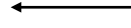


BURCU İSEN LİK

İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ SAĞ. BİL. ENST.

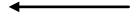
YÜKSEK LİSANS TEZİ

İSTANBUL-2019

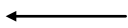


Adınızı soyadınızı giriniz

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



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



Tez Sınavının yapılacağı yılı yazınız

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

(YÜKSEK LİSANS TEZİ)

**T HÜCRE İMMÜNİTESİNDE FONKSİYON GÖSTEREN
CTLA-4 GEN VARYANTLARININ KÜÇÜK HÜCRELİ DIŞI
AKCİĞER KANSERİYLE OLASI İLİŞKİSİNİN
ARAŞTIRILMASI**

BURCU İSEN LİK

**DANIŞMAN
PROF. DR. İLHAN YAYLIM**

**MOLEKÜLER TIP ANABİLİM DALI
MOLEKÜLER TIP PROGRAMI**

İSTANBUL-2019

TEZ ONAYI

YÜKSEK LİSANS TEZİ ONAYI

İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İ.Ü. Aziz Sancar Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü Moleküler Tıp Anabilim Dalı, Moleküler Tıp Yüksek Lisans Programı öğrencisi **Burcu Kaya İSENLIK**'ın tarafından **Prof. Dr. İlhan YAYLIM** 'ın danışmanlığında hazırlanan **"T Hücre İmmünesinde Fonksiyon Gösteren CTLA-4 Gen Varyantlarının Küçük Hücreli Dışı Akciğer Kanseriyle Olası İlişkisinin Araştırılması"** başlıklı tez aşağıdaki jüri üyeleri tarafından 29/07/2019 tarihinde yapılan Tez Savunma Sınavında başarılı bulunmuş ve Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Başkanı
(Danışman)
Prof. Dr. İlhan YAYLIM
İ.Ü. Aziz Sancar DETAE
Moleküler Tıp Anabilim Dalı

Jüri

Prof. Dr. M. Temel YILMAZ
İ.Ü. İstanbul Tıp Fakültesi Dahili
Tıp Bil. Böl. İç Hastalıkları A.D.



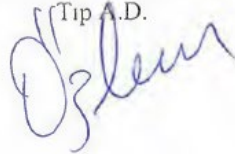
Jüri

Prof. Dr. Ali Osman GÜROL
İ.Ü. Aziz Sancar DETAE
İmmünoloji A.D.



Jüri

Doç. Dr. Özlem KÜÇÜKHÜSEYİN
İ.Ü. Aziz Sancar DETAE Moleküler
Tıp A.D.



Jüri

Dr. Öğr. Üyesi Cem HOROZOĞLU
İstanbul Gelişim Üniv. Tıbbi Hizmet ve
Teknik A.D.



BEYAN

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



Burcu İSENLIK

İTHAF

Annem Serpil Kaya'ya ithaf ediyorum.

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim süresince danışmanlığımı üstlenen, beni destekleyen, verdiği değerli bilgiler ve zaman için değerli danışman hocam Prof. Dr. İlhan Yaylın'a,

Tüm öğrenim hayatım boyunca attığım her adımda yanımda olan ve beni destekleyen çok kıymetli hocam Prof. Dr. Temel Yılmaz'a,

Tezim için gerekli hasta seçimi, örneklerin sağlanması ve klinik bilgilendirmedeki katkılarından dolayı Prof. Dr. Akif Turna'ya teşekkür ederim.

Ayrıca, tez çalışmam boyunca büyük özveriyle yardım eden Msc. Şeyda Demirkol, Dr. Tolgahan Hakan ve Msc. Dilara Sönmez'e teşekkür ederim.

Ayrıca çok sevgili çalışma arkadaşım Roya Mashadiyeva'ya teşekkür ederim.

Ayrıca bu çalışmaya katılmak için onam veren tüm kanser hastalarına teşekkür ederim.

Son olarak, sevgili annem Serpil Kaya, babam Kadir Kaya, abim Sezgin Kaya, ablam Buket Dural ve eşim Türker İsenlik'e maddi manevi destekleri için teşekkür ederim.

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: TYL-2018-25437

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI	II
BEYAN	III
İTHAF	İV
TEŞEKKÜR.....	V
İÇİNDEKİLER	Vİİ
TABLolar LİSTESİ	Vİİİİ
ŞEKİLLER LİSTESİ	İX
SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ.....	X
ÖZET	Xİİ
ABSTRACT.....	Xİİİ
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. AKCİĞER ANATOMİSİ	2
2.2. AKCİĞER KANSERİ	3
2.2.1. AKCİĞER KANSERİ PATOGENEZİ.....	4
2.2.2. AKCİĞER KANSERİNDE HİSTOPATOLOJİK SINIFLANDIRMA.....	5
2.2.3. AKCİĞER KANSERİNDE TNM EVRELEMESİ.....	8
2.2.4. EPIDEMİYOLOJİ.....	10
2.2.5. AKCİĞER KANSERİNDE ÇEVRESEL RISK FAKTÖRLERİ	12
2.2.6. AKCİĞER KANSERİNDE KALITIMSAL RISK FAKTÖRLERİ	13
2.2.7. ETİYOLOJİ.....	13
2.3. AKCİĞER KANSERİ TEDAVİSİ	14
2.3.1. İMMUN-ONKOLOJİ TERAPİLER.....	14
2.4. CTLA-4'ÜN YAPISI, KROMOZOMAL YERİ VE FONKSİYONU	16
2.5. CTLA-4 İNHİBİTÖRLERİ	18
3. GEREÇ VE YÖNTEM	21
3.1. ÖRNEKLERİN TOPLANMASI	21
3.2. KULLANILAN GEREÇLER.....	21
3.3. KULLANILAN MATERYALLER:.....	21
3.4. KULLANILAN ÇÖZELTİLER:	22

3.5. KULLANILAN LABORATUVAR İŞLEMLERİ:	23
3.5.1. TUZLA ÇÖKTÜRME YÖNTEMİ İLE DNA İZOLASYONU	23
3.5.2. PCR (POLİMERAZ ZİNCİR REAKSİYONU)	23
3.5.3. RESTRİKSİYON FRAGMENT UZUNLUK POLİMORFİZMİ.....	24
3.5.4. AGARUZ JEL ELEKTROFOREZİ.....	24
3.5.5. SERUM CTLA-4 DÜZEYİNİN ELİSA YÖNTEMİ İLE TAYİNİ.....	24
3.5.6. İSTATİSTİKSEL İNCELEMELER	25
4. BULGULAR.....	26
5. TARTIŞMA	33
KAYNAKLAR	37
HAM VERİLER	45
FORMLAR	58
ETİK KURUL KARARI	60
İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI.....	61
ÖZGEÇMİŞ	62

TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 2.1. Akciğer tümörlerinde histolojik sınıflandırma	6
Tablo 2.2. T Faktörü; primer tümör değerlendirmesi	8
Tablo 2.3. N Faktörü; Lenf nodu değerlendirmesi	9
Tablo 2.4. M Faktörü; Uzak metastazın değerlendirmesi.....	9
Tablo 2.5. TNM'ye göre evre grupları.....	10
Tablo 2.6. Kanserde vaka dağılımı	11
Tablo 4.1. Çalışma Gruplarına Ait Veriler	26
Tablo 4.2. Küçük hücreli dışı akciğer kanser ve sağlıklı kontrollerde CTLA-4 49 A/G genotipleri	27
Tablo 4.3. Hastaların Klinik ve Patolojik Özellikleri	28
Tablo 4.4. CTLA-4 49 A/G genotiplerinin hastaların patolojik parametreleri ile karşılaştırılması.....	29
Tablo 4.5. Küçük hücreli dışı akciğer kanseri hastaları ve sağlıklı kontrollerde serum CTLA-4 düzeyleri.....	30
Tablo 4.6. Hastaların patoloji bulguları ve serum sCTLA-4 düzeyleri	31

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2.1. Lateral yüzeyler	2
Şekil 2.2. Medial yüzeyler	2
Şekil 2.3. KHD AK patogeneğinde rol oynayan majör moleküler yollar	5
Şekil 2.4. CTLA-4 geninin kromozom üzerindeki yeri	18
Şekil 2.5. CTLA-4 hücresinin şematik gösterimi	19
Şekil 2.6. Antijen sunucu hücre ile T hücre etkileşimi	20



SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ

AK	: Akciğer Kanseri
KHDAK	: Küçük hücreli dışı akciğer kanseri
KHAK	: Küçük Hücreli Akciğer Kanseri
WHO	: World Health Organization
ICDO	: International Classification of Diseases for Oncology
CTLA-4	: Sitotoksik T lenfosit ile ilişkili protein-4
Teff	: T-efektör hücreleri
Treg	: T-düzenleyici hücreleri:
TCR	: T hücre reseptörü
APC	: Antijen sunucu hücre
AP2	: Klatrin adaptör protein kompleksi
mAbs	: Monoklonal Antikorlar
DNA	: Deoksiribonükleik asit
PCR	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu
SDS	: Sodyum Dodesil Sülfat
RBL	: Eritrosit Parçalama Çözeltisi
EDTA	: Etilen Diamin Tetra Asetat
TAE	: Tris-asetik asit-edta
WBL	: Lökosit Parçalama Çözeltisi
OD	: Optik densite
NK	: Doğal Öldürücü Hücreler
AAH	: Atipik adenomatoz hiperplazisi
BAC	: Bronşiyoloalveoler karsinom
LOH	: Heterozigotluk kaybı
TSG	: Tümör baskılayıcı gen
SNP	: Single Nükleotide Polymorphysim
KRAS	: Kirsten Rat Sarcom Viral Onkogeni
UV	: Ultraviyole

ÖZET

İsenlik, B. (2019). T Hücre İmmünesinde Fonksiyon Gösteren Ctl-4 Gen Varyantlarının Küçük Hücreli Dışı Akciğer Kanseriyle Olası İlişkisinin Araştırılması. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Moleküler Tıp ABD. Yüksek Lisans Tezi. İstanbul.

Akciğer kanseri, akciğer dokularında kontrolsüz hücre büyümesi ile karakterize edilen bir hastalıktır. Tedavi edilmezse, bu büyüme metastaz ile yakındaki dokuya ve nihayetinde vücudun diğer kısımlarına yayılabilir. Akciğer kanseri her yıl tahmin edilen 2 milyondan fazla yeni vaka ile dünya çapında en yaygın kanserdir. Akciğer kanseri dağılımları, dünyada tütün kullanımındaki ve hava kalitesindeki coğrafi değişiklikleri yansıtan farklılıklar göstermektedir. Dünyada, akciğer kanseri insidansı artmaktadır. Küçük hücreli dışı akciğer kanseri (KHDAK), akciğer kanserinin en sık görülenidir. Akciğer kanserlerinin yaklaşık % 85-90'ı KHDAK'dan kaynaklanmaktadır. Kanser tedavisi etmenin yolu, tümörü doğrudan hedeflemektir. İmmünoterapi, onkolojide vücudun kanserle savaşmak için bağışıklık sistemini kullanan bir tedavi yöntemidir. Sitotoksik T-Lenfosit İlişkili Protein 4 (CTLA-4), ilaç hedefi olarak kullanılan ilk bağışıklık kontrol noktasıdır ve İmmün-onkoloji alanına yol gösterici olmuştur. CTLA-4, T hücrelerinin aktivasyon eşikini artırarak, kendi ve tümör antijenleri gibi zayıf antijenlere karşı immün yanıtları azaltır. Çalışmamızda KHDAK tanısı koyulmuş 56 hasta ve akciğer grafisi yaptırmış ve akciğer kanseri ilişkisi olmayan 107 sağlıklı gönüllü kontrol grubu kullanılmıştır. Bu kapsamda her iki kolda CTLA-4 49 A/G gen polimorfizmine ve sCTLA-4 düzeylerine bakılmıştır. Çalışma grupları kendi içinde ve gruplar arası incelemede bireylerin taşıdıkları CTLA-4 49A/G genotipi ve allel frekansları bakımından hasta ve kontrol grupları arasında anlamlı bir fark saptanamamıştır. Bununla birlikte, CTLA-4, 49 A/G heterozigot AG varyant taşımanın hastalığın progresyonu ile ilişkili olabileceği düşünülmektedir. Çalışma verilerimiz, CTLA-4'ün KHDAK patogenezinin aydınlatılması veya terapötik değeri açısından değerlendirilmesi konusunda yapılacak çalışmalara rehber olma niteliğindedir. Araştırmanın sınırlı boyutu göz önüne alındığında, gözlemlerin daha büyük örneklem gruplarında analiz edilmesi KHDAK ile ilgili gelecekte yapılacak çalışmaların gelişiminde önemli olacağını düşünmekteyiz.

Anahtar Kelimeler : KHDAK, CTLA-4, Akciğer Kanseri, İmmüno onkoloji

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: TYL-2018-25437

ABSTRACT

İsenlik, B. (2019). Investigation of Possible Relationship Between CTLA-4 Gene Variants Functioning with Non-Small Cell Lung Cancer in T-Cell Immunity. Master Thesis. İstanbul.

Lung cancer is a disease characterized by uncontrolled cell growth in lung tissues. If it is not treated, this growth can spread to the nearby tissue with metastasis and ultimately to other parts of the body. Lung cancer is the most common cancer worldwide, with more than 2 million new cases estimated each year. Lung cancer distributions differs in the world, reflecting geographical changes in tobacco use and air quality. The incidence of lung cancer is increasing in the world. Non-small cell lung cancer (NSCLC) is the most common manifestation of lung cancer. Approximately 85-90% of lung cancers are caused by NSCLC. The way to treat cancer is to target the tumor directly. Immunotherapy is a treatment method that uses the immune system to combat cancer in oncology. Cytotoxic T-Lymphocyte Associated Protein 4 (CTLA-4) is the first immune control point used as a drug target, and has guided the field of Immuno-oncology. CTLA-4 increases the activation threshold of T cells, reducing immune responses to weak antigens such as their own and tumor antigens. In our study, 56 patients were diagnosed with NSCLC and 107 healthy volunteers who did not have lung cancer were given consent to participate. In this context, CTLA-4 49 A / G gene polymorphism and sCTLA-4 levels were examined in both arms. There was no significant difference between the patient and control groups in terms of the CTLA-4 49A / G genotype and allele frequencies carried by the individuals in the study groups and among the groups. However, it is thought that CTLA-4, 49 A / G heterozygous AG variant transport may be associated with disease progression. Our study data are guiding the studies on the evaluation of CTLA-4 in terms of clarification or therapeutic value of NSCLC. Considering the limited size of the study, we believe that the analysis of observations in larger sample groups will be important in the development of future studies on NSCLC.

Key Words: NSCLC, CTLA-4, Lung Cancer, T Cell Immunity

The present work was supported by the Research Fund of Istanbul University. Project No. TYL-2018-25437

1. GİRİŞ VE AMAÇ

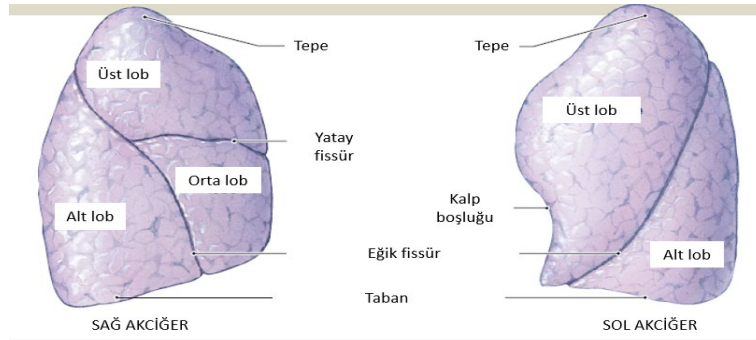
Akciğer kanseri tümör hücrelerinin bir veya iki akciğerde kontrolsüz olarak büyümesidir. Akciğer kanseri (AK), bronşları kaplayan hücrelerde ve bronşiyoller veya alveoller gibi akciğer kısımlarında başlayabilir KHDAK, akciğer kanserinin en sık nedenidir. Akciğer kanserlerinin yaklaşık % 85-90'ı KHDAK'dan kaynaklanmaktadır [4]. AK her yıl tahmin edilen 2 milyondan fazla yeni vaka ile dünyada en yaygın kanserdir [9]. 2018 yılında toplam 17,036,901 kişiye kanser teşhisi koyulmuştur. Bunların 2.093.876'sı akciğer kanseridir [10]. Kanser tedavisi etmenin yolu, tümörü doğrudan hedeflemektir. Bununla birlikte, pasif tedaviler vücudun mevcut bağışıklık tepkisini kolaylaştırır ve bağışıklık hücrelerinin doğrudan katılımını gerektirmez [14]. İmmünoterapi, onkolojide vücudun kanserle savaşmak için bağışıklık sistemini kullanan bir tedavi yöntemidir. Bazı kanser hücreleri, sağlıklı hücrelerle özelliklerini paylaşır ve bu nedenle bağışıklık sistemi vücudun normal ve anormal (kanseri) hücreleri arasında ayrım yapamaz [15]. Sitotoksik T-Lenfosit İlişkili Protein 4 (CTLA-4), ilaç hedefi olarak kullanılan ilk bağışıklık kontrol noktasıdır ve İmmün-onkoloji alanına yol gösterici olmuştur [14]. CTLA-4 aynı zamanda CD152 olarak da bilinen, T hücre fonksiyonlarını inhibe eden bir B7/CD28 aile üyesidir [32].

Çalışmanın amacı, küçük hücreli dışı akciğer kanseri dokusunda CTLA-4 ekspresyon düzeyini, CTLA-4 proteininin öncü sekansını (+ 49A / G) etkileyen seçilmiş CTLA-4 polimorfizmiyle olan ilişkisini değerlendirmektir. Buna ek olarak, CTLA-4 genotiplerinin kanda ve insan serumunda yer alan doğal çözünür biçiminin (sCTLA-4) miktar tayini ile elde edilebilecek anlamlı sonuçlar ile yeni çalışmalara ışık tutabilmektir. Gen polimorfizm çalışmaları kanserde risk belirleme parametrelerinden biri olduğu düşünüldüğünden birçok kanser araştırmasında gen polimorfizm çalışmaları yapılmaktadır. Çalışmamızda hasta ve kontrol gruplarında yer alan gönüllülere ait saptanan polimorfizmin yapısı ve dağılımı istatistiksel analizleri ile incelenmektedir. Bu çalışma kapsamında belirlenen, CTLA-4 proteininin öncü sekansını (+ 49A / G) etkileyen seçilmiş CTLA-4 polimorfizmiyle, hasta serumlarında bundan dolayı etkilenebileceği öngörülen CTLA-4 düzeylerinin küçük hücreli dışı akciğer kanseri gelişiminde risk oluşturup oluşturmadığının belirlenmesi amaçlanmaktadır.

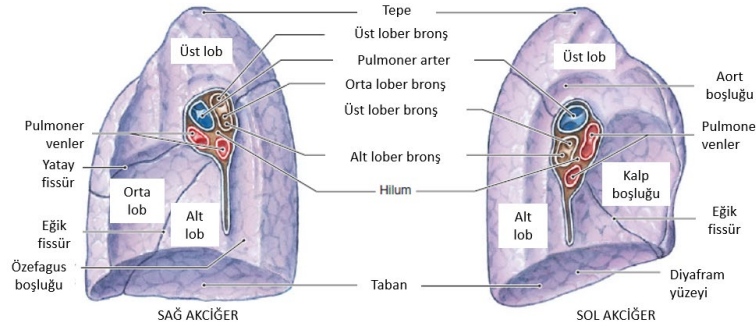
2. GENEL BİLGİLER

2.1. Akciğer Anatomisi

Solunum sistemi, burun, burun boşluğu ve sinüsler, farinks, gırtlak (ses kutusu), trakea (soluk borusu) ve akciğerlerin gaz alışverişi yüzeylerine giden daha küçük iletken geçitleri içerir. Akciğerlerin derin fissürlerle ayrılan farklı lobları vardır. Sağ akciğerde üç lob vardır: üst, orta ve alt. Yatay fissür, üst ve orta lobları ayırır. Eğik fissür, üst ve alt lobları ayırır. Sol akciğerde eğik fissürle ayrılan sadece üst ve altta iki lob vardır. Her akciğer, ucu veya apeksi ile üstün bir şekilde işaret eden keskin bir konidir. Her iki taraftaki tepe noktası, ilk kaburga üzerindeki boynun tabanına uzanır. Her akciğerin geniş içbükey inferior kısmı veya tabanı diyaframın üst yüzeyine dayanır. Göğüs kafesinin iç hatlarını takip eden akciğerin kavisi ön kısmı kostal yüzeydir. Medial yüzeyin mediastinal yüzeyi hilumu içerir ve daha düzensiz bir şekle sahiptir [1].



Şekil 2.1. Lateral yüzeyler [1]



Şekil 2.2. Medial yüzeyler [1]

2.2. Akciğer Kanseri

Kanser, vücuttaki farklı hücre türlerinden herhangi birinin kontrolsüz olarak çoğalmasından kaynaklanabilir, bu nedenle davranışları ve tedaviye yanıtları arasında büyük ölçüde değişiklik gösterebilen yüzden fazla kanser türü vardır. Kanser patolojisinde en önemli husus, iyi huylu ve kötü huylu tümörler arasındaki ayrımdır. Tümör, iyi huylu veya kötü huylu olabilen herhangi bir hücre çoğalmasdır. İyi huylu tümör orijinal konumu ile sınırlı kalır, ne normal dokuyu çevreleyerek istila eder, ne de vücudun uzak bölgelerine yayılır. Bununla birlikte, kötü huylu bir tümör, hem normal dokuyu çevreleyerek istila etme hem de dolaşım veya lenfatik sistemler yoluyla vücutta yayılma (metastaz) yeteneğine sahiptir. Yalnızca kötü huylu tümörlere kanser denir ve kanseri çok tehlikeli yapan da bu istila ve metastaz yapma yeteneğidir. İyi huylu tümörler genellikle cerrahi olarak çıkarılabilse de, malign tümörlerin uzak vücut bölgelerine yayılması sıklıkla bu tür lokalize tedaviye dirençli hale getirir.

Akciğer kanseri (AK), tümör hücrelerinin bir veya iki akciğerde kontrolsüz olarak büyümesidir. AK bronşları kaplayan hücrelerde ve bronşiyoller veya alveoller gibi akciğer kısımlarında başlayabilir. AK, akciğer dokularında kontrolsüz hücre büyümesi ile karakterize edilen bir hastalıktır. Eğer tedavi edilmezse, bu büyüme metastaz denilen bir süreçte yakındaki dokuya ve nihayetinde akciğerlerin dışında vücudun diğer kısımlarına yayılabilir.

Kanser hücrelerinin mikroskop altındaki görünümüne bakıldığında tümörün hücre büyüklüğü ile karakterize edilen iki tipine göre sınıflandırılan AK vardır [2]: Küçük hücreli akciğer kanseri (KHAK) ve küçük hücreli dışı akciğer kanseri (KHDAK) [3]. KHDAK, akciğer kanserinin en sık nedenidir. Akciğer kanserlerinin yaklaşık % 85-90'ı KHDAK'dan kaynaklanmaktadır [4]. Bu nedenle kanserle ilgili araştırmalarda bu konu üzerinde daha fazla çalışmaların yapılması söz konusu olmuştur.

KHDAK her biri farklı tedavi seçeneklerine sahip 4 farklı tipe ayrılabilir: Skuamöz hücreli karsinom veya epidermoid karsinom, Adenokarsinom, Bronkoalveolar karsinom, Farklılaşmamış büyük hücreli karsinom, adenoskuamöz karsinom ve sarkomatoid karsinom. Bu birbirinden farklı tipteki karsinomlardaki hücrelere mikroskop altında bakıldığında boyut, şekil ve kimyasal yapı bakımından birbirinden farklılık gösterir. Fakat birlikte gruplanırlar çünkü tedavi ve prognoz yaklaşımı (görünüm) çok benzerdir.

Skumöz hücreli karsinom (Epidermoid karsinom): Sıklıkla akciğerlerde merkeze yakın bronşiyollerin epidermlerinde ortaya çıkar.

Adenokarsinom: Akciğerlerin mukus salgılayan bezlerinde ortaya çıkar ve merkezden çok akciğerlerin dış kısımlarına yakın bölgelerinde oluşur. Adenokarsinomun nadir görülen bir tipi olan Bronkoalveoler karsinom ise akciğerlerin hava keseciklerinin yanında oluşur.

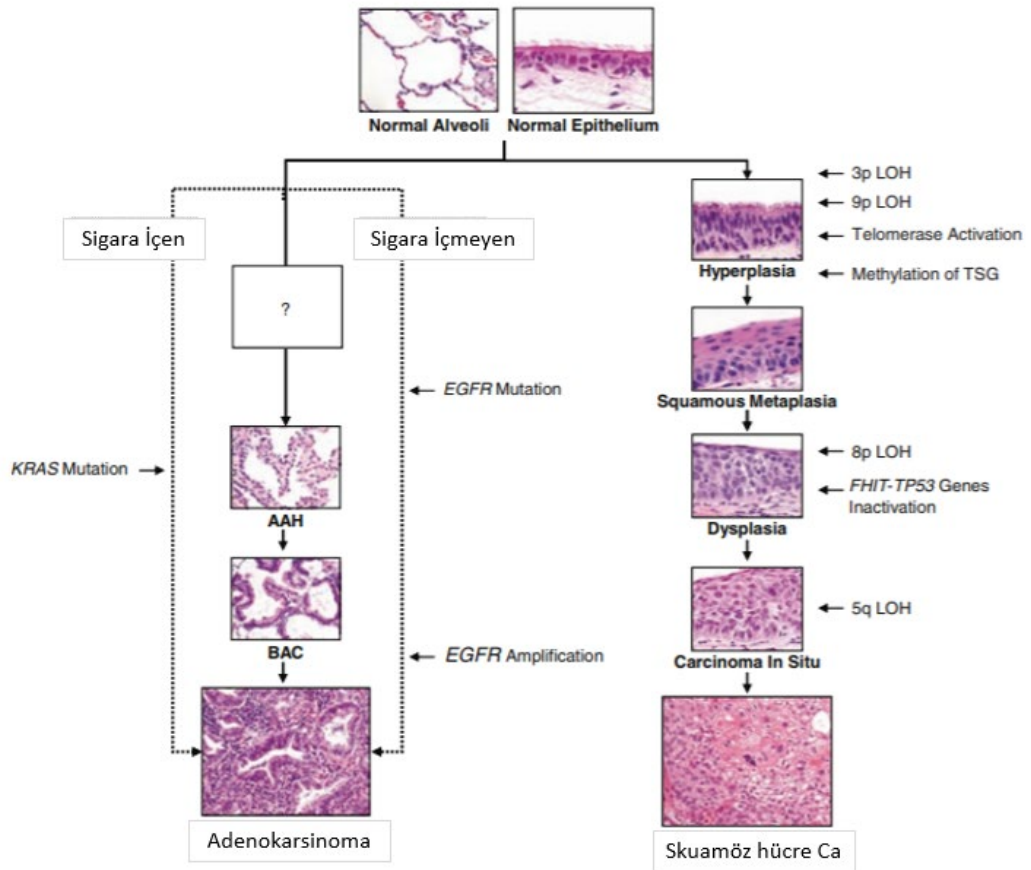
Büyük hücreli (farklaşmamış) karsinom: Akciğerlerin herhangi bir noktasında gelişebilir ve hızlı ilerleyen bir tiptir.

KHAK ise hızla çoğalan küçük hücrelerle sembolize edilir. Hızlı metastaz yapabilen büyük tümörler oluşturur.

Erken evrede teşhis edilen akciğer kanserleri için hayatta kalma oranları daha yüksektir, erken evrede teşhis edilenlerin yaklaşık %49'u 5 yıl veya daha uzun süre hayatta kalır [4].

2.2.1. Akciğer Kanseri Patogenezi

Akciğer kanserlerinin, solunum mukozasında preneoplastik veya prekürsör lezyonlar üreten bir dizi progresif patolojik değişiklikten sonra ortaya çıktığına inanılmaktadır. Şekil 3'de skumöz hücreli karsinomun patogenezinde rol alan preneoplastik ve moleküler olayların sırası kısmen açıklanmış olsa da, akciğer adenokarsinomlarının gelişiminde bilgi eksikliği vardır. Bununla birlikte, adenokarsinom erken patogenezinde en az iki moleküler yol bulunduğu dair kanıtlar vardır: sigara içen ve KRAS ilişkili veya sigara içmeyen ve EGFR ile ilişkili (Şekil 2.3).



Şekil 2.3. KHDAC patogeneğinde rol oynayan majör moleküler yollar [5].

2.2.2. Akciğer Kanseriinde Histopatolojik Sınıflandırma

İmmünohistokimya ilk kez 1999 Dünya Sağlık Örgütü (WHO-World Health Organization) Sınıflandırmasında tanıtıldı ve 2004 WHO sınıflamasında bile akciğer kanseri tanısı için immünohistokimya, malign mezotelyoma ile ayırıcı tанда büyük hücreli nöroendokrin karsinomlar (LCNEC), sarkomatoid karsinomlar ve karsinomlarla sınırlıydı. Bununla birlikte, 2015 WHO Sınıflandırması süresince, mümkün olduğunca, sadece küçük biyopsiler / sitoloji için değil, aynı zamanda solid adenokarsinom, keratinize olmayan skuamöz hücreli karsinom, büyük hücreli karsinom, nöroendokrin tümörleri ve sarkomatoid karsinomlar gibi bazı ortamlarda rezeke edilmiş örnekler için de immünohistokimya önerilmektedir. Dünya Sağlık Örgütünün (WHO-World Health Organization) 2015’de detaylandırılmış olarak sınıflandırdığı akciğer tümörleri Tablo 2.1’de verilmiştir [6]. Akciğer kanserinin doğru patolojik sınıflandırması, hastaların uygun

tedaviyi almaları için esastır. Histopatolojik ve biyolojik açıdan bakıldığında, akciğer kanseri oldukça karmaşık bir neoplazmdır [7], [8].

Tablo 2.1. Akciğer tümörlerinde histolojik sınıflandırma

Epitelyal tümörler	
Histolojik Tip ve Alt Tip	ICDO Kodu
Adenokarsinom	8140/3
Lepidik adenokarsinom*	8250/3
Asiner adenokarsinom	8551/3
Papiller adenokarsinom	8260/3
Mikropapiller adenokarsinom*	8265/3
Solid adenokarsinom	8230/3
İnvaziv müsinöz adenokarsinom*	8253/3
Kolloid adenokarsinom	8480/3
Fetal adenokarsinom	8333/3
Enterik adenokarsinom*	8144/3
Minimal invaziv adenokarsinom*	
Nonmüsinöz	8256/3
Müsinöz	8257/3
Preinvaziv lezyonlar	
Atipik adenomatöz hiperplazi	8250/0
Adenokarsinoma in situ*	
Nonmüsinöz	8250/2
Müsinöz	8253/2
Yassı epitel hücreli karsinom	8070/3
Keratinize yassı epitel hücreli karsinom*	8071/3
Nonkeratinize yassı epitel hücreli karsinom*	8072/3
Bazaloid yassı epitel hücreli karsinom*	8083/3
In situ yassı epitel hücreli karsinoma	8070/2
Nöroendokrin tümörler	
Küçük hücreli karsinom	8041/3
Kombine küçük hücreli karsinom	8045/3
Büyük hücreli nöroendokrin karsinom	8013/3
Kombine büyük hücreli nöroendokrin karsinom	8013/3
Karsinoid tümörler	
Tipik karsinoid tümör	8240/3
Atipik karsinoid tümör	8249/3
Diffüz idiyopatik nöroendokrin hücre hiperplazisi	8040/0
Büyük hücreli karsinom	8012/3
Adenoskuamöz karsinom	8560/3
Sarkomatoid karsinomlar	
Pleomorfik karsinom	8022/3
İğsi hücreli karsinom	8032/3
Dev hücreli karsinom	8031/3
Karsinosarkom	8980/3
Pulmoner blastom	8972/3
Diğer ve sınıflandırılmayan karsinomlar	
Lenfoepitelyoma benzeri karsinom	8082/3

NUT karsinom*	8023/3
Tükrük bezi tipi tümörler	
Mukoepidermoid karsinom	8430/3
Adenoid kistik karsinom	8200/3
Epitelyal-miyoepitelyal karsinom	8562/3
Pleomorfik adenom	8940/0
Papillom	
Yassı epitel hücreli papillom	8052/0
Glandüler papillom	8260/0
Mikst skuamöz ve glandüler papillom	8560/0
Adenomlar Sklerozan pnömositom*	8832/0
Alveoler adenom	8251/0
Papiller adenom	8260/0
Müsinöz kistadenom	8470/0
Müköz gland adenomu	8480/0
Mezenkimal tümörler	
Pulmoner hamartoma	8992/0
Kondroma	9220/0
PEComatöz tümörler*	
Lenfangiomyomatozis	9174/0
PEComa, benign*	8714/0
Berrak hücreli tümör	8005/0
PEComa, malign*	8714/3
Konjenital peribronşial miyofibroblastik tümör	8827/1
Diffüz pulmoner lenfanjiomatozis	
İnflamatuvar miyofibroblastik tümör	8825/1
Epiteloid hemanjiyoendotelyoma	9133/3
Plevropulmoner blastom	8973/3
Sinovyal sarkom	9040/3
Pulmoner arter intimal sarkom	9137/3
Pulmoner miksoid sarkom, EWSR1-VREB1 translokasyonu*	8842/3
Miyoepitelyal tümörler*	
Miyoepitelyoma	8942/0
Miyoepitelyal karsinoma	8982/3
Lenfhistiositik tümörler	8005/0
MALT lenfoma-Düşük gradeli marjinal zon B hücreli	9699/3
Diffüz büyük hücreli lenfoma	9680/3
Lenfomatoid granülomatozis	9766/1
İntravasküler büyük B hücreli lenfoma*	9712/3
Pulmoner Langerhans hücreli histiositoz	9751/1
Erdheim-Chester hastalığı*	9750/1
Ektopik kökenli tümörler	
Germ hücreli tümörler	
Teratom, matür	9080/0
Teratom, immatür	9080/1
İntrapulmoner timoma	8580/3
Melanom	8270/3
Meningiom, NOS	9530/0
Metastatik tümörler	
*Sınıflandırmaya eklenen yeni başlıklar	

2.2.3. Akciğer Kanseriinde TNM Evrelemesi

Evre sınıflamasının temel yapısı TNM sistemidir: Primer tümörün karakteristiği için T, lenf nodu tutulumu için N ve (uzak) metastaz için M kullanılmaktadır. Benzer davranış sergileyen spesifik T, N ve M kategorileri daha sonra evre grupları olarak birleştirilir. T, N ve M kategorilerinin ve evre gruplarının tanımlarına resmi olarak karar veren organlar, Amerika Birleşik Devletleri'ndeki Amerikan Kanser Ortak Komisyonu (American Joint Committee on Cancer-AJCC) ve uluslararası olarak Uluslararası Kanser Kontrol Birliği'dir (Union for International Cancer Control-UICC). Akciğer kanseri, evre sınıflandırması açısından kanser bölgeleri arasında benzersizdir. Kanser evresi sınıflandırma sistemlerinin çoğu büyük ölçüde ampirik ve konsensüs temellidir [9].

Tablo 2.2. T Faktörü; primer tümör değerlendirilmesi

T Faktörü Tanımlayıcıları		
Tx		Primer tümörün değerlendirilemediği veya balgam ya da bronşiyal yıkama sıvısında malign hücrelerin gösterildiği ancak tümörün bronkoskopi veya görüntüleme yöntemleri ile saptanamadığı durumlar
T0		Primer tümör kanıtı yok
Tis		Karsinoma in situ ¹
T1		Ana bronş tutulumu olmadan akciğer veya visseral plevra ile çevrili, en geniş çapı ≤ 3 , bronkoskopik olarak lob bronşundan daha proksimalde invazyon bulgusu olmayan tümör ²
	T1mi	Minimal invaziv adenokarsinom ³
	T1a	Tümörün en geniş çapı ≤ 1 cm ²
	T1b	Tümörün en geniş çapı >1 cm, ≤ 2 cm
	T1c	Tümörün en geniş çapı >2 cm, ≤ 3 cm
T2		Tümörün en geniş çapı >3 cm, ≤ 5 cm veya aşağıdaki özelliklerden en az birine sahip olan tümör ⁴ -Karinayı invaze etmeden, karinaya uzaklığına bakılmaksızın ana bronşu tutan tümör -Visseral plevra invazyonu -Hiler bölgeye uzanan atelektazi veya obstrüktif pnömoni (kısmi veya total atelektazi/pnömoni)
	T2a	Tümörün en geniş çapı >3 cm, ≤ 4 cm

	T2b	Tümörün en geniş çapı >4 cm, ≤5 cm
T3		Primer tümörle aynı lobda metastatik nodül/ nodüller Tümörün en geniş çapı >5-≤7 cm veya aşağıdaki yapılardan birine direkt invazyon varlığı: *Göğüs duvarı (süperior sulkus tümörleri dahil), frenik sinir, pariyetal perikard
T4		Tümörün en geniş çapı >7 cm veya aşağıdaki yapılardan birine invazyon varlığı: -Diyafagma, mediasten, kalp, büyük damarlar, trakea, rekürren laringeal sinir, özefagus, vertebra korpusu, karina -Primer tümörle aynı akciğerde fakat farklı lobda nodül/nodüller

¹Tis adenokarsinoma in situ ve skuamöz hücreli karsinoma in situ kapsar.

²Ana bronşun proksimaline uzanan, bronşiyal duvara sınırlı invazyon gösteren herhangi bir büyüklükteki nadir yüzeysel tümör yayımı da T1a olarak sınıflandırılır.

³ Soliter adenokarsinom (3 cm'den daha büyük boyutta olmayan), lepidik baskın paternli ve herhangi bir odakta 5 mm'den daha büyük boyutta invazyona sahip olmayan

⁴ Bu özellikleri ile T2 tümör; eğer ≤4 cm veya büyüklüğü belirlenemiyor ise T2a; eğer >4 cm fakat ≤5 cm ise T2b olarak sınıflandırılır.

Tablo 2.3. N Faktörü; Lenf nodu değerlendirme

N Faktörü Tanımlayıcıları	
Nx	Bölgesel lenf bezleri değerlendirilemiyor
N0	Bölgesel lenf bezi metastazı yok
N1	İpsilateral peribronşiyal ve/veya ipsilateral hiler lenf bezlerine ve/veya intrapulmoner lenf bezlerine metastaz veya direkt invazyon
N2	İpsilateral mediastinal ve/veya subkarinal lenf bezlerine metastaz
N3	Kontralateral mediastinal, kontralateral hiler, ipsilateral veya kontralateral skalen veya supraklaviküler lenf bezlerine metastaz

Tablo 2.4. M Faktörü; Uzak metastazın değerlendirme

M faktörü tanımlayıcıları		
M0		Uzak metastaz yok
		Uzak metastaz var
M1	M1a	Karşı akciğerde metastatik nodül/nodüller, plevral veya perikardiyal metastatik nodüller veya malign plevral veya perikardiyal efüzyon ¹

M1b	Tek bir ekstratorasik organda, tek metastaz ²
M1c	Bir veya birden çok organda multipl ekstratorasik metastaz

¹Akciğer kanseriyle birlikte olan plevral-perikardiyal efüzyonlar genellikle tümöre bağlı gelişir. Ancak bazen patolojik incelemelerde plevral-perikardiyal sıvıda tümör görülmemektedir. Bu bulgular varsa ve klinik değerlendirme efüzyonun tümörle ilgili olmadığı yönündeyse efüzyon evreleme belirleyicisi olarak kullanılmamalıdır

²Bu durum bölgesel olmayan tek bir uzak lenf bezi metastazını da kapsamaktadır

Tablo 2.5. TNM'ye göre evre grupları [9].

	N0	N1	N2	N3	M1a	M1b	M1c
T1a	IA1	IIB	IIIA	IIIB	IVA	IVA	IVB
T1b	IA2	IIB	IIIA	IIIB	IVA	IVA	IVB
T1c	IA3	IIB	IIIA	IIIB	IVA	IVA	IVB
T2a	IB	IIB	IIIA	IIIB	IVA	IVA	IVB
T2b	IIA	IIB	IIIA	IIIB	IVA	IVA	IVB
T3	IIB	IIIA	IIIB	IIIC	IVA	IVA	IVB
T4	IIIA	IIIA	IIIB	IIIC	IVA	IVA	IVB

2.2.4. Epidemiyoloji

Akciğer kanseri dünyada en yaygın kanser türüdür. Tüm akciğer kanseri vakalarının %85'ini KHDAK oluştururken %15'ini KHAK oluşturmaktadır.

KHDAK ayrıca üç tipte sınıflandırılır: adenokarsinom, skuamöz hücreli karsinom ve büyük hücreli karsinom.

Adenokarsinom, mukus ve diğer maddeleri salgılayan küçük hava yolu epitelyal, tip II alveoler hücrelerinde oluşmaya başlar ve en sık görülen alt türdür ve tüm akciğer kanseri türlerinin %40'ını oluşturur. Sigara içen ve sigara içmeyen erkekler ve kadınlarda, yaşlarına bakılmaksızın en sık görülen akciğer kanseri türüdür. Tütündeki büyük parçacıkların akciğerlere girmesini engelleyen sigaralardaki filtrelerin ilavesi sigara dumanının daha derin solunmasıyla ortaya çıkan periferik lezyonlara sebep olmaktadır. Bu nedenle akciğerlerin çevresinde ortaya çıkma eğilimindedir. Diğer akciğer kanseri

türleriyle karşılaştırıldığında, adenokarsinom yavaş ilerleme eğilimindedir ve akciğerlerin dışına yayılmadan önce tespit edilme şansı daha yüksektir. [4].

KHDAK alt tiplerinden biri olan skuamöz hücreli karsinom, tüm akciğer kanseri vakalarının % 25-30'unu oluşturur [4]. Akciğerlerin merkezindeki bronşiyal tüplerdeki hava yolu epitel hücrelerinde görülen skuamöz hücrelerin erken versiyonlarından kaynaklanmaktadır. KHDAK'ın bu alt tipi sigara içimi ile güçlü bir şekilde ilişkilidir.

Büyük hücreli (farklılaşmamış) karsinom, akciğer kanserlerinin % 5-10'unu oluşturur [4]. Bu tip karsinom, skuamöz veya glandüler olgunlaşma kanıtı göstermez ve sonuç olarak varsayılan olarak diğer olasılıkların dışlanmasıyla teşhis edilir. Büyük hücreli karsinom sıklıkla akciğerlerin orta kısmında, bazen yakındaki lenf bezlerine ve göğüs duvarına ve uzak organlara başlar. Büyük hücreli karsinom tümörleri sigara ile güçlü bir şekilde ilişkilidir.

AK her yıl yaklaşık 2 milyondan fazla yeni vaka ile dünya çapında en yaygın kanser türüdür. [10]. 2018 yılında toplam 17,036,901 kişiye kanser teşhisi koyulmuştur. Bunların 2.093.876'sı akciğer kanseridir. AK teşhisi koyulan bu kişilerin 725.352'si kadın ve 1.368.524'ü erkektir. Bir diğer yaygın tür olan meme kanseri ile birlikte AK, 2018 yılına ait dünyadaki toplam yeni vaka sayısının % 12.3'üne karşılık gelmektedirler [11].

AK'nin cinsiyete göre dağılımı ise şöyledir: dünya çapında erkeklerde en sık görülen kanser türü olan AK, 2018 yılında tüm dünyada erkeklerde teşhis edilen toplam yeni vaka sayısında 1.368.524 yeni teşhis ile % 15.5 orana sahiptir. Kadınlarda ise 2018 yılında teşhis edilen kanser türlerinden meme ve kolorektal kanserden sonra üçüncü sırada gelen AK 725.352 yeni teşhis ile %8.8 oranındadır [11]. Kanser vakalarının kanser türlerine göre dağılımı Tablo 2.6'da verilmiştir [11].

Tablo 2.6. Kanserde vaka dağılımı

Sıra	Kanser Türü	2018 yılında teşhis koyulan kişi sayısı	Tüm kanserlerin % 'si (melanom dışı cilt kanseri hariç)
	<i>Kanserlerin tümü</i>	<i>17,036,901</i>	
1	Akciğer	2,093,876	12,3%
2	Meme	2,088,849	12,3%
3	Kolorektal	1,800,977	10,6%
4	Prostat	1,276,106	7,5%

5	Mide	1,033,701	6,1%
6	Karaciğer	841,080	5,0%
7	Yemek borusu	572,034	3,4%
8	Serviks uteri	569,847	3,3%
9	Tiroid	567,233	3,3%
10	Mesane	549,393	3,2%

Akciğer kanseri hem erkekler hem de kadınlar için en ölümcül kanserler arasındadır [12]. Mortalite insidansındaki azalmaya rağmen, akciğer kanseri yıllık 1.2 milyondan fazla ölüme neden olur ve yaşa göre standartlaştırılmış 5 yıllık net hayatta kalma oranı sadece % 10 ıla 20'dir [13]. Ölüm oranı, en yaygın üç kanserin birleşiminin (kolon, meme ve pankreas) oranını aşmaktadır [4]. Akciğer kanseri insidansı, kadınlara oranla erkeklerde iki kat daha hızlı bir şekilde azalmaya devam etmekte, bazı doğum kohortlarında kadınlarda sigara içme prevalansının yanı sıra tütün kullanımındaki ve bırakmadaki tarihsel farklılıkları yansıtmaktadır. Bununla birlikte, sigara içme alışkanlıkları, 1960'larda doğan erkeklerle karşılaştırıldığında, genç kadınlarda son zamanlarda bildirilen yüksek akciğer kanseri insidans oranlarını açıklamaktadır [14].

2.2.5. Akciğer Kanseriinde Çevresel Risk Faktörleri

- Radon: Radon, dünya kabuğunda uranyum çürümesinden kaynaklanan doğal olarak oluşan bir radyoaktif gazdır. Toprağın temelinden gelen radon akciğer kanseri için ikinci en yaygın risk faktörünü oluşturmaktadır. Vakaların % 10'unu oluşturduğu tahmin edilmektedir. Radon, dünya kabuğunda uranyum çürümesinden kaynaklanan doğal olarak oluşan bir radyoaktif gazdır [15].
- Asbest: Kanserojenlere mesleki maruziyetin, akciğer kanserlerinin %5-10'unu oluşturduğu tahmin edilmektedir. Doğal olarak oluşan bir silikat minerali olan asbest amfibol (amosit, krosidolit, trenolit) ve serpantin (krizotil) alt tiplerine sahiptir ve inşaatlarda asbest kullanımı 19. yüzyıldan beri devam etmektedir. Krizotil lifleri, torasik maligniteler ile en büyük ilişkiye sahiptir [15].
- Kirlilik ve hava kalitesi: Hem dış ortamda hem de iç ortamda hava kalitesini etkileyen iki ana durum vardır: Fosil yakıtların ve havada bulunan partiküllerin yanması sonucu

üretileen kanserojenler [16]. Dış ortamdaki atmosferik kanserojenler PAH, kükürt dioksit ve iz metalleri içerebilir [17].

- Enfeksiyon: Akciğere enflamasyon ve enfeksiyondan zarar gelmesi kanserojenizde rol oynar. Geçmişte, tüberküloz gibi enfeksiyonlar, sigara içme durumuna bakılmaksızın ve gözle görülür gecikme olmaksızın, akciğer kanseri gelişimi için 1,76'ya varan oranlar vermiştir [18]. Akciğer kanseri, HIV enfeksiyonu olan kişilerde AİDS dışı en sık görülen malignitedir. Daha etkili antiretroviral tedavi çağında, akciğer kanseri HIV bulaşmış hastalarda kanser ölümlerinin yaklaşık % 30'unu oluşturan en önemli ölüm nedeni olmuştur [19].

2.2.6. Akciğer Kanserinde Kalıtsal Risk Faktörleri

Tütün kullananların hepsi, akciğer kanserine yakalanmaz ve akciğer malignitesine karşı genetik bir duyarlılık oluşturmaz. Akciğer kanseri öyküsü olan kişilerde, akciğer kanseri gelişimi riskinin 1.7 kat fazla olduğu ilişkilendirilmiştir [20].

2.2.7. Etiyoloji

Akciğer kanseri oranları, dünyada tütün kullanımındaki farklılıklar ve hava kalitesindeki coğrafi farklılıkları yansıtan değişiklikler göstermektedir [21]. Dünyada, akciğer kanseri insidansı artmaktadır [22]. Kadınlarda da akciğer kanseri dünya geliştikçe daha sık görülmektedir ve sigara içimi ile ilişkilidir. Dünya çapında, kadınların akciğer kanseri olma oranları artmaktadır. Geçmişte, erkeklerin kadınlara göre tütün kullanımı ve akciğer kanserinin görülme sıklığı ve akciğer kanserinden ölüm oranları daha yüksektir. Kadınlar daha çok İkinci Dünya Savaşı'ndan sonra sigara içmişlerdir ve bırakma oranları erkeklere kıyasla daha az olarak kalmıştır ve bu da kadınlarda akciğer kanseri insidansının çok daha hızlı bir şekilde zirveye taşınmasına yol açmıştır [23]. Tütün ürünlerinin kullanımı, akciğer kanserinin gelişiminde en büyük risk faktörüdür ve sigara içmeye atfedilen akciğer kanserlerinin %90'ı kadardır. Bu nedensel ilişkinin anlaşılması, yavaş ve kademeli olarak gelişmiştir sigara içilmeye başlanması ve akciğer kanserinin meydana gelmesi arasında on yıllardır süregelen gecikme süresi nedeniyle değildir [24].

2.3. Akciğer Kanseri Tedavisi

Akciğer kanseri tedavisinde, erken evre olgularda post operatif standart tedavi uygulanırken, ileri evre metastatik olgularda çeşitli tedaviler bulunmaktadır. Hastaların genel durumu, tümörün tipi (KHAK veya KHDAK) ve tümörün genomik özelliği dikkate alınarak tedavi seçimi yapılmaktadır [25].

2.3.1. İmmün-Onkoloji Terapiler

Bağışıklık sistemi (İmmün sistem), vücudun üretmediği maddelere ve vücutta algılanan ve tehlikeli olarak değerlendirilen maddelere karşı vücudu korumak için uzmanlaşmıştır. Bağışıklık sisteminin kanser hücrelerini yok etme potansiyeline sahip olduğu artık kabul edilmektedir. Bağışıklık sistemi doğal ve adaptif olarak ikiye ayrılır ve hem doğal bağışıklık sistemi ve hem de adaptif bağışıklık sistemi tarafından tümöre karşı oluşturulan yanıtlar tümörün büyümesini inhibe eder [26].

Doğal immün sistemin oluşturduğu yanıtlar, antijene spesifik değildir. Hızlı gelişirler. İnterferan gama (IFN- γ) ve perforin salgılanmasına neden olan çeşitli efektör hücrelere (doğal öldürücü [NK] hücreler, polimorfonükleer lökositler ve mast hücreleri, ayrıca makrofajlar ve dendritik hücreler gibi) ve antijen sunan hücrelere aracılık ederek tümör hücrelerinin apoptozunu indükleyen enflamatuvar sitokinlere aracılık ederler. Buna karşılık, adaptif immün sistemin tepkileri antijene özgüdür. Daha yavaş gelişir, immün hafıza oluşturur ve sırasıyla B ve T hücrelerinin aracılık ettiği hem humoral hem de hücrel immüniteyi içerir. Bu nedenle doğal bağışıklık yerine adaptif, uzun süreli ve dayanıklı antikanser bağışıklık yanıtları için büyük bir potansiyel sağlamaktadır. Bir diğer önemli nokta ise dendritik hücreler, makrofajlar ve NK hücreleri gibi doğal immünite ile ilgili hücrelerin bazıları da adaptif immünitede rol oynar [27]. İmmatür dendritik hücreler insan tümöründe kanser hücrelerinden salınan antijenlere karşı adaptif immün yanıtın oluşmasını başlatır.

Kanseri tedavi etmenin klasik yolu, tümörü doğrudan hedeflemektir. Ancak, pasif tedaviler vücudun var olan immün yanıtını kolaylaştırır ve bunda immün hücrelerin doğrudan katılımı gerekmez [28]. İmmünoterapi, onkolojide vücudun kanserle savaşması için kendi doğal savunma sistemini kullanan çığır açan bir tedavi yöntemidir. Bazı kanser hücreleri, sağlıklı hücrelerle aynı özellikleri gösterir ve bu nedenle bağışıklık sistemi

vücudun normal ve anormal (kanser) hücrelerini birbirinden ayıramaz [29]. İmmünoterapinin bağışıklık sistemini güçlendirerek kanser hücrelerini hedef alabilmesini ve kanser hücrelerinin büyümesini durdurabilmesini veya yavaşlatabilmesini, kanser hücrelerinin vücudun diğer bölgelerine yayılmasını engelleyerek veya bağışıklık sisteminin etkinliğini arttırmasına yardımcı olarak yaptığına inanılmaktadır. Geçmişte, ‘pasif’ immünoterapi (örn; antikorlar, sitokinler veya aktive edilmiş T hücreleri, NK hücreleri veya lenfokinle aktive edilmiş öldürücü hücreler gibi önceden oluşturulmuş immün efektörlerin infüzyonu) olarak adlandırılmaktaydı; şimdi ise doğrudan tümöre etki etmesi muhtemel olan ve bağışıklık sisteminden bağımsız olan veya ‘aktif’ immünoterapi (örn; aşılar) ve muhtemelen hastanın bağışıklık sistemine bağlı olarak tasarlananmıştır. Bununla birlikte, tümörün yok edilmesi için tümör kontrolü veya tam tümör eliminasyonu gibi çoklu immün efektör mekanizmaların ve tümör mikro-ortamındaki bu mekanizmaları etkileyen immünosüpresif kuvvetlerin öneminin anlaşılmasının artmasıyla birlikte, hem pasif hem de aktif immünoterapilerin hastanın immün sistemine bağlı olduğu açığa çıkmıştır. Kanseri hücreleri tarafından eksprese edilen spesifik antijenleri doğrudan hedefleyerek, antikanser monoklonal antikorları iyi oluşturulmuş bir immünoterapötik ajan sınıfıdır.

Bağışıklık sistemi kanserin gelişimine karşı koruyucudur. Hem doğal bağışıklık sistemi hem de edinilmiş bağışıklık sistemi bu özelliği göstermektedir. Doğal bağışıklık sistemi, doğal öldürücü (NK) hücreler yoluyla kanser hücrelerinin yok edilmesine yardımcı olur. Edinilmiş bağışıklık sistemi ise tümöre karşı bağışıklık yanıtında önemli bir rol oynar [30].

Kanserin ayırt edici özellikleri, insan tümörlerinin çok aşamalı gelişimi sırasında edinilen altı biyolojik yeteneği içermektedir. Bu ayırt edici özellikler neoplastik hastalığın karmaşıklığını rasyonelleştirmek için bir öncelikli düzenleme ile meydana gelir. Bunlar; proliferatif sinyalleme sürdürmek, büyüme süpresörlerinden kaçmak, hücre ölümüne direnmek, çoğalarak ölümsüzlüğü sağlamak, anjiyogenezi indüklemek ve invazyonu aktive ederek metastaza neden olmak. Son on yılda yapılan araştırmalar kanserin sistemik bir hastalık olmasındansa farklı birçok etkene bağlı olduğuna dair görüşler bulunmaktadır. Kanseri ile ilgili yapılan araştırmalar neticesinde kavramsal ilerlemeye destek olacak şekilde iki belirleyici ve ayırt edici genel özellik ortaya çıkmıştır: Enerji Metabolizmasının Yeniden Programlanması ve İmmün Yıkımdan Kaçınma [31].

Bir on yıl daha sonra ve kanserin sistemik bir hastalık olarak çalışılmasındaki önem artmaya devam ettikçe, kanserin yalnızca bir hastalık değil, birçok farklı hastalık olduğu konusunda yeni anlayışlar olacaktır. Bu nedenle kanseri tam olarak anlamak için araştırmaların odak noktalarını kanser hücresinden, kanserin içinde büyüdüğü kanseri taşıyana ve onun mikro çevresine bakılmalıdır ki bunun da çok önemli bir bileşeni, bağışıklık sistemidir. Sonuç olarak, kanseri yeniden tanımlamak için yeni bir tablo ortaya çıkmaktadır. 2011 yılında dört ek ayırt edici özellik tanımlandı. Bunlardan ikisi, kanser ve bağışıklık sistemi arasında yeni tanımlanan ikili etkileşimi vurgulamaktadır: birincisi, akut enflamasyon ve kanseri yok etmeye neden olan immün yıkımı önleme yeteneği ve ikincisi, eliminasyondan ziyade tümör büyümesini destekleyen kronik enflamasyon potansiyelidir [32].

Monoklonal antikorlar(mAbs) in vitro olarak üretilir ve bunların murin, kimerik, insanlaştırılmış ve insan kökenli çeşitleri olabilir. Bu antikorlar bir tümörle ilişkili antijenlere özgüdür ve uygulandığında tümör hücresine çeşitli şekillerde saldırabilir. Tek yol, antikora bağımlı hücre aracılı sitotoksitedir. Bu, terapötik mAb'lar, tümör hücresi üzerindeki spesifik bir yüzey antijenine ve immün hücrenin Fcγ reseptörüne, genellikle doğal öldürücü (NK) hücrelere veya makrofajlara bağlandığında meydana gelir. Etektör hücreler daha sonra kanser hücresini enzimatik olarak tahrip eder. Alternatif olarak antikorlar, hücre zarını delmek ve ölüme neden olmak için kullanılan, antikor etiketli hücrelere yanıt olarak bir membran atak kompleksi oluşturan bir protein grubu olan kompleman sistemini aktive edebilir. Antikorlar ayrıca kemoterapötik veya radyoaktif bir ilaçla birleştirilir ve bu ilacın doğrudan kanser hücrelerine verilmesini kolaylaştırarak tümörle savaşmak için kullanılabilir [28].

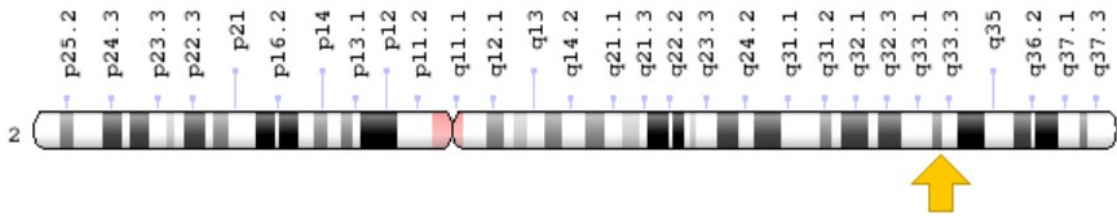
2.4. CTLA-4'ün Yapısı, Kromozomal Yeri ve Fonksiyonu

İmmüno-onkoloji, son yüzyılda immünoloji ve kanser terapisinde çığır açan keşiflerin ürünü olan genç ve büyüyen bir alandır. Bu alandaki yenilik, vücudun bağışıklık sisteminin kansere cevap verip vermeyeceği konusunda bile tartışmalı olmasından kaynaklanıyor. Sitotoksik T-Lenfosit İlişkili Protein 4 (CTLA-4/CD152), ilaç hedefi olarak kullanılan ilk bağışıklık kontrol noktasıdır ve İmmüno-onkoloji alanına yol gösterici olmuştur [28].

Sitotoksik T lenfosit ile ilişkili protein 4 (CTLA-4 / CD152), immünoglobulin süper familyasında zara bağlı tek V(değişken) domeni alt ailesinin üyesidir [33]. CTLA-4, B7 ligandlarına B7-1 (CD80) ve B7-2(CD86)'yi de bağlayan ortak bir uyarıcı molekül olan CD28 ile önemli bir homolojiye sahiptir [38]. Ancak CD28, aktif T hücrelerinin yanı sıra dinlenme halindeki T hücrelerinde de bulunur, CTLA-4 ise öncelikle aktif T hücrelerinde ve düzenleyici T hücrelerinde (Treg'ler) bulunur [34]. Anti-CTLA4 tedavisi, doğrudan T hücresi aktivasyonu yoluyla kanser hastalığı tedavisi için test edilen ve onaylanan ilk bağışıklık kontrol noktası inhibitörüdür [35]-[37]. CTLA-4 aynı zamanda CD152 olarak da bilinen, T hücre fonksiyonlarını inhibe eden bir B7/CD28 aile üyesidir. Yapısal olarak Treg'ler (T-düzenleyici hücreler) tarafından eksprese edilir ancak aktivasyon üzerine diğer T hücresi alt kümeleri, özellikle CD4+ T hücreleri tarafından da düzenlenebilir [38]. Tükenmiş T hücreleri ayrıca diğer inhibitor reseptörler arasında CTLA-4 ekspresyonu ile de karakterize edilir. CTLA-4, çoğunlukla hücre içi veziküllerde bulunur ve sadece endositoz olmadan önce immünolojik sinapstaki aktivasyon üzerine geçici olarak eksprese edilir [39]. CTLA-4, eş uyarıcı reseptör CD28'den dolayı azalan sinyalleme yoluyla immünoşüpresyona yani bağışıklık sistemini baskılayıcı tedaviye aracılık eder. Her iki reseptör de CD80 ve CD86'yı bağlasa da, CTLA-4 etkili bir şekilde CD28'i geride bırakarak çok daha yüksek bir afinite ile yapar. CTLA-4 ayrıca CD80 ve CD86'yı (bunların sitoplazmik alanları da dahil) antijen sunan hücrelerin hücre yüzeylerinden trans-endositoz yoluyla çıkarabilir. Bu nedenle bu uyarıcı reseptörlerin diğer CD28 eksprese eden T hücrelerine mevcudiyetini azaltabilir. Nitekim bu işlem Treg'lerin seyirci hücrelerde immün baskılamaya aracılık ettiği önemli bir mekanizmadır [35]. CTLA-4 antijen sunumu sırasında CD28 aracılı sinyalleme sınırlandırıp T hücrelerinin aktivasyon eşliğini artırarak, vücudun kendi antijenlerine karşı ve tümör antijenleri gibi zayıf antijenlere karşı immün yanıtları azaltır. Farelerde bulunan Forkhead P3 (FoxP3) + Treg hücrelerinden CTLA-4 eksprese edilmektedir. Doğal yollarla oluşan Foxp3+ CD4+ düzenleyici T hücreleri(Treg'ler) immünolojik kendi kendine oluşan toleransı ve immün homeostazı korumada esastır. Farelerle yapılan bir deneyde Treglerde meydana gelen spesifik bir CTLA-4 eksikliğinde, sistemik lenfoproliferasyonun gelişimi, ölümcül T hücre ilişkili otoimmün hastalığın oluşumu, immünoglobulin E'nin çok fazla üretiminin spontane olarak gelişimi ve ayrıca güçlü tümör immünitesinin de gelişim göstermesi ile sonuçlandığı görülmüştür. Farelerde yapılan bu deneyler CTLA-4'ün immünolojik dayanıklılıkta oynadığı merkezi rolü göstermiştir. Bu hayvanların lenfoproliferatif hastalıklar geliştirdiği

gözlemlenmiş ve genç yaşta ölmüştür. Yapılan bu araştırmalarda CTLA-4, otoimmünite, alerji ve tümör bağışıklığı dahil olmak üzere hem fizyolojik hem de patolojik immün cevaplarda Treg baskılayıcı fonksiyonun kontrol edilmesi için önemli bir moleküler hedef olarak gösterilmiştir [40], [41]. Benzer şekilde, CTLA-4 genindeki polimorfizmler insanlarda otoimmün hastalıklarla ilişkilidir [42]. CTLA-4 sinyalinin enfeksiyonlara ve tümör hücrelerine karşı immün tepkileri azalttığı gösterilmiştir [43], [44].

CTLA-4 Geninin Sitojenik Konumu: 2q33.2, ki bu da şunu ifade eder 2. Kromozomun uzun kolu (q) nun 33.2 konumundadır (Şekil 3). CTLA-4 Geninin Moleküler Konumu: Kromozom 2 üzerindeki baz çiftleri 203,867,788 ile 203,873,960 dır.



Şekil 2.4. CTLA-4 geninin kromozom üzerindeki yeri [45].

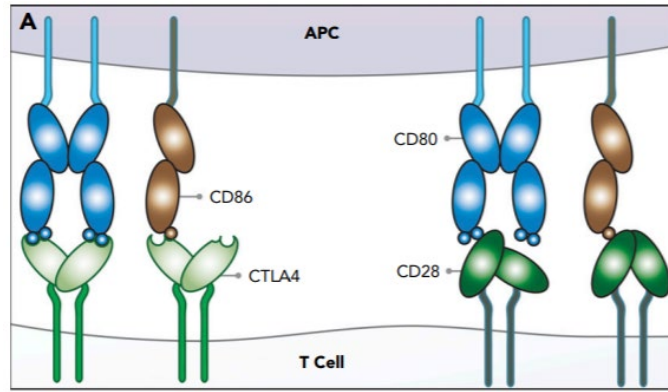
Kromozom 2q33 bölgesi, T hücresi proliferasyonunun kontrolünde yer alan ve her ikisi de T hücresi reseptörlerini kodlayan 25-150 kb CTLA-4 içindeki otoimmün hastalık aday genleri CTLA-4 ve CD28'i içerir. CTLA-4, T hücresi ilişkili otoimmün hastalıklar için güçlü bir aday gendir. T hücresi apoptozisine aracılık eder ve T hücresi aktivasyonunun önemli bir negatif regülatörüdür [46].

2.5. CTLA-4 İnhibitörleri

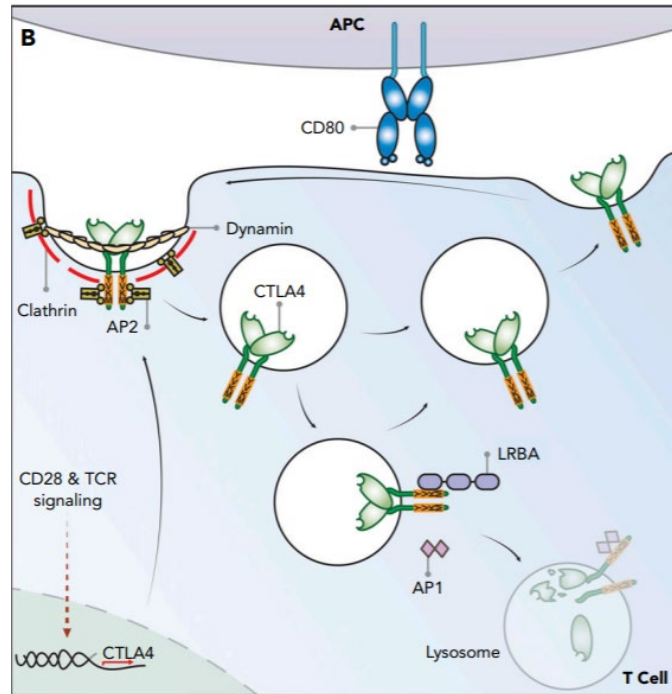
CTLA-4, aktive edilmiş T-efektör hücrelerin (Teff) ve T-düzenleyici hücrelerin (Treg) yüzeyinde eksprese edilen ve bağlı olduğunda Teff'in inhibe edilmesine ve Treg'in arttırılmasına neden olan bir reseptördür. Teff hücrelerinin yüzeyinde eksprese edilen aynı zamanda CTLA-4'e homolog olan ve hücreyi uyarmaya yarayan CD28'tir. CD28 ve CTLA-4, bu nedenle birbirlerini engeller ve aynı zamanda APC (antijen sunucu hücre)'lerdeki, yani CD80 ve CD86'daki aynı iki reseptör için de rekabet eder. CTLA-4, her iki ligand için daha yüksek bir afiniteye sahiptir ve doğal olarak CD28'i yarışmalı

olarak geçer. Bu, bağışıklık tepkisini yumuşatma ve otoimmün reaksiyonları önleme işlevi görür [47].

CTLA-4 ve CD28 reseptörleri, 2 ligand, CD80 ve CD86'yı paylaşır. CD80 bir dimerik yüksek afiniteli ligandır ve CD86 her iki reseptör için monomerik bir düşük afiniteli ligandır. CTLA-4, CD80 için CD86'dan daha yüksek afinite ve avidite oranına sahiptir. Göreceli yakınlıklar yüksekte düşüğe ve soldan sağa doğru gider [48].



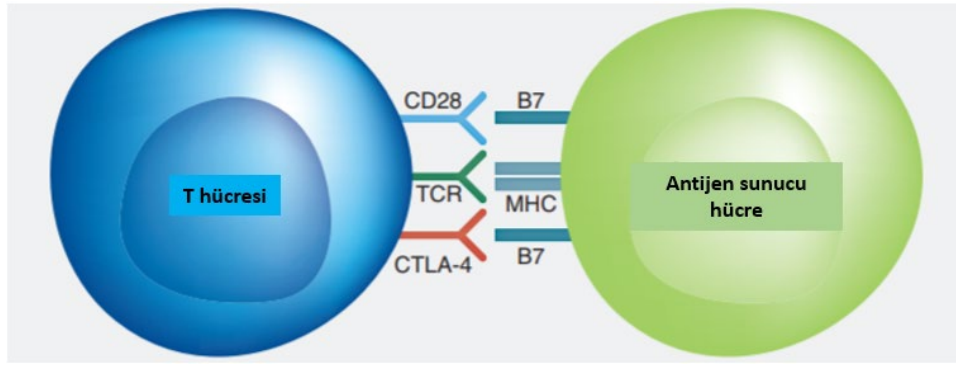
(a)



(b)

Şekil 2.5. CTLA-4 hücresinin şematik gösterimi [48].

(a) T hücrelerinde eksprese edilen CTLA-4, oldukça endositiktir. CTLA-4, Treg'de yapısal olarak eksprese edilir veya CD28 ve TCR sinyali yoluyla T-hücresi aktivasyonunun ardından indüklenir. Ligandın yokluğunda, CTLA-4, esas olarak, AP2 molekülü ile CTLA-4 etkileşiminin aracılık ettiği clathrin aracılı endositozun ardından hücre içi kompartmanlarda bulunur. (b) CD4 + (yardımcı) ve CD8 + (sitotoksik) T hücreleri, aktive edilir ve karmaşık bir işlemle patojenlere cevap vermek üzere çalıştırılır. Bu işlem, kısmen çeşitli inhibe edici ve uyarıcı yollar vasıtasıyla düzenlenir. Böyle bir yol CTLA-4 yoludur. CTLA-4 yolu, normalde T-hücresi aktivasyonunu inhibe eden, inhibe edici bir yoldur. CTLA-4 reseptörü, antijen sunucu hücreler olarak bilinen ligandlarına bağlanır [48].



Şekil 2.6. Antijen sunucu hücre ile T hücre etkileşimi [49].

T hücresi aktivasyonu, TCR (T hücre reseptörü), antijen sunucu hücre üzerinde peptitler sunan MHC sınıf I veya II molekülleri ile etkileşime girdiğinde ve CD28 reseptörünün ve bunun B7-1 ve B7-2 ligandlarının bağlanması yoluyla uyarıcı yol sinyalleri ile etkileşime geçtiğinde meydana gelir. T-hücresi aktivasyonu, CTLA-4 reseptörü ligantlarına B7 bağlandığında inhibe edilir. Bu iki yol, T hücre fonksiyonunda önemli rol oynayan birkaç inhibe edici ve uyarıcı yoldan sadece ikisidir [49].

Küçük hücreli dışı akciğer kanseri tanımlı hastalarda tümörü hedef alan tedaviler ve immüno-onkoloji terapiler ile sağ kalım süresinin uzadığına ve sağ kalım oranının arttığına dair bir çok araştırma yapılmıştır. Bu araştırmalar doğrultusunda hedefe yönelik tedavilerde ön plana çıkan CTLA-4 biyobelirteci parametrelerine ait yaş, cinsiyet, sigara kullanımı, histopatoloji veri istatistikleri ile KHDAA tanımlı hastalarda ilişki analizi yapılmıştır. Ayrıca KHDAA tanımlı hastalarda genotip ve allel dağılımı durumlarına bakılmıştır.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Örneklerin Toplanması

Akciğer grafisi yaptırmış ve İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Göğüs Cerrahisi Anabilim Dalı'nda küçük hücreli dışı akciğer kanseri tanısı ile takip edilen 56 hasta ve akciğer grafisi yaptırmış, akciğer kanseriyle ilişkisi olmayan 107 sağlıklı gönüllü, kontrol grubu olarak kullanılmıştır. Çalışmaya ait belirlenen tüm gönüllüler ilgili hekim tarafından yapılmıştır. Bu kapsamda her iki kolda yer alan gönüllülere ait polimorfizmler incelenmiştir. Her iki kolda yer alan gönüllülerin kanlarından DNA izolasyonu yapılmıştır ve tayin edilecek DNA örneklerinin saflık tayinleri ile DNA konsantrasyonları hesaplanmıştır. Tayin edilecek olan bu DNA örnekleri için sırasıyla Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR), Restriksiyon Fragmanı Uzunluk Polimorfizmi ve Agaroz Jel Elektrophorez yöntemleri kullanılmıştır.. Bu teknikler ile hasta ve kontrol gruplarında yer alan gönüllülere ait saptanan polimorfizmlerin yapısı ve dağılımı istatistiksel analizler ile incelenmiştir.

3.2. Kullanılan Gereçler

Elektromag marka ısıtıcı manyetik karıştırıcı, Hanna marka pH metre, Mettler marka hassas terazi, Otoklav, TDX marka mikrosantrifüj, Elektromag marka su banyosu, Eppendorf marka pipet takımı, Hettich marka falkon santrifüj, Vorteks, Etüv, Thermal Cycler cihazı, Hot plate, Philco mikrodalga fırın, E-C 350 MIDICELL marka Elektrophorez sistemi, E-C Apparatus Corporation marka Elektrophorez için güç kaynağı, Dijital görüntüleme sistemi, Stratagene UV/White Light Transilluminator marka UV transilluminator, DS34 Direct Screen Instant Camera marka polaroid kamera, Spektrofotometre (Biochrom-S2100 diode array spectrophotometer).

3.3. Kullanılan Materyaller:

Amonyum klorür, Amonyum asetat, RBL (Lysis buffer) Eritrosit parçalama çözeltisi, Etilen Diamin Tetra Asetat (EDTA), Sodyum Dodesil Sülfat (SDS), Tris, Potasyum

bikarbonat, Sodyum Klorür, dNTP seti, Proteinaz K, PCR primer, Taq DNA Polimeraz, Magnezyum Klorür, Borik Asit, Agaroz, Etidyum Bromür, DNA Ladder (DNA size marker), PCR pürifikasyon kiti, Restriksiyon Enzimleri, Sodyum Asetat, Etanol (%99), Etanol (%70).

3.4. Kullanılan Çözeltiler:

Amonyum Asetat Çözeltisi (NH₄Ac): 100 ml çözelti için 73,226 gr NH₄Ac tartıldı ve distile su ile 100 ml'ye tamamlandı. Çözündürülmesi sağlanarak homojenize edildi. Steril enjektör ve steril enjektör iğnesi ile steril falkon tüpü içine 0.22 mikronluk filtreden geçirilerek sterilize edildi. +4 °C de buzdolabında saklandı.

%10'luk SDS (Sodyum Dodesil Sülfat) Çözeltisi: SDS irritandır ve tozları çabuk yayılır. Zor çözünen ve su ile köpüren bir yapıya sahiptir. Bu nedenle 100 ml çözelti için tartılan 10 gr SDS tozların kalkmamasına dikkat edilerek beher içine koyuldu. Üzerine steril bidistile su eklendi ve çözündürüldü. Hacmi 100 ml ye tamamlandı. Manyetik karıştırıcı ile çözündürülerek pH'ı 7,2 olacak şekilde ayarlandı. Sterilize etmek amacıyla 0,22 mikronluk filtreden geçirildi ve oda sıcaklığında saklandı.

Eritrosit Parçalama Çözeltisi (RBL-Lysis Buffer): 1 lt çözelti için, 8,74gr NH₄Cl, 1 gr KHCO₃, 0,0372gr (200µl) Na₂EDTA tartılarak 1 lt'lik şişeye aktarıldı. Üzerine 900 ml distile su eklendi. Çözündürülerek pH'ı ölçüldü. Ölçülen pH bazıkse HCl veya asidikse NaOH ilave edilerek 7,4 olacak şekilde dengelendi. Tüm hacim 1 lt olacak şekilde distile su eklendi. Oda sıcaklığında saklandı.

EDTA (Etilen Diamin Tetra Asetat): 0,5 M, pH'ı 8 olan çözelti için, 186,1 gr EDTA, 800 ml distile su behere aktarıldı ve manyetik karıştırıcı ile çözündürüldükten sonra balon jojeye koyuldu ve distile su ile 1 lt'ye tamamlandı. 120 °C'de 15 dakika otoklavlanarak sterilize edildi.

TAE (Tris-asetik asit-edta) Çözeltisi: 1 M çözelti için, 121,1 gr Tris baz, 42µl HCl, 800 ml distile su behere aktarıldı ve manyetik karıştırıcı ile çözündürüldü. pH'ı NaOH ile 8.0 'a ayarlandı ve distile su ile 1 lt'ye tamamlandı. 120 °C'de 15 dakika otoklavlanarak sterilize edildi.

Sodyum Klorür(NaCl) Çözeltisi: 4 M çözelti için, 233,6gr NaCl tartıldı ve erlene aktarıldı. Üzerine 800 ml distile su eklendi. Manyetik karıştırıcı ile çözündürüldükten sonra

balon jojeye koyuldu ve distile su ile 1 lt'ye tamamlandı. 120 °C'de 15 dakika otoklavlanarak sterilize edildi.

Lökosit Parçalama Çözeltisi (WBL-White Blood Cell Lysis Buffer): 400 ml çözelti için, 2,34 gr NaCl (4 M), 3,722 gr Na₂EDTA (0,5 M), 8 ml NaCl (5 M) ya da 10 ml (4 M), 20 ml) Na₂EDTA (0,5 M), 400ml distile su tartılarak 500 ml'lik balon jojeye koyuldu. Üzerine 400 ml distile su koyularak çözündürüldü. Çözelti otoklavlanarak sterilize edildi ve oda sıcaklığında saklandı.

3.5. Kullanılan Laboratuvar İşlemleri:

3.5.1. Tuzla Çöktürme Yöntemi ile DNA İzolasyonu

50 ml'lik falkon tüplere kan örnekleri koyuldu ve üzerine 3 katı kadar RBL (Lysis Buffer) Eritrosit Parçalama Çözeltisi eklendi. +4 °C de 15-20 dk. kan hemoliz olması için bekletildi. +4 °C de 1500 rpm'de 10 dk santrifüj edildi. Süpernatant kısmı döküldü ve pellet homojenize edildi. Pellet üzerine ilk hacmin 2 katı kadar RBL (Lysis Buffer) Eritrosit Parçalama Çözeltisi eklendi ve +4 °C de 15-20 dk bekletildikten sonra 1500 rpm'de 10 dk. santrifüj edildi. Üst kısım dökülür ve pellet homojenize edildi. Üzerine 10 ml Lökosit Parçalama Çözeltisi (WBL), 75 µl proteinaz K , 500 µl %10luk SDS eklenerek 65 °C deki su banyosunda 1 saat inkübe edildi. Daha sonra 3,7 ml 9 M amonyum asetat (NH₄Ac) ilave edilip ve karıştırıldı. +4 °C de 4500 rpm'de 20-30 dk. santrifüj edildi. DNA içeren üst kısım temiz falkona alınıp, çökelti atıldı. Üzerine 2 kat hacminde %99'luk etil alkol eklendi. Alkolün eklenmesiyle birlikte DNA yüzeye çıktı. Üst kısımda toplanan DNA mikropipet yardımıyla 1,5 ml'lik ependorf mikrotüpe alındı. 500 µl %70 lik alkol ile yıkanp, ardından 14000 rpm'de 1 dk. santrifüj yapıldı. Dealkolizasyon için alkol kısmı uzaklaştırıldı ve 56 °C de 20-30 dk kapaklar açık olarak bekletildi. Alkolden uzaklaştırılan DNA distile suda çözündürüldü ve 56 °C de 20-30 dk bekletildi. Elde edilen DNA saflığı ve miktarının ölçümü için spektrofotometrede OD ölçümü yapıldı. DNA daha sonra +4 °C de buzdolabında saklandı.

3.5.2. PCR (Polimeraz Zincir Reaksiyonu)

Çalışmada uygulanan PCR dizi analizi yapılacak gen bölgesine uygun primerlerin, uygun erime sıcaklık derecelerine göre yapılmıştır. Gen polimorfizminin saptanmasında 10

pmollük primer çiftleri CTLA-4 49 A/G (rs231775) gen polimorfizminin analizi, lokusa spesifik ileri ve geri primer ve restriksiyon fragmanı uzunluğu ile PCR gerçekleştirilmiştir. 1.5mM dNTP karışımı, 10X reaksiyon çözeltisi, 2 Mm MgCl₂ içermektedir. DNA örnekleri uygun derişimde hazırlanacak PCR karışımı için optimum koşullarda uygun PCR reaksiyonu gerçekleştirilmiştir. PCR reaksiyonu 94°C de 3 dakika, 94°C de 15 sn, 58°C de 30 sn, 72 °C de 1 dakika olacak şekilde 33 döngü ve 72 °C de 7 dakika elongasyon şeklinde gerçekleştirilmiştir.

Amplifikasyonda kullanılan ileri primer:

5'-GCT CTA CTT CCT GAA GAC CT-3'

Amplifikasyonda kullanılan geri primer:

5'-AGT CTC ACT CAC CTT TGC AG-3'

3.5.3. Restriksiyon Fragment Uzunluk Polimorfizmi

PCR sonrası ilgili gen polimorfizmlerinin saptanması için PCR ürünleri BbvI ve TruII(MseI) restriksiyon enzimleriyle her bir enzim için saptanacak olan optimum sıcaklıkta ve sürede inkübasyona tabi tutularak kesimi yapılmıştır.

3.5.4. Agaroz Jel Elektroforezi

PCR ürünleri %3 lük konsantrasyonda agaroz jele yüklenerek elektroforez cihazında 100 voltta 20-30 dk yürütülmüştür. Bu işlemle restriksiyon enzimleriyle kesilen PCR ürünlerinin görüntülenmesi amaçlanmaktadır. Elektroforez cihazında yerleştirilip jele yüklenip yürütülen ve bu yürütme ile jelde birbirinden ayrılan ürünler, Ultraviyole (UV) ışık altında incelenmiştir. UV ışık altında parlak floresan ışıması yapmıştır ve bu şekilde genotipleri belirlenmiştir.

3.5.5. Serum Ctl4 Düzeyinin Elisa Yöntemi İle Tayini

Çalışmada “Abbkine” tarafından geliştirilen Human Soluble Cytotoxic T-lymphocyte-associated protein 4 (sCTLA-4) ELISA test kiti kullanıldı. Örnekler kitte bulunan Sample Diluent ile sulandırılmıştır. Her bir sample kuyusuna 40 µl sample diluent

ve üzerine 10 µl serum (sample) eklendi. 45 dakika 37 °C inkübe edildi. İnkübasyon sonrası 250 µl yıkama tamponu eklenerek 5 kez yıkandı. Kurutulduktan sonra 50 µl HRP-Konjugat eklenerek plate kaplanıp oda sıcaklığında 30 dakika inkübe edildi. Tekrar aynı şekilde 250 µl yıkama tamponu eklenerek 5 kez yıkandı. İyice yıkandığından emin olunan kuyucuklara daha sonra 50'şer µl kromojen A ve B eklendi. Oda sıcaklığında karanlıkta 15 dakika inkübe edildi ve her kuyucuğa 100 µl durdurma (stop) solusyonu eklenip, bekletme yapmadan ELISA cihazında okutuldu. Sonuçlar ELISA okuyucusunda 450nm dalga boyunda okunduktan sonra pg/ml olarak hesaplanmıştır. Kitin sensitivity değeri 3.0 pg/ml' den daha düşük olarak belirlenmiştir.

3.5.6. İstatistiksel İncelemeler

Küçük hücreli dışı akciğer kanseri olgularında CTLA-4 gen polimorfizmlerinin anlamlı dağılım gösterip göstermediği SPSS programı ile analiz edilmiştir. Aynı zamanda vakalardan elde edilen demografik ve klinik verilerin anlamlılığı Ki kare (χ^2) ve student T testi ile değerlendirilmiştir.

4. BULGULAR

CTLA-4 geni 49 A/G varyantını belirlemek için, İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Göğüs Cerrahisi Anabilim Dalı tarafından KHDAK tanısı koyulmuş 5 kadın, 51 erkek olmak üzere toplam 56 KHDAK hastası çalışmaya alındı. Kontrol grubu olarak ise 63 kadın, 44 erkek olmak üzere toplam 107 sağlıklı gönüllü birey çalışmaya dahil edildi.

Çalışmamıza dahil edilen küçük hücreli dışı akciğer kanser hastaları ve kontrol grubuna ait yaş parametresine göre yapılan değerlendirme sonucunda; kontrol grubunun yaş ortalaması $56,5 \pm 12,4$ hasta grubunun yaş ortalaması $60,7 \pm 11,3$ şeklinde bulunmuştur. Hasta grubu ve kontrol grubu arasında yaş parametresi açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p=0.064$) (Tablo 4.1).

Tablo 4.1. Çalışma Gruplarına Ait Veriler

Parametreler		KHDAK Hastaları (n:56)	Kontrol Grubu (n:107)	P değeri
Yaş (year) mean $\pm$ (SD)		60,7 $\pm$ 11,3	56,5 $\pm$ 12,4	=0,064
Sigara İçme durumu	Var	52 (92,9)	7 (6,5)	< 0,01
	Yok	4 (7,1)	100 (93,5)	
Cinsiyet	Erkek	51(91,7)	44(41,1)	< 0,01
	Kadın	5(8,3)	63(58,9)	

n:birey sayısı; tablodaki değerler X+SD olarak verilmiştir; gruplar arası analiz student t testi ve Kikare (χ^2) ile gerçekleştirilmiştir.

Tablo 4.2. Küçük hücreli dışı akciğer kanser ve sağlıklı kontrollerde CTLA-4 49 A/G genotipleri

GENOTİPLER CTLA-4 49 A/G	KHDAK Hastaları n (%)	Kontrol Grubu n (%)	<i>P değeri</i>
AA	32 (57,1)	54 (50,5)	= 0,429
AG	18 (32,1)	45 (42,1)	
GG	6 (10,7)	8 (7,5)	
G Alleli	30 (26,8)	61 (28,5)	= 0,740
A Alleli	82 (73,2)	153 (71,5)	

n:Birey sayısı; gruplar arası analiz Kikare (χ^2) testi ile gerçekleştirilmiştir.

CTLA-4 geni 49 A/G varyantının hasta ve kontrol grubu arasında genotip ve allel dağılımı Tablo 2’de verilmiştir. Çalışmamızda, CTLA-4 geni 49 A/G polimorfizm sonuçları değerlendirildiğinde, homozigot AA ve GG genotip oranları hastalarda kontrollere göre daha yüksek, heterozigot AG genotipinin oranı ise daha düşük bulunmuş olmasına rağmen, CTLA-4 49 A/G varyantının AA, AG ve GG genotipleri dağılımı açısından hasta ve kontrol grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır ($p=0,429$).

Aynı hasta grubunda CTLA-4 49 A/G polimorfizmi için A alleli (AA+AG) taşıma durumu (%73,2) olarak kontrol grubuna göre (%71,5) daha yüksek bulunmuş fakat aradaki farklılık allel dağılımı açısından istatistiksel olarak anlamlılığa ulaşamamıştır. ($p=0,740$) (Tablo 4.2).

Çalışma grubunda, heterozigot AG genotipi homozigot AA ve GG genotiplerine göre hasta ve kontrol grubunda karşılaştırıldığında, hasta grubunda AG genotipi (%32,1) taşıyanların sıklığı kontrol grubuna göre (%42,1) düşük olmasına karşın, bu durum istatistiksel olarak anlamlı bulunamamıştır ($p>0,05$).

Tablo 4.3. Hastaların Klinik ve Patolojik Özellikleri

Parametreler	KHDAK Hastaları (n%)
Tümör Derecesi	
T1	22 (39,3)
T2	18 (32,1)
T3	13 (23,2)
T4	3 (5,4)
Lenf Nod Metastazı	
N0	36 (64,9)
N1	19 (33,3)
N2	1 (1,8)
Histolojik Tip	
Skvamöz Hücreli	24 (45,3)
Adenokarsinom	23 (43,4)
Diğer	6 (11,3)
Perinöral İnvazyon Varlığı	
Var	17 (30,4)
Yok	39 (69,6)
Anjiyolenfatik İnvazyon	
Var	16 (29,1)
Yok	39 (70,9)
Metastaz	
Var	2 (3,6)
Yok	54 (96,4)

n:birey sayısı

Tablo 4.4. CTLA-4 49 A/G genotiplerinin hastaların patolojik parametreleri ile karşılaştırılması

Parametreler	CTLA-4 49 A/G		
	AA	AG	GG
Cinsiyet			
Kadın	3 (60)	2 (40)	0 (0)
Erkek	29 (56,9)	16 (31,4)	6 (11,8)
Tümör Evresi			
T3+ T4	10 (62,5)	5 (31,2)	1 (6,3)
T1+ T2	22 (55)	13 (32,5)	5 (12,5)
Histolojik Tip			
Adenokarsinom	14 (60,9)	7 (30,4)	2 (8,7)
Skvamoz Hücreli Kanser	12 (50)	9 (37,5)	3 (12,5)
Diğer	4 (66,7)	1 (16,7)	1 (16,7)
Lenf Nod Metastazı			
N1, N2, N3	10 (50)	7 (35)	3 (15)
N0	22 (61,1)	11 (30,6)	3 (8,3)
Perinöral İnvazyon Varlığı			
Yok	24 (61,5)	10 (25,6)	5 (12,8)
Var	8 (47,1)	8 (47,1)	1 (5,9)
Anjiyolenfatik İnvazyon Varlığı			
Yok	25 (64,1)	9 (23,1)*	5 (12,8)
Var	7 (43,8)	8 (50)*	1 (6,2)
Metastaz			
Yok	30 (55,6)	18 (33,3)	6 (11,1)
Var	2 (100)	0 (0)	0 (0)

n:birey sayısı; gruplar arası analiz Kikare (χ^2) testi ile gerçekleştirilmiştir. * p=0,05

CTLA-4 49 A/G gen polimorfizminde, küçük hücreli dışı akciğer kanserli hastalarda anjiyolenfatik invazyon varlığında hastaların %50'sinin AG genotipi taşıdığı gözlenirken, anjiyolenfatik invazyon görülmeyen hastalarda bu değer %23,1 olarak

bulunmuştur. Aradaki farklılık istatistiksel olarak sınırda anlamlılık göstermiştir. AG genotipine sahip olmanın damar invazyonu varlığında hastalık riskini yaklaşık 2 kat artırdığı tespit edilmiştir ($p=0,05$ OR:2,167 %95CI :1,019-4,605) (Tablo 4.4).

Hasta grubumuzda CTLA-4 49 A/G genotiplemeşi tümör evresi patolojik parametresi ile birlikte incelendiğinde, GG genotipi T1 veya T2 evresinde olan hastalarda (%12,5) T3 veya T4 evresinde olan hastalara (%6,3) göre daha yüksek oranda izlenmiş ancak herhangi bir istatistiksel anlamlılık bulunamamıştır (Tablo 4.4).

CTLA-4 49 A/G gen polimorfizminde, küçük hücreli dışı akciğer kanserli metastaz görülmeyen hastaların AA, AG ve GG genotiplerini taşıdığı görülürken, metastaz varlığında hastaların sadece AA genotipi taşıdığı belirlenmiştir. Aradaki farklılık istatistiksel olarak anlamlılığa ulaşmamıştır ($p=0,016$) (Tablo 4).

CTLA-4 49 A/G genotiplerinin; hastaların tümör evresi, histolojik tip, lenf nod metastazı, perinoral invazyon, metastaz gibi patolojik parametreleri ile birlikte değerlendirilmesi sonucunda istatistiksel bir anlamlılığa rastlanmamıştır (Tablo 4.4).

Table 4.5. Küçük hücreli dışı akciğer kanseri hastaları ve sağlıklı kontrollerde serum CTLA-4 düzeyleri

Parametre	KHDAK hastaları	Kontrol Grubu	<i>P değeri</i>
	Ortalama $\pm$ SE	Ortalama $\pm$ SE	
Serum sCTLA-4	121,58 $\pm$ 11,89	302,19 $\pm$ 234,24	=0,108

Çalışma grupları arasında serum CTLA-4 düzeyi karşılaştırılması Kruskal-Wallis Testi analizi ve Mann-Whitney U analizi ile gerçekleştirilmiştir.

Küçük hücreli dışı akciğer kanserli hasta serum sCTLA-4 düzeyleri kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, hastalarda sCTLA-4 serum düzeyleri (121,58 $\pm$ 11,89) kontrol grubuna göre (302,19 $\pm$ 234,24) daha düşük oranda tespit edilmiş olup, aradaki fark istatistiksel olarak anlamlılığa ulaşamamıştır ($p=0,108$) (Tablo 4.5).

Çalışma grupları kendi içinde ve gruplar arası incelemede bireylerin taşıdıkları CTLA-4 49 A/G gen polimorfizmine ait genotipler ile sCTLA-4 serum düzeyleri birlikte değerlendirildiğinde istatistiksel bir anlamlılık bulunamamıştır (Tablo 4.5).

Tablo 4.6. Hastaların patoloji bulguları ve serum sCTLA-4 düzeyleri

sCTLA-4 düzeyleri (pg/mL)	Ortalama $\pm$ SE	p-değeri
Cinsiyet		
Kadın	87,75 $\pm$ 20,15	=0,554
Erkek	124,40 $\pm$ 12,67	
Tümör derecesi		
T3+ T4	115,61 $\pm$ 14,3	=0,849
T1+ T2	124,23 $\pm$ 16,17	
Nod Metastazı varlığı		
N1, N2, N3	117,731 $\pm$ 17,8	=0,935
N0	123,29 $\pm$ 15,6	
Perinöral invazyon		
Var	111,12 $\pm$ 12,71	=0,287
Yok	132 $\pm$ 20,24	
Anjiyolenfatik invazyon		
Var	104,79 $\pm$ 12,12	=0,259
Yok	133,89 $\pm$ 1,31	
Metastaz		
Var	98,35	=0,769
Yok	122,51 $\pm$ 12,34	

Tablodaki değerler $\bar{X} \pm SE$ (Standard Hata) olarak verilmiştir.

Küçük hücreli dışı akciğer kanserli hastalarda CTLA-4 49 A/G gen polimorfizmi genotip dağılımları ile serum sCTLA-4 düzeyleri hastalık parametreleri ile birlikte değerlendirildiğinde cinsiyet parametresi ile bir ilişki saptanmamıştır. Aynı şekilde tümör derecesi, nod metastazı varlığı, perinoral invazyon, anjiyolenfatik invazyon, metastaz gibi parametrelerde de herhangi bir anlamlı bulguya rastlanmamıştır (Tablo 4.6).



5. TARTIŞMA

Akciğer kanseri dünya çapında en sık tanı alan kanser tipi olup tümörle ilişkili ölümlerin önde gelen nedenlerindendir. 2018 yılında toplam 17,036,901 kişiye kanser teşhisi koyulmuştur. Bunların 2.093.876'sı akciğer kanseridir. Dünya genelinde kadınlarda akciğer kanseri sigara içme oranının son yıllarda artmasıyla daha sık görülmeye başlanmıştır. Geçmişte, erkeklerin kadınlara göre tütün kullanımı ve akciğer kanserinin görülme sıklığı ve akciğer kanserinden ölüm oranları daha yüksektir. Akciğer kanseri 2012 yılında erkekler arasında kansere bağlı ölümlerde ilk sırada yer alırken, kadınlar arasında kansere bağlı ölümlerde ikinci sırada yer almaktaydı [10], [23], [50]. Akciğer kanseri; küçük hücreli akciğer kanseri (KHAK) ve bir de küçük hücreli dışı akciğer kanseri (KHDAK) olmak üzere ikiye ayrılırken, KHDAK vakaların yaklaşık olarak %85'ini oluşturmaktadır [51]. Erken evre KHDAK'lı hastalarda cerrahi rezeksiyon geleneksel tedavi olarak önerilmiştir [53]. Gelişmiş KHDAK için kemoterapi, radyoterapi, hedefe yönelik terapi ve hatta kombine terapi de kullanılmaktadır [52]-[54]. Son zamanlarda, anti-programlanmış hücre ölümü 1 (anti-PD-1) tedavisi, anti-sitotoksik T-lenfosit antijeni 4 (anti-CTLA-4) tedavisi ve anti-programlanmış hücre ölümü ligand 1 (anti-PD-L1) gibi immün kontrol noktası blokaj tedavisinin (ICBT), insan KHDAK'a karşı terapötik stratejilerde büyük bir ilerleme sağladığı gösterilmiştir [55]-[57]. Bu nedenle, AK riskini etkileyebilecek potansiyel kalıtım faktörlerinin araştırılması, özellikle vakaların en yaygın alt türü olan küçük hücreli dışı akciğer kanseri (KHDAK) türünde araştırmacılar tarafından incelenirken; T-hücreleri aktivasyonu ve proliferasyonu düzenleyen immünoglobülin süper ailesine yardımcı uyarıcı moleküller üzerinde çalışmalar yapılmaktadır [58].

İmmün sistem, kanseri kontrol etme ve bertaraf etme noktasında merkezi bir role sahiptir. Fakat malignite durumunda, efektif anti-tümör yanıtını durduran çeşitli immün baskılama mekanizmaları var olabilmektedir [59]. İmmün kontrol noktaları, normal koşullarda enflamatuar yanıt süresince periferik otoimmüniteyi önlemede görevli çeşitli bağışıklık hücreleri üzerinde eksprese edilen hücre yüzey molekülleridir [60]. Bu kontrol noktalarından biri de sitotoksik T lenfosit ilişkili antijen-4 (CTLA-4)' tür. CTLA-4 geni, en önemli immünoglobulin süper aile genlerinden biridir. CTLA-4 genlerindeki mutasyonlar kansere yatkınlığı değiştirebilir [61].

T hücreleri, insanlardaki bağışıklık sisteminin karmaşık ağında efektör bir role sahiptir. T hücreleri tümör büyümesini inhibe eder fakat tümör hücreleri; CTLA-4 gibi kontrol noktaları aracılığıyla T hücrelerinin devam eden yanıtlarından kaçabilirler [62], [63].

Bugüne kadar yapılan araştırmaların sonuçları CTLA-4'ün T hücrelerinin aktivasyonunun ve proliferasyonunun negatif yönde düzenlenmesinde önemli rol oynadığı görüşünü desteklemektedir. Daha önce yapılan araştırmalarda çeşitli CTLA-4 gen polimorfizmlerinin; graves hastalığı patogenezi [62] meme kanseri riski [64] artmış kolorektal kanser riski [64] kemik iliği karsinomaları [65], servikal kanser [66] ve çocuklarda akut lenfoblastik lösemi [67] ile ilişkili olduğu bulunmuştur. CTLA-4, T hücresi aracılı immünitenin etkin aktivasyonu için gerekli olan önemli bir uyarıcı molekül olan CD28 ile B7 ligand ailesi için rekabet eder. CTLA-4 blokajı, büyük olasılıkla T hücrelerinin doğrudan aktive edilmesi yoluyla, artırılmış antitümör immünitesi ile sonuçlanmaktadır. Anti-CTLA-4 monoklonal antikor tedavisi, bir monoterapi olarak veya bir aşı ile kombinasyon halinde, tümör hedeflerine karşı daha spesifik bir immün tepkiye potansiyel olarak izin verebilir. Bağışıklık sistemi, patojenik bir tehdide uygun bir yanıt üretmek üzere etkileşime giren bir dizi uyarıcı ve önleyici sinyal ile düzenlenir. İmmün regülasyonun kilit inhibitör kontrol noktalarının belirlenmesi ve bu noktaları hedef alan tedavilerin geliştirilmesi, kanser araştırmasının ana hedefidir. Çok sayıda çalışmadan elde edilen sonuçlar, CTLA-4'ün T hücresi aktivasyonu üzerinde bir frenleme mekanizması sağladığını ve immün yanıtta kritik bir rol oynadığını göstermektedir [68].

Bir immün düzenleyici molekül olan CTLA-4 gen bölgesi 2. kromozomun q (2q33) kolunda dört ekzon içeren 6.175 bazlık alan tarafından kodlanmaktadır. İnhibitör reseptör olarak görev yapan CTLA-4 geninde bir dizi singlenükleotid polimorfizmi (SNP) belirtilmiştir. Genetik polimorfizm çalışmalarının temel hedeflerinden olan kanser etiyolojisinin araştırılması ve kanser riskinin değerlendirilmesi bakımından polimorfizm çalışmaları araştırmacılar tarafından sıklıkla incelenmiştir [69], [70]. Song ve ark. yaptığı çalışmada CTLA-4 + 49A> G polimorfizminin, ileri KHDAK için prognostik bir faktör olabileceğini bildirmiştir [71]. Birçok çalışma, CTLA-4 geni (+ 49A> G; rs231775) polimorfizmi ile kanser insidansı arasındaki ilişkiyi incelemiştir. Daha önce CTLA4 geninde (+ 49A> G; rs231775) polimorfizm varlığının rahim ağzı kanseri, küçük hücreli dışı akciğer kanseri ve böbrek hücreli karsinom riskini arttırdığı bildirilmiştir [72], [73].

CTLA-4 geni üzerinde yer alan; +49 A>G; rs231775, -318 C>T; rs5742909, -1722 T>C; rs733618, -1661 A>G; rs4553808 ve +6230 G>A; rs3087243 polimorfik bölgeleri bazı hastalıklar üzerinde çalışılmıştır ve bu gene ait farklı allel ve genotiplerin çeşitli kanser türleri üzerinde genetik yatkınlık faktörü olabileceği belirtilmiştir [69]. CTLA-4 gen varyantları arasında bir aminoasit değişimine (alanin alanına treonin) neden olan +49 A>G, en kapsamlı şekilde incelenen polimorfizm bölgesidir [74], [75]. CTLA-4 49 A>G polimorfizmine ait A alleli etnik kökene bağlı olarak farklı frekanslar gösterirken; L. Karabon ve ark. yaptığı çalışmada CTLA-4 +49 A>G polimorfizmine ait A alleli taşıma durumu KHDAK hastaları arasında daha yaygın olduğu belirtilirken benzer bir sonuçta Sun T. Ve ark. tarafından Çin popülasyonu üzerinde yapılan çalışmada bulunmuştur [63], [76]. Çalışma grubumuzda elde edilen veriler de bu sonuçları destekler nitelikte olup hasta grubu arasında A alleli frekansı G alleleline kıyasla daha yüksek olarak bulunmuştur.

Daha önce yaptığımız çalışmamızda, kolorektal kanserli hastalarda CTLA-4 49 A/G genotiplerinin hastaların patolojik parametreleri ile karşılaştırılması sonucunda anlamlı bir farklılık göstermediği belirtilmişken, aynı çalışmada A alleli taşımanın G alleli taşımaya kıyasla daha yüksek CTLA-4 ekspresyonunu ile ilişkili olabileceği vurgulanmıştır. Çalışma sonucunda A alleli taşımanın T hücre proliferasyonunun ve aktivasyonunun engellenmesi ile ilişkili olabileceği belirtilmiştir [77].

T hücre immünitesinde fonksiyon gösteren CTLA-4 gen varyantlarının beyin kanseriyle olası ilişkisinin araştırıldığı diğer bir çalışmamızda; primer beyin tümörleri ve kontrol grupları arasında CTLA-4 49 A>G genotip dağılımı açısından anlamlı bir ilişki bulunmazken homozigot AA veya GG taşıyan hastaların (%71.2) sağlıklı kontrol grubuna göre (%53.4) yüksek frekansta olduğu ve aradaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu belirtilmiştir [78]. (OR: 1,33;%95CI: 1,065- 1,667) (p=0,015).

Bu çalışmamızda da; CTLA-4 geni 49 A/G gen polimorfizmi sonuçlarına göre; hem genotip hem de allel dağılımı açısından kontrol ve hasta grubu arasında istatistiksel olarak anlamlılık saptanamamıştır. Fakat genotip dağılımları, hastaların patolojik parametreleri ile birlikte değerlendirildiğinde, küçük hücreli dışı akciğer kanserli hastalarda anjiyolenfatik invazyon varlığında hastaların %50'sinin AG genotipi taşıdığı gözlenirken, anjiyolenfatik invazyon görülmeyen hastalarda bu değer %23,1 olarak bulunmuştur. Aradaki farklılık istatistiksel olarak sınırda anlamlılık göstermiştir. AG genotipine sahip olmanın damar invazyonu varlığında hastalığın progresyonunu artırdığı tespit edilmiştir (p=0,05 OR:2,167 %95CI :1,019-4,605).

Bugüne kadar yapılan çalışmalar, CTLA-4 proteini fonksiyonel değişiklikleri, kendi genetik varyasyonları tarafından indüklenebileceğini göstermiştir [79]. Tüm CTLA-4 gen varyantları arasında, tüm aminoasit (treoninden alanine) değişimine neden olan +49 A> G, en kapsamlı çalışılan polimorfizmdir [69], [75].

Isıtmangil ve ark. tarafından yapılan meme kanseri ile ilgili çalışmada CTLA-4 +49 A/G genotipine sahip hasta ve sağlıklı bireyler arasında anlamlı ilişkiler bulunamamıştır. Ancak, CTLA-4 +49 A/G için homozigot AA ve GG genotiplerinin hastalarda kontrollerden daha sık olduğu görülmüştür. Ulaşılan bu sonucun özellikle AA genotipinden kaynaklandığı bulmuşlardır [80].

Tong Sun ve ark.larının yaptığı çalışmada A alelinin Çinli kadınlarda da meme kanseri ile birlikte birçok kanser türünün riskini arttırdığı bildirilmiştir [61].

Arikan ve ark.larının yaptığı çalışmada, gastrik kanser hastalarında sCTLA-4 ve sCD28'in serum seviyelerinin sağlıklı kontrollerden anlamlı derecede yüksek olduğunu gözlemlenmiştir. Çeşitli kanser türlerini değerlendiren çalışmalarda mezotelyoma, akut lenfoblastik lösemi ve meme kanseri hastalarında sCTLA-4 düzeylerinin yükseldiği bildirilmiştir. Ancak olumsuz sonuçlar da bildirilmiştir. CTLA-4 +49A/G polimorfizmi ile meme kanseri veya osteosarkom veya oluşma riskleri arasında anlamlı bir ilişki bulunamamıştır ve bu polimorfizm bölgesi ile gastrik kanser arasında anlamlı bir ilişki bulunamamıştır. Gastrik kanser hastalarında çalışmaya katılan popülasyonda CC genotipinin yaygın olduğu gözlemlenmiştir. Ayrıca evre T1 ve evre T2 olan hastaların hepsinin AA homozigot olduğu ve AG ile GG genotipinde hastalar ileri tümör evresindedir. Buna ek olarak uzak metastazı olan hastalarda prevalans genotip GG (%65) dir. Bu da G aleli ile hastalığın olumsuz belirtilerinin risklerini arttırdığını düşündürmüştür [81].

Sonuç olarak, CTLA-4, 49 A/G fonksiyonel polimorfizmi ve KHDAK arasındaki ilişki araştırıldı. Araştırma sonucunda CTLA-4 49A/G genotipi ve allel frekansları bakımından hasta ve kontrol grupları arasında anlamlı bir fark saptanamamıştır. Bununla birlikte, CTLA-4, 49 A/G heterozigot AG varyant taşımanın hastalığın progresyonu ile ilişkili olabileceği düşünülmektedir. Çalışma verilerimiz, CTLA-4'ün KHDAK patogenezinin aydınlatılması veya terapötik değeri açısından değerlendirilmesi konusunda yapılacak çalışmalara rehber olma niteliğindedir. Araştırmanın sınırlı boyutu göz önüne alındığında, gözlemlerin daha büyük örneklem gruplarında analiz edilmesi gereklidir.

KAYNAKLAR

1. Martini FH, Timmons MJ, Tallitsch RB. *Human anatomy*. Pearson; 2012.
2. Kashyap A, Bujamma D, Babu N. *Bioinformaticsof non small cell lung cancer and the rasproto-oncogene*. Springer; 2015.
3. Hayashi H, Lihara H, Hirose C, et al. Effects of pharmacokinetics-related genetic polymorphisms on the side effect profile of afatinib in patients with non-small cell lung cancer. *Lung Cancer*, 2019.
4. Zappa C, Mousa SA. Non-small cell lung cancer: current treatment and future advances. *Translational Lung Cancer Research*. 2016;5(3):288-300.
5. Stewart DJ. *Lung Cancer*. Humana Press; 2010
6. Travis WD, Brambilla E, Nicholson AG, et al. The 2015 World Health Organization classification of lung tumors: impact of genetic, clinical and radiologic advances since the 2004 classification. *Journal of Thoracic Oncology*. 2015;10(9):1243-1260.
7. Minna JD, Roth JA, Gazdar AF. Focus on lung cancer. *Cancer cell*. 2002;1(1):49-52.
8. Herbst RS, Heymach JV, Lippman SM. Lung cancer. *N Engl J Med*. 2008;359(13):1367–1380.
9. Detterbeck FC. The eighth edition TNM stage classification for lung cancer: What does it mean on main street? *J Thorac Cardiovasc Surg*. 2018;155(1):356-359.
10. Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, Siegel RL, Torre LA, Jemal A. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *Cancer Journal for Clinicians*. 2018;68(6):394-424.
11. Worldwide cancer data: global cancer statistics for the most common cancers: <https://www.wcrf.org/dietandcancer/cancer-trends/worldwide-cancer-data>.

12. Siegel R, Ma J, Zou Z, Jemal A. Cancer statistics, 2014. *Cancer Journal for Clinicians*. 2014;64(1):9-29.
13. National cancer institute, surveillance, epidemiology, and end results program. Cancer stat facts: lung and bronchus cancer: <https://seer.cancer.gov/statfacts/html/lungb.html>.
14. Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, 2019. *Cancer Journal for Clinicians*. 2019;69(1):7-34.
15. Patricia MG, Carol CW, Brett WC, Reginald FM. The epidemiology of lung cancer. *Transl Lung Cancer Res*. 2018;7(3):220–233.
16. Alberg AJ, Brock MV, Ford JG, Samet JM, Spivack SD. Epidemiology of lung cancer: Diagnosis and management of lung cancer, 3rd ed: American College of Chest Physicians evidence-based clinical practice guidelines. *Chest*. 2013;143(5 Suppl):e1S-e29S.
17. Alberg AJ, Yung RC, Nelson J. Respiratory cancer and exposure to arsenic, chromium, nickel, and polycyclic aromatic hydrocarbons. *Clinics in Occupational and Environmental Medicine*. 2002;2(4):779-801.
18. Brenner DR, McLaughlin JR, Hung RJ. Previous lung diseases and lung cancer risk: a systematic review and meta-analysis. *PLoS One*. 2011;6(3):e17479.
19. Engels EA, Biggar RJ, Hall HI, Cross H, et al. Cancer risk in people infected with human immunodeficiency virus in the United States. *Int J Cancer*. 2008;123(1):187-94.
20. Lissowska J, Foretova L, Dabek J, et al. Family history and lung cancer risk: international multicentre case-control study in Eastern and Central Europe and meta-analyses. *Cancer Causes Control*. 2010;21(7):1091-1104.
21. Torre LA, Siegel RL, Jemal A. Lung cancer statistics. *Adv. Exp. Med. Biol*. 2016;893:1-19.
22. Groot PM, Wu CC, Carter BW, Munden RF. The epidemiology of lung cancer. *Translational Lung Cancer Research*. 2018;7(3):220-233.
23. Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics. *Cancer Journal for Clinicians*. 2018;68(1):7-30.

24. Doll R. *Evolution of knowledge of the smoking epidemic* in book: *Tobacco: science, policy and public health*. Oxford; 2010.
25. Turna, H. Küçük Hücreli Dışı Akciğer Kanseri: Güncel Durum. *Güncel Göğüs Hast Serisi*. 2013;1(3):115-123.
26. Boraschi D, Duschl A. *Adverse effects of engineered nanomaterials*. Elsevier Inc; 2012.
27. Carbone DP, Gandara DR, Antonia SJ, Zielinski C, Paz-Ares L. Non-small cell lung cancer: role of the immune system and potential for immunotherapy. *J Thorac Oncol*. 2015;10(7):974–984.
28. Kamta J, Chaar M, Ande A, Altomare DA, Ait-Quidhia S. Advancing cancer therapy with present and emerging immuno-oncology approaches. *Frontiers in Oncology*. 2017;7(64):1-15.
29. Schreiber RD, Old LJ, Smyth MJ. Cancer immunoediting: integrating immunity's roles in cancer suppression and promotion. *Science*. 2011;331(6024):1565-1570.
30. Banchereau J, Steinman RM. Dendritic cells and the control of immunity. *Nature*. 1998;392(6673):245-252.
31. Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell*. 2011;144(5):646-674.
32. Finn OJ. Immuno-oncology: understanding the function and dysfunction of the immune system in cancer. *Ann Oncol*. 2012;23(8):6-9.
33. Dariavach P, Mattéi MG, Golstein P, Lefranc MP. Human Ig superfamily CTLA-4 gene: chromosomal localization and identity of protein sequence between murine and human CTLA-4 cytoplasmic domains. *Eur J Immunol*. 1988;18(12):1901-1905.
34. Lindsten T, Lee KP, Harris ES, et al. Characterization of CTLA-4 structure and expression on human T cells. *J Immunol*. 1993;151(7):3489-3499.
35. Seidel JA, Otsuka A, Kabashima K. Anti-PD-1 and Anti-CTLA-4 Therapies in Cancer: Mechanisms of Action, Efficacy, and Limitations. *Front Oncol*. 2018;8:86.

36. Hodi FS, Mihm MC, Soiffer RJ, Haluska FG, et al. Biologic activity of cytotoxic T lymphocyte-associated antigen 4 antibody blockade in previously vaccinated metastatic melanoma and ovarian carcinoma patients. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2003;100(8):4712-4717.
37. Phan GQ, Yang JC, Sherry RM. Cancer regression and autoimmunity induced by cytotoxic T lymphocyte-associated antigen 4 blockade in patients with metastatic melanoma. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2003;100(14):8372-8377.
38. Chan DV, Gibson HM, Aufiero BM, Wilson AJ, Hafner MS, Mi QS, Wong HK. Differential CTLA-4 expression in human CD4⁺ versus CD8⁺ T cells is associated with increased NFAT1 and inhibition of CD4⁺ proliferation. *Genes Immun*. 2014; 15(1):25-32.
39. Leung HT, Bradshaw J, Cleaveland JS, Linsley PS. Cytotoxic T lymphocyte-associated molecule-4, a high-avidity receptor for CD80 and CD86, contains an intracellular localization motif in its cytoplasmic tail. *J Biol Chem*. 1995; 270(42):25107-25114.
40. Wing K, Onishi Y, Prieto-Martin P, et al. CTLA-4 control over Foxp3⁺ regulatory T cell function. *Science*. 2008;322(5899):271-275.
41. Waterhouse P, Penninger JM, Timms E, et al. Lymphoproliferative disorders with early lethality in mice deficient in Ctla-4. *Science*. 1995;270(5238):985-988.
42. Gough SC, Walker LS, Sansom DM. CTLA4 gene polymorphism and autoimmunity. *Immunol Rev*. 2005;204:102-115.
43. Nakamoto N, Cho H, Shaked A, et al. Synergistic reversal of intrahepatic HCV-specific CD8 T cell exhaustion by combined PD-1/CTLA-4 blockade. *PLoS Pathog*. 2009; 5(2):e1000313
44. Curran MA, Montalvo W, Yagita H, Allison JP. PD-1 and CTLA-4 combination blockade expands infiltrating T cells and reduces regulatory T and myeloid cells within B16 melanoma tumors. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2010; 107(9):4275-4280.
45. CTLA4 gene: <https://ghr.nlm.nih.gov/gene/CTLA4#location>.
46. Nistico L, Buzzetti R, Pritchard LE, et al. The CTLA-4 gene region of chromosome 2q33 is linked to, and associated with, type 1 diabetes. *Human Molecular Genetics*. 1996;5(7):1075-1080.

47. Buchbinder EI, Desai A. CTLA-4 and PD-1 pathways similarities, differences, and implications of their inhibition. *American Journal of Clinical Oncology*. 2016;39(1):98-106.
48. Rowshanravan B, Halliday N, Sansom DM. CTLA-4: a moving target in immunotherapy. *Blood*. 2018;131(1):58-67.
49. Brahmer JR. CTLA-4 inhibitor: ipilimumab for the treatment of NSCLC. *Future medicine*. Chapter 4. 2012.
50. Chen W, Zheng R, Baade PD, et al. Cancer statistics in China, 2015. *CA Cancer J Clin*. 2016;66(2):115–32.
51. Zhang G, Xu Y, Lu X, et al. Diagnosis value of serum B7-H3 expression in non-small cell lung cancer. *Lung Cancer*. 2009;66(2):245–249.
52. Bradley JD, Paulus R, Komaki R, et al. Standard-dose versus high-dose conformal radiotherapy with concurrent and consolidation carboplatin plus paclitaxel with or without cetuximab for patients with stage IIIA or IIIB non-small-cell lung cancer (RTOG 0617): a randomised, two-by-two factorial phase 3 study. *Lancet Oncol*. 2015;16(2):187–199.
53. Hirsch FR, Scagliotti GV, Mulshine JL, et al. Lung cancer: current therapies and new targeted treatments. *Lancet*. 2017;389(10066):299–311.
54. Senan S, Brade A, Wang LH, Vansteenkiste J, et al. PROCLAIM: randomized phase III trial of pemetrexed-cisplatin or etoposide-cisplatin plus thoracic radiation therapy followed by consolidation chemotherapy in locally advanced nonsquamous non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol*. 2016;34(9):953–62.
55. Topalian SL, Hodi FS, Brahmer JR, et al. Safety, activity, and immune correlates of anti-PD-1 antibody in cancer. *N Engl J Med*. 2012;366(26):2443–54.
56. Brahmer JR, Tykodi SS, Chow LQ, et al. Safety and activity of anti- PD-L1 antibody in patients with advanced cancer. *N Engl J Med*. 2012;366(26):2455–65.

57. Hellmann MD, Ciuleanu TE, Pluzanski A, et al. Nivolumab plus ipilimumab in lung cancer with a high tumor mutational burden. *N Engl J Med*. 2018;378(22):2093–2104.
58. Shuchen C., Yafeng W., Yu C. et al. Investigation of Cytotoxic T-lymphocyte antigen-4 polymorphisms in non-small cell lung cancer: a case-control study. *Oncotarget*. 2017;8(44):76634-76643.
59. Mira A P, Jennifer E K, Jacob R. Present and future of immune checkpoint blockade: Monotherapy to adjuvant approaches. *Michael Lim World J Immunol*. 2015;5(1):1-15.
60. Nirschl CJ, Drake CG. Molecular pathways: coexpression of immune checkpoint molecules: signaling pathways and implications for cancer immunotherapy. *Clin Cancer Res*, 2013;19:4917-4924.
61. Sun T, Zhou Y, Yang M, et al. Functional genetic variations in cytotoxic T-lymphocyte antigen 4 and susceptibility to multiple types of cancer. *Cancer Res*. 2008;68:7025-7034.
62. Rosenberg SA, Spiess P, Lafreniere R. A new approach to the adoptive immunotherapy of cancer with tumor-infiltrating lymphocytes. *Science*. 1986;233:1318–1321.
63. Matsushita H, Vesely MD, Koboldt DC, Rickert CG, Uppaluri R, Magrini VJ, et al. Cancer exome analysis reveals a T-cell-dependent mechanism of cancer immunoediting. *Nature*. 2012;482:400–404.
64. Sharpe AH, Abbas AK. T-cell costimulation—biology, therapeutic potential, and challenges. *N Engl J Med*. 2006;355:973–975.
65. Park J, Kwon M, Shin EC. Immune checkpoint inhibitors for cancer treatment. *Arch. Pharm. Res*. 2016;39:1577–1587.
66. Joller, N., Peters, A., Anderson, A. C., & Kuchroo, V. K. Immune Checkpoints in CNS. *Autoimmunity. Immunological Reviews*. 2012;248(1):122–139.
67. Kouki T, Sawai Y, Gardine CA, Fisfalen ME, Alegre ML, DeGroot LJ. CTLA-4 gene polymorphism at position 49 in exon 1 reduces the inhibitory function of

- CTLA-4 and contributes to the pathogenesis of Graves' disease. *J Immunol.* 2000;165:6606–6611.
68. Wolchok JD, Yvonne S. The mechanism of anti-CTLA-4 activity and the negative regulation of T-cell activation. *The Oncologist.* 2008;13(4):2-9.
 69. Wang L, Li D, Fu Z, Li H, Jiang W. Association of CTLA4 gene polymorphism with sporadic breast cancer in Chinese Han population. *BMC Cancer.* 2007;173:59.
 70. Hebbar M, Jeannin P, Magistrelli G, Hatron PY, Hachulla E, Devulder B, Bonnefoy JY and Delneste Y: Detection of circulating soluble CD28 in patients with systemic lupus erythematosus, primary Sjögren's syndrome and systemic sclerosis. *Clin Exper Immunol.* 2004;136:388-392.
 71. Song B, Liu Y, Liu J, Song X, Wang Z, Wang M, Zhu Y, Han J. CTLA-4 +49A>G polymorphism is associated with advanced non-small cell lung cancer prognosis. *Respiration.* 2011;82:439–444.
 72. Antczak A, Pastuszek-Lewandoska D, Górski P, et al. Ctl-4 expression and polymorphisms in lung tissue of patients with diagnosed non-small-cell lung cancer. *Biomed Res Int.* 2013;2013:576486.
 73. Tupikowski K, Partyka A, Kolodziej A, et al. CTLA-4 and CD28 genes' polymorphisms and renal cell carcinoma susceptibility in the Polish population—a prospective study. *Tissue Antigens.* 2015;86(5):353-361.
 74. Li D, Zhang Q, Xu F, Fu Z, Yuan W, Pang D. Association of CTLA4 gene polymorphisms with sporadic breast cancer risk and clinical features in Han women of northeast China. *Mol Cell Biochem.* 2012;364:283-290.
 75. Erfani N, Razmkhah M, Talei AR, Pezeshki AM, Doroudchi M, Monabati A and Ghaderi A: Cytotoxic T-lymphocyte antigen-4 promoter variants in breast cancer. *Cancer Genet Cytogenet.* 2006;165:114-120.
 76. Lidia K, Edyta P, Anna T, Anna J, Ewa P, et al. CTLA-4, CD28, and ICOS gene polymorphism associations with non-small-cell lung cancer. *Human Immunology.* 2011;72:947-954.

77. Yaylın İ ve ark. Individual and Combined Effects of CTLA4-CD28 Variants and Oxidant-Antioxidant Status on the Development of Colorectal Cancer. *Anticancer Res* 2015;35(10):5391-5400.
78. Demirbağ Sinem (2017). T Hücre İmmünesinde Fonksiyon Gösteren Ctl-4 Gen Varyantlarının Beyin Kanseriyle Olası İlişkisinin Araştırılması, İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul.
79. He L, Deng T, Luo HS. Association between cytotoxic T-lymphocyte antigen-4 +49A/G polymorphism and colorectal cancer risk: a meta-analysis. *Int J Clin Exp Med*. 2015;8(3):3752-3760.
80. Isitmangil G, Gurleyik G, Aker FV, et al. Association of CTLA4 and CD28 gene variants and circulating levels of their proteins in patients with breast cancer. *In Vivo*. 2016;30(4):485-493.
81. Arıkan S, Gümüş A, Küçüküseyin Ö, et al. The effect of CTLA-4 and CD28 gene variants and circulating protein levels in patients with gastric cancer. *Turkish Journal of Biochemistry*. 2017;42(5):551-558.

HAM VERİLER

BURCUTEZ * Cinsiyet Crosstabulation

			Cinsiyet		Total
			kadın	erkek	
BURCUTEZ	akciger	Count	5	51	56
		% within BURCUTEZ	8,9%	91,1%	100,0%
	kontrol	Count	63	44	107
		% within BURCUTEZ	58,9%	41,1%	100,0%
Total	Count		68	95	163
	% within BURCUTEZ		41,7%	58,3%	100,0%

BURCUTEZ * Sigara icme Crosstabulation

			Sigara icme		Total
			yok	iciyor	
BURCUTEZ	akciger	Count	4	52	56
		% within BURCUTEZ	7,1%	92,9%	100,0%
	kontrol	Count	100	7	107
		% within BURCUTEZ	93,5%	6,5%	100,0%
Total	Count		104	59	163
	% within BURCUTEZ		63,8%	36,2%	100,0%

Crosstab

			Tumor tipi						Total
			Squamöz hücre kanseri	Adenokarsinom	Büyük hücreli karsinom	karsinoid	sarkomatoid karsinom	diğer,ca ikincil	
BURCUTEZ	akciger	Count	24	23	3	1	1	1	53
		% within BURCUTEZ	45,3%	43,4%	5,7%	1,9%	1,9%	1,9%	100,0%
Total		Count	24	23	3	1	1	1	53
		% within BURCUTEZ	45,3%	43,4%	5,7%	1,9%	1,9%	1,9%	100,0%

Crosstab

		Patoloji Tanısı								Total
		adeno	adenokarsinom	skuamöz	khdak	büyük hücreli kars	pleomorfik karsinom	sarkomatoid karsinom	nöroendokrin	
BURCUTEZ	Count	8	9	14	2	1	1	1	2	38
	% within BURCUTEZ	21,1%	23,7%	36,8%	5,3%	2,6%	2,6%	2,6%	5,3%	100,0%
Total	Count	8	9	14	2	1	1	1	2	38
	% within BURCUTEZ	21,1%	23,7%	36,8%	5,3%	2,6%	2,6%	2,6%	5,3%	100,0%

Crosstab

			sont				Total
			T1	T2	T3	T4	
BURCUTEZ	akciger	Count	22	18	13	3	56
		% within BURCUTEZ	39,3%	32,1%	23,2%	5,4%	100,0%
Total		Count	22	18	13	3	56
		% within BURCUTEZ	39,3%	32,1%	23,2%	5,4%	100,0%

Crosstab

			sonn			Total
			No	N1	N2	
BURCUTEZ	akciger	Count	36	19	1	56
		% within BURCUTEZ	64,3%	33,9%	1,8%	100,0%
Total		Count	36	19	1	56
		% within BURCUTEZ	64,3%	33,9%	1,8%	100,0%

Crosstab

			mevre		Total
			met var	met yok	
BURCUTEZ	akciger	Count	2	54	56
		% within BURCUTEZ	3,6%	96,4%	100,0%
Total		Count	2	54	56
		% within BURCUTEZ	3,6%	96,4%	100,0%

Crosstab

			damarinv		Total
			var	yok	
BURCUTEZ	akciger	Count	16	39	55
		% within BURCUTEZ	29,1%	70,9%	100,0%
Total		Count	16	39	55
		% within BURCUTEZ	29,1%	70,9%	100,0%

Crosstab

			Perinöralinv		Total
			yok	var	
BURCUTEZ	akciger	Count	39	17	56
		% within BURCUTEZ	69,6%	30,4%	100,0%
Total		Count	39	17	56
		% within BURCUTEZ	69,6%	30,4%	100,0%

Crosstab

			Lenfatik		Total
			yok	var	
BURCUTEZ	akciger	Count	21	35	56
		% within BURCUTEZ	37,5%	62,5%	100,0%
Total		Count	21	35	56
		% within BURCUTEZ	37,5%	62,5%	100,0%

Crosstab

			ctla449snp			Total
			AA	AG	GG	
BURCUTEZ	akciger	Count	32	18	6	56
		% within BURCUTEZ	57,1%	32,1%	10,7%	100,0%
	kontrol	Count	54	45	8	107
		% within BURCUTEZ	50,5%	42,1%	7,5%	100,0%
Total		Count	86	63	14	163
		% within BURCUTEZ	52,8%	38,7%	8,6%	100,0%

Crosstab

			ctla4A		Total
			AA AG	GG	
BURCUTEZ	akciger	Count	50	6	56
		% within BURCUTEZ	89,3%	10,7%	100,0%
	kontrol	Count	99	8	107
		% within BURCUTEZ	92,5%	7,5%	100,0%
Total		Count	149	14	163
		% within BURCUTEZ	91,4%	8,6%	100,0%

Crosstab

			ctla4G		Total
			GG AG	AA	
BURCUTEZ	akciger	Count	24	32	56
		% within BURCUTEZ	42,9%	57,1%	100,0%
	kontrol	Count	53	54	107
		% within BURCUTEZ	49,5%	50,5%	100,0%
Total		Count	77	86	163
		% within BURCUTEZ	47,2%	52,8%	100,0%

Crosstab

			ctla4ag		Total
			AG	AA GG	
BURCUTEZ	akciger	Count	18	38	56
		% within BURCUTEZ	32,1%	67,9%	100,0%
	kontrol	Count	45	62	107
		% within BURCUTEZ	42,1%	57,9%	100,0%
Total	Count		63	100	163
	% within BURCUTEZ		38,7%	61,3%	100,0%

Crosstab

			ctla449snp			Total
			AA	AG	GG	
Cinsiyet	kadın	Count	3	2	0	5
		% within Cinsiyet	60,0%	40,0%	0,0%	100,0%
	erkek	Count	29	16	6	51
		% within Cinsiyet	56,9%	31,4%	11,8%	100,0%
Total	Count		32	18	6	56
	% within Cinsiyet		57,1%	32,1%	10,7%	100,0%

Crosstab

			ctla4A		Total
			AA AG	GG	
Cinsiyet	kadın	Count	5	0	5
		% within Cinsiyet	100,0%	0,0%	100,0%
	erkek	Count	45	6	51
		% within Cinsiyet	88,2%	11,8%	100,0%
Total	Count		50	6	56
	% within Cinsiyet		89,3%	10,7%	100,0%

Crosstab

			ctla4G		Total
			GG AG	AA	
Cinsiyet	kadın	Count	2	3	5
		% within Cinsiyet	40,0%	60,0%	100,0%
	erkek	Count	22	29	51
		% within Cinsiyet	43,1%	56,9%	100,0%
Total	Count		24	32	56
	% within Cinsiyet		42,9%	57,1%	100,0%

Crosstab

			ctla4ag		Total
			AG	AA GG	
Cinsiyet	kadın	Count	2	3	5
		% within Cinsiyet	40,0%	60,0%	100,0%
	erkek	Count	16	35	51
		% within Cinsiyet	31,4%	68,6%	100,0%
Total	Count		18	38	56
	% within Cinsiyet		32,1%	67,9%	100,0%

Crosstab

			ctla449snp			Total
			AA	AG	GG	
sontumorhis	adeno	Count	14	7	2	23
		% within sontumorhis	60,9%	30,4%	8,7%	100,0%
	skuamoz	Count	12	9	3	24
		% within sontumorhis	50,0%	37,5%	12,5%	100,0%
	diğer	Count	4	1	1	6
		% within sontumorhis	66,7%	16,7%	16,7%	100,0%
	Count		30	17	6	53
	% within sontumorhis		56,6%	32,1%	11,3%	100,0%

Crosstab

			ctla4A		Total
			AA AG	GG	
sontumorhis	adeno	Count	21	2	23
		% within sontumorhis	91,3%	8,7%	100,0%
	skuamoz	Count	21	3	24
		% within sontumorhis	87,5%	12,5%	100,0%
	diğer	Count	5	1	6
		% within sontumorhis	83,3%	16,7%	100,0%
	Total	Count	47	6	53
		% within sontumorhis	88,7%	11,3%	100,0%

Crosstab

			ctla4G		Total
			GG AG	AA	
sontumorhis	adeno	Count	9	14	23
		% within sontumorhis	39,1%	60,9%	100,0%
	skuamoz	Count	12	12	24
		% within sontumorhis	50,0%	50,0%	100,0%
	diğer	Count	2	4	6
		% within sontumorhis	33,3%	66,7%	100,0%
	Total	Count	23	30	53
		% within sontumorhis	43,4%	56,6%	100,0%

Crosstab

			ctla4ag		Total
			AG	AA GG	
sontumorhis	adeno	Count	7	16	23
		% within sontumorhis	30,4%	69,6%	100,0%
	skuamoz	Count	9	15	24
		% within sontumorhis	37,5%	62,5%	100,0%
	diğer	Count	1	5	6
		% within sontumorhis	16,7%	83,3%	100,0%
	Total	Count	17	36	53
		% within sontumorhis	32,1%	67,9%	100,0%

Crosstab

			ctla449snp			Total
			AA	AG	GG	
sonsont	T34	Count	10	5	1	16
		% within sonsont	62,5%	31,2%	6,2%	100,0%
	T12	Count	22	13	5	40
		% within sonsont	55,0%	32,5%	12,5%	100,0%
Total	Count		32	18	6	56
	% within sonsont		57,1%	32,1%	10,7%	100,0%

Crosstab

			ctla4A		Total
			AA AG	GG	
sonsont	T34	Count	15	1	16
		% within sonsont	93,8%	6,2%	100,0%
	T12	Count	35	5	40
		% within sonsont	87,5%	12,5%	100,0%
Total	Count		50	6	56
	% within sonsont		89,3%	10,7%	100,0%

Crosstab

			ctla4G		Total
			GG AG	AA	
sonsont	T34	Count	6	10	16
		% within sonsont	37,5%	62,5%	100,0%
	T12	Count	18	22	40
		% within sonsont	45,0%	55,0%	100,0%
Total	Count		24	32	56
	% within sonsont		42,9%	57,1%	100,0%

Crosstab

			ctla449snp			Total
			AA	AG	GG	
sonsonn	N123	Count	10	7	3	20
		% within sonsonn	50,0%	35,0%	15,0%	100,0%
	N0	Count	22	11	3	36
		% within sonsonn	61,1%	30,6%	8,3%	100,0%
Total	Count		32	18	6	56
	% within sonsonn		57,1%	32,1%	10,7%	100,0%

Crosstab

			ctla4ag		Total
			AG	AA GG	
sonsonnt	T34	Count	5	11	16
		% within sonsonnt	31,2%	68,8%	100,0%
	T12	Count	13	27	40
		% within sonsonnt	32,5%	67,5%	100,0%
Total	Count		18	38	56
	% within sonsonnt		32,1%	67,9%	100,0%

Crosstab

			ctla449snp			Total
			AA	AG	GG	
sonsonn	N123	Count	10	7	3	20
		% within sonsonn	50,0%	35,0%	15,0%	100,0%
	N0	Count	22	11	3	36
		% within sonsonn	61,1%	30,6%	8,3%	100,0%
Total	Count		32	18	6	56
	% within sonsonn		57,1%	32,1%	10,7%	100,0%

Crosstab

			ctla4A		Total
			AA AG	GG	
sonsonn	N123	Count	17	3	20
		% within sonsonn	85,0%	15,0%	100,0%
	N0	Count	33	3	36
		% within sonsonn	91,7%	8,3%	100,0%
Total	Count		50	6	56
	% within sonsonn		89,3%	10,7%	100,0%

Crosstab

			ctla4G		Total
			GG AG	AA	
sonsonn	N123	Count	10	10	20
		% within sonsonn	50,0%	50,0%	100,0%
	N0	Count	14	22	36
		% within sonsonn	38,9%	61,1%	100,0%
Total	Count		24	32	56
	% within sonsonn		42,9%	57,1%	100,0%

Crosstab

			ctla4ag		Total
			AG	AA GG	
sonsonn	N123	Count	7	13	20
		% within sonsonn	35,0%	65,0%	100,0%
	N0	Count	11	25	36
		% within sonsonn	30,6%	69,4%	100,0%
Total	Count		18	38	56
	% within sonsonn		32,1%	67,9%	100,0%

Crosstab

			ctla449snp			Total
			AA	AG	GG	
mevre	met var	Count	2	0	0	2
		% within mevre	100,0%	0,0%	0,0%	100,0%
	met yok	Count	30	18	6	54
		% within mevre	55,6%	33,3%	11,1%	100,0%
Total	Count		32	18	6	56
	% within mevre		57,1%	32,1%	10,7%	100,0%

Crosstab

			ctla4A		Total
			AA AG	GG	
mevre	met var	Count	2	0	2
		% within mevre	100,0%	0,0%	100,0%
	met yok	Count	48	6	54
		% within mevre	88,9%	11,1%	100,0%
Total	Count		50	6	56
	% within mevre		89,3%	10,7%	100,0%

Crosstab

			ctla4G		Total
			GG AG	AA	
mevre	met var	Count	0	2	2
		% within mevre	0,0%	100,0%	100,0%
	met yok	Count	24	30	54
		% within mevre	44,4%	55,6%	100,0%
Total	Count		24	32	56
	% within mevre		42,9%	57,1%	100,0%

Crosstab

			ctla4ag		Total
			AG	AA GG	
mevre	met var	Count	0	2	2
		% within mevre	0,0%	100,0%	100,0%
	met yok	Count	18	36	54
		% within mevre	33,3%	66,7%	100,0%
Total	Count		18	38	56
	% within mevre		32,1%	67,9%	100,0%

Crosstab

			ctla449snp			Total
			AA	AG	GG	
damarinv	var	Count	7	8	1	16
		% within damarinv	43,8%	50,0%	6,2%	100,0%
	yok	Count	25	9	5	39
		% within damarinv	64,1%	23,1%	12,8%	100,0%
Total	Count		32	17	6	55
	% within damarinv		58,2%	30,9%	10,9%	100,0%

Crosstab

			ctla4A		Total
			AA AG	GG	
damarinv	var	Count	15	1	16
		% within damarinv	93,8%	6,2%	100,0%
	yok	Count	34	5	39
		% within damarinv	87,2%	12,8%	100,0%
Total	Count		49	6	55
	% within damarinv		89,1%	10,9%	100,0%

Crosstab

			ctla4G		Total
			GG AG	AA	
damarinv	var	Count	9	7	16
		% within damarinv	56,2%	43,8%	100,0%
	yok	Count	14	25	39
		% within damarinv	35,9%	64,1%	100,0%
Total	Count		23	32	55
	% within damarinv		41,8%	58,2%	100,0%

Crosstab

			ctla4ag		Total
			AG	AA GG	
damarinv	var	Count	8	8	16
		% within damarinv	50,0%	50,0%	100,0%
	yok	Count	9	30	39
		% within damarinv	23,1%	76,9%	100,0%
Total	Count		17	38	55
	% within damarinv		30,9%	69,1%	100,0%

Crosstab

			ctla449snp			Total
			AA	AG	GG	
Perinöralinv	yok	Count	24	10	5	39
		% within Perinöralinv	61,5%	25,6%	12,8%	100,0%
	var	Count	8	8	1	17
		% within Perinöralinv	47,1%	47,1%	5,9%	100,0%
Total	Count		32	18	6	56
	% within Perinöralinv		57,1%	32,1%	10,7%	100,0%

Crosstab

			ctla4A		Total
			AA AG	GG	
Perinöralinv	yok	Count	34	5	39
		% within Perinöralinv	87,2%	12,8%	100,0%
	var	Count	16	1	17
		% within Perinöralinv	94,1%	5,9%	100,0%
Total	Count		50	6	56
	% within Perinöralinv		89,3%	10,7%	100,0%

Crosstab

			ctla4G		Total
			GG AG	AA	
Perinöralinv	yok	Count	15	24	39
		% within Perinöralinv	38,5%	61,5%	100,0%
	var	Count	9	8	17
		% within Perinöralinv	52,9%	47,1%	100,0%
Total	Count		24	32	56
	% within Perinöralinv		42,9%	57,1%	100,0%

Crosstab

			ctla4ag		Total
			AG	AA GG	
Perinöralinv	yok	Count	10	29	39
		% within Perinöralinv	25,6%	74,4%	100,0%
	var	Count	8	9	17
		% within Perinöralinv	47,1%	52,9%	100,0%
Total	Count		18	38	56
	% within Perinöralinv		32,1%	67,9%	100,0%

FORMLAR

BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU

Bu çalışma için sizden ameliyatınız sırasında cerrahınız tarafından alınacak olan dokudan 1 cm³ parça kullanılacaktır. Alınacak olan bu doku laboratuvarımızda çalışılacaktır.

Kabul etmeniz halinde katılacağınız bu çalışma bir araştırmadır. Araştırmanın amacı hastalığınızın gelişimi üzerine etkisi olduğu düşünülen genlerin ne kadar ifade olduğu ve ifadesindeki değişiklikleri tespit etmektir. Araştırmaya katılacak tahmini gönüllü sayısı 60'tır. Gönüllü olarak sizin araştırma üzerinde herhangi bir sorumluluğunuz bulunmamaktadır. Araştırma boyunca sizden bir maddi katkı talebi olmayacaktır. Sizin için herhangi bir rahatsızlık veya risk oluşturmayacak bu çalışma, kısa dönemde size bir fayda da sağlamayacaktır. Ancak uzun dönemde hastalığın gelişiminin daha iyi anlaşılabilmesini ve alternatif tedavi geliştirebilmek için çalışma önemlidir.

Araştırmada yer almak tamamen sizin isteğinize bağlı olup araştırmada yer almayı reddedebilirsiniz. Reddetmeniz halinde yararınıza engel ya da cezai bir durum ortaya çıkmayacaktır. İzleyiciler, yoklama yapanlar, etik kurullar ve resmi makamlar size ait tıbbi bilgilere ulaşılabilir ancak bu bilgiler gizli tutulacaktır.

Siz veya yasal temsilciniz bilgilendirilmiş olur formunu imzalamakla bunu kabul etmiş olacaksınız. Ayrıca kimliğinizi ortaya koyacak kayıtlar da gizli tutulacaktır.

Araştırma esnasında sizi ilgilendirecek bir bilgi söz konusu olduğunda siz veya yasal temsilcinize derhal haber verilecektir.

Araştırma hakkında ek bilgiye 0212 414 30 00-22657'den ulaşabilirsiniz.

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

"T Hücre İmmünesinde Fonksiyon Gösteren CTLA-4 Gen Varyantlarının Küçük Hücreli Dışı Akciğer Kanseriyle Olası İlişkisinin Araştırılması" başlıklı araştırma kapsamında alınan kan örneklerimin;

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

Hasta/ hasta yakını adı, soyadı

İmzası

Tarih

Açıklama yapan araştırmacı adı, soyadı

İmzası

Tarih

Olur alma işlemine tanık olan kişinin
adı, soyadı

İmzası

Tarih

ETİK KURUL KARARI

Tarih ve Sayı: 12/07/2017-265121



T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Dekanlığı



Sayı :59491012-604.01.02-
Konu :Yüks.Lis.Öğr. Burcu Kaya
İsenlik'in etik kurul karar A-01

AZİZ SANCAR DENEYSEL TIP ARAŞTIRMA ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜNE

Enstitünüz Moleküler Tıp Anabilim Dalı öğretim üyesi **Prof.Dr.İlhan YAYLIM**'in danışmanlığında **Yüksek Lisans Öğrencisi Burcu Kaya İSENLIK**'in yürütöceğiğünde **Prof.Dr.Akif TURNA**, **Uzm.Dr.Hasan Volkan KARA**, **Doç.Dr.Özlem KÜÇÜKHÜSEYİN**, **Msc.M.Tolgahan HAKAN** ve **Msc.Hilal Fındık KIYAN**'ın yardımcılıklarında "T Hücre İmmünesinde Fonksiyon Gösteren CTLA-4 Gen Varyantlarının Küçük Hücreli Dışı Akelğer Kanseriyle Olası İlişkinin Araştırılması" başlıklı **Yüksek Lisans Tezi** hakkında ilgi yazınız ve ekleri **04 Temmuz 2017** tarihinde toplanan Fakültemiz Klinik Araştırmalar Etik Kurulunca müzakere edilmiş olup; Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) desteği alınması koşuluyla etik açıdan uygun olduğuna karar verilmiştir.

Bilgilerinizi rica ederim.

e-İmza
Prof. Dr. Özgür KASAPÇOPUR
Başkan

e-İmza
Prof. Dr. Kerim SÖNMEZOĞLU
Dekan a.
Dekan Yardımcısı

NOT: Yönetmelik gereği Sonuç Raporunun Klinik Araştırmalar Etik Kuruluna İletilmesi gerekmektedir.

EK :
1 dosya elden teslim edilecektir.

Doğrulamak için: <http://194.27.128.66/envision/SorgulaBelgeDogrulama.aspx?V=BENUSB,IND>

Ayrıntılı bilgi için arıbar : Güler SOYDANEK Dahi : 22360

İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi 34303 Cerrahpaşa/ İSTANBUL

Tel : 0 (212) 414 30 00 21107- 21108 Faks : 0 (212) 632 00 33

e-posta : ctipersonel@istanbul.edu.tr Elektronik Ağ : www.istanbul.edu.tr

İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI

T HÜCRE İMMÜNİTESİNDE FONKSİYON GÖSTEREN CTLA-4 GEN VARYANTLARININ KÜÇÜK HÜCRELİ DIŞI AKCİĞER KANSERİYLE OLASI İLİŞKİSİNİN ARAŞTIRILMASI

ORJİNALLİK RAPORU

%**8**

BENZERLİK ENDEKSİ

%**4**

İNTERNET
KAYNAKLARI

%**2**

YAYINLAR

%**6**

ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

BİRİNCİL KAYNAKLAR

1

Submitted to Istanbul University

Öğrenci Ödevi

%**3**

2

Submitted to Mehmet Akif Ersoy Aniversitesi

Öğrenci Ödevi

<%**1**

3

bioengcongress.yildiz.edu.tr

İnternet Kaynağı

<%**1**

4

Submitted to TechKnowledge

Öğrenci Ödevi

<%**1**

5

DEĞİRMENCİ, Kemal and AKBAŞ, Birol.
"Amasya ve Tokat illerinde yetiştirilen eriklerde
Elma mozaik virüs (Apple mosaic virus,
ApMV)'ü enfeksiyonu ve yaygınlığı", TUBITAK,
2011.

Yayın

<%**1**

6

deneysestip.istanbul.edu.tr

İnternet Kaynağı

<%**1**

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı	Burcu	Soyadı	İsenlik
Doğ.Yeri	Malatya	Doğ.Tar.	17/11/1988
Uyruğu	T.C.	TC Kim No	16448575932
Email	brckya@yahoo.com	Tel	05398188776

Eğitim Düzeyi

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mez. Yılı
Doktora		
Yük.Lis.		
Lisans	Hacettepe Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü	2012
Lise	Meram Konya Lisesi (Yabancı Dil Ağırlıklı)	2006

İş Deneyimi (Sondan geçmişe doğru sıralayın)

	Görevi	Kurum	Süre (Yıl - Yıl)
1.	Çalışma Başlatma Uzmanı (Klinik Araştırmalar)	Roche Müstahzarları San. A.Ş.	2017-devam ediyor
2.	Klinik Araştırmalar Asistanı	Roche Müstahzarları San. A.Ş.	2015-2017
3.	Biyolog	Arateus Diyabet Enstitüsü	2012-2014

Yabancı Dilleri	Okuduğunu Anlama*	Konuşma*	Yazma*	KPDS/ÜDS Puanı	(Diğer) Puanı
İngilizce	Çok iyi	Çok iyi	Çok iyi	50.000	

*Çok iyi, iyi, orta, zayıf olarak değerlendirin

	Sayısal	Eşit Ağırlık	Sözel
LES Puanı	68.778	65.633	58.097
(Diğer) Puanı			

Bilgisayar Bilgisi

Program	Kullanma becerisi
MS Office	Çok iyi

Yayınları/Tebliğleri Sertifikaları/Ödülleri

Yayınlar:

1. E. N. Yenilmez, S. Turan, Ö. Küçükhusayin, L. Verim, C. Cacıma, B. Kaya, Ö. Özgen, İ. Yaylın "p16 veMDM2 Genlerine Ait Kritik Polimorfizmlerin Mesane Kanseri Riski ve Progresyonuna Etkisi" 6th Research Institute of Experimental Medicine Symposium Days, Istanbul University, Istanbul, 2014.
2. A. Karasaç, B. Kaya, M. T. Yılmaz, "Preklinik ve Klinik Tıp 2 Diyabetli Hastalarda Yeme Tutumu Bozukluğu ve Vücut Kitle İndeksi ile İlişkisinin Değerlendirilmesi," 49th National Diabetes Congress, Antalya, 2013.

Ödüller ve Sertifikalar:

1. 2017-Roche Türkiye Vizyon Ödülleri Proje Ödülü
2. 2016-Roche Klinik Çalışmalar Okulu, Bodrum (Organizasyon komite üyesi)
3. 2015-Roche Klinik Çalışmalar Okulu, Istanbul (Katılımcı)
4. 49. Ulusal Diyabet Kongresi, Antalya (Katılımcı)
5. Genetiği Değiştirilmiş Organizmalar (GDO) Sempozyumu, ODTÜ, Ankara
6. Biyoçeşitlilik Kongresi, ODTÜ, Ankara
7. 6. Deneysel Tıp Sempozyumu Günleri İstanbul Üniversitesi, Istanbul
8. Boğaziçi Üniversitesi Fotoğraf Kulübü (Üye)
9. Türkiye Eğitim Gönüllüleri Vakfı (Gönüllü eğitmen)

Özel İlgi Alanları (Hobileri): Vitray (Cam sanatı), Keman Çalma