışma bulunmamaktadır. Ancak orak hücreli anemiye sahip çocuklarda yapılan bir çalışmada rs4644 CC genotipi AA genotipine ve rs4652 AA genotipi CC genotipine oranla daha yüksek galektin-3

seviyesiyle ilişkili bulunarak genotip dağılımı ve serum düzeyi ile bulgularımız uyushmaktadır (203). Ayrıca, Hu ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada ise Tayvanlı, romatoid artiritli, rs4652 CC / CA genotipleri olan hastaların AA genotipine kıyasla serum galektin-3 düzeylerini düşürdüğünü, düşük serum galektin-3 düzeylerinin bu hastalıkta sinoviyal inflamatuvar bölgede T hücre ve makrofajın kalıcılığını etkileyebileceği ihtimaliyle bildirmişlerdir (5). Görülüyor ki benzer olmayan hem rs4644 hem de rs4652 pozisyonlarındaki polimorfik aminoasit değişimleri (sırasıyla; prolinden histidine, tireoninden proline) genotip dağılımına bağlı olarak serum galektin-3'ün vücuttaki sekresyonunda etkin rol alarak kanser ve diğer hastalıkların patolojik süreçlerine katkıda bulunmaktadır. Aminoasit değişimlerinin protein ekspresyonu ve fonksiyon mekanizmalarına tam olarak katkısı bilinmemekle beraber galektin-3 proteinin fosforilasyonu veya proteolizine etkileri varsayılmaktadır. Örneğin, meme ve prostat kanser vakalarında rs4644 polimorfizmi sonucu meydana gelen prolinden histidine geçiş aminoasit değişikliği MMP 2 ve 9 tarafından kesilmeye maruz kalma veya duyarlı olma ihtimalinin artmasına sebep gösterilmiştir (6). Kesilmiş proteinler neticesinde galektin oligomerleşemediğinden galektin-glikoprotein kompleksleri oluşturamayarak T hücresi düzenlemesi veya toleransı gibi birçok yolağın regülasyonunu bozacağı bilinmektedir. Örneğin, Kuzey Hindistan civari görülen romatit artiritte rs4644 AA genotipli hastalarda önemli bir role sahip T hücrelerinin, hiper aktivasyonu ile bu durumun inflamasyonuna katkıda bulundukları önerilmiştir (204, 205). Ancak, Tayvanlı romatit artirit hastaları üzerinde ise rs4644'ten ziyade rs4652'nin bu fonksiyonel etkisi görülmüştür (5). Netice olarak bu varyasyonlar genetik yapı, etnik köken, kültür ve çevresel faktörler gibi etiyolojik ve epidemiyolojik unsurlardan etkilenebildiği de göz önünde bulundurulmalıdır. Ek olarak, rs4644 C/A pozisyonundaki 64. kalıntıdaki prolin histidine göre muhtemelen evrimsel korunmuş olduğundan daha kararlı bir yapıya sahiptir ve dolayısıyla bu dizideki herhangi bir değişikliğin bu molekülün fonksiyonunu etkilemesi büyük olasılıkla muhtemeldir (199). Rs4652 C alelinin 98. kalıntıdaki prolin ise kritik protein taşıma tayininde bulunmaktadır. Galektinler bilindiği üzere ağırlıklı olarak hücre içi ve sitolzulde üretilmelerine rağmen hücre dışı ve hücreler arasına salınırlar ve endoplazmik retikulum / golgi yolağı için tanınabilir sinyal sekansı bulundurmadiğinden klasik olmayan sekresyon yolları sergilerler (153, 206). Hamsterlar üzerinde yapılan bir çalışmada galektin-3 geninin 89-96 kalıntılarını (Tyr-Pro-Ser-Ala-Pro-Gly-Ala-Tyr) içeren kısa bir

sekansın protein salgılanmasında önemli rol oynadığı bulunmuştur (150). Memeli galektin-3 N terminal bölgesindeki motifin evrimsel olarak korunduğu bilgisiyle hamsterdaki gibi insan rs4652 SNP bölgesinin üzerinde yer alan galektin-3 N terminal bölgesinin de sekresyonu etkileyerek hücre içi galektin-3 seviyesini değiştirebileceği sonucuna varılabilir.

Bu hastaların patolojik bulguları göze alındığında ise rs4644 polimorfizmi için CA genotipine ve rs4652 polimorfizmi için AC genotipine sahip hastalarda damar invazyonu varlığı ile yüksek serum galektin-3 düzeyi arasında anlamlı, pozitif bir korelasyon da bizim çalışmamızda kaydedilmiştir. Literatürde galektin-3 anjiyogenezin teşviği için önerilen başlıca moleküler mekanizmalar arasında galektin-3'ün endotel hücrelerinde $\alpha v3$ integrinlerine bağlanması üzerine integrin kümelenmesini indüklemesi ve VEGF ve temel fibroblast büyüme faktörü gibi anjiyogenik aktiviteyi etkileyen sinyal yollarını ve FAK fosforilasyonu aktivasyon yer almaktadır (207). Ayrıca, rs4652 SNP bölgesi CRD üzerinde bulunarak transforme büyüme faktörü beta (TGF- β) yolağı üzerinden fibroblast yüzey reseptörleri ile etkileşilerek fibroblastları aktive edebilir. Aktive olan fibroblastlar bir diğer adıyla miyofibroblastların kanser hücreleri ile etkileşilerek anjiyogenezi arttırdığı düşünülmektedir (208, 209). Shi ve arkadaşları bu yolağı öne sürerek rs4652 polimorfizminin gastrik kanser hücrelerinde anjiyogenezin arttığını iddia etmişlerdir (188).

Ek olarak, yapılan çoklu değişkenli regresyon analizinde; cinsiyet, sigara kullanımı ve serum galektin-3 düzeyleri birlikte incelenmiş ve analiz sonucuna göre; istatistiksel anlamlılık, yüksek odd oranı ve dar güven aralıkları ile sigara kullanımının varlığı ve serum galektin-3 düzeyindeki artışın literatürü destekleyerek KHDAA kanserine ait değerlendirilebilir önemli parametrelerden olduğu saptanmıştır. Bilimsel verilere göre tütün içenler arasında sadece ~% 10-15'lik bir popülasyonda akciğer kanseri görülmesi genetik yatkınlık gibi konakçı faktörlerin akciğer kanseri patogeneğinde daha çok rol oynayabileceğini düşündürmektedir (210, 211). Çalışmada son olarak galektin-3 geni üzerindeki rs4644 ve rs4652 varyantları için yapılan haplotip analizinde, KHDAA vakalarında galektin-3 haplotip frekansları (AC/CA/AA) için anlamlı bir ilişki bulunamamıştır. Literatürdeki galektin-3'e ait bir haplotipleme çalışmasında, gastrit kanser riski ile galektin-3 gen varyasyonlarından rs4644 ve rs4652 SNP bölgeleri arasında bir ilişki bulunmamıştır (188). Bizim çalışmamızda da istatistiksel anlamlılığa örnek sayıları artırılarak ulaşılabilir.

Çalışmamızın en önemli kısıtlılıkları arasında hasta sayısının yeterli olmayışı ve örneklerin retrospektif mevcudiyetiyle her hasta veya kontrole ait DNA, cDNA ve serum eşleştirmelerindeki eksikliklere bağlı olarak bazı hastaların özellikle ekspresyon analizinde çalışma dışı bırakılmaları yer alabilir.

Sonuç olarak, bu özgün tez çalışmasında hiçbir tedavi almamış KHDAK hastaları ve sağlıklı kontroller üzerinde galektin-3 varyasyon dağılımı ve ekspresyon düzeyleri belirlenerek galektin-3'e ait rs4644 ve rs4652 SNP'leri ile hastalığın etiyopatogenezi ve hastalık progresyonu ilişkilendirilmiştir. KHDAK'ta rs4652 SNP'ye sahip AA genotipli hastalarda anjiyolenfatik invazyon varlığının anlamlı bir parameter olduğu, serum galektin-3 seviyesinin bu hastalarda rs4644 ve rs4652 AC genotipli hastalarda ilişkilendiği kaydedilmiştir. Galektin-3 polimorfizmine bağlı galektin-3 ekspresyon ve protein düzeylerinin değerlendirilerek sigara kullanımı ve serum galektin-3 seviyesinin KHDAK hastalarında tanıdı belirleyici parameter olarak kullanılabileceği çoklu regresyon ve ROC eğrisi analizleri ile kanıtlanmıştır.

Bu çalışmada hiçbir tedavi almamış KHDAK hastalarında ve sağlıklı kontrollerde galektin-3 varyasyon dağılımı ve ekspresyon düzeylerini belirleyerek galektin-3'ün rs4644 ve rs4652 SNP'leri ile hastalığın etiyopatogenezi ve progresyon düzeyini ilişkilendirip galektin-3'ü KHDAK hastalarında muhtemel biyobelirteç olarak önermeyi amaçlamaktayız. Elde edilecek bu muhtemel kazanımlar KHDAK hastalarında galektin-3 molekülünün dahil edilebileceği hastalık risk ve progresyonunda önerilecek önemli biyobelirteçlerden biri olup olamayacağı konusuna ışık tutarak, galektin-3 ile ilgili moleküler kanser mekanizmaları araştıran literatürlere temel oluşturabileceği kanaatindeyiz. Çalışmamız akciğer kanserlerinde galektin-3 SNP, ekspresyon ve serum galektin-3 düzeylerinin bir arada araştırıldığı özgün bir çalışma niteliğindedir.

KAYNAKLAR

1. Khakwani A, Rich AL, Tata LJ, Powell HA, Stanley RA, Baldwin DR, et al. Small-cell lung cancer in England: trends in survival and chemotherapy using the National Lung Cancer Audit. *PloS one*. 2014;**9(2)**:e89426.
2. Kargi A, Bisgin A, Yalcin AD, Kargi AB, Sahin E, Gumuslu S. Increased serum S-TRAIL level in newly diagnosed stage-IV lung adenocarcinoma but not squamous cell carcinoma is correlated with age and smoking. *Asian Pac J Cancer Prev*. 2013;**14(8)**:4819-22.
3. Haudek KC, Spronk KJ, Voss PG, Patterson RJ, Wang JL, Arnoys EJ. Dynamics of galectin-3 in the nucleus and cytoplasm. *Biochim Biophys Acta*. 2010;**1800(2)**:181-9.
4. Iurisci I, Tinari N, Natoli C, Angelucci D, Cianchetti E, Iacobelli S. Concentrations of galectin-3 in the sera of normal controls and cancer patients. *Clin Cancer Res*. 2000;**6(4)**:1389-93.
5. Hu CY, Chang SK, Wu CS, Tsai WI, Hsu PN. Galectin-3 gene (LGALS3) +292C allele is a genetic predisposition factor for rheumatoid arthritis in Taiwan. *Clin Rheumatol*. 2011;**30(9)**:1227-33.
6. Balan V, Nangia-Makker P, Schwartz AG, Jung YS, Tait L, Hogan V, et al. Racial disparity in breast cancer and functional germ line mutation in galectin-3 (rs4644): a pilot study. *Cancer Res*. 2008;**68(24)**:10045-50.
7. Korkmaz G, Horozoglu C, Arikan S, Gural Z, Saglam EK, Turan S, et al. LGALS3 and AXIN1 gene variants playing role in the Wnt/ beta-catenin signaling pathway are associated with mucinous component and tumor size in colorectal cancer. *Bosn J Basic Med Sci*. 2016;**16(2)**:108-13.
8. Wu F, Hu N, Li Y, Bian B, Xu G, Zheng Y. Galectin-3 genetic variants are associated with platinum-based chemotherapy response and prognosis in patients with NSCLC. *Cell Oncol (Dordr)*. 2012;**35(3)**:175-80.
9. Oka N, Nakahara S, Takenaka Y, Fukumori T, Hogan V, Kanayama HO, et al. Galectin-3 inhibits tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand-induced apoptosis by activating Akt in human bladder carcinoma cells. *Cancer Res*. 2005;**65(17)**:7546-53.

10. Mazurek N, Byrd JC, Sun Y, Ueno S, Bresalier RS. A galectin-3 sequence polymorphism confers TRAIL sensitivity to human breast cancer cells. *Cancer*. 2011;**117**(19):4375-80.
11. Takenaka Y, Fukumori T, Yoshii T, Oka N, Inohara H, Kim HR, et al. Nuclear export of phosphorylated galectin-3 regulates its antiapoptotic activity in response to chemotherapeutic drugs. *Mol Cell Biol*. 2004;**24**(10):4395-406.
12. Mazurek N, Sun YJ, Liu KF, Gilcrease MZ, Schober W, Nangia-Makker P, et al. Phosphorylated galectin-3 mediates tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand signaling by regulating phosphatase and tensin homologue deleted on chromosome 10 in human breast carcinoma cells. *J Biol Chem*. 2007;**282**(29):21337-48.
13. Lee YJ, Song YK, Song JJ, Siervo-Sassi RR, Kim HR, Li L, et al. Reconstitution of galectin-3 alters glutathione content and potentiates TRAIL-induced cytotoxicity by dephosphorylation of Akt. *Exp Cell Res*. 2003;**288**(1):21-34.
14. Travis WD, Brambilla E, Nicholson AG, Yatabe Y, Austin JHM, Beasley MB, et al. The 2015 World Health Organization Classification of Lung Tumors: Impact of Genetic, Clinical and Radiologic Advances Since the 2004 Classification. *J Thorac Oncol*. 2015;**10**(9):1243-60.
15. Goldstraw P, Crowley J, Chansky K, Giroux DJ, Groome PA, Rami-Porta R, et al. The IASLC Lung Cancer Staging Project: proposals for the revision of the TNM stage groupings in the forthcoming (seventh) edition of the TNM Classification of malignant tumours. *J Thorac Oncol*. 2007;**2**(8):706-14.
16. Sculier JP, Chansky K, Crowley JJ, Van Meerbeeck J, Goldstraw P, International Staging C, et al. The impact of additional prognostic factors on survival and their relationship with the anatomical extent of disease expressed by the 6th Edition of the TNM Classification of Malignant Tumors and the proposals for the 7th Edition. *J Thorac Oncol*. 2008;**3**(5):457-66.
17. Travis WD. Classification of lung cancer. *Semin Roentgenol*. 2011;**46**(3):178-86.
18. Travis WD. Update on small cell carcinoma and its differentiation from squamous cell carcinoma and other non-small cell carcinomas. *Mod Pathol*. 2012;**25 Suppl 1**:S18-30.
19. Mountzios G, Planchard D, Besse B, Validire P, Girard P, Devisme C, et al. Mitogen-activated protein kinase activation in lung adenocarcinoma: a comparative

- study between ever smokers and never smokers. *Clin Cancer Res.* 2008;**14(13)**:4096-102.
20. Leora Horn CML, David H. Johnson. *Neoplasm of the Lung. Harrison's Principles of Internal Medicine 19th ed.* New York, NY: McGraw-Hill; 2015.
21. Tsao MS, Marguet S, Le Teuff G, Lantuejoul S, Shepherd FA, Seymour L, et al. Subtype Classification of Lung Adenocarcinoma Predicts Benefit From Adjuvant Chemotherapy in Patients Undergoing Complete Resection. *J Clin Oncol.* 2015;**33(30)**:3439-46.
22. Ferlay J, Soerjomataram I, Dikshit R, Eser S, Mathers C, Rebelo M, et al. Cancer incidence and mortality worldwide: sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012. *Int J Cancer.* 2015;**136(5)**:E359-86.
23. İmmüno-Onkoloji Derneği, Türk Akciğer Kanseri Derneği, Türk Tıbbi Onkoloji Derneği ve Türk Toraks Derneği. *Akciğer Kanseri Yol Haritası.* (İnternette) 2016, Şubat. Erişim. 22.08.2018, <http://takd.org.tr/AkcigerYolHaritasiTRbasimVERSIYONU.pdf>
24. Goksel T, Eser S, Guclu SZ, Karadag M, Cilli A, Ozlu T, et al. Prognostic factors affecting survival in cases with lung cancer [A lung cancer mapping project in Turkey (LCMPT)]. *European Respiratory Journal.* 2013;**42(Suppl 57)**:P2920.
25. Alberg AJ, Brock MV, Ford JG, Samet JM, Spivack SD. Epidemiology of lung cancer: Diagnosis and management of lung cancer, 3rd ed: American College of Chest Physicians evidence-based clinical practice guidelines. *Chest.* 2013;**143(5 Suppl)**:e1S-e29S.
26. Müsellim B., Akciğer Kanserinin Epidemiyolojisi ve Etyolojisi. İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri, TÜRKİYEDE SIK KARŞILAŞILAN HASTALIKLAR II, Sempozyum Dizisi I Kasım 2007; **No:58**:s.113-118.
27. Kansu, S., Koparal B., Kırdar L., Batirel H., Çetingöz R., Özet A., Lung Cancer Management in Turkey, *Journal of Thoracic Oncology*, 2017;**12**:S212 - 213.
28. Akopyan G, Bonavida B. Understanding tobacco smoke carcinogen NNK and lung tumorigenesis. *Int J Oncol.* 2006;**29(4)**:745-52.
29. Hoffmann D, Djordjevic MV, Rivenson A, Zang E, Desai D, Amin S. A study of tobacco carcinogenesis. II. Relative potencies of tobacco-specific N-nitrosamines as inducers of lung tumours in A/J mice. *Cancer Lett.* 1993;**71(1-3)**:25-30.
30. Belinsky SA, Devereux TR, Maronpot RR, Stoner GD, Anderson MW. Relationship between the formation of promutagenic adducts and the activation of the

K-ras protooncogene in lung tumors from A/J mice treated with nitrosamines. *Cancer Res.* 1989;**49(19)**:5305-11.

31. Hainaut P, Pfeifer GP. Patterns of p53 G-->T transversions in lung cancers reflect the primary mutagenic signature of DNA-damage by tobacco smoke. *Carcinogenesis.* 2001;**22(3)**:367-74.

32. Driscoll T, Nelson DI, Steenland K, Leigh J, Concha-Barrientos M, Fingerhut M, et al. The global burden of disease due to occupational carcinogens. *Am J Ind Med.* 2005;**48(6)**:419-31.

33. Fingerhut M, Nelson DI, Driscoll T, Concha-Barrientos M, Steenland K, Punnett L, et al. The contribution of occupational risks to the global burden of disease: summary and next steps. *Med Lav.* 2006;**97(2)**:313-21.

34. Akkoclu A. *Akciğer kanserleri* [internette web sayfası]. Erişim 26.08.2018,.
Türk Toraks Derneği:
http://file.toraks.org.tr/TORAKSFD23NJKL4NJ4H3BG3JH/mesleki-kurslar-2-ppt-pdf/Atilla_Akkoclu.pdf

35. Steliga MA, Dresler CM. Epidemiology of lung cancer: smoking, secondhand smoke, and genetics. *Surg Oncol Clin N Am.* 2011;**20(4)**:605-18.

36. Dela Cruz CS, Tanoue LT, Matthay RA. Lung Cancer: Epidemiology, Etiology, and Prevention. *Clinics in Chest Medicine.* 2011;**32(4)**:605-+.

37. Lee HA, Lee WK, Lim D, Park SH, Baik SJ, Kong KA, et al. Risks of Lung Cancer due to Radon Exposure among the Regions of Korea. *J Korean Med Sci.* 2015;**30(5)**:542-8.

38. Truta-Popa LA, Hofmann W, Cosma C. Prediction of lung cancer risk for radon exposures based on cellular alpha particle hits. *Radiat Prot Dosimetry.* 2011;**145(2-3)**:218-23.

39. World Health Organization. *Air quality guidelines. Global update 2005. Particulate matter, ozone, nitrogen dioxide and sulfur dioxide.* Copenhagen: World Health Organization (İnternette) 2005. Erişim 26.08.2018,.
<http://www.euro.who.int/en/health-topics/environment-and-health/air-quality/publications/pre2009/air-quality-guidelines.-global-update-2005.-particulate-matter,-ozone,-nitrogen-dioxide-and-sulfur-dioxide>.

40. Laden F, Schwartz J, Speizer FE, Dockery DW. Reduction in fine particulate air pollution and mortality: Extended follow-up of the Harvard Six Cities study. *Am J Respir Crit Care Med*. 2006;**173**(6):667-72.
41. Komus N, Albayrak S, Ellidokuz H, Cimrin AH. [Occupational and environmental exposures and relations with pulmonary health]. *Tuberk Toraks*. 2008;**56**(3):275-82.
42. Siegel R, Ward E, Brawley O, Jemal A. Cancer statistics, 2011: the impact of eliminating socioeconomic and racial disparities on premature cancer deaths. *CA: a cancer journal for clinicians*. 2011;**61**(4):212-36.
43. Jemal A, Thun MJ, Ries LA, Howe HL, Weir HK, Center MM, et al. Annual report to the nation on the status of cancer, 1975-2005, featuring trends in lung cancer, tobacco use, and tobacco control. *J Natl Cancer Inst*. 2008;**100**(23):1672-94.
44. Thomas L, Doyle LA, Edelman MJ. Lung cancer in women: emerging differences in epidemiology, biology, and therapy. *Chest*. 2005;128(1):370-81.
45. Slatore CG, Chien JW, Au DH, Satia JA, White E. Lung cancer and hormone replacement therapy: association in the vitamins and lifestyle study. *J Clin Oncol*. 2010;**28**(9):1540-6.
46. Taioli E, Wynder EL. Re: Endocrine factors and adenocarcinoma of the lung in women. *J Natl Cancer Inst*. 1994;**86**(11):869-70.
47. Liu L, Liu J, Shao D, Deng Q, Tang H, Liu Z, et al. Comprehensive genomic profiling of lung cancer using a validated panel to explore therapeutic targets in East Asian patients. *Cancer Sci*. 2017;**108**(12):2487-94.
48. Boone CW, Kelloff GJ, Malone WE. Identification of candidate cancer chemopreventive agents and their evaluation in animal models and human clinical trials: a review. *Cancer Res*. 1990;**50**(1):2-9.
49. Yong LC, Brown CC, Schatzkin A, Dresser CM, Slesinski MJ, Cox CS, et al. Intake of vitamins E, C, and A and risk of lung cancer. The NHANES I epidemiologic followup study. First National Health and Nutrition Examination Survey. *Am J Epidemiol*. 1997;**146**(3):231-43.
50. İtil O. Akciğer kanserlerinin epidemiyolojisi ve etyolojisi. In: Haydaroglu A; ed. Akciğer kanserleri: Tanı ve tedavi. İzmir: *Ege Üniversitesi Basımevi*; 2000:15- 34.

51. Smith TJ, Yang GY, Seril DN, Liao J, Kim S. Inhibition of 4-(methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone-induced lung tumorigenesis by dietary olive oil and squalene. *Carcinogenesis*. 1998;**19(4)**:703-6.
52. Alkoçlu A, Özkurt S. Akciğer kanserini önleyici ilaç tedavisi. Hastürk S, Yüksel M. Ed. Akciğer kanseri, İstanbul: *Özlem Grafik Matbaacılık*; 2000; 351–358. .
53. Chen YC, Chen JH, Richard K, Chen PY, Christiani DC. Lung adenocarcinoma and human papillomavirus infection. *Cancer*. 2004;**101(6)**:1428-36.
54. Rezazadeh A, Laber DA, Ghim SJ, Jenson AB, Kloecker G. The role of human papilloma virus in lung cancer: a review of the evidence. *Am J Med Sci*. 2009;**338(1)**:64-7.
55. Syrjanen KJ. HPV infections and lung cancer. *J Clin Pathol* 2002; **55**:885-891.
56. Kokturk N, Tatlicioglu T, Memis L, Akyurek N, Akyol G. Expression of transforming growth factor beta(1) in bronchial biopsies in asthma and COPD. *J Asthma*. 2003;**40(8)**:887-93.
57. Larsen JE, Minna JD. Molecular Biology of Lung Cancer: Clinical Implications. *Clin Chest M*. 2011;**32(4)**:703-+.
58. Lin FCF, Huang JY, Tsai SCS, Nfor ON, Chou MC, Wu MF, et al. The association between human papillomavirus infection and female lung cancer A population-based cohort study. *Medicine*. 2016;**95(23)**.
59. Brouchet L, Valmary S, Dahan M, Didier A, Galateau-Salle F, Brousset P, et al. Detection of oncogenic virus genomes and gene products in lung carcinoma. *British J Cancer*. 2005;**92(4)**:743-6.
60. Galateau-Salle F, Bidet P, Iwatsubo Y, Gennetay E, Renier A, Letourneux M, et al. Detection of SV40-like DNA sequences in pleural mesothelioma, bronchopulmonary carcinoma and other pulmonary diseases. Simian Virus 40 (Sv40): Possible Human Polyomavirus. 1998;**94**:147-52.
61. Sion-Vardy N, Lasarov I, Delgado B, Gopas J, Benharroch D, Ariad S. Measles Virus: Evidence for Association with Lung Cancer. *Exp Lung Res*. 2009;**35(8)**:701-12.
62. Littman AJ, Jackson LA, Vaughan TL. Chlamydia pneumoniae and lung cancer: Epidemiologic evidence. *Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention*. 2005;**14(4)**:773-8.
63. Mitsuyasu RT. Non--AIDS-defining malignancies in HIV. *Top HIV Med*. 2008;**16(4)**:117-21.

64. Tatar D, Kılınç O, Yorgancıoğlu A ve ark. Akciğer tümörü ve akciğer tüberkülozu birlikteliği. *Solunum* 2000; **2**: 56-60.
65. Bernatsky S, Boivin JF, Joseph L, Rajan R, Zoma A, Manzi S, et al. An international cohort study of cancer in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum.* 2005;**52(5)**:1481-90.
66. Swerdlow AJ, Schoemaker MJ, Higgins CD, Wright AF, Jacobs PA, Group UKCC. Cancer incidence and mortality in men with Klinefelter syndrome: a cohort study. *J Natl Cancer Inst.* 2005;**97(16)**:1204-10.
67. Le Jeune I, Gribbin J, West J, Smith C, Cullinan P, Hubbard R. The incidence of cancer in patients with idiopathic pulmonary fibrosis and sarcoidosis in the UK. *Respir Med.* 2007;**101(12)**:2534-40.
68. Davidson BJ, Hsu TC, Schantz SP. The genetics of tobacco-induced malignancy. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg.* 1993;**119(11)**:1198-205.
69. Bailey-Wilson JE, Amos CI, Pinney SM, Petersen GM, de Andrade M, Wiest JS, et al. A major lung cancer susceptibility locus maps to chromosome 6q23-25. *Am J Hum Genet.* 2004;**75(3)**:460-74.
70. Gaughan EM, Cryer SK, Yeap BY, Jackman DM, Costa DB. Family history of lung cancer in never smokers with non-small-cell lung cancer and its association with tumors harboring EGFR mutations. *Lung Cancer.* 2013;**79(3)**:193-7.
71. Schwartz AG, Yang P, Swanson GM. Familial risk of lung cancer among nonsmokers and their relatives. *American J Epidemiology.* 1996;**144(6)**:554-62.
72. Amos CI, Wu XF, Broderick P, Gorlov IP, Gu J, Eisen T, et al. Genome-wide association scan of tag SNPs identifies a susceptibility locus for lung cancer at 15q25.1. *Nature genetics.* 2008;**40(5)**:616-22.
73. Benhamou S, Lee WJ, Alexandrie AK, Boffetta P, Bouchardy C, Butkiewicz D, et al. Meta- and pooled analyses of the effects of glutathione S-transferase M1 polymorphisms and smoking on lung cancer risk. *Carcinogenesis.* 2002;**23(8)**:1343-50.
74. Le Marchand L, Guo C, Benhamou S, Bouchardy C, Cascorbi I, Clapper ML, et al. Pooled analysis of the CYP1A1 exon 7 polymorphism and lung cancer (United States). *Cancer Causes Control.* 2003;**14(4)**:339-46.
75. Spitz MR, Wei Q, Dong Q, Amos CI, Wu X. Genetic susceptibility to lung cancer: the role of DNA damage and repair. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2003;**12(8)**:689-98.

76. Ye Z, Song H, Higgins JP, Pharoah P, Danesh J. Five glutathione s-transferase gene variants in 23,452 cases of lung cancer and 30,397 controls: meta-analysis of 130 studies. *PLoS Med.* 2006;**3(4)**:e91.
77. Zhou W, Liu G, Thurston SW, Xu LL, Miller DP, Wain JC, et al. Genetic polymorphisms in N-acetyltransferase-2 and microsomal epoxide hydrolase, cumulative cigarette smoking, and lung cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2002;**11(1)**:15-21.
78. Gold KA, Kim ES, Lee JJ, Wistuba II, Farhangfar CJ, Hong WK. The BATTLE to Personalize Lung Cancer Prevention through Reverse Migration. *Cancer Prevention Research.* 2011;**4(7)**:962-72.
79. Rosell R, Carcereny E, Gervais R, Vergnenegre A, Massuti B, Felip E, et al. Erlotinib versus standard chemotherapy as first-line treatment for European patients with advanced EGFR mutation-positive non-small-cell lung cancer (EURTAC): a multicentre, open-label, randomised phase 3 trial. *Lancet Oncology.* 2012;**13(3)**:239-46.
80. Fong KM, Sekido Y, Gazdar AF, Minna JD. Lung cancer. 9: Molecular biology of lung cancer: clinical implications. *Thorax.* 2003;**58(10)**:892-900.
81. Ju LX, Han MQ, Zhao C, Li XF. EGFR, KRAS and ROS1 variants coexist in a lung adenocarcinoma patient. *Lung Cancer.* 2016;**95**:94-7.
82. Cardarella S, Ogino A, Nishino M, Butaney M, Shen J, Lydon C, et al. Clinical, pathologic, and biologic features associated with BRAF mutations in non-small cell lung cancer. *Clin Cancer Res.* 2013;**19(16)**:4532-40.
83. Comprehensive molecular profiling of lung adenocarcinoma. *Nature.* 2014;**511(7511)**:543-50.
84. Planchard D, Loriot Y, Andre F, Gobert A, Auger N, Lacroix L, et al. EGFR-independent mechanisms of acquired resistance to AZD9291 in EGFR T790M-positive NSCLC patients. *Ann Oncol.* 2015;**26(10)**:2073-8.
85. Santarpia M, Daffina MG, Karachaliou N, Gonzalez-Cao M, Lazzari C, Altavilla G, et al. Targeted drugs in small-cell lung cancer. *Transl Lung Cancer Res.* 2016;**5(1)**:51-70.
86. Martelli MP, Sozzi G, Hernandez L, Pettirossi V, Navarro A, Conte D, et al. EML4-ALK rearrangement in non-small cell lung cancer and non-tumor lung tissues. *Am J Pathol.* 2009;**174(2)**:661-70.

87. Takeuchi K, Soda M, Togashi Y, Suzuki R, Sakata S, Hatano S, et al. RET, ROS1 and ALK fusions in lung cancer. *Nature Med.* 2012;**18(3)**:378-81.
88. Shaw AT, Ou SHI, Bang YJ, Camidge DR, Solomon BJ, Salgia R, et al. Crizotinib in ROS1-Rearranged Non-Small-Cell Lung Cancer. *New England J Med.* 2014;**371(21)**:1963-71.
89. Gautschi O, Milia J, Filleron T, Wolf J, Carbone DP, Owen D, et al. Targeting RET in Patients With RET-Rearranged Lung Cancers: Results From the Global, Multicenter RET Registry. *J Clin Oncol.* 2017;**35(13)**:1403-+.
90. Engelman JA, Zejnullahu K, Mitsudomi T, Song YC, Hyland C, Park JO, et al. MET amplification leads to gefitinib resistance in lung cancer by activating ERBB3 signaling. *Science.* 2007;**316(5827)**:1039-43.
91. Paik PK, Drilon A, Fan PD, Yu H, Rekhtman N, Ginsberg MS, et al. Response to MET Inhibitors in Patients with Stage IV Lung Adenocarcinomas Harboring MET Mutations Causing Exon 14 Skipping. *Cancer Discov.* 2015;**5(8)**:842-9.
92. Rabeau A, Rouquette I, Vantelon JM, Taranchon-Clermont E, Mazieres J. [Interest of crizotinib in a lung cancer patient with de novo amplification of MET]. *Rev Mal Respir.* 2017;**34(1)**:57-60.
93. Dutt A, Ramos AH, Hammerman PS, Mermel C, Cho J, Sharifnia T, et al. Inhibitor-sensitive FGFR1 amplification in human non-small cell lung cancer. *PloS one.* 2011;**6(6)**:e20351.
94. Wistuba II, Berry J, Behrens C, Maitra A, Shivapurkar N, Milchgrub S, et al. Molecular changes in the bronchial epithelium of patients with small cell lung cancer. *Clin Cancer Res.* 2000;**6(7)**:2604-10.
95. Husgafvel-Pursiainen K, Boffetta P, Kannio A, Nyberg F, Pershagen G, Mukeria A, et al. p53 Mutations and exposure to environmental tobacco smoke in a multicenter study on lung cancer. *Cancer Res.* 2000;**60(11)**:2906-11.
96. Kosaka T, Yatabe Y, Endoh H, Kuwano H, Takahashi T, Mitsudomi T. Mutations of the epidermal growth factor receptor gene in lung cancer: Biological and clinical implications. *Cancer Res.* 2004;**64(24)**:8919-23.
97. Danesi R, De Braud F, Fogli S, De Pas TM, Di Paolo A, Curigliano G, et al. *Pharmacogenetics of anticancer drug sensitivity in non-small cell lung cancer. Pharmacological Reviews.* 2003;**55(1)**:57-103.

98. Koivunen JP, Kim J, Lee J, Rogers AM, Park JO, Zhao X, et al. Mutations in the LKB1 tumour suppressor are frequently detected in tumours from Caucasian but not Asian lung cancer patients. *Br J Cancer*. 2008;**99**(2):245-52.
99. Marsit CJ, Zheng S, Aldape K, Hinds PW, Nelson HH, Wiencke JK, et al. PTEN expression in non-small-cell lung cancer: evaluating its relation to tumor characteristics, allelic loss, and epigenetic alteration. *Hum Pathol*. 2005;**36**(7):768-76.
100. Walter K, Holcomb T, Januario T, Du P, Evangelista M, Kartha N, et al. DNA methylation profiling defines clinically relevant biological subsets of non-small cell lung cancer. *Clin Cancer Res*. 2012;**18**(8):2360-73.
101. Belinsky SA, Liechty KC, Gentry FD, Wolf HJ, Rogers J, Vu K, et al. Promoter hypermethylation of multiple genes in sputum precedes lung cancer incidence in a high-risk cohort. *Cancer Res*. 2006;**66**(6):3338-44.
102. de Fraipont F, Levallet G, Creveuil C, Bergot E, Beau-Faller M, Mounawar M, et al. An apoptosis methylation prognostic signature for early lung cancer in the IFCT-0002 trial. *Clin Cancer Res*. 2012;**18**(10):2976-86.
103. Yanaihara N, Caplen N, Bowman E, Seike M, Kumamoto K, Yi M, et al. Unique microRNA molecular profiles in lung cancer diagnosis and prognosis. *Cancer Cell*. 2006;**9**(3):189-98.
104. Saito M, Schetter AJ, Mollerup S, Kohno T, Skaug V, Bowman ED, et al. The association of microRNA expression with prognosis and progression in early-stage, non-small cell lung adenocarcinoma: a retrospective analysis of three cohorts. *Clin Cancer Res*. 2011;**17**(7):1875-82.
105. Del Vescovo V, Cantaloni C, Cucino A, Girlando S, Silvestri M, Bragantini E, et al. miR-205 Expression levels in nonsmall cell lung cancer do not always distinguish adenocarcinomas from squamous cell carcinomas. *Am J Surg Pathol*. 2011;**35**(2):268-75.
106. Batirel HF, Metintas M, Caglar HB, Ak G, Yumuk PF, Ahiskali R, et al. Macroscopic complete resection is not associated with improved survival in patients with malignant pleural mesothelioma. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 2018;**155**(6):2724-33.
107. Aydın G. Akciğer Kanserlerinde Tanı Yöntemleri, Türkiye’de Sık Karşılaşılan Hastalıklar, *Akciğer Kanserine Güncel Yaklaşım Sempozyum Dizisi* 2007; **58**: 141- 152.
108. Amin MB, Greene FL, Edge SB, Compton CC, Gershenwald JE, Brookland RK, et al. The Eighth Edition AJCC Cancer Staging Manual: Continuing to build a bridge

from a population-based to a more "personalized" approach to cancer staging. *CA: a cancer journal for clinicians*. 2017;**67(2)**:93-9.

109. Nicholson AG, Chansky K, Crowley J, Beyruti R, Kubota K, Turrisi A, et al. The International Association for the Study of Lung Cancer Lung Cancer Staging Project: Proposals for the Revision of the Clinical and Pathologic Staging of Small Cell Lung Cancer in the Forthcoming Eighth Edition of the TNM Classification for Lung Cancer. *J Thorac Oncol*. 2016;**11(3)**:300-11.

110. Rami-Porta R, Bolejack V, Crowley J, Ball D, Kim J, Lyons G, et al. The IASLC Lung Cancer Staging Project: Proposals for the Revisions of the T Descriptors in the Forthcoming Eighth Edition of the TNM Classification for Lung Cancer. *J Thorac Oncol*. 2015;**10(7)**:990-1003.

111. Goldstraw P, Chansky K, Crowley J, Rami-Porta R, Asamura H, Eberhardt WE, et al. The IASLC Lung Cancer Staging Project: Proposals for Revision of the TNM Stage Groupings in the Forthcoming (Eighth) Edition of the TNM Classification for Lung Cancer. *J Thorac Oncol*. 2016;**11(1)**:39-51.

112. Compton CC, Byrd DR, Garcia-Aguilar J, Kurtzman SH, Olawaiye A, Washington MK, editörler. *AJCC Kanser Evreleme Atlası*. İstanbul. Nobel Tıp Kitabevleri; 2012.

113. Groome PA, Bolejack V, Crowley JJ, Kennedy C, Krasnik M, Sobin LH, et al. The IASLC lung cancer staging project: Validation of the proposals for revision of the T, N, and M descriptors and consequent stage groupings in the forthcoming (seventh) edition of the TNM classification of malignant tumours. *J Thorac Oncol*. 2007;**2(8)**:694-705.

114. Postoperative T1 N0 non-small cell lung cancer. Squamous versus nonsquamous recurrences. The Lung Cancer Study Group. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 1987;**94(3)**:349-54.

115. Sculier JP, Chansky K, Crowley JJ, Van Meerbeeck J, Goldstraw P. The impact of additional prognostic factors on survival and their relationship with the anatomical extent of disease expressed by the 6th Edition of the TNM Classification of Malignant Tumors and the proposals for the 7th Edition. *J Thorac Oncol*. 2008;**3(5)**:457-66.

116. D'Angelo SP, Janjigian YY, Ahye N, Riely GJ, Chaft JE, Sima CS, et al. Distinct Clinical Course of EGFR-Mutant Resected Lung Cancers Results of Testing of

- 1118 Surgical Specimens and Effects of Adjuvant Gefitinib and Erlotinib. *J Thorac Oncol.* 2012;**7(12)**:1815-22.
117. Jett JR, Schild SE, Kesler KA, Kalemkerian GP. Treatment of Small Cell Lung Cancer Diagnosis and Management of Lung Cancer, 3rd ed: American College of Chest Physicians Evidence-Based Clinical Practice Guidelines. *Chest.* 2013;**143(5)**:E400-E19.
118. Yu JB, Decker RH, Detterbeck FC, Wilson LD. Surveillance Epidemiology and End Results Evaluation of the Role of Surgery for Stage I Small Cell Lung Cancer. *J Thorac Oncol.* 2010;**5(2)**:215-9.
119. Jeremic B, Shibamoto Y, Nikolic N, Milicic B, Milisavljevic S, Dagovic A, et al. Role of radiation therapy in the combined-modality treatment of patients with extensive disease small-cell lung cancer: A randomized study. *J Clin Oncol.* 1999;**17(7)**:2092-9.
120. Heineman DJ, Daniels JM, Schreurs WH. Clinical staging of NSCLC: current evidence and implications for adjuvant chemotherapy. *Therapeutic Advances in Medical Oncology.* 2017;**9(9)**:599-609.
121. Pignon JP, Tribodet H, Scagliotti GV, Douillard JY, Shepherd FA, Stephens RJ, et al. Lung Adjuvant Cisplatin Evaluation: A pooled analysis by the LACE collaborative group. *J Clin Oncol.* 2008;**26(21)**:3552-9.
122. Turna A, Ak G, Eren Kömürcüoğlu B ve ark. Küçük hücreli dışı akciğer kanserinde sekizinci evreleme ve uygulamadaki etkileri. *Türk Göğüs Kalp Damar Cerrahisi Dergisi* 2017;**25**:484- 498.
123. Bozkurtlar E., Kaya H., Akciğer Kanserinde Moleküler Patoloji. *Nucl Med Semin.* 2018;**4**:26-31.
124. Huang Q, Li J, Sun Y, Wang R, Cheng X, Chen H. Efficacy of EGFR Tyrosine Kinase Inhibitors in the Adjuvant Treatment for Operable Non-small Cell Lung Cancer by a Meta-Analysis. *Chest.* 2016;**149(6)**:1384-92.
125. Pao W, Girard N. New driver mutations in non-small-cell lung cancer. *The Lancet Oncol.* 2011;**12(2)**:175-80.
126. Rotow J, Bivona TG. Understanding and targeting resistance mechanisms in NSCLC. *Nat Rev Cancer.* 2017;**17(11)**:637-58.
127. Mazurek N, Byrd JC, Sun Y, Hafley M, Ramirez K, Burks J, et al. Cell-surface galectin-3 confers resistance to TRAIL by impeding trafficking of death receptors in metastatic colon adenocarcinoma cells. *Cell Death Differ.* 2012;**19(3)**:523-33.

128. Chou FC, Chen HY, Kuo CC, Sytwu HK. Role of Galectins in Tumors and in Clinical Immunotherapy. *Int J Mol Sci.* 2018;**19**(2).
129. Nada P. Galectin-3 In Obesity And Type 2 Diabetes. *Serbian J Experimental Clin Res.* 2015;**16**(4):273-80.
130. Thijssen VL, Heusschen R, Caers J, Griffioen AW. Galectin expression in cancer diagnosis and prognosis: A systematic review. *Biochimica et biophysica acta.* 2015;**1855**(2):235-47.
131. Vladoiu MC, Labrie M, St-Pierre Y. Intracellular galectins in cancer cells: potential new targets for therapy (Review). *Int J Oncol.* 2014;**44**(4):1001-14.
132. Kadrofske MM, Openo KP, Wang JL. The human LGALS3 (galectin-3) gene: determination of the gene structure and functional characterization of the promoter. *Arch Biochem Biophys.* 1998;**349**(1):7-20.
133. Ruvolo, P. P. Galectin 3 as a Guardian of the Tumor Microenvironment. *Biochim Biophys Acta.* 2016; **3**: 427-37.
134. Probstmeier, R., D. Montag, and M. Schachner. Galectin-3, a Beta-Galactoside-Binding Animal Lectin, Binds to Neural Recognition Molecules. *J Neurochem.* 1995 **64**(6): 2465-72
135. Ochieng, J., V. Furtak, and P. Lukyanov. Extracellular Functions of Galectin-3. *Glycoconj J* 2002; **19**(7-9): 527-35.
136. Hughes RC. Galectins as modulators of cell adhesion. *Biochimie.* 2001;**83**(7):667-76.
137. Dumic J, Dabelic S, Flogel M. Galectin-3: an open-ended story. *Biochimica et biophysica acta.* 2006;**1760**(4):616-35.
138. Shimura T, Takenaka Y, Tsutsumi S, Hogan V, Kikuchi A, Raz A. Galectin-3, a novel binding partner of beta-catenin. *Cancer Res.* 2004;**64**(18):6363-7.
139. Dagher SF, Wang JL, Patterson RJ. Identification of galectin-3 as a factor in pre-mRNA splicing. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America.* 1995;**92**(4):1213-7.
140. Vyakarnam A, Dagher SF, Wang JL, Patterson RJ. Evidence for a role for galectin-1 in pre-mRNA splicing. *Mol Cell Biol.* 1997;**17**(8):4730-7.
141. Haudek KC, Voss PG, Wang JL, Patterson RJ. A 10S galectin-3-U1 snRNP complex assembles into active spliceosomes. *Nucleic acids res.* 2016;**44**(13):6391-7.

142. Fritsch K, Mernberger M, Nist A, Stiewe T, Brehm A, Jacob R. Galectin-3 interacts with components of the nuclear ribonucleoprotein complex. *BMC Cancer*. 2016;**16**:502.
143. Iacobini C, Amadio L, Oddi G, Ricci C, Barsotti P, Missori S, et al. Role of galectin-3 in diabetic nephropathy. *J Am Soc Nephrol*. 2003;**14**(8 Suppl 3):S264-70.
144. Califice S, Castronovo V, Van Den Brule F. Galectin-3 and cancer (Review). *Int J Oncol*. 2004;**25**(4):983-92.
145. Davidson PJ, Davis MJ, Patterson RJ, Ripoche MA, Poirier F, Wang JL. Shuttling of galectin-3 between the nucleus and cytoplasm. *Glycobiology*. 2002;**12**(5):329-37.
146. Nakahara S, Hogan V, Inohara H, Raz A. Importin-mediated nuclear translocation of galectin-3. *J Biol Chem*. 2006;**281**(51):39649-59.
147. Tsay YG, Lin NY, Voss PG, Patterson RJ, Wang JL. Export of galectin-3 from nuclei of digitonin-permeabilized mouse 3T3 fibroblasts. *Exp Cell Res*. 1999;**252**(2):250-61.
148. Huflejt ME, Turck CW, Lindstedt R, Barondes SH, Leffler H. L-29, a soluble lactose-binding lectin, is phosphorylated on serine 6 and serine 12 in vivo and by casein kinase I. *J Biol Chem*. 1993;**268**(35):26712-8.
149. Funasaka T, Raz A, Nangia-Makker P. Nuclear transport of galectin-3 and its therapeutic implications. *Seminars in cancer biology*. 2014;**27**:30-8.
150. Menon RP, Hughes RC. Determinants in the N-terminal domains of galectin-3 for secretion by a novel pathway circumventing the endoplasmic reticulum-Golgi complex. *European j biochem*. 1999;**264**(2):569-76.
151. Sato S, Burdett I, Hughes RC. Secretion of the baby hamster kidney 30-kDa galactose-binding lectin from polarized and nonpolarized cells: a pathway independent of the endoplasmic reticulum-Golgi complex. *Exp Cell Res*. 1993;**207**(1):8-18.
152. Nickel W. The mystery of nonclassical protein secretion. A current view on cargo proteins and potential export routes. *European j biochem*. 2003;**270**(10):2109-19.
153. Mehul B, Hughes RC. Plasma membrane targetting, vesicular budding and release of galectin 3 from the cytoplasm of mammalian cells during secretion. *J Cell Sci*. 1997;**110** (Pt 10):1169-78.

154. Balan V, Nangia-Makker P, Kho DH, Wang Y, Raz A. Tyrosine-phosphorylated galectin-3 protein is resistant to prostate-specific antigen (PSA) cleavage. *J Biol Chem*. 2012;**287**(8):5192-8.
155. Meyer A, Coinac I, Bogdanova N, Dubrowinskaja N, Turmanov N, Haubold S, et al. Apoptosis gene polymorphisms and risk of prostate cancer: a hospital-based study of German patients treated with brachytherapy. *Urol Oncol*. 2013;**31**(1):74-81.
156. Li X, Ma Q, Wang J, Liu X, Yang Y, Zhao H, et al. c-Abl and Arg tyrosine kinases regulate lysosomal degradation of the oncoprotein Galectin-3. *Cell Death Differ*. 2010;**17**(8):1277-87.
157. Menon S, Kang CM, Beningo KA. Galectin-3 secretion and tyrosine phosphorylation is dependent on the calpain small subunit, Calpain 4. *Biochem Bioph Res Co*. 2011;**410**(1):91-6.
158. Gao X, Liu J, Liu X, Li L, Zheng J. Cleavage and phosphorylation: important post-translational modifications of galectin-3. *Cancer and Metastasis Reviews*. 2017;**36**(2):367-74.
159. Krzeslak A, Lippinska A. Galectin-3 as a multifunctional protein. *Cell Mol Biol Lett*. 2004;**9**(2):305-28.
160. Newlaczyl AU, Yu L-G. Galectin-3 – A jack-of-all-trades in cancer. *Cancer Lett*. 2011;**313**(2):123-8.
161. Tseng PC, Chen CL, Shan YS, Lin CF. An increase in galectin-3 causes cellular unresponsiveness to IFN-gamma-induced signal transduction and growth inhibition in gastric cancer cells. *Oncotarget*. 2016;**7**(12):15150-60.
162. Gordon-Alonso M, Hirsch T, Wildmann C, van der Bruggen P. Galectin-3 captures interferon-gamma in the tumor matrix reducing chemokine gradient production and T-cell tumor infiltration. *Nat Commun*. 2017;**8**(1):793.
163. Saussez S, Glinier D, Chantrain G, Pattou F, Carnaille B, Andre S, et al. Serum galectin-1 and galectin-3 levels in benign and malignant nodular thyroid disease. *Thyroid*. 2008;**18**(7):705-12.
164. Barrow H, Guo X, Wandall HH, Pedersen JW, Fu B, Zhao Q, et al. Serum galectin-2, -4, and -8 are greatly increased in colon and breast cancer patients and promote cancer cell adhesion to blood vascular endothelium. *Clin Cancer Res*. 2011;**17**(22):7035-46.

165. Isic T, Savin S, Cvejic D, Marecko I, Tatic S, Havelka M, et al. Serum Cyfra 21.1 and galectin-3 protein levels in relation to immunohistochemical cytokeratin 19 and galectin-3 expression in patients with thyroid tumors. *J Cancer Res Clin.* 2010;**136(12)**:1805-12.
166. Zhao QC, Guo XL, Nash GB, Stone PC, Hilkens J, Rhodes JM, et al. Circulating Galectin-3 Promotes Metastasis by Modifying MUC1 Localization on Cancer Cell Surface. *Cancer Res.* 2009;**69(17)**:6799-806.
167. Piyush T, Chacko AR, Sindrewicz P, Hilkens J, Rhodes JM, Yu LG. Interaction of galectin-3 with MUC1 on cell surface promotes EGFR dimerization and activation in human epithelial cancer cells. *Cell Death and Differentiation.* 2017;**24(11)**:1937-47.
168. Camby I, Belot N, Rorive S, Lefranc F, Maurage CA, Lahm H, et al. Galectins are differentially expressed in supratentorial pilocytic astrocytomas, astrocytomas, anaplastic astrocytomas and glioblastomas, and significantly modulate tumor astrocyte migration. *Brain Pathol.* 2001;**11(1)**:12-26.
169. Endo K, Kohnoe S, Tsujita E, Watanabe A, Nakashima H, Baba H, et al. Galectin-3 expression is a potent prognostic marker in colorectal cancer. *Anticancer Res.* 2005;**25(4)**:3117-21.
170. Okada K, Shimura T, Suehiro T, Mochiki E, Kuwano H. Reduced Galectin-3 expression is an indicator of unfavorable prognosis in gastric cancer. *Anticancer Res.* 2006;**26(2b)**:1369-76.
171. Strik HM, Deininger MH, Frank B, Schluesener HJ, Meyermann R. Galectin-3: Cellular distribution and correlation with WHO-grade in human gliomas. *J Neuro-Oncol.* 2001;**53(1)**:13-20.
172. Vereecken P, Awada A, Suciú S, Castro G, Morandini R, Litynska A, et al. Evaluation of the prognostic significance of serum galectin-3 in American Joint Committee on Cancer stage III and stage IV melanoma patients. *Melanoma Res.* 2009;**19(5)**:316-20.
173. Iurisci I, Tinari N, Natoli C, Angelucci D, Cianchetti E, Iacobelli S. Concentrations of galectin-3 in the sera of normal controls and cancer patients. *Clin Cancer Res.* 2000;**6(4)**:1389-93.
174. Gaida MM, Bach ST, Günther F, Baseras B, Tschaharganeh DF, Welsch T, et al. Expression of galectin-3 in pancreatic ductal adenocarcinoma. *Pathol Oncol Res.* 2012;**18(2)**:299-307.

175. Cotter F, Smith DA, Boyd TE, Richards DA, Alemany C, Loesch D, et al. Single-agent activity of GCS-100, a first-in-class galectin-3 antagonist, in elderly patients with relapsed chronic lymphocytic leukemia. *J Clin Oncol*. 2009;**27(15)**.
176. Grous JJ, Redfern CH, Mahadevan D, Schindler J. GCS-100, a galectin-3 antagonist, in refractory solid tumors: A phase I study. *J Clin Oncol*. 2006;**24(18_suppl)**:13023-.
177. Seguin L, Camargo MF, Wettersten HI, Kato S, Desgrosellier JS, von Schalscha T, et al. Galectin-3, a Druggable Vulnerability for KRAS-Addicted Cancers. *Cancer Discov*. 2017;**7(12)**:1464-79.
178. Mathieu A, Saal I, Vuckovic A, Ransy V, Vereerstraten P, Kaltner H, et al. Nuclear galectin-3 expression is an independent predictive factor of recurrence for adenocarcinoma and squamous cell carcinoma of the lung. *Modern Pathol*. 2005;**18(9)**:1264-71.
179. Buttery R, Monaghan H, Salter DM, Sethi T. Galectin-3: differential expression between small-cell and non-small-cell lung cancer. *Histopathology*. 2004;**44(4)**:339-44.
180. O'Driscoll L, Linehan R, Liang YH, Joyce H, Oglesby I, Clynes M. Galectin-3 expression alters adhesion, motility and invasion in a lung cell line (DLKP), in vitro. *Anticancer Res*. 2002;**22(6A)**:3117-25.
181. Chung LY, Tang SJ, Wu YC, Sun GH, Liu HY, Sun KH. Galectin-3 augments tumor initiating property and tumorigenicity of lung cancer through interaction with beta-catenin. *Oncotarget*. 2015;**6(7)**:4936-52.
182. Kuo HY, Hsu HT, Chen YC, Chang YW, Liu FT, Wu CW. Galectin-3 modulates the EGFR signalling-mediated regulation of Sox2 expression via c-Myc in lung cancer. *Glycobiology*. 2016;**26(2)**:155-65.
183. Wang T, Chu Z, Lin H, Jiang J, Zhou X, Liang X. Galectin-3 contributes to cisplatin-induced myeloid derived suppressor cells (MDSCs) recruitment in Lewis lung cancer-bearing mice. *Mol Biol Reports*. 2014;**41(6)**:4069-76.
184. Chung LY, Tang SJ, Sun GH, Chou TY, Yeh TS, Yu SL, et al. Galectin-1 promotes lung cancer progression and chemoresistance by upregulating p38 MAPK, ERK, and cyclooxygenase-2. *Clin Cancer Res*. 2012;**18(15)**:4037-47.
185. Abdel-Aziz HO, Murai Y, Takasaki I, Tabuchi Y, Zheng HC, Nomoto K, et al. Targeted disruption of the galectin-3 gene results in decreased susceptibility to NNK-

induced lung tumorigenesis: an oligonucleotide microarray study. *J Cancer Res Clin Oncol*. 2008;**134**(7):777-88.

186. Puglisi F, Minisini AM, Barbone F, Intersimone D, Aprile G, Puppini C, et al. Galectin-3 expression in non-small cell lung carcinoma. *Cancer Lett*. 2004;**212**(2):233-9.

187. Chen HJ, Zheng ZC, Yuan BQ, Liu Z, Jing J, Wang SS. The effect of galectin-3 genetic variants on the susceptibility and prognosis of gliomas in a Chinese population. *Neuroscience Lett*. 2012;**518**(1):1-4.

188. Shi Y, Lin X, Chen G, Yan J, Ying M, Zheng X. Galectin-3 rs4652 A>C polymorphism is associated with the risk of gastric carcinoma and P-glycoprotein expression level. *Oncol Lett*. 2017;**14**(6):8144-9.

189. Akahani S, Nangia-Makker P, Inohara H, Kim HR, Raz A. Galectin-3: a novel antiapoptotic molecule with a functional BH1 (NWGR) domain of Bcl-2 family. *Cancer Res*. 1997;**57**(23):5272-6.

190. Fang SQ, Feng YM, Li M. Correlations of Galectin-3 Gene Polymorphisms with Risk and Prognosis of Cervical Cancer in Chinese Populations: A Case-Control Study. *Oncol Res Treatment*. 2017;**40**(9):533-9.

191. Miller SA, Dykes DD, Polesky HF. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Res*. 1988;**16**(3):1215.

192. Siegel R, Naishadham D, Jemal A. Cancer statistics, 2013. *CA: a cancer journal for clinicians*. 2013;**63**(1):11-30.

193. Brennan P, Hainaut P, Boffetta P. Genetics of lung-cancer susceptibility. *The Lancet Oncology*. 2011;**12**(4):399-408.

194. Marshall AL, Christiani DC. Genetic susceptibility to lung cancer--light at the end of the tunnel? *Carcinogenesis*. 2013;**34**(3):487-502.

195. Collins FS, Brooks LD, Chakravarti A. A DNA polymorphism discovery resource for research on human genetic variation. *Genome research*. 1998;**8**(12):1229-31.

196. Burton PR, Clayton DG, Cardon LR, Craddock N, Deloukas P, Duncanson A, et al. Association scan of 14,500 nonsynonymous SNPs in four diseases identifies autoimmunity variants. *Nature genetics*. 2007;**39**(11):1329-37.

197. Buroker NE. Regulatory SNPs and transcriptional factor binding sites in ADRBK1, AKT3, ATF3, DIO2, TBXA2R and VEGFA. *Transcription*. 2014;**5(4)**:e964559.
198. Rosell R, Wei J. Single nucleotide polymorphisms (SNPs) in non-small cell lung cancer (NSCLC) patients. *The oncologist*. 2012;**17(12)**:1484-5.
199. Kaur T, Sodhi A, Singh J, Arora S, Kamboj SS, Kaur M. Evaluation of Galectin-3 Genetic Variants and its Serum Levels in Rheumatoid Arthritis in North India. *Int J Hum Genet*. 2015;**15(3)**:131-8.
200. Saccon F, Gatto M, Ghirardello A, Iaccarino L, Punzi L, Doria A. Role of galectin-3 in autoimmune and non-autoimmune nephropathies. *Autoimmunity reviews*. 2017;**16(1)**:34-47.
201. Kaçan T, Akgün-Babacan N., Yücel B., Kılıçkap S, Atasever-Akkaş E., Şeker M.M., Eren M.F., Ay-Eren A.. Evre IV küçük hücreli dışı akciğer kanserli hastaların sağkalımını etkileyen faktörler. *Cumhuriyet Tıp Derg* 2013; **35**: 332-338.
202. Sung SY, Kwak YK, Lee SW, Jo IY, Park JK, Kim KS, et al. Lymphovascular Invasion Increases the Risk of Nodal and Distant Recurrence in Node-Negative Stage I-IIA Non-Small-Cell Lung Cancer. *Oncology*. 2018;**95(3)**:156-62.
203. Mendonca Belmont TF, do OK, Soares da Silva A, de Melo Vilar K, Silva Medeiros F, Silva Vasconcelos LR, et al. Single Nucleotide Polymorphisms at +191 and +292 of Galectin-3 Gene (LGALS3) Related to Lower GAL-3 Serum Levels Are Associated with Frequent Respiratory Tract Infection and Vaso-Occlusive Crisis in Children with Sickle Cell Anemia. *PloS one*. 2016;**11(9)**:e0162297.
204. Demetriou M, Granovsky M, Quaggin S, Dennis JW. Negative regulation of T-cell activation and autoimmunity by Mgat5 N-glycosylation. *Nature*. 2001;**409(6821)**:733-9.
205. Chen HY, Fermin A, Vardhana S, Weng IC, Lo KF, Chang EY, et al. Galectin-3 negatively regulates TCR-mediated CD4+ T-cell activation at the immunological synapse. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2009;**106(34)**:14496-501.
206. Hughes RC. Secretion of the galectin family of mammalian carbohydrate-binding proteins. *Biochimica et biophysica acta*. 1999;**1473(1)**:172-85.

207. Markowska AI, Liu FT, Panjwani N. Galectin-3 is an important mediator of VEGF- and bFGF-mediated angiogenic response. *The Journal of experimental medicine*. 2010;**207(9)**:1981-93.
208. Miyazono K, Ehata S, Koinuma D. Tumor-promoting functions of transforming growth factor-beta in progression of cancer. *Upsala journal of medical sciences*. 2012;**117(2)**:143-52.
209. Webber JP, Spary LK, Sanders AJ, Chowdhury R, Jiang WG, Steadman R, et al. Differentiation of tumour-promoting stromal myofibroblasts by cancer exosomes. *Oncogene*. 2015;**34(3)**:290-302.
210. Wu X, Zhao H, Suk R, Christiani DC. Genetic susceptibility to tobacco-related cancer. *Oncogene*. 2004;**23(38)**:6500-23.
211. Subramanian J, Govindan R. Lung cancer in never smokers: a review. *J Clin Oncol*. 2007;**25(5)**:561-70.

FORMLAR

ARAŞTIRMA AMAÇLI ÇALIŞMA İÇİN BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU

(Hekimin Açıklaması)

Galektin3 geninin küçük hücreli dışı akciğer kanser türünde varyasyonlarının ve ekspresyonlarının hastalık tanısında ve gelişimindeki ilişkisini araştırmaktayız. Araştırmanın ismi “ Galektin-3 Gen Varyantlarının ve Ekspresyonlarının Küçük Hücreli Dışı Akciğer Kanserinde İncelenmesi”dir.

Herhangi bir rahatsızlık veya risk oluşturmayacak şekilde sizden alınacak kan ve doku örneklerinden DNA ve RNA izole ederek, Galektin3 geninin polimorfizmi, ifadesi ve etki mekanizmalarını karşılaştırmayı hedeflemekteyiz

Bu araştırma ile Galektin3 geninin küçük hücreli dışı akciğer kanseri teşhisinde bir biyobelirteç olarak kullanılmasını ve verilecek tedavi yönteminde etkinlik belirlenmesine katkı sağlaması hedeflenmektedir. Literatürde bilinen bu konuda şimdiye kadar bir çalışma bulunmamaktadır. Bu çalışma bu yüzden çok önemlidir ve sizin katkılarınızı da rica ediyoruz.

Araştırma örnekler alındıktan sonra tamamen laboratuvar ortamında yapılacağı için herhangi bir hayvan ya da insan üzerinde de denenmeyeceğinden hiçbir riski yoktur. Araştırmanın hiçbir yan etkisi ve tehlikesi bulunmamaktadır.

Araştırmaya katılacak tahmini gönüllü sayısı 150’dir. Gönüllü olarak sizin araştırma üzerinde herhangi bir sorumluluğunuz bulunmamaktadır. Araştırma boyunca sizden bir maddi katkı talebi olmayacaktır. Sizin için herhangi bir rahatsızlık veya risk oluşturmayacak bu çalışma, kısa dönemde size bir fayda da sağlamayacaktır. Ancak uzun dönemde bu çalışma sonucunda Galektin-3 gen taraması ile akciğer kanserli hastalara bireysel tanı, terapi öngörülebilecek, böylece daha kısa sürede etkin bir tedavi uygulanacaktır.

Araştırmada yer almak tamamen sizin isteğinize bağlı olup araştırmada yer almayı reddedebilirsiniz. Her türlü kimlik ve tıbbi bilgileriniz ilgili yetkililer dışında gizli tutulacaktır. Araştırma sırasında araştırma ile doğrudan ya da dolaylı olarak ilişkisi olan herhangi bir sağlık sorununuz olduğunda bu sorununuz tarafımızdan çözülecektir.

Araştırma hakkında ek bilgiye 0 212 414 30 00 numaralı telefondan ulaşabilirsiniz.

* Her bir madde ayrıntılı olarak sunulacaktır.

Hasta Olur Formundaki tüm açıklamaları okudum, dinledim, anladım, istediğim soruları sordum ve cevapları aldım. Bu klinik araştırmaya gönüllü olarak katılmayı kabul ediyorum.

“Galektin-3 Gen Varyantlarının ve Ekspresyonlarının Küçük Hücreli Dışı Akciğer Kanserinde İncelenmesi” başlıklı araştırma kapsamında alınan kan ve doku örneklerinin;

- ☐ Sadece yukarıda bahsi geçen araştırmada kullanılmasına izin veriyorum.
- ☐ İleride yapılması planlanan tüm araştırmalarda kullanılmasına izin veriyorum.
- ☐ Hiç bir koşulda kullanılmasına izin vermiyorum.

KATILIMCI

Adı, soyadı:

Adres:

Tel:

İmza:

KATILIMCI İLE GÖRÜŞEN HEKİM

Adı soyadı, unvanı:

Adres:

Tel :

İmza:

GÖRÜŞME TANIĞI

Adı, soyadı:

Adres:

Tel:

İmza:

ETİK KURUL KARARI

BEZMİALEM VAKIF ÜNİVERSİTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU (2011-KAEK-42) KARAR FORMU

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Galektin-3 Gen Varyantlarının ve Ekspresyonlarının Küçük Hücreli Dışı Akciğer Kanseri İncelenmesi
VARSA ARAŞTIRMANIN PROTOKOL KODU	

01.03.2017

ETİK KURUL BİLGİLERİ	ETİK KURULUN ADI	Bezmialem Vakıf Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu
	AÇIK ADRESİ:	Adnan Menderes Bulvarı Vatan caddesi 34093 Fatih/İstanbul
	TELEFON	(0212) 523 22 88 - 1028
	FAKS	(0212) 533 23 26
	E-POSTA	etikkurulu@bezmialem.edu.tr

BAŞVURU BİLGİLERİ	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACI UNVANI/ADI/SOYADI	Prof. Dr. İlhan YAYLIM			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ UZMANLIK ALANI	Moleküler Tıp			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ BULUNDUĞU MERKEZ	İstanbul Üniversitesi			
	VARSA İDARİ SORUMLU UNVANI/ADI/SOYADI	-			
	DESTEKLEYİCİ	İstanbul Üniversitesi BAP Birimi'ne başvuru yapılacaktır.			
	DESTEKLEYİCİNİN YASAL TEMSİLCİSİ	-			
	ARAŞTIRMANIN FAZİ VE TÜRÜ	FAZ 1	☐		
		FAZ 2	☐		
		FAZ 3	☐		
		FAZ 4	☐		
		Gözlemsel ilaç çalışması	☐		
		Tıbbi cihaz klinik araştırması	☐		
İn vitro tıbbi tanı cihazları ile yapılan performans değerlendirme çalışmaları		☐			
İlaç dışı klinik araştırma (akademik amaçlı)		☒			
Diğer ise belirtiniz					
ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	TEK MERKEZ ☐	ÇOK MERKEZLİ ☒	ULUSAL ☐	ULUSLARARASI ☐	

DEĞERLENDİRİLEN BELGELER	Belge Adı	Tarihi	Versiyon Numarası	Dili		
	ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ	23.02.2017	-	Türkçe ☒	İngilizce ☐	Diğer ☐
	BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU (Hasta ve kontrol grubuna yönelik)	-	-	Türkçe ☒	İngilizce ☐	Diğer ☐
	OLGU RAPOR FORMU			Türkçe ☐	İngilizce ☐	Diğer ☐
	ARAŞTIRMA BROŞÜRÜ			Türkçe ☐	İngilizce ☐	Diğer ☐

Sayfa 1 / 3

Etik Kurul Başkanı
Doç. Dr. Özcan KARAMAN

BEZMİALEM VAKIF ÜNİVERSİTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU (2011-KAEK-42) KARAR FORMU

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Galektin-3 Gen Varyantlarının ve Ekspresyonlarının Küçük Hücreli Dışı Akciğer Kanseri İncelenmesi
VARSA ARAŞTIRMANIN PROTOKOL KODU	

DEĞERLENDİRİLEN DİĞER BELGELER	Belge Adı		Açıklama
	SİGORTA	☐	
	ARAŞTIRMA BÜTÇESİ	☒	28.09.2015, V.2, 23.02.2017 imza tarihli
	BİYOLOJİK MATERYEL TRANSFER FORMU	☐	
	İLAN	☐	
	YILLIK BİLDİRİM	☐	
	SONUÇ RAPORU	☐	
	GÜVENLİLİK BİLDİRİMLERİ	☐	
	DİĞER:	☒	- Klinik Araştırma Başvuru Formu (doküman no: KA-2, 01.08.2016) - Sorumlu araştırmacı ve yardımcı araştırmacılara ait özgeçmiş formları - Çalışmanın Helsinki Bildirgesi, İKU/İLU' ya uygun yürütüleceğine dair taahhütname - Araştırma ile ilgili yayınlar
KARAR BİLGİLERİ	Karar No: 5 / 13	Tarih: 01.03.2017	
	Yukarıda bilgileri verilen başvuru dosyası ile ilgili belgeler araştırmanın/çalışmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş ve uygun bulunmuş olup araştırmanın/çalışmanın başvuru dosyasında belirtilen merkezlerde gerçekleştirilmesinde etik ve bilimsel sakınca bulunmadığına toplantıya katılan etik kurul üye tam sayısının salt çoğunluğu ile karar verilmiştir.		
İlaç ve Biyolojik Ürünlerin Klinik Araştırmaları Hakkında Yönetmelik kapsamında yer alan araştırmalar/çalışmalar için Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu'ndan izin alınması gerekmektedir.			

BEZMİALEM VAKIF ÜNİVERSİTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU (2011-KAEK-42) KARAR FORMU

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Galektin-3 Gen Varyantlarının ve Ekspresyonlarının Küçük Hücreli Dışı Akciğer Kanseri İncelenmesi
VARSA ARAŞTIRMANIN PROTOKOL KODU	

BEZMİALEM VAKIF ÜNİVERSİTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU	
ETİK KURULUN ÇALIŞMA ESASI	İlaç ve Biyolojik Ürünlerin Klinik Araştırmaları Hakkında Yönetmelik, İyi Klinik Uygulamaları Kılavuzu
BAŞKANIN UNVANI / ADI / SOYADI:	Doç. Dr. Özcan KARAMAN

Unvanı/Adı/Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Cinsiyet		Araştırma ile ilişki		Katılım *		İmza
Doç. Dr. Özcan KARAMAN	İç Hastalıkları	Bezmialem Vakıf Üniversitesi Tıp Fakültesi	☒	☐	☐	☒	☒	☐	
Doç. Dr. Selhattin TUĞRUL	Kulak Burun ve Boğaz Hastalıkları	Bezmialem Vakıf Üniversitesi Tıp Fakültesi	☒	☐	☐	☒	☐	☒	
Yrd. Doç. Dr. Harun BAŞOĞLU	Biyofizik	Bezmialem Vakıf Üniversitesi Tıp Fakültesi	☒	☐	☐	☒	☒	☐	
Yrd. Doç. Dr. Ayşe Arzu ŞAKUL	Tıbbi Farmakoloji	Medipol Üniversitesi	☐	☒	☐	☒	☒	☐	
Prof. Dr. Akin İŞCAN	Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları	Bezmialem Vakıf Üniversitesi Tıp Fakültesi	☒	☐	☐	☒	☒	☐	
Yrd. Doç. Dr. Mehmet ÜYÜKLÜ	Fizyoloji	Bezmialem Vakıf Üniversitesi	☒	☐	☐	☒	☒	☐	
Yrd. Doç. Dr. Meltem BAKKAL	Pedodonti	Bezmialem Vakıf Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi	☐	☒	☐	☒	☒	☐	
Yrd. Doç. Dr. Alper YENİGÜN	Kulak Burun ve Boğaz Hastalıkları	Bezmialem Vakıf Üniversitesi Tıp Fakültesi	☒	☐	☐	☒	☒	☐	
Doç. Dr. Ertuğrul KAYA	Tıbbi Farmakoloji	Düzce Üniversitesi	☒	☐	☐	☒	☒	☐	
Yrd. Doç. Dr. Ömer UYSAL	Bioistatistik ve Tıp Bilişimi	Bezmialem Vakıf Üniversitesi Tıp Fakültesi	☒	☐	☐	☒	☒	☐	
Sultan ŞİMŞEK	Çalışan	Kurum Dışı	☐	☒	☐	☒	☐	☒	
Avukat Aybülke EKİCİ	Hukuk	Bezmialem Vakıf Üniversitesi	☐	☒	☐	☒	☐	☒	

* :Toplantıda Bulunma

Karar:

☒ Onaylandı☐ Reddedildi

Sayfa 3 / 3

Etik Kurul Başkanı

İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI

GALEKTİN-3 GEN VARYANTLARININ VE EKSPRESYONLARININ KÜÇÜK HÜCRELİ DIŞI AKCİĞER KANSERİNDE İNCELENMESİ

ORJİNALLİK RAPORU

%**9**

BENZERLİK ENDEKSİ

%**7**

İNTERNET
KAYNAKLARI

%**2**

YAYINLAR

%**3**

ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

BİRİNCİL KAYNAKLAR

1	Submitted to Istanbul University Öğrenci Ödevi	% 2
2	168.144.121.167 İnternet Kaynağı	% 1
3	www.nukleertipseminerleri.org İnternet Kaynağı	% 1
4	nukleertipseminerleri.org İnternet Kaynağı	% 1
5	toraks.org.tr İnternet Kaynağı	% 1
6	www.scribd.com İnternet Kaynağı	<% 1
7	www.jcam.com.tr İnternet Kaynağı	<% 1
8	library.cu.edu.tr İnternet Kaynağı	<% 1

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı	Şule	Soyadı	Terzioğlu Uşak
Doğ.Yeri	Karabük	Doğ.Tar.	24.11.1988
Uyruğu	T.C.	TC Kim No	13143082192
Email	sule.terzioglu@gmail.com	Tel	00905059378211

Eğitim Düzeyi

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mez. Yılı
Doktora		
Yük.Lis.	Fatih Üniversitesi	2013
Lisans	Boğaziçi Üniversitesi	2011
Lise	Karabük 75. Yıl Anadolu Lisesi	2006

İş Deneyimi (Sondan geçmişe doğru sıralayın)

	Görevi	Kurum	Süre (Yıl - Yıl)
1.	Araştırma Görevlisi	Bezmialem Vakıf Üniversitesi	2014 -
2.	Araştırmacı (öğrenci)	ZMNH, Hamburg-Almanya	2010 Haziran- 2010 Eylül

Yabancı Dilleri	Okuduğunu Anlama*	Konuşma*	Yazma*	KPDS/ÜDS Puanı	(Diğer) Puanı
İngilizce	Çok iyi	İyi	İyi		93(YDS)
Almanca	Orta	Zayıf	Orta		
Arapça	Zayıf	Zayıf	Zayıf		

*Çok iyi, iyi, orta, zayıf olarak değerlendirin

	Sayısal	Eşit Ağırlık	Sözel
LES Puanı			
(Diğer) ALES (2013) Puanı	75,66334	58,48335	72,16411

Bilgisayar Bilgisi

Program	Kullanma becerisi
Microsoft Office	Çok iyi
SPSS	İyi
GraphPad Prism	İyi
Image J Programı	İyi

Yayınları/Tebligleri Sertifikaları/Ödülleri

SCI, SSCI, AHCI İndekslerine Giren Dergilerde Yayınlanan Makaleler

1. Dalli T., Beker M., Terzioğlu Ş., Akbaş F., Elibol B., "Thymoquinone activates MAPK pathway in hippocampus of streptozotocin-treated rat model.", BIOMEDICINE & PHARMACOTHERAPY, vol.99, pp.391-401, 2018
2. Terzioğlu Uşak Ş., Negiş Y., Karabulut D.S., Zaim M. , Işık S., "Cellular Model of Alzheimer's Disease: A beta(1-42) Peptide Induces Amyloid Deposition and a Decrease in Topo Isomerase II beta and Nurr1 Expression", CURRENT ALZHEIMER RESEARCH, vol.14, pp.636-644, 2017
3. Vehapoğlu Türkmen A., Turkmen S., Terzioğlu Ş., "Alpha-Melanocyte-Stimulating Hormone and Agouti-Related Protein: Do They Play a Role in Appetite Regulation in Childhood Obesity?", JOURNAL OF CLINICAL RESEARCH IN PEDIATRIC ENDOCRINOLOGY, vol.8, pp.40-47, 2016
4. Vehapoğlu Türkmen A., Ustabas F., Ozgen T.I., Terzioğlu Ş., Cermik B.B., Ozen O.F., "Role of circulating adipocytokines vaspin, apelin, and visfatin in the loss of appetite in underweight children: a pilot trial", JOURNAL OF PEDIATRIC ENDOCRINOLOGY & METABOLISM, vol.28, pp.1065-1071, 2015
5. Ustabas Kahraman F., Vehapoğlu Türkmen A., Özgen İ.T., Terzioğlu Ş., Cesur Y., Dündaröz R., "Correlation of Brain Neuropeptide (Nesfatin-1 and Orexin-A) Concentrations with Anthropometric and Biochemical Parameters in Malnourished Children", JOURNAL OF CLINICAL RESEARCH IN PEDIATRIC ENDOCRINOLOGY, vol.7, pp.197-202, 2015

Hakemli Kongre/Sempozyumların Bildiri Kitapların Yer Alan Yayınlar

1. Elibol B., Dursun İ., Setel D.D., Terzioglu-Usak S., Beker M., Dallı T., "Functional and Molecular Effects of Astragalus membranaceus Treatment Combined with Calorie Restriction on Rat Hippocampus", 11th FENS Forum of European Neuroscience, Berlin, ALMANYA, 7-11 Temmuz 2018, vol.F111, pp.F111-F111
2. Elibol B., Terzioglu-Usak S., "Farklı Türde Uygulanmış Stresin Sıçanların HPA Eksenini ve Paratiroid Hormon Düzeyleri Üzerindeki Etkileri", 3. Uluslararası Mesleki ve Teknik Bilimler Kongresi, GAZİANTEP, TÜRKİYE, 21-22 Haziran 2018, pp.990-990
3. Terzioglu-Usak S., Nallı A., Elibol B., Özek E., Hatiboğlu M.A., "Anvirzel™ Induces Autophagy-Like Cell Death of Human Brain Tumor cells", 11th FENS Forum of European Neuroscience, Berlin, ALMANYA, 7-11 Temmuz 2018, vol.C125, pp.C125-C125
4. Terzioglu Usak S., Bosland M.C., Özten Kandaş N., "Differential response to genistein on prostate cancer cells expressing different MnSOD variants", Proceedings of the American Association for Cancer Research Annual Meeting 201, Washington, A.B.D., 1-5 Nisan 2017, vol.77, no.13, pp.168-168
5. Elibol B., Dallı T., Beker M., Terzioglu-Usak S., Kılıç Ü., Akbaş F., "Timokinon'un STZ ile oluşturulan hipokampal hasara karşı etkisi", 15. Ulusal Tıbbi Biyoloji ve Genetik Kongresi, MUĞLA, TÜRKİYE, 26-29 Ekim 2017, cilt.PS226, ss.357-357
6. Dallı T., Beker M., Terzioglu-Usak S., Akbaş F., Kılıç Ü., Elibol B., "Could thymoquinone be used as a rescuer in the amyloid beta-induced neurotoxicity", 15. Ulusal Sinirbilimleri Kongresi, SAKARYA, TÜRKİYE, 7-10 Mayıs 2017, cilt.11, no.suppl 1, ss.79-79
7. Terzioglu-Usak S., Özten Kandaş N., "Low Dose Genistein Unlikely Induces Proliferation of PC3 Cells", VI. International Congress of Molecular Medicine, İSTANBUL, TÜRKİYE, 22-25 Mayıs 2017, cilt.2, no. 1s1, ss.83-83
8. Elibol B., Aydoğan T., Beker M., Terzioglu-Usak S., Kilic U., "Therapeutic effect of thymoquinone on amyloid beta-induced neurotoxicity in rats", 13th Multinational Congress on Microscopy, Rovinj, HIRVATISTAN, 24-29 Eylül 2017, pp.347-348

9. Terzioğlu-Usak S., Negiş Y., Işık S., "Association Of Alzheimer Disease With DNA Topoisomerase II β In Primary Neuronal Cells", FEBS EMBO 2014 Conference, Paris, FRANSA, 30 Ağustos - 4 Eylül 2014, vol.281, no.s1, pp.339-339.

Diğer Yayınlar

1. Terzioğlu-Usak S., Elibol B., Dalı T., Guler C. , Aysan E., "Effect of Restraint Stress on Plasma PTH Concentration and Its Molecular Targets Expressions in Wistar Rats", Diger, pp.1-9, 2018
2. Terzioğlu Uşak Ş., Genç D., Yenilmaz E.N., Zibandeh N. , Fındık H., Akkoç T. , et al., "Mezenkimal Kök Hücrelerin Meme Kanseri Tedavisinde Güncel Katkıları", Diger, ss.109-117, 2017

Başarı Ödülleri

1. 2211 Yurt içi Doğrudan Yüksek Lisans Bursu (TÜBİTAK) (Ekim 2013 - Ağustos 2017)
2. 2210 Yurt içi Doğrudan Yüksek Lisans Bursu (TÜBİTAK) (Ekim 2011 - Ağustos 2013)
3. 2205 Yurt içi Lisans Bursu (TÜBİTAK) (Ekim-2006- Ağustos 2011)

Özel İlgi Alanları (Hobileri):

1. Seyahat etmek

