



**İMMÜNÖTERAPİDE KOMPLEMAN SİSTEMİNİN
ROLÜNÜN ARAŞTIRILMASI**

Dicle KAYA

**İLAÇ ENDÜSTRİSİNDE ARGE ÜRETİM
ANABİLİM DALI**

**Tez Danışmanı
Prof. Dr. Emine ŞALVA**

Yüksek Lisans Tezi – 2025

TC.
İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

İMMÜNOTERAPİDE KOMPLEMAN SİSTEMİNİN ROLÜNÜN
ARAŞTIRILMASI

Dicle KAYA

İlaç Endüstrisinde Arge Üretim Anabilim Dalı

Yüksek Lisans Tezi

Tez Danışmanı
Prof. Dr. Emine ŞALVA

Jüri Üyeleri
Prof. Dr. Emine ŞALVA
Dr. Öğr. Üyesi Naile ÖZTÜRK
Dr. Öğr. Üyesi Ceyda EKONTOK

Bu Araştırma İnönü Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi Tarafından
2024-3721 Proje numarası ile desteklenmiştir.

MALATYA
2025

T.C.
İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğüne

ETİK BEYANI

İnönü Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak Prof. Dr. Emine ŞALVA danışmanlığında hazırlayıp sunduğum “İmmünoterapide Kompleman Sisteminin Rolünün Araştırılması” başlıklı Yüksek Lisans tezim içinde elde ettiğim verileri, bilgileri, belgeleri akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu, tezimde yararlandığım eserlere bilimsel kurallara uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi, tezimin özgün olduğunu, tezimin çalışma ve yazımında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim. 28/04/2025

Dicle KAYA

İÇİNDEKİLER

ÖZET	viii
ABSTRACT	ix
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	x
ŞEKİLLER DİZİNİ	xii
TABLolar DİZİNİ	xiii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Akciğer Kanseri Mutasyon Çeşitleri	4
2.1.1. Epidermal Büyüme Faktörü Reseptörü	4
2.1.2. Anaplastik Lösemik Kinaz Füzyon Mutasyonu	4
2.1.3. ROS1 Füzyon Mutasyonu	4
2.1.4. ERBB2 Mutasyonu	5
2.1.5. KRAS Mutasyonu	5
2.1.6. RAF Mutasyonu	5
2.2. Akciğer Kanseri Mutasyonlarını Saptamak İçin Kullanılan Yöntemler	6
2.3. Monoklonal Antikorlar	6
2.4. IgG Alt Sınıfları	7
2.4.1. IgG1	7
2.4.2. IgG2	7
2.4.3. IgG3	8
2.4.4. IgG4	8
2.5. Antikor Bağımlı Hücre Aracılı Sitotoksisite (ADCC)	8
2.6. Kompleman Bağımlı Sitotoksisite (CDC)	8
2.7. İmmün Kontrol Nokta İnhibitörleri	9
2.8. PD-1/PD-L1	10
2.8.1. PD-1/PD-L1'in Fonksiyonel Hücrelerdeki Rolü	11
2.8.2. CTLA-4 İnhibitörü	11
2.9. İmmünoterapi ve Akciğer Kanseri	12
2.9.1. Nivolumab	12
2.9.2. Pembrolizumab	13
2.9.3. Kompleman Sistem ve Aktivasyonu	13

2.9.4. Komplemanın Etkileşimi.....	15
3. MATERYAL VE METOT.....	16
3.1. KHDAK Hasta Gruplarının Oluşturulması	16
3.2. Kompleman Proteinlerinin ELISA Yöntemi ile İncelenmesi.....	24
3.3. İmmünohistokimyasal Analiz.....	24
3.4. İmmünohistokimyasal Değerlendirme	24
3.5. İstatistiksel Değerlendirme	25
4. BULGULAR	26
4.1. Biyokimyasal Analizler	26
4.2. Histopatolojik Bulgular	30
5. TARTIŞMA.....	34
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	39
KAYNAKLAR.....	40
EKLER	49
EK-1. Özgeçmiş	49
EK-2. Etik Kurul Kararı	50

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimi sürecim boyunca sabırla ve sonsuz desteği ile yol gösterici olan danışmanım ve kıymetli hocam Sayın Prof. Dr. Emine ŞALVA'ya, her zaman beni destekleyen ve yardımlarını esirgemeyen Dr. Öğretim Üyesi Gözde ULTAV'a, 2024-3721 nolu yüksek lisans tez araştırma projeme maddi destek sağlayan İnönü Üniveristesi Bilimsel Araştırmalar Koordinasyon Birimi'ne, Yüksek Lisans eğitimim boyunca bana katkıları ve destekleri için tüm Eczacılık Fakültesi öğretim üyelerine, Tez çalışmamın immünohistokimya analizlerinde destekte bulunup yardımcı olan İnönü Üniversitesi Turgut Özal Tıp Merkezi Patoloji Anabilim Dalı Doç. Dr. Saadet ALAN'a ve Dr. Öğretim Üyesi Mustafa Hüz'e, Tez çalışmam boyunca İnönü Üniversitesi Turgut Özal Tıp Merkezi İç Hastalıklar Anabilim Dalı Onkoloji Bilim Dalı Prof.Dr. Emin Tamer ELKIRAN'a, İnönü Üniversitesi Turgut Özal Tıp Merkezi İç Hastalıklar Anabilim Dalı Onkoloji Bilim Dalı Dr. Feyza FIRAT ATAY'a, İnönü Üniversitesi Turgut Özal Tıp Merkezi Onkoloji Hastanesi hemşire Saniye ÖZBEY'e, tez çalışmasında bilimsel katkılar sağlayan Dr.Halin BAREKE'ye, tez çalışmam boyunca yardımlarını ve desteklerini esirgemeyen Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı Dr. Merve DURHAN'a teşekkürlerimi sunarım. Her zaman yanımda sabırla ve sevgiyle, zor zamanlarımda en büyük destekçilerim olan sevgili aileme,

Sonsuz sevgi ve saygılarımı sunar,

Teşekkür ederim.

ÖZET

İmmünoterapide Kompleman Sisteminin Rolünün Araştırılması

Amaç: Kanserde immünoterapi, günümüzdeki kanser tedavi yöntemlerine göre daha spesifik ve daha az yan etkiye sahip olması nedeniyle son yıllarda önem kazanmıştır. Kanser hücrelerine karşı immün sistemin güçlendirilmesi kanser immünoterapisinin ana hedefidir. Tümör immünolojisinde kompleman proteinlerinin rolü, kanserde monoklonal antikör tedavisinin uygulanması ile önem kazanmıştır. Programlanmış hücre ölümü-1 hedefleyen immün kontrol nokta inhibitör ilaçları olan Pembrolizumab ve Nivolumab metastatik küçük hücreli dışı akciğer kanserinde ikinci basamak tedavisi olarak kullanılmaktadır.

Materyal ve metod: Çalışmamızda akciğer kanseri hastalarında anti-PD-1 monoklonal antikörleri olan Nivolumab ve Pembrolizumabın kompleman yollarının üzerindeki etkisinin araştırılması amaçlanmıştır. Araştırmaya İnönü Üniversitesi Turgut Özal Tıp Merkezi Onkoloji Hastanesinde tedavi gören ayaktan kemoterapi biriminde takip edilen 48 KHDAK hastası dahil edilmiştir. Hastaların klinik ve demografik verileri kaydedilmiştir. Çalışmamızda 24 kemoterapi sonrası Nivolumab ve Pembrolizumab alan hasta grubu ve sadece kemoterapi alan 24 hasta grubu seçilmiştir. Hastalardan toplanan serumlarda C1q, C3b ve C3a kompleman proteinlerinin seviyerleri ELISA yöntemi ile araştırılmıştır. Patoloji arşivinde bu hastalardan alınan biyopsilerde ise CD59 ekspresyonları incelenmiştir.

Bulgular: Sadece kemoterapi alan hastaların serumunda C5b kompleman protein seviyesinin (105.3 ± 38.4 pg/mL) kemoterapi sonrası monoklonal antikör alan hasta grubuna (96 ± 21.5 pg/mL) göre daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Kemoterapi sonrası anti-PD-1 monoklonal antikör tedavisi alan hastaların serumunda C1q ve C3a kompleman protein seviyesi (33 ± 17 ng/mL ve 552.4 ± 380.3 pg/mL) sadece kemoterapi alan hasta grubuna (26.5 ± 16.8 ng/mL ve 483.9 ± 352.6 pg/mL) göre daha yüksek bulunmuştur. Kemoterapi alan hastalar ve kemoterapi sonrası antikör tedavisi alan KHDAK hasta biyopsilerinde yapılan CD59 immunohistokimya boyaması sonucunda sadece monoklonal antikör tedavisi almayan iki hastada immünekspresyon gözlemlendi, diğer vakalarda ekspresyon tespit edilmedi.

Sonuç: İlerlemiş KHDAK tedavisinde PD-1'i hedefleyen monoklonal antikörlerle kemoterapinin kombinasyonunun kompleman proteinlerine etkisi incelendiğinde gruplar arasında anlamlı fark tespit edilmiştir. Sonuç olarak, KHDAK'da kemoterapi ve neoadjuvan immün kontrol noktası inhibitörlerinin kombinasyonunun kompleman proteinlerinin ekspresyon seviyesinde değişikliğe yol açtığı gösterilmiştir.

Anahtar Kelimeler: PD-1, Monoklonal antikörler, İmmünoterapi, Kompleman sistem, Akciğer kanseri

ABSTRACT

Investigating the Role of the Complement System in Immunotherapy

Aim: Cancer immunotherapy has gained importance in recent years because it is more specific and has fewer side effects than current cancer treatment methods. Strengthening the immune system against cancer cells is the main goal of cancer immunotherapy. The role of complement proteins in tumor immunology has gained importance with the application of monoclonal antibody therapy in cancer. Pembrolizumab and Nivolumab, immune checkpoint inhibitor drugs targeting programmed cell death-1, are used as second-line treatments in metastatic non-small cell lung cancer.

Material and method: The aim of our study was to investigate the effects of anti-PD-1 monoclonal antibodies Nivolumab and Pembrolizumab on complement pathways in lung cancer patients. 48 NSCLC patients who were treated in the outpatient chemotherapy unit of Inonu University Turgut Ozal Medical Center Oncology Hospital were included in the study. Clinical and demographic data of the patients were recorded. In our study, 24 patients who received Nivolumab and Pembrolizumab after chemotherapy and 24 controls who received only chemotherapy were selected. The levels of C1q, C5b and C3a complement proteins were investigated in the sera collected from the patients by ELISA method. CD59 expressions were examined in the biopsies taken from these patients in the pathology archive.

Results: In the control group who received only chemotherapy, serum C5b complement protein level (105.3 ± 38.4 ng/mL) was found to be higher than in the patient group who received monoclonal antibody (96 ± 21.5 ng/mL). In the serum of patients who received anti-PD-1 monoclonal antibody treatment after chemotherapy, serum C1q and C3a complement protein levels (33 ± 17 ng/mL and 552.4 ± 380.3 pg/mL) were found to be higher than in the control group who received only chemotherapy (26.5 ± 16.8 ng/mL and 483.9 ± 352.6 pg/mL).

Conclusion: When the effect of the combination of PD-1 targeting monoclonal antibodies and chemotherapy on complement proteins was examined in the treatment of advanced NSCLCs, a significant difference was found between the groups. In conclusion, it was shown that the combination of chemotherapy and neoadjuvant immune checkpoint inhibitors in NSCLCs caused changes in the expression level of complement proteins.

Keywords: Monoclonal antibodies, Immunotherapy, Complement system, Lung cancer.

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

AC	: Atipik Karsinoid
ADCC	: Antikor Bağımlı Hücrel Sitotoksiste
ADCP	: Antikor Aracılı Hücrel Fagositoz
ALK	: Anaplastik Lenfoma Kinaz
AP	: Alternatif Yol
ARIA	: Amiloidle İlişkili Görüntüleme Anormallikleri
ATS	: Amerikan Toraks Derneği
CD	: Farklılaşma Kümesi
CDC	: Tamamlayıcı Bağımlı Sitotoksiste
CNS	: Merkezi Sinir Sistemi
CP	: Klasik yolak
CRP	: Kompleman Düzenleyici Protein
CTLA-4	: Sitotoksik T-Lenfosit İlişkili Protein-4
EGFR	: Epidermal Büyüme Faktörü
ERS	: Avrupa Solunum Derneği
FDA	: Amerika Birleşik Devletleri Gıda ve İlaç Dairesi
FISH	: Floresan in Situ Hibridizasyon
FNA	: Transbronşiyal İnce İğne Aspirasyonu
GPI	: Glikosilfosfolipid
HER2	: İnsan Epidermal Büyüme Faktörü Reseptörü 2
HGFR	: Hepatosit Büyüme Faktörü
IASLC	: Uluslararası Akciğer Kanseri Çalışmaları Derneği
IC	: Bağışıklık Kompleksi
ICI	: Bağışıklık Kontrol Noktası İnhibitörü
IgG4	: İmmüoglobulin-G4
IHC/IHK	: İmmünohistokimyasal
IL-3	: İnterlökin-3
INF-γ	: İnterferon-Gamma
KHAK	: Küçük Hücre Akciğer Kanseri
KHDAK	: Küçük Hücre Dışı Akciğer Kanseri
KLL	: Kronik Lenfositik Lösemi

KRAS	: Kirsten Sıçan Sarkomu Viral Onkogen Homoloğu
LCNEC	: Büyük Hücreli Nöroendokrin Karsinom
LP	: Lektin Yolağı
MAb	: Monoklonal Antikor
MAC/MAK	: Mebran Atak Kompleksi
MBL	: Mannoz Bağlayıcı Lektin
MET	: Mezenkimal Epitelyal Geçiş Faktörü
MHC	: Büyük Doku Uyuşum Kompleksi
MS	: Multipl Skleroz
NGS	: Yeni Nesil Dizileme
NK	: Doğal Öldürücü
OS	: Genel Sağkalım
PD-1	: Programlanmış Ölüm Proteini-1
PD-L1	: Programlanmış Ölüm Protein Ligandı-1
PFS	: Progresyonsuz Sağ Kalım
RAF	: RAF Proto-Onkogen
RET	: RET Proto-Onkogen
ROS 1	: ROS Proto-Onkogen 1
SCC	: Skuamöz Hücreli Karsinom
TAM	: Tümör İlişkili Makrofaj
TC	: Tipik Karsinoid
TCR	: T-Hücre Reseptörü
TKI	: Tirozin Kinaz İnhibitörü
TNF	: Tümör Nekroz Faktörü
TNF-α	: Tümör Nekroz Faktör Alfa
TREG	: Düzenleyici T- Hücre

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil No	Sayfa No
Şekil 2.1. Akciğer kanser mutasyonları.....	6
Şekil 2.2. İmmün kontrol noktaları.....	10
Şekil 2.3. Kompleman sistemi yolaklarının oluşma şekli	14
Şekil 4.1. C5b standart eğri grafiği.....	26
Şekil 4.2. C3a standart eğri grafiği	27
Şekil 4.3. C1q standart eğri grafiği.....	27
Şekil 4.4. Hasta gruplarında serumda C5b ekspresyon seviyesinin karşılaştırılması.....	28
Şekil 4.5. Hasta gruplarında serumda C3a ekspresyon seviyesinin karşılaştırılması.....	28
Şekil 4.6. Hasta gruplarında serumda C1q ekspresyon seviyesinin karşılaştırılması.....	29
Şekil 4.7. Nonmüsinöz adenokarsinom; myofibroblastik stroma içerisinde irregüler glandüler alanlar, H&EX100.....	30
Şekil 4.8. Mikropapiller paternde adenokarsinom; fibrovasküler kor içermeyen mikropapiller morfolojide tümöral alanlar, H&E x200.	31
Şekil 4.9. Skuamöz hücreli akciğer karsinomu; desmoplastik, inflamatuvar hücrelerden zengin stroma içerisinde, geniş solid adalar tarzında eozinofilik sitoplazmalı, oval- yuvarlak nüklueslu, belirgin nükleollü hücrelerden oluşan tümör H&Ex400.....	31
Şekil 4.10. mAb tedavisi almayan 2 hastada CD 59 zayıf sitoplazmik boyanma, x200.....	32
Şekil.4.11. mAb tedavisi almayan CD59 sitoplazmik boyanma, x200.	33

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo No	Sayfa No
Tablo 2.1. Kanser tedavisinde onaylanan immün kontrol noktası inhibitörlerinin listesi.	12
Tablo 3.1. mAb tedavisi alan hasta grubuna ait demografik özellikler	17
Tablo 3.2. mAb tedavisi almayan hasta grubuna ait demografik özellikler.....	17
Tablo 3.3. mAb tedavisi alan hasta grupları, tedavi ve hücre tipi.....	17
Tablo 3.4. mAb tedavisi almayan sadece kemoretaşı alan hasta grupları, tedavi ve hücre tipi	18
Tablo 3.5. mAb tedavisi alan hasta grubu P40 boyaması	18
Tablo 3.6. mAb tedavisi almayan hasta grubu P40 boyaması	19
Tablo 3.7. mAb tedavisi alan hasta grubu CK7 boyaması	20
Tablo 3.8. mAb tedavisi almayan hasta grubu CK7 boyaması	20
Tablo 3.9. mAb tedavisi alan hasta grubu TTF-1 boyaması	21
Tablo 3.10. mAb tedavisi almayan hasta grubu TTF-1 boyaması	22
Tablo 3.11. mAb tedavisi alan hasta grubu Ki-67 proliferasyon indeksi.....	22
Tablo 3.12. mAb tedavisi almayan hasta grubu Ki-67 proliferasyon indeksi.....	23
Tablo 3.13. İHK boyama skor tablosu	25
Tablo 4.1. C5b, C3a ve C1q biyobelirteçlerinin hasta ve kontrol grupları açısından incelenmesi	29
Tablo 4.2. Korelasyon değerleri ve güven aralıkları.....	30

1. GİRİŞ

Akciğer kanseri hem erkeklerde hem kadınlarda kanserden ölümlerin önde gelen nedenleri arasında yer almaktadır (1). Akciğer kanseri, küçük hücre dışı akciğer kanseri (KHDAK) ve küçük hücreli akciğer kanseri (KHAK) olmak üzere iki grupta incelenmektedir. KHDAK ayrıca adenokarsinom ve skuamöz hücreli karsinom olarak alt gruplara ayrılmıştır (2). Adenokarsinom tüm akciğer kanserlerinin %40'nı oluşturmaktadır. Son on yılda akciğer kanserinin, özellikle akciğer adenokarsinomunun tedavisi için umut vaat eden iki önemli gelişme yer almaktadır (3). Bunlardan ilki, birden fazla onkojenik etkenin tanımlanması ve akciğer adenokarsinomunun bu etkenlere göre alt bölümlere ayrılması ile tedavinin belirlenmesi ve hedefe yönelik tedavinin geliştirilmesidir (4). İkincisi ise yeni immünoterapilerin özellikle de immün kontrol nokta inhibitörlerini hedefleyen antikorların kullanılmasıdır. Bu tedavinin KHDAK'de etkili olduğu gösterilmiştir ve akciğer adenokarsinomu alt gruplarının yanı sıra KHAK için de onaylanmıştır (5).

Monoklonal antikor temelli immünoterapi artık cerrahi, radyasyon ve kemoterapinin yanı sıra kanser tedavisinin önemli bir parçası haline gelmiştir. Monoklonal antikorlar doğrudan tümör hücrelerini hedef alabilirken aynı zamanda uzun süreli anti-tümör bağışıklık tepkilerinin indüklenmesini de destekleyebilir. Tümör hücrelerine özgü veya tümör hücreleri tarafından aşırı ifade edilen antijenlere karşı hedeflenen mAb'ler, çeşitli mekanizmalarla tümör hücresi ölümüne neden olabilir (6). Bazı antikorlar (anti-EGFR, Setuksimab) büyüme faktörü reseptörü sinyallemesini bloke ederek veya ligand bağlanmasını engelleyerek tümörün büyümesi ve proliferasyonunu engeller (7). Bazı antikorlar (anti-HER2, Trastuzumab) reseptör heterodimerizasyonu ve internalizasyonu inhibe ederek sinyal bozulmasına neden olurlar (8). Monoklonal antikorların dolaylı etki mekanizması olarak bağışıklık sisteminin katılımı ile kompleman bağımlı sitotoksikite (CDC), antikor bağımlı hücrel sitotoksikite (ADCC) ve antikor bağımlı hücrel fagositoz (ADCP) sayılabilir. Hedeflenen mAb'lerin (Rituximab) çoğu kompleman sistemi aktive edebilir. Antikor mühendisliği yoluyla CDC'nin optimizasyonu anti-tümör aktivitesini artırabilir. Örneğin, CDC aktivitesi artırılan anti-CD20 mAb Ofatumumab'ın, kronik lenfositik lösemi (KLL) hastalarında yapılan bir klinik çalışmada rituksimabdan daha etkin olduğu tespit edilmiştir (9).

Antikorların yapısında bulunan Fc bölgesi bağışıklık sistem hücreleri ve proteinleri ile etkileşime girer. Antikor Fc bölgeleri, çok çeşitli bağışıklık hücrelerinde bulunan Fc reseptörleri (FcR'ler) tarafından tanınır. IgG'lerin doğal öldürücü (NK) hücrelerin yanı sıra nötrofiller, monositler, dendritik hücreler ve eozinofillerde bulunan ilişkili FcR türü FcγR ile etkileşime girerek ADCC ve CDC gibi özel işlevleri aracılık etmesi nedeniyle antikor tedavisinde en sık kullanılan formdur. IgG sınıfı, Fc bölgesinin bu işlevleri kolaylaştırma yeteneğine göre daha da alt bölümlere ayrılabilir: IgG1 ve IgG3, ADCC ve CDC'yi ortaya çıkarabilirken, IgG2 ve IgG4 bu aktiviteleri göstermezler (10).

Kanser immünoterapisi, uzun süredir beklenen ve standart kanser tedavilerine güçlü bir katkı sağlayabilecek bir adaydır. Etkili bir immünoterapi için, tümöre karşı gelişen bağışıklık yanıtının bileşenlerinin net bir şekilde tanımlanması büyük önem taşır. Doğuştan gelen bağışıklık sisteminin önemli bir mekanizması olan kompleman sistemi, kanser tedavisinde önem kazanmıştır. Yapılan çalışmalar, kanser hücreleri üzerinde zıt etkiler gösteren iki farklı “kompleman durumu” olabileceğini öne sürmektedir:

Antitümör etkili bir kompleman profili, membrana bağlı kompleman düzenleyici proteinlerin (mCRP'ler) düşük düzeyde ifade edilmesi, lizise neden olan membran atak kompleksi (MAC) konsantrasyonunun yüksek olması ve orta düzeyde C5a konsantrasyonu ile karakterizedir.

Pro-tümör etkili bir kompleman profili ise, mCRP'lerin yüksek düzeyde ifade edilmesi, hücreyi öldürmeyen (sublitik) MAC varlığı ve yüksek C5a konsantrasyonu ile tanımlanır (11).

Tümör oluşumu ve ilerlemesinin engellenmesiyle ilişkilendirilen bir yolak olarak kabul edilen kompleman, aynı zamanda inflamasyonu teşvik ederek ve immünsüpresif yolları düzenleyerek akciğer adenokarsinomu dahil olmak üzere birçok kanserin ilerlemesini desteklemektedir (12). Bu çalışmalar, kompleman inhibitör ilaçlarının KHDAK tedavisi için güçlü yeni bir yaklaşım olabileceğini düşündürmektedir. Bu çalışmalar, komplemanın tek başına bir tedavi yöntemi olarak ya da diğer immünoterapilerle kombinasyon halinde hedeflenmesinin, akciğer kanserinin tedavisi ve hatta olası olarak önlenmesi için yeni bir strateji sunduğunu öne sürmektedir (13).

2. GENEL BİLGİLER

Akciğer kanseri, 20. yüzyılın ortalarından itibaren, özellikle sigara kullanımının artmasıyla beraber toplum sağlığını tehdit eden, önemli mortalite ve morbite nedeni olan bir hastalık haline gelmiştir. Yüzyılın başında nadir bir hastalık iken, günümüzde yaygın görülen bir hastalık olarak karşımıza çıkmaktadır. 2008 yılında dünya genelinde toplam 1,6 milyon kişi yeni akciğer kanseri tanısı almıştır ve akciğer kanserleri tüm kanserlerin % 13'ünü oluşturmaktadır. 1,4 milyon kişi akciğer kanserinden ölmüş ve bu tüm kanserlerin % 18'ini oluşturmaktadır (14). Dünya Sağlık Örgütü'ne göre, akciğer, kolorektum, karaciğer, mide ve meme kanseri, kanserle ilişkili ölümlerin ilk sıralarında yer almaktadırlar (15,16).

Akciğer kanserlerinin yaklaşık %80-85'i küçük hücreli olmayan akciğer kanseri (KHDAK) dir. KHDAK ana alt tipleri adenokarsinom, skuamöz hücreli karsinom ve büyük hücreli karsinomdur. Farklı akciğer hücresi tiplerinden başlayan bu alt tipler, tedavileri ve prognozları genellikle benzer olduğu için KHDAK olarak gruplandırılır. Akciğer adenokarsinomu, akciğerdeki mukus üreten epitel hücreleri adı verilen hücrelerde başlar. Epitel hücreleri akciğerlerin yüzeyini kaplar. Adenokarsinom, küçük hücreli olmayan akciğer kanserinin en yaygın türüdür. Skuamöz hücreli karsinom (SCC), akciğerlerdeki hava yollarının içini kaplayan düz hücreler olan skuamöz hücrelerde başlar. SCC genellikle proksimal hava yolundan kaynaklanırken, adenokarsinomlar daha distal konumlardan gelişmektedir (3,4,5).

Büyük hücreli (farklılaşmamış) karsinom akciğerin herhangi bir yerinde ortaya çıkabilir. Hızlı büyüme ve yayılma eğilimindedir, bu da tedavisini zorlaştırabilir. Büyük hücreli karsinomun bir alt türü olan büyük hücreli nöroendokrin karsinom (LCNEC), küçük hücreli akciğer kanserine çok benzeyen hızlı büyüyen bir kanserdir (4).

Küçük hücreli akciğer kanseri (KHAK), tüm akciğer kanserlerinin yaklaşık %10-15'idir. Bu akciğer kanseri türü, KHDAK'dan daha hızlı büyüme ve yayılma eğilimindedir. Bu kanser türünde, kanser teşhis edildiği anda akciğerlerin ötesine yayılmıştır. Bu kanser hızlı büyüdüğü için, kemoterapi ve radyasyon tedavisine iyi yanıt verme eğilimindedir, bununla birlikte çoğu kişide kanser geri dönebilmektedir (4,5).

2.1. Akciğer Kanseri Mutasyon Çeşitleri

2.1.1. Epidermal Büyüme Faktörü Reseptörü

Epidermal Büyüme Faktörü Reseptörü (EGFR), EGFR/ERBB1, HER2/ERBB2, HER3/ERBB3 ve HER4/ERBB4'ü içeren bir reseptör tirozin kinaz (RTK) ailesine aittir. Uyarıldıklarında, transmembran reseptörleri hücre proliferasyonunu ve apoptozu etkileyen bir hücre içi sinyalleşme kaskadını tetiklemektedir (Şekil 2.1). Bugüne kadar, KHDAK tedavisinde kullanılan EGFR inhibitörleri iki ana kategoriye ayrılmaktadır: EGFR'nin hücre dışı alanına yönelik monoklonal antikorlar (Setuksimab ve Panitumumab) ve adenosin trifosfatın otofosforilasyonunu engelleyerek hücre içi tirozin kinaz alanını inhibe eden küçük moleküller (Gefitinib, Erlotinib, Afatinib vd). EGFR blokajı üzerine yapılan bir faz III çalışmasında (BR.21), Erlotinib, platin bazlı kemoterapiden sonra ilerleyen veya daha fazla kemoterapiye uygun olmadığı düşünülen kanserli hastalarda plasebo ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir sağ kalım tespit edilmiştir (17).

2.1.2. Anaplastik Lösemik Kinaz Füzyon Mutasyonu

KHDAK'lı hastaların yaklaşık %3 ile %7'sinde Anaplastik lösemik kinaz (ALK) füzyonu içeren tümörler tespit edilmiştir (18). ALK füzyonları daha sıklıkla hiç sigara içmeyen veya az sigara içen, daha genç olan ve kanseri adenokarsinom histolojik tipinde olan hastalarda görülmüştür (19).

ALK füzyon mutasyonları ayrıca EGFR veya KRAS mutasyonlarının eksikliğiyle ilişkilendirilmiştir. Bugüne kadar akciğer kanserinde birden fazla ALK varyantı tanımlanmıştır. Genomik ALK değişiklikleri barındıran akciğer kanserleri, farmakolojik ALK inhibisyonuna klinik olarak yanıt vermektedir. (20).

2.1.3. ROS1 Füzyon Mutasyonu

C-ROS onkogen-1 (ROS1) füzyon mutasyonları KHDAK hastalarının yaklaşık %2' sinde bulunur (21). ALK füzyon mutasyonları da benzer şekilde, ROS1 füzyonları daha çok hiç sigara içmeyen veya hafif sigara içen adenokarsinom histolojik tipine sahip olan hastalarda görülür. Klinik öncesi veriler, ROS1 füzyonlarının in vitro Krizotinibe duyarlı olduğunu göstermiştir (22,23).

2.1.4. ERBB2 Mutasyonu

ERBB2 (insan epidermal büyüme faktörü reseptörü 2 [HER2]), EGFR ile birlikte ERBB reseptör ailesinin bir üyesidir. ERBB2 mutasyonları, KHDAK'lerin yaklaşık %2'sinde tanımlanmıştır ve genellikle 776. kodon civarında, 20. ekzona 3-12 baz çiftinin çerçeve içi eklenmesini içerir (24). Bu eklemeler fare modellerinde onkojeniktir ve çoğunlukla kadın hastalarda, hiç sigara içmemiş kişilerde ve adenokarsinom histolojik tipli kanserlerde görülmektedir ve diğer onkogenlerdeki mutasyonlar ile nadiren örtüşmektedir. Hem monoklonal antikorlar hem de tirozin kinaz inhibitörleri ile ERBB2 mutasyonlu akciğer adenokarsinomları tedavi edilmektedir (25).

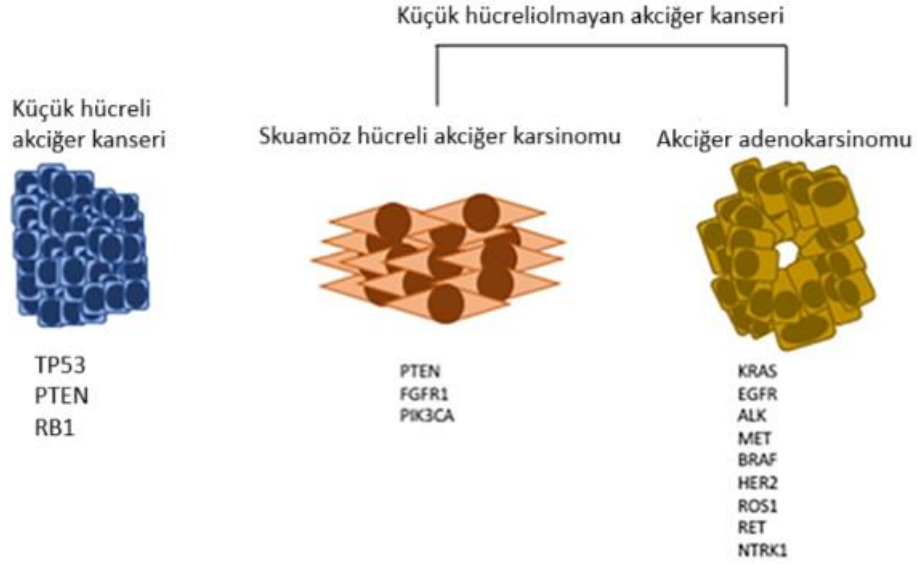
2.1.5. KRAS Mutasyonu

Kirsten Ras Sarkoma Viral Onkogen (KRAS) mutasyonları en yaygın mutasyonlardır, akciğer adenokarsinomu hastalarının yaklaşık % 15 ile % 25'inde tespit edilmiştir (26). KRAS mutasyonlarının çoğunda anlamsız mutasyonlar rol oynar. Bu mutasyonların sonucu KRAS sinyal yollarının yapısal aktivasyonudur. KRAS mutasyonları olan hastalarda, EGFR tirozin kinaz inhibitörlerine yanıt gelişmeyebilir (27).

2.1.6. RAF Mutasyonu

RAF proteinleri, RAS'ın aşağı akışında bulunan serin/treonin kinazlardır ve memelilerde üç izoformla temsil edilir (ARAF, BRAF ve RAF1 [CRAF olarak da bilinir]). BRAF, akciğer adenokarsinomunda bilinen bir onkogendir ve vakaların yaklaşık % 3'ünde mutasyona uğrar (Şekil 2.1) (28).

BRAF mutasyonlarının çoğunluğunun ekson 15'teki valin 600'de (V600) meydana geldiği melanomun aksine, V600 mutasyonları akciğer adenokarsinomu vakalarının yalnızca yarısını oluşturur. BRAF mutasyonları genellikle diğer onkojenik mutasyonlarla örtüşmez. Spesifik bir V600E BRAF inhibitörü olan Dabrafenib, V600E mutasyonu taşıyan akciğer adenokarsinomu hastalarını içeren bir faz II denemesinde % 40'lık umut verici bir yanıt oranı göstermiştir (28,29).



Şekil 2.1. Akciğer kanser mutasyonları (12)

2.2. Akciğer Kanser Mutasyonlarını Saptamak İçin Kullanılan Yöntemler

EGFR mutasyonunu saptamak için en yaygın kullanılan yöntem gen dizilemesidir, ancak ALK ve ROS1 füzyonları rutin olarak floresan in situ hibridizasyon (FISH) veya immunohistokimya ile tespit edilmektedir. Bu üç yöntem dışında SNaPshot, Sequenom ve yeni nesil dizileme (NGS) gibi multipleks tekniklerde kullanılmaktadır (29).

NGS, yüzlerce ya da binlerce gendeki mutasyonların, kopya sayısı değişikliklerinin ve yeniden düzenlemelerin, maliyet ve süreyi azaltarak eş zamanlı olarak tanımlanmasına olanak tanır. KHDAK 'ın hızlı teşhisinde farklı sıvı biyopsi teknikleri de yaygın olarak kullanılmaktadır. En sık kullanımı, birinci basamak EGFR TKI'de ilerlemiş hastalarda, bir direnç mutasyonunu değerlendirmek için (T790M) yapılır. Tümörü T790M barındıran hastalar, üçüncü nesil TKI'lerden faydalanabilir. Sıvı biyopsi, biyopsi örneği yetersiz olan ve tekrar biyopsi yapılması istenmeyen hastalarda ön moleküler tarama için de faydalıdır (30,31).

2.3. Monoklonal Antikorlar

Kanser tedavisinde geleneksel yöntemler olan cerrahi, radyasyon ve özellikle kemoterapi yaygın olarak kullanılır (32). Bununla birlikte, kemoterapötik ajanlar sadece tümör hücrelerine değil sağlıklı hücrelere de etki gösterdiğinden yorgunluk, ishal, mielosupresyon, nötropeni ve bazı durumlarda ölüm dahil olmak üzere çok sayıda yan etkiye neden olurlar (33). Bu nedenle, spesifik olarak tümör yüzey proteinlerine bağlanabilen ve tümör hücrelerine karşı bağışıklık sistemini uyaran monoklonal

antikorlar ile yeni nesil hedefli tedavilerin geliştirilmesine odaklanılmıştır (34,35). İmmünoterapi, bağışıklık sistemini aktive edebilen veya tümör oluşturan hücrelerin bağışıklık baskılayıcı etkilerini zayıflatabilen umut verici bir kanser tedavi stratejisidir (36,37).

MAB'ler, spesifik bir antijene karşı yüksek özgünlük ve afinitesi olan laboratuvar ortamında üretilen proteinlerdir. Son 20 yıldır ilaç endüstrisinde en önemli biyoterapötiklerden biri olmuştur. Onkoloji, immünoloji, kardiyovasküler, nöroloji ve enfeksiyöz hastalıklar gibi birçok hastalığın tedavisinde onaylanan 100'ün üzerinde antikor-ilişkili terapötik bulunmaktadır (38, 39)

Rekombinant terapötik antikorlar, immüoglobulin (Ig) yapılarına göre farklı alt sınıflara ayrılan terapötik moleküllerdir. Amerika ve Avrupa'da onaylanan antikor terapötikleri arasında %90'ı IgG immüoglobulinlerdir (Antikor-ilaç konjugatları da dahil olmak üzere) ve %10'u bispesifik antikorlar, PEG'lenmiş antijen-bağlama fragmentleri (Fabs), tek zincir değişken fragmentleri (scFv), Fab ve nanobody'lerdir. IgG antikor ailesi, IgG1, IgG2, IgG3 ve IgG4 alt sınıflarından oluşmakta olup ağır zincirin sabit bölgesinde küçük farklılıklar içermektedirler (40). Her alt sınıfın, terapötik uygulamalarını etkileyen farklı yapısal ve işlevsel özellikleri vardır (41).

2.4. IgG Alt Sınıfları

2.4.1. IgG1

Monoklonal terapötiklerde en yaygın kullanılan IgG sınıfıdır. Onaylanan IgG antikorlarının %74'ü IgG1 temellidir. Antikor bağımlı hücrel sitotoksite (ADCC) ve kompleman bağımlı sitotoksite (CDC) gibi güçlü bağışıklık efektör fonksiyonlarını ortaya çıkarır. IgG1 antikorlarının fizikokimyasal özelliklerine bakıldığında daha yüksek çözünürlüğe sahip olmaları, agregasyona karşı daha iyi stabilite profilleri nedeniyle seçilmektedir (40).

2.4.2. IgG2

Bu alt sınıf, IgG1 ile karşılaştırıldığında bağışıklık efektör fonksiyonlarını devreye sokmada daha az etkilidir ancak genellikle belirli terapötik bağlamlarda stabilitesi ve azaltılmış immünojenitesi nedeniyle seçilir. IgG2 antikorları, üretilebilirliklerini ve uzun vadeli stabilitelerini etkileyebilecek benzersiz moleküler özellikleriyle bilinmektedir (40).

2.4.3. IgG3

Terapötiklerde yaygın olarak kullanılırsa da IgG3'ün daha uzun bir bağlanma bölgesi vardır ve bu, antijenlerle etkileşime girme yeteneğini artırabilir ancak aynı zamanda proteolitik bozunmaya karşı artan duyarlılığa da yol açabilmektedir (42).

2.4.4. IgG4

Bu alt sınıf, Fab-kolunun değişimine girme yeteneği ile karakterize edilir, bu durum efektör işlevlerini azaltabilir ve bağışıklık aktivasyonunun azaltılmasının istendiği uygulamalar için tercih edilir. IgG4 varyantları genellikle Fc reseptör etkileşimlerini daha da azaltmak için tasarlanır (42).

2.5. Antikor Bağımlı Hücre Aracılı Sitotoksiste (ADCC)

ADCC, antijen-spesifik antikorların, doğal öldürücü hücreler (NK hücreleri), monosit-makrofajlar ve polimorfonükleer lökositler gibi bağışıklıkta etkili hücrelerin antijen ifade eden kanser hücrelerini öldürmeye yönlendirdiği bir mekanizmadır (43,44). Monoklonal antikorların Fc kısımları, NK hücrelerindeki Fc reseptörlerine bağlanır. Aktive edilen NK hücreleri tümör hücreleriyle sinapslar oluşturduğunda, perforin ve granzim salınımı tümör hücrelerinin ölümüne neden olur. NK hücreleri ayrıca proinflamatuvar sitokinler salgılar (45). Kanser tedavisinde onaylanan monoklonal antikorlardan, anti-EGFR antikoru Setuksimab (46), anti-HER-2 antikoru Trastuzumab (7) ve anti-CD20 antikoru Rituksimab reseptör blokajının yanısıra, ADCC yoluyla ek terapötik etkiye de sahip oldukları gösterilmiştir (8).

2.6. Kompleman Bağımlı Sitotoksiste (CDC)

Kompleman bileşeni C1, antikorların Fc kısmını tanıdığı ve C3a ve C3b ile aktive olduğunda klasik kompleman yolunu aktive edebilir. C3a, kompleman aktivasyonu bölgesinde bağışıklık efektör hücrelerini toplarken, C3b, alternatif kompleman yolunu aktive ederek C5 konvertazını oluşturur ve sonunda hücre lizisine neden olan membran saldırı kompleksi (MAC) oluşur (48). Çeşitli in vitro hücre temelli analizlerle, mAb'ların kompleman bileşenlerini toplayabildiği gösterilmiş olsa da in vivo da CDC yoluyla tümör hücrelerinin öldürülmesi özellikle solid tümörler için yeterince açıklanamamıştır (49). CDC'nin aktivasyonu, anti-HER-2 antikorları Trastuzumab ve Pertuzumab ile kombinasyon tedavisinin etkinliğini artırmaktadır (50). Anti-CD52 antikoru Alemtuzumab, insan kompleman sistemini aktive ederek kronik lenfositik lösemi

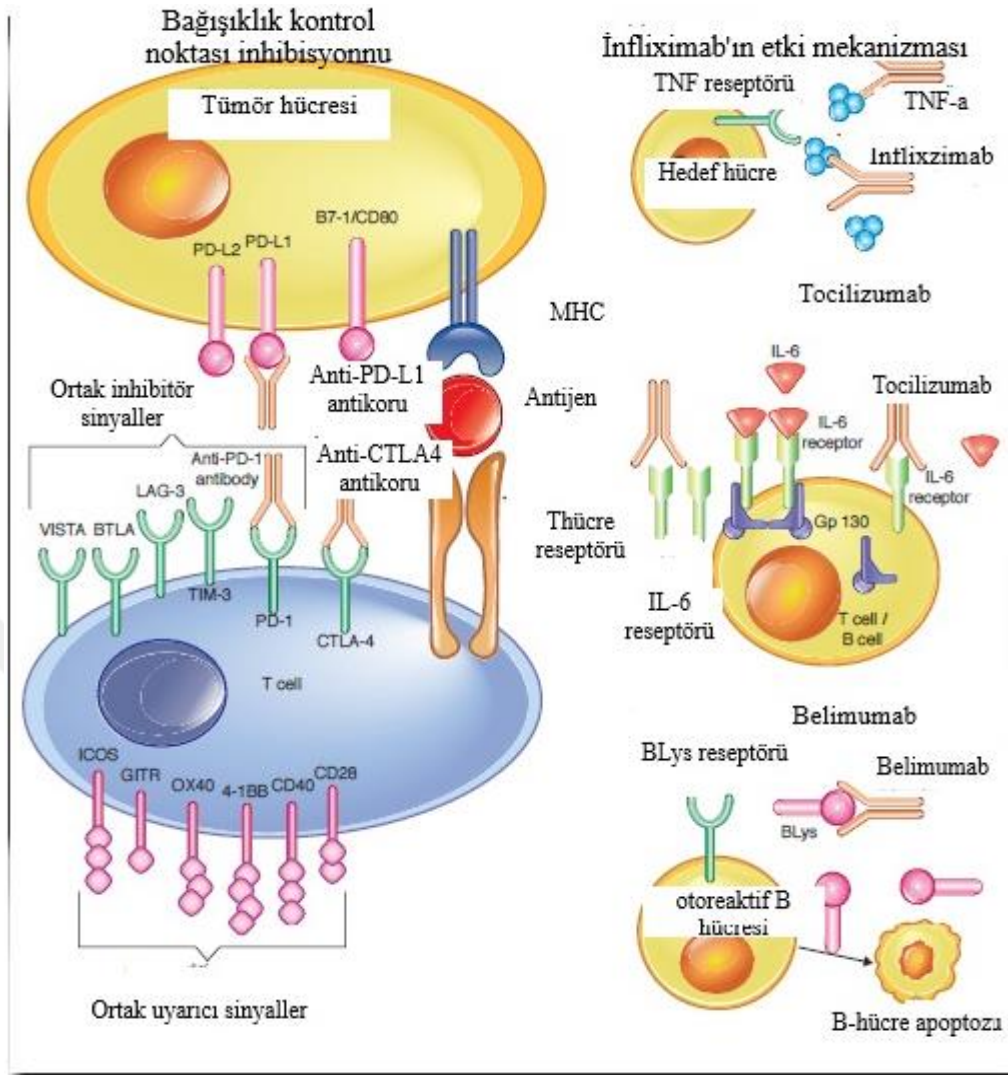
hastalarında antitümör aktivite sağlar. CDC ayrıca anti-CD20 antikorlarının (rituxuamb, ofatumumab) terapötik aktivitesini de artırır (51,52).

2.7. İmmün Kontrol Nokta İnhibitörleri

İmmün kontrol noktası inhibitörleri (ICI), bağışıklık sisteminin kanser hücrelerine karşı etkinliğini artıran tedavi ajanlarıdır. Bağışıklık sisteminin düzgün çalışabilmesi için bazı kontrol mekanizmalarına ihtiyaç duyulur. İmmün kontrol noktası, bağışıklık hücrelerinin (özellikle T hücrelerinin) aktivitesini düzenleyen ve sınırlandıran biyolojik mekanizmalardır. Bu kontrol noktaları, bağışıklık hücrelerinin aşırı tepki vermesini engelleyerek, vücudu otoimmün hastalıklar gibi istenmeyen reaksiyonlardan korur (53). Ancak kanser hücreleri, bu doğal kontrol mekanizmalarını manipüle ederek bağışıklık sisteminden kaçabilirler. İmmün kontrol noktası inhibitörleri, bu kontrol noktalarını engelleyerek, bağışıklık sisteminin kanser hücrelerine karşı daha etkin bir yanıt vermesini sağlar (54).

İmmün kontrol noktaları, bazı proteinlerin bağlanmasıyla aktive olur. Örneğin, PD-1 (Programmed cell death protein 1) ve CTLA-4 (Cytotoxic T-Lymphocyte Antigen 4) gibi proteinler, T hücrelerinin kanser hücrelerini hedef almasını engeller (55).

ICI'ler öncelikle CTLA-4, PD-1 ve PD-L1 gibi kontrol noktası proteinlerini hedefler. Bu proteinler kanser hücreleri tarafından bağışıklık sisteminden kaçmak için kullanılır. Bu kontrol noktalarını inhibe eden ICI'ler, T hücrelerinin kanser hücrelerini tanımasını ve yok etmesini sağlarlar. Bu kontrol noktalarının bloke edilmesi, kanser hücrelerini hedeflemek ve öldürmek için hayati önem taşıyan T hücrelerinin aktivasyonu ile sonuçlanır (Şekil 2.2) (56). ICI'ler melanoma, akciğer, böbrek ve baş ve boyun kanserleri dahil olmak üzere çeşitli kanserlerin tedavisi için onaylanmıştır. Özellikle ileri melanomada hasta sağ kalımını uzatmada ve tümör gerilemesini sağlamada önemli başarılar göstermişlerdir. ICI'ler tek başlarına veya kemoterapi, radyasyon veya cerrahi gibi diğer tedavilerle birlikte kullanılarak etkinlikleri artırılabilir (57).



Şekil 2.2. İmmün kontrol noktaları (47).

2.8. PD-1/PD-L1

PD-1, önemli bir bağışıklık kontrol noktası molekülüdür. PD-1, T hücresi reseptörlerinin CD28 ailesinin bir üyesidir ve öncelikli olarak aktive edilmiş T hücreleri, B hücreleri ve miyeloid hücrelerde ifade edilir (58). PD-1, kronik antijen uyarımından sonra T hücrelerinde düzenlenir ve T hücresi tükenmesinin bir belirticidir. PD-1 için anahtar ligandlar arasında bağışıklık hücreleri tarafından ifade edilen ve ayrıca çeşitli dokularda, özellikle interferon gamma (IFN- γ) gibi inflamatuvar sitokinlere maruz kaldıktan sonra indüklenebilen PD-L1 (B7-H1) ve PD-L2 (B7-DC) bulunur. PD-L1, çeşitli insan kanserlerinde ifade edilir ve bu ifadenin anti-tümör bağışıklık tepkilerinden kaçınmada önemli bir rol oynadığı düşünülmektedir (59,60).

T hücrelerindeki PD-1, PD-L1 veya PD-L2'ye bağlandığında, T hücresi bir inhibitör sinyal alır ve bağışıklık tepkileri oluşturmaz. Hayvan modellerinde, PD-1 yolağı blokajı, gelişmiş tümör eradikasyonuna ve sağ kalımına yol açmıştır (61,62).

2.8.1. PD-1/PD-L1'in Fonksiyonel Hücrelerdeki Rolü

PD-1/PD-L1, T hücreleri, düzenleyici T hücreleri (Treg'ler) ve makrofajlar gibi çeşitli işlevsel hücrelerde bağışıklık kontrol noktalarından biri olarak rol oynar. PD-1/PD-L1, T hücrelerinin önemli bir negatif düzenleyicisidir (63). Aşırı bağışıklık tepkilerinden kaçınmak ve otoimmün hasarı önlemede gerekli olan bağışıklık dengesini korumak için T hücrelerinin pozitif düzenleyicileriyle etkileşime girer (64). Bununla birlikte, birçok kanser, vücudun bağışıklık gözetiminden ve anti-tümör bağışıklık tepkilerinden kaçınmak için PD-1/PD-L1 sinyalini kullanan mekanizmalar geliştirmiştir (65). PD-1 geni, aynı zamanda farklılaşma kümesi 279 (CD279) olarak da bilinir, kromozom 2q37'de bulunabilir. Tasuku Honjo, 1992'de interlökin-3'ten (IL-3) yoksun bırakılmış 2B4-11 (fare T hücre hibridomaları) ve LyD9 hücrelerinde keşfetmiştir (66). Hücre dışı bir N-terminal alanı, bir transmembran alanı ve N- ve C-terminal alanları, 288 amino asitli, 55 kDa'lık bir tip transmembran glikoprotein olan PD1'i -1 ayırır (67).

2.8.2. CTLA-4 İnhibitörü

T hücresi aktivasyonu, bir uyarıcı sinyal gerektiren karmaşık bir süreçtir. TCR'nin MHC'ye bağlanması T hücresi aktivasyonuna özgüllük sağlar, ancak daha fazla yardımcı uyarıcı sinyale ihtiyaç vardır (68). APC'deki B7-1 (CD80) veya B7-2 (CD86) moleküllerinin T hücresi üzerindeki CD28 molekülleriyle bağlanması, T hücresinde sinyalleri tetikler. Yeterli düzeyde CD28:B7-1/2 bağlanması, T hücrelerinin çoğalmasına, T hücresi sağ kalımının artmasına ve interlökin-2 (IL-2) gibi büyüme sitokinlerinin üretimi, artan enerji metabolizması ve hücre sağ kalım geninin yukarı düzenlenmesi yoluyla farklılaşmaya yol açar (69). CTLA-4, B7 için çok daha yüksek bağlanma afinitesine sahip bir CD28 homologudur; ancak, CD28'in aksine, CTLA-4'ün B7'ye bağlanması uyarıcı bir sinyal üretmez. Bu nedenle, bu rekabetçi bağlanma normalde CD28:B7 bağlanmasıyla sağlanan yardımcı uyarıcı sinyali önleyebilir (70,71).

CTLA-4 veya PD-1 yol blokajı ile tümör büyümesinin azaldığını ve sağ kalımın iyileştiğini gösteren klinik öncesi çalışmalar, kanser tedavisi için bağışıklık kontrol noktası inhibisyonunun önemini göstermiştir (60,72,73). (Tablo 2.1).

Tablo 2.1. Kanser tedavisinde onaylanan immün kontrol noktası inhibitörlerinin listesi.

Hedef	İlaç Adı	Endikasyonları
PD-1	Nivolumab	Metastatik melanom, metastatik skuamöz KHDAK, skuamöz olmayan KHDAK, ileri RCC, Hodgkin lenfoma, ürotelyal karsinom, mikrosatelit instabilitesi olan kolorektal kanser, HCC
	Pembrolizumab	Hodgkin lenfoma, metastatik skuamöz olmayan KHDAK, ürotelyal karsinom, mikrosatelit instabilitesi olan kolorektal kanser, gastrik adenokarsinom
PD-L1	Avelumab	Metastatik Merkel hücreli karsinom, ürotelyal karsinom
	Atezolizumab	Ürotelyal karsinom, metastatik KHDAK
	Durvalumab	Ürotelyal karsinom, KHDAK
CTLA-4	İpilimumab	Metastatik melanom

HCC: Hepatosit karsinomu; KHDAK: Küçük hücreli olmayan akciğer kanseri, RCC: böbrek hücreli karsinom (77).

2.9. İmmünoterapi ve Akciğer Kanseri

Son on yılda, kanser immünoterapisinin, özellikle de bağışıklık kontrol noktası inhibitörlerinin (ICI'ler) başarısı, metastatik tümörlerin klinik tedavisinde devrim yaratmıştır. Bağışıklık kontrol noktası inhibitörlerinin (ICI'ler), özellikle PD-1/PD-L1 ve CTLA-4'ün, EGFR/ALK mutasyonu olmayan KHDAK hastalarında etkili olduğu bulunmuştur (74,75). PD-L1 ve PD-L2 inhibisyonu, T hücresi yanıtını ve in vitro antitümör aktivitesini artırabilir. Bir anti-PD-1 antikoru olan Nivolumab, platin bazlı kemoterapiden sonra ilerleyen metastatik KHDAK'li hastaların tedavisi için onaylanan ilk kontrol noktası inhibitörüdür. CheckMate-017 denemesinde, Nivolumab, ileri akciğer skuamöz hücreli karsinomu olan hastaların ikinci basamak tedavisinde Docetaxel ile karşılaştırıldığında OS'yi önemli ölçüde iyileştirmiştir (76,77,). Bir PD-1 inhibitörü olan Pembrolizumab, Eylül 2014'te, rezeke edilemeyen veya metastatik melanomu olan ve İpilimumab'ı takiben hastalık ilerlemesi olan hastaların tedavisi için onaylanmıştır (78).

2.9.1. Nivolumab

Nivolumab tamamen insan anti-PD-1 IgG4 mAb'dır ve ABD Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) tarafından önceden tedavi edilmiş NSCLC'nin tedavisi için onaylanan ilk anti-PD-1 hedefli ilaçtır (79,80).

Şu anda piyasada en sık kullanılan ICI'ler arasında, her ikisi de anti-PD-1 mAb'leri olan Pembrolizumab (Keytruda) ve Nivolumab (OPDIVO) yer almaktadır (82,83). Bu iki mAb, T lenfositleri üzerindeki PD-1'e yüksek afiniteyle bağlanır ve böylece tümör oluşturuvcu hücrelerdeki PD-L1'in bağlanmasını inhibe eder. T lenfositlerinin

aktivasyonuna yol açar ve bu da T hücresi aracılı sitotoksiste yoluyla tümör hücrelerinde apoptozis indüklenmesiyle sonuçlanır (83).

2.9.2. Pembrolizumab

Pembrolizumab, ticari adıyla Keytruda, insan kaynaklı (humanized) bir IgG4-kappa monoklonal antikordur. Bağışıklık kontrol noktası inhibitörleri sınıfına aittir ve PD-1 reseptörüne bağlanarak T hücrelerinin aktivasyonunu artırır (84). 2014 yılında FDA onayı almış ve günümüzde birçok kanser türünün tedavisinde kullanılmaktadır. Pembrolizumab, T hücreleri üzerindeki PD-1 reseptörüne bağlanarak, bu reseptörün PD-L1 ve PD-L2 ligantlarıyla etkileşimini engeller. Bu etkileşimin engellenmesi, T hücrelerinin tümör hücrelerine karşı aktivasyonunu artırır ve bağışıklık sisteminin tümör hücrelerini tanıyıp yok etmesine olanak tanır (85).

2.9.3. Kompleman Sistem ve Aktivasyonu

Komplemanların keşfi, Jules Bordet'nin kanda çeşitli bakteri türlerine karşı aktiviteye sahip, bilinmeyen ısıya duyarlı litik bir maddeyi tanımladığı 1800'lerin sonlarına dayanır. Bu bileşen, Paul Ehrlich tarafından 1899'da "kompleman" olarak adlandırılmıştır. Uzun yıllardır kompleman sistemin doğuştan gelen bağışıklık sisteminin temel bir bileşeni olduğu bilinmektedir (86).

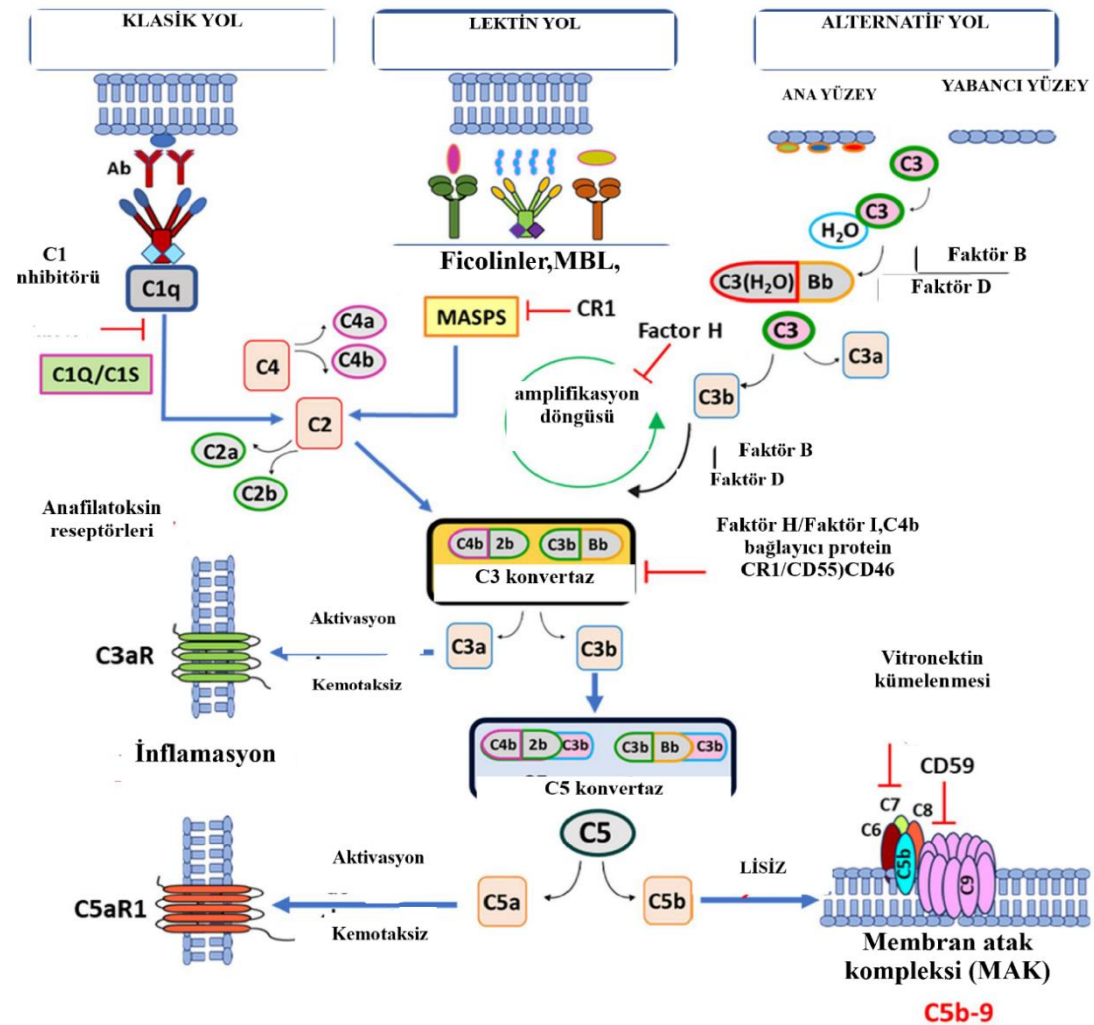
İnvaziv patojenlerle savaşmada kompleman sistemin rolü kapsamlı bir şekilde incelenmiştir ancak son keşifler, ekstrasvasküler ve interstisyel dokulardaki fonksiyonlarına ilişkin yeni bakış açıları sunmaktadır. Bu keşifler, kompleman proteinlerin hücre-hücre ve stroma-hücre iletişimlerinde önemli bir rol oynadığını göstermektedir (87).

Kompleman sistemi, doğuştan gelen bağışıklık sisteminin kritik bir kolunu oluşturan ardışık bir enzimatik kaskaddır (88). Kaskad, klasik, alternatif ve lektin yolları olmak üzere üç yoldan oluşur. Klasik yol (CP), antijen/antikor etkileşimleri yoluyla oluşan bağışıklık kompleksleri (IC) ve konformasyonel değişikliklere neden olan ve kompleksin C1q ile etkileşime girmesini kolaylaştıran ligandlar patojen veya glikoproteinlerin yüzeylerinde ifade edilen mannoz bağlayıcı lektinler (MBL) veya fikolinler tanındığında aktive olur (89,90).

Yollar aktive edildiğinde, LP ve CP yollarının MBL ve C1q sırasıyla serin proteazlar, MASP ve C1r ve C1s'e bağlanarak kompleman bileşenleri C4 ve C2'yi keserek C3'ü C3a ve C3b'ye ayıran C3 konvertaz enzimi olan C4b2b'yi oluşturur (Şekil 2.3). CP

ve LP'nin aksine, alternatif yol (AP) sürekli olarak patojen istilası için konağı araştırır ve her zaman düşük seviyede aktif durumdadır, C3'teki tiyoester bağını kendiliğinden hidrolize eder (91,92).

Aktive edildiğinde, üretilen C3b tarafından faktör (F) B'nin kesilmesiyle oluşan Bb'ye bağlanır. C3 konvertazı, C3bBb, properdin proteini tarafından stabilize edilir (93). C3'ü C3a ve C3b'ye daha fazla keserek AP'yi sürekli olarak aktive eden bir geri bildirim döngüsü oluşturur (94). C4/C2 ve C3/FB arasında önemli bir yapısal ve dizi benzerliği vardır ve bu CP/LP ve AP C3 konvertazının oluşumundaki benzerliği gösterir. Daha sonra, üç yol da aynı efektör yolunu izleyerek en sonunda patojen lizisine ve C5a salınımına neden olan C5b-9 membran saldırı kompleksini oluşturur. Kompleman aktivasyonu sırasında üretilen C3a ve C5a önemli biyolojik aktiviteye sahiptir. Kemotaksi ve hücre trafiği gibi işlevlere katılırlar. G-protein bağlı reseptörler C3aR ve C5aR ile sinyal verirler (95).



Şekil 2.3. Kompleman sistemi yollarının oluşma şekli (96).

2.9.4. Komplemanın Etkileşimi

Kompleman, apoptotik hücre tanıma ve fagositik temizleme yoluyla kendini tanınamama veya kendi kendine toleransa katılır. C1q eksikliğinin, geç faz apoptotik hücrelere yanıt olarak otoantikör üretimine, kompleman aktivasyonuna ve sitokin üretimine yol açtığı gözönüne alındığında, C1q'nun kendi kendine toleransta rol oynadığı kabul edilmektedir (89).

Pek çok kompleman proteini, kompleman sistem ile diğer efektör ve düzenleyici sistemler arasında etkileşimi sağlar. Sonuç olarak, kompleman sistem doğuştan gelen bağışıklıktaki rolüne ek olarak adaptif bağışıklık, hemeostaz, nöro-koruma ve organ gelişimine katılır (97,98).

Kompleman sistemi inflamatuvar yanıtın önemli bir bileşenidir ve enflamasyon, tümör oluşumunun ve kanser ilerlemesinin çeşitli aşamalarında yer alır. Buna ek olarak, kompleman aktivasyonu adaptif immün yanıtı düzenler ve tümörlere karşı T hücre yanıtını düzenlemede rol oynar (99,100).

3. MATERYAL VE METOT

3.1. KHDAK Hasta Gruplarının Oluşturulması

Kemoterapi sonrası mAb tedavisi alan hasta grubunu oluşturan bireylerin çalışmaya dahil etme kriterleri:

İnönü Üniversitesi Turgut Özal Tıp Merkezi, Onkoloji Hastanesi, Onkoloji Polikliniğine başvuran akciğer kanser tanısı alan 18 yaş ve üstü, ileri derecede KHAK ve KHDAK akciğer kanseri metastatik evre 4 olan, yaşam beklentisi 12 hafta ve üzeri olan, daha önce en az 4 kür kemoterapi almış olan ve sonrasında Nivolumab ve Pembrolizmaz tedavisi alan hastalardan en az iki tane sarı kapaklı jelli biyokimya tüplerine kan örnekleri alındı.

Hasta grubunu oluşturan bireylerden, gönüllü bilgilendirme formunu okuyup imzaladıktan sonra çalışmaya dahil edildi.

Kemoterapi alan hasta grubunu oluşturan bireylerin çalıřmaya dahil edilme kriterleri:

İnönü Üniversitesi Turgut Özal Tıp Merkezi, Onkoloji Hastanesi, Onkoloji Polikliniğine başvuran akciğer kanser tanısı alan 18 yaş ve üstü, yeni KHAK ve KHDAK akciğer kanseri tanısı alan, yaşam beklentisi 12 hafta ve üzeri olan, tedavi olarak sadece kemoterapi alan hastalardan en az iki tane sarı kapaklı biyokimya tüpünde kan örnekleri alındı.

Hasta grubunu oluşturan bireylerden, gönüllü bilgilendirme formunu okuyup imzaladıktan sonra çalışmaya dahil edildi.

mAb tedavisi alan ve almayan hasta grupları için hariç tutma kriterleri:

Kronik otoimmün hastalık öyküsü olmayan, T hücre modüle edici antikorlarla tedavi edilmemiş olması, bağışıklık baskılayıcı ilaçlar gerektiren durumlar kronik enfeksiyonlara sahip hastalar çalışmaya dahil edildi.

Toplam 24 mAb alan ve 24 mAb almayan hastaların serumları 5 ay boyunca İnönü Üniversitesi Turgut Özal Tıp Merkezi Onkoloji Hastanesi ayaktan kemoterapi biriminde sürekli takip edilerek kan ve onam formlarına imza atılarak her hastadan sarı kapaklı jel biyokimya tüpüne kan örnekleri alındı. Daha sonra bu örnekler 4000 rpm’de 10 dakika santrifüj edilip elde edilen serumlar ayrıştırılarak -80 C derecede muhafaza edildi.

mAb tedavisi alan ve mAb tedavisi almayan hasta gruplarına ait demografik özellikler tablo 3.1 ve tablo 3.2’ de gösterildi.

Tablo 3.1. mAb tedavisi alan hasta grubuna ait demografik özellikler

mAb alan hasta grubuna ait demografik özellikler		
n (%) / Ortanca (min-mak)		
Cinsiyet	Kadın	0 (0)
	Erkek	100 (100)
Yaş	65 (44-85)	

Tablo 3.2. mAb tedavisi almayan hasta grubuna ait demografik özellikler

mAb almayan hasta grubuna ait demografik özellikler		
n (%) / Ortanca (min-mak)		
Cinsiyet	Kadın	0 (0)
	Erkek	100 (100)
Yaş	64 (50-81)	

Hasta grupları ilk birinci basamak tedavi olarak kemoterapi (Pemetreksed ve Docetaxel) (Tablo 3.3) aldı. İkinci basamak tedavi olarak Nivolumab ve Pembrolizumab aldı. Diğer hasta grubu ise sadece birinci basamak kemoterapi (Pemetreksed ve Docetaxel) (Tablo 3.4) aldı.

Tablo 3.3. mAb tedavisi alan hasta grupları, tedavi ve hücre tipi

Hasta No	Hücre Tipi	Hastalık Düzeyi	Tedavi
H1	ADENO	METASTATİK EVRE 4	NİVOLUMAB +KEMOTERAPİ
H2	ADENO	METASTATİK EVRE 4	NİVOLUMAB +KEMOTERAPİ
H3	ADENO	METASTATİK EVRE 4	NİVOLUMAB +KEMOTERAPİ
H4	ADENO	METASTATİK EVRE 4	NİVOLUMAB +KEMOTERAPİ
H5	ADENO	METASTATİK EVRE 4	NİVOLUMAB +KEMOTERAPİ
H6	ADENO	METASTATİK EVRE 4	NİVOLUMAB +KEMOTERAPİ
H7	ADENO	METASTATİK EVRE 4	NİVOLUMAB +KEMOTERAPİ
H8	SKUAMÖZ	METASTATİK EVRE 4	NİVOLUMAB +KEMOTERAPİ
H9	ADENO	METASTATİK EVRE 4	NİVOLUMAB +KEMOTERAPİ
H10	SKUAMÖZ	METASTATİK EVRE 4	NİVOLUMAB +KEMOTERAPİ
H11	SKUAMÖZ	METASTATİK EVRE 4	NİVOLUMAB +KEMOTERAPİ
H12	SKUAMÖZ	METASTATİK EVRE 4	NİVOLUMAB +KEMOTERAPİ
H13	ADENO	METASTATİK EVRE 4	NİVOLUMAB +KEMOTERAPİ
H14	ADENO	METASTATİK EVRE 4	NİVOLUMAB +KEMOTERAPİ
H15	SKUAMÖZ	METASTATİK EVRE 4	NİVOLUMAB +KEMOTERAPİ
H16	SKUAMÖZ	METASTATİK EVRE 4	NİVOLUMAB +KEMOTERAPİ
H17	ADENO	METASTATİK EVRE 4	NİVOLUMAB + KEMOTERAPİ
H18	ADENO	METASTATİK EVRE 4	PEMBROLİZUMAB+ KEMOTERAPİ
H19	ADENO	METASTATİK EVRE 4	PEMBROLİZUMAB+ KEMOTERAPİ
H20	SKUAMÖZ	METASTATİK EVRE 4	PEMBROLİZUMAB+ KEMOTERAPİ
H21	SKUAMÖZ	METASTATİK EVRE 4	PEMBROLİZUMAB+ KEMOTERAPİ

H22	SKUAMÖZ	METASTATİK EVRE 4	PEMBROLİZUMAB+ KEMOTERAPİ
H23	SKUAMÖZ	METASTATİK EVRE 4	PEMBROLİZUMAB+ KEMOTERAPİ
H24	ADENO	METASTATİK EVRE 4	PEMBROLİZUMAB+KEMOTERAPİ

Tablo 3.4. mAb tedavisi almayan sadece kemoreterapi alan hasta grupları, tedavi ve hücre tipi

Kontrol No	Hücre Tipi	Hastalık düzeyi	Tedavi
K1	SKUAMÖZ	METASTATİK EVRE 4	KEMOTERAPİ
K2	SKUAMÖZ	METASTATİK EVRE 4	KEMOTERAPİ
K3	ADENO	METASTATİK EVRE 4	KEMOTERAPİ
K4	ADENO	METASTATİK EVRE 4	KEMOTERAPİ
K5	ADENO	METASTATİK EVRE 4	KEMOTERAPİ
K6	ADENO	METASTATİK EVRE 4	KEMOTERAPİ
K7	ADENO	METASTATİK EVRE 4	KEMOTERAPİ
K8	SKUAMÖZ	METASTATİK EVRE 4	KEMOTERAPİ
K9	SKUAMÖZ	METASTATİK EVRE 4	KEMOTERAPİ
K10	ADENO	METASTATİK EVRE 4	KEMOTERAPİ
K11	ADENO	METASTATİK EVRE 4	KEMOTERAPİ
K12	ADENO	METASTATİK EVRE 4	KEMOTERAPİ
K13	SKUAMÖZ	METASTATİK EVRE 4	KEMOTERAPİ
K14	ADENO	METASTATİK EVRE 4	KEMOTERAPİ
K15	ADENO	METASTATİK EVRE 4	KEMOTERAPİ
K16	SKUAMÖZ	METASTATİK EVRE 4	KEMOTERAPİ
K17	ADENO	METASTATİK EVRE 4	KEMOTERAPİ
K18	ADENO	METASTATİK EVRE 4	KEMOTERAPİ
K19	ADENO	METASTATİK EVRE 4	KEMOTERAPİ
K20	ADENO	METASTATİK EVRE 4	KEMOTERAPİ
K21	ADENO	METASTATİK EVRE 4	KEMOTERAPİ
K22	ADENO	METASTATİK EVRE 4	KEMOTERAPİ
K23	ADENO	METASTATİK EVRE 4	KEMOTERAPİ
K24	ADENO	METASTATİK EVRE 4	KEMOTERAPİ

Mab tedavisi alan ve mAb tedavisi almayan hasta gruplarına ait immünohistokimyasal PK40 boyaması Tablo 3.5 ve Tablo 3.6’da gösterildi.

Tablo 3.5. mAb tedavisi alan hasta grubu P40 boyaması

Hasta grubu	PK40
H1	negatif
H2	negatif
H3	negatif
H4	negatif
H5	negatif
H6	negatif
H7	negatif
H8	pozitif
H9	negatif

H10	pozitif
H11	pozitif
H12	pozitif
H13	negatif
H14	negatif
H15	pozitif
H16	pozitif
H17	negatif
H18	negatif
H19	negatif
H20	pozitif
H21	pozitif
H22	pozitif
H23	pozitif
H24	negatif

Tablo 3.6. mAb tedavisi almayan hasta grubu P40 boyaması

Kontrol grubu	PK40
K1	pozitif
K2	pozitif
K3	negatif
K4	negatif
K5	negatif
K6	negatif
K7	negatif
K8	pozitif
K9	pozitif
K10	negatif
K11	negatif
K12	negatif
K13	pozitif
K14	negatif
K15	negatif
K16	pozitif
K17	negatif
K18	negatif
K19	negatif
K20	negatif
K21	negatif
K22	negatif
K23	negatif
K24	negatif

Mab tedavisi alan ve mAb tedavisi almayan hasta gruplarına ait immünohistokimyasal CK7 boyaması Tablo 3.7 ve Tablo 3.8’da gösterildi.

Tablo 3.7. mAb tedavisi alan hasta grubu CK7 boyaması

Hasta grubu	CK7
H1	pozitif
H2	pozitif
H3	pozitif
H4	pozitif
H5	pozitif
H6	pozitif
H7	pozitif
H8	negatif
H9	pozitif
H10	negatif
H11	negatif
H12	negatif
H13	pozitif
H14	negatif
H15	pozitif
H16	pozitif
H17	negatif
H18	negatif
H19	negatif
H20	pozitif
H21	pozitif
H22	pozitif
H23	pozitif
H24	negatif

Tablo 3.8. mAb tedavisi almayan hasta grubu CK7 boyaması

Kontrol grubu	CK7
K1	negatif
K2	negatif
K3	negatif
K4	negatif
K5	pozitif
K6	pozitif
K7	pozitif
K8	pozitif
K9	pozitif
K10	pozitif
K11	pozitif
K12	pozitif

K13	pozitif
K14	pozitif
K15	pozitif
K16	pozitif
K17	pozitif
K18	pozitif
K19	pozitif
K20	pozitif
K21	pozitif
K22	pozitif
K23	pozitif
K24	pozitif

Mab tedavisi alan ve mAb tedavisi almayan hasta gruplarına ait immünohistokimyasal TTF-1 boyaması Tablo 3.9 ve Tablo 3.10’da gösterildi.

Tablo 3.9. mAb tedavisi alan hasta grubu TTF-1 boyaması

Hasta grubu	TTF-1
H1	pozitif
H2	pozitif
H3	pozitif
H4	pozitif
H5	pozitif
H6	pozitif
H7	yamalı pozitif
H8	pozitif
H9	pozitif
H10	pozitif
H11	negatif
H12	negatif
H13	negatif
H14	negatif
H15	negatif
H16	negatif
H17	negatif
H18	negatif
H19	pozitif
H20	pozitif
H21	pozitif
H22	pozitif
H23	negatif
H24	negatif

Tablo 3.10. mAb tedavisi almayan hasta grubu TTF-1 boyaması

Kontrol grubu	TTF-1
K1	negatif
K2	negatif
K3	negatif
K4	negatif
K5	yamalı pozitif
K6	pozitif
K7	pozitif
K8	pozitif
K9	pozitif
K10	pozitif
K11	pozitif
K12	pozitif
K13	pozitif
K14	pozitif
K15	pozitif
K16	pozitif
K17	pozitif
K18	yamalı pozitif
K19	pozitif
K20	pozitif
K21	pozitif
K22	pozitif
K23	pozitif
K24	pozitif

Mab tedavisi alan ve mAb tedavisi almayan hasta gruplarına ait immünohistokimyasal Ki-67 proliferasyon indeksi %'lik olarak Tablo 3.11 ve Tablo 3.12'de gösterildi.

Tablo 3.11. mAb tedavisi alan hasta grubu Ki-67 proliferasyon indeksi

Hasta grubu	Ki-67 indeksi %
H1	15%
H2	20%
H3	35%
H4	60%
H5	25%
H6	45%
H7	70%
H8	55%
H9	10%
H10	30%
H11	40%

H12	70%
H13	65%
H14	35%
H15	40%
H16	35%
H17	55%
H18	20%
H19	10%
H20	75%
H21	80%
H22	15%
H23	45%
H24	65%

Tablo 3.12. mAb tedavisi almayan hasta grubu Ki-67 proliferasyon indeksi

Kontrol grubu	Ki-67 indeksi %
K1	30%
K2	45%
K3	15%
K4	65%
K5	25%
K6	20%
K7	45%
K8	55%
K9	70%
K10	80%
K11	75%
K12	70%
K13	50%
K14	15%
K15	20%
K16	45%
K17	35%
K18	45%
K19	70%
K20	80%
K21	35%
K22	75%
K23	65%
K24	45%

3.2. Kompleman Proteinlerinin ELISA Yöntemi ile İncelenmesi

mAb tedavisi alan ve almayan hasta gruplarından alınan kan örnekleri ELISA analizi için ayrıldı. Serum örneklerinden insan tamamlayıcı 1q (C1q- SinoGenClon Biotech, Lot: SG-00432), insan tamamlayıcı parçası 3a (C3a- SinoGenClon Biotech Lot: SG-00437) ve insan tamamlayıcı parçası 5b (C5b-SinoGenClon Biotech Lot: SG-00442) protokole uygun bir şekilde çalışıldı.

Kuyucuklara 40 µl standart, 10 µl serum örneği, 50 µl dilüsyon solüsyonu eklendi. Plate seal ile kapatılarak 37°C 30 dakika inkübasyona bırakıldı. Bu işlemlerden sonra tüm kuyucuklar aspire edildi ve her kuyucuğa 350 µl Wash Buffer eklendi ve daha sonra solüsyon ile aspire edildi. Bu işlem 5 kez tekrar edildikten sonra kuyucuklara 50 µl HRP-Konjugat solüsyonu eklenip seal ile kapatılıp 37°C 30 dakika inkübasyona bırakıldı. Daha önceki yıkama işlemi ile aynı olacak şekilde 5 kez yıkama yapıldı. Daha sonra kuyucuklara 50 µl kromojen çözeltisi A, 50 µl kromojen çözeltisi B eklendi ve 37°C 15 dakika inkübasyona bırakıldı. Son olarak kuyucuklara 50 µl durdurma solüsyonu eklenip absorbansları 450 nm’de spektrofotometre cihazında ölçüldü. Serumdaki C1q, C3a ve C5b miktarı, sırasıyla 0-135 ng/mL, 0-2700 pg/mL ve 0-270 pg/mL arasında değişen standartların absorbansı ile oluşturulan standard blanklere dayanarak belirlendi. Tüm çalışmalar üç kere tekrarlandı ve standard sapmaları ($\pm$) hesaplandı.

3.3. İmmünohistokimyasal Analiz

Hastaların parafin blokları İnönü Üniversitesi Turgut Özal Tıp Merkezi Patoloji Laboratuvarından temin edildi. Parafin blokları hastane yazılım sisteminden biyopsi örnekleri alınarak arşiv bölümünden alındı.

3.4. İmmünohistokimyasal Değerlendirme

İmmünohistokimya (İHK) boyaması İnönü Üniversitesi Turgut Özal Tıp Merkezi Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı laboratuvarında yapıldı. Bu amaçla gruplara ait doku örneklerinden mikrotom cihazıyla (Leica RM 2255) 3µm kalınlığında doku kesitleri adhezi (pozitif şarjlı) lam üzerine alındı. Örneklerin İHK boyaması İnönü Üniversitesi Turgut Özal Tıp Merkezi Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı laboratuvarı altyapısında bulunan, tam otomatik İHK cihazında (Dako Omnis–Agilent, Santa Clara, CA, United States) çalışıldı.

Adeziv lama (IHC Microscope Slides, FLEX, Dako) alınan TMA kesitler 60°C etüvde bir saat inkübe edildikten sonra tam otomatik İHK cihazında deparafinizasyon

işlemi Clearify (American MasterTech) ile yapıldı. Antijen geri kazanımı amacıyla primer antikor üreticisinin önerisine uygun olarak Yüksek pH antijen retrieval (Target Retrieval Solution Envision Flex, Dako Omnis) kullanıldı. Deney düzeneğinde yer alan CD-59 (Katolog No:MA119133) antikor 1:50 oranında dilüe edildi (Antibody Diluent, katolog No:MA119133Dako, 5301 Stevens Creek Blvd Santa Clara, CA 95051 United States). Ön çalışmayla 20 dakika olarak belirlenen primer antikor inkübasyon süresiyle primer antikor inkübe edildi. Hedef antijene bağlanan CD59 antikorun görüntülenmesinde, Görüntüleme kiti olarak EnVision FLEX System (Agilent Dako 5301 Stevens Creek Blvd. Santa Clara, CA 95051 United States) kullanıldı ve işlem adımları ve süreleri üreticinin önerdiği sırayla, standart uygulama adım ve süreleri ile çalışıldı. Kromojen olarak DAB kromojen kullanıldı ve standart sürede inkübe edildi. Doku örneklerinin zıt boyamasında *Mayer's* hematoksilin kullanıldı (Tablo 3.13).

Tablo 3.13. İHK boyama skor tablosu

Yaygınlık		Yoğunluk	
Boyama Dağılımı	Derece	Boyama Yoğunluğu	Derece
Hücrelerin boyanma oranı %0	0	Negatif	0
Hücrelerin boyanma oranı %1-10	1	Zayıf	1
Hücrelerin boyanma oranı %11-50	2	Orta	2
Hücrelerin boyanma oranı %51-80	3	Güçlü	3
Hücrelerin boyanma oranı %81-100	4		

3.5. İstatistiksel Değerlendirme

Veriler ortanca (Çeyrekler arası aralık =IQR) ve %95 güven aralıkları ile özetlendi. Normal dağılıma uygunluk Kolmogorov-Smirnov testi ile incelendi. Verilerin normal dağılım göstermemesi durumu gözlemlendiğinden dolayı istatistiksel analizlerde Wilcoxon işaretli sıralar testi kullanıldı. Ayrıca korelasyon analizi için sperman rho korelasyon analizi ile değişkenlere ilişkin korelasyon katsayıları hesaplandı ve değişkenler arasındaki ilişkinin gücü ve yönü incelendi. $P < 0.05$ değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. Analizlerde IBM SPSS Statistics 27.0 versiyonu kullanıldı.

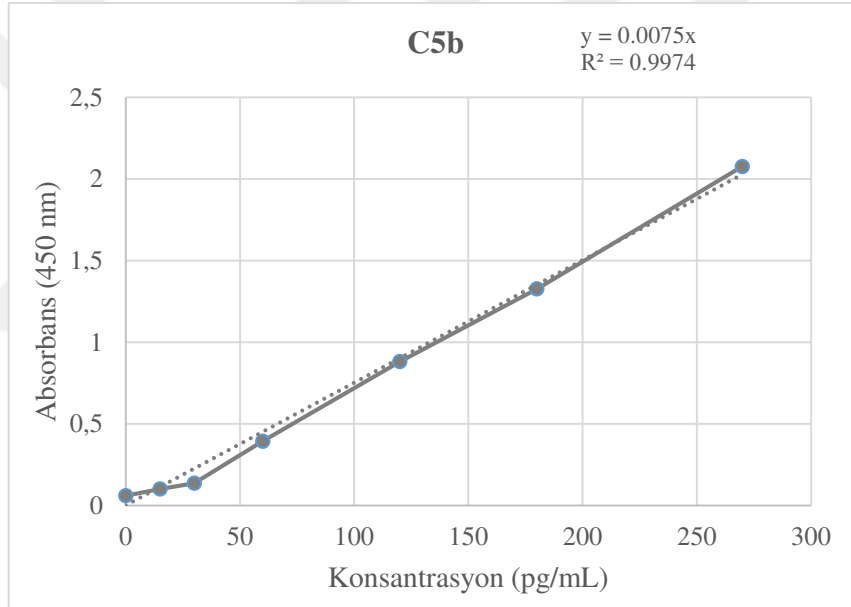
4. BULGULAR

4.1. Biyokimyasal Analizler

4.1.1. ELISA Analizleri

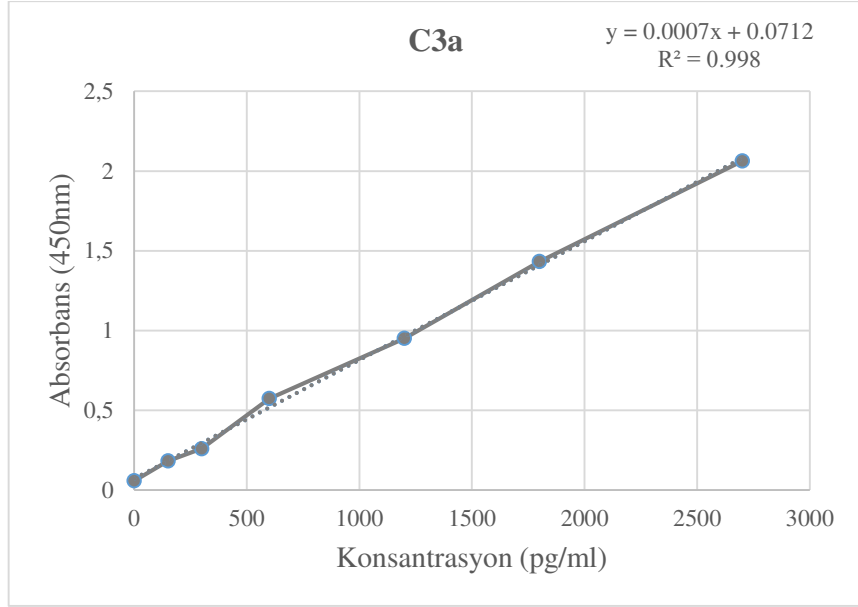
Tez çalışmamızda 24 (%50) mAb tedavisi alan hasta ve 24 (%50) mAb tedavisi almayan hasta şeklinde iki gruptan oluşan 48 gönüllüden alınan kan örneklerinden ELISA yöntemi ile kompleman proteinleri incelendi.

MAb alan hasta grubu için C5b ortalaması 96.04 pg / mL olarak bulunurken, MAb almayan hasta grubu için C5b ortalaması 105.32 pg / mL olarak bulundu. Hesaplamalar Şekil 4.1’de görünen C5b standart konsantrasyon grafiğine göre yapıldı.



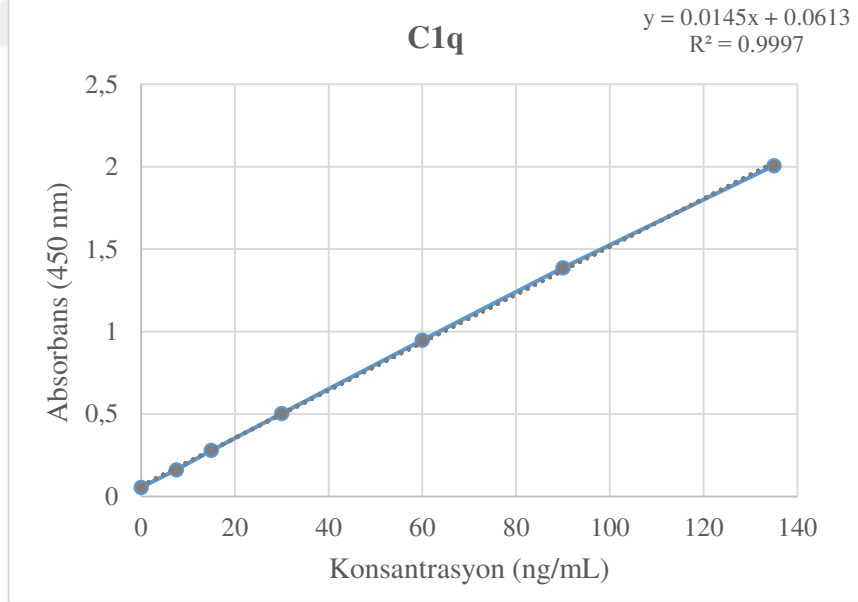
Şekil 4.1. C5b standart eğri grafiği

MAb alan hasta grubu için C3a ortalaması 552.44 pg / mL olarak bulunurken, MAb almayan hasta grubu için C3a ortalaması 483.99 pg / mL olarak bulundu. Hesaplamalar Şekil 4.2’de görünen C3a standart konsantrasyon grafiğine göre yapıldı.



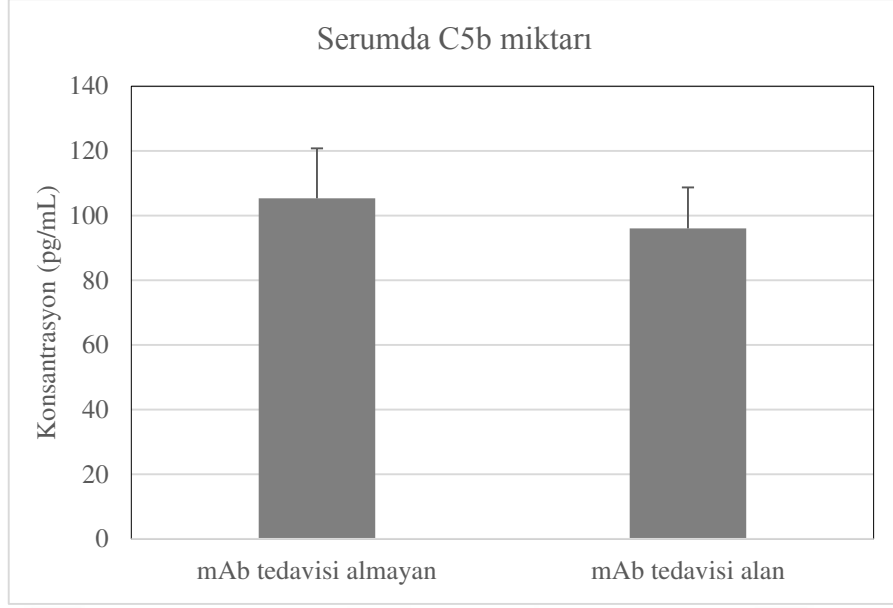
Şekil 4.2. C3a standart eğri grafiği

MAb alan hasta grubu için C1q ortalaması 33.09 ng / mL olarak bulunurken, MAb almayan hasta grubu için C1q ortalaması 26.58 ng / mL olarak bulundu. Hesaplamalar Şekil 4.3'te görünen C1q standart konsantrasyon grafiğine göre yapıldı.



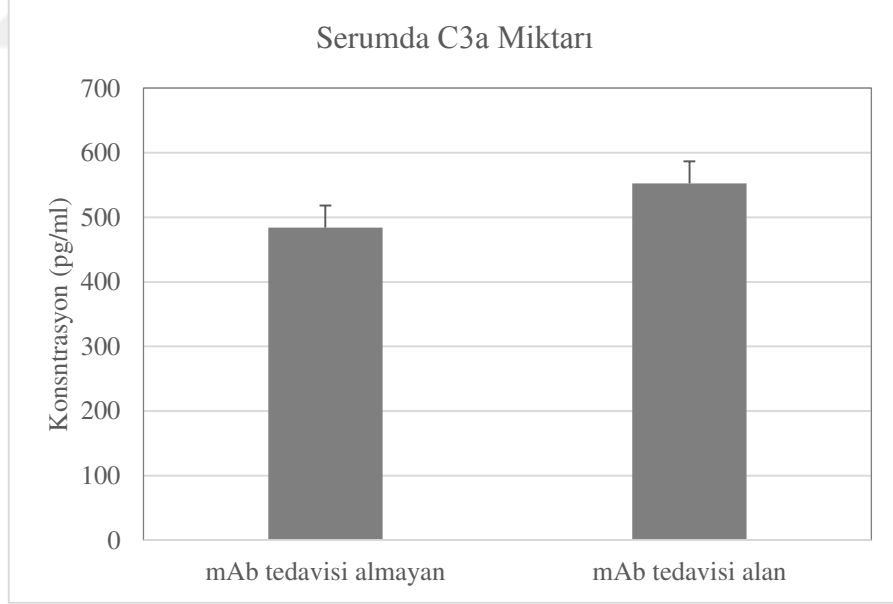
Şekil 4.3. C1q standart eğri grafiği

MAb tedavisi alan ve almayan hasta gruplarında serum C5b protein seviyelerinin karşılaştırılması yapıldığında, mAb tedavisi almayan hasta grubunun almayan gruba göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulundu ($p < 0.05$) (Şekil 4.4).



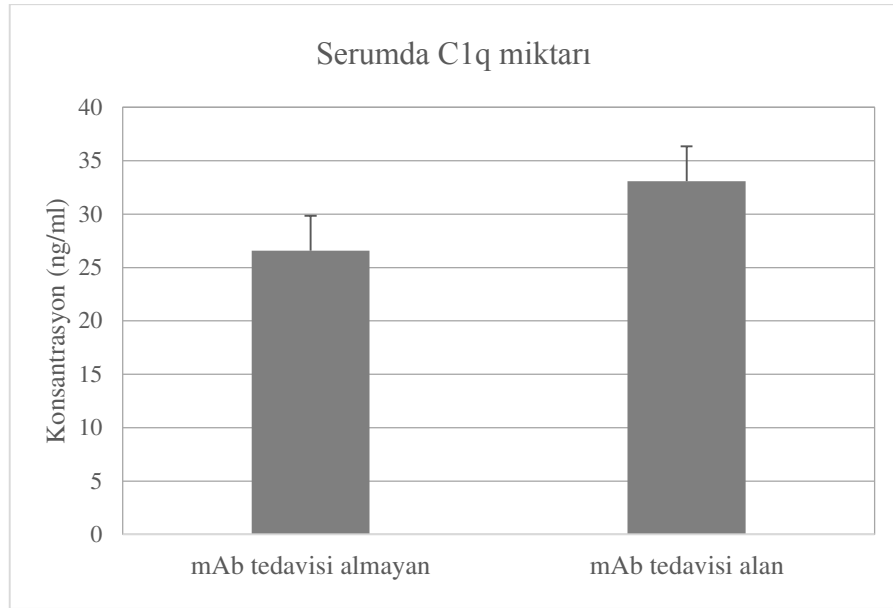
Şekil 4.4. Hasta gruplarında serumda C5b ekspresyon seviyesinin karşılaştırılması

MAB tedavisi alan ve almayan hasta gruplarında serum C3a seviyelerinin karşılaştırılması yapılan ELISA deneyi sonucunda mAb tedavisi alan hasta grubunda istatistiksel olarak anlamlı bir artış gözlemlendi ($p < 0.05$) (Şekil 4.5).



Şekil 4.5. Hasta gruplarında serumda C3a ekspresyon seviyesinin karşılaştırılması

MAB tedavisi alan ve almayan hasta gruplarında serum C1q seviyelerinin karşılaştırılması yapılan ELISA deneyi sonucunda mAb tedavisi alan hasta grupta, almayan gruba kıyasla istatistiksel olarak anlamlı bir artış gözlemlendi ($p < 0.05$) (Şekil 4.6).



Şekil 4.6. Hasta gruplarında serumda C1q ekspresyon seviyesinin karşılaştırılması

Çalışmamızda, mAb tedavisi alan ve almayan hasta grupları arasındaki üç değişkenin (C5b, C3a ve C1q) karşılaştırmalı analizi Tablo 4.1’de sunuldu. Tabloda her değişken için medyan ve çeyrekler arası aralık (IQR) ile birlikte %95 güven aralığı gösterildi. Wilcoxon işaretli sıra testinden elde edilen p-değeri her karşılaştırma için raporlandı. Her üç değişken de mAb alan ve almayan hasta grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar ($p < 0.001$) göstermektedir. Sadece kemoterapi alan hasta grubuna kıyasla mAb tedavisi alan hasta grubunda C3a ve C1q değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı bir yükselme görülürken C5b’de azalma tespit edildi. Hasta ve kontrol gruplarındaki sayı 30’dan az olduğu için yapılan analizler ortalama olarak değil, medyan ve çeyrekler arası olarak analiz değerlendirmesi yapıldı.

Tablo 4.1. C5b, C3a ve C1q biyobelirteçlerinin hasta ve kontrol grupları açısından incelenmesi.

Değişkenler	Gruplar				P-değeri
	mAb tedavisi almayan		mAb tedavisi alan		
	Median (IQR)	%95 güven aralığı	Median(IQR)	%95 güven aralığı	
C5b	93.64 (13.31)	(270.26-115.06)	89.42 (22.73)	(178.7-107.92)	<0.001
C3a	398.57 (175)	(2005.71-612.86)	445 (303.57)	(1977.14-734.29)	<0.001
C1q	23.69 (6.38)	(102.66-27.83)	30.24 (14.31)	(84.03-39.55)	<0.001

*: Wilcoxon işaretli sıralar testi; IQR: çeyrekler arası aralık

Çalışmada kullanılan nicel değişkenlere ilişkin bağımsız değişkenler C5b, C3a ve C1q değişkenleri arasındaki Spearman korelasyon ilişkisi Tablo 4.1’de gösterildi. C5b ve

C3a arasındaki ilişkiler güçlü ve pozitif yönlü ilişki vardır ($r = 0.664$, $p < 0.001$), fakat C5b ve C1q değişkenler arasındaki ilişki istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı. ($r = 0.07$, $p = 0.635$) ve C3a ve C1q değişkenler arasındaki ilişki istatistiksel olarak anlamlı değildir ($r = 0.213$, $p = 0.145$). C5b ve C3a arasındaki güçlü korelasyon vardır, bu iki değişken arasında istatistiksel olarak anlamlı bir bağlantı olduğunu ve C5b değişkenin bir birimlik artışı C3a değişkenin 0,664 birim etkileyeceğini ifade etmektedir. Diğer iki değişken (C5b- C1q, C3a- C1q) arasında güçlü korelasyon ve istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p > 0.05$) (Tablo 4.2).

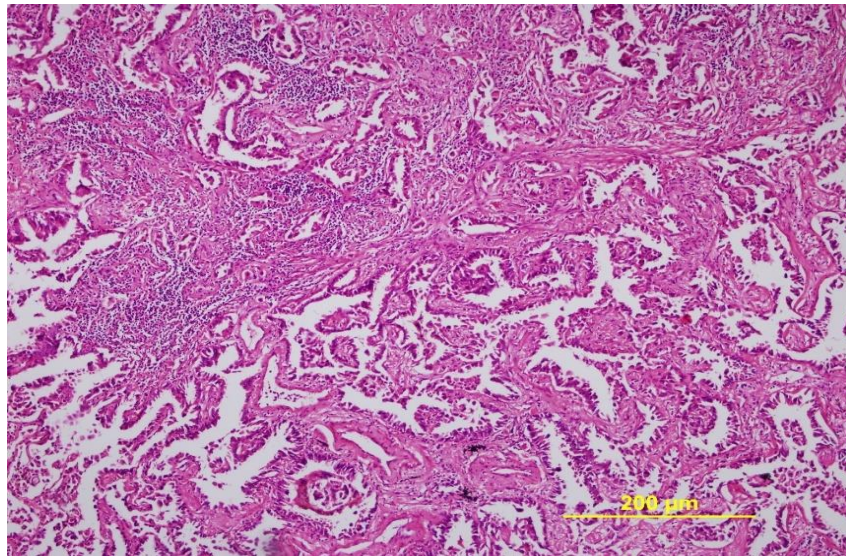
Tablo 4.2. Korelasyon değerleri ve güven aralıkları

Değişken ilişkileri	Korelasyon değeri	P-değeri	95% Güven aralıkları
C5b - C3a	0.664	0.001*	(0.461-0.80)
C5b - C1q	0.07	0.635*	(-0.226-0.335)
C3a - C1q	0.213	0.145*	(-0.084-0.476)

*: Sperman korelasyon

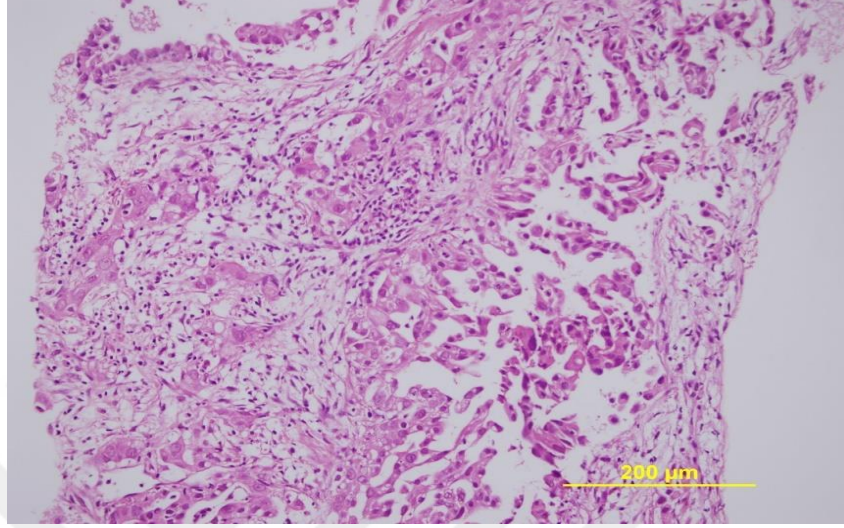
4.2. Histopatolojik Bulgular

Sadece kemoterapi alan küçük hücreli dışı akciğer karsinom (KHDAK) kontrol grubu hastaları ile kemoterapi sonrası monoklonal antikor tedavisi alan KHDAK hasta gruplarına ait biyopsi dokuları CD59 immunekspresyonları açısından değerlendirildi. Çalışmamıza dahil olan akciğer kanser dokularında yapılan H&E boyalarında, asiner patern adenokarsinom (Şekil 4.7) izlendi.

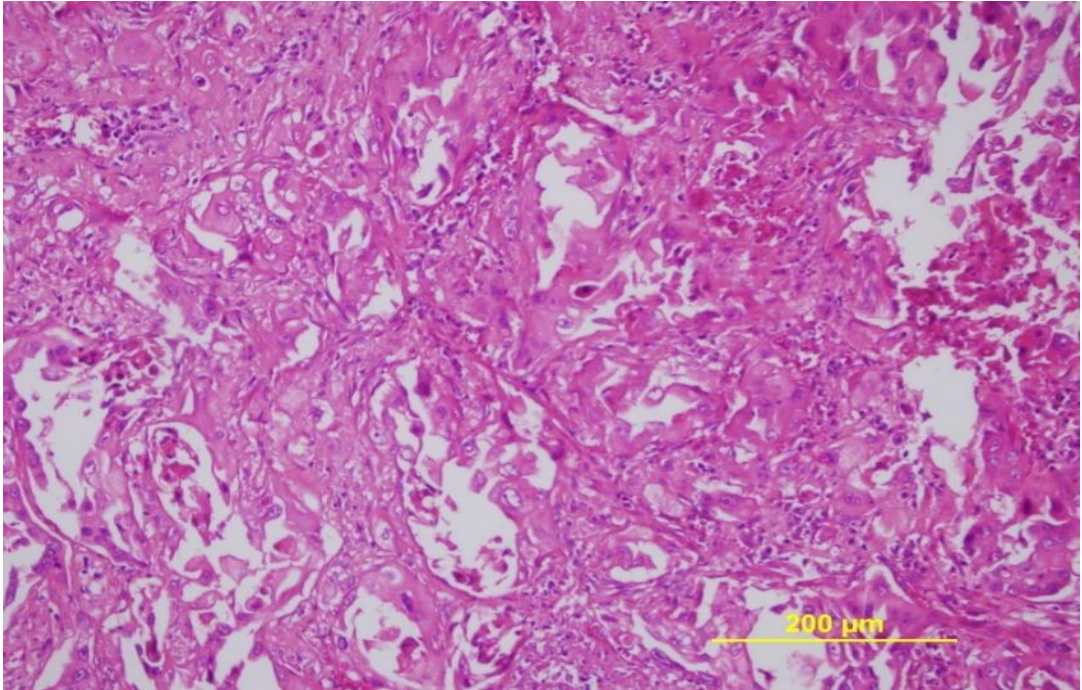


Şekil 4.7. Nonmüsinöz adenokarsinom; myofibroblastik stroma içerisinde irregüler glandüler alanlar, H&EX100.

Çalışamıza dahil olan akciğer kanser dokularında yapılan H&E boyalarında lepidik patern, mikropapiller patern (Şekil 4.8) ve solid adenokarsinom ve skuamöz hücreli karsinom (Şekil 4.9) tipleri izlendi.

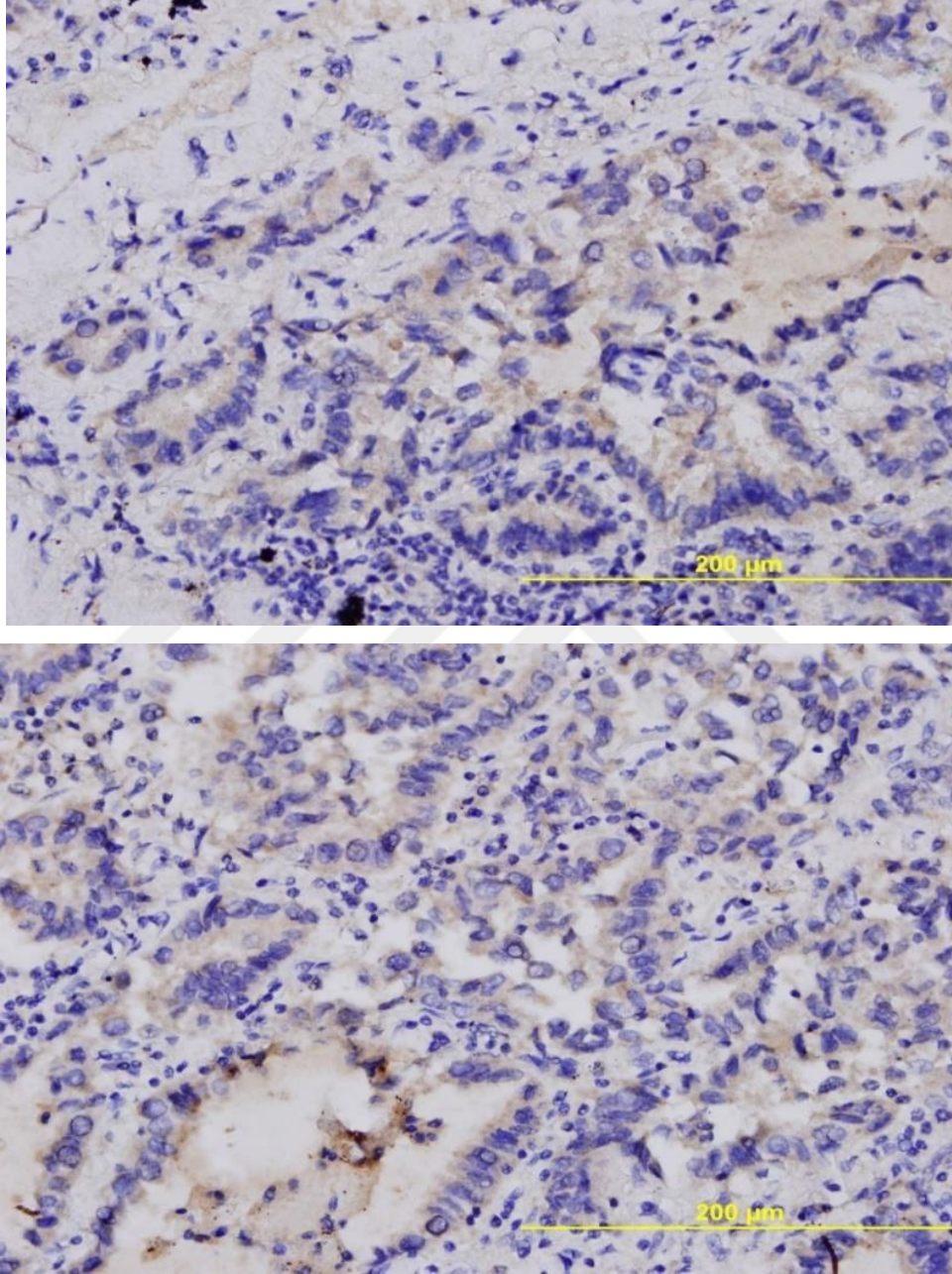


Şekil 4.8. Mikropapiller paternde adenokarsinom; fibrovasküler kor içermeyen mikropapiller morfolojide tümöral alanlar, H&E x200.



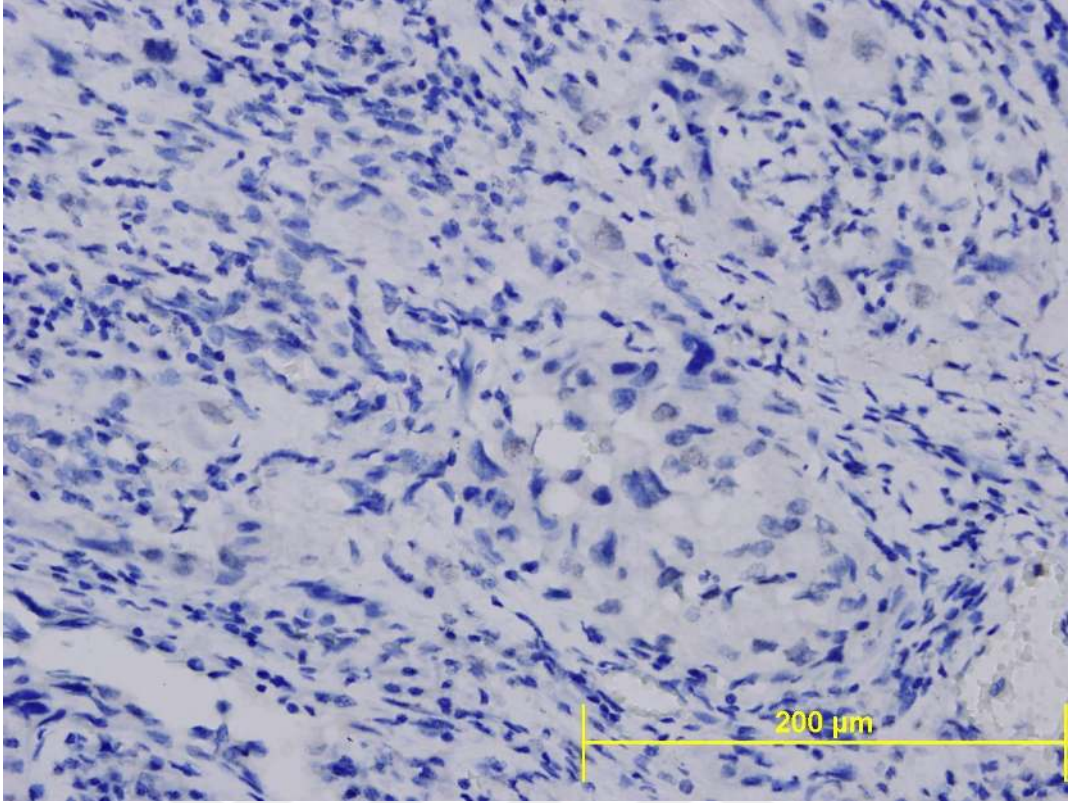
Şekil 4.9. Skuamöz hücreli akciğer karsinomu; desmoplastik, inflamatuvar hücrelerden zengin stroma içerisinde, geniş solid adalar tarzında eozinofilik sitoplazmalı, oval-yuvarlak nükleuslu, belirgin nükleollü hücrelerden oluşan tümör H&Ex400.

24 kontrol hasta grubu ve 24 Pembrolizumab ya da Nivolumab tedavisi alan hasta grubuna ait örneklerde yapılan immünohistokimyasal çalışma sonucunda, CD59 immunekspresyonu sadece mAb tedavisi almayan 2 hasta da zayıf sitoplazmik boyanma şeklinde gözlemlendi (Şekil 4.10).

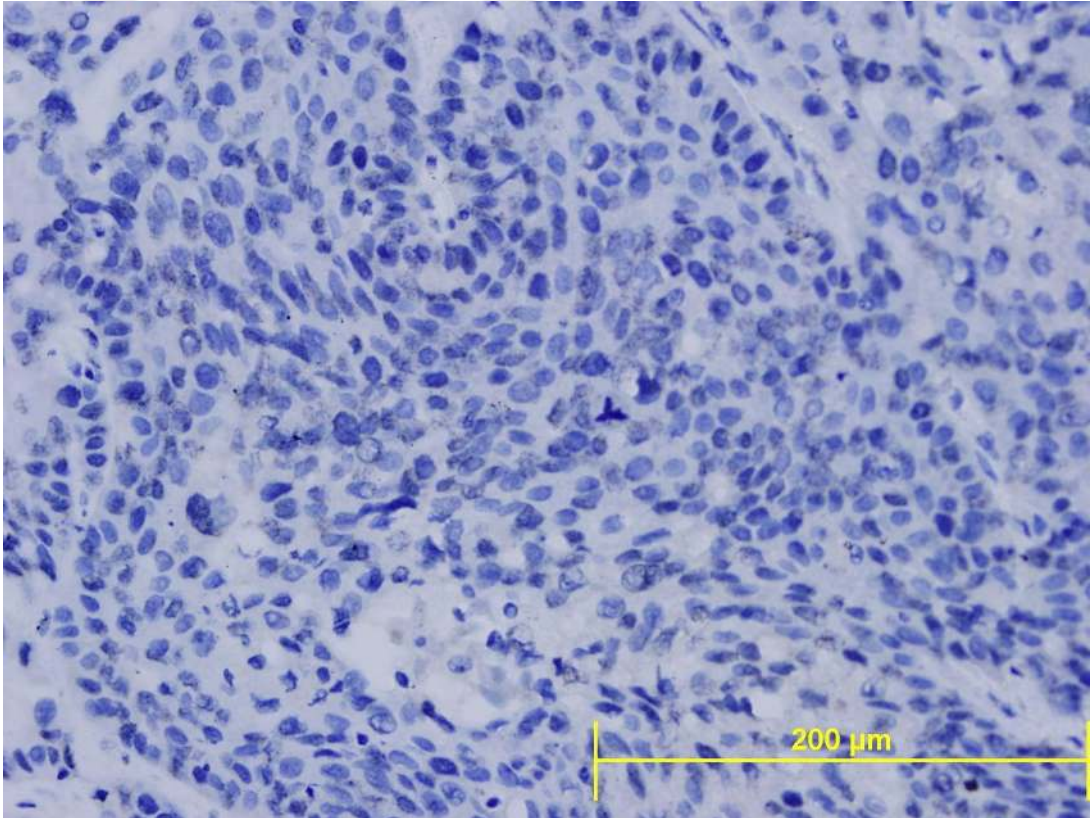


Şekil 4.10. mAb tedavisi almayan 2 hastada CD 59 zayıf sitoplazmik boyanma, x200.

24 kontrol hasta grubuna ait örneklerde yapılan immünohistokimyasal çalışma sonucunda, CD59 immunekspresyonu boyanma izlenmeyen örnekler Şekil.4.11 ve Şekil.4.12’de gösterildi.



Şekil.4.11. mAb tedavisi almayan CD59 sitoplazmik boyanma, x200.



Şekil.4.12 mAb tedavisi almayan CD59 sitoplazmik boyanma, x200.

5. TARTIŞMA

Akciğer kanser tedavisinde immünoterapi önemli bir terapötik yaklaşım olarak ortaya çıkmıştır. Uzun yıllar boyunca akciğer kanserinin immünolojik bir kanser olmadığı düşünülse de, son çalışmalar bunun tam tersini göstermiştir. Aslında, bir alt tür olarak akciğer adenokarsinomu, en immünolojik tümör tiplerinden biridir. İmmünoterapi hem küçük hücre dışı akciğer kanseri hem de skuamöz hücreli karsinom için aktif olarak araştırılmaktadır. Kanser hücreleri, hücrel proteinlerin değişen düzeylerini ifade edebilmeleri veya mutasyona uğramış proteinleri üretme yetenekleri sayesinde bağışıklık sistemi tarafından tanınabilir. Ancak, tümörler nadiren aktifleşmiş T hücreleri tarafından tamamen yok edilir. Kanser hücreleri başlangıçta adaptif bağışıklık sistemi tarafından tanınır, ancak zamanla kanser hücreleri, T hücre aracılı tümör hücrelerini öldürmeyi engelleyen immünsüpresif yolları devreye sokarak buna uyum sağlar. İmmünsüpresif yolların hedef alınması, sitotoksik T hücrelerinin yeniden aktifleşmesine ve tümörün ortadan kaldırılmasını sağlayabilir (12). Bugüne kadar akciğer adenokarsinomunda PD-1/PD-L1 yolunu hedefleyen immün kontrol noktası inhibitörleri olan birçok monoklonal antikorlar onay almıştır.

PD-1'i hedef alan bir bağışıklık kontrol noktası inhibitörü olan Nivolumab ve Pembrolizumab, özellikle diğer kemoterapilerle birleştirildiğinde akciğer kanseri hastalarında sağkalım oranlarında iyileşme gösterilmiştir (100). Ancak kompleman bileşenlerin varlığı tedaviyi önemli ölçüde etkileyebilir. Kompleman bileşenleri C1q, C3a ve C5b arasındaki etkileşim ve Nivolumab ve Pembrolizumab'ın akciğer kanseri tedavisindeki etkinliği, tümör büyümesini ve bağışıklık tepkisini etkileyen karmaşık mekanizmaları ortaya koymaktadır. Ayrıca lokal kompleman protein üretimi ve sistemik aktivasyonda kanserde dikkatlice değerlendirilmelidir.

Başlangıçta, kompleman sisteminin aktivasyonunun, özellikle antikor aracılı tümör hücresi öldürmesi yoluyla, tümör oluşumunu ve ilerlemesini engelleyecek bir strateji olabileceği düşünülmüştür. Bu modele uygun olarak, genetik bir meme kanseri fare modelinde, kompleman C3'ün tamamen çıkarıldığı farelerde kendiliğinden gelişen meme karsinomu oluşumu hızlanmıştır (101). Bu durum, tümör mikroçevresinde daha immünsüpresif bir ortamı teşvik eden değişikliklerle ilişkilidir. Özellikle, C3 kaybı durumunda düzenleyici T hücrelerinde (Treg'ler) artış gözlemlenmiştir. Bu,

anafilatoksinlerin Treg'lerin gelişimi ve tümör bölgesine göçünü düzenlediğini gösteren diğer çalışmalarla da uyumludur.

Kombine immünoterapi, tedavi etkinliğini artırmak için etkili bir yöntemdir. Çalışmamızda hastalar kemoterapi ile immün kontrol noktası inhibitörlerinden PD-1'e hedeflenen Nivolumab ya da Pembrolizumab almışlardır. Kemoterapi sonrası bir mAb olan Nivolumab ya da Pembrolizumab alan hastaların serumlarında C1q ve C3a seviyelerinin sadece kemoterapi alan hastalara göre daha yüksek olduğu ve mAb alan hasta grubunda istatistiksel olarak daha anlamlı ($p<0,001$) olduğu bulunmuştur.

Zhang ve arkadaşları (2021) yaptıkları çalışmada akciğer kanser hastalarının çoğu immün kontrol noktası inhibitörleri (ICI'lar) ile kemoterapi veya anti-anjiyogenez tedavisi almışlardır (102). Farklı cinsiyet, yaş, patolojik tip, Ki-67 indeksi ve uygulanan immünoterapi sayısına göre tedavi etkinliği açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır. Tedavi öncesinde ve tedaviden üç hafta sonra daha yüksek C1q düzeylerine sahip hastalarda objektif yanıt oranı daha yüksek bulunmuştur. Aynı zamanda, immünoterapi sonrasında C1q düzeyleri yükselen hastalarda tedavi etkinliğinin daha iyi olduğu tespit edilmiştir.

C1q kompleman aktivasyonundaki rolünden bağımsız olarak tümör büyümesini ve metastazı teşvik etmede rol oynar. Yüksek C1q seviyeleri, bağışıklık kontrol noktası inhibitörleri alan hastalarda zayıf prognozla ilişkilidir ve bu da bağışıklık baskılayıcı bir tümör mikroçevresini düşündürmektedir (103). C3a ve C5b'nin etkisi PD-1 inhibisyonuyla birlikte C5a blokajı akciğer kanseri büyümesini azaltmada ve sağkalım oranlarını artırmada sinerjik etkiler göstermiştir. C3a'nın bağışıklık tepkilerini düzenlemedeki rolü daha az tanımlanmıştır ancak Nivolumab etkinliğini etkileyen genel bağışıklık kazanmasına katkıda bulunabilir. Bunun aksine, yüksek C1q seviyeleri kötü bir prognoza işaret edebilirken, aynı zamanda tümör mikroçevresini değiştirerek PD-1/PD-L1'e hedeflenen monoklonal antikorların etkinliğini artırabilecek tedaviler için potansiyel olabileceğide öne sürülmektedir (104). C1q, kompleman sisteminin bir parçasıdır ve bağışıklık hücrelerinin patojenlere ve kanser hücrelerine daha etkili bir şekilde yanıt vermesini sağlayan bir bileşiktir. C1q, bağışıklık yanıtının başlatılmasında rol oynar, ancak aşırı aktive olduğunda inflamasyonun artmasına ve potansiyel yan etkilere neden olabilir. Nivolumab tedavisi, bağışıklık sisteminin kanser hücrelerini daha hızlı tanıyıp hedef almasını sağlasada, C1q seviyelerinin düzenli bir şekilde izlenmesi önemlidir. C1q, kompleman sisteminin başlangıç proteini olarak, bağışıklık yanıtının başlatılmasında önemli bir rol oynar. Çalışmamızda elde edilen verilere göre, Nivolumab

tedavisi gören hastalarda C1q düzeylerinde anlamlı bir artış gözlemlenmiştir. Bu bulgu, Nivolumabın immün yanıtı güçlendirmesi ve kompleman sistemini aktive etmesiyle ilişkilendirilebilir.

Cho ve diğerleri, tamamlayıcı efektör bileşiklerin lokal üretimi ve aktivasyonunun tümör büyümesini önemli ölçüde desteklediğini bildirmiştir. Kompleman sistemin klasik yolunun tanıma alt bileşeni olarak C1q, bağışıklık komplekslerini ve istilacı patojenleri ortadan kaldırmaktan sorumludur. C1r ve C1s tarafından tanındığında, ligand tamamlayıcı aktivasyonunu tetikler (104,97). Çalışmalar, C1q ekspresyonunun çeşitli insan tümörlerinin mikro ortamında arttığını ve bunun tümör gelişimini destekleyebileceğini ya da engelleyebileceğini göstermiştir (105,106).

Jeff W. Kwak ve arkadaşları yaptıkları çalışmada fare modellerinde gözlemledikleri benzer şekilde, insan akciğer tümörü örneklerinin bir alt kümesinde klasik kompleman aktivasyon belirteçlerini gözlemlemişlerdir. Bu belirteçler anafilatoksinlerin, özellikle C3a ve C5a'nın sistemik seviyelerinin, T hücrelerinin tümöre infiltrasyonu üzerindeki artan rolü, bu yolu hedeflemenin, bağışıklık kontrol noktası inhibitörleriyle birlikte kullanılacak yeni bir terapötik yaklaşım olabileceğini ileri sürmektedir (107).

Hossein Borghaei ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada sadece Nivolumab ile 12.2 ay (95% güven aralığı [GA], 9.7 - 15.0) ve docetaksel ile 9.4 ay (95% GA, 8.1 - 10.7) tespit edilmiştir bu durum Nivolumab ile %27 daha düşük ölüm riskini göstermiştir (106). Bizim çalışmamızda ise mAb alan hasta grubunda güven aralığı (84.03-39.55) mAb almayan hasta grubunda ise güven aralığı (102.66-27.83) bulundu ($p<0.001$). Bu veriler Nivolumab tedavisi alan hastaların genel sağ kalım oranları ve tümör iyileşmesi hakkında özellikle kompleman sistemi üzerinde daha çok önem verilmesini göstermektedir.

Kompleman sistemi, özellikle C3a ve C5a anafilatoksinleri aracılığıyla tümör mikroçevresinde immün kaçışı teşvik ederek akciğer kanseri ilerlemesini destekler. C3 ve C5a reseptörlerinin aktivasyonu, PI3K/AKT yoluyla tümör büyümesini artırır (108).

Akciğer kanserinde C3a'nın rolü, tümör büyümesi ve bağışıklık sistemi etkileşimleri açısından önemlidir. Bir araştırmada, komplemanın tümör büyümesi ve metastazı belirgin şekilde engellediği ve bu durumun C3a'nın immün sistemi düzenleyerek tümörün gelişimini teşvik ettiği öne sürülmüştür (109).

Kompleman sistemin bir bileşeni olan C1q, akciğer kanserinde, özellikle küçük hücreli olmayan akciğer kanserinde KHDAK önemli bir rol oynar. Tümör ilerlemesi ve

kötü prognozla ilişkilidir. C1q, KHDAK ve idiyopatik pulmoner fibroziste upregüle bulunmuştur ve yüksek seviyeler her iki durumda da kötü prognozla ilişkilidir. Bu, C1q'nun potansiyel bir tanı veya prognoz biyobelirteci olarak hizmet edebileceğini düşündürmektedir. C1q, kanser hücresi yapışmasını (adezyon), göçünü ve çoğalmasını teşvik ederek tümör büyümesine katkıda bulunur. Tümörlerin stroma ve vasküler endotelinde ifade edilir, vasküler yoğunluğu ve metastazı artırır. C1q geleneksel olarak kompleman sistemi aktive etmesiyle bilinsede, kanserdeki rolü büyük ölçüde bu yoldan bağımsızdır ve kemik iliği dışındaki hücreler tarafından lokal sentez yoluyla etki eder (110).

C1q, makrofaj M2 polarizasyonunu teşvik ederek tümör mikro çevresini etkiler ve bu da antitümör bağışıklık tepkisini engelleyen bir bağışıklık baskılayıcı ortama yol açar. C1q+ tümör ilişkili makrofajlar (TAM'ler), bağışıklık baskılanmasına ve tümör ilerlemesine katkıda bulunan yağ asidi metabolizmasını artırır. Bu yolların hedeflenmesi, immünoterapinin etkinliğini artırabilir (111). İmmünoterapiden önce ve sonra yüksek serum C1q düzeyleri daha iyi terapötik sonuçlarla ilişkilidir ve bu, akciğer kanseri hastalarında kombine immünoterapinin etkinliğini tahmin etmede bir belirteç olarak potansiyelini düşündürmektedir (112). C1q ve C3a düzeylerinin Nivolumab tedavisi gören hastalarda anlamlı bir şekilde arttığı görülmüştür. C1q, kompleman sisteminin aktivasyonunu başlatan önemli bir molekül olup, tedaviye bağlı olarak bağışıklık sisteminin aktive olduğunu ve kanser hücrelerinin tanınarak immün hücreler tarafından hedef alındığını gösterebilir. Nivolumab tedavisinin, T hücrelerinin kanser hücrelerini tanıyıp saldırmasını teşvik etmesiyle birlikte, C1q'ın daha fazla aktive olduğu ve dolayısıyla düzeylerinin yükseldiği düşünülmektedir. Benzer şekilde, C3a, kompleman sisteminin aktivasyonu sonucunda oluşan ve inflamasyonu teşvik eden bir peptid olup, tedaviye yanıt olarak düzeylerinde artış gözlemlenmiştir. C3a'nın, immün hücreleri bölgeye çekme ve bağışıklık yanıtını pekiştirme işlevi, bu tedavi sürecinde önemli bir rol oynayabilir. Bu artış, tedavinin bağışıklık sistemini güçlü bir şekilde aktive ettiğini ve kanser hücrelerine karşı daha etkin bir savunma mekanizması oluşturduğunu gösteriyor olabilir. C5b, kompleman sisteminin son aşamalarına ait bir molekül olup, hücre lizisini sağlayan ve immün yanıtı sonlandıran bir bileşiktir.

Çalışmamızda, C5b seviyelerinin mAb tedavisi almayan hasta grubunda anlamlı şekilde arttığı gözlemlenmiştir. MAb tedavisi almayan hasta grubunda görülen artış, kompleks bağışıklık yanıtlarının aktif olduğunu yansıtabilir. Nivolumab tedavisi alan hastalarda ise C5b düzeyleri, almayan hasta grubuyla kıyaslandığında belirgin bir artış

göstermemiştir. Bu durum, tedavi sırasında kompleman sisteminin son aşamasına ulaşan bir aktivasyonun daha az gerçekleştiğini veya tedaviyle birlikte bu aşamanın daha kontrollü bir şekilde düzenlendiğini düşündürebilir.

Yapılan preklinik ve klinik çalışmalar, kompleman sistemi ile kompleman düzenleyici proteinler (CRP'ler) arasındaki bağlantının, kanserin patogenezi ve kanser mikroçevresiyle ilişkili olduğunu göstermiştir. CRP'ler, kompleman aktivasyonunu sınırlayarak 'kendine ait' hücreleri korur. CRP'lerin ifadesi, sadece normal hücreleri değil, aynı zamanda kanser hücrelerini de kompleman saldırısından korur. CD59, membrana bağlı bir CRP olup, glikosilfosfatidilinositol (GPI) ile zara tutunan bir membran proteinidir ve membran saldırı kompleksinin (MAC) oluşumunu engelleyerek kompleman aktivasyonunu düzenler. Kanser hücrelerinde CD59'un yüksek düzeyde ifade edilmesi, yalnızca kompleman sisteminin işlevini engellemekle kalmaz, aynı zamanda çeşitli sinyal yolları aracılığıyla hücreleri apoptoz (programlanmış hücre ölümü) kaskad reaksiyonlarından da doğrudan koruyabilir. Son araştırmalarda CD59'un bağışıklık hücrelerinin aktivitelerini de etkilediği gösterilmiştir. Tümör mikroçevresinde CD59, hem tümör hücrelerinin davranışlarını hem de bağışıklık hücrelerinin aktivitelerini etkileyebilir. Bu nedenle CD59, kanser immünoterapisi için umut vadeden yeni bir hedef olarak değerlendirilmektedir (113).

Çalışmamızda monoklonal antikor tedavisi alan hastaların dokularında CD59 immünekspreyonu gözlenmezken, antikor tedavisi almayan hastaların dokularında zayıf sitoplazmik boyanma gözlemlendi. Bu durum akciğer adenokarsinomlu hastalarda antikor tedavisinin CD59 ekspresyonunu baskıladığını göstermektedir.

Nivolumab ve Pembrolizumab, PD-1 yolunu inhibe ederek bağışıklık sisteminin kanser hücrelerine karşı daha güçlü bir yanıt oluşturmalarını hedefler. Ancak, C1q, C3a ve C5b gibi bileşenlerin seviyeleri tedaviye olan yanıtı etkileyebilir. Araştırmalar, bu bileşenlerin seviyesi ile tedavi etkinliği arasında bir ilişki olduğunu göstermektedir. Bu biyomarkerlerin seviyelerinin yüksek olması, bağışıklık sisteminin kanser hücrelerine karşı daha güçlü bir saldırı yapmasına yardımcı olabilir. Bununla birlikte, aşırı aktive olan kompleman sistemi, tedavi sırasında istenmeyen yan etkilere yol açabilir. Bu nedenle, bu bileşenlerin dengeli bir şekilde izlenmesi önemlidir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Kompleman sistemi ve PD-1 arasındaki ilişki, immünoterapilerdeki etkinliği ve bağışıklık yanıtının güçlendirilmesini etkileyebilir. PD-1 inhibitörleri, bağışıklık sisteminin kanser hücrelerini tanıyıp yok etmesini sağlarken, bu süreçte kompleman sistemi de aktifleşebilir. Her iki sistemin etkileşimi, tedavi etkinliğini artırabilir ancak otoimmün yan etkiler de dahil olmak üzere dikkat edilmesi gereken bazı olumsuz sonuçlara yol açabilir. Bu nedenle, immünoterapilerin daha verimli ve güvenli hale gelmesi için bu iki sistem arasındaki etkileşimlerin daha fazla araştırılması gereklidir.

CD59 boyanma düzeyi ile hasta prognozu, nüks riski ve tedavi yanıtı arasındaki ilişkiler klinik takip verileriyle desteklenerek analiz edilmesi, CD59'un prognostik biyobelirteç olarak kullanılabilirliğini değerlendirmek açısından önemlidir.

CD59 ekspresyonunun immünoterapiye yanıt üzerindeki etkisi, özellikle kontrol noktası inhibitörleri ile birlikte değerlendirilmelidir.

Çalışmamızda mAb tedavisi alan hastaların kompleman yolaklarında özellikle C1q'nun artışı tedavi yanıtı etkileyerek sağ kalım oranını önemli ölçüde etkilediği görülmüştür. Kompleman yolaklarının daha fazla hasta üzerinde incelenmesi akciğer kanseri ve diğer kanser çeşitlerinde etkileşimlerinin daha fazla araştırılması gereklidir.

KAYNAKLAR

1. Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, CA Cancer J Clin. 2016;66:7–30.
2. Meuwissen R, Linn SC, Linnoila RI, Zevenhoven J, Mooi WJ, Berns A. Induction of small cell lung cancer by somatic inactivation of both Trp53 and Rb1 in a conditional mouse model. Cancer Cell. 2003;4:181–9.
3. Garon EB, Rizvi NA, Hui R, Leighl N, Balmanoukian AS, Eder JP, et al. Pembrolizumab for the treatment of non-small-cell lung cancer. N Engl J Med. 2015;372:2018–28
4. Paz-Ares L, Luft A, Vicente D, Tafreshi A, Gumus M, Mazieres J, et al. Pembrolizumab plus chemotherapy for squamous non-small-cell lung cancer. N Engl J Med. 2018;379:2040–51
5. Cullis J, Das S, Bar-Sagi D. Kras and tumor immunity: friend or foe? Cold Spring Harb Perspect Med. 2018;8:1–22.
6. Zahavi D, Weiner L. Monoclonal antibodies in cancer therapy. Antibodies (Basel). 2020;9(3):34.
7. Patel D, Bassi R, Hooper A, Prewett M, Hicklin DJ, Kang X. Anti-epidermal growth factor receptor monoclonal antibody cetuximab inhibits EGFR/HER-2 heterodimerization and activation. Int. J. Oncol. 2009;34:25–32.
8. Maadi H, Soheilifar MH, Choi WS, Moshtaghian A, Wang Z. Trastuzumab mechanism of action; 20 years of research to unravel a dilemma. Cancers (Basel). 2021;13(14):3540
9. Di Gaetano N, Cittera E, Nota R, Vecchi A, Grieco V, Scanziani E, Botto M, Introna M, Golay J. Complement activation determines the therapeutic activity of rituximab in vivo. J. Immunol. 2003;171:1581-87.
10. Weiner LM, Surana R, Wang S. Monoclonal antibodies: versatile platforms for cancer immunotherapy. Nat. Rev. Immunol. 2010;10:317-27.
11. Bareke H, Akbuga J. Complement system's role in cancer and its therapeutic potential in ovarian cancer. Scand J Immunol. 2018;88(1):e12672
12. Kleczko EK, Kwak JW, Schenk EL, Nemenoff RA. Targeting the complement pathway as a therapeutic strategy in lung cancer. Front Immunol. 2019;10:954.
13. Shigematsu H, Gazdar AF. Somatic mutations of epidermal growth factor receptor signaling pathway in lung cancers. Int J Cancer. 2006;118:257–62.

14. Jemal A, Bray F, Center MM, Ferlay J, Ward E, Forman D. Global cancer statistics. *CA Cancer J Clin*. 2011;61:69-90.
15. Sung H, Ferlay J, Siegel RL, Laversanne M, Soerjomataram I, Jemal A, Bray F. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J. Clin*. 2021;71: 209-49.
16. Cancer. Available online: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/cancer> accessed on. Son erişim tarihi 19 February 2023.
17. Kwak EL, Bang YJ, Camidge DR, Shaw AT, Solomon B, Maki RG, et al. Anaplastic lymphoma kinase inhibition in non-small-cell lung cancer. *N Engl J Med*. 2010;363(18):1693-703.
18. Inamura K, Takeuchi K, Togashi Y, Hatano S, Ninomiya H, Motoi N, et al. EML4-ALK lung cancers are characterized by rare other mutations, a TTF-1 cell lineage, an acinar histology, and young onset. *Mod Pathol*. 2009;22(4):508-15.
19. Koivunen JP, Mermel C, Zejnullahu K, Murphy C, Lifshits E, Holmes AJ, et al. EML4-ALK fusion gene and efficacy of an ALK kinase inhibitor in lung cancer. *Clin Cancer Res*. 2008;14(13):4275-83.
20. Rikova K, Guo A, Zeng Q, Possemato A, Yu J, Haack H, et al. Global survey of phosphotyrosine signaling identifies oncogenic kinases in lung cancer. *Cell*. 2007;131(6):1190-203.
21. Bergethson K, Shaw AT, Ou SH, Katayama R, Lovly CM, McDonald NT, et al. ROS1 rearrangements define a unique molecular class of lung cancers. *J Clin Oncol*. 2012;30(8):863-70
22. Shaw AT, Ou SH, Bang YJ, Camidge DR, Solomon BJ, Salgia R, et al. Crizotinib in ROS1-rearranged non-small-cell lung cancer. *N Engl J Med*. 2014;371(21):1963-71
23. Shigematsu H, Takahashi T, Nomura M, Majmudar K, Suzuki M, Lee H, et al. Somatic mutations of the HER2 kinase domain in lung adenocarcinomas. *Cancer Res*. 2005;65(5):1642-46
24. Perera SA, Li D, Shimamura T, Raso MG, Ji H, Chen L, et al. HER2YVMA drives rapid development of adenosquamous lung tumors in mice that are sensitive to BIBW2992 and rapamycin combination therapy. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2009;106(2): 474-9.
25. Riely GJ, Kris MG, Rosenbaum D, Marks J, Li A, Chitale DA, et al. Frequency and distinctive spectrum of KRAS mutations in never smokers with lung adenocarcinoma. *Clin Cancer Res*. 2008;14(18):5731-4.

26. Pao W, Wang TY, Riely GJ, Miller VA, Pan Q, Ladanyi M, et al. KRAS mutations and primary resistance of lung adenocarcinomas to gefitinib or erlotinib. *PLoS Med.* 2005;2(1):e17.
27. Paik PK, Arcila ME, Fara M, Sima CS, Miller VA, Kris MG, et al. Clinical characteristics of patients with lung adenocarcinomas harboring BRAF mutations. *J Clin Oncol.* 2011;29(15):2046–205.
28. Kayser K, Nwoye JO, Kosjerina Z, Goldmann T, Vollmer E, Kaltner H, et al. Atypical adenomatous hyperplasia of lung: its incidence and analysis of clinical, glycohistochemical and structural features including newly defined growth regulators and vascularization. *Lung Cancer.* 2003;42(2):171-82.
29. Mukherji M, Brill LM, Ficarro SB, Hampton GM, Schultz PG. A phosphoproteomic analysis of the erbb2 receptor tyrosine kinase signaling pathways. *Biochemistry.* 2006;45(51):15529-40.
30. Jiang H, Xu A, Xia W, Xia X, Li P, Zhang B, et al. Nivolumab monotherapy or combination therapy with ipilimumab for lung cancer: a systemic review and meta-analysis [published correction appears in *Cancer Cell Int.* 2021;21(1):520.
31. Castelli MS, McGonigle P, Hornby PJ. The pharmacology and therapeutic applications of monoclonal antibodies 2019;7(6):e00535.
32. Buono R, Longo VD. Starvation, stress resistance, and cancer. *Trends Endocrinol. Metab.* 2018;29:271-80.
33. Melero I, Hervas-Stubbs S, Glennie M, Pardoll DM, Chen L. Immunostimulatory monoclonal antibodies for cancer therapy. *Nat Rev Cancer* 2007;7:95–106.
34. Jin S, Sun Y, Liang X, Gu X, Ning J, Xu Y, Chen S, Pan L. Emerging new therapeutic antibody derivatives for cancer treatment. *Signal Transduct. Target Ther.* 2022;7:39.
35. Moussavou G, Ko K, Lee JH, Choo YK. Production of monoclonal antibodies in plants for cancer immunotherapy. *Biomed Res Int.* 2015:306164.
36. Tan S, Li D, Zhu X. Cancer immunotherapy: pros, cons and beyond. *Biomed. Pharmacother.* 2020;124:109821.
37. Tang Y, Cain P, Anguiano V, Shih JJ, Chai Q, Feng Y. Impact of IgG subclass on molecular properties of monoclonal antibodies. *MAbs.* 2021;13(1):1993768.
38. Bayer V. An overview of monoclonal antibodies. *Semin Oncol Nurs.* 2019;35(5):150927.

39. Kennedy PJ, Oliveira C, Granja PL, Sarmiento B. Monoclonal antibodies: technologies for early discovery and engineering. *Crit Rev Biotechnol.* 2018;38(3):394-408.
40. Irani V, Guy AJ, Andrew D, Beeson JG, Ramsland PA, Richards JS. Molecular properties of human IgG subclasses and their implications for designing therapeutic monoclonal antibodies against infectious diseases. *Mol Immunol.* 2015;67(2 Pt A):171-82.
41. Mao JJ, Pillai GG, Andrade CJ, Ligibel JA, Basu P, Cohen L, Khan IA, Mustian KM, Puthiyedath R, Dhiman KS, et al. Integrative oncology: addressing the global challenges of cancer prevention and treatment. *CA Cancer J. Clin.* 2022;72:144-64.
42. Adams GP, Weiner LM. Monoclonal antibody therapy of cancer. *Nat Biotechnol.* 2005;23(9):1147-57.
43. Iannello A, Ahmad A. Role of antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity in the efficacy of therapeutic anti-cancer monoclonal antibodies. *Cancer Metastasis Rev* 2005;24:487-99.
44. Wang W, Erbe AK, Hank JA, Morris ZS, Sondel PM: NK cell-mediated antibody-dependent cellular cytotoxicity in cancer immunotherapy. *Front Immunol* 2015;6:368.
45. Kurai J, Chikumi H, Hashimoto K, Yamaguchi K, Yamasaki A, Sako T, et al. Antibody-dependent cellular cytotoxicity mediated by cetuximab against lung cancer cell lines. *Clin Cancer Res* 2007;13:1552-61.
46. Kohrt HE, Houot R, Weiskopf K, Goldstein MJ, Scheeren F, Czerwinski D, et al. Stimulation of natural killer cells with a CD137-specific antibody enhances trastuzumab efficacy in xenotransplant models of breast cancer. *J Clin Invest* 2012;122:1066-75.
47. Hafeez U, Gan HK, Scott AM. Monoclonal antibodies as immunomodulatory therapy against cancer and autoimmune diseases. *Curr Opin Pharmacol.* 2018 Aug;41:114-121
48. Rogers LM, Veeramani S, Weiner GJ: Complement in monoclonal antibody therapy of cancer. *Immunol Res* 2014;59:203-10.
49. Mamidi S, Cinci M, Hasmann M, Fehring V, Kirschfink M. Lipoplex mediated silencing of membrane regulators (CD46, CD55 and CD59) enhances complement-dependent anti-tumor activity of trastuzumab and pertuzumab. *Mol Oncol* 2013;7:580-94.

50. Weiner LM, Surana R, Wang S. Monoclonal antibodies: versatile platforms for cancer immunotherapy. *Nat Rev Immunol* 2010;10:317-27.
51. Carlino MS, Larkin J, Long GV. Immune checkpoint inhibitors in melanoma. *Lancet*. 2021;398(10304):1002-1014.
52. Giangreco A, Groot KR, Janes SM. Lung cancer and lung stem cells: strange bedfellows? *Am J Respir Crit Care Med*. 2007;175(6):547-53.
53. Tan S, Day D, Nicholls SJ, Segelov E. Immune checkpoint inhibitor therapy in oncology: current uses and future directions. *JACC CardioOncol*. 2022;4(5):579-97.
54. Lee JB, Ha SJ, Kim HR. Clinical insights into novel immune checkpoint inhibitors, *Front Pharmacol*. 2021;12:681320.
55. Singh S, Hassan D, Aldawsari HM, Molugulu N, Shukla R, Kesharwani P. Immune checkpoint inhibitors: A promising anticancer therapy, *Drug Discov Today*. 2020;25(1):223-29.
56. Wilky BA. Immune checkpoint inhibitors: The linchpins of modern immunotherapy, *Immunol Rev*. 2019;290(1):6-23.
57. Fife BT, Bluestone JA. Control of peripheral T-cell tolerance and autoimmunity via the CTLA-4 and PD-1 pathways. *Immunol. Rev*. 2008;224:166-82.
58. Dong H, Strome SE, Salomao DR, Tamura H, Hirano F, Flies DB, et al. Tumor-associated B7-H1 promotes T-cell apoptosis: a potential mechanism of immune evasion. *Nat. Med*. 2002;8(9):1039.
59. Iwai Y, Ishida M, Tanaka Y, Okazaki T, Honjo T, Minato N. Involvement of PD-L1 on tumor cells in the escape from host immune system and tumor immunotherapy by PD-L1 blockade. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 2002;99(19): 12293-97.
60. Hirano F, Kaneko K, Tamura H, Dong H, Wang S, Ichikwa M, et al. Blockade of B7-H1 and PD-1 by monoclonal antibodies potentiates cancer therapeutic immunity. *Cancer Res*. 2005;65(3):1089-96.
61. John LB, Devaud C, Duong CP, Young CS, Beavis PA, Haynes NM, et al. Anti-PD-1 antibody therapy potently enhances the eradication of established tumors by gene-modified T cells. *Clin. Cancer Res*. 2013;19(20):5636-46.
62. Sharpe AH, Pauken KE. The diverse functions of the PD1 inhibitory pathway, *Nat Rev Immunol*. 2018;18(3):153-67.
63. Shergold AL, Millar R, Nibbs RJB. Understanding and overcoming the resistance of cancer to PD-1/PD-L1 blockade, *Pharmacol Res*. 2019;145:104258.

64. Pang K, Shi ZD, Wei LY, Dong Y, Ma YY, Wang W, et al. Research progress of therapeutic effects and drug resistance of immunotherapy based on PD-1/PD-L1 blockade. *Drug Resist Updat*. 2023;66:100907.
65. Ishida Y, Agata Y, Shibahara K, Honjo T. Induced expression of PD-1, a novel member of the immunoglobulin gene superfamily, upon programmed cell death, *EMBO J*. 1992;11(11):3887-95.
66. Neel BG, Gu H, Pao L. The 'Shp'ing news: SH2 domain-containing tyrosine phosphatases in cell signaling, *Trends Biochem Sci*. 2003;28(6):284-93.
67. Chambers CA, Kuhns MS, Egen JG, Allison JP. CTLA-4-mediated inhibition in regulation of T cell responses: mechanisms and manipulation in tumor immunotherapy. *Annu Rev Immunol*. 2001;19:565-94.
68. Collins AV, Brodie DW, Gilbert RJ, Laboni A, Manso-Sancho R, Walse B, et al. The interaction properties of costimulatory molecules revisited. *Immunity*. 2002;17:201-10.
69. Egen JG, Kuhns MS, Allison JP. CTLA-4: new insights into its biological function and use in tumor immunotherapy. *Nat Immunol*. 2002;3:611-8.
70. Parry RV, Chemnitz JM, Frauwirth KA, Lanfranco AR, Braunstein I, Kobayashi SV, et al. CTLA-4 and PD-1 receptors inhibit T-cell activation by distinct mechanisms. *Mol Cell Biol*. 2005;25:9543-53.
71. Fallarino F, Fields PE, Gajewski TF. B7-1 engagement of cytotoxic T lymphocyte antigen 4 inhibits T cell activation in the absence of CD28. *J Exp Med*. 1998;188:205-10.
72. Corke L, Sacher A. New Strategies and combinations to improve outcomes in immunotherapy in metastatic non-small-cell lung cancer. *Curr Oncol* 2021;29:38-55.
73. Wang Y, Wang H, Yao H, Li C, Fang JY, Xu J. Regulation of PD-L1: emerging routes for targeting tumor immune evasion. *Front. Pharmacol*. 2018;9:536.
74. Brahmer JR, Hammers H, Lipson EJ. Nivolumab: targeting PD-1 to bolster antitumor immunity. *Future Oncol* 2015;11(9):1307-26.
75. Borghaei H, Paz-Ares L, Horn L, Spigel DR, Steins M, Ready NE, et al. Nivolumab versus docetaxel in advanced nonsquamous non-small-cell lung cancer. *N Engl J Med*. 2015;373(17):1627-39.
76. Borghaei H, Gettinger S, Vokes EE, Chow LQM, Burgio MA, Castro Carpeno J, et al. Five-year outcomes from the randomized, phase III trials CheckMate 017 and

057: nivolumab versus docetaxel in previously treated non-small-cell lung cancer, J. Clin. Oncol. 2021;39(7):723-33.

77. Daugan M, Noe R, Herman Fridman W, Sautes-Fridman C, Roumenina LT. Le système du complément - Une épée à double tranchant dans la progression tumorale [The complement system: a double edge sword in tumor progression]. Med Sci (Paris). 2017;33(10):871-7.
78. Hodi SJ, O'Day DF, McDermott RW, Weber J A, Sosman JB, Haanen R, et al. Improved survival with ipilimumab in patients with metastatic melanoma, N. Engl. J. Med. 2010;363(8):711-23.
79. Lee A, Sun S, Sandler A, Hoang T. Recent progress in therapeutic antibodies for cancer immunotherapy. Curr Opin Chem Biol. 2018 Jun;44:56-65.
80. Srivastava N, McDermott D. Update on benefit of immunotherapy and targeted therapy in melanoma: the changing landscape. Cancer Manag Res, 2014;6:279-89
81. Lu RM, Hwang YC, Liu IJ, Lee CC, Tsai HZ, Li HJ, et al. Development of therapeutic antibodies for the treatment of diseases. J. Biomed. Sci 2020;27:1.
82. Zhang J, Yan Y, Li J, Adhikari R, Fu, PD-1/PD-L1 based combinational cancer therapy: icing on the cake. Front. Pharmacol. 2020;11:722.
83. Chinen J, Finkelman F, Shearer WT. Advances in basic and clinical immunology. J Allergy Clin Immunol 2006;118:489-95.
84. Raedler LA. Keytruda (Pembrolizumab): first PD-1 inhibitor approved for previously reated unresectable or metastatic melanoma. Am Health Drug Benefits. 2015;8(Spec Feature):96-100.
85. Atwal D, Joshi KP, Ravilla R, Mahmoud F. Pembrolizumab-induced pancytopenia: a case report. Perm J. 2017;21:17-004.
86. Kharghan VA. The role of the complement system in cancer. J Clin Invest 2017;127(3):780-7.
87. Kareem S, Jacob A, Mathew J, Quigg RJ, Alexander JJ. Complement: functions, location and implications. Immunology. 2023;170(2):180-92.
88. Kishore U, Ghebrehwet B. Editorial: A Molecular Bridge to Innate and Adaptive Immunity. Front Immunol. 2020;11:417.
89. Beltrame MH, Catarino SJ, Goeldner I, Boldt AB, de Messias-Reason IJ. The lectin pathway of complement and rheumatic heart disease. Front Pediatr. 2015;2:148.

90. Ricklin D, Hajishengallis G, Yang K, Lambris JD. Complement: a key system for immune surveillance and homeostasis. *Nat Immunol* 2010;11:785-97.
91. Ballanti E, Perricone C, Greco E, Ballanti M, Di Muzio G, Chimenti MS, et al. Complement and autoimmunity. *Immunol Res* 2013;56:477-91.
92. Chen JY, Cortes C, Ferreira VP. Properdin: A multifaceted molecule involved in inflammation and diseases. *Mol Immunol*. 2018;102:58-72.
93. Sarma JV, Ward PA. The complement system. *Cell Tissue Res*. 2011;343(1):227-35.
94. Wetsel RA. Structure, function and cellular expression of complement anaphylatoxin receptors. *Curr Opin Immunol*. 1995;7:48–53.
95. Bareke H, Akbuga J. Complement system's role in cancer and its therapeutic potential in ovarian cancer. *Scand J Immunol* 2018;81:e12672.
96. Detsika MG, Palamaris K, Dimopoulou I, Kotanidou A, Orfanos SE. The complement cascade in lung injury and disease. *Respir Res*. 2024 Jan 4;25(1).
97. Hussain N, Das D, Pramanik A, Pandey MK, Joshi V, Pramanik KC. Targeting the complement system in pancreatic cancer drug resistance: a novel therapeutic approach. *Cancer Drug Resist* 2022;5(2):317-327.
98. Geller A, Yan J. The role of membrane bound complement regulatory proteins in tumor development and cancer immunotherapy. *Front Immunol* 2019;10:1074.
99. Ling M, Murali M. Analysis of the complement system in the clinical immunology laboratory. *Clin Lab Med*. 2019;39(4):579-590.
100. Imai, K, Takaoka A. Comparing antibody and small-molecule therapies for cancer. *Nat. Rev. Cancer* 2006;6,714-27.
101. Bulla R, Tripodo C, Rami D, Ling GS, Agonistic C, Guarnotta C, et al. C1q acts in the tumour microenvironment as a cancer-promoting factor independently of complement activation. *Nat Commun*. 2016;7:10346.
102. Bandini S, Curcio C, Macagno M, Quaglino E, Arigoni M, Lanzardo S, et al. Early onset and enhanced growth of autochthonous mammary carcinomas in C3-deficient Her2/neu transgenic mice. *Oncoimmunology*. 2013;2(9):e26137.
103. Zhang D, Li Y, Li H, Tang T, Zheng Y, Guo X, et al. A preliminary study of the complement component 1q levels in predicting the efficacy of combined immunotherapy in patients with lung cancer. *Cancer Manag Res*. 2021;13:7131-37.
104. Ajona D, Ortiz-Espinosa S, Moreno H, Lozano T, Pajares MS, Argoreta J, et al. A combined PD-1/C5a blockade synergistically protects against lung cancer growth and metastasis. *Cancer Discov*. 2017;7(7):694-703.

105. Kishore U, Reid KB. C1q: structure, function, and receptors. *Immunopharmacology*. 2000;49(1–2):159-70.
106. Agostinis C, Vidergar R, Belmonte B, Mangogna A, Amadio L, Geri P, et al. Complement protein C1q binds to hyaluronic acid in the malignant pleural mesothelioma microenvironment and promotes tumor growth. *Front Immunol*. 2017;8:1559.
107. Kwak JW, Laskowski J, Li HY, McSharry MV, Sippel TR, Bullock BL, et al. Complement activation via a C3a receptor pathway alters CD4+ T lymphocytes and mediates lung cancer progression. *Cancer Res*. 2018;78(1):143-56.
108. Borghaei H, Paz-Ares L, Horn L, Spigel DR, Steins M, Ready NE, et al. Nivolumab versus docetaxel in advanced nonsquamous non–small-cell lung cancer. *N Engl J Med* 2015;373:1627-39.
109. Lu J, Kishore U. C1 complex: an adaptable proteolytic module for complement and non-complement functions. *Front Immunol*. 2017;8:592.
110. Bulla R, Tripodo C, Rami D, et al. C1q acts in the tumour microenvironment as a cancer-promoting factor independently of complement activation. *Nat Commun*. 2016;7:10346.
111. Tang J, Fu Y, Song Y, Yin J, Wang J, Arasanz H, et al. Increasing serum complement component 1q is associated with worse prognosis in advanced non-small cell lung cancer treated with immune checkpoint inhibitors: a single-center, retrospective study. *J Thorac Dis*. 2024;16(5):3251-9.
112. Ajona D, Zanduetta C, Corrales L, Moreno H, Pajares MJ, Ortiz-Espinosa S, et al. Blockade of the complement C5a/C5aR1 axis impairs lung cancer bone metastasis by CXCL16-mediated effects. *Am J Respir Crit Care Med*. 2018;197(9):1164-76.
113. Zhang R, Liu Q, Liao Q, Zhao Y. CD59: a promising target for tumor immunotherapy, *Future Oncol*. 2018;14(8):781-91.

EKLER

EK-1. Özgeçmiş



EK-2. Etik Kurul Kararı



