

Küçük Hücre Dışı Akciğer Kanseri Hücre Hattı ve Fare Embriyonik Fibroblast Hücre Hattı Üzerinde Yeni Sentezlenen Paladyum Konjuge Schiff Baz Metal Komplekslerinin Antikanser Etkisinin İncelenmesi

YAZAR
BURCU DEMİRBAĞ

BİDGE Yayınları

Küçük Hücre Dışı Akciğer Kanseri Hücre Hattı ve Fare Embriyonik Fibroblast Hücre Hattı Üzerinde Yeni Sentezlenen Paladyum Konjuge Schiff Baz Metal Komplekslerinin Antikanser Etkisinin İncelenmesi

Yazar: Öğr. Gör. Dr. Burcu DEMİRBAĞ

ISBN: 978-625-372-293-7

Bu çalışma Mersin Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Proje Birimi tarafından desteklenmiştir (Proje No: 2023-1-AP1-4896). Bu çalışma Eskişehir Teknik Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri tarafından desteklenmiştir (Proje No: 21GAP070).

1. Baskı

Sayfa Düzeni: Gözde YÜCEL

Yayınlama Tarihi: 15.08.2024

BİDGE Yayınları

Bu eserin bütün hakları saklıdır. Kaynak gösterilerek tanıtım için yapılacak kısa alıntılar dışında yayıncının ve editörün yazılı izni olmaksızın hiçbir yolla çoğaltılamaz.

Sertifika No: 71374

Yayın hakları © BİDGE Yayınları

www.bidgeyayinlari.com.tr - bidgeyayinlari@gmail.com

Krc Bilişim Ticaret ve Organizasyon Ltd. Şti.

Güzeltepe Mahallesi Abidin Daver Sokak Sefer Apartmanı No: 7/9 Çankaya / Ankara



İçindekiler

Giriş.....	5
Akciğer Kanseri	5
Akciğer Kanseri Epidemiyolojisi.....	5
Akciğer Kanseri Etiyolojisi.....	6
Akciğer Kanseri Risk Faktörleri	7
Akciğer Kanseri Evreleleri ve Prognozu	8
Akciğer Kanseri Prognostik (Biyolojik)Belirteçler.....	10
Akciğer Kanseri Histolojik Tümör Tipleri	11
Akciğer Kanseri Genomik Dizileme	11
Akciğer Kanseri Mutasyon Prevalansı	12
KRAS Mutasyonu	13
Anaplastik Lenfoma Kinazı (ALK) Mutasyonu	13
BRAF Mutasyonu	14
Akciğer Kanseri Tedavi Yöntemleri	14
Karboplatin.....	16
Vinorelbin	16
Gemcitabin	17
Sisplatin.....	17
Sisplatin'in Etki Mekanizması.....	17
İmmün Terapi.....	19
Hedef Tedaviler.....	21
Kanser Mikroçevresi	23
Programlanmış Hücre Ölümü	24
Apoptoz.....	25
İntrinsik Apoptotik Yolak	27

Ekstrinsik Apoptotik Yolak	28
Apoptotik Olmayan Programlanmış Hücre Ölümü	29
Mitokondri ve İntinsik Apoptotik Sinyalizasyon	30
Nekroz	32
Apoptoz Nekroz Ayrımı.....	33
Kanser Tedavisinde Apoptozun Rolü	34
Hücre Döngüsü	37
Hücre Döngüsü Fazları	39
Normal Hücre Döngüsünün Temel Mekanizmaları.....	39
Hücre Döngüsüne Giriş ve İlerleme.....	40
Hücre Döngüsünde Kansere Yol Açan Sapmalar	41
Kanserdeki Hücre Döngüsü Kontrol Noktaları.....	43
Hücre Çoğalması ve Apoptozun Terapötik Hedefteki Yeri.....	44
Kanser Tedavisinde Hücre Döngüsünün Yeri	47
Schiff Bazı.....	48
Metal Komplekslerde Ligand Olarak Schiff Bazı.....	49
Schiff Bazlarının ve Metal Komplekslerinin Onaylı İlaçları Ve Biyolojik Aktivitesi.....	51
Schiff Bazlarının ve Metal Komplekslerinin Antikanser Potansiyeli	51
REFERANSLAR	54

Giriş

Akciğer Kanseri

Akciğer kanseri solunum epitelinden (bronşlar, bronşiolle ve alveoller) kaynaklanır. Küçük hücreli olmayan akciğer kanseri (KHDAK), akciğer kanserinin en sık görülen alt türüdür ve vakaların %80'inden fazlasını oluşturur. Dünya Sağlık Örgütü'nün yeni akciğer tümörleri sınıflandırmasına göre, başlıca histolojik alt türler adenokarsinom, skuamöz hücreli ve büyük hücreli karsinomdur. Adenokarsinom, birçok ülkede en yaygın alt türdür ve Avrupa'da son 20 yılda %10 artmıştır. Akciğer kanserinin tüm histolojik türleri sigarayla bağlantılı olsa da, akciğer kanseri hiç sigara içmeyenlerde de görülebilir. Hiç sigara içmeyenlerde, kadınlarda ve genç hastalarda (<45 yaş) görülen en yaygın KHDAK alt türü adenokarsinomdur (Ochsner, 1973; Wynants & ark., 2007).

Akciğer Kanseri Epidemiyolojisi

Akciğer kanseri 20. yy başında nadir görülen bir hastalık olarak kabul edilmekteydi (Ochsner, 1973). Ancak artık erkeklerde yılda tahmini 965.446 ve kadınlarda yılda 386.875 yeni vaka ile küresel olarak en yaygın kanser olarak yerini almıştır. Dünya çapında yılda yaklaşık 1,2 milyon ölüme neden olmaktadır, kötü prognoza sahip agresif bir hastalıktır. Kanserle ilişkili ölümlerin önde gelen hastalığıdır. Kadınlarda akciğer kanseri, meme kanseri ve kolorektal kanserden sonra üçüncü en sık görülen kanserdir. Kadınlarda akciğer kanseri görülme sıklığı 1960'lardan bu yana 6 kat arttı ve hala artmaya devam etmektedir (Kamangar, Dore, & Anderson, 2006; Bray & ark., 2007).

Dünya Sağlık Örgütü'nün (WHO) 2016'dan 2060'a kadar olan ölüm nedenleri projeksiyonlarına göre, kanser önümüzdeki kırk yıl içinde iskemik kalp hastalığını (IHD) 2,08 kat artarak önde gelen ölüm nedeni olarak geride bırakacaktır (Mathers & Loncar, 2006). Kanser ölüm oranları arasında akciğer kanseri ölüm oranının önde gelen olduğu tahmin edilmektedir (Thandra & ark., 2021). Küçük hücreli olmayan akciğer kanseri (KHDAK), küçük hücreli akciğer kanserine (KHAK) göre en yaygın epitel akciğer kanseri olup, tüm akciğer kanseri türlerinin yaklaşık %85'ini oluşturmaktadır (Bychkov, 2022). Amerikan Kanser Derneği'nin (ACS) Gözetim, Epidemiyoloji ve Sonuç Programı (SEER) veritabanına göre, uzak evre akciğer kanseri, yerel ve bölgesel evrelere göre daha yüksek bir tanı yüzdesine (%56) ve en düşük beş yıllık sağ kalıma (%6,3) sahiptir (9). Bu, ileri erken tanı yöntemlerinin ve hedefli ve kombinasyon tedavisi gibi yeni tedavi stratejilerinin gerekliliğini göstermektedir (Mattiuzzi & Lippi, 2019). WHO 2021 torasik tümör sınıflandırması, morfolojik özelliklerden ziyade biyobelirteç testine ve immünohistokimyaya dayanmaktadır. Son güncellemede, çok sayıda ileri patolojik tanı yöntemi akciğer kanserlerinin daha doğru patolojik ve genetik sınıflandırılmasıyla sonuçlanmış ve bu da daha iyi tedavi seçeneklerine olanak sağlamıştır (Nicholson & ark., 2022).

Akciğer Kanseri Etiyolojisi

Sigara içmek, akciğer kanserinin en baskın nedenidir. Sigara dumanı, kanserojen farklı kimyasal bileşiğin karmaşık bir karışımından oluşur. Bunlar arasında, polisiklik aromatik hidrokarbonlar, N-nitrozaminler ve aromatik aminler en güçlüsüdür (Dogan & ark., 2012). Tüm vakaların yaklaşık %90'ını oluşturan akciğer kanseri, sigara içilmediğinde oldukça nadir bir hastalık

olacaktır. Gençlerin sigaraya başlamasını etkili bir şekilde önleme ve sigarayı bırakmayı teşvik etme stratejileri, akciğer kanseriyle mücadelede en etkili yol olacaktır. Ek olarak, asbest, radon ve endüstriyel/çevresel bileşiklerin de akciğer kanserinin gelişimine neden olduğu kanıtlanmıştır. Dahası, sigara içmenin bu kanserojenler üzerinde arttırıcı bir etkisi olduğu görülmektedir (Carrot-Zhang & ark., 2021).

Akciğer Kanseri Risk Faktörleri

Sigara, tüberküloz, astım, kronik obstrüktif akciğer hastalığı (KOAH) öyküsü ve mesleki olarak asbest ve radona maruz kalma, akciğer kanseri için şu ana kadar bildiğimiz önemli risk faktörleridir. Hafif veya hiç sigara içmeyenlerde EGFR mutasyonları ve ROS1, ALK ve RET translokasyonları olma olasılığı daha yüksektir, buna karşın ağır sigara içenlerde KRAS mutasyonları, özellikle transversiyon tipi mutasyonlar olma olasılığı daha yüksektir (Dogan & ark., 2012) MET ve BRAF gibi diğer mutasyonlar hem sigara içenlerde hem de sigara içmeyenlerde bulunur; NRAS,7 MAP2K1 ve TP53 sigara içenlerde daha yaygındır; EGFR mutasyonları kadınlarda ve genç hastalarda daha yaygındır, ancak ROS1, RET ve ALK mutasyonları cinsiyetten bağımsız olarak genç hastalarda daha yaygındır (Carrot-Zhang & ark., 2021). Akciğer kanserinin önemli risk faktörleri arasında tütün içimi, puro, pipo klamidya pnömoni öyküsü, tüberküloz öyküsü, kronik bronşit, ve HIV enfeksiyonu (2 kat) bulunur (Waziry & ark., 2017; Zhan & ark., 2011; Herna'ndez-Ramı'rez & ark., 2017; Kim & ark., 2018; Shikata & Takemura, 2017; Garzillo & ark., 2017; Lubin & Boice, 1997). Pasif içicilik radon, asbest, astım öyküsü risk faktörleri arasındadır. İşyerinde uranyum gibi radyoaktif cevherler, arsenik, berilyum, kadmiyum,

silika, vinil klorür, nikel bileşikleri, krom bileşikleri, kömür ürünleri, hardal gazı ve klorometil eterler gibi solunan kimyasallar ve beta karoten takviyeleri gibi belirli diyet takviyeleri almak gibi diğer kansere neden olan maddelere maruz kalmak da akciğer kanserine neden olabilir (Malhotra & ark., 2016; 22).

Kanser duyarlılığı ayrıca bireyin genetik geçmişiyle orantılıdır. Nokta mutasyonları kromozomal değişiklikler (silme veya ekleme, inversiyon, translokasyon, aneuploidi ve gen amplifikasyonu), epigenetik varyasyonlar (histon asetilasyonu ve DNA metilasyonu) ve kromotripsis kansere yol açabilir. KHDAK'daki somatik mutasyon ve değişiklikler şu şekilde görülür: EGFR, %10-%35; KRAS, %15-%25; FGFR1, %20; fosfataz ve tensin homologu (PTEN4), %8; diskoidin alanı içeren reseptör tirozin kinaz (2DDR2), %4; ALK, %3-%7; HER2, %2-%4; MET, %2-%4; BRAF, %1-%3; fosfatidilinositol-4,5-bisfosfat 3-kinaz katalitik alt birim alfa (PIK3CA), %1-3%; protein kinaz b (AKT), %1; MEK1, %1; nöroblastoma-ras (NRAS), %1; RET, %1; ve ROS, %1.70. Bu genlerin dolaşımdaki transkripsiyonel ve translasyonel ürünleri, KHDAK'nin erken tanısında kullanılabilir (Loeb & Loeb, 2020; Wyatt & Collins, 2013).

Akciğer Kanseri Evreleleri ve Prognozu

Erken akciğer kanserleri genellikle klinik olarak sessizdir, bu nedenle semptomların ortaya çıkması genellikle daha ileri bir hastalığı gösterir. En yaygın başlangıç semptomu, hastaların %45-75'i tarafından bildirilen öksürüktür. Akciğer kanseri, hastaların semptomlarına göre göğüs röntgenlerinde veya başka nedenlerle yapılan rutin göğüs incelemelerinden sonra tespit edilebilir. Göğüs

röntgeninde şüpheli bir lezyon normalde göğüs BT'si gerektirir (25). Göğüs kitlesinin rutin incelemeleri, tanıyı belirlemek için doku biyopsilerini içerir. Bronkoskopi veya transtrakeal iğne aspirasyonu, iğne biyopsisi veya mediastinoskopi, video yardımcı torakoskopi veya açık göğüs cerrahisi gibi cerrahi teknikler gibi çeşitli teknikler mevcuttur.

Küçük hücreli akciğer kanseri tanısı doğrulandıktan sonra, hastalığın kapsamını ve tedavi kararları için bir temel oluşturmak amacıyla evreleme prosedürleri gereklidir. Göğüs BT taraması, karaciğer metastazını veya genişlemiş adrenal bezleri ekarte etmek için üst karın bölgesini de içermelidir. Beyin MR'ı, nörolojik semptomlar mevcut olduğunda yararlı olabilir, çünkü akciğer kanseri genellikle beyne yayılır. Kemik ağrısı veya kanda yüksek kalsiyum seviyeleri durumunda, metastazı ekarte etmek için kemik taraması değerlidir. PET taraması, mediastinal ve uzak metastazı ekarte etmek ve radyasyon tedavisi için faydalıdır (Hecht, 2002; Travis & ark., 2004).

Kanserlerin evrelemesi prognozu tahmin etmek, tedavi seçimlerine rehberlik etmek, sonuçlar arasında karşılaştırmalar yapmak gibi çeşitli nedenlerle yapılır. Akciğer kanserinde ve diğer katı tümörlerin çoğunda TNM evreleme sistemi kullanılır. Bu sistem çeşitli revizyonlardan geçmiştir (Goldstraw & ark., 2016; Woodard, Jones & Jablons, 2016).

TNM, Tümör, Lenf nodu ve Metastaz anlamına gelir;

- Tümör: birincil tümörün boyutunu, kapsamını ve bazen yerini belirtir.

- Lenf Nodu: bölgesel lenf düğümü tutulumunun kapsamını belirtir.

- Metastaz: uzak metastazın varlığını ve kapsamını belirtir.

Akciğer kanseri evre IA ila IIA, lenf düğümü tutulumu olmayan daha küçük tümörleri temsil eder, IIB, daha büyük/ileri birincil tümörleri veya sınırlı yerel lenf düğümü tutulumunu temsil eder. Evre IIIA ila IIIC, daha büyük tümörleri ve/veya düğüm tutulumunu temsil eder. Evre IVA ve IVB, çeşitli derecelerde metastatik hastalığı temsil eder.

Akciğer Kanseri Prognostik (Biyo)Belirteçler

Biyobelirteçler, belirli proteinler için kan testleri veya genetik varyantların varlığı gibi hücresel veya moleküler düzeyde bir biyokimyasal süreci tanımlamak için kullanılır. Onkolojide, biyobelirteçler genellikle prognostik ve tedavi öngörücü belirteçler olarak ayrılır. Prognostik belirteçler, tedaviden bağımsız olarak belirli sonuçların riskini tanımlarken, öngörücü biyobelirteçler, belirli popülasyonda bir tedavinin etkinliğine ilişkin fikir verir. Dahası, biyobelirteçler tanı amaçlı olabilir veya kalan hastalığı izlemek için kullanılabilir.

Tedavi yanıtını tahmin etmek için kullanılan biyobelirteçler, özellikle yaşlı, kronik hastalığı olan ve tedavilerin ciddi yan etki riski taşıdığı KHDAK'ta değerlidir. Kontrol noktası inhibitörleri yaygın olarak kullanılmasına rağmen, KHDAK'li hastaların yalnızca bir kısmı tedaviden önemli fayda elde etmektedir (Bodor, Boumber & Borghaei 2020). Biyobelirteç keşfi, klinik akciğer kanseri bakımında moleküler faktörün keşfiyle sonuçlanan aktif bir araştırma alanıdır.

Akciğer Kanseri Histolojik Tümör Tiplemesi

Akciğer kanserinin ana histolojik tipleri küçük hücreli akciğer kanseri (KHAK) ve küçük hücreli olmayan akciğer kanseridir (KHDAK). Bunlar esas olarak biyopsi veya ameliyattan sonra formalinle sabitlenmiş parafine gömülmüş doku kesitlerinin klasik ışık mikroskobu ile morfolojik görünümüne dayanır. KHAK, tüm akciğer kanserlerinin %15'ini oluşturur ve küçük yuvarlak koyu çekirdekli ve az miktarda bazofilik sitoplazma ile karakterizedir. Nekrotik alanlar, belirgin apoptozis ile birlikte yaygındır. İmmünohistokimya (IHC) ile değerlendirilen sinaptofizin, kromogranin A veya CD56 ekspresyonu, bu tümörün nöroendokrin doğasını doğrular. Yüksek proliferasyon, çok sayıda mitotik figür ve devam eden mitoz için bir belirteç olan Ki67 boyamada yüksek proliferasyon indeksi ile ortaya çıkan KHAK'nin bir diğer ayırt edici özelliğidir. KHDAK, tüm vakaların %80'ini oluşturan en yaygın akciğer kanseri türüdür. Benzer tarihsel tedavi stratejilerine göre bir araya getirilen çok heterojen bir tümör grubudur. KHDAK'nin en yaygın alt tipi, glandüler yapıların veya musin üretiminin varlığıyla karakterize edilen akciğer adenokarsinomudur (33).

Akciğer Kanseri Genomik Dizileme

Hedefli tedavide, ilaçlar tümör hücresi çoğalmasını yönlendiren mutasyona uğramış onkogenleri inhibe edecek şekilde tasarlanmıştır. Bu nedenle, mutasyona uğramış sürücü onkogenlerin varlığı veya yokluğunun test edilmesi, doku biyopsileri için tanı algoritmasının önemli bir bölümünü oluşturur. Bu amaçla, tümör DNA'sı moleküler analiz için biyopsi doku bloğundan çıkarılır. Mutasyonları tespit etmek için klasik yöntemler arasında gerçek

zamanlı PCR ve Pirosekanslama bulunur. Günümüzde, daha fazla sayıda onkogenin değerlendirilmesi gerektiğinden, altın standart analiz yeni nesil dizilemedir (NGS) (Mosele & ark., 2020). EGFR, BRAF, KRAS G12C ve MET ekzon 14 atlamasındaki nokta mutasyonlarına karşı onaylı ilaçlar mevcuttur. Diğer ilaçlar, ALK, ROS1, RET ve NTRK gibi onkogenleri içeren yeniden düzenlenmiş füzyon genlerini hedef alır. Bu onkojenik füzyon genleri genellikle RNA transkript düzeyinde, esas olarak hedeflenen NGS veya RNA hibridizasyonu ile analiz edilir. Şu anda, kan örneğinde tümör DNA'sının moleküler analizi için sıvı biyopsi platformlarının geliştirilmesi araştırılmaktadır (Pisapia, Malapelle & Troncone, 2019).

Akciğer Kanserinde Mutasyon Prevalansı

Klinik bir ortamda, belirli mutasyonların önemi, hedeflenebilir olup olmadıklarına veya prognostik veya tedaviyi tahmin edici bilgi sağlayıp sağlamadıklarına bağlıdır. KHDAK'de, sürücü mutasyonları olarak adlandırılan onkogenlerdeki hedeflenebilir mutasyonlar, klinik ortamlarda ana odak noktası olmuştur ve baskılayıcı genlerdeki eş zamanlı mutasyonlar, ek biyolojik ve prognostik etkiler sağlar. Bir hasta popülasyonundaki mutasyonların prevalansı, histolojik tümör alt tiplerine, sigara içme alışkanlıklarına ve etnik kökene bağlı olarak değişir. Hedeflenebilir değişiklikler öncelikle adenokarsinomlarda ve daha az ölçüde KHDAK NOS'ta (başka türlü belirtilmemiş) bulunurken skuamöz hücreli karsinomlarda nadirdir (Dearden & ark., 2013). Bu nedenle, önceki klinik kılavuzlar yalnızca adenokarsinomlarda ve seçilmiş KHDAK NOS vakalarında test yapılmasını önermiştir. Skuamöz hücreli karsinomlarda rutin testler hala standart bakım değildir. Etnik

kökene bağılı mutasyon spektrumundaki farklılıklar, öncelikle EGFR ve KRAS mutasyonları KHDAK'de Batı Kafkasyalı popülasyonlar ve Doğu Asya kökenli hastalar arasında farklılıklar gösterir. Asya'daki EGFR mutasyon yaygınlığı %49 olarak tahmin edilirken Avrupa popülasyonlarında yaklaşık %13'tür (Melosky & ark., 2022). Tersine, KRAS mutasyonları için Asya'daki yaygınlık yaklaşık %15'tir (Loong & ark., 2020). Avrupa popülasyonunda bildirilen sayılar %40 oranındadır (Boch & ark., 2013).

KRAS Mutasyonu

Kirsten RAS sarkoma viral onkogen (KRAS) mutasyonları birkaç kanserde tanımlanmıştır. Akciğer kanserinde en yaygın sürücü mutasyonudur. Kodon 12'deki mutasyonlar (KRAS G12C mutasyonları) KRAS mutasyonlarının neredeyse %50'sini oluşturur ve diğer mutasyonların aksine, genellikle sigara içme geçmişi olan kişilerde görülür (Rekhtman & ark., 2013). Bir zamanlar ilaçla tedavi edilemeyen bir hedef olduğu düşünülen yeni KRAS inhibitörleri, metastatik KHDAK tedavisinde umut vadediyor. Sotorasib, KRAS G12C mutasyonları için geliştirilen ilk hedefli ajandır. Bu ajan KRAS G12C'yi inaktif bir GDP-bağılı durumda kilitleyerek spesifik ve geri döndürülemez şekilde inhibe eder (Wang & ark., 2012). En sık görülen yan etkiler karaciğer fonksiyon testi anormallikleri, diyare, anemi, hepatit ve hiponatremiydi.

Anaplastik Lenfoma Kinazı (ALK) Mutasyonu

Tüm akciğer tümörlerinin yaklaşık %3-7'sinde ALK mutasyonları bulunur ve bu mutasyonlar genellikle daha genç yaşlardaki hastalarda görülür (Soda, Choi & Enomoto, 2007). Koh ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada, ALK mutasyonu bulunan

hastaların ortalama yaşı 49 iken, ALK negatif olan hastalarda ortalama yaş 61 olarak bulunmuştur (Koh & ark. 2011). Şu anda, EML4-ALK ve diğer ALK füzyonlarından kaynaklanan sürekli aktive olan reseptör tirozin kinazı hedefleyen FDA onaylı bir ajan olan krizotinib (Xalkori®, Pfizer) bulunmaktadır. Krizotinib'in progresyonsuz sağkalımı 10.9 ay uzattığı bildirilmiştir. Genel olarak, krizotinib standart kemoterapiye kıyasla progresyonsuz sağkalım ve genel yanıt oranında önemli iyileşmeler göstermiştir (Solomon & ark. 2014). Bu sonuç, krizotinib'i daha önce tedavi edilmemiş, ileri evre ALK-pozitif non-skumöz KHDAK hastaları için standart tedaviyi ortaya koymuştur.

BRAF Mutasyonu

BRAF, hücre proliferasyonu ve hayatta kalmayı destekleyebilen, serin/treonin protein kinazıdır ve bir proto-onkojendir. BRAF somatik mutasyonları, tüm KHDAK vakalarının %1-4'ünde, en yaygın olarak adenokarsinom hastalarında bulunmuştur. Bu mutasyonlar, genellikle eski/aktif sigara içenlerle daha sık ilişkilendirilmiştir. BRAF mutasyonlarının büyük çoğunluğunun, KHDAK'deki diğer onkojenik mutasyonlarla (EGFR mutasyonları vb.) çakışmadığı belirlenmiştir (Zappa & Shaker, 2016).

Akciğer Kanseri Tedavi Yöntemleri

KHDAK hastalarının üçte birinden azında iyileşme olasılığı vardır. Evre IA, IB, IIA, IIB ve bazı IIIA hastalar için cerrahi rezeksiyon, iyi durumdaki evre IIA - IIIA hastalarına adjuvan kemoterapinin ardından tercih edilen tedavidir. Tıbbi olarak ameliyat edilemeyen hastalar lokalize radyoterapi veya kombin

kemoradyoterapi ile tedavi edilebilir (47). Yeni teşhis edilen KHDAA hastalarının çoğunda lokal olarak ilerlemiş veya metastatik hastalık görülür (48). Lokal olarak ilerlemiş hastalığı olan hastalara, pozitif prognostik faktörler varsa, yani tümör boyutu <7 cm, iyi performans durumu ve önemli kilo kaybı yoksa kemoradyoterapi önerilmelidir. Kötü prognostik faktörlere veya metastatik hastalığa sahip hastalarda tedavinin amacı semptomların hafifletilmesi ve sağ kalımın uzatılmasıdır (Hopwood & Stephens, 1995).

İleri KHDAA çok çeşitli rahatsız edici semptomlara neden olur. Lokal olarak, hastalık dispne, öksürük, göğüs ağrısı ve hemoptiziye yol açarken, sistemik bileşen yorgunluk ve iştahsızlığa neden olur. Uzak metastaz, ilgili bölgelerden semptoma, ağrıya ve diğer komplikasyonlara neden olabilir. Ek olarak, anksiyete ve depresyon bu hastalar için önemli bir yüküdür. Hopwood ve diğerlerine göre, ileri KHDAA hastası ortalama 14 semptomla gelir (Tammemagi & ark., 2003). Uzun süreli sigara içimi ve kardiyovasküler hastalıkların yüksek yaygınlığı daha karmaşık bir semptomlara katkıda bulunur ve tedaviyi daha toksik hale getirir veya hiç uygulanabilir değildir (Karnofsky, 1948). Hem kemoterapi hem de palyatif radyoterapi, evre IIIB ve IV KHDAA için değerli tedavi seçenekleridir (Smith, 1994). Doksanların sonu ve bu on yılın başlarında, vinorelbin, gemesitabin, docetaxel ve paklitaksel gibi üçüncü nesil sitotoksik ilaçlar, hem tek ilaçlar hem de kombinasyonlar halinde ileri KHDAA'de etkili olduğunu kanıtlamıştır (Hotta & ark., 2004).

Hem sisplatin hem de karboplatin ileri KHDAA tedavisinde kullanılır (Hotta & ark., 2004). Karboplatinin ileri KHDAA için 2 ilaçlı platin bazlı kombinasyonlarda sisplatinin yerini alıp

alamayacağı, 2945 hastadan alınan özet verileri içeren bir meta-analizde araştırılmıştır (Ardizzoni & ark., 2007). Bu meta-analiz, karboplatin bazlı kemoterapiye kıyasla sisplatin bazlı kemoterapi için genel bir sağkalım avantajı gösterememiştir. Öte yandan, platin kombinasyonlarında yeni ajanlarla tedavi edilen 2280 hastanın alt küme analizinde sisplatin lehine %11'lik bir sağkalım avantajı göstermiştir (Billingham & Cullen, 2001). Palyatif ortamda, hastaların yaşam kalitesi, tedavi toksisitesi ve hastanede kalma süresi daha önemli konular olarak kabul edilir. Bu nedenle, sisplatinin daha iyi bir tedavi sonucu belirtilerine rağmen karboplatin iyi bir alternatiftir (Thorgeirsson & ark., 2008).

Karboplatin

Karboplatin (siklobutan-1,1-dikarboksilik asit), DNA'ya bağlanarak kanser hücrelerine karşı etki eden ve apoptozu indükleyen çeşitli çapraz bağlar üreten ikinci nesil bir platin bileşiğidir. Sisplatinden farklı bir toksisite profiline sahiptir, daha az nefrotoksisite, ototoksisite ve nörotoksisiteye sahiptir. Karboplatin hidrasyona ihtiyaç duymaz, bu da onu ayaktan tedavi için uygun hale getirir. Başlıca eliminasyon yolu böbreklerden atılır (Oguri & ark., 1988).

Vinorelbin

Vinorelbin veya 3',4'-didehidro-4'-deoksi-C'-norvinkaleukoblastin [R-(R*,R*)-2,3-dihidroksibütandioat], vinblastinden türetilen yarı sentetik bir vinka alkaloididir. Mitotik mikrotübüllerin tübülinine bağlanarak hücre büyümesini engeller ve mitozu engeller. Doz sınırlayıcı toksisite nötropenidir (Leveque & Jehl, 1996).

Gemsitabin

Gemsitabin veya dFdC (2'-deoksi-2',2'-diflorositidin monohidroklörür), başlangıçta antiviral etkileri için araştırılan ancak daha sonra bir antikanser tedavisi olarak geliştirilen yeni bir deoksisitidin analogudur. Bir pirimidin antagonisti olarak gruplandırılır, bu da DNA sentezini ve onarımını farklı şekillerde inhibe ederek etki eden bir anti-metabolittir. Hücre içi ortamda DNA'ya dahil olan ve hasara neden olan aktif metabolitlere fosforile edilen bir lipofilik ön ilaçtır. Doz sınırlayıcı toksisite kemik iliği baskılanmasıdır. Ayrıca, gemsitabin insan tümör hücrelerinin oldukça güçlü bir radyo-duyarlılaştırıcısıdır (Noble & Goa 1997).

Sisplatin

Sisplatin (sis-diklorodiaminplatin II), DNA hasarına neden olan ve DNA onarımını engelleyen bir alkile edici ilaçtır. Klinik denemelerin temel amacı, bu tedaviyi sınırlayan sonuçları önlemek olmuştur. Gıda ve İlaç Dairesi (FDA), hidrasyonun sisplatinin neden olduğu nefrotoksisiteyi azaltabileceğini bulduktan sonra ilacı 1978'de onaylamıştır. Sisplatin, mevcut rejimlerin çoğunda genellikle üçüncü nesil sitotoksik ilaçlarla birlikte kullanılır. Randomize denemelerin bir meta-analizi, ilk olarak ileri KHDAK'li hastalarda sisplatinin faydasını belirlemiştir. Sisplatin bazlı kemoterapi, destekleyici bakıma kıyasla 1 yıllık sağkalımı %10, medyan sağkalımı 1,5 ay ve ölüm riskini %27 oranında iyileştirdiği ortaya konmuştur (Umar & ark., 2024).

Sisplatin'in Etki Mekanizması

Sisplatin DNA'ya bağlanır ve ardından tek zincirli DNA kırılmasına neden olur. Bu yolla sisplatinin sitotoksisiteye neden

olduğu düşünülmektedir. Sisplatin sitoplazmaya girdiğinde, su molekülleri klorür atomlarının yerini alarak proteinlerdeki sülfidril gruplarına ve nükleik asitlerdeki azot verici atomlarına afinitesi olan bir elektrofİL oluşturur (Fennell & ark., 2016). Hücre bölünmesi, sisplatinin purin bazlarının 1, 2-intra-zincir çapraz bağlarına özgül bağlanması sonucu durdurulur ve bu da apoptotik hücre ölümüne neden olur. Bir çalışmaya göre, sisplatin lösemi hücreleri üzerinde sitotoksik etkiler uygular ve konsantrasyona bağlı bir şekilde hücre çoğalmasını yavaşlatır (Kumar & Tchounwou, 2015).

Sisplatinin mitokondriyi doğrudan veya dolaylı olarak uyarak ROS oluşturduğu gösterilmiştir. sisplatinin sitotoksitesi ile lipid peroksidasyonu arasındaki bağlantı bulunmaktadır. Lipid peroksidasyonu ile salınan malondialdehit (MDA), protein karbonilasyonunu teşvik eder, oksidatif stres yoluyla hücre zarlarına zarar verir ve nihayetinde apoptozu tetikler. Daha önce yayınlanan bulgulara uygun olarak, sisplatinin oksidatif stresi güçlü bir şekilde indüklediği ve MDA üretimini artırarak lipid peroksidasyonuna, GSH aktivitesinin azalmasına ve akut promyelositik lösemi (APL) hücrelerinde DNA hasarına yol açtığı gösterilmiştir (Dasari & ark., 2015). Son bir çalışmaya göre, ER'den kalsiyum çıkışı, sisplatinin insan servikal kanser hücrelerini apoptoza ne kadar indüklediğini kontrol eder. Sisplatinin sitozolik hedeflerinden biri endoplazmik retikulumdur. Sisplatin tedavisinin, ER stresi için bir biyobelirteç görevi gören Grp78/BiP ekspresyonunu artırdığı gösterilmiştir. Sisplatinle tedavi edilen MCF-7 hücrelerinde, kalsiyumda doza bağlı bir artış görülmüştür. Bu durum, hücre ölümünden sorumlu belirli mekanizmanın hücre tipine ve tedavi koşullarına bağlı olduğunu göstermektedir. Hücre tipine bağlı olarak, sisplatin tedavisi farklı

tipte apoptoza neden olur. Sisplatin kaynaklı apoptozis, tümör proteini 53'ün (p53) aktivasyonuna, p21'i artıran bir aktivatör protein (AP-1) bileşeninin fosforilasyonuna yol açar. Mitokondriyal membranın potansiyelini değiştirerek, sitokrom C'yi serbest bırakarak ve kaspaz 3 aktivitesini artırarak, apoptozun intrinsik yolunun aktivasyonunu destekler. Ancak, araştırmalar nekroz veya otofaji'nin sisplatin kaynaklı hücre ölümü sürecinde potansiyel olarak bir rol oynayabileceğini öne sürmektedir (Jeong & ark., 2002; Gonzalez & ark., 2001).

İmmün Terapi

Vücutta tümörleşme söz konusu olduğunda, enflamasyon tümörün kendisinde, mikroçevrede meydana gelir ve aynı zamanda akut faz reaksiyonu adı verilen şekilde sistemik enflamasyonu da tetikler (Netea & ark., 2017). Yerel enflamasyon, bağışıklık sisteminin tümör tarafından üretilen antijenlere verdiği bir tepki olarak ortaya çıkar ancak hipoksi sonucu oluşan tümör nekrozu nedeniyle de oluşabilir (Eltzschig & Carmeliet, 2019). Enflamasyon immünoterapinin etkilerini de etkileyen tümör büyümesinin önemli bir yönüdür. Bağışıklık sisteminin düzensizliği veya kalıcı bir aktivatörü nedeniyle oluşan kronik sistemik enflamasyon, birkaç farklı doku ve organın bozulmasına yol açar ve kanser dahil olmak üzere birçok farklı hastalıkta önemli bir rol oynar (Michels & ark., 2021). Sistemik inflamasyonu ölçmek için birçok yaklaşım kullanılmıştır, esas olarak tek belirteçler, yani CRP, kan sayımları veya benzeri veya birden fazla belirteçler kullanılmıştır. KHDAK'da sistemik inflamasyon tüm evrelerde ve tedavi modalitelerinde daha kötü sonuçlarla bağlantılıdır (Huang & ark., 2021).

İmmünoterapi, metastatik KHDAK hastalarının yönetiminde önemli değişiklikler yaratmıştır. 2015 yılında, KHDAK’de etkinliği gösteren ilk büyük immünoterapi çalışması olan İkinci Aşama Checkmate 063 çalışması yayınlanmıştır (Prior, Lewis & Mattos, 2012). İmmünoterapi ajanlarından biri olan nivolumab anlamlı bir fayda sağlamıştır ve kabul edilebilir bir toksisite göstermiştir. Günümüze kadar birçok immünoterapi stratejisi geliştirilmiştir (Goldstraw & ark., 2016). İmmünoterapilere verilen yanıtlar, tümör PDL-1 ekspresyonuna bağlıdır. PDL-1 ekspresyonu, üç grupta geniş bir şekilde sınıflandırılır: PDL-1 negatif (<%1 tümör hücresinin PDL-1 ekspresyonu vardır), PDL-1 düşük pozitif (%1–49) ve PDL-1 pozitif (>%50). PDL-1 ekspresyonu arttıkça sağ kalım ve yanıt süresi de artar. PDL-1 pozitif tümörleri olan hastalar için, immünoterapinin hem toksisite hem de sağ kalımı artırma açısından kemoterapiden daha etkili olduğu gösterilmiştir (Sobin, Gospodarowicz & Wittekind, 2011).

Mevcut ilaçlar CTLA-4’ü (sitotoksik T-lenfosit ilişkili protein 4), PD-1’i (programlanmış hücre ölüm proteini 1) ve PD-L1’i (programlanmış hücre ölüm ligand-1) hedef alır (Jacob, Jacob & Parajuli, 2021). Bu inhibitörler, bağışıklık sisteminin immünojenik tümör antijenlerine verdiği yanıtı sınırlayan düzenleyici T hücrelerine müdahale ederek etki eder. Tümörler tespit edilmekten kaçınarak ve diğer bağışıklık sistem ilişkili kaçış mekanizmalarıyla hayatta kalır. KHDAK’ta, PD-L1’e karşı kontrol noktası inhibitörleri, metastatik bir ortamda tek başına veya kemoterapi ile birlikte en sık kullanılan ilaçlardır. Lokal olarak ilerlemiş hastalıkta, PD-1 inhibitörü kemoradyoterapiden sonra adjuvan tedavi olarak kullanılır (Antonia & ark., 2018).

Hedef Tedaviler

Mutasyonlar, tümör oluşumuna yol açan sinyal yolunun uygunsuz aktivasyonuna neden olur. İnhibitörler, hedef proteine bağlanır ve sinyalizasyonu önleyerek tümör büyümesini engeller (Hirsch & ark., 2017). Tipik bir örnek, reseptör tirozin kinaz EGFR'nin mutasyonlarını aktive etmektir. İnhibitörler, ATP bağlanmasını bloke eder, hücre içi aktivasyon bölgesine bağlanır ve daha sonra tümör oluşum aktivasyonunu önler. Hedefli tedavilerin çoğu, benzer etki modlarına sahip tirozin kinaz inhibitörleridir (TKI). Tedaviler, özellikle kemoterapiyle karşılaştırıldığında, genel olarak tolere edilebilirdir ve yan etkiler, mutasyona uğramış proteinlere bağlanma özgüllüğüne ve hedef proteinin normal fizyolojik alakasına bağlıdır. Neredeyse kaçınılmaz olan terapötik direnç, tümör hücresindeki diğer moleküler sapmaların gelişimiyle oluşur. Genellikle TKI'nin bağlanma potansiyelini sınırlayan ek mutasyonlar ortaya çıkar. Son zamanlarda, yaygın direnç mutasyonlarına karşı aktivite gösteren sonraki nesil inhibitörler geliştirilmiştir (Gainor & ark., 2016).

KHDAK'nin patogenezinin daha derin bir şekilde anlaşılması, hastalık içindeki tanımlanmış moleküler hedeflere yönelik tedavinin geliştirilmesine yol açmıştır. Gerçekten de, KHDAK'nin diğer birçok kanser türüne kıyasla önemli miktarda genomik değişikliğe sahip olduğu bilinmektedir (Lawrence & ark. 2013). İleri düzeyde nonskuamöz kökenli hastalığı olan KHDAK hastaları rutin olarak klinikte EGFR mutasyonları ve ALK yeniden düzenlemeleri açısından test edilir. Bir moleküler değişiklik keşfedilirse, hastalara hedefli tedavi önerilir.

EGFR genindeki aktive edici mutasyonlar KHDAK tümörlerinin %7,5'inde, özellikle adenokarsinomlarda bulunur, kadınlarda ve sigara içmeyenlerde görülme olasılığı daha yüksektir (Helland & ark., 2011). EGFR Tirozin Kinaz İnhibitörleri (TKI'ler) gefitinib, erlotinib ve afatinib, tümör dokusunda hangi EGFR mutasyonu tipinin mevcut olduğuna bakılmaksızın, Norveç'te ileri KHDAK'de birinci basamak tedavi olarak onaylanmıştır. Genel olarak, EGFR TKI'ler ileri KHDAK'nin birinci basamak ortamında 9 ila 13 aylık ilerlemesiz sağ kalım göstermektedir. EGFR inhibitörü osimertinib'in hem tedavi edilmemiş hem de daha önce tedavi edilmiş ve doğrulanmış T790 mutasyonu olan hastalarda etkili olduğu gösterilmiştir.

ALK genini içeren yeniden düzenlemeler, EGFR mutasyonlarına ek olarak, adenokarsinomlarda ve sigara içmeyenlerde en sık görülenlerdir ve KHDAK tümörlerinin %2-5'inde bulunur. Birkaç çalışma, ileri KHDAK'de kemoterapiye kıyasla TKI'ler krizotinib ve seritinib'in üstün etkisini göstermiştir. Şu anda, birinci basamakta kullanılan krizotinib ve ikinci basamakta kullanılan seritinib halk sağlığı sisteminde geri ödenmektedir. Son zamanlarda, üçüncü bir ajan olan alectinib onaylandı ve artık ALK pozitif KHDAK'de birinci basamak tedavi ortamında mevcuttur. Alectinib ve krizotinib'i karşılaştıran bir çalışma, krizotinib grubunda 10,4 aya kıyasla alectinib grubunda 25,7 aylık serbest sağ kalım göstermiştir. İlginç bir şekilde, beyin metastazlarının insidansında da önemli bir fark görülmüştür; alectinib ile tedavi edilen hastaların %12'sinde beyin metastazı gelişirken, krizotinib grubunda bu oran % 45'ti. BRAF mutasyonları veya ROS1 düzensizliği, KHDAK tümörlerinin %1-2'sinde, genellikle

adenokarsinomlarda ayrı ayrı tespit edilebilir. BRAF (V600) mutasyonu olan hastalarda BRAF-/MEK inhibitörleri ile tedavi veya ROS1 pozitif hastalarda TKI krizotinib ile tedavi, ileri KHDAK'de etkili gösterilmiştir (Planchard & ark., 2017; Shaw & ark., 2014).

Kanser Mikroçevresi

Kötü huylu ve kanserli olmayan hücreler arasındaki etkileşimler tümör mikro ortamını (TME) oluşturur. TME'de, tümör adacıklarındaki kanser hücreleri tümör damarları ve lenfatikleri, fibroblastlar, yağ hücreleri, perisitler ve bağışıklık hücreleri ile çevrilidir. Fibroblastlar TME'deki en bol bulunan sağlıklı hücre popülasyonudur. Normal dokularda fibroblastlar kollajen ve ekstrasellüler matrisi (ESM) sentezler ve yara iyileşmesinde rol oynar. TME'de fibroblastlar ESM sentezler, anjiyogenezi ve kanser hücrelerinin hayatta kalmasını destekleyen sitokinler üretir (Otranto & ark., 2012). Miyofibroblastlar, dokulardaki homeostaz kaybına aktin üreterek yanıt veren, ESM'yi sertleştiren ve komşu dokuda tümör invazyonunu destekleyen özel bir fibroblast türüdür. Fibroblastlar kendileri kanserli hücreler olmasa da TME'de tümör destekleyici bir role sahiptirler. Tümör stromasındaki diğer hücre tipleri arasında perisitler ve yağ hücreleri bulunur. Perisitler veya perivasküler hücreler, tümördeki kan damarlarına yapısal destek sağlar. İnsan kanserinde perisitler üzerine yapılan çalışmalar, perisitlerin ikili etkiye sahip olduğunu göstermektedir. Kanser hücrelerinin oksijene ve besinlere erişmesine izin vererek kan damarlarını desteklerler, ancak perisitler ayrıca metastazı da engeller. TME'deki perisitlerin azalması birincil tümörün baskılanmasına neden olur, ancak aynı zamanda hipoksiye ve MET reseptör ekspresyonuna da neden olur (Cooke & ark., 2012). Aktive edilmiş MET reseptörü anjiyogenezi

ve tümör büyümesini tetikler. İnsan kolon kanseri üzerine yapılan çalışmalar, tümörlerde perisitlerin düşük infiltrasyonunun MET ekspresyonu ile birleştğinde kötü prognoz ve daha yüksek derecede metastaz ile ilişkili olduğunu göstermektedir. Perisitler metastazı engellerken, adipositlerin tam tersi etkisi vardır. Karın içi tümörler genellikle büyük ölçüde adipositlerden oluşan büyük bir organ olan omentuma metastaz yapar. Neiman ve diğerleri adipositlerin IL-8 gibi sitokinlerin salgılanması yoluyla tümör hücrelerini çektiğini ve kanser hücrelerinin istila ve metastazına yardımcı olduğunu ve ayrıca bu hücreler için bir enerji kaynağı görevi gördüğünü göstermiştir. Tümör mikroçevresi, hem kanser hücrelerinin hem de kanser gelişimi üzerinde farklı etkileri olan çeşitli kanserli olmayan hücrelerin heterojen bir karışımıdır. Kanserli olmayan hücrelerin etkisi hücre tipi, kanser tipi ve tümör mikroçevresinde üretilen sitokinler gibi birçok farklı parametreye bağlıdır (Nieman & ark., 2011).

Programlanmış Hücre Ölümü

Hücre ölümü süreci ökaryotik yaşamın gelişimi ve sürdürülmesi için esastır. Hücre ölümü, hücre çoğalmasına karşı bir denge sağlar ve bu nedenle hücre sayısının kesin bir şekilde kontrol edilmesine olanak vererek çok hücreli organların yapısını ve işlevini şekillendirmede kritik öneme sahiptir. Tarihsel olarak, hücrelerin ölümü aşırı çevresel stresin neden olduğu tamamen "kazara" bir olgu olarak görülüyordu. Ancak, bilim insanları çeşitli model organizmalarda gelişim sürecini incelemeye başladıkça, bu fikri çürüten kanıtlar ortaya çıkmaya başladı. 1842'de Carl Vogt, notokord ve kıkırdak hücrelerinin ölümünü amfibi embriyogenezinin normal bir parçası olarak tanımladı (Vogt, 1842).

Yıllar sonra, Lockshin ve Williams, ipekböceği metamorfozu sırasında kas hücrelerinin koordineli bozulmasının belirli bir sinyal sistemi tarafından düzenlendiğini gösterdi (Lockshin & Williams, 1964). Belirli hücreleri belirli zamanlarda öldürmek için bir mekanizmanın bir şekilde organizmanın gelişim planına programlandığı fikrini tanımlamak için "programlanmış hücre ölümü" terimini ortaya attılar. Bu çalışmalar ve diğerleri toplu olarak, hücre ölümünün ölmekte olan hücrenin kendisinde genetik olarak kodlandığı ve belirli bir sinyale yanıt olarak yürütülebileceği kavramını ortaya koydu. O zamandan beri, programlanmış hücre ölümü yetişkin organizmalarda da çok çeşitli süreçlerde rol oynadı. Bağırsaktaki epitel hücreler sürekli ölüm ve yenilenme döngülerinden geçer (Barker, 2014). Lenfositler konak savunmasına katılırken hızlı bir genişleme geçirir, ancak daha sonra dinlenme durumu sayılarına geri döner (Rathmell ve Thompson, 2002). Şaşırtıcı olmayan bir şekilde, hücre ölümü de zararlı etkilere sahip olabilir ve otoimmün hastalıklar, nörolojik bozukluklar, yaşlanma ve kanser dahil olmak üzere çeşitli insan patolojilerinde rol oynar (Thompson, 1995). Tarihsel olarak, hücre ölümü morfolojik özelliklere göre üç türe ayrılmıştır: tip I (apoptoz), tip II (otofaji) ve tip III (nekroz).

Apoptoz

Onlarca yıldır programlanmış hücre ölümü apoptoz ile eşanlamlı olmuştur. İlk olarak 1972'de tanımlanan apoptoz artık hücre büzülmesi, kromatin yoğunlaşması, membran kabarması ve hücrenin apoptotik cisimlere parçalanmasıyla karakterize edilen biyokimyasal ve morfolojik olarak benzersiz bir hücre ölümü biçimi olarak kabul edilmektedir (Kerr ve ark., 1972). Plazma-zar

bütünlüğü bu süreç boyunca korunur ve apoptotik cisimler sonunda fagositozla ortadan kaldırılır, böylece inflamatuvar bir reaksiyon önlenir.

Memelilerde, apoptozis, gelişim sırasında en yaygın hücre ölümü biçimi gibi görünmektedir. Körelmiş yapıların ortadan kaldırılması, parmakların ve lümen yapılarının oluşumu ve lenfositlerin negatif seçimi gibi birçok farklı olay için gereklidir (Jacobson ve ark., 1997). Apoptozdaki sapmalar çeşitli insan patolojilerinde rol oynamaktadır. Apoptozisin atlatılması, tümör hücrelerine kontrolsüz çoğalma fırsatı verdiği için kanserin bir özelliği olarak kabul edilmiştir (Hanahan ve Weinberg, 2011). Aslında, tümörlerdeki en yaygın değişikliklerden biri, DNA hasarının veya diğer kromozomal anormalliklerin toksik birikimine yanıt olarak hücrelerin ölmesini yönlendirmede etkili olan tümör baskılayıcı p53'ün inaktivasyonu veya kaybıdır. Tümör hücreleri ayrıca çeşitli apoptotik sinyallere direnç kazandıran Bcl-2 ve IAP protein ailesinin üyeleri gibi güçlü anti-apoptotik genleri de düzenler (Yip ve Reed, 2008). Sonuç olarak, apoptozu teşvik etmek, kemoterapötik ajanların geliştirilmesinde önemli bir stratejidir. Tersine, ölen hücreler kolayca yenilenmediğinde aşırı apoptoz da zararlıdır. Örneğin, Alzheimer, Parkinson ve Huntington hastalıkları gibi nörodejeneratif hastalıklarda nöron kaybı, apoptotik yolların aşırı aktivasyonundan kaynaklanır (Mattson, 2000). Bu senaryolarda, apoptozu inhibe etmek muhtemelen terapötik fayda sağlayacaktır. Apoptozun başarılı bir şekilde yürütülmesi, kaspazlar olarak adlandırılan sistein bağımlı aspartat spesifik proteaz ailesinin aktivitesine bağlıdır. Kaspazların apoptozdaki rolü, ilk olarak *C. elegans* Ced-3 proteininin memeli interlökin-1 β dönüştürücü

enzime, günümüzde kaspaz-1 olarak bilinen bir sistein proteazına homolog olduğu keşfedildiğinde ortaya çıktı. Apoptoz işlevsel (kaspaz-2, -3, -6, -7, -8, -9,-10) ve inflamatuvar (kaspaz-1, -4, -5, -11 ve -12) alt ailelerine ayrılabilir (Li ve Yuan, 2008). Kaspazları sınıflandırmanın alternatif bir yolu yapılarına ve aktivasyon modlarına dayanmaktadır. Tüm kaspazlar katalitik olarak inaktif zimogenler olarak sentezlenir ve apoptoz sırasında aktive olmak için proteolitik işleme tabi tutulmalıdır (Riedl ve Shi, 2004).

İntrinsik Apoptotik Yolak

İntrinsik apoptotik yolak mitokondriye bağlı olarak gerçekleşen hücre ölüm şeklidir (Jiang ve Wang, 2004). DNA hasarı veya endoplazmik retikulum (ER) stresi gibi sinyalleri algılayan mitokondriler, dış zar geçirgenleşmesine uğrar ve bu da sitokrom C'nin zarlar arası boşluktan salınmasına olanak tanır. Sitoplazmada, sitokrom C, Apaf-1'e bağlanır ve heptamerik protein kompleksi olan apoptozomun oluşumunu tetikler. Apoptozom, başlatıcı kaspaz olan kaspaz-9'un dimerizasyonuna ve ardından aktivasyonuna yol açar. Aktif kaspaz-9 daha sonra doğrudan kaspaz-3 ve -7'yi aktive eder, bu da çeşitli substratları hedef alır ve sonuçta hücrel ölümüne yol açar (Li vd., 1997). Mitokondriyal dış membran geçirgenleştirme (MOMP) süreci, hem pro hem de anti-apoptotik üyeleri içeren Bcl-2 protein ailesi tarafından karmaşık bir şekilde düzenlenir. Pro-apoptotik Bcl-2 ailesi üyeleri efektörler ve yalnızca BH3 proteinleri olmak üzere iki alt aileye ayrılabilir. Efektörler (Bax, Bak ve Bok) dört Bcl-2 homolojisi (BH1-4) alanı içerir. Aktivasyon üzerine Bax ve Bak, homooligomerizasyona ve konformasyonel değişikliklere uğrar (Llambi vd., 2016). Sadece BH3 proteinleri tek bir BH3 alanı içerir ve Bid, Bim, Bad, Puma, Noxa, Bik, Mule, Bmf ve Hrk'yi

içerir (Chipuk ve diğerleri, 2010). Bu nedenle, Bcl-2 protein ailesi, hücre içi stresi algılayarak ve bu sinyalleri hücre kaderini belirlemek için mitokondriye ileterek hücrenin bir iç "vicdanı" gibi davranır.

Ekstrinsik Apoptotik Yolak

Öncelikle tümör nekroz faktörü (TNF) süper ailesinin transmembran "ölüm reseptörleri" tarafından tetiklenir. Bu ailenin iyi karakterize edilmiş apoptozis indükleyen üyeleri arasında TNF- α , CD95/FAS ligandı ve TRAIL bulunur. İlgili hücre dışı ligandlarının bağlanması, bu ölüm reseptörlerinin hücre yüzeyinde kümelenmesini tetikler ve sitoplazmik taraftaki ölüm alanlarının birleşmesini teşvik eder. Bu da, FADD (FAS ilişkili ölüm alanı) ve TRADD (TNF reseptörü ilişkili ölüm alanı) dahil olmak üzere kendi ölüm alanlarıyla diğer sitoplazmik adaptör proteinlerinin toplanmasına yol açar; bunlar, ölüm indükleyen sinyal kompleksini (DISC) oluşturmak için başlatıcı kaspazlar-8 ve 10'u bir araya getirir. DISC'te, kaspaz-8 ve 10 aktive edilir ve daha sonra kaspaz -3 ve -7'yi aktive edebilir (Ashkenazi ve Salvesen, 2014). Kaspaz-8'in aktivasyonu, yapısal olarak kaspaz-8'e benzeyen ancak işlevsel bir proteazdan yoksun olan bir tuzak protein olan hücreSEL FLICE inhibitör proteini (c-FLIP) tarafından inhibe edilebilir. c-FLIP bu nedenle DISC'te FADD'ye bağlanan kaspaz-8 ile rekabet eder (Irmiler vd., 1997). Kaspaz-3'ü aktive etmeye paralel olarak, kaspaz-8 ayrıca BH3-sadece protein Bid'i keserek, onun mitokondriye taşınmasını sağlayabilir ve burada daha önce tartışılan mekanizmalar aracılığıyla MOMP'yi indükleyebilir ve böylece hücrenin içsel yolunu da aktive edebilir (Li & ark., 1998). Bazı hücre hatlarında, kaspaz-8 aktivitesi farmakolojik veya genetik olarak inhibe edilirse,

belirli ölüm reseptörlerinin (FAS ve TNFR1 dahil) aktivasyonu programlanmış bir nekroz yolunu teşvik edebilir.

Apoptotik Olmayan Programlanmış Hücre Ölümü

Tarihsel olarak, nekroz veya “tip III” hücre ölümü, aşırı fizyokimyasal stresin neden olduğu kazara bir süreç olarak kabul edilirdi. Nekrozun düzenlenebileceğine dair ilk ipuçları, TNFR ve FAS gibi ölüm ligandlarına yanıt olarak kaspaz-8'den bağımsız hücre ölümünün incelenmesinden gelmiştir. Kinaz RIP1, daha sonra, artık nekroptoz olarak adlandırılan bu yeni hücre ölümü sürecinin temel bir etkeni olarak tanımlandı (Holler & ark., 2000). Daha sonra küçük molekül taraması, nekroptozun kimyasal bir inhibitörü olan nekrostatin-1'in keşfine yol açmıştır. Daha sonraki deneyler, RIP1 ve nekrostatin-1'in birincil hücresel hedefi olduğunu ortaya koydu ve nekrozun programlanmış veya düzenlenmiş bir süreç olabileceği fikrine daha fazla güvenilirlik kazandırdı (Degterev & ark., 2008). Nekroptosis karakterizasyonu ile eş zamanlı olarak, düzenlenmiş, apoptotik olmayan hücre ölümünün birkaç başka biçimi tanımlanmıştır. Bunlara anoikis, parthanatos, entosis, NETosis, ETosis, piroptosis, ferroptosis ve otozis dahildir. Bu hücre ölümü süreçlerinin farklı uyaranlar tarafından tetiklenmesine rağmen, ilişkili sinyal yollarının oldukça birbirine bağlı olduğunu belirtmek önemlidir (Monian, 2016). Bu yolların her birinde ilk tetikleyiciden hücre ölümüne yol açan moleküler olayların açıklanması, sonuçta nekrozu in vivo olarak düzenlemenin terapötik yöntemlerinin geliştirilmesine yardımcı olacaktır.

Mitokondri ve İntresik Apoptotik Sinyalizasyon

Apoptoza yol açan sinyalizasyon yolları genellikle tetikleyicilerine göre ayrılır, bunlar hücre dışı veya hücre içidir. Apoptoz, genel olarak, uzun süreli oldukça olumsuz hücre içi koşulları (örneğin açlık, ısı şoku tepkisi, hipoksi, yanlış protein katlanması) yansıtan hücresel strese karşı nihai tepkidir. Ayrıca dönüşüme ve viral veya bakteriyel enfeksiyona karşı birincil savunma görevi görür (Nevaşil 2007). İntresik apoptotik sinyalizasyonun ana aktivatörleri reaktif oksijen türleri (ROS), yanlış katlanmış proteinler veya hasarlı DNA, viral enfeksiyon ve onkogenlerdir. 1992'de anti-apoptotik protein Bcl-2, Monaghan ve arkadaşları tarafından dış mitokondriyal membranla ilişkili bir protein olarak tanımlanmıştır. Birkaç yıl sonra hücre dışı özütlerle yapılan deneyler, mitokondrilerin apoptozda önemli bir rol oynadığına dair kanıt sağlamıştır. Bu deneylerde, *Xenopus laevis* yumurta hücre dışı özütünde apoptotik süreçler yalnızca bu özütler mitokondrilerle zenginleştirildiğinde aktive edilebilmiştir (Nevaşil 2007; Newmeyer & ark., 1994). Bu organeller, büyük ölçüde içsel ancak aynı zamanda bazı dışsal sinyallerin birleştiricisi olarak hizmet eden çoklu apoptotik sinyal yollarına hizmet etmektedir. Mitokondrilerde, hücre ölümünü hem kaspaz bağımlı (sitokrom c) hem de kaspaz bağımsız (apoptozis indükleyen faktör (AIF) şeklinde teşvik edebilen moleküller bulunur. Sitokrom c (cyt c), mitokondrilerin intermembran boşluğunda bulunan ve elektron taşıma zincirinin bir parçası olarak görev yapan çözünür 12kDa proteindir. Serbest bırakıldığında, kaspaz-9, dATP ve Apoptotik proteaz aktivasyon faktörü-1 (Apaf-1) ile birlikte heptamerik yapı oluşturur, buna apoptozom denir (Adrain & Martin, 2001.). Bu

multiprotein kompleksinde, kaspaz-9, proteolitik bölünmeyle aktivasyona uğrar ve daha sonra efektör kaspazların işlenmesini ve kaspaz bağımlı apoptozu aktive eder. Mitokondrilerde ayrıca, IAP inhibitörleri Smac/DIABLO ve H₂A2/Omi veya nükleazlar AIF veya endonükleaz G gibi diğer pro-apoptotik moleküller bulunur. Apoptozun mitokondri ile bağlantılı başlıca düzenleyicileri ve promotörleri Bcl-2 (B hücreli lenfomada keşfedilmiştir) ailesinin proteinleridir. Bu nispeten büyük sinyal molekülleri grubu hem pro-hem de anti-apoptotik proteinlerden oluşur ve bunların ortak özelliği bir ila dört adet sözde Bcl-2 homoloji (BH) bölgesinin varlığıdır. Bax, Bak ve Bok, pro-apoptotik proteinlerin Bax benzeri alt ailesinin üyeleridir ve BH1, 2 ve 3 bölgelerini içerirler. İnaktif formda Bax sitozolde bulunur ancak Bak zaten mitokondride bulunur ve lokalizasyonları/aktiviteleri apoptotik bir uyarıdan sonra önemli ölçüde değişir (Nevaşil, 2007).

Bax, Bak'a benzer şekilde yapısal değişikliklere uğradığı mitokondriye taşınır ve multimerizasyon yoluyla Bax/Bak, dış mitokondriyal zar da büyük gözenekler oluşturur ve bu da mitokondriyal dış zar geçirgenleşmesine (MOMP) ve pro-apoptotik proteinlerin sitokrom c veya AIF olarak intermembran boşluktan salınmasına yol açar. Bazı tümörlerdeki Bax seviyeleri kemoterapinin etkinliğiyle ve mutasyona uğramış insan kolorektal karsinomuyla ilişkilidir. Bax, 5-florourasile dirençlidir (Nevaşil, 2007). Bax proteinlerinin aksine, Bcl-2, Bcl_xL, Mcl-1, Bcl-W, Bcl-G gibi anti-apoptotik Bcl-2 proteinlerinin çoğu ek bir BH4 alanı içerir. Bu antiapoptotik proteinlerin başlıca işlevi, Bax proteinlerinin pro-apoptotik, gözenek oluşturan aktivitelerinin dimerizasyon aracılı inhibisyonudur. Bcl-xL ayrıca Apaf-1 ve apoptozom

oluşumunu negatif olarak düzenler. Daha yüksek Bcl-2 ve Bcl-xL seviyeleri ayrıca tümörün kemoterapiye direnciyle ilişkilidir. İlginç bir şekilde, Del Bello ve ark. 2001, Bcl-2'nin kaspaz aracılı kesilmesinin işlevini anti-apoptotikten pro-apoptotiğe değiştirerek apoptotik sürecin düzgün ilerlemesini sağladığını göstermiştir. Son olarak, yalnızca BH3 içeren proteinler Bcl-2 ailesinin üçüncü alt grubunu temsil eder (Huang & Strasser, 2000).

Nekroz

Tarihsel olarak, nekroz kontrol edilemeyen bir hücre ölümü formu olarak görülmüştür ve kesinlikle donma-çözülme hasarı gibi kontrol edilemeyen ve düzenlenmemiş hücre ölümüyle sonuçlanmıştır. Ancak, daha yakın tarihli çalışmalar, belirli hücresel bağlamlarda nekrozun yetişkin omurgalı organizmalarda oldukça düzenlenmiş bir hücre ölümü formu olabileceğini göstermiştir. Düzenlenmiş nekroz, klasik nekrozun tüm morfolojik özelliklerine sahip ancak en azından 1 temel moleküler bileşeni etkileyerek engellenebilen veya hızlandırılabilen kaspazdan bağımsız hücre ölümü olarak tanımlanır (Millay & ark., 2008). İskemik hasarlara ek olarak, MPTP'nin inhibisyonu ve düzenlenmiş nekrozun ayrıca kas distrofisini, nörolojik dejeneratif bozuklukları ve karaciğer toksisitesi modellerini hafiflettiği gösterilmiştir. Düzenlenmiş nekrozun bir başka türü, hücre ölümünün apoptotik ölüm ligandı uyarımı ile birlikte kaspaz inhibisyonu tarafından indüklendiği nekrozdur ve buna nekroptoz denir. Bu nekroz türü, apoptotik ölüm reseptörleri ve reseptörle etkileşime giren protein kinazlar 1 ve 3 (RIP1 ve RIP3) tarafından meudana gelir. Bu nekroz türü, iskemik hasarlarda, pankreatitte ve viral enfeksiyonlarda rol oynar. Düzenlenmiş nekrozun ek bir biçimi, DNA hasarıyla indüklenen poli

(ADP-riboz) polimerazın (PARP) hiperaktivasyonunu içerir ve bu ilk olarak kanser hücrelerinin DNA alkilleyici ajanlarla öldürüldüğü bir mekanizma olarak önerilmiştir (Zong & ark., 2004).

Apoptoz Nekroz Ayrımı

Apoptotik hücre ölümüne alternatif, enerjiden bağımsız bir ölüm modunu izlediği toksik bir süreç olarak kabul edilen nekrozdur. Ancak nekroz, hücre ölümünden sonra meydana gelen yıkıcı süreçleri ifade ettiğinden, bazıları tarafından hücre ölümünün bir mekanizmasını tanımlamak için uygunsuz bir terim olarak kabul edilir. Bu nedenle onkoz, karyoliz ve hücre şişmesiyle nekroza yol açan bir süreci tanımlamak için kullanılırken, apoptoz hücre büzülmesi, piknoz ve karyoreksisle hücre ölümüne yol açar. Bu nedenle, hücre şişmesiyle birlikte görülen hücre ölümünü tanımlamak için alternatif olarak “onkotik hücre ölümü” ve “onkotik nekroz” terimleri önerilmiştir, ancak bu terimler şu anda yaygın olarak kullanılmamaktadır (Levin& ark., 1999). Apoptoz ve nekrozun mekanizmaları ve morfolojileri farklı olsa da, bu iki süreç arasında bir örtüşme vardır. Kanıtlar, nekroz ve apoptozun, “apoptozis-nekroz sürekliliği” olarak tanımlanan paylaşılan bir biyokimyasal ağın morfolojik ifadelerini temsil ettiğini göstermektedir (Zeiss, 2003). Örneğin, devam eden bir apoptotik süreci nekrotik bir sürece dönüştürecek iki faktör arasında kaspaz ve hücre içi ATP oranında bir azalma olur. Bir hücrenin nekroz veya apoptoz yoluyla ölmesi kısmen hücre ölüm sinyalinin doğasına, doku tipine, dokunun gelişim aşamasına ve fizyolojik ortama bağlıdır (Zeiss, 2003). Geleneksel histolojiyi kullanarak, apoptozu nekrozdan ayırt etmek her zaman kolay değildir ve bunlar, uyarının yoğunluğu ve süresi, ATP tükenmesinin derecesi ve kaspazların

mevcudiyeti gibi faktörlere bağılı olarak aynı anda meydana gelebilir (Zeiss, 2003). Nekroz, genellikle geniş hücre alanlarını etkileyen kontrolsüz ve pasif bir süreçtir; oysa apoptoz, kontrollüdür ve enerjiye bağılıdır ve tek tek veya hücre kümelerini etkileyebilir. Nekrotik hücre hasarı, iki ana mekanizma tarafından aracılık edilir; hücrenin enerji mekanizmasında ve hücre membranında doğrudan hasar. Nekrozla birlikte meydana gelen bazı önemli morfolojik değişiklikler şunlardır: hücre şişmesi; sitoplazmik vakuollerin oluşumu; şişkin endoplazmik retikulum; sitoplazmik kabarcıkların oluşumu; yoğunlaşmış, şişmiş veya yırtılmış mitokondriler; ribozomların parçalanması ve ayrılması; bozulmuş organel zarları; şişmiş ve yırtılmış lizozomlar; ve sonunda hücre zarının bozulması (Trump & ark., 1997). Hücre zarı bütünlüğünün bu kaybı, sitoplazmik içeriklerin çevreleyen dokuya salınmasıyla sonuçlanır ve sonunda iltihaplı hücrelerin toplanmasıyla kemotik sinyaller gönderilir. Apoptotik hücreler hücresel bileşenlerini çevreleyen interstisyel dokuya salmadıkları ve makrofajlar veya bitişik normal hücreler tarafından hızla fagosite edildikleri için esasen hiçbir iltihaplı reaksiyon yoktur. Ayrıca, piknozis ve karyoreksisin apoptoza özgü olmadığını ve nekrozla birlikte oluşan sitomorfolojik değişikliklerin spektrumunun bir parçası olabileceğini belirtmek önemlidir (Cotran & ark., 1999).

Kanser Tedavisinde Apoptozun Rolü

Günümüzde, cerrahi, radyasyon ve kemoterapinin kombinasyonu, hücre döngüsünün durmasını ve/veya apoptozu indüklemek için normal sinyal yollarını geri kazandırmak için kullanılır. Mevcut birçok kemoterapötik ajan apoptozis indükleycileridir. Gerçekten de, mitokondriyal apoptotik yolun

aktivasyonu, çoğu geleneksel kemoterapötik ajanın terapötik etkinliği için gerekli görünmektedir (Czabotar & ark., 2014). Bu tür apoptotik uyaranların doğasına ve hücresel bağlama bağlı olarak, farklı sinyal yolları apoptozu indüklemek için yalnızca BH3'e özgü proteinleri kullanır. DNA'ya zarar veren bileşikler, proteazom inhibitörleri veya glukokortikoidler dahil olmak üzere çok çeşitli antikanser ajanları, apoptozu indüklemek için birkaç BCL-2 aile üyesinin ve özellikle yalnızca BH3 proteinlerinin mRNA veya protein ekspresyonu değişikliklerini tetikleyebilir (Czabotar & ark., 2014). Ne yazık ki, bu ilaçlar ve tedavi yöntemleri kanser hücrelerini ortadan kaldırma potansiyeline sahip olsa da, kanser tedavisi için birkaç strateji gerçekten etkilidir (Hanahan ve Weinberg 2011, Czabotar & ark., 2014). Bu nedenle, hücreleri apoptoza dirençli hale getiren apoptotik mekanizmayı geçersiz kılabilen spesifik kanser karşıtı moleküllerin tasarımı ve çalışmasına dayalı yeni tedavi stratejileri geliştirmek önemli hale gelmiştir.

Doku homeostazisi, hücre çoğalmasının, kök hücre aktivitesinin, farklılaşmanın, durgunluğun ve hücre ölümünün doğru düzenlenmesine dayanan normal doku morfolojisi ve işlevinin sürdürülmesidir. Bu süreçler arasındaki denge, çeşitli hücre içi ve hücre dışı sinyallerin entegrasyonunun sonucudur. Bazı durumlarda, bu denge hücrelerin anormal birikimiyle değişir ve bu da kansere yol açabilir (Hanahan & Weinberg 2011). Kötü huylu hale gelmeye doğru giden hücreler kontrolsüz hücre genişlemesini engelleyen temel engelleri aşmak için birkaç ortak yetenek kazanır. Bu özellikler, sürekli çoğalma sinyali, büyüme baskılayıcılarından kaçınma, hücre ölümüne direnç, replikatif ölümsüzlük ve anjiyogenez, istila ve metastazın aktivasyonu gibi kanserin sözde

ayırt edici özellikleridir. Bu ayırt edici özelliklerin altında, edinimlerini hızlandıran genetik çeşitliliğe neden olan genom kararsızlığı ve çoklu ayırt edici işlevleri teşvik eden inflamasyon vardır. Kanser biyolojisindeki ilerlemeler, enerji metabolizmasının yeniden programlanması ve bağışıklık yıkımından kaçınma gibi ayırt edici özelliği tanımladı. (Hanahan & Weinberg 2011). Apoptozis, tümör büyümesinde, tümör ilerlemesinde ve tedaviye dirençte önemli bir rol oynar. Bu nedenle, fizyolojik hücre ölümünü baskılayan veya indükleyen genler genellikle kanserde düzensizleşir (Hanahan & Weinberg 2011). Apoptozis indüksiyon mekanizmalarındaki kusurlar, tümör hücrelerinin fizyolojik yaşamlarının ötesinde hayatta kalmalarına, hayatta kalmak için hücre dışı faktörlere ihtiyaç duymamalarına ve tümör içinde oluşan hipoksi ve hücre stresine direnmelerine olanak tanır. Ek olarak, apoptoza direnç, hücre döngüsünün düzensizleşmesine, doku farklılaşma örüntüsünün değişmesine, anjiyogenezin uyarılmasına veya hücre hareketliliğinin ve invazivliğin artmasına katkıda bulunabilen genetik değişikliklerin birikmesine yer açar (Reed, 2003). Apoptozis indüksiyon mekanizmaları karmaşıktır ve çok sayıda sinyal yolunu içerir. Sonuç olarak, kanser hücreleri çeşitli stratejiler yoluyla hücre ölümüne direnç kazanabilir. Bir yandan, kanser hücreleri BCL-2 ailesi proteinlerinin transkripsiyonel, translasyonel ve translasyon sonrası modifikasyonları yoluyla apoptozdan kaçabilir. Bazı durumlarda, kanser hücreleri anti-apoptotik genlerin ekspresyonunu artırabilir ve/veya pro-apoptotik genleri azaltabilir. Alternatif olarak, apoptoza direnç sırasıyla anti-veya pro-apoptotik proteinleri stabilize ederek veya destabilize ederek kazanılabilir. Ek olarak, apoptotik proteinlerin translasyon

sonrası modifikasyonları işlevlerini değiştirebilir ve bu da kusurlu apoptoza neden olabilir (Czabotar & ark., 2014). Apoptozun üstesinden gelmek için bir diğer mekanizma, insan kanserlerinin yarısında mutasyona uğradığı bulunan p53 yolunun inaktivasyonudur ve bu da kanser gelişimindeki önemini gösterir. Ancak, kanser tedavisinde kullanılan birçok farmakolojik müdahale, en azından kısmen, apoptozu indüklemek için p53 yolağının aktivasyonuna dayanıyordu ve bu da nihayetinde kemoterapi direnciyle sonuçlanıyordu. Apoptoza direnmede rol oynayan diğer değişiklikler arasında DNA hasarı veya hipoksi sensörlerinin kaybı veya mitojenle aktive olan protein kinazlar (MAPK), fosfatidilinositol-3-kinaz (PI3K)/AKT, protein kinaz C (PKC) veya B hücrelerinde nükleer kapp ışıık polipeptit gen güçlendirici faktörü (NF-κB) yolları (Adams & Cory, 2007) dahil olmak üzere hayatta kalma yollarındaki değişiklikler yer alır.

Hücre Döngüsü

Tek hücreli ve çok hücreli ökaryotlarda, hücre bölünmesi hiçbir hatanın hücre döngüsüne girmesine ve bölünmek üzere ilerlemesine izin verilmeden önce yapılmamasını sağlamak için düzenleyici mekanizmalar, kontroller ve dengelerden oluşan karmaşık bir ağ tarafından kontrol edilir. Hücresel canlılığın temel taşı olan ökaryotik hücre döngüsü, G1, S, G2 ve M olmak üzere dört ana faza bölünmüş düzenli bir dizidir. Bu dizi, G1 fazında organel yeniden düzenlenmesi ve kromatin kondensasyonu, S fazında DNA replikasyonu, G2 fazında protein sentezi ve M fazında iki yavru hücre üreten sitokineze sonuçlanan kromozomal ayrışma gibi kritik süreçleri destekler. Hücre döngüsü, homeostazın korunması için önemlidir ve hücre ölümü, metabolizma, hücre hareketliliği, hücre

göçü, besin alımı ve DNA onarımı gibi süreçleri etkiler (Kops, Foltz & Cleveland, 2004). Hücre döngüsü ilerlemesi normal dokularda sıkı bir şekilde kontrol edilir ancak tümör oluşumu gibi hastalık ilerlemesi sırasında anormaldir. Normal hücresel işlevler, transkripsiyonel düzenlemeden translasyon sonrası modifikasyonlara kadar uzanan mekanizmalar tarafından desteklenen hücre döngüsünün kesin düzenlenmesine dayanır. Siklin bağımlı kinazlar (CDK'ler), siklinler, p53 ve siklin bağımlı kinaz inhibitörleri (CKI'ler) dahil olmak üzere hücre döngüsü düzenleyicileri, hücre büyümesi ve bölünmesi süreçlerini, hücrenin farklılaşma veya programlanmış hücre ölümüne uğrama ihtiyaçlarıyla dengeler (Pennycook & Barr, 2020; Rubin, Sage & Skotheim, 2020).

Genomik stabilite, DNA replikasyonunun yüksek doğruluğu ve mitoz sırasında kromozomların yavru hücreler arasında doğru dağılımı ile korunur. Hücrelerin hücre döngüsüne yeniden girme veya durağan faza girme kararı çeşitli faktörlere bağlıdır. Bu faktörler arasında ana hücrelerin DNA bütünlüğü, hücre tipi ve farklılaşma durumu ve besin bulunabilirliği ve komşu hücrelerden gelen sinyaller yer alır. Bu karmaşık karar alma süreci, durgunluktan çoğalmaya geçişte gözlemlenen heterojenliğe yol açar ve bu, önceki hücre döngüsünden gelen deterministik hafıza etkilerine ve RB-E2F bistabil geçişinin stokastik dinamiklerinin getirdiği içsel rastgeleliğe atfedilebilir.

Kanserde, hücre döngüsünde kritik bir bozulma meydana gelir ve kontrolsüz hücresel çoğalmaya neden olur. Bu düzensizlik, hücre döngüsü kontrol noktalarını zayıflatan ve apoptotik tepkileri bozan genetik mutasyonların birikmesinden kaynaklanır. Bu tür

değişiklikler, proliferatif sinyalleme yi sürdürür ve büyüme baskılayıcı yolları bozar ve normal büyüme uyarıları olmadan bile kontrolsüz hücre bölünmesine neden olur (Helen & ark., 2022).

Hücre Döngüsü Fazları

Mitotik hücre döngüsü iki belirgin aşamaya ayrılır, interfaz ve M fazıdır. Bu, interfaz sırasında hücresel içeriği çoğaltmasını ve mitozda genetik olarak özdeş iki yavru hücreye ayrılmasını sağlar. Hücre döngüsünü oluşturan düzenleyici elemanların karmaşık ağının tek bir amacı vardır: genomik DNA'nın zamanında ve doğru bir şekilde çoğaltılması ve ayrılmasıdır. S fazını M fazından ayıran interfaz dönemleri, tarihsel olarak, bunların DNA'nın iki ana olayı olan çoğalma ve ayrışma arasındaki boşluklar olduğu yönündedir. Boşluk fazları veya S fazından önce G1 ve S fazından sonra G2 olarak adlandırılmıştır. Ancak, bu fazlar hücre döngüsü düzenlemesi için temel dönemlerdir ve G1 sırasında hücre döngüsüne girme ve G2 sırasında kromozom ayrışmasına yol açan süreci başlatma konusundaki kritik kararı içerir (Helen, Matthews & de Bruin, 2022).

Normal Hücre Döngüsünün Temel Mekanizmaları

Hücre döngüsü, döngüsel ve ritmik ilerlemesi nedeniyle sıklıkla "hücre döngüsü osilatörü" olarak adlandırılır, G1, S, G2 ve M'nin sıralı fazlarından geçer. Bu ilerleme, CDK'ların geçici aktivasyonu ile sağlanır. Hücre döngüsündeki kontrol noktaları genomik bütünlüğü sağlar. RB yolu tarafından karmaşık bir şekilde düzenlenen G1 kısıtlama noktası, sürekli döngü halindeki hücrelerde DNA sentezine bağılılığı veya durgunluğa girişi belirler. ATR/Chk1 yolu tarafından aktive edilen S fazı kontrol noktası, DNA

replikasyonunu ve onarımını izler, replikasyon çatallarını stabilize eder, onarımı koordine eder ve G2/M hücre döngüsü durmasını başlatır (Recolin & ark., 2014). ATM, ATR, Chk1 ve Chk2'ye dayanan G2/M kontrol noktası, DNA replikasyonunun tamamlanmasını ve mitoz başlangıcından önce hasar durumunu kontrol eder. Ek olarak, MAD2, BUBR1 ve CDC20'yi içeren iğ ipliği kontrol noktası, kromozomların mitotik iğ ipliğinde düzgün hizalanmasını sağlar. Ağ ayrıca hücre döngüleri ve mitotik çıkışlar arasındaki geçişleri yönetir ve içsel dalgalanmalara ve dışsal rahatsızlıklara karşı kararlılığı korur. Embriyonik kök hücreler ve pluripotent kök hücreler de dahil olmak üzere bazı kök hücrelerin bir kısıtlama noktasından yoksun olduğu ve bu nedenle hızlı çoğalmaya izin verdiği düşünülmektedir (Helen, Matthews & de Bruin, 2022, Burdon, Smith & Savatier, 2002).

Hücre Döngüsüne Giriş ve İlerleme

S fazından önce, prereplikatif G1 fazında, hücrelerin DNA replikasyonunu başlatmaya ve hücre döngüsüne girmeye veya G1 fazında kalmaya karar verebileceği bir karar penceresi vardır. G1 sırasında hücreler ayrıca hücre döngüsünden çıkıp durgunluk veya G0 olarak bilinen proliferatif olmayan bir duruma geçebilirler. Yetişkin bir vücuttaki hücrelerin büyük çoğunluğu proliferatif olmayan bir durumdadır ve DNA replikasyonunu başlatıp hücre döngüsüne girebilmek için önce G1'e geçmeleri gerekir. DNA replikasyonunun tamamlanması üzerine postreplikatif G2 fazında başka bir karar penceresi vardır. Bu pencere sırasında hücreler, kromatin yoğunlaşmasını ve kromozomların merkezi hizalanmasını başlatarak M fazına girmeye karar verebilirler. M fazı, hem çoğaltılmış DNA'yı doğru bir şekilde ayırma (mitoz) hem de tüm

hücresel içeriği iki yeni hücreye bölme (sitokinez) olmak üzere ikili bir işleve sahiptir.

Hücre Döngüsünde Kansere Yol Açan Sapmalar

Tümörler karmaşık, kendi kendini organize eden, fırsatçı ve dinamik sistemler olarak davranır. Kanser ilerlemesi esasen evrimsel bir süreçtir ve basit bir tümörden tam teşekküllü bir kötü huylu tümöre geçiş, bu hücrelerin çeşitli mikroçevresel çoğalma engellerine uyum sağlamasını ve bunlara uyum sağlamasını gerektirir. Bunlara hipoksi, asidoz, iskemi dahildir (Roma-Rodrigues & ark., 2019). Genomik dengesizlik, DNA dizisindeki değişikliklerden kromozomal anormalliklere kadar çeşitli seviyelerde kendini gösterir. Karsinogenez ilerledikçe, genotipik ve fenotipik değişiklikler (örn. epitel-mezenkimal geçiş (EMT), kanser kökü benzeri özellikler, metabolik yeniden programlama hücrelerin ortamlara uyum sağlamasına yardımcı olur. Proto-onkogenlerin (örn. ERBB2, P13K, Ras GTPaz ve c-Myc) fonksiyon kazanımı mutasyonları ve tümör baskılayıcı genlerdeki (örn. TP53, BRCA1/2, PTEN) fonksiyon kaybı mutasyonları kusurlu kontrol noktası fonksiyonuyla sonuçlanır ve hücre döngüsünün yanlış düzenlenmesine neden olur (Matson & Cook, 2017). DNA hasarına yanıt olarak hücre döngüsü ilerlemesini geciktirmek veya durdurmak yerine, bu kusurlu yollar hasarlı DNA'nın çoğalmasına neden olur. Bu çoğalma, sırasıyla genetik modifikasyonları çoğaltır ve apoptozis yollarını bozar (Stewart, Westfall & Pietenpol, 2003). Ek olarak, sinyal iletim yollarının (Wnt, Notch, IGF, PI3K/Akt, NF- κ B, Hh) anormal aktivasyonu artan çoğalmaya katkıda bulunur. Özellikle hipoksik bölgelerde Warburg etkisi olarak bilinen aerobik glikolize doğru metabolik kayma dikkat çekicidir. Bu moleküler ve

metabolik değişiklikler hücre döngüsüne sıkı sıkıya bağlıdır ve kanser ilerlemesinin her aşamasını istiladan yayılmaya yönlendirir. Hücreler, dış mitojenlerden bağımsız olarak kontrolsüz büyüme ve bölünme kapasitesini geliştirir ve hem apoptozdan hem de farklılaşmadan kaçma yeteneği kazanır. Hücre döngüsü düzenleyici sistemi üzerindeki kontrolün kaybı kanserde yaygın bir olaydır (Stewart, Westfall & Pietenpol, 2003; Hanahan & Weinberg, 2011).

Tümör oluşumu sırasında, hücre döngüsünün düzensizliği, hücre döngüsünü doğrudan düzenleyen genlerdeki tekrarlayan değişiklikler ve epigenetik değişiklikler, çevresel stres faktörlerinin etkileri ve hücre döngüsü düzenlemesiyle birincil olarak ilişkili olmayan ancak hücre döngüsü düzenleyicilerini modüle edebilen sinyal yollarındaki değişiklikler (mitojenle aktive olan protein kinaz (MAPK), Ras sinyal yolları ve PI3K/Akt/mTOR gibi) dahil olmak üzere çeşitli faktörlerin birleşik sonucudur. Hücre döngüsünün düzensizliği, çeşitli nedenlerle karsinogeneze bağlantılıdır. İlk olarak, hücre döngüsü düzensizliği genetik istikrarsızlığa önemli bir katkıda bulunur. Bu istikrarsızlık, DNA hasarı tepkisi ve onarım mekanizmalarından sorumlu yolların bileşenlerindeki mutasyonlardan veya değişikliklerden kaynaklanır ve kontrol noktası eksikliklerinden kaynaklanır. Bu sapma, kontrolsüz hücre çoğalması, hücre ölümüne direnç ve hücreleri sınırlı besin bulunabilirliği veya hipoksik koşullar gibi tipik fizyolojik kontrollere daha az duyarlı hale getiren düzensizlik olarak ortaya çıkar. Üçüncüsü, düzensiz hücre döngüsü, tümör büyümesini, invazyonu ve metastazı teşvik eden büyüme faktörleri ve sitokinlerin salgılanmasının artması da dahil olmak üzere tümör mikroçevresinde (TME) değişikliklere yol açabilir. Bu düzensizliğe, çoğalan hücrelerin artan enerji taleplerini karşılamak için aerobik glikolize doğru metabolik bir kayma eşlik eder ve bu da yüksek laktat üretimiyle sonuçlanır. Sonuç olarak, bu TME içindeki asiditeyi, özellikle hipoksiyi artırır, bu da anjiyogenezi uyabilir ve

başıklık baskılayıcı bir ortama katkıda bulunabilir (Parks, Mueller-Klieser & Pouyssegur, 2020; Icard & ark., 2019).

Kanserdeki Hücre Döngüsü Kontrol Noktaları

Hücreler hücre döngüsünden ya geri dönüşümlü olarak, durgunluğu başlatarak ya da geri dönüşümsüz olarak, senesans veya apoptoz yoluyla çıkabilir. Hücre döngüsünden çıkma kararı hücre döngüsü kontrol noktalarından sadece birine bağlıdır. DNA hasarı kontrol noktası, ara faz boyunca, onarılamaz DNA hasarına yanıt olarak, DNA hasarı kontrol noktası büyük ölçüde p53'e bağlı yollar aracılığıyla durgunluğu, senesansı veya programlanmış hücre ölümünü başlatabilir (Zilfou & Lowe, 2009). Şaşırtıcı olmayan bir şekilde, p53 mutasyonları kanserde bulunan en yaygın mutasyonlardır. Bununla birlikte, kanserle ilişkili mutasyonlar hücre döngüsünden çıkışı engellese bile, E2F'ye bağlı transkripsiyonun aktivasyonuna bağlı olan prereplikatif G1 fazında hücre döngüsüne girişi engelleyerek sürekli çoğalma yine de önlenabilir. Buna paralel olarak, bu yoldaki kanserle ilişkili mutasyonlar tüm kanser türlerinde bulunmuştur. Ayrıca birçok onkogen ve tümör baskılayıcı genler mutasyon içerir. Bu mutasyonlar E2F'ye bağlı transkripsiyonu indükleyerek S fazına girişi teşvik eder ve bir hücrenin prereplikatif fazda hücre döngüsünden çıkma yeteneğini tehlikeye atar. Önemlisi, diğer hücre döngüsü kontrol noktalarının (DNA replikasyon stres kontrol noktası ve SAC) ana işlevleri kanser hücrelerinde hayati öneme sahiptir ve bu nedenle bunlar sıklıkla mutasyona uğramaz. Bu, mitozdan önce ve mitoz sırasında kontrol noktasına bağlı hücre döngüsünün durdurulmasını içerir ve replikasyon stresi veya eksik iğ ipliğinden kaynaklanan DNA hasarını önlemek için gereklidir. Hücreler hücre döngüsünden geri dönüşümlü olarak, durgunluğu

başlatarak veya geri dönüşümsüz olarak, senesans veya apoptoz yoluyla çıkabilir. Hücre döngüsünden çıkma kararı hücre döngüsü kontrol noktalarından sadece birine bağlıdır (Helen, Matthews & de Bruin, 2022).

Hücre Çoğalması ve Apoptozun Terapötik Hedefteki Yeri

Düzensiz çoğalma ve apoptozun inhibisyonu tüm tümör gelişiminin merkezinde yer aldığından, tüm kanserlerde terapötik müdahale için iki belirgin hedef sunarlar. Açıkça, bu iki kusurun meydana gelebileceği çok sayıda mekanizma vardır ve hedefli tedavinin başarısı büyük ölçüde bireysel tümörlerin moleküler parmak izlerine bağlı olacaktır.

Mevcut kanser ilaçlarının çoğu anti-mitotik olmasına rağmen, düzensiz tümör büyümesinden sorumlu spesifik lezyonları hedefleyerek değil, DNA sentezi ve hücre bölünmesinin temel mekanizmasına müdahale ederek etki ederler. Dahası, artık bu tür ajanların şaşırtıcı seçiciliğinin büyük ölçüde tümör hücrelerine onkojenik lezyonları tarafından sağlanan apoptoza karşı artan duyarlılıktan kaynaklandığını biliyoruz (Schmitt & Lowe, 1999). Büyümeyi düzensizleştiren lezyonları özel olarak engellemek için tasarlanmış ilaçlar şu anda klinik çalışmalarda test ediliyor ve bunlara RTK'lerin, Ras'ın, mitojen-aktive protein kinaz ve Akt yolu gibi sinyal kinazlarının ve CDK'ların inhibitörleri dahildir. İlk bakışta, kanserde büyümeyi düzensizleştiren lezyonların hedefli inhibisyonu, en iyi ihtimalle sitostatik olacağından, sınırlı bir terapötik etkinliğe sahip gibi görünebilir.

Belirli onkojenik lezyonların bir diğer doğrudan sonucu anjiyogenezdır. Hem aktive edilmiş Ras hem de düzensizleştirilmiş

Myc güçlü bir şekilde anjiyojeniktir ve bu da farmakolojik inhibisyonlarının tümör damar yapısının çöküşünü teşvik edebileceğini düşündürmektedir. Geri dönüşümlü bir Ras-bağımlı melanom fare modelinde, Ras'ın inaktivasyonu tümör damar yapısının hızlı bir şekilde gerilemesini tetikler ve buna tümörün eş zamanlı regresyonu da eşlik eder (Chin, 1999).

Myc, kısmen vasküler endotelial büyüme faktörünün (VEGF) indüksiyonu ve muhtemelen anjiyogenez negatif modülatörü trombospondin-1'in aşağı regülasyonu yoluyla, anjiyogenezi doğrudan indükler. Ve Ras model sisteminde görüldüğü gibi, cilt ve b hücrelerinin değiştirilebilir Myc transgenik modellerinde Myc'nin inaktivasyonu, tümör damar yapısının hızlı bir şekilde gerilemesine ve buna eşlik eden tümör involüsyonunun tetiklenmesine yol açar (Pelengaris & ark., 1999). Bu tür çalışmalar, hücrenin proliferatif mekanizmasının spesifik olarak hedeflenmesine dayanan terapiler fikrine teşvik sağlar. Ancak, anti-proliferatif terapötlere dikkatli yaklaşılmalıdır. Yukarıda belirtildiği gibi, büyümeyi düzenleyici mutasyonlar, bazıları kötü huylu durumu (çoğalma, anjiyogenez, farklılaşmanın baskılanması) artırmaya hizmet eden pleiotropik ve dokuya özgü etkileri tetiklerken, diğerleri (apoptoza duyarlılık) bunu baskılar. Kanseri tedavisi için ikinci belirgin strateji, tümör hücrelerinde apoptozu baskılayan lezyonları hedeflemektir. Büyümeyi düzenleyici mutasyonların güçlü proapoptotik etkileri, tümörlerin sürekli hayatta kalmaları için belirli antiapoptotik mutasyona bağımlı oldukları anlamına gelir. Bu nedenle, tümör hücrelerindeki apoptozis, hayatta kalmalarını sağlayacak kritik eşiğin altına yeterince bastırılsa da, apoptoza karşı akut olarak duyarlı kalırlar. Kanserin çoğunda, hatta hepsinde, bu hayatta

kalma yeteneği kısmen p53 yolunun inhibisyonundan kaynaklanır; bu, p53'ün kendisindeki mutasyonları inaktive ederek, p53'ün strese yanıt olarak aktivasyonuna izin veren sinyal yollarının bozulmasıyla gerçekleşir. P53 fonksiyonunun yeniden tanıtılması, birçok tümör hücresinde apoptozu indüklemek için yeterlidir ve p53'ü yeniden aktive etmek için çeşitli mekanizmalar terapötik stratejiler olarak düşünölmektedir. Hem kanser gelişiminde hem de geleneksel kanser tedavilerine karşı direnç edinilmesinde önemli olan Bcl-2 proteinleri gibi apoptotik yolların doğrudan katılımcıları, tümör hücresinin p53 durumuna kayıtsız olabilecek ilaçların geliştirilmesi için daha fazla hedef sağlar (Huang, Li & Karparkin, 2000).

Birçok geleneksel kemoterapi önemli toksisiteye neden olur. Bu DNA hasarı kaynaklı toksisite kısmen p53 aracılığıyla gerçekleşir ve bu normal dokularda p53 inhibisyonunun ilaç kaynaklı toksisiteye karşı koruma sağlayabileceği ve böylece geleneksel kanser tedavilerinin toleransını artırabileceği önerisine yol açar. Ancak, tümör hücresi büyümesinden sorumlu spesifik lezyonları hedef alan ilaçların geliştirilmesinde bu yaklaşımların geleneksel tedavilere göre tümör hücresi öldürme konusunda önemli ölçüde daha fazla özğüllük göstereceği öngörüsüdür.

Cdk2 antagonistleri hücre döngüsü ilerlemesini önlemek için işlev görür, DNA sentezinin tamamlanmasında E2F1'in normal fosforilasyonunu ve inaktivasyonunu önler. Sonuç, muhtemelen tümör hücrelerinin pRB yolunun bozulmasıyla zaten sürdürölen E2F aktivitesinin daha fazla düzensizleşmesine tahammöl edememesinden kaynaklanan tümöre özğü apoptozdur. Normal ve tümör hücreleri arasındaki bu farkın gerçekten anlamlı bir şekilde var olup olmadığı ve kanserleri tedavi etmek için yeni ilaçların

geliştirilmesinde bundan tam olarak yararlanıp yararlanamayacağımız, şu anda karşı karşıya olduğumuz sorular ve zorluklardır. Açıkça, tüm tümör tedavisi biçimleri, çoğu kanser türünde olmasa da çoğunda bulunan genomik esneklik tarafından daha da kötüleştirilebilen bir sorun olan direnç seçimi tehlikesini beraberinde getirir. Bu soruna en etkili çözüm, neredeyse kesinlikle, şu anda kullanılan standart kombine kemoterapilerin çok daha gelişmiş bir versiyonunda, bireysel tümörlere özgü birden fazla lezyona aynı anda saldırmaktır (Evan & Vousden, 2001; Chen & ark., 1993).

Kanser Tedavisinde Hücre Döngüsünün Yeri

Hücre döngüsünü ve özellikle antikanser tedavisinde CDK'ları hedeflemenin gerekçesi, insan malignitesindeki bozulmalarının sıklığına ve CDK inhibisyonu ile hücre döngüsünün durdurulmasının apoptozu indükleyebileceği gözlemine dayanmaktadır. Tümör baskılayıcı genlerin ve onkogenlerin çoğu, hücre döngüsü girişi ve çıkışı dahil olmak üzere çeşitli hücre işlevleri kontrol eden sinyal iletim yollarının bileşenleridir (Buckley & ark., 1993). Sağlıklı hücrelerin aksine, tümör hücreleri kontrol noktası bütünlüğünün kaybı nedeniyle hücre döngüsünün önceden belirlenmiş noktalarında duramazlar. Bu, kritik CDKI'lerin inaktivasyonundan veya siklinlerin aşırı ekspresyonundan kaynaklanabilir. Örneğin, p16, promotör bölgesinin hipermetilasyonu ile epigenetik susturulmaya karşı özellikle hassas olan bir INK4 genidir ve bu da transkripsiyonun inhibisyonuna ve gen ekspresyonunun kaybına neden olur. Bu gerçekleştiğinde kontrolsüz çoğalma meydana gelebilir. Buna göre, p16 fonksiyonunun kaybı melanom, akciğer, meme ve kolorektal

tümörler dahil olmak üzere çok sayıda malignite ile ilişkilendirilmiştir. Benzer şekilde, siklin D1'in aşırı ekspresyonu meme kanserinin gelişimi ve ilerlemesi ile ilişkilendirilmiştir. denle, CDK'ları hedeflemek, bir tümör hücresinin döngüye girme yeteneğini zorunlu olarak sınırlayacak olan hücre döngüsü kontrol noktalarını tekrarlayacaktır ve bu da apoptozisin indüklenmesini kolaylaştırabilir (Chen & ark., 1999; Buckley & ark., 1993).

Son zamanlarda, dikkat bu ilaçlara transkripsiyon inhibitörleri olarak kaymıştır. Transkripsiyon, RNA polimeraz II (RNA pol II) dahil olmak üzere üç farklı RNA polimerazı tarafından gerçekleştirilir. RNA pol II'nin C-terminal alanındaki (CTD) fosforilyonu, transkripsiyondaki işlevini etkiler (Oelgeschlager, 2002). Bu fosforilasyondan sorumlu protein kinazları arasında CDK'ler -1, -7, -8 ve -9 bulunur. Özellikle siklin T-CDK9 (p-TEFb), etkili transkripsiyonel uzamayı kontrol etmek için RNA pol II'nin CTD'sini fosforile eder. Siklin B-CDK1 ve siklin C-CDK8 ayrıca RNA pol II'nin CTD'sini fosforile eder ve bu da mitoz sırasında mRNA üretiminin baskılanması ve transkripsiyonu başlatmak için gereken protein faktörlerinin inhibisyonuyla sonuçlanır (Kobor & Greenblatt, 2002).

Schiff Bazı

Schiff bazları, aldehitler veya ketonlar (daha genel karbonil bileşikleri) ile birincil aminler (daha genel amonyak türevleri) arasında asit katalizli bir işlemde bir yoğunlaşma reaksiyonu ile elde edilen bir imin fonksiyonel grubu içeren organik bileşiklerdir. Bu bileşikler, orijinal reaksiyonu keşfeden Alman-İtalyan kimyager Hugo Schiff'in adını almıştır. Schiff bazları ayrıca azometinler

olarak da adlandırılır ve hazırlanmalarının ve tıp, eczacılık, kimya ve gıda endüstrisinde uygulanmalarının kolaylığı nedeniyle "imtiyazlı ligandlar" olarak kabul edilir (More & ark., 2019).

Metal Komplekslerde Ligand Olarak Schiff Bazı

Azot, oksijen veya kükürt gibi donör atomları içeren organik bileşiklerin geçiş metallerine bağlanarak metal komplekslerinin oluşumuna yol açabildiği iyi bilinmektedir. Ayrıca, birden fazla donör atomu içeren ligandlar bidentat, tridentat olarak tanımlanır. Bu tür ligandlar metal koordinasyonu üzerine 5 veya 6 üyeli halkalar oluşturduğunda, çok yüksek stabiliteye sahip şelat kompleksleri oluşur. İlgili aldehitler veya ketonlar kullanıldığında, Schiff baz grubuna ek donör atomlar sokulabilir (Allen, 2002). Örneğin, piridin gibi N-heterosikllere dayalı karbonil bileşiklerinden elde edilen Schiff bazları bidentat ligandlar olarak hareket edebilir. Özellikle, Schiff baz yan kolunun α pozisyonunda olduğu (piridin azot atomuna göre) N-heteroaromatik Schiff bazları, sıklıkla 5 üyeli şelat halkaları oluşturmak için kullanılır. Ek donör atomlar, örneğin kükürt içeren tiyosemikarbazit kullanılarak, N,N,S-tridentat ligandlar olarak hareket eden α -N-heterosiklik tiyosemikarbazonlar (α -Nhtscs) oluşturularak tanıtılabilir (Shakya & Yadav, 2020). Schiff bazları, farklı oksidasyon durumlarında ve koordinasyon sayılarında çoğu d-blok metali ve lantanitlerle kompleksler oluşturma yeteneğine sahiptir . Metal kompleksler, benzersiz kimyasal ve biyolojik özelliklerle sonuçlanan çok çeşitli koordinasyon sayıları ve geometrileri sergiler . Metalin varlığı nedeniyle, saf organik bileşiklerin aksine çeşitli ikame, katalitik ve redoks reaksiyonları erişilebilirdir. Şekil ve kimyasal reaktivitelerdeki farklılıklar, klasik organik bileşiklere

yaklaşıl原因an çeşitli biyolojik etki biçimlerine yol açar. Metal kompleksleri, biyolojik aktivitelerini enzimlerin inhibisyonu veya substrat ve metabolit taklitleri yoluyla uygulayabilirler. Ayrıca, genellikle, kararsız ligand(lar)ın ayrışması veya yer değiştirmesi, şelat halkası açılması, ligand veya metal oksidasyonu/indirgenmesi ve elektromanyetik radyasyon, ses veya ısı gibi dış uyarınlar yoluyla hedef bölgeye giderken veya hedef bölgede aktive olan n ilaçlar olarak hareket ederler. Son olarak, organik bileşiklerin aksine, bazı metal kompleksleri radyoaktivite ve paramanyetizma (eşleştirilmemiş değerlik elektronlarının bir sonucu olarak) gibi benzersiz özellikler de gösterir ve bu da çeşitli hastalıkların teşhisinde uygulanmalarına olanak tanır (Podolski-Reni & ark., 2024).

Metal kompleksleri yaklaşık 50 yıldır kanser tedavisinde kullanılmaktadır ve klinik olarak kullanılan komplekslerin sayısı hala artmaktadır. Onaylanan ilk kompleks 1978'de sisplatindi. O zamandan beri, altı diğer platin bazlı kompleks (oxaliplatin, karboplatin, nedaplatin, heptaplatin, lobaplatin ve miriplatin) belirli ülkelerde veya dünya çapında kanser tedavisi için onay aldı. 2001'de, ilk platin olmayan kompleks Rusya'da kanser tedavisi için foto-aktifleştirilebilir alüminyum kompleksi Photosens onaylandı. AB, 2017'de foto-aktifleştirilebilir paladyum kompleksi Tookad'ı prostat kanseri tedavisi için onayladı. Son olarak, 2018'de, lutesyum kompleksi Lutathera® ile ilk radyoaktivite bazlı metal kompleksi onaylandı. şu anda, rutenyum ve altın gibi diğer metallerle kompleksler de kanser klinik deneylerindedir. Bu bileşiklerin DNA'dan farklı hedefleri vardır (Markovi'c & ark., 2022).

Schiff Bazlarının ve Metal Komplekslerinin Onaylı İlaçları Ve Biyolojik Aktivitesi

Birkaç Schiff bazı, bakteri, virüs, mantar veya parazitlerin neden olduğu çok sayıda hastalığın tedavisi ve çeşitli nörolojik, kardiyovasküler ve gastrointestinal rahatsızlıklar için kullanılmaktadır. Bileşiklerin çoğu nöronal hastalıklar, antibiyotikler, antitüberküloz ilaçlar veya kardiyovasküler rahatsızlıkların tedavisi için kullanılır. Tek antiviral tedavi, aşılamanın bu hastalığı ortadan kaldırmasından önce kullanılan, çiçek hastalığına karşı profilaktik bir antiviral ajan olan isatin β -tiyosemikarbazon türevi Methisazone'dur. Bu ilacın ayrıca anti-COVID-19 aktivitesine sahip olabileceğine dair ön sonuçlar vardır. Teknesyum Tc-99 m Schiff baz kompleksi ekzametazim, bir görüntüleme ajanı olarak onaylandı ve felçte değişen bölgesel serebral perfüzyonun tespitinde sintigrafi için bir yardımcı madde olarak kullanıldı (160, Shah, Modi & Sagar, 2020).

Schiff Bazlarının ve Metal Komplekslerinin Antikanser Potansiyeli

Birçok Schiff bazının önemli antikanser aktivitesi vardır, bu aktivite çeşitli metallerle kompleks oluşturarak daha da artırılabilir (Verma & ark., 2014). Bu açıdan en iyi çalışılmış kompleksler platin, altın, paladyum, gümüş, rutenyum, iridyum gibi asil metaller içeren bileşiklerdir, ancak ayrıca vanadyum , kobalt , bakır, çinko, galyum ve çeşitli lantanitler gibi diğer metalleri de içerir. Schiff bazları ve kompleksleri topoizomera I ve II, poli (ADP-riboz) polimeraz 1 (PARP-1), histon asetiltransferaz paralogları p300/CBP ilişkili faktör (PCAF), siklooksijenaz 2 (COX-2), aromataz, proteazom, TrxR, protein disülfür izomera (PDI'ler), ribonükleotid redüktaz

(RR), karbonik anhidraz IX (CA IX) ve insülin benzeri büyüme faktörü 1 reseptörü gibi farklı kanser ilişkili proteinleri ve enzimleri hedefler. Ek olarak, Schiff baz metal kompleksleri DNA'ya kovalent olarak bağlanır veya hidrolitik/oksidatif parçalanmasına neden olur (Podolski-Reni & ark., 2024). Ayrıca DNA dizileriyle etkileşime girerler. Ayrıca, RNA'nın oksidatif parçalanmasını stimüle eden veya tRNA oluşuyla etkileşime giren schiff baz metal kompleksleri bilinmektedir. Dahası, Schiff bazları ve metal kompleksleri, GSH'ye müdahale ederek ROS üretimi ve NADH oksidasyonu yoluyla redoks homeostazını hedefler. Ek olarak, bu bileşikler lizozomlar, çekirdekler, mitokondri, ER veya mikrotübüller gibi hücre organellerini seçici olarak hedefleyebilir (Pen & ark., 2021. Acharya & ark., 2021; Shen & ark., 2022; Shao & ark., 2021).

Gama-sekretaz aracılı Notch sinyalleşmesinin seçici (oral olarak aktif) inhibitörü BMS-986115'tir. Ancak, bu ilaç adayı gastrointestinal toksisite riski taşıdığı için ve çalışma güvenlik dışı bir neden, iş hedeflerindeki değişiklikler nedeniyle sonlandırıldı. MLN8054 ve MLN8237 (Alisertib olarak da bilinir) seçici aurora A kinaz inhibitörleridir. MLN8054 yalnızca faz I'de değerlendirilirken, Alisertib faz III'e kadar çalışıldı. Ancak, sonuçlar ilacın periferik T hücreli lenfoma için standart bakıma göre üstün ilerlemesiz sağkalım birincil son noktasını karşılamasının muhtemel olmadığını gösterdiğinden, sonunda ilaç geliştirme büyük ölçüde durduruldu. Dikkat çekici bir şekilde, N,N,O donör setine sahip türevler çok daha az aktiftir, bu da kükürt yerine oksijenle şelasyonun redoks potansiyelini kaydırarak temel redoks döngüsü süreçlerini engellemesiyle açıklanabilir (Parrilha & ark., 2022). Triapin, örneğin demir bağımlı enzim RR'nin inhibisyonu yoluyla kanser

hücrelerinin güçlü demir bağımlılığını hedeflemek için geliştirilmiştir. Umut verici klinik öncesi sonuçlarına dayanarak, Triapin daha sonra 35'ten fazla klinik faz I ve II denemesinde tek başına veya diğer ilaçlarla kombinasyon halinde yoğun bir şekilde incelenmiştir. Şu anda, Triapinin radyasyon tedavisi ve Cisplatin ile kombinasyonu klinik bir faz III çalışmasında değerlendirilmektedir. Bis(tiyosemikarbazon)ligandı ATSM ile bir bakır(II) kompleksi olan CuATSM, kanser hastalarında pozitron emisyon tomografisi (PET) görüntüleme ajanı olarak incelenmiştir. Ligand H₂ATSM, tanı ajanları ve terapötik radyofarmasötikler olarak kapsamlı bir şekilde incelenen, yüksek oranda kararlı kompleksler oluşturan bakır radyoizotoplarına karşı N₂S₂ şelatlayıcısı olarak etki eder. Ek olarak, bis(tiyosemikarbazon) ligandları ile bakır(II) kompleksleri kemoterapötik özellikler gösterir (Bormio Nunes & ark., 2020).

REFERANSLAR

Acharya, S. Maji, M. Chakraborty, M.P. Bhattacharya, I. Das, R. Gupta, A. Mukherjee, A. (2021). Disruption of the microtubule network and inhibition of VEGFR2 phosphorylation by cytotoxic N,O- coordinated Pt(II) and Ru(II) complexes of trimethoxy aniline-based schiff bases. *Inorg. Chem*, 60, 3418–3430. Doi: 10.1021/acs.inorgchem.0c03820.

Ardizzoni, A. Boni, L. Tiseo, M. et al. (2007). Cisplatin-versus carboplatin-based chemotherapy in first-line treatment of advanced non-small-cell lung cancer: an individual patient data meta-analysis. *J Natl Cancer Inst*, 99, 847-57. Doi: 10.1093/jnci/djk196.

Antonia, S.J. Villegas, A. Daniel, D. et al. (2018). Overall Survival with Durvalumab after Chemoradiotherapy in Stage III KHDAA. *The New England journal of medicine*, 379(24), 2342-2350. Doi: 10.1056/NEJMoa1809697.

Adrain, C. and Martin, S. J. (2001). The mitochondrial apoptosome: a killer unleashed by the cytochrome seas. *Trends Biochem Sci*, 26, 390. Doi: 10.1016/S0968-0004(01)01844-8.

Adams, J. M. and Cory, S. (2007). The Bcl-2 apoptotic switch in cancer development and therapy. *Oncogene*, 26, 1324–37.

Allen, F.H. (2002). The Cambridge Structural Database: a quarter of a million crystal structures and rising. *Acta Crystallogr. B*, 58, 380–388, Doi: 10.1107/S0108768102003890.

Ashkenazi, A. and Salvesen, G. (2014). Regulated Cell Death: Signaling and Mechanisms. *Annual Review of Cell and*

Developmental Biology, 30, 337-356. Doi: [10.1146/annurev-cellbio-100913-013226](https://doi.org/10.1146/annurev-cellbio-100913-013226).

Barker, N. (2014). Adult intestinal stem cells: critical drivers of epithelial homeostasis and regeneration. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 15, 19-33. Doi:10.1038/nrm3721.

[Bychkov, A. \(2022\). Pathology outlines - WHO classification.](https://www.pathologyoutlines.com/topic/lungtumorWHO.html)
<https://www.pathologyoutlines.com/topic/lungtumorWHO.html>.

Billingham, L.J. Cullen, M.H. (2001). The benefits of chemotherapy in patient subgroups with unresectable non-small-cell lung cancer. *Ann Oncol*, 12, 1671-5. Doi: [10.1023/a:1013582618920](https://doi.org/10.1023/a:1013582618920).

Buckley, M. Sweeney, K.J. Hamilton, J.A. et al, (1993). Expression and amplification of cyclin genes in human breast cancer. *Oncogene*, 8, 2127-2133.

Burdon, T. Smith, A. & Savatier, P. (2002). Signalling, cell cycle and pluripotency in embryonic stem cells. *Trends Cell Biol*, 12, 432–438. Doi: [10.1016/s0962-8924\(02\)02352-8](https://doi.org/10.1016/s0962-8924(02)02352-8).

Bodor, J.N. Bumber, Y. Borghaei, H. (2020). Biomarkers for immune checkpoint inhibition in non-small cell lung cancer (KHDAC). *Cancer*, 126(2), 260-270. Doi: 10.1002/cncr.32468.

Boch, C. Kollmeier, J. Roth, A. et al. (2013). The frequency of EGFR and KRAS mutations in non-small cell lung cancer (KHDAC): routine screening data for central Europe from a cohort study. *BMJ open*, 3(4). Doi: 10.1136/bmjopen-2013-002560.

Bray, F. Dahl, T. van Dijk, T. Selmer, R. (2007). Cancer Registry of Norway. Cancer in Norway 2006 - Cancer incidence,

mortality, survival and prevalence in Norway. *Oslo: Cancer Registry of Norway*, Doi: [10.5324/nje.v30i1-2.4985](https://doi.org/10.5324/nje.v30i1-2.4985).

Bormio Nunes, J.H. Hager, S. Mathuber, M. Posa, V. Roller, A. ' Enyedy, E.A. Stefanelli, A. Berger, W. Keppler, B.K. Heffeter, P. Kowol, C.R. (2020). Cancer cell resistance against the clinically investigated thiosemicarbazone COTI-2 is based on formation of intracellular copper complex glutathione adducts and ABCC1-mediated efflux, *J. Med. Chem*, 63, 13719–13732, Doi: [10.1021/acs.jmedchem.0c01277](https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.0c01277).

Cancer Statistics. (2022). <https://seer.cancer.gov/statistics/>.

Chen, Y. N. et al. (1999). Selective killing of transformed cells by cyclin/cyclin-dependent kinase 2 antagonists. *Proc. Natl Acad. Sci.* 96, 4325–4329. Doi: [10.1073/pnas.96.8.4325](https://doi.org/10.1073/pnas.96.8.4325).

Carrot-Zhang, J. Soca-Chafre, G. Patterson, N. et al. (2021). Genetic ancestry contributes to somatic mutations in lung cancers from admixed Latin American populations. *Cancer Discov*, 11(3), 591e598. Doi: [10.1158/2159-8290.CD-20-1165](https://doi.org/10.1158/2159-8290.CD-20-1165).

Chin, L. et al. (1999). Essential role for oncogenic Ras in tumour maintenance. *Nature*, 400, 468–472. Doi: [10.1038/22788](https://doi.org/10.1038/22788).

Czabotar, P. E. Lessene, G. Strasser, A. and Adams, J. M. (2014). Control of apoptosis by the BCL-2 protein family: implications for physiology and therapy. *Nature reviews. Molecular cell biology*, 15, 49–63. Doi:[10.1038/nrm3722](https://doi.org/10.1038/nrm3722).

Cotran, R. S., Kumar, V., & Collins, T. (1999). Robbins Pathologic Basis of Disease (6th ed.). *Philadelphia, PA: W.B. Saunders Company*.

Chipuk, J.E. Moldoveanu, T. Llambi, F. Parsons, M.J. and Green, D.R. (2010). The BCL-2 Family Reunion. *Molecular Cell*, 37, 299-310. Doi: [10.1016/j.molcel.2010.01.025](https://doi.org/10.1016/j.molcel.2010.01.025).

Cooke, Vesselina G., et al., (2012). Pericyte Depletion Results in Hypoxia-Associated Epithelial-to-Mesenchymal Transition and Metastasis Mediated by Met Signaling Pathway. *Cancer Cell*, 21(1), 66-81. doi: [10.1016/j.ccr.2011.11.024](https://doi.org/10.1016/j.ccr.2011.11.024).

Clinical guidelines 24 Lung cancer. The diagnosis and treatment of lung cancer. 2005. National Institute for Clinical Excellence. Ref Type: Report

Degterev, A. Hitomi, J. Gemsch, M. Chen, I.L. Korkina, O. Teng, X. Abbott, D. Cuny, G.D. Yuan, C. Wagner, G. et al. (2008). Identification of RIP1 kinase as a specific cellular target of necrostatins. *Nat Chem Biol*, 4, 313-321. Doi: [10.1038/nchembio.83](https://doi.org/10.1038/nchembio.83).

Dearden, S. Stevens, J. Wu, Y.L. et al. (2013). Mutation incidence and coincidence in non small-cell lung cancer: meta-analyses by ethnicity and histology (mut- Map). *Ann Oncol*, 24(9), 2371-6. Doi: [10.1093/annonc/mdt205](https://doi.org/10.1093/annonc/mdt205).

Dasari, S.R. et al., (2015). Preclinical assessment of low doses of cisplatin in the management of acute promyelocytic leukemia. *Int. J. Cancer Res. Mol. Mech*, 1, 3. Doi: [10.16966/2381-3318.113](https://doi.org/10.16966/2381-3318.113).

Dogan, S. Shen, R. Ang, D.C. et al. (2012). Molecular epidemiology of EGFR and KRAS mutations in 3, 026 lung adenocarcinomas: higher susceptibility of women to smoking-related KRAS mutant cancers. *Clin Cancer Res*, 18(22), 6169e6177. Doi: [10.1158/1078-0432.CCR-11-3265](https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-11-3265).

Evan, G.I. Vousden K. H. 2001. Proliferation, cell cycle and apoptosis in cancer. *NATURE*, 411, 342-348.

Eltzschig, H.K. Carmeliet, P. (2011). Hypoxia and Inflammation. *New England Journal of Medicine*, 364(7), 656-665. Doi: 10.1056/NEJMra0910283.

Fennell, D. et al., (2016). Cisplatin in the modern era: The backbone of first-line chemotherapy for non-small cell lung cancer. *Cancer Treat. Rev*, 44, 42–50. Doi: [10.1016/j.ctrv.2016.01.003](https://doi.org/10.1016/j.ctrv.2016.01.003).

Garzillo, C. Pugliese, M. Loffredo, F. et al. (2017). Indoor radon exposure and lung cancer risk: a meta-analysis of case-control studies. *Transl Cancer Res*, 6(5), S934eS943. Doi: 10.21037/tcr.2017.

Gainor JF, Dardaei L, Yoda S, et al. (2016). Molecular Mechanisms of Resistance to First- and Second-Generation ALK Inhibitors in ALK-Rearranged Lung Cancer. *Cancer Discov*, 6(10), 1118-1133. Doi: 10.1158/2159-8290.Cd16-0596.

Lung cancer risk factors smoking & lung cancer. (2022). <https://www.cancer.org/cancer/lungcancer/causes-risks-prevention/risk-factors.html>.

Goldstraw, P. Chansky, K. Crowley, J. et al. (2016). The IASLC Lung Cancer Staging Project: Proposals for Revision of the TNM Stage Groupings in the Forthcoming (Eighth) Edition of the TNM Classification for Lung Cancer. *Journal of thoracic oncology : official publication of the International Association for the Study of Lung Cancer*, 11(1), 39-51. Doi: 10.1016/j.jtho.2015.09.009.

Gonzalez, V.M. et al., (2001). Is cisplatin-induced cell death always produced by apoptosis? *Mol. Pharmacol*, 59 (4), 657–663. Doi: [10.1124/mol.59.4.657](https://doi.org/10.1124/mol.59.4.657).

Herna'ndez-Ramí' rez, R.U. Shiels, M.S. Dubrow, R. et al. (2017). Cancer risk in HIV-infected people in the USA from 1996 to 2012: a population-based, registry-linkage study. *Lancet HIV*, 4(11), e495ee504. Doi:[10.1016/S2352-3018\(17\)30125-X](https://doi.org/10.1016/S2352-3018(17)30125-X).

Huang, Y. Q. Li, J. J. Karparkin, S. (2000). Thrombin inhibits tumor cell growth in association with upregulation of p21(waf/cip1) and caspases via a p53-independent, STAT-1-dependent pathway. *J. Biol. Chem*, 275, 6462–6468. Doi: [10.1074/jbc.275.9.6462](https://doi.org/10.1074/jbc.275.9.6462).

Huang, D. C. and Strasser, A. (2000). BH3-Only proteins-essential initiators of apoptotic cell death. *Cell*, 103, 839. Doi: [10.1016/s0092-8674\(00\)00187-2](https://doi.org/10.1016/s0092-8674(00)00187-2).

Holler, N. Zaru, R. Micheau, O. Thome, M. Attinger, A. Valitutti, S. Bodmer, J.-L. Schneider, P. Seed, B. and Tschopp, J. (2000). Fas triggers an alternative, caspase-8-independent cell death pathway using the kinase RIP as effector molecule. *Nature immunology*, 1, 489-495.

Hanahan, D. and Weinberg, R. A. (2011). Hallmarks of Cancer: The Next Generation. *Cell*, 144, 646-674. DOI: [10.1016/j.cell.2011.02.013](https://doi.org/10.1016/j.cell.2011.02.013).

Hanahan, D. Weinberg, R. A. (2011). Hallmarks of cancer: The next generation. *Cell*, 144, 646–674.

Helen, K. Matthews, C. B. and de Bruin, R. A. M. (2022). Cell cycle control in cancer. *MoleCulAR Cell Biology*, 23, 74-88. Doi: [10.1038/s41580-021-00404-3](https://doi.org/10.1038/s41580-021-00404-3).

Helland, Å. Skaug, H.M. Kleinberg, L. et al. (2011). EGFR gene alterations in a norwegian cohort of lung cancer patients selected for surgery. *J. Thorac. Oncol*, 6(5), 947–950. Doi: [10.1097/JTO.0b013e31820db209](https://doi.org/10.1097/JTO.0b013e31820db209).

Hotta, K. Matsuo, K. Ueoka, H. et al. (2004). Addition of platinum compounds to a new agent in patients with advanced non-small-cell lung cancer: a literature based meta-analysis of randomised trials. *Ann Oncol*, 15, 1782-9. Doi: [10.1093/annonc/mdh476](https://doi.org/10.1093/annonc/mdh476).

Hotta, K. Matsuo, K. Ueoka. H. et al. (2004). Meta-analysis of randomized clinical trials comparing Cisplatin to Carboplatin in patients with advanced non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol*, 22, 3852-9. Doi: [10.1200/JCO.2004.02.109](https://doi.org/10.1200/JCO.2004.02.109).

Hopwood, P. Stephens, R.J. (1995). Symptoms at presentation for treatment in patients with lung cancer: implications for the evaluation of palliative treatment. *Br J Cancer*, 71, 633-6. Doi: [10.1038/bjc.1995.124](https://doi.org/10.1038/bjc.1995.124).

Hirsch, F.R. Scagliotti, G.V. Mulshine, J.L. et al. (2017). Lung cancer: current therapies and new targeted treatments. *Lancet* (London, England), 389(10066), 299-311. Doi: [10.1016/s0140-6736\(16\)30958-8](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(16)30958-8).

Hecht, S.S. 2002. Cigarette smoking and lung cancer: chemical mechanisms and approaches to prevention. *Lancet Oncol*, 3, 461-9.

Huang, T. Zhang, H. Zhao, Y. et al. (2021). Systemic immune-inflammation index changes predict outcome in stage III non-small-cell lung cancer patients treated with concurrent chemoradiotherapy. *Future oncology* (London, England), 2141-2149. Doi: [10.2217/fon-2020-1272](https://doi.org/10.2217/fon-2020-1272).

Icard, P. Fournel, L. Wu, Z. Alifano, M. & Lincet, H. 2019. Interconnection between metabolism and cell cycle in cancer. *Trends Biochem. Sci*, 44, 490–501. Doi: [10.1016/j.tibs.2018.12.007](https://doi.org/10.1016/j.tibs.2018.12.007).

Irmiler, M. Thome, M. Hahne, M. Schneider, P. Hofmann, K. Steiner, V. Bodmer, J. L. Schroter, M. Burns, K. Mattmann, C. et al. (1997). Inhibition of death receptor signals by cellular FLIP. *Nature*, 388, 190-195. DOI: [10.1038/40657](https://doi.org/10.1038/40657).

Ishizaki, Y. Jacobson, M.D. and Raff, M.C. (1998). A Role for Caspases in Lens Fiber Differentiation. *The Journal of Cell Biology*, 140, 153-158. doi: [10.1083/jcb.140.1.153](https://doi.org/10.1083/jcb.140.1.153).

Jacob, J.B. Jacob, M.K. Parajuli, P. (2021). Review of immune checkpoint inhibitors in immuno-oncology. *Advances in pharmacology* (San Diego, Calif), 91:111-139. Doi: [10.1016/bs.apha.2021.01.002](https://doi.org/10.1016/bs.apha.2021.01.002).

Jiang, X. and Wang, X. (2004). Cytochrome C-Mediated Apoptosis. *Annual Review of Biochemistry*, 73, 87-106. Doi: [10.1146/annurev.biochem.73.011303.073706](https://doi.org/10.1146/annurev.biochem.73.011303.073706).

Jeong, H.G. et al., (2002). Rac1 prevents cisplatin-induced apoptosis through downregulation of p38 activation in NIH3T3 cells. *FEBS Lett*, 518 (1-3), 129–134. Doi: [10.1016/S0014-5793\(02\)02674-1](https://doi.org/10.1016/S0014-5793(02)02674-1).

Kamangar, F. Dores, G.M. Anderson, W.F. (2006). Patterns of cancer incidence, mortality, and prevalence across five continents: defining priorities to reduce cancer disparities in different geographic regions of the world. *J Clin Oncol*, 24, 2137-50. Doi: [10.1200/JCO.2005.05.2308](https://doi.org/10.1200/JCO.2005.05.2308).

Kim, A.S. Ko, H.J. Kwon, J.H. et al. (2018). Exposure to secondhand smoke and risk of cancer in never smokers: a meta-analysis of epidemiologic studies. *Int J Environ Res Publ Health*, 15(9), 1981. Doi: [10.3390/ijerph15091981](https://doi.org/10.3390/ijerph15091981).

Kerr, J.F.R. Wyllie, A.H. and Currie, A.R. (1972). Apoptosis: A Basic Biological Phenomenon with Wide-ranging Implications in Tissue Kinetics. *British Journal of Cancer*, 26, 239-257. DOI: [10.1038/bjc.1972.33](https://doi.org/10.1038/bjc.1972.33).

Kumar, S. Tchounwou, P.B. (2015). Molecular mechanisms of cisplatin cytotoxicity in acute promyelocytic leukemia cells. *Oncotarget*, 6 (38), 40734. Doi: [10.18632/oncotarget.5754](https://doi.org/10.18632/oncotarget.5754).

Kobor, M. Greenblatt, J. (2002). Regulation of transcription elongation by phosphorylation. *Biochim Biophys Acta*, 13, 261-275. Doi: [10.1016/S0167-4781\(02\)00457-8](https://doi.org/10.1016/S0167-4781(02)00457-8).

Karnofsky, D.A. (1948). The use of nitrogen mustards in the palliative treatment of carcinoma: with particular reference to

broncogenic carcinoma. *Cancer*, 1(4), 634-656. Doi: 10.1002/1097-0142(194811).

Koh, Y. Kim, D.W. Kim, T.M. et al. (2011). Clinicopathologic characteristics and outcomes of patients with anaplastic lymphoma kinase-positive advanced pulmonary adenocarcinoma: suggestion for an effective screening strategy for these tumors. *J Thorac Oncol*, 6:905-12. Doi: 10.1097/JTO.0b013e3182111461.

Kops, G. J. P. L. Foltz, D. R. Cleveland, D. W. (2004). Lethality to human cancer cells through massive chromosome loss by inhibition of the mitotic checkpoint. *Proc. Natl Acad. Sci*, 101, 8699–8704. Doi: [10.1073/pnas.0401142101](https://doi.org/10.1073/pnas.0401142101).

Labi, V. and M. Erlacher. (2015). How cell death shapes cancer. *Cell death & disease*, 6, e1675. Doi: [10.1038/cddis.2015.20](https://doi.org/10.1038/cddis.2015.20).

Lawrence, M.S. Stojanov, P. Polak, P. et al. (2013). Mutational heterogeneity in cancer and the search for new cancer genes. *Nature*, 499(7457), 214–218. Doi: 10.1038/nature12213.

Lockshin, R.A. and Williams, C.M. (1964). Programmed cell death—II. Endocrine potentiation of the breakdown of the intersegmental muscles of silkworms. *Journal of Insect Physiology* 10, 643-649. 10.1016/0022-1910(64)90034-4.

Levin, S. Bucci, T.J. Cohen, S.M. Fix, A.S. Hardisty, J.F. LeGrand, E.K. Maronpot, R.R. Trump, B.F. (1999). The nomenclature of cell death: recommendations of an ad hoc Committee of the Society of Toxicologic Pathologists. *Toxicol Pathol*, 27, 484–90. Doi: [10.1177/019262339902700419](https://doi.org/10.1177/019262339902700419).

Leonard Nevaşil Characterization and regulation of TRAIL-induced apoptosis of tumor cells CHARLES UNIVERSITY IN PRAGUE 2007.

Li, H. Zhu, H. Xu, C. j. and Yuan, J. (1998). Cleavage of BID by Caspase 8 Mediates the Mitochondrial Damage in the Fas Pathway of Apoptosis. *Cell*, 94, 491-501. Cleavage of BID by caspase 8 mediates the mitochondrial damage in the Fas pathway of apoptosis 94(4):491-501. doi: 10.1016/s0092-8674(00)81590-1.

Llambi, F. Wang, Y.-M. Victor, B. Yang, M. Schneider, Desiree M. Gingras, S. Parsons, Melissa J. Zheng, Janet H. Brown, Scott A. Pelletier, S. et al. (2016). BOK Is a Non-canonical BCL-2 Family Effector of Apoptosis Regulated by ERAssociated Degradation. *Cell*, 165(2):421-33 DOI: [10.1016/j.cell.2016.02.026](https://doi.org/10.1016/j.cell.2016.02.026).

Li, P. Nijhawan, D. Budihardjo, I. Srinivasula, S.M. Ahmad, M. Alnemri, E.S. and Wang, X. (1997). Cytochrome c and dATP-Dependent Formation of Apaf1/Caspase-9 Complex Initiates an Apoptotic Protease Cascade. *Cell*, 91, 479- 489. Doi: [10.1016/s0092-8674\(00\)80434-1](https://doi.org/10.1016/s0092-8674(00)80434-1).

Li, J. and Yuan, J. (2008). Caspases in apoptosis and beyond. *Oncogene*, 27, 6194-6206.

Lubin, J.H. Boice, J.D. (1997). Lung cancer risk from residential radon: meta-analysis of eight epidemiologic studies. *J Natl Cancer Inst*, 89(1), 49e57. Doi: [10.1093/jnci/89.1.49](https://doi.org/10.1093/jnci/89.1.49).

Lung cancer risk factors smoking & lung cancer. Accessed March 14,2022. <https://www.cancer.org/cancer/lungcancer/causes-risks-prevention/risk-factors.html>.

Leveque, D. Jehl, F. (1996). Clinical pharmacokinetics of vinorelbine. *Clin Pharmacokinet*, 31, 184-97. Doi: [10.2165/00003088-199631030-00003](https://doi.org/10.2165/00003088-199631030-00003).

Loeb, K.R. Loeb, L.A. (2020). Significance of multiple mutations in cancer. *Carcinogenesis*, 21(3), 379e385. Doi: [10.1093/carcin/21.3.379](https://doi.org/10.1093/carcin/21.3.379).

Loong, H.H. Du, N. Cheng, C. et al. (2020). KRAS G12C mutations in Asia: a landscape analysis of 11,951 Chinese tumor samples. *Translational lung cancer research*, 9(5), 1759-1769. Doi: [10.21037/tlcr-20-455](https://doi.org/10.21037/tlcr-20-455).

Melosky, B. Kambartel, K. Häntschel, M. et al. (2022). Worldwide Prevalence of Epidermal Growth Factor Receptor Mutations in Non-Small Cell Lung Cancer: A Meta-Analysis. *Molecular Diagnosis & Therapy*, 26(1), 7-18. Doi: [10.1007/s40291-021-00563-1](https://doi.org/10.1007/s40291-021-00563-1).

Malhotra, J, Malvezzi, M, Negri, E, et al. (2016). Risk factors for lung cancer worldwide. *Eur Respir J*, 48(3), e889ee902. Doi: [10.1183/13993003.00359-2016](https://doi.org/10.1183/13993003.00359-2016).

Markovi'c S.B. Natalia Maciejewska A.V. Olszewski M. Puerta, A. Padron, J. M. Novakovi'c, I. Koji'c, S. Fernandes, H.S. Sousa, S.F. Ramotowska, S. Chylewska, A. Makowski, M. Todorovi'c, T.R. Filipovi'c, N.R. (2022). Study of the anticancer potential of Cd complexes of selenazoyl-hydrazones and their sulfur isosters, *Eur. J. Med. Chem*, 238, 11449, Doi: [10.1016/j.ejmech.2022.114449](https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2022.114449).

Mathers, C.D. Loncar, D. (2006). Projections of global mortality and burden of disease from 2002 to 2030. *PLoS Med*, 3(11), e442. Doi: [10.1371/journal.pmed.0030442](https://doi.org/10.1371/journal.pmed.0030442).

Mattiuzzi, C. Lippi, G. (2019). Current cancer epidemiology. *J Epidemiol Glob Health*, 9(4), 217e222. Doi: [10.2991/jegh.k.191008.001](https://doi.org/10.2991/jegh.k.191008.001).

Matson, J. P. Cook, J. G. (2017). Cell cycle proliferation decisions: the impact of single cell analyses. *FEBS J*, 284, 362. Doi: [10.1111/febs.13898](https://doi.org/10.1111/febs.13898).

More, M.S. Joshi, P.G. Mishra, Y.K. Khanna, P.K. (2019). Metal complexes driven from Schiff bases and semicarbazones for biomedical and allied applications: a review, *Mater. Today Chem*, 14, 100195, Doi: [10.1016/j.mtchem.2019.100195](https://doi.org/10.1016/j.mtchem.2019.100195).

Millay, D.P. Sargent, M.A. Osinska, H. Baines, C.P. Barton, E.R. Vuagniaux, G. Sweeney, H.L. Robbins, J. Molkentin, J.D. (2008). Genetic and pharmacologic inhibition of mitochondrial-dependent necrosis attenuates muscular dystrophy. *Nat Med*, 14, 442–447. Doi: [10.1038/nm1736](https://doi.org/10.1038/nm1736).

Monian, P. (2016). Mechanisms and regulation of apoptotic and ferroptotic programmed cell death. New York.

Mattson, M.P. (2000). Apoptosis in neurodegenerative disorders. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 1, 120-130.

Mosele, F. Remon, J. Mateo, J. et al. (2020). Recommendations for the use of next-generation sequencing (NGS) for patients with metastatic cancers: a report from the ESMO

Precision Medicine Working Group. *Ann Oncol*, 31(11), 1491-1505. Doi: 10.1016/j.annonc.2020.07.014.

Michels, N. van Aart, C. Morisse, J. et al. (2021). Chronic inflammation towards cancer incidence: A systematic review and meta-analysis of epidemiological studies. *Critical Reviews in Oncology/Hematology*, 157, 103177. Doi: [10.1016/j.critrevonc.2020.103177](https://doi.org/10.1016/j.critrevonc.2020.103177).

Nieman, K.M., et al., (2011). Adipocytes promote ovarian cancer metastasis and provide energy for rapid tumor growth. *Nat Med*, 17(11), 1498-1503. Doi:10.1038/nm.2492.

Newmeyer, D. D. Farschon, D. M. and Reed, J. C. (1994). Cell-free apoptosis in *Xenopus* egg extracts: inhibition by Bcl-2 and requirement for an organelle fraction enriched in mitochondria. *Cell*, 79, 353. Doi: [10.1016/0092-8674\(94\)90203-8](https://doi.org/10.1016/0092-8674(94)90203-8).

Nicholson, A. G. Tsao, M.S. Beasley, M.B. Borczuk, A.C. Brambilla, E. Cooper, W.A. Dacic, S. Jain, D. Keith, M. Kerr, M.K. Lantuejoul, S. Noguchi, M. Papotti, M. Rekhtman, N. Scagliotti, G. van Schil, P. Sholl L. Yatabe, Y. Yoshida, A. Travis, W.D. (2022). The 2021 WHO classification of lung tumors: impact of advances since 2015. *J Thorac Oncol*, 17(3), 362e387. Doi: 10.1016/j.jtho.2021.11.003.

Netea, M.G. Balkwill, F. Chonchol, M. et al. (2017). A guiding map for inflammation. *Nature Immunology*, 18(8), 826-831. Doi: 10.1038/ni.3790.

Noble, S. Goa, K.L. (1997). Gemcitabine. A review of its pharmacology and clinical potential in non-small cell lung cancer

and pancreatic cancer. *Drugs*, 54, 447- 72. Doi: [10.2165/00003495-199754030-00009](https://doi.org/10.2165/00003495-199754030-00009).

Ochsner, A. (1973). Corner of history. My first recognition of the relationship of smoking and lung cancer. *Prev Med*, 2, 611-4. Doi: [10.1016/0091-7435\(73\)90059-5](https://doi.org/10.1016/0091-7435(73)90059-5).

Oelgeschlager, T. (2002). Regulation of RNA polymerase II activity by CTD phosphorylation and cell cycle control. *J Cell Physiol*, 190, 160-169. Doi: [10.1002/jcp.10058](https://doi.org/10.1002/jcp.10058).

Oguri, S. Sakakibara, T. Mase, H. et al. (1988). Clinical pharmacokinetics of carboplatin. *J Clin Pharmacol*, 28, 208-15. Doi: [10.1002/j.1552-4604.1988.tb03134.x](https://doi.org/10.1002/j.1552-4604.1988.tb03134.x).

Otranto, M. et al., (2012). The role of the myofibroblast in tumor stroma remodeling. *Cell Adh Migr*, 6(3), 203- 19. Doi: [10.4161/cam.20377](https://doi.org/10.4161/cam.20377).

Parks, S. K. Mueller-Klieser, W. Pouyssegur, J. (2020). Lactate and acidity in the cancer microenvironment. *Ann. Rev. Cancer Biol*, 4, 141–158. Doi: [10.1146/annurev-cancerbio-030419-033556](https://doi.org/10.1146/annurev-cancerbio-030419-033556).

Pelengaris, S. Littlewood, T. Khan, M. Elia, G. Evan, G. (1999). Reversible activation of c-Myc in skin: induction of a complex neoplastic phenotype by a single oncogenic lesion. *Mol. Cell*, 3, 565–577. Doi: [10.1016/S1097-2765\(00\)80350-0](https://doi.org/10.1016/S1097-2765(00)80350-0).

Pisapia, P. Malapelle, U. Troncone, G. (2019). Liquid Biopsy and Lung Cancer. *Acta cytologica*. 63(6), 489-496. Doi: [10.1159/000492710](https://doi.org/10.1159/000492710).

Prior, I.A. Lewis, P.D. Mattos, C. (2012). A Comprehensive Survey of Ras Mutations in Cancer. *Cancer research*, 72(10), 2457-2467. Doi: 10.1158/0008-5472.Can-11-2612.

Parrilhaa, G.L. do Santosa, R.G. do G. Beraldo, H. (2022). Applications of radiocomplexes with thiosemicarbazones and bis (thiosemicarbazones) in diagnostic and therapeutic nuclear medicine, *Coord. Chem. Rev.*, 458, 214418, Doi: 10.1016/j.ccr.2022.214418.

Podolski-Reni, A. Ga sparovi, A.C. Valente, A. Lopez, O. Nunes, J.H.B. Kowol, C. R. Heffeterf, P. Filipovi, N. R. (2024). Schiff bases and their metal complexes to target and overcome (multidrug) resistance in cancer. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 270, 116363. Doi: 10.1016/j.ejmech.2024.116363.

Pen, Q. Sciortino, G. Mar, J. Bertaina, S. Simaan, A.J. Lorenzo, J. Capdevila, M. Bay, P. Iranzo, O. Palacios, O. (2021). Copper(II) N, N, O-chelating complexes as potential anticancer agents, *Inorg. Chem.*, 60, 2939–2952, Doi: 10.1021/acs.inorgchem.0c02932.

Planchard, D. Smit, E.F. Groe,n H.J.M. et al. (2017). Dabrafenib plus trametinib in patients with previously untreated BRAFV600E-mutant metastatic non-small-cell lung cancer: an open-label, phase 2 trial. *Lancet Oncol*, 18(10), 1307–1316. Doi: 10.1016/S1470-2045(17)30679-4.

Pennycook, B. R. Barr, A. R. (2020). Restriction point regulation at the crossroads between quiescence and cell proliferation. *FEBS Lett*, 54, 2046–2060. Doi: 10.1002/1873-3468.13867.

Rekhtman, N. Ang, D.C, Riely, G.J. et al. (2013). KRAS mutations are associated with solid growth pattern and tumor-infiltrating leukocytes in lung adenocarcinoma. *Mod Pathol*, 26(10), 1307e1319.

Ries, LAG. SEER Cancer Statistics Review, 1975-2003, National cancer Institute. *Bethesda*, 2007. Ref Type: Report.

Reed, J. C. (2003). Apoptosis-targeted therapies for cancer. *Cancer cell*, 3, 17–22. Doi: [10.1038/s41571-020-0341-y](https://doi.org/10.1038/s41571-020-0341-y).

Rathmell, J.C. and Thompson, C.B. (2002). Pathways of Apoptosis in Lymphocyte Development, Homeostasis, and Disease. *Cell*, 109, S97-S107. DOI: [10.1016/s0092-8674\(02\)00704-3](https://doi.org/10.1016/s0092-8674(02)00704-3).

Riedl, S.J. and Shi, Y. (2004). Molecular mechanisms of caspase regulation during apoptosis. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 5, 897-907. Doi: [10.1038/nrm1496](https://doi.org/10.1038/nrm1496).

Roma-Rodrigues, C. Mendes, R. Baptista, P. V. Fernandes, A. R. (2019). Targeting tumor microenvironment for cancer therapy. *Int. J. Mol. Sci*, Doi: [10.3390/ijms20040840](https://doi.org/10.3390/ijms20040840).

Recolin, B. Laan, S. Tsanov, N. Maiorano, D. (2014). Molecular mechanisms of DNA replication checkpoint activation. *Genes*, 5, 147.

Rubin, S. M. Sage, J. Skotheim, J. M. (2020). Integrating old and new paradigms of G1/S control. *Mol. Cell*, 80, 183–192. Doi: [10.1016/j.molcel.2020.08.020](https://doi.org/10.1016/j.molcel.2020.08.020).

Shaw, A.T. Ou, S.H.I. Bang, Y.J. et al. (2014). Crizotinib in ROS1 -Rearranged Non–Small-Cell Lung Cancer. *N. Engl. J. Med*, 371(21), 1963–1971.

Shah, B. Modi, P. Sagar, S.R. (2020). In silico studies on therapeutic agents for COVID-19: drug repurposing approach. *Life Sci*, 252, 117652. Doi: 10.1016/j.lfs.2020.117652.

Shao, M. Yao, M. Liu, X. Gao, C. Liu, W. Guo, J. Zong, J. Sun, X. Liu, Z. (2021). In vitro and in vivo of triphenylamine-appended fluorescent half-sandwich iridium (III) thiosemicarbazones antitumor complexes. *Inorg. Chem*, 60, 17063–17073, Doi: 10.1021/acs.inorgchem.1c02250.

Schmitt, C. A. Lowe, S. W. (1999). Apoptosis and therapy. *J. Pathol*, 187, 127–137. doi: 10.1002/(SICI)1096-9896(199901)187.

Stewart, Z. A. Westfall, M. D. Pietenpol, J. A. (2003). Cell-cycle dysregulation and anticancer therapy. *Trends Pharmacol. Sci*, 24, 139–145. Doi: 10.1016/S0165-6147(03)00026-9.

Shikata, S. Takemura, Y. (2017). Secondhand smoke exposure and risk of lung cancer in Japan: a systematic review and meta-analysis of epidemiologic studies. *Jpn J Clin Oncol*, 47(3), 282. Doi: 10.1093/jjco/hyw091.

Sadate, A. Occean, B.V. Beregi, J.P. Hamard, A. Addala, T. de Forges, H. Fabbro-Peray, P. Frandon, J. (2020). Systematic review and meta-analysis on the impact of lung cancer screening by low-dose computed tomography. *Eur. J. Cancer*, 134, 107–114. doi: 10.1016/j.ejca.2020.04.035.

Soda, M. Choi, Y.L. Enomoto, M. (2007). Identification of the transforming EML4-ALK fusion gene in non-small-cell lung cancer. *Nature*, 448, 561-6. doi:10.1038/nature05945.

Solomon, B.J. Mok, T. Kim, D.W. et al. (2014). First-line crizotinib versus chemotherapy in ALK-positive lung cancer. *N Engl J Med*, 371, 2167-77. Doi: 10.1056/NEJMoa1408440.

Shakya, B. Yadav, P.N. (2020). Thiosemicarbazones as potent anticancer agents and their modes of action. *Med. Chem*, 20, 638–661, Doi: 10.2174/1389557519666191029130310.

Shen, W.-Y. Jia, C.-P. Liao, L.-Y. Chen, L. Hou, C. Liu, Y.-H. Liang, H. Chen, Z.-F. (2022). Copper(II) complexes of halogenated quinoline schiff base derivatives enabled cancer therapy through glutathione-assisted chemodynamic therapy and inhibition of autophagy flux. *J. Med. Chem*, 65, 5134–5148. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.2c00133>.

Sobin, L.H. Gospodarowicz, M.K. Wittekind, C. TNM classification of malignant tumours. John Wiley & Sons; 2011. 26. Lungcancer - Nationell kvalitetsrapport för 2020. Online: RCC - Regionalt Cancercentrum Uppsala/Örebro; 2021.

Smith, I.E. (1994). Palliative chemotherapy for advanced non-small cell lung cancer. *BMJ*, 308, 429-30. Doi: [10.1136/bmj.308.6926.429](https://doi.org/10.1136/bmj.308.6926.429).

Tammemagi, C.M. Neslund-Dudas, C. Simoff, M. et al. (2003). Impact of comorbidity on lung cancer survival. *Int J Cancer*, 103, 792-802. Doi: [10.1002/ijc.10882](https://doi.org/10.1002/ijc.10882).

Travis, W.D. Brambilla, E. Muller-Hermelink, K.H. et al: WHO Classification of Tumours; Pathology and Genetics of Tumours of the Lung, Pleura, Thymus and Heart, Lyon, *IARC Press*, 2004.

Thorgeirsson, T.E. Geller, F. Sulem, P. et al. (2008). A variant associated with nicotine dependence, lung cancer and peripheral arterial disease. *Nature*, 452, 638-42. Doi: [10.1038/nature06846](https://doi.org/10.1038/nature06846).

Thompson, C.B. (1995). Apoptosis in the Pathogenesis and Treatment of Disease. *Science*, 267, 1456-1462. Doi: [10.1126/science.7878464](https://doi.org/10.1126/science.7878464).

Umar, A. Wahab, A. H. Attiq, A. Amjad, M.W. Bukhari, S.N.A. Ahmad, W. (2024). Platinum-based targeted chemotherapies and reversal of cisplatin resistance in non-small cell lung cancer (KHDAK). *Mutation Research Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 828, 111856. Doi: [10.1016/j.mrfmmm.2024.111856](https://doi.org/10.1016/j.mrfmmm.2024.111856).

Vogt, K.C. (1842). Untersuchungen über die Entwicklungsgeschichte der Geburtshelferkröte (Alytes obstetricans) (Jent & Gassmann).

Trump, B.F. Berezsky, I.K. Chang, S.H. Phelps, P.C. 1197. The pathways of cell death: oncosis, apoptosis, and necrosis. *Toxicol Pathol*, 25, 82–8. Doi: [10.1177/019262339702500116](https://doi.org/10.1177/019262339702500116).

Thandra, K.C. Barsouk, A. Saginala, K. Aluru, J.S. Alexander Barsouk, A. (2021). Epidemiology of lung cancer. *Contemp Oncol*, 25(1), 45e52. Doi: [10.5114/wo.2021.103829](https://doi.org/10.5114/wo.2021.103829).

Verma, G. Marella, A. Shaquiquzzaman, M. Akhtar, M. Ali, M. Alam, M. (2014). A review exploring biological activities of hydrazones, *J. Pharm. BioAllied Sci*, 6, 69, Doi: [10.4103/0975-7406.129170](https://doi.org/10.4103/0975-7406.129170).

Yip, K. and Reed, J. (2008). Bcl-2 family proteins and cancer. *Oncogene*, 27, 6398-6406. DOI: [10.1038/onc.2008.307](https://doi.org/10.1038/onc.2008.307).

Yagoda, N. von Rechenberg, M. Zaganjor, E. Bauer, A.J. Yang, W.S. Fridman, D.J. Wolpaw, A.J. Smukste, I. Peltier, J.M. Boniface, J.J. J.J. Smith, R. Lessnick, S.L. Sahasrabudhe, S. Stockwell, B.R. (2007). RAS-RAF-MEK-dependent oxidative cell death involving voltage-dependent anion channels. *Nature*, 447, 865-869. Doi:10.1038/nature05859.

Zilfou, J. T. Lowe, S. W. (2009). Tumor suppressive functions of p53. *Cold Spring Harb. Perspect. Biol*, 1, a001883. Doi: [10.1101/cshperspect.a001883](https://doi.org/10.1101/cshperspect.a001883).

Zappa, C. Shaker, A. (2016). Mousa Non-small cell lung cancer: current treatment and future advances. *Transl Lung Cancer Res*, 5(3), 288-300. Doi: 10.21037/tlcr.2016.06.07.

Zhan, P. Suo, L.J. Qian, Q. et al. (2011). Chlamydia pneumoniae infection and lung cancer risk: a meta-analysis. *Eur J Cancer*, 47(5), 742e747. Doi: [10.1016/j.ejca.2010.11.003](https://doi.org/10.1016/j.ejca.2010.11.003).

Zong, W.X. Ditsworth, D. Bauer, D.E. Wang, Z.Q. Thompson, C.B. (2004). Alkylating DNA damage stimulates a regulated form of necrotic cell death. *Genes Dev*, 18, 1272–1282. Doi: 10.1101/gad.1199904.

Zeiss, C.J. (2003). The apoptosis-necrosis continuum: insights from genetically altered mice. *Vet Pathol*, 40, 481–95. Doi: [10.1354/vp.40-5-481](https://doi.org/10.1354/vp.40-5-481).

Wynants J, Stroobants S, Dooms C, Vansteenkiste, J. (2007). Staging of lung cancer. *Radiol Clin North Am*, 45, 609-25. Doi: 10.1016/j.rcl.2007.05.001.

Waziry, R. Jawad, M. Ballout, R.A. et al. (2017). The effects of waterpipe tobacco smoking on health outcomes: an updated systematic review and meta-analysis. *Int J Epidemiol*. 46(1), 32e43. Doi: 10.1093/ije/dyw021.

Wyatt, A.W. Collins, C.C. (2013). In brief: chromothripsis and cancer. *J Pathol*, 231(1), 1e3. Doi: 10.1002/path.4220.

WHO REPORT on the global TOBACCO epidemic, (2008). Ref Type: Report.

Woodard, G.A. Jones, K.D. Jablons, D.M. (2016). Lung cancer staging and prognosis. *Cancer treatment and research*, 170, 47-75. Doi: 10.1007/978-3-319-40389-2_3.

Wang, R. Hu, H. Pan, Y. et al. (2012). RET fusions define a unique molecular and clinicopathologic subtype of non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol*. 30(35), 4352e4359. Doi: 10.1200/JCO.2012.44.1477.

WHO classification of tumors. Thoracic tumors. (2021). (WHO classification of tumors series, Lyon (France): International Agency for Research on Cancer. 5th ed. 5.

