



**T.C.
GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ**

**REZEKSİYON UYGULANAN KÜÇÜK HÜCRELİ DIŞI
AKCİĞER KANSERLERİNDE MATRİKS
METALLOPROTEİNAZ GEN POLİMORFİZMLERİNİN
KLİNİK PARAMETRELERLE İLİŞKİSİ**

UZMANLIK TEZİ

**Dr. Erkan AKAR
GÖĞÜS CERRAHİSİ ANABİLİM DALI**

**TEZ DANIŞMANI
Yrd. Doç. Dr. Maruf ŞANLI**

EYLÜL 2009

**T.C.
GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ**

**REZEKSİYON UYGULANAN KÜÇÜK HÜCRELİ DİŞİ
AKCİĞER KANSERLERİNDE MATRİKS
METALLOPROTEİNAZ GEN POLİMORFİZMLERİNİN
KLİNİK PARAMETRELERLE İLİŞKİSİ**

UZMANLIK TEZİ

Dr. Erkan AKAR

GÖĞÜS CERRAHİSİ ANABİLİM DALI

TEZ DANIŞMANI

Yrd. Doç. Dr. Maruf ŞANLI

ÖNSÖZ

Uzmanlık eğitimim süresince eğitimime katkıda bulunan, eşsiz bilgi ve deneyimlerinden faydalandığım değerli hocalarım Sayın Prof. Dr. Levent ELBEYLİ'ye, Prof. Dr. Bülent TUNÇÖZGÜR'e, Doç. Dr. A. Feridun IŞIK'a ve aynı zamanda tez danışmanım olan, Yrd. Doç. Dr. Maruf ŞANLI'ya teşekkür ve saygılarımı sunarım.

Tezimin hazırlanmasında katkılarından dolayı Prof. Dr. Kemal BAKIR, Doç. Dr. Sacide PEHLİVAN, Doç. Dr. Mustafa PEHLİVAN'a ve birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum tüm asistan arkadaşlara teşekkür ederim.

Ayrıca eğitimim süresince bütün sıkıntılarıma ortak olan ve benden desteklerini esirgemeyen, onlar olmasa BEN olamayacağım canım eşim Özlem AKAR'a, çocuklarım Elif ve Efe'ye öpücükler, onları çok seviyorum.

Dr. Erkan AKAR

Gaziantep - 2009

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

ÖNSÖZ	I
İÇİNDEKİLER	II
ÖZET	VI
ABSTRACT	VIII
KISALTMALAR	IX
TABLO LİSTESİ	XI
RESİM LİSTESİ	XII
ŞEKİL LİSTESİ	XIII
1.GİRİŞ VE AMAÇ	12
2.GENEL BİLGİLER	14
2.1. AKCİĞER KANSERİ	
2.1.1. Epidemiyoloji	
2.1.2. Risk faktörleri	
2.1.2.1. Sigara	
2.1.2.2. Yaş	
2.1.2.3. Cinsiyet	
2.1.2.4. Alkol	
2.1.2.5. Mesleki ve Çevresel Maruziyet	
2.1.2.6. Diyet	
2.1.2.7. Akciğer Hastalıkları	
2.1.2.8. Genetik Yatkınlık	
2.1.3. Sınıflandırma (Histopatolojik)	
2.1.4. Tanı ve Evreleme	
2.1.4.1. Evreleme	
2.1.4.2. Tanı ve Evreleme Yöntemleri	
2.1.4.2.1. Non İnvaziv Yöntemler	
2.1.4.2.1.1. Radyografi	
2.1.4.2.1.2. Bilgisayarlı Tomografi	
2.1.4.2.1.3. Magnetik Rezonans Görüntüleme	
2.1.4.2.1.4. Ultrasonografi	
2.1.4.2.1.5. Floroskopi	
2.1.4.2.1.6. Balgam Sitolojisi	
2.1.4.2.1.7. Tüm Vücut Kemik Sintigrafisi	
2.1.4.2.1.8. Pozitron Emisyon Tomografi	
2.1.4.2.2. İnvaziv Yöntemler	
2.1.4.2.2.1. Transbronşiyal İğne Aspirasyon Biopsisi (TB-İAB)	
2.1.4.2.2.2. Transtorasik İğne Aspirasyon Biopsisi (TT-İAB)	
2.1.4.2.2.3. Endobronşiyal Ultrasonografik İğne Aspirasyon Biopsisi (EBUS-İAB)	
2.1.4.2.2.4. Özofagial Endoskopik Ultrasonografi İle İğne Aspirasyon Biopsisi (EUS-İAB)	
2.1.4.2.2.5. Servikal Mediyastinoskopi	
2.1.4.2.2.6. Genişletilmiş Servikal Mediyastinoskopi	
2.1.4.2.2.7. Anterior Mediastinotomi	

2.1.4.2.2.8. Video Yardımlı Toraks Cerrahisi (VATS)	
2.1.4.2.2.9. Torakotomi+Lenf Biopsisi	
2.2. Genetik Polimorfizm	
2.2.1. DNA	
2.2.2. Gen Mutasyonu	
2.2.3. Mutasyonların Moleküler Temeli ve Belirlenmesi	
2.2.4. Genetik Polimorfizm	
2.2.5. DNA Analizinde Kullanılan Bazı Yöntemler	
2.2.5.1. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR)	
2.2.5.2. Restriksiyon Fragment Uzunluk Polimorfizmi (RFLP)	
2.3. Kanser	
2.3.1. Kanser Gelişiminden Sorumlu Genler	
2.4. Ekstrasellüler Matriks (ECM) ve Matriksmetalloproteinaz (MMP)	
2.4.1. MMP Ailesi	
2.4.2. MMP Yapısı	
2.4.3. MMP Sınıflaması	
2.4.4. MMP Ekspresyonunun Regülasyonu	
2.4.5. Gen Transkripsiyonu	
2.4.6. Kanser Gelişiminde MMP Enzim Ailesinin Rolü	
2.4.6.1. MMP Apoptozisi Düzenler	
2.4.6.2. MMP Anjiogenezisi Düzenler	
2.4.6.3. Hücre İnvazyonu ve Metastaz	
3. GEREÇ VE YÖNTEMLER	52
3.1. Hasta Seçimi	
3.2. DNA İzolasyonu ve PCR	
3.3. MMP Gen Polimorfizmlerinin Analizi	
3.4. Genetik İnceleme Malzemeleri	
3.5. Sarf Malzemeler	
3.6. İmmunohistokimyasal (İHK) Yöntem Aşamaları	
3.7. İHK Boyama Yöntemi	
3.8. İstatistik Analiz	
4. BULGULAR	57
4.1. Demografik ve Klinik Özellikler	
4.2. MMP Polimorfizmlerinin Akc Ca/T, Akc Ca/N ve Sağlıklı Kontrol Grubuyla Karşılaştırılması	
4.2.1. MMP-2	
4.2.2. MMP-7	
4.2.3. MMP-13	
4.3. Epidermoid, Non-Epidermoid Grubun Polimorfizmlerle Karşılaştırılması	
4.4. Prognostik Faktörler	
4.5. Yaşam Analizi	
4.6. Polimorfizmlerin Çeşitli Klinik Parametrelerle Karşılaştırılması	
4.7. Polimorfizmlerin Agaroz Jel Elektroforezindeki Görüntüleri	
4.8. MMP-2, 7, 13 İHK Görüntüleri	
5. TARTIŞMA	72
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	79
7. KAYNAKLAR	81
8. EKLER	93

ÖZET

REZEKSİYON UYGULANAN KÜÇÜK HÜCRELİ DIŞI AKCİĞER KANSERLERİNDE MATRİKS METALLOPROTEİNAZ GEN POLİMORFİZMLERİNİN KLİNİK PARAMETRELERLE İLİŞKİSİ

Dr. Erkan AKAR

Uzmanlık Tezi, Göğüs Cerrahisi Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Yrd. Doç. Dr. Maruf Şanlı

Eylül 2009, 96 sayfa

Birçok fizyolojik ve patolojik durum, ekstrasellüler matriksin (ECM) sıkıca kontrol altında tutulan yapımı ve proteolitik yıkımı arasındaki dengenin bozulmasına dayanmaktadır. ECM sentez, parçalanma ve yeniden yapılanma süreçlerindeki hücre regülasyonu, dönüşümü gibi etkilerini metalloproteinazlar (MMPs) aracılığı ile ortaya koyar.

Bu çalışmada, küçük hücreli dışı akciğer kanseri (KHDAK) nedeniyle opere ettiğimiz hastaların hem tümörlü hem de sağlam doku parafin kesitlerinde, çeşitli MMP polimorfizmlerini, polimeraz zincir reaksiyonu ve restriksiyon fragment uzunluk polimorfizmi (PCR-RFLP) yöntemi ve immunohistokimyasal metodlarla analiz ederek, bulunan polimorfizmlerin hastaların klinik parametreleri (morbidity, mortalite, kanserin tipi, evresi...) ile ilişkisini araştırmak amaçlanmıştır.

Kliniğimizde, Aralık 1997 ile Şubat 2008 yılları arasında KHDAK tanısı konmuş ve ameliyat edilmiş 132 hasta çalışmaya dahil edildi. Kontrol grubu olarak 80 kişi seçildi.

İstatistik analizde, klinik sonlanımın bağımsız belirleyicisini araştırmak için, univaryant ve multivaryant stepwise Cox regresyon analizi kullanıldı. Tüm istatistik analizler için $p < 0.05$ değeri istatistik olarak anlamlı kabul edildi.

MMP-2 -735 GG genotipinde, sağlıklı kontroller ile akciğer tümörlerine ait polimorfizmler karşılaştırıldığında; GG genotipinde azalmanın akciğer kanseri riskini 1.6 kat ($p = 0.008$), MMP-7 -181 de AG ve GG'nin artmasının yani AA'nın azalmasının akciğer kanseri riskini 7.9 kat arttırdığı ($p = 0.020$) saptandı. Ayrıca, yapılan analizde MMP-7 AG genotipinin evre I de yüksek olmasının, iyi prognoz işareti olabileceği bulundu ($p = 0.034$). MMP-13 A77G de ise AG ve GG'nin artmış bulunması akciğer kanseri riskini 1.6 kat arttırdığı saptanmıştır ($p = 0.047$).

Sonuç olarak, hastaların yaşının 60'ın altında olması ($p = 0.019$), lenf nodu metastazının olmaması ($p = 0.039$), hastalığın düşük evreli olması ($p = 0.022$) ve üst lobektomi yapılmış olması ($p = 0.009$) gibi sağkalıma olumlu katkıları olan bilindik faktörlerin yanında, MMP-13 GG genotipinin varlığı olumsuz bir faktör olarak bulunmuştur ($p = 0.041$).

Anahtar Kelimeler: Akciğer kanseri, MMP, Polimorfizm

ABSTRACT

THE RELATIONSHIP BETWEEN CLINICAL PARAMETERS AND MATRIXMETALLOPROTEINASES GENE POLYMORPHISM IN CASES WITH RESECTED NON-SMALL CELL LUNG CANCER

Erkan AKAR, MD

Residency Thesis, Department of Thoracic Surgery

Supervisor: Assist. Yrd. Doç. Dr. Maruf ŞANLI, MD

September 2009, 96 pages

Most physiological and pathological situations depend on unstability of the balance between the production and destruction of extracellular matrix (ECM) that is under control closely. The effects like transformation and the cellular regulation in the ECM synthesis, destruction and reconstruction process reveals by the mediation of metalloproteinases (MMPs).

In this study, it has been aimed to investigate the relationship between clinical parameters of patients and polymorphisms those were found by immunohistochemical methods analysed polymerase chain reaction and restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP) in tissue paraffine sections of both healthy organs and tumoral tissue of patients with non-small cell lung cancer.

One hundred thirty two patients who were diagnosed with non-small cell lung cancer and underwent surgery between December 1997 and February 2008 in our clinic. Eighty patients were selected as control group.

In statistical analysis, univariate and multivariate stepwise Cox regression analysis was used to investigate the independent marker of clinical outcome. $P < 0.05$ value was accepted as significant in all statistical analysis.

It was found that decrease in GG phenotype augmented lung cancer risk in 1.6 times ($p=0.008$) where increase of AG and GG in MMP-7 -181 (means decrease in AA) augmented the lung cancer risk in 7.9 times ($p=0.020$). Additionally, it was discovered that high level of MMP-7 AG genotype in stage 1 may be good prognostic factor ($p=0.034$). Augmentation of AG and GG in MMP-13 A77G increases the lung cancer risk in 1.6 times ($p=0.047$).

As a result, age under 60 ($p=0.019$), negative lymph node metastasis ($p=0.039$), low stage disease ($p=0.022$) and upper lobectomy ($p=0.009$) are positive prognostic factors where the existence of MMP-13 GG genotype is negative prognostic factor beside the known evidences ($p=0.041$).

Key words: Lung cancer, MMP, Polymorphism

Kısaltmalar

TNM Evrelemesi	T (Primer Tümörün Lokalizasyonu)
	N (Bölgesel Lenf Nodları)
	M (Uzak Metastaz)
BT	Bilgisayarlı Tomografi
MRG	Magnetik Rezonans Görüntüleme
PET	Pozitron Emisyon Tomografi
TBİA	Transbronşial İnce İğne Aspirasyon Biyopsisi
TTİA	Transtorasik İnce İğne Aspirasyon Biyopsisi
EBUS-İA	Endobronşial Ultrason Eşliğinde İnce İğne Aspirasyon Biyopsisi
VATS	Video Yardımlı Toraks Cerrahisi
FDG	Fluorodeoksiglukoz
PAH	Poliaromatik Hidrokarbon
BPDE	Benzo(A)Piren Diol Epoksid
ECM	Ekstrasellüler Matriks
MMP	Matriksmetalloproteinaz
PCR	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
A	Adenin
G	Guanin
T	Timin
DSÖ	Dünya Sağlık Örgütü
KHDAK	Küçük Hücre Dışı Akciğer Kanseri
ECOG	Eastern Cooperative Oncology Group
UICC	International Union Against Cancer (Uluslararası Kanseri Savaş Örgütü)
AJCC	American Joint Committee On Cancer (Amerikan Kanseri Komitesi Birliği)
LAP	Lenfadenopati
SUV	Standart Tutulum Değeri
FOB	Fiberoptik Bronkoskopi
BAL	Bronkoalveoler Lavaj
TBB	Transbronşial Akciğer Biyopsisi
OR (Odds Ratio)	Risk Oranı
HWE	Hardy-Weinberg Equilibrium

Tablo Listesi	Sayfa No
Tablo 1. Malign Akciğer Tümörlerinde Histolojik Sınıflama (DSÖ, 2004)	22
Tablo 2. TNM Sınıflaması	24
Tablo 3. N1 Lenf Nodları	25
Tablo 4. N2 Lenf Nodları	26
Tablo 5. TNM Evreleme Sistemi (Uluslararası Akciğer Kanseri Araştırmaları Birliği-1996)	29
Tablo 6. MMP Enzimlerinin Substrat Özgüllüğüne Göre Sınıflaması	48
Tablo 7. MMP Gen Bölgelerinin Amplifikasyon ve Kesim Bölgeleri	53
Tablo 8. Hastaların Demografik ve Klinik Özellikleri	58
Tablo 9. Epidermoid, Non-Epidermoid Kanserli Hastaların Genetik ve İHK Polimorfizmleri	58
Tablo 10. Akc Ca/T, Akc Ca/N ve Sağlıklı Kontrol Gruplarının MMP-2, 7, 13 Polimorfizmlerinin Karşılaştırılması	59
Tablo 11. Epidermoid Kanserli Hastaların Akc Ca/N İle Sağlıklı Kontrol Gruplarının MMP-2, 7, 13 Polimorfizmlerinin Karşılaştırılması	63
Tablo 12. Non-Epidermoid Kanserli Hastalarda Akc Ca/N İle Sağlıklı Kontrol Gruplarının MMP-2, 7, 13 Polimorfizmlerinin Karşılaştırılması	63
Tablo 13. KHDAK'lı 112 Hastanın Tek Değişkenli Prognostik Faktörleri	65
Tablo 14. Cox Regresyon Analizi	66
Tablo 15. İleri Yaşın MMP-2, 7, 13 Polimorfizmleriyle Karşılaştırılması	67
Tablo 16. Epidermoid, Non-Epidermoid Kanser Gruplarının MMP-2, 7, 13 Polimorfizmleriyle Karşılaştırılması	68
Tablo 17. N0 İle N1-II'nin MMP-2, 7, 13 Polimorfizmleriyle Karşılaştırılması	68
Tablo 18. Evre-I İle Evre II-III'ün MMP-2, 7, 13 Polimorfizmleriyle Karşılaştırılması	68

Resim Listesi**Sayfa No**

Resim 1. Mediastinal Lenf Nodları	27
Resim 2. Aortik Nodüller	27
Resim 3. PCR İşlemi	42
Resim 4. MMP Enzimlerinin Moleküler Yapısı	46
Resim 5. İHK Boyama MMP-2	70
Resim 6. İHK Boyama MMP-7	70
Resim 7. İHK Boyama MMP-13	71

Şekil Listesi**Sayfa No**

Şekil 1. KHDAK'de evrenin Medyan Total Yaşam Eğrisi	66
Şekil 2. MMP-13 GG İle AA/AG Medyan Total Yaşam Eğrisi	67
Şekil 3. MMP-2 Agora Jel Görüntüsü	69
Şekil 4. MMP-7 Agora Jel Görüntüsü	69
Şekil 5. MMP-13 Agora Jel Görüntüsü	69

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Tüm dünyada kanser olgularının %12.8'inden ve kanser ölümlerinin %17.8'inden akciğer kanseri sorumludur (1). Akciğer kanseri gelişiminde etkili olduğu belirtilen yaş, ırk, cinsiyet, meslek, hava kirliliği, radyasyon, geçirilmiş akciğer hastalığı sekeli, diyet, viral enfeksiyonlar, genetik ve immünolojik faktörlerin tümü %6 oranında etkilidir (1). Kanser hücreleri, çeşitli hormonlar üretirler ve bu hormonların hücre yüzeyindeki reseptörleriyle etkileşimi sonucunda kendi büyümelerini otokrin yollarla stimüle ederler (2). Neoplastik hücrelerin birçok büyüme faktörünün salınımı ile çoğalma avantajı sağladıkları bilinmektedir (3). Pek çok büyüme faktörü ve reseptörü, akciğerde kanser hücreleri ve normal hücreler tarafından eksprese edilmektedirler (4). Bu büyüme faktörleri otokrin, parakrin ve jukstakrin yollarla kanser büyümesinde rol oynarlar (4,5). Bronşiyal in-situ karsinomdan, invaziv ve metastatik akciğer kanserine progresyon; bazal membranın yıkımı, çevre dokulara invazyon, lenf ve kan damarlarına intravazasyon, damar dışına ekstravazasyon ve sekonder bir dokunun invazyonu sonucunda oluşur. Bu basamakların hepsi ekstrasellüler matriksin (ECM) proteolizi, doku remodellingi (yeniden yapılanma), doku invazyonu ile ilişkili olup, bu nedenle matriks proteazlarının karsinogenezdeki rolü araştırılmaya başlanmıştır (6). Tümörün yayılımı için çeşitli derecelerde doku yıkımı gereklidir. ECM degradasyonu (yıkım) ve bazal membrana penetrasyonu, tümörün invazyonu ve metastatik yayılımında önem taşır. Bu yeteneğe sahip olan MMP ailesi, proteolitik enzimlerden oluşup, küçük hücreli dışı akciğer kanseri (KHDAK) gelişiminde önemli bir yeri olduğu çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir. MMP-2 (Gelatinase A)'nın aşırı ekspresyonu, KHDAK'lerinde kötü prognozu gösteren bağımsız bir risk faktörüdür (7). Aynı şekilde MMP-9, bazal membrandaki tip 4 kollajeni parçalayan bir endopeptidazdır ve aşırı ekspresyonu kötü prognozu gösteren bağımsız bir risk faktörü olarak bilinmektedir (8).

MMP-7 (matrislin, PUMP-1, E.C.3.4.24.23), MMP ailesinin tariflenen en küçük üyesidirler. MMP-7, geniş substrat özgüllüğü olan ve elastini, proteoglikanları fibronektini ve tip 4 kollajeni parçalayan bir proteazdır. Ek olarak, MMP-7 E-cadherin, pro-TNF alfa ve Fas ligandı gibi non-matriks substratlarını hücre yüzeyinden ayırır. Stromal komponente sınırlı ekspresyonu olan diğer MMP'lerin aksine MMP-7, primer olarak epitelyal orijinli tümör hücrelerinde lokalize olur ve spesifik glandüler organların normal epitellerinde de saptanabilir. Birçok kanser tipinde MMP-7 ve invaziv potansiyel arasında korelasyon bildirilmiştir (9).

Bu çalışmada, KHDAK nedeniyle opere ettiğimiz hastaların hem tümörlü hem de sağlam doku parafin kesitlerinde, immunohistokimyasal yöntemlerle MMP reaksiyonlarını saptayarak ve çeşitli MMP polimorfizmlerini PCR-RFLP yöntemiyle analiz ederek, hastaların klinik parametreleri (morbidite, mortalite, evresi, kanserin tipi ...) ile ilişkisini araştırmak amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. AKCİĞER KANSERİ

2.1.1. Epidemiyoloji

Tüm dünyada KHDAK, cerrahi, kemoterapi ve radyoterapiyi içeren değişik tedavi modalitelerine rağmen, kanser ölümlerinde birinci sırada yerini almaktadır. Bu nedenle KHDAK'nın değişik biyolojik davranışlarını anlamak, KHDAK'li hastaların tedavilerinin ve sağkalımlarının daha iyiye götürülmesinde önemli görünmektedir (10).

Sağlık Bakanlığı'nın 1999 yılı verilerine göre; ülkemizdeki kanser insidansı 39.4/100.000'dir (11,12). Bu insidansın %37'lik bölümünü akciğer kanseri oluşturmaktadır (24.1/100.000). Akciğer kanseri tüm kanserler içinde erkeklerde %32.2'lik oranla birinci sırayı alırken, kadınlarda ise %4.9'luk oranla altıncı sıradadır (11,12). Akciğer kanseri sıklığı batı bölgeleri olan Akdeniz, Ege ve İç Anadolu'da sırayla 41.0/100.000, 39.5/100.000 iken; Güneydoğu ve Doğu Anadolu bölgelerinde sırayla 17.7/100.000, 11.7/100.000 değerlerindedir (13).

Akciğer kanserinin patogenezinin %94 oranında sigara sorumlu olup, gelişiminde etkili olduğu belirtilen yaş, ırk, cinsiyet, meslek, hava kirliliği, radyasyon, geçirilmiş akciğer hastalığı sekeli, diyet, viral enfeksiyonlar, genetik ve immünolojik faktörlerin tümü, %6 oranında etkilidir. Etiyolojisinde büyük oranda sigaranın rol oynaması, akciğer kanserine önlenabilir bir kanser türü olma özelliğini kazandırmaktadır. Bilinen risk faktörleri ortadan kaldırıldığında %85–100 oranında gelişiminin engellenebileceği tahmin edilmektedir. Bu konuda en önemli basamak sigara kullanımının tümüyle önlenmesidir (13,15).

2.1.2. Risk faktörleri

Aktif sigara kullanımı, çevresel sigara dumanı, çeşitli mesleki maruziyetler ve çevredeki hava kirliliği gibi birçok faktör, akciğer kanseri oluşmasında önemli rol oynamaktadır (16). Yaşam tarzı kanser riskini değiştirebilen bir faktördür (17). Geleneksel olarak çalışmalar, sigara kullanımı ve meslek gibi çevresel

maruziyetlere odaklanarak, akciğer kanseri etiyolojisini açıklamayı hedeflemektedir. Ancak akciğer kanseri gelişiminde bireysel duyarlılık kadar karsinogenlerin aktivasyonu veya inaktivasyonundaki genetik kapasite de etkilidir (18).

2.1.2.1. Sigara

Akciğer kanseri patogenezinin %94 oranında sigara sorumlu olduğu, etkeni belli olan az sayıdaki kanserlerden birisidir. Sigara, tüm dünyada her 6 saniyede bir insanın ölümüne sebep olmakta ve kendine bağımlı olan her iki insandan birini öldürmektedir (19).

Sigara içim oranları akciğer kanseri prevalansı ile doğru orantılı olup, sigara kullanımının azaltılması akciğer kanseri prevalansını düşürecektir (14). Son yıllarda gelişmiş ülkelerde yapılan sigara karşıtı propagandalar ile erkeklerde sigara kullanım oranları azalmasına rağmen, kadınlarda sigara kullanımında artış saptanmıştır (15,19). Gelişmiş ülkelerde sigara içimi prevalansı kadınlarda %20–40, erkeklerde %30–40 iken gelişmekte olan ülkelerde bu oranlar sırasıyla %2–10 ve %40–60'tır. Dünya genelinde ise erkeklerde %47–52, kadınlarda %10–12 sıklıkta sigara kullanımı olduğu tahmin edilmektedir (13,20). Son dekatta kadınlarda sigara kullanımı ve pasif sigara dumanı maruziyeti artmıştır. Yapılan olgu-kontrol çalışmaları, günlük sigara tüketimi ve yaş faktörü gözönünde bulundurulmadığında sigara içen kadınlarda akciğer kanseri gelişme riskinin erkeklere göre daha yüksek olduğunu göstermiştir. Türkiye'de ise sigara içme prevalansı kadınlarda %24, erkeklerde %63'tür (13,20). Türkiye toplumunun büyük kısmının yüksek sigara tüketimi gözönüne alındığında, gerekli önlemler alınmazsa yakın gelecekte akciğer kanseri sorununun boyutlarının daha da artacağı kolaylıkla öngörülebilir (13,20).

Günlük içilen sigara sayısının ve içilen yılın artması, sigaraya erken yaşta başlanması, filtresiz ve yüksek katran içerikli sigara içilmesi akciğer kanseri riskini arttırmaktadır (21,22). Öte yandan sigarayı bırakma süresi ile doğru orantılı olarak risk azalmaktadır. Bu nedenle sigara içilen yıl sayısı (paket/yıl) kritik öneme sahiptir. Akciğer kanseri riski, günde bir paket ve üzeri ile 20 yıl ya

da daha fazla süre sigara içenlerde 10–65 kat daha fazladır. Sigarayı bıraktıktan sonraki 5. yıldan itibaren risk azalmaktadır (21,22).

Pipo, puro ve çiğneme tütün kullanımında da akciğer kanseri riski artmakla beraber bu risk, karsinojen konsantrasyonuna bağlı olarak sigara kullanımından daha düşüktür. Pasif sigara içimi, akciğer kanseri riskini sigara kullanmayanlara göre %20 arttırmaktadır (21,23). Sigara dumanına maruz kalan kadınlar, hiç sigara kullanmamış kadınlara kıyasla, %27 oranında daha fazla akciğer kanserine yakalanma riskine sahiptir (24).

Sigara içen ve içmeyenler arasında akciğer kanserinin histolojik tip dağılımı farklılık göstermektedir. Sigara içmeyenlerde, her iki cinsten de, adenokarsinom daha sık görülmektedir. Sigara içen erkeklerde epidermoid karsinom, kadınlarda ise adenokarsinom daha sık rastlanmaktadır (16).

Sigara dumanının etkisi, karsinojenlerin DNA'ya kadar ulaşması, DNA'da hatalı kodlama ve mutasyon oluşturmaları yoluyla olmaktadır. Sigara, karsinojenler ve kokarsinojenler olmak üzere binlerce madde içermektedir. Sigara dumanındaki önemli karsinojenler; polisiklik hidrokarbonlar, aromatik aminler, nitrozaminler, piridin alkaloidler ve radyoaktif bileşenlerdir. Bunların içinde, nikotin nitrozasyonundan oluşan nitrozamin 4-(metil nitrozamin)-1-(3 piridil)-1-butanon en güçlü ve en mutajen karsinojendir. Sigara dumanı 6000 kadar kimyasal maddeden oluşmaktadır ve bunlardan 55 kadarının karsinojen olduğu bilinmektedir (23).

Sigara dumanına maruz kalan tüm bronş epitelinde, morfolojik olarak gelişen birtakım değişiklikler, kanser gelişimine yol açmaktadır. Bu değişiklikler sırasıyla, hiperplazi, metaplazi, displazi, karsinoma in situ ve invaziv kanserdir. Karsinoma in situnun invaziv kanser halini alması için 4–5 yıllık bir sürenin geçtiği gösterilmiştir (23). Sigara, onkogenleri aktive etmekte ve kanser baskılayıcı genleri süprese etmektedir. Bunun yanı sıra onkogen veya tümör baskılayıcı gen sisteminde 10–20 arasında mutasyon oluşturduğu ve buna bağlı akciğer kanseri geliştirdiği düşünülmektedir. Poliaromatik hidrokarbonlar'ın (PAH) metaboliti olan benzo(a)piren diol epoxid (BPDE)'in insan kanser hücrelerinde, tümör baskılayıcı genlerden p53 geninin 157. 248. ve 273. lokulasyonlarında sıcak nokta mutasyonlarına yol açtığı gösterilmiştir. BPDE,

bronş epitelinde Guanin-Timin baz transversiyonlarına yol açarak, p53 mutasyonuna neden olmaktadır. Sigara içen hastalarda da p53 mutasyonu saptanmıştır. Sigaraya bağlı akciğer kanserinde G:T transversiyon oranı %30 iken, diğer organ kanserlerinde %10 civarındadır (25).

2.1.2.2. Yaş

Akciğer kanseri insidansı yaşla artmakta ve 6.-7. dekadlarda pik yapmaktadır. Genç erişkinlerde sıklığı (50 yaş altında %5–10 dolayında) daha azdır. Bu yaş grubunda görülen akciğer kanseri, sıklıkla adenokanser olup, genellikle aile öyküsü eşlik etmektedir. Ancak Türkiye’de gençlerde adenokanser yaşlılara göre daha fazla izlenmekle birlikte, en sık saptanan kanser tipi skuamöz hücreli kanserdir (13). Genel olarak akciğer kanseri teşhisi koyma yaşı 50–80 arasında değişmektedir.

2.1.2.3. Cinsiyet

Yapılan çalışmaların çoğunda, günlük sigara tüketimi ve yaş dikkate alınmadığında, sigara içen kadınların erkeklere göre daha fazla akciğer kanserine yakalandığı saptanmıştır (13,15,25). Ancak son dönemde yapılan çalışmalar, aynı doz ve sürede sigara kullanan kadınların erkeklerle eşit oranda akciğer kanserine yakalanma riski taşıdığına işaret etmektedir (26). Türkiye’de sigara içme prevalansı kadınlarda %24, erkeklerde %63’tür (13). Her ne kadar, Türkiye gibi gelişmekte olan ülkelerde kadınlarda sigara içim oranları düşük olsa da, kadın cinsiyet için en önemli problem pasif sigara dumanı maruziyetidir. Sigara dumanına pasif maruz kalan kadınlar, hiç sigara kullanmamış kadınlara kıyasla %27 daha fazla akciğer kanserine yakalanma riskine sahiptir (24).

Erkeklerle paylaşılan risk faktörlerine ek olarak, bazı risk faktörleri kadınlara özgü olabilir. Örneğin kadınlar arasında ekzojen ve endojen östrojenin akciğer kanserlerinde, özellikle adenokarsinoma gelişiminde önemli rol oynadığı gösterilmiştir (27). Yapılan çalışmada erken yaşta menapoza giren kadınlarda adenokarsinoma riskinin azaldığı, östrojen tedavisi ile adenokarsinoma riskinin arttığı belirlenmiştir (27). Ayrıca östrojen yerine koyma tedavisinin de adenokarsinoma gelişme riskini anlamlı derecede artırdığı gösterilmiştir (27).

2.1.2.4. Alkol

Alkol tüketimi, sigaradan sonra en önemli kanser nedenlerinden biri olarak bilinmektedir. Alkole bağlı kanserlerde genetik duyarlılığın önemli bir rol

oynadığı ve alkolün karsinogenik etkisinin olası mekanizmalarını ortaya çıkaran bilgilerde, son dönemlerde artışların yaşandığı görülmektedir. Alkoliklerde; asetaldehitin meydana getirdiği DNA hasarı, östrojen konsantrasyonunda artış, alkolün diğer karsinogenler için çözücü olması, reaktif oksijen ve nitrojen türlerinin üretimi, folat metabolizmasındaki değişiklikler, etanolün neden olduğu DNA hasarı, beslenmede yetersizlikler (özellikle vitamin A) ve immün sistemde zayıflamanın kanser oluşmasında olası mekanizmalar olduğu tanımlanmış ve nedenin tam olarak aydınlatılması amacıyla çalışmalara devam edilmektedir. Güçlü bir bağlantı rapor edilmemekle birlikte, DNA'daki bağlantı bölgesi değişiklikleri ile alkol kullanan ve kullanmayanlar arasında kanser riski açısından küçük ve genellikle anlamlı olmayan farklılıklar bulunmaktadır (28).

2.1.2.5. Mesleki ve Çevresel Maruziyetler

Mesleki bazı ajanların akciğer kanserine yol açtığına dair kanıtlar sunan çalışmalar mevcuttur. Avrupa Birliğinde çalışanların %23'ünün mesleki karsinogen maruziyetinde olduğu belirlenmiştir (13,28,29). Akciğer kanseri için en önemli mesleki risk faktörü, asbest maruziyetidir. Asbest maruziyetinde akciğer kanseri riski 5 kat artarken, sigara ile birlikte olduğunda bu risk 50–100 kat artmaktadır. Asbestten başka mesleki olarak radon, krom, nikel, kömür, kadmiyum, uranyum parçalanma ürünleri, demir, arsenik, alüminyum, polisiklik aromatik hidrokarbonlar, dizel partikülleri ve formaldehite maruz kalmak da akciğer kanseri riskini arttırmaktadır (13,28,29). Asbest maruziyetine benzer şekilde, mesleksi radon maruziyetinde risk 20 kat artmaktadır (13).

Asbest doğada bulunan, ısıya ve kimyasal maddelere dayanıklı olan 6 farklı fibröz silika mineraline verilen genel addır. Gemi, uçak, otomobil ve inşaat sanayide, ayrıca tekstil endüstrisinde kullanılmaktadır. Bu fiberlerden Amfibol geçmişte oldukça yaygın olarak kullanılmışsa da, asbestozis, bronşial kanser, malign mezotelyoma, gastrointestinal, orofarenks ve nazofarenks kanserlerine sebep olduğu tespit edilmiştir (30). Türkiye'de İç Anadolu Bölgesi başta olmak üzere birçok yörede çevresel asbest maruziyeti mevcuttur. Asbest liflerinin inhalasyonuna bağlı olarak akciğer kanseri gelişebilmekte ve bu risk kümülatif asbest maruziyetiyle orantılı artmaktadır. Asbest maruziyeti ve sigara içimi birlikteliği akciğer kanseri riskini, sinerjistik etkileriyle daha da arttırmaktadır

(31). Krizolit diğer asbest liflerine göre daha az zararlı olmakla birlikte, krizolit toksisitesinin mitojenik potansiyeli olduğu gösterilmiştir (30).

Sigaradan sonra akciğer kanserinin ikinci en sık nedeninin radon olduğu belirlenmiştir (14). Radon, uranyumun ve radyumun kırılmasıyla doğal olarak oluşan bir gazdır. Genellikle toprak ve suda bulunur. Radonla ilişkili risk artışı, konutlarda ortama yayılan parçalanma ürünlerinin inhalasyonu ile ilişkilidir. İnhalasyonun radonun karsinojenik etkisi, partiküle radon emülsiyonundan daha fazladır. Akciğer kanserinin %2-14'ünden, radonun sorumlu olabileceği ileri sürülmektedir (13,32,33). Nitekim yapılan hayvan deneylerinde, 8 GSD (Geometrik Standart Deviation) dozundan fazla radona maruz kalan farelerde, akciğer kanseri riskinin arttığı gözlenmiştir (34).

Hava kirliliğinin akciğer kanseri üzerine olan etkisini ölçmek; uzun süreli doz ve yoğunluk ölçümü gerektirmesi, beraberindeki diğer risk faktörlerinin sinerjik etkileri ve akciğer kanserinin klinik olarak ortaya çıkmasının uzun yıllar alması gibi nedenlerle oldukça güçtür (35). Tüm bu güçlüklerle rağmen, hava kirliliğinin akciğer kanseri riskini artırdığını gösteren çok sayıda prospektif çalışma mevcuttur (35). Özellikle beraberinde sigara kullanımı veya mesleki maruziyet varlığında sinerjistik etki ile bu risk daha da artmaktadır (35). Başta PAH, arsenik, dizel partikülleri, nikel, krom gibi metaller olmak üzere fosil yakıt ürünleri, motorlu araçların egzoz dumanı ve kömür dumanı hava kirliliğine yolaçan karsinojenik etkenlerdir. Hava kirliliğinin yoğun olduğu kentlerde yaşayanlarda, kırsal kesimde yaşayanlarla karşılaştırıldığında küçük hücreli akciğer kanseri iki, büyük hücreli akciğer kanseri 1.2–3.4 kat daha fazla görülmektedir (35). Ayrıca kentlerde yaşayan kişilerde akciğer kanseri mortalitesi, kırsal alanda yaşayanlara kıyasla %30–40 daha fazladır (36). Deneysel olarak dizel partikülleri, karbon ve sigara dumanının gen promotor bölgelerinde metilasyonu artırarak, PAH ise DNA hasarına yol açarak akciğer kanseri riski olasılığını arttırdığı gösterilmiştir (36).

2.1.2.6. Diyet

Beslenme alışkanlığı, akciğer kanseri üzerinde hem koruyucu hem de zarar verici etkilere sahiptir. Tüm kanser ölümlerinin %30-40'ının sağlıklı yaşam ve beslenme ile önlenebileceği öngörülmektedir (37). Sebze ve meyveler,

içerdikleri antioksidan ve vitaminler sayesinde koruyucu gıdalardır. Bilinen en önemli koruyucu ise beta karotenlerdir. Elma, greyfurt, kırmızı şarap, domates, havuç, brokoli, soya ve çayda bulunan flavonoidlerin akciğer kanserine karşı koruyucu olabileceği, zeytinyağı, omega-3 ve omega-6 yağ asitlerinden zengin diyetin akciğer kanserini azalttığı tespit edilmiştir (37,38). Diyetinde β -karoten/retinol miktarı yüksek olan olgularda, akciğer kanserinin göreceli riski 0.59'a düşmektedir (13). Vitamin E ve selenyum, benzer şekilde antioksidan etkiyle riski azaltmaktadır. Yüksek yağlı diyetle beslenen sigara tiryakilerinde akciğer kanseri riskinin arttığı gösterilmiştir (13).

Çay (özellikle yeşil çayın) kanserden koruyucu özelliği olduğu ve metastazı önlediği, doymuş yağlardan ve kolesterolden zengin diyetin akciğer kanseri riskini arttırdığını gösteren veriler mevcuttur (13,38).

2.1.2.7. Akciğer Hastalıkları

Tüberküloz, bronşektazi, pnömoni, abse, pulmoner emboli, interstisyel akciğer hastalıkları gibi akciğerde skar bırakan hastalıklarda, skar dokusunun kanser gelişimine zemin oluşturduğu bilinmektedir (13). Örneğin akciğer tüberkülozu geçiren olgularda akciğer kanseri gelişme riski 8 kat fazladır (13).

2.1.2.8. Genetik Yatkınlık

Akciğer kanseri riski, akciğer kanserli hastaların hem sigara içen, hem de içmeyen akrabalarında 2.4 kat fazladır (13). Birinci ya da ikinci derece yakınlarında herhangi bir organ kanseri öyküsü olan Çinli kadınlarda, akciğer kanseri riskinin 1.9 kat arttığı gösterilmiştir (39). Artmış ailesel riskin yaş, cinsiyet, mesleksi maruziyet ve sigara içiciliğinden bağımsız olduğu; akciğer kanserine predispozisyon yaratan nadir bir otozomal genin Mendelyen kodominant kalıtımı ile ilişkili olduğu ileri sürülmektedir (32). Ailesinde akciğer kanseri öyküsü olan hastalarda; hastanın yaşı, sigara öyküsü, kanserin histolojik tipi ve evresinden bağımsız olarak, yaşam beklentisi daha kısa ve mortalitesi daha yüksek bir hastalık seyri gözlenmektedir (40).

Bireylerin %10-20'sinde akciğer kanseri gelişmesi ve pasif sigara dumanına maruz kalan ve ailesinde DNA onarım kapasitesi fonksiyon bozukluğu bulunan bireylerde, akciğer kanseri riskinin 3.8 kat arttığının saptanması gözönüne alındığında, akciğer kanseri etyolojisinde genetik yatkınlık dikkati çekmektedir

(18,32,41). Genetik aktarım, akciğer kanseri gelişiminde, asbest, radon, alkol ve sigaradan sonra en önemli risk faktörüdür.

Kritik düzenleyici yollardaki genetik değişimler, karsinogeneze yatkınlığa neden olabilir. Ksenobiyotik metabolizması düzenlemeleri, genom stabilitesinin kontrolü, DNA onarım mekanizmaları, hücre döngüsü kontrol noktaları, apoptozis, mikroçevresel faktörlerin kontrolü, matriks metalloproteinazlar, hipermetilasyon başlatıcılar, inflamasyon ve büyüme faktörleri olaylarındaki değişimler, karsinogeneze neden olabilir (42). Akciğer kanserinin kliniğine bakıldığında birçok (~10–20) gende mutasyonlar ve ekspresyon anormalliklerini içeren genetik değişikliklerin olduğu görülmektedir. Kanser gelişiminden önce preneoplastik solunum epitellerindeki lezyonlarda, bu genetik değişimlerin bazılarının saptanabilmesi ile yüksek riskli bireylerde erken müdahale ve kanser gelişiminin kimyasallarla önlenmesi (chemoprevention) ile hayatta kalma oranlarında artış görülebilir (43). DNA onarım kapasitesinin ve bunun kanser duyarlılığı üzerine etkilerinin epidemiyolojisini aydınlatmak amacıyla yapılan çalışmalar, önemli bir alan oluşturmaktadır (44). Akciğer kanseri hastalarında sağlıklı bireylerle karşılaştırıldığında, DNA onarım kapasitesinin daha düşük olduğu bulunmuştur. Moleküler epidemiyoloji çalışmaları, DNA onarım genotipindeki değişimlerin akciğer kanseri duyarlılığını değiştirebileceğini göstermektedir (45).

2.1.3. Sınıflandırma (Histopatolojik)

Akciğer kanserlerinin sınıflandırılması; hastaların tedavisinde uyum sağlanmasının yanısıra epidemiyolojik ve biyolojik çalışmaların temelini oluşturması açısından da oldukça önem taşımaktadır. Dünya Sağlık Örgütü'nün (DSÖ) akciğer tümörleri sınıflaması ilk olarak 1981 yılında yapılmıştır. Bu tarihten sonra patolojik tanı yöntemleri ve kriterlerinde belirgin değişiklikler gerçekleşmiş ve sınıflama DSÖ tarafından 2004 yılında yeniden düzenlemiştir (Tablo 1) (46).

Tablo 1: Malign Akciğer Tümörlerinde Histolojik Sınıflama (DSÖ, 2004)

Malign Epitelyal Tümörler	Mezenkimal tümörler
Skuamoz hücreli karsinom	Epiteloid hemanjiyom
Papiller	Anjiyosarkom
Berrak hücreli	Plöropulmoner blastom
Küçük hücreli	Kondroma
Bazaloid	Konjenital peribronşiyal miyofibroblastik tümör
Küçük hücreli karsinom	Diffüz pulmoner lenfanjiyomatozis
Kombine küçük hücreli karsinom	İnflammatuar miyofibroblastik tümör
Adenokarsinom	Lenfanjiyoleiomyomatozis
Adenokarsinom, mikst tip	Sinovyal sarkom
Asiner adenokarsinom	Monofazik
Papiller adenokarsinom	Bifazik
Bronkioloalveoler	Pulmoner arter sarkoması
Non-müsinöz	Pulmoner ven sarkoması
Müsinöz	Benign epitelyal tümörler
Mikst müsinöz ve non-müsinöz ya da belirsiz hücre tipi	Papillomalar
Müsin salgılayan solid adenokarsinom	Skuamoz hücreli papillom
Fetal adenokarsinom	Ekzofitik
Müsinöz (kolloid) karsinom	Ters yerleşimli
Müsinöz kistadenokarsinom	Glandüler papilloma
Taşlı yüzük hücreli adenokarsinom	Mikst skuamoz hücreli ve glandüler papilloma
Berrak hücreli adenokarsinom	Adenomalar
Büyük hücreli karsinom	Alveoler adenoma
Büyük hücreli nöroendokrin karsinom	Papiller adenoma
Kombine büyük hücreli nöroendokrin karsinom	Tükrük bezi tipi adenom
Bazaloid karsinom	Müköz bez adenomu
Lenfoepitelyoma benzeri karsinom	Pleomorfik adenom
Berrak hücreli karsinom	Diğerleri
Rabdoid fenotipinde büyük hücreli karsinom	Müsinöz kistadenom
Adenoskuamoz karsinom	Lenfoproliferatif tümörler
Sarkomatoid karsinom	MALT tipi marjinal zon B-hücre lenfoması
Pleomorfik karsinom	Diffüz büyük B hücreli lenfoma
İğ hücreli karsinom	Lenfomatoid granülomatozis
Dev hücreli karsinom	Langerhans hücreli histiyositozis
Karsinosarkom	Çeşitli tümörler
Pulmoner blastom	Hamartoma
Karsinoid tümörler	Sklerozan hemanjiom
Tipik karsinoid	Berrak hücreli tumor
Atipik karsinoid	Germ hücreli tumor
Tükrük bezi tipindeki karsinomlar	Teratom, matür
Mukoepidermoid karsinom	İmmatür
Adenoid kistik karsinom	Diğer germ hücreli tümörler
Epitelyal-miyoepitelyal karsinom	İntrapulmoner blastom
Preinvazif lezyonlar	Melanoma
Skuamoz hücreli in situ karsinom	Metastatik tümörler
Atipik adenomatoz hiperplazi	
Diffüz idyopatik pulmoner nöroendokrin hücre hiperplazisi	

2.1.4. Tanı ve Evreleme

2.1.4.1. Evreleme

Akciğer kanserli hastaların prognoz özelliklerine göre gruplanması ve tedavilerinin planlanmasına duyulan ihtiyaç, evreleme sisteminin geliştirilmesine yol açmıştır. İlk kez 1946'da Denoix tarafından önerilen TNM sistemi, 1966'da "International Union Against Cancer" (UICC) ve 1973'de "American Joint Committee on Cancer" (AJCC) tarafından akciğer kanserlerine uyarlanmıştır. Bu iki farklı yaklaşım 1986'da AJCC ve UICC'nin yıllık toplantılarında yeniden gözden geçirilip "Uluslararası Akciğer Kanseri Evreleme Sistemi" adı altında tek bir sistem haline getirilmiştir. Bu evreleme sisteminde Evre I, II ve IIIA içindeki TNM alt gruplarının prognoz açısından oldukça heterojen olduğu gözlenmiştir. Evreleme sisteminin daha özgül hale getirilmesi amacıyla AJCC ve UICC'nin 1996 yıllık toplantılarında da onaylanan yeni bir düzenleme yapılmıştır: Evre I ve II, T'nin durumuna göre A ve B olarak ikiye bölünmüş, T3N0M0, T2N1M0 ile benzer prognoz özelliklerine sahip olması nedeniyle IIB'ye alınmıştır. T4 kavramı içine yeni bir tanımlama (tümörle aynı lobda satellit lezyon) eklenmiş, tümörden farklı lobdaki satellit lezyon ise M1 kavramı içine dahil edilmiştir (Tablo 2). Yeni evreleme sisteminin skuamöz hücreli, adenokarsinom (bronkioloalveoler dahil), büyük ve küçük hücreli olmak üzere akciğer kanserinin 4 ana tipinin yanı sıra spesifik alt grubu belirlenememiş indifferansiyel karsinoma da uygulanması önerilmiştir (47,48).

Evreleme çeşitleri, klinik, cerrahi, patolojik, tedavi sonrası ve otopsi evrelemesi şeklinde adlandırılır.

Akciğer kanserli bir hasta değerlendirilirken tanı ve tedavinin değişik dönemlerinde farklı evrelendirmeler yapılmaktadır;

cTNM: Klinik evrelendirme. Radyolojik ve metabolik yöntemlerle yapılan değerlendirme esnasındaki evrelendirmedir. Bu evrelendirmeye göre hastaya tedavi planlaması yapılır.

sTNM: Cerrahi evrelendirme. Ameliyat esnasında cerrah tarafından yapılan evrelendirmedir.

pTNM: Patolojik (cerrahi sonrası) evrelendirme. Ameliyat esnasında alınan dokuların histopatolojik olarak değerlendirilmesi sonrasında yapılan evrelendirmedir.

rTNM: Tedavi sonrası yeniden evrelendirme. Primer tedavi sonrası halen hastalığı bulunan bir hastanın yeniden evrelendirilmesini tanımlar.

aTNM: Otopsi evrelendirmesi. Akciğer kanserli bir hastaya yapılan post-mortem evrelendirmeyi tanımlar.

Tablo 2: TNM sınıflaması (49)

Primer Tümör (T)	
Tx	Primer tümörün belirlenememesi veya balgam ya da bronş lavajında malign hücrelerin tespit edilip görüntüleme teknikleri ya da bronkoskopi ile tümörün gösterilememesi
T0	Primer tümör belirtisi yok
Tis	Karsinoma in situ
T1	En geniş çapı ≤ 3 cm, akciğer veya viseral plevra ile çevrili, bronkoskobik olarak lob bronşundan daha proksimale invazyon göstermeyen tümör (örn; ana bronş invazyonu yok)*
T2	Tümörün aşağıdaki özelliklerden en az birine sahip olması: - En geniş çapı > 3 cm - Ana bronş invaze, ancak karinaya uzaklık ≥ 2 cm - Viseral plevra invazyonu - Hiler bölgeye ulaşan, ancak tüm akciğeri kapsamayan atelektazi ya da obstrüktif pnömoni.
T3	Tümör herhangi bir büyüklükte; göğüs duvarı (superior sulkus tümörleri dahil), diyafragma, mediastinal plevra, pariyetal perikard gibi yapılardan herhangi birine direkt invaze veya Ana bronшта, karinaya 2 cm'den daha yakın ancak karinayı tutmamış veya Bütün akciğeri kapsayan atelektazi ya da obstrüktif pnömoni ile birlikte
T4	- Tümör herhangi bir büyüklükte; mediasten, kalp, büyük damarlar, trakea, özofagus, vertebra korpusu, karina gibi yapılardan herhangi birine invaze veya - Malign plevral veya perikardiyal sıvı ile birlikte** veya - Tümörle aynı lob içinde satellit nodül veya nodüller mevcut
Bölgesel Lenf Bezi (N)	
Nx	Bölgesel lenf bezlerinin değerlendirilememesi
N0	Bölgesel lenf bezi metastazı yok
N1	Aynı taraf peribronşiyal ve/veya aynı taraf hiler lenf bezlerine metastaz ve primer tümörün direkt yayılması ile intrapulmoner bezlerin tutulması
N2	Aynı taraf mediastinal ve/veya subkarinal lenf bezlerine metastaz
N3	Karşı taraf mediastinal, hiler, aynı veya karşı taraf supraklavikuler veya skalen lenf bezi metastazı
Uzak Metastaz (M)	
Mx	Uzak metastaz varlığının değerlendirilememesi
M0	Uzak metastaz yok
M1	Uzak metastaz var***
* Ana bronşun proksimaline uzanan bronşiyal duvara sınırlı invaze, herhangi bir büyüklükteki yüzeysel tümör de T1 grubuna girer.	
*Akciğer kanseri ile birlikte olan plevral efüzyonların çoğu tümöre bağlıdır. Bazı hastalarda plevral sıvının yinelenen sitolojik incelemelerinde tümör saptanamaz. Bu olgularda sıvı kanlı ve eksüda özelliğinde değildir. Klinik durum ve sıvının özellikleri tümörü düşündürmüyorsa, sıvı evrelemede dikkate alınmamalı ve hasta T1, T2 veya T3 olarak değerlendirilmelidir. Perikardiyal sıvı da aynı kurallara göre değerlendirilmelidir.	
*** Tümörün olduğu lob dışındaki tümör nodülleri de M1 olarak sınıflandırılır.	

Lenf nodlarını daha standart bir şekilde değerlendirmek amacıyla haritalar geliştirilmiştir. İlk kez Naruke ve arkadaşları tarafından tanımlanan lenf nodu haritası, “AJCC “ ve “Prognostic Factors TNM Committee of the UICC” ‘nin 1996 yıllık toplantısında düzenlenmiş ve kullanılması önerilmiştir (Tablo 3, Tablo 4, Resim 1, Resim 2) (49).

Tablo 3: N₁ Lenf nodları

10 - Hiler	Mediastinal plevranın distalinde lob bronşları ayrılmadan önceki alanda yer alan, sağda intermediyer bronşa kadar uzanan proksimal lobar lenf bezleri
11 - İnterlober	Lobar bronşlar arasında kalan lenf bezleri
12 - Lobar	Lobar bronşların distalindeki lenf bezleri
13 - Segmental	Segment bronşuna komşu lenf bezleri
14 - Subsegmental	Subsegment bronşu çevresindeki lenf nodları

Tablo 4: N2 Lenf nodları

1 - Üst mediastinal	Brakiosefalik venin üst kenarının trakeanın orta hattını çaprazladığı noktadan geçen horizontal doğrunun üstünde kalan lenf bezleri
2 - Üst paratrakeal	1 nolu lenf nodlarının alt sınırının altında ve aort kavsinin üst kenarından geçen horizontal hattın üzerinde kalan lenf nodları
3 - Prevasküler / Retrotrakeal	Tümör ile aynı taraf olduğu kabul edilen orta hat lenf nodları
4 - Alt paratrakeal	Sağda: Trakea orta hattının sağında; aort kavsinin üst kenarından geçen doğrunun altında, üst lob bronşunun en üst kenarı hizasına kadar ana bronşu da kapsayan alanda yer alan ve mediastinal plevra içinde kalan lenf bezleri Solda: Trakea orta hattının solunda; aort kavsinin üst kenarından geçen doğrunun altında, üst lob bronşunun en üst kenarı hizasına kadar ana bronşu da kapsayan ligamentum arteriyozumun sağındaki alanda yer alan ve mediastinal plevra içinde kalan lenf bezleri
5 - Subaortik	Ligamentum arteriyozumun ya da aortanın ya da sol pulmoner arterin lateralinde, sol pulmoner arterin ilk dalının proksimalinde ve mediastinal plevra içinde yer alan lenf bezleri
6 - Paraaortik	Çıkan aortanın ve aortik kavsin ya da innominant arterin önünde ve yanında yer alan lenf bezleri; üst sınır aortik kavsin üst sınırı hizasıdır
7 - Subkarinal	Karınanın alt seviyesinde yer alan lenf bezleri
8 - Paraözefagial	Özofagusa komşu lenf bezleridir, subkarinal nodlar hariç
9 - Pulmoner ligament	Pulmoner ligamentin içindeki lenf bezleridir, posterior duvarda ve inferior pulmoner venin alt bölümünde yer alır.

N2 lenf nodları (49)

▪ Üst Mediastinal Lenf Nodları

- 1-Yüksek Mediastinal
- 2-Üst Paratrakeal
- 3-Prevasküler ve retrotrakeal
- 4-Alt Paratrakeal

▪ Aortik nodlar

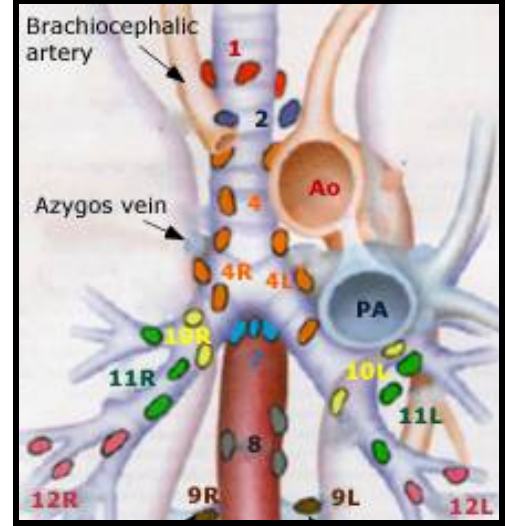
- 5-Subaortik (A-P Pencere)
- 6-Paraaortik

▪ Alt Mediastinal Lenf Nodları

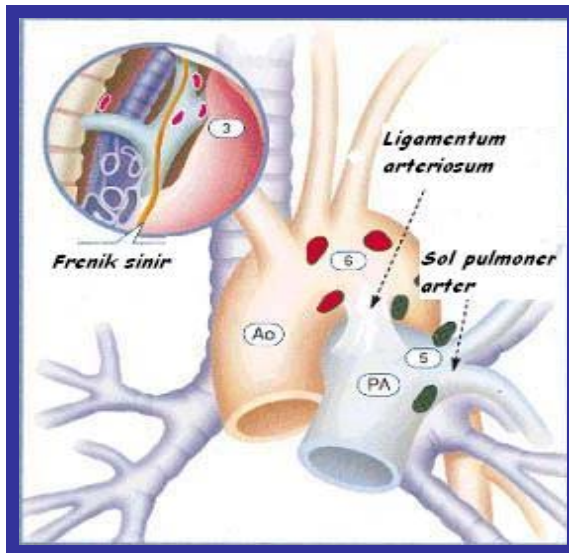
- 7-Subkarinal
- 8-Paraözofajial
- 9-Pulmoner ligaman

N1 lenf nodları

- 10-Hiler
- 11-İnterlober
- 12-Lober
- 13-Segmental
- 14-Subsegmental



Resim 1: Mediastinal lenf nodları (49)



Resim 2: Aortik nodlar (49)

Evrelemede Özel Durumlar (50)

- ✓ Rekürren laringeal sinir invazyonu T4 olarak kabul edilirken, rekürren laringeal sinir ayrıldıktan sonra vagus invazyonu T3 olarak tanımlanır.
- ✓ Pulmoner arter ve venin perikard içinde invazyonu T4, perikard dışında invazyonu T3 olarak değerlendirilir.
- ✓ Bronkioloalveoler karsinomun evrelendirilmesinde eğer multisentrik dağılım gösteriyor ve lezyonlar bir lobla sınırlı ise T4, birden fazla loba dağılmış ise M1 olarak değerlendirilir.
- ✓ Sempatik gangliyonların invazyonunun bulunduğu süperior sulkus tümörleri T3 (Horner sendromu dahil) kapsamında değerlendirilirken, brakial pleksusun rezeke edilemeyecek kadar geniş bir şekilde tutulmasından kaynaklanan gerçek “Pancoast” sendromu (Horner sendromu ve C8-T1 düzeyinde ağrıyla birlikte kol, el ve parmak kaslarında atrofi) T4 olarak değerlendirilir.
- ✓ Diyafragma ve toraks duvarının direkt olarak invazyonu T3, tümörle komşuluk olmadan ortaya çıkan tutuluşlar M1 olarak değerlendirilir.
- ✓ Visseral plevranın direkt invazyonu T2, malign sıvı olmadan parietal plevranın invazyonu ise T3 olarak evrelendirilir. Eğer tümörle direkt komşuluk olmadan visseral veya pariyetal plevra tutuluşu varsa (malign sıvı olsun veya olmasın) T4 olarak değerlendirilir.
- ✓ Tümörün diyafragmayı da geçerek batın organlarını direkt olarak invaze etmesi T4 olarak değerlendirilir.
- ✓ Vertebraya komşu olan tümörlerde korteks ya da kostatransvers foramen invazyonu T4, radyolojik olarak vertebrada tümöre bağlı erozyon gösterilemediğinde, sadece çevre yumuşak dokuya invazyon (plevra, prevertebral fasya veya periost) varsa bu durumda tümör, T3 olarak değerlendirilmelidir. Ancak cerrahi ile periost invazyonu ispatlanırsa lezyon patolojik olarak T4 olarak evrelendirilir.
- ✓ Senkron tümör olarak değerlendirilen lezyonlar birbirinden bağımsız olarak evrelendirilir.

- ✓ Mediastene derin invazyon olmadan frenik sinir invazyonu T3 olarak değerlendirilir.
- ✓ Mediastinal organlar tutulmadan sınırlı düzeyde sadece mediastinal plevra ve yağ dokusu invazyonu T3 olarak değerlendirilir.
- ✓ Azigos veni invazyonu T3 olarak evrelendirilir (Tablo 5).

Tablo 5: TNM Evreleme Sistemi (Uluslararası Akciğer Kanseri Araştırmaları Birliği- 1996)

E v r e	TNM alt grup
Okült karsinom	TxN0M0
Karsinoma in situ	TisN0M0
IA	T1N0M0
IB	T2N0M0
IIA	T1N1M0
IIB	T2N1M0
	T3N0M0
IIIA	T3N1M0
	T1N2M0
	T2N2M0
	T3N2M0
IIIB	T4N0M0
	T4N1M0
	T4N2M0
	T1N3M0
	T2N3M0
	T3N3M0
	T4N3M0
IV	Herhangi T Herhangi N M1

Ancak yukarda belirtilen TNM evreleme sistemi, toplanan veriler eşliğinde Uluslararası Akciğer Kanseri Araştırma Birliği tarafından tekrar gözden geçirilmiş ve 2009 yılında yayınlanacak olan yenilenmiş 7. TNM evreleme

sistemi oluşturulmuştur (51,52). Yeni düzenlemede aşağıda sıralanan önemli değişiklikler yer almaktadır:

- ✓ **1. Değişiklik:** T1 tümörler boyutlarına göre; T1a (≤ 2 cm), T1b (> 2 cm) olarak iki alt gruba ayrılmıştır.
- ✓ **2. Değişiklik:** T2 tümörler boyutlarına göre; T2a (> 3 ve < 5 cm), T2b (> 5 cm ve < 7 cm) , T2c (> 7 cm) olarak üç alt gruba ayrılmıştır.
- ✓ **3. Değişiklik:** T2c > 7 cm olan tümörlerin T3 olarak evrelendirilmesi gerektiği
- ✓ **4. Değişiklik:** Primer lobda bulunan nodülün T4 yerine T3 olarak evrelendirilmesi
- ✓ **5. Değişiklik:** Aynı taraf farklı lobda yeralan nodülün, M1 yerine T4 olarak evrelendirilmesi
- ✓ **6. Değişiklik:** Malign plevral sıvı varlığının T4'ten M1'e evrelendirilmesi. M1'in toraksa lokal veya uzak olmasına göre M1a ve M1b olarak ayrışması.

2.1.4.2. Tanı ve Evreleme Yöntemleri

1- Non-İnvaziv Yöntemler

- Görüntüleme yöntemleri
 - Akciğer grafisi
 - BT, YRBT
 - MR
 - Radyonüklid ynt. ler
- Balgam sitolojisi
 - İndüklenmiş balgam

2- İnvaziv Yöntemler

- Bronkoskopi
 - Bronş lavajı, BAL

- Bronş biopsisi
- Transbronşiyal biopsi
- Transbronşiyal aspirasyon
- Transtorasik aspirasyon/ biopsi
- Torasentez/plevra biopsisi
- Torakoskopi
- Mediastinoskopi
- Mediastinotomi
- Torakotomi

2.1.4.2.1. Non-İnvaziv Yöntemler

Akciğer hastalıklarında ilk seçilen görüntüleme yöntemi direkt grafiler ve bunlar içinde de en sık kullanılanı posteroanterior ve lateral akciğer grafileridir. İleri evre evre kanserlerde belirgin lezyonlar net bir şekilde seçilebileceği gibi, özellikle erken dönemde bazı olgularda lezyonlar gözden kaçabilmektedir. Eşlik eden atelektazi, postobstrüktif pnömoni, kot erozyonu, plevral effüzyon ve mediastinal lenfadenopati (LAP) primer akciğer kanserini düşündüren grafi bulgularıdır (53).

2.1.4.2.1.1.Direkt Akciğer Grafileri

Posteroanterior (PA) grafi: Toraks organları ve lezyonları gerçek boyutlarında görüntülenebilir (54).

Sağ veya sol lateral grafi: Retrosternal ve retrokardiyak akciğer alanları PA akciğer grafilerinde süperpozisyon nedeniyle görüntülenememektedir. Bunun dışında akciğer parankimi içerisinde yer alan lezyonların, üst veya alt lob yerleşimli oldukları ve segment lokalizasyonları lateral grafi yardımıyla değerlendirilebilir (54).

Anterior- posterior oblik grafiler: Ekokardiyografi yaygın kullanıma girmeden önce sıklıkla kullanılan bir yöntem olup, özofagus baryumla doldurularak gerçekleştirilir. Özofagusun sol atriyumla komşuluğundan yola çıkılarak özellikle PA grafilerde izlenemeyen sol atriyum ve diğer kalp odacıklarındaki genişleme gösterilebilir. Özellikle anterior oblik grafiler bu amaçla kullanılırlar.

Dekübitus grafleri: Plevral sıvının tespitinde ve sinüsdeki kapalılığın plevral sıvı, pnömonik konsolidasyon veya parankimal volüm kaybı kaynaklı olduğunun araştırılmasında kullanılır. Hasta, sıvı şüphesi olan tarafa yatırılarak, sıvının plevra boyunca yayılması ve bu sayede sinüslerdeki obliterasyonun nedeninin sıvıya ait olduğunun saptanması prensibine dayanır.

Apikal ve Lordotik grafler: Posteroanterior grafide iyi izlenemeyen apeks lezyonlarının görüntülenmesinde faydalıdır. Lordotik grafi de aynı şekilde orta lob patolojilerinde kullanılır (54).

2.1.4.2.1.2. Bilgisayarlı Tomografi

Toraks BT akciğer kanserlerinin tanısı ve evrelemesi için en sık kullanılan standart tekniklerden biridir (55-57). Toraks BT, toraks içerisindeki tümörün lokalizasyonunu, büyüklüğünü ve anatomik yapılar ile ilişkisini göstermekte ve ayrıca mediastinal lenf nodlarının değerlendirilmesinde de kullanılmaktadır. Sıklıkla lenfadenopatinin kısa aksının ≥ 1 cm olması patolojik kabul edilmekle birlikte, kısa aksın ya da uzun aksın $\geq 1.5-2$ cm olmasını patolojik kabul eden çalışmalarda vardır (56). Toraks BT'nin bu alandaki duyarlılığı yüksek, özgüllüğü düşüktür. Çünkü BT nin değerlendirdiği lenf nodunun boyutudur ve inflamatuvar hastalığa bağlı lenf nodu büyümelerini metastazdan ayıramadığı gibi, 10 mm'den küçük lenf nodlarındaki mikroskopik metastazları da gösteremez (58). Normal boyutta görülen lenf nodlarında %10-64 oranında mikrometastaz bulunabilmektedir (59). Postobstrüktif pnömoni olgularında toraks BT'nin bu konudaki özgüllüğü belirgin olarak azalmaktadır (60-62). Toraks BT'de büyümüş lenf nodu olmayan %7-64 olguda, cerrahide N2 lenf nodu saptanabilmektedir (60,61).

2.1.4.2.1.3. Magnetik Rezonans Görüntüleme

MRG iyonizan radyasyon içermeyen, her düzlemde görüntüleme yapılabilen bir tanı yöntemidir ve akciğer kanserlerinin değerlendirilmesinde ikincil görüntüleme yöntemi olarak kullanılmaktadır (63). BT gibi MRG de sadece anatomik yapıyı değerlendirir. Bu nedenle lezyonların benign ya da malign olduğunun anlaşılması güçtür (60,64). MRG'nin hilar- mediastinal lenf nodu görüntülenmesinde ve primer lezyon boyutunun saptanmasında toraks BT'ye üstünlüğü gösterilememiştir (57,64,65). MRG'de lenf nodları ile damarsal yapı

ayrımı BT'ye göre daha üstündür. Bu nedenle hiler ve aortikopulmoner bölgedeki lenf nodlarını değerlendirmede daha kesin sonuçlar verebilmektedir (66). Süperior sulkus tümörlerinde özellikle brakial pleksus invazyonlarını saptamada ve tümörün mediasten, vertebra, göğüs duvarı ve diyafragma invazyonunun değerlendirilmesinde kullanılması önerilmektedir (56,63,65).

2.1.4.2.1.4. Ultrasonografi

Daha çok plevral sıvının miktarının bilinmesinde ve plevral sıvıya eşlikli septasyonların gösterilmesi ile akciğer kanserinde metastaz taraması amaçlı olarak özellikle üst batın bölgesi için kullanılır (67). Ayrıca iğne biyopsilerinde BT kadar sık olmasa da lokalizasyonu belirlemek amaçlı da kullanılabilir.

2.1.4.2.1.5. Floroskopi

Diyafragma hareketlerinin izlenmesinde ve akciğerde şüpheli lezyonların saptanmasında kullanılan dinamik bir yöntemdir. Mide filmlerinin çekildiği cihaz ile herhangi bir opak madde kullanılmadan, hareket izlenir. Frenik sinir paralizilerinde diyafragma hareketlerinin izlenmesinde kullanılabileceği gibi büyük akciğer lezyonlarının biyopsisinde de faydalıdır (67).

2.1.4.2.1.6. Balgam Sitolojisi

Balgam sitolojisi, akciğer kanserinin tanısında invaziv olmayan, duyarlılığı %20–90 arasında değişen bir yöntemdir. Tümörün santralde ve üst lobda yer alması, büyük olması tanı olasılığını arttırmaktadır (57).

2.1.4.2.1.7. Tüm Vücut Kemik Sintigrafisi (TVKS)

Tüm vücut kemik sintigrafisi özellikle hematogen yayılım gösteren malignitelerin kemik metastazlarının saptanmasında kullanılmaktadır. Kemiğe metastaz yapan tümörün reaktif yeni kemik oluşumuna yol açması ilkesine dayanır. Oluşan bu yeni kemiğin kemik mineral ve osteoid dönüşümü normal kemiğe göre daha hızlı olup, kemikte Teknisyum-99m (Tc-99m) ile işaretli difosfonatların birikimi tercihan buralarda olur.

Akciğer kanserinin kemik metastazları en sık vertebra, kostalar, pelvis ve uzun kemiklerin proksimal kısım olmakla birlikte çoğunlukla saf litik lezyonlardır. Osteolitik metastazlar osteoblastik reaksiyona yol açmadıkları için kemik sintigrafisinde yalancı negatiflik gösterebilirler (57).

2.1.4.2.1.8. Pozitron Emisyon Tomografi (PET)

PET taramasında en sık floro-deoksi glikoz (FDG) kullanılmaktadır.

KHDAK'lerinde FDG-PET kullanımı:

- Fokal pulmoner lezyonlarda benign/malign ayırımı
- Mediastinal lenf nodlarında benign/malign ayırımı
- Uzak metastazların belirlenmesi
- Nükslerin belirlenmesi
- Tedaviye yanıtın değerlendirilmesi
- Prognostik bilgi sağlanması

Skuamöz hücreli ve büyük hücreli kanserler en fazla FDG biriktiren tiplerdir. Adenokanserler, özellikle iyi diferansiye iseler daha az glukoz kullanırlar. Bronkioloalveoler kanserler, karsinoidler ve müsinöz kanserler düşük glukoz afinitesi gösteren ve FDG-PET imajlarında yanlış negatif sonuçlara yol açabilen tümör tipleridir (68).

En sık yanlış pozitiflik nedenleri arasında tüberküloz, koksidiomikoz, aspergillöz gibi granulomatöz enfeksiyonlar ve sarkoidoz gibi nonenfeksiyöz granulomatöz hastalıklardır.

Hiler lenf nodu tutulumunun gösterilmesinde FDG-PET'in BT'den üstün olduğu ortaya konmuştur. BT ve FDG-PET'in birlikte kullanılması durumunda lenf nodlarının evrelemede en yüksek doğruluk oranlarına ulaşılmaktadır. KHDAK'lerinde özellikle adrenal ve kemik metastazların ortaya konmasında FDG-PET'in etkinliği gösterilmiştir. FDG-PET ile yapılan bir çalışmada hastaların %13'ünde kemik metastazı tespit edilmiştir ve bunların %75'i semptomsuz bulunmuştur. Karşılaştırmalı araştırmalarda FDG-PET'in kemik metastazları tespit etmedeki duyarlılığı kemik sintigrafisine yakın, özgüllüğü ise daha yüksek bulunmuştur (69).

2.1.4.2.2. Evreleme İçin Kullanılan İnvaziv Yöntemler

2.1.4.2.2.1. Transbronşiyal İğne Aspirasyon Biyopsisi (TB-İAB)

Fiberoptik bronkoskopi günümüzde tanı, evreleme ve bazı durumlarda tedavi amacı ile kullanılmaktadır. Tanı ve evreleme yöntemleri endobronşiyal forseps biyopsi, fırçalama, yıkama, bronkoalveolar lavaj ve Wang iğne aspirasyonu diye de bilinen transbronşiyal iğne aspirasyonudur (70). Bronkoskop içinden bir iğne

kateteri sokulur ve değerlendirilen kitle ya da mediastinal lenf nodunu içeren trakeobronşiyal dalın olduğu alana yönlendirilir. Yeterli örnek alınana kadar birkaç giriş gerekebilir. Tekniğin dezavantajları kör bir biyopsi olması ve sınırlı lenf nodundan örnekleme yapılabilmesidir (71). Transbronşiyal iğne aspirasyonu ile %90 oranında yeterli materyal alınabilir. Daha sık olarak subkarinal ve paratrakeal nodları değerlendirme amacıyla kullanılır 4R ve 7 no'lu istasyonlar yüksek oranda değerlendirilebilmesine karşın 4L ve 5 no'lu istasyonlardan tanı sağlanmasında güçlükler olur. Bir cm'den büyük lenf nodlarında duyarlılığı %57, özgüllüğü %99'dur (72). Yapılan ileriye ve geriye dönük çalışmalarda duyarlılığı %50 - %75, özgüllüğü ise %92 - %100 olarak değişmektedir (73-75). Komplikasyonları arasında bronkoskopiden kaynaklanan laringospazm, öksürük, hipoksemi, aritmi, pnömotoraks ve biyopsiye bağlı endobronşiyal kanamalar görülebilir (70,71,73,76).

2.1.4.2.2.2. Transtorasik İğne Aspirasyon Biyopsisi (TT-İAB) veya Tru-cut Biyopsi

Toraks içinde yer kaplayan ve diğer tanı metodları ile nedeni belirlenemeyen periferik kitlelerin tanısı ile KHDAK'nin evrelemesinde N2 ve N3 lenf nodları açısından evrelemede, özellikle BT eşliğinde yapılacak İAB değerli bir tanı yöntemidir. Ultrasonografi ve daha az sıklıkta floroskopi eşliğinde de uygulanabilir. Genellikle 1.5 cm üzerindeki lenf nodları için uygundur. Yöntemin duyarlılığı uygun koşullarda, sitopatolojide deneyimli bir patolog ile %95'lere ulaşmaktadır. Buna karşın yalancı negatiflik oranı %20 - %50 arasında değişmektedir (71,72,76,77). Kronik obstrüktif akciğer hastalığı, yaygın pulmoner hastalık, kanama diyatezi, pulmoner hipertansiyon, önlenemeyen öksürük, kist hidatik şüphesi, karşı tarafta pnömonektomi öyküsü, arteriyovenöz malformasyon kontrendikasyonlarını oluşturur. Olası komplikasyonları; özellikle kronik obstrüktif akciğer hastalığı olanlarda gelişebilecek pnömotoraks, hemotoraks, hemoptizi, hematoma ve nadiren hava embolisi ile ampiyemdir (73,76,78).

2.1.4.2.2.3. Endobronşiyal Ultrasonografik İğne Aspirasyon Biyopsisi (EBUS - İAB)

Bronşiyal ve mediastinal patolojilerin tanısında kullanımı halen gelişimini sürdürmektedir. Sedasyon altında ultrasonografi probu eşliğinde fleksibil bronkoskop ile görerek uygulanır. Bir, 2, 4, 7 numaralı lenf nodu istasyonlarının yanı sıra 10 ve 11 gibi hiler lenf nodları da örneklenabilmektedir. Alınan örneklerin hasta başı sitopatolojik değerlendirilmesi, tanı elde etmek için gerekli iğne giriş sayısını azaltabilir. Yasufuku ve arkadaşlarının (79) yaptığı çalışmada, duyarlılığı %92.3, özgüllüğü %100 olarak belirtilmiştir. Bu yöntemin avantajı biyopsi için malign olması daha muhtemel lenf nodlarının seçiminde nekroz gibi özelliklerin ultrasonografi ile eş zamanlı değerlendirilebilmesidir (76,80).

2.1.4.2.2.4.Özofajiyal Endoskopik Ultrasonografi ile İğne Aspirasyon Biyopsisi (EUS-İAB)

Aslında gastrointestinal malignitelerin tanı ve evrelemesi amaçlı kullanılmakta olan endoskopik ultrasonografi, mediastinoskopiye alternatif olarak ortaya çıkmıştır. Lineer ekoendoskop gelişimi ile lenf nodlarından biyopsi mümkün hale gelmiştir. İşlem özofagoskop yardımıyla uygulanır. Biyopsi iğnesi ile endoskop içinden geçilerek özofagus duvarından girilir. Paraözofajiyal, inferior pulmoner ligaman ve aortopulmoner penceredeki biyopsi alınacak lenf nodları ultrason yardımı ile tespit edilir. Birkaç lenf nodundan biyopsi yapılabilir olması kullanımını kısıtlar. Bu teknik, subkarinal saha ve inferior mediastinal lenf nodları için mükemmel görüş sağlar (70,71,73,76,81). Sınırlayıcı yönü sağ paratrakeal lenf nodlarını görüntüleme zorluğudur. Bu sınırlama ile BT, PET ya da mediastinoskopinin yerini almak üzere değil ama evrelemede tamamlayıcı yöntem olarak kullanılabilir (70,81). Avantajı, biyopsi için malign olması daha muhtemel lenf nodlarının seçiminde nekroz gibi özelliklerin ultrasonografi ile eş zamanlı değerlendirilebilmesidir (71).

2.1.4.2.2.5.Mediastinoskopi

Mediastinal lenf bezi biyopsisi tanı ve evreleme amaçlı yapılmakla birlikte KHDAK'de en önemli endikasyonu torakotomi öncesi akciğer kanseri evrelemesidir. Standart servikal mediastinoskopi ile pretrakeal, paratrakeal ve anterior subkarinal bölgede 2, 3, 4 ve 7 numaralı lenf nodu istasyonlarından

biyopsi alınmaktadır. İşlem aynı zamanda lenfoma, sarkoidoz, tüberküloz gibi granüloamatöz hastalıkların tanısında da altın standarttır (72,76,82). Komplikasyonlar nadir olmakla birlikte, aritmi gelişebilir, özofagus, torasik kanal, bronş ve trakea hasarı, damar yaralanmasına bağlı kanama, rekürren sinir zedelenmesi, pnömotoraks, hematoma ya da cilt enfeksiyonu gelişebilir. Toloza'nın (71), 5687 hastayı içeren 14 serilik derlemesinde duyarlılığı %67 - %92 arasında değişirken, özgüllüğü %100'dür. Yalancı negatif sonuç %10'un altında iken, yalancı pozitif sonuç olmamaktadır (71,76,82,83).

2.1.4.2.2.6. Anterior Mediyastinotomi

Standart servikal mediastinoskopi ile 5, 6 ve posterior 7 numaralı lenf nodu istasyonlarına ulaşılamamaktadır. Özellikle sol üst lob tümörlerinde 5 ve 6 no'lu istasyonların örneklemesi amacıyla mediastinotomi, genişletilmiş mediastinoskopiye alternatif olarak sıklıkla tercih edilen yaklaşımdır. Mc Neil ve Chamberlain tarafından (84), 1966'da tarif edilen şekli ile parasternal olacak şekilde, ikinci veya üçüncü kıkırdak kosta üzerinden 5 cm'lik insizyonu takiben kosta kıkırdak çıkarılarak veya 2 ya da 3. interkostal aralıktan girilerek işlem uygulanır. İnternal torasik arter ve ven bağlanır. Yapılan palpasyon ile lenf bezleri bulunup, direkt olarak veya mediastinoskop ekstraplevral alana yerleştirilmek suretiyle biyopsi alınarak işlem tamamlanır. Plevra açıldığı takdirde drenaj gerekebilir (76,82).

2.1.4.2.2.7. VATS (Video Yardımlı Torakoskopik Cerrahi)

Videotorakoskopik cerrahi basit plevral patolojilerin tanısı için kullanılabildiği gibi bugün her türlü akciğer, özofagus ve mediasten patolojilerinde gittikçe artan sıklıkta kullanılmaktadır. Kullanılma endikasyonları arasında plevra, akciğer, mediasten, perikard biyopsileri, pulmoner nodüllere yönelik wedge rezeksiyon, plörektomiler, bül rezeksiyonları, mediastinal kitle eksizyonları, sempatektomi, akciğer anatomik rezeksiyonları ve mediastinal evreleme sayılabilir (82,85). Bu yöntemle 5 ve 6 numaralı lenf nodlarının yanı sıra üst ve alt paratrakeal lenf nodları, subkarinal nodlar, paraözofajiyal ve inferior pulmoner ligaman lenf nodları da değerlendirilebilir. Potansiyel komplikasyonlarını kanama, persistan pnömotoraks, interkostal sinir ve damar yaralanması, aritmi, anesteziyle ilişkili komplikasyonlar, solunum yetmezliği,

yara enfeksiyonu ve malign tümörün göğüs duvarına implantasyonu oluşturur. Avantajları arasında postoperatif ağrı azlığı, solunum fonksiyonlarının korunması, yoğun bakım ihtiyacının ve hastanede kalış süresinin az olması, tüp drenaj süresinin kısa olması sayılabilir (70,72,76,82,86).

2.1.4.2.2.8. Skalen Lenf Biyopsisi

İntratorasik patolojilerin tanısında kullanılmaya başlanmıştır. Palpe edilen lenf nodları gerektirir. Lenf nodu palpe edilemeyen durumlarda kullanımı tartışmalıdır. Günümüzde bir çok merkezde mediastinoskopi tercih edilmektedir. Lokal anestezi altında palpe edilen lenf bezi üzerinden ya da klavikulanın yaklaşık 2 cm üzerinden sternokleidomastoid kasının lateral sınırı üstünden yapılan insizyon ile gerçekleştirilir. Bölgedeki yağ dokusu anormal lenf bezi bulunmazsa, tamamen çıkarılır (82).

2.1.4.2.2.9. Torakotomi

Tüm tanısal tetkikler sonrası kesin tanı yapılamayan, tümör kuşkulu olan veya histolojik tip tayini-tespiti gereken hastalarda tanısal amaçlı “eksploratris torakotomi” yapılabilenkte, bu tetkik için hastaların operasyona uygun olmaları gerekmektedir (82).

2.2. Genetik Polimorfizm

2.2.1. DNA

İnsan genomu yaklaşık 3×10^9 baz çiftinden oluşmaktadır ve genetik bilgiyi taşıyan yaklaşık 25.000 gen, 46 kromozom içerisinde bulunmaktadır. İnsan DNA'sının yaklaşık %99.9'u iki insan arasında aynıdır ve insanlardaki genetik çeşitlilik DNA zincirindeki küçük farklardan kaynaklanmaktadır. Bazı DNA sekanslarındaki farklar insan fenotipini etkilememekte, bazıları ise direkt hastalığa neden olmaktadır. Bu iki uç arasında anatomik, fizyolojik, tedaviye cevap, ilaçlara karşı yan etki, enfeksiyonlara yatkınlık, kansere yatkınlık ve kişilik özellikleri gibi genetik farklılıklar yer alır (87).

2.2.2. Gen Mutasyonu

DNA nükleolid dizilimindeki değişiklikler mutasyon olarak tarif edilir ve mutasyonlar başlıca üç kategoriye ayrılır: 1- hücrede kromozom sayısını etkileyen mutasyonlar (genom mutasyonu), 2- tek başına kromozomun yapısını etkileyen mutasyonlar (kromozom mutasyonu), 3- genleri etkileyen mutasyonlar

(gen mutasyonları). DNA sekanslarındaki gen mutasyonları tek nükleik asit değişimlerinden binlerce baz çiftini etkileyecek değişimlere kadar uzanır. DNA sekanslarındaki bu değişimler yüksek çözünürlüklü genetik analizlerle görülemeyecek kadar küçüktür ve özel teknikler gerektirir. Genlerdeki nükleotid değişimleri gen ekspresyonunun tamamen kaybına, varyant protein ekspresyonuna veya tamamen normal fenotipik değişikliklere neden olabilir, DNA'daki baz çiftlerinin yer değiştirmesi (substitusyonu) başlıca iki mekanizma ile oluşabilir: 1- DNA'nın normal replikasyonu sırasında oluşan hatalar, 2- DNA hasarının tamirinin yapılamamasından oluşan hatalar. Bazı mutasyonlar spontan olarak bazıları ise fiziksel veya kimyasal mutajenler aracılığı ile oluşur (87).

2.2.3. Mutasyonların Moleküler Temeli ve Belirlenmesi

Bir genin özgün bir kromozom bölgesinde (lokus) veya DNA dizisinin birkaç alternatif formundan her birine "allel" denir. İnsanlar her otozomal lokusunda, biri anneden diğeri babadan gelen iki allel bulundurur. Farklı genom lokuslarındaki allellerde çok çeşitli mutasyonlar bulunmaktadır. Bu mutasyonlar toplumda normalin varyasyonundan, kalıtsal hastalıklara kadar uzanmaktadır. Günümüzdeki rutin moleküler teknikler ile birçok genetik hastalıktaki mutasyonlar kolaylıkla belirlenebilmektedir. Toplumdaki farklı mutasyonların tanımlanması ile ailelerin genetik hastalıklar açısından taranması ve geniş popülasyonların risklerinin belirlenmesi mümkün olabilmektedir (87).

2.2.4. Genetik Polimorfizm

Bir lokusta birden fazla allelin bulunması şeklindeki DNA nükleotid değişimlerine polimorfizm adı verilir. Allellerin genel popülasyondaki kromozomların %1'inden fazlasında bulunması "genetik polimorfizmi" oluşturur. Allelik sıklığı %1'den küçük ise buna "nadir varyantlar" denir. Genlerin regülatuar (düzenleyici) bölgelerinde bulunan polimorfik alleller, genlerin transkripsiyonel regülasyonunu etkileyerek, fenotipik değişikliklere neden olabilir. DNA polimorfizimleri teriminden, toplumda yaygın olarak rastlanan ve genellikle hastalık etkeni olmayan genom değişiklikleri anlaşılır. Bu polimorfik özellikler farklı görünümde karşımıza çıkarlar. Kısa ve uzun nükleotid tekrarları (STRP- Short of Tandem Repeats Polymorphism and VNTR- Variable

Number of Tandem Repeats Polymorphism) ya da tek baz değişiklikleri (SNP- Single Nucleotide Polymorphism) bu değişikliklere birkaç örnektir. Bu polimorfizimleri tespit etme yöntemleri birbirinden farklı olmakla birlikte, gerek STRP gerekse SNP değişikliklerinin çalışılmasındaki ana amaç, bireyin her bir lokalizasyonunda bir anneden diğeri ise babadan kalıtmış olduğu eş kromozomları arasındaki farklılıkların belirlenebilmesidir. Bu durum genotipleme olarak adlandırılır ve genotipleme sonucunda, hangi alelin hangi ebeveynden kalıtıldığı saptanabilir. Birbirine çok yakın yerleşimli birden fazla polimorfik bölgenin genotiplenmesi (haplotip oluşturma) ise tek bir lokalizasyonun değil, ilgili kromozomun belli bir parçasının hangi ebeveynden geldiğini anlamamıza yol açacaktır. Genotip ve haplotip düzeyinde oluşan farklılıklar kromozomların kuşaklar arası kalıtımının izlenmesi için kullanılır ve bu yöntemle hastalık etkeni olan genlerin kromozom lokalizasyonlarının saptanması (hastalık geni haritalaması) mümkündür (87).

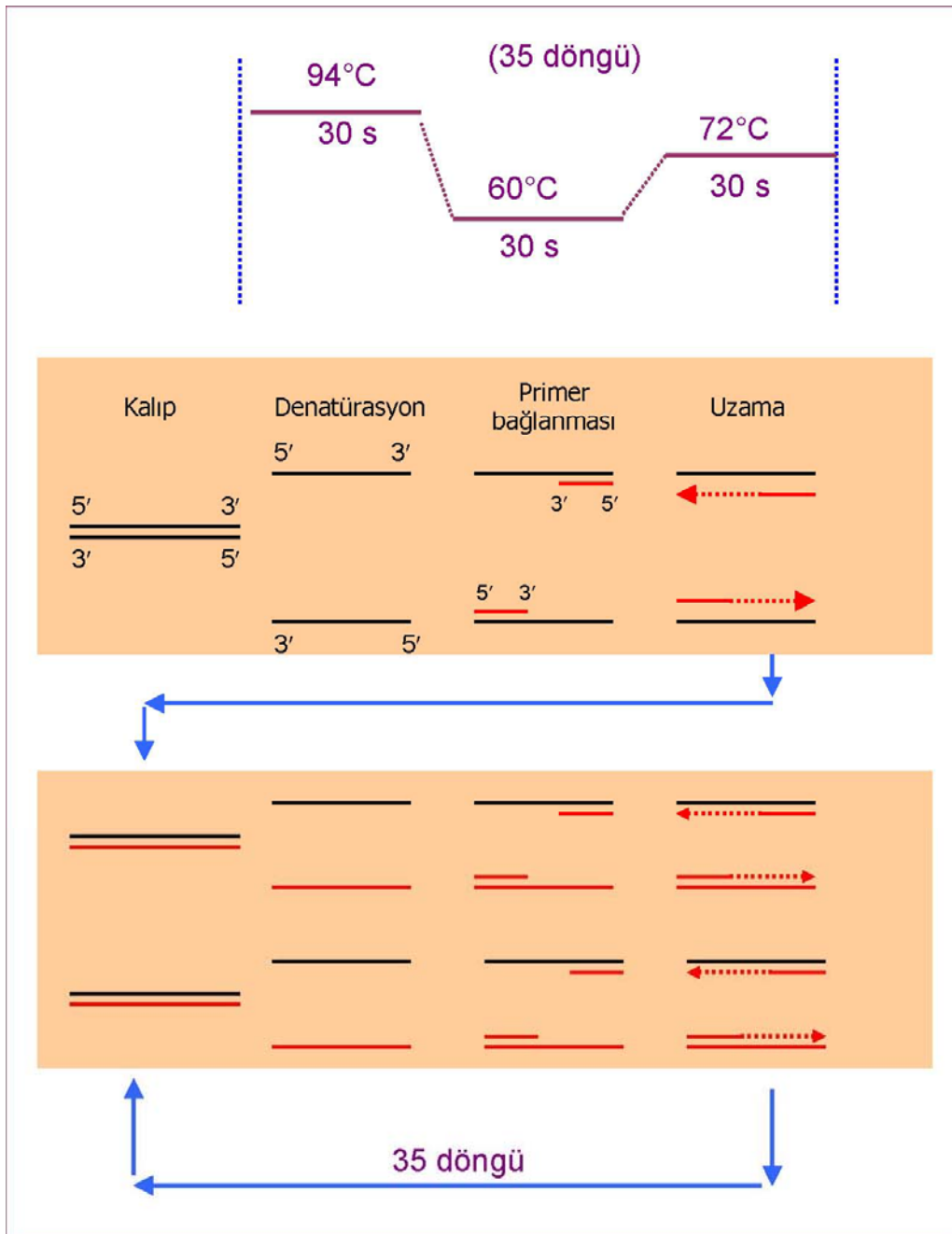
2.2.5. DNA Analizinde Kullanılan Bazı Yöntemler

Rutin DNA analizinde kullanılan pek çok yöntem mevcuttur. En çok kullanılan yöntemler;

- Restriction Fragment Length polymorphism (RFLP)
- Polymerase chain reaction (PCR)
- Southern Blot Analizi
- DNA Dizi Analizi
- Single strand conformational polymorphism (SSCP)
- Denaturing gradient gel electrophoresis (DGGE)
- Heterodubleks analizi
- Chemical mismatch cleavage (CMC)
- DNA chipleri (88)

2.2.5.1. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR)

PCR, herhangi bir DNA fragmanının, iki oligonükleotid primer arasındaki kısmının çoğaltılması için enzimatik bir metottur. Primerler, bir tanesi bir zincire komplementer, diğeri amplifiye edilmesi gereken DNA'nın karşı zincirindeki ters tarafa komplementerdir (Resim 3). DNA ısı ile denatüre edilir ve DNA polimeraz her iki zincirde primerler arasındaki bölgenin kopyasını üretir. DNA tekrarlayan miktarda ısı denatürasyonu ve primer hibridizasyonu ile hızlı bir şekilde çoğaltılır.



Resim 3: PCR işleminde reaksiyon basamaklarının şematik gösterimi (90).

2.2.5.2. Restriksiyon Fragment Uzunluk Polimorfizmi (RFLP) ve Restriksiyon Enzimleri

Restriksiyon enzimleri, çok özel bir DNA çift sarmal başlangıç bölgesini tanıır ve DNA'yi belirli bir bölgeden keser. Bu bakterilerde bulunan ve yabancı DNA'lara karşı korunmaya yarayan enzimlerdir ve bulundukları organizmaya göre adlandırılırlar (Örnek; EcoRI, Escherischia Coli'den elde edilir) (91). Genomik DNA'da oluşan başlangıç bölgesi değişiklikleri, restriksiyon enzimlerinin kesim yerlerini değiştirir ve kesim sonucu oluşan parçaların boyutları değişir. Enzim kesim yöntemi ile kesim sonucu oluşan parçalar, agaroz jel üzerinde elektroforez edilir ve moleküler boyutlarına göre bandlara ayrılır (89).

2.3. Kanser

Kanser hücreleri; hücrenin aktivitesini kontrol eden DNA molekülündeki hasarlardan dolayı ortaya çıkar. Çoğu zaman vücut hasar gören DNA'yı tamir edebilecek mekanizmaya sahiptir. Fakat hücrelerde meydana gelen DNA hasarının onarılmamasına bağlı olarak kanser olgusu ortaya çıkar. Kanser genellikle solid tümörler oluşturur. Fakat lösemi gibi bazı kanser türleri ise kitle oluşturmazlar. Ayrıca bütün tümörler kanser değildir. İyi huylu olan tümörlerin malign olanlardan en önemli farkı, vücudun diğer bölgelerine yayılmamaları ve çok nadir durumlar haricinde hayati bir tehlike oluşturmamalarıdır (92).

2.3.1. Kanser Gelişiminden Sorumlu Genler

1. Onkogenler
 - büyüme faktörleri
 - büyüme faktörü reseptörleri: c-*erbB* reseptörler
2. Tümör suppressör ve apoptosis-ilişkili genler
3. Hücre döngüsü kontrol genleri
4. Hücre adezyonu ve harekette işe karışan genler
5. Extrasellular matrixi bozan enzimler (MMP...)
6. Angiogenik faktörler

2.4. Ekstrasellüler Matriks ve Matriks Metalloproteinazlar

ECM, kollagen, laminin, fibronektin ve elastin gibi bileşenlerden oluşan, hücreleri bir arada tutup dokuların üç boyutlu yapısını koruyan hücrelerarası

yapıdır. ECM, hücreler arasında kontrollü bir ortam oluşturma'nın yanında hücre büyümesi, farklılaşması ve sağkalımda da kritik rol oynar (93).

ECM sentez, parçalanma ve yeniden yapılanma süreçlerindeki hücre regülasyonu, dönüşümü gibi etkilerini metalloproteinazlar (MMPs) aracılığı ile ortaya koyar.

MMPs, ECM'i parçalayan, nötral pH'da aktif olan, multigenik bir endopeptidaz ailesidir. Tüm proenzim olarak fibroblastlar, osteoblastlar, kondrositler, endotel hücreleri, makrofajlar, nötrofiller gibi çeşitli bağ dokusu hücrelerinden salgılanırlar.

MMPs yara iyileşmesi, kemiğin yeniden yapılanması, uterus ve meme dokusu fizyolojik fonksiyonları, ovulasyon, embriyogenezis, embriyo implantasyonu, laktasyon gibi fizyolojik süreçlerde yer aldığı gibi aynı zamanda artrit, tümör hücresinin invazyonu ve metastaz gibi patolojik süreçlerde de rol oynarlar.

Kanserde ECM, tümör dokusunun büyümesi ve tümör hücresinin yayılımını önlemek için primer bir bariyer olarak görev yapar. Malign tümörler bu bariyeri aşmak için metalloproteinazları kullanırlar (94,95).

2.4.1 Matriks Metalloproteinaz Ailesi

MMP ailesi aşağıdaki özelliklere sahiptir (94,96,97).

1. Ekstrasellüler matriksin en az bir komponentini parçalayan proteinazlardır.

2. Zn iyonu içerirler ve bu nedenle şelatlayıcı ajanlarla inhibe olabilirler.

3. Latent formda salgılanırlar ve proteolitik aktivitelerini göstermeleri için aktive olmaları gereklidir. İnvitro olarak organomoleküler bileşenlerle aktive olabilir.

4. Metalloproteinazlara spesifik doku inhibitörleri ile (Tissue inhibitors of matrix metalloproteinases, TIMPs) inhibe olurlar.

5. Moleküler klonlama yöntemleri ile çeşitli grup üyelerinin aminoasit benzerlikleri olduğu gösterilmiştir.

2.4.2 Metalloproteinazların Yapısı

Klonlanmış MMPs'ların primer yapısı incelendiğinde bu proteinlerin birkaç farklı bölge içerdiği görülür (98).

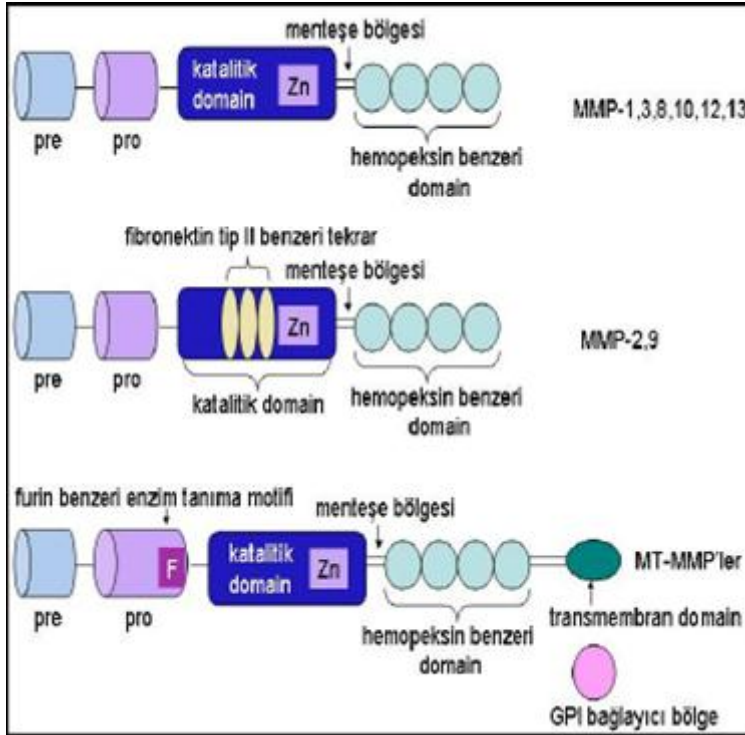
1. Predomain: İlk bölge predomain olarak tanımlanan, molekülü sekresyon için hedefleyen, ancak daha sonra uzaklaştırılan ve latent enzimde bulunmayan sinyal peptit dizesidir (95,98). 80–90 aminoasit içeren aminoterminal propeptiddir (95).

2. Prodomain: Enzim aktive olduğunda çıkarılır ve yüksek derecede korunmuş PRCGVDPV dizesi içerir. Prodomain yapısında bulunan sistein rezidülerinin, enzimin latent formunun korunmasında rol oynadığına inanılır (98). Prodomainin çıkarılması, inaktif proenzimin aktif forma dönüşmesini sağlar (95,99).

3. Katalitik bölge: Katalitik bölge, histidin rezidüleri içeren, fonksiyonel stabilitenin korunması için gerekli olan çinko iyonunu içeren bölgedir (95).

4. Prolinden zengin bölge: Katalitik bölge ve son bölge arasında yer alır.

5. Hemopeksin benzeri bölge: Son kısımda "hem" bağlayan moleküllere dizin benzerliği nedeniyle, hemopeksin olarak adlandırılan bölge yer alır. Bu bölge N ve C terminal kısımları bağlayan disülfid bağı içerir ve katalitik bölgeye 5–10 aminoasitlik, prolinden zengin bir bölge ile bağlanır. Matrilysin (MMP-7) dışında tüm metalloproteinazlarda bulunur (99). Bu bölgenin fonksiyonu bilinmemekle birlikte, substrat spesifitesini sağlama ya da plazminojen aktivatör ürokinaz sistemine analog olma özelliği ile hücre yüzey reseptör alanını tanıma fonksiyonu gösterdiği ileri sürülmektedir (98).



Resim 4: MMP enzimlerinin moleküler yapısı (Vihinen P 2002 ve Kuzuya M 2003 ten modifiye edilmiştir).

MMP'ler çeşitli ortak yapısal özelliklere sahiptirler. MMP'lerin tümü tipik olarak N terminalinde enzimin lider dizilimi olan pre-domain içerirler (Resim 4) (100,101). Bu lider dizilim, enzimi salgılanma için etiketler ve salgılanma sonrası kaybolur. İkinci bölge olan pro-domain, enzimin latent formda kalmasından sorumludur ve enzim aktivasyonunu takiben kaybolur. Bir sonraki kısım Zn^{++} bağlayan bölgeyi içeren katalitik domaindir (102). Katalitik domain ek olarak yapısal bir Zn^{++} iyonu ve 2–3 Ca^{++} iyonu içerir. Bu bölge stabilite ve enzimatik aktivitenin oluşması için gereklidir (102).

2.4.3 Metalloproteinazların Sınıflandırılması

Son birkaç yılda MMPs tanımlanması oldukça hızlı gelişmiştir. MMPs ailesinin eskiden tanımlanmış 7 üyesi varken, yeni keşfedilen metalloproteinazların bunlara eklenmesi ile sayıları giderek artmıştır. Metalloproteinazların farklı kişiler tarafından keşfi oldukça karışık bir adlandırma sistemine neden olmuş ve bu nedenle MMPs ailesinin üyelerinin herbiri birden fazla isimle adlandırılmıştır. Uluslararası Biyokimya ve Moleküler Biyoloji Birliği özellikli enzim numaraları ve basit isimler vermeyi önermiştir (Tablo 6) (95,97,99).

MMP'ler substratlarına göre 5 gruba ayrılırlar;

1.Kollagenazlar: MMP-1, MMP-13, MMP-8, MMP-18

Tip I, II, III, VII ve X kollageni parçalar.

2.Jelatinazlar:

Jelatinaz A (72 kDA tip IV Kollagenaz / MMP-2): Fibroblastlar, osteoblastlar ve düz kas hücreleri tarafından üretilir.

Jelatinaz B (92 kDA tip IV Kollagenaz / MMP-9): Eozinofiller, monositler, makrofajlar, keratinositler tarafından üretilir ve nötrofillerde depolanır.

Her ikisi de denatüre kollageni yani jelatini parçalar. Ayrıca bazal membran dahil diğer ECM komponentlerini de sindirirler.

3.Stromelisinler: MMP-3 (stromelysin-1), MMP-10, MMP-11

Çok kuvvetli proteoglikonazlardır. Bazal membran, laminin, fibronektin, tip IV ve IX kollageni yıkarlar.

4.Membran tipi MMP'ler (MT-MMP): MMP-14, MMP-15, MMP-16, MMP-17, MMP-24, MMP-25

Diğer MMP'lerin aksine salgılanmazlar. Karboksi- terminal transmembran bölgeleri ile hücre yüzeyine tutunurlar. ECM komponentlerini sindirirler; diğer MMP'leri aktive ederler.

5. Diğerleri: MMP-7, MMP-12, MMP-19, MMP-20, MMP-21, MMP-23, MMP-26, MMP-27, MMP-28 (102).

Tablo 6: MMP enzimlerinin substrat özgüllüğüne göre sınıflandırılması (102,103,104).

Grup adı	Tanımlayıcı isim	Numara	Temel substrat
Kollajenazlar	İnterstisyel kollajenaz	MMP-1	Kollajen Tip 1, 2, 3, 7 ve 10, jelatin, PG
	Nötrofil kollajenaz	MMP-8	Kollajen Tip 1, 2, 3, PG
	Kollajenaz 3	MMP-13	Kollajen Tip 1, 2, 3
	Kollajenaz-4	MMP-18	Kollajen I
Jelatinazlar	Jelatinaz A	MMP-2	Jelatin, kollajen IV, V, VII; X, XI, elastin
	Jelatinaz B	MMP-9	Jelatin, kollajen IV, V, XIV, elastin, PG
Stromelisinler	Stromelisin 1	MMP-3	PG, laminin, FN, jelatin, kollajen III, IV, IX ve X
	Stromelisin 2	MMP-10	PG, laminin, FN, jelatin, kollajen III, IV, IX ve X
	Stromelisin 3	MMP-11	PG, laminin, elastin, entaktin, tenaskin, versikan, jelatin, kollajen III, IV, IX, X
Membran tipi	MT1-MMP	MMP-14	Kollajen I, II, III, FN, laminin, VN
MMP'ler	MT2-MMP	MMP-15	Agrekan, FN, laminin, tenaskin
(MT-MMP'ler)	MT3-MMP	MMP-16	Kollajen III, FN, jelatin
	MT4-MMP	MMP-17	Jelatin
	MT5-MMP	MMP-24	PG
	MT6-MMP	MMP-25	Kollajen IV, fibrin, FN, jelatin
Diğerleri	Matrilisin 1	MMP-7	Serin proteaz inhibitörleri
	Metaloelastaz	MMP-12	Kollajen I, IV, elastin, FN, jelatin, laminin, VN
	RASI-1	MMP-19	Kollajen IV, entaktin, FN, jelatin, laminin, tenaskin
	Enamelisin	MMP-20	Agrekan, amelogenin
	X-MMP	MMP-21	Tanımlanmamıştır
	CA-MMP	MMP-23	Tanımlanmamıştır
	Matrilisin 2	MMP-26	Kollajen IV, FN, jelatin, VN
	CMMP (Horoz)	MMP-27	Tanımlanmamıştır
	Epilisin	MMP-28	Tanımlanmamıştır

PG: Proteoglikan, FN: Fibronektin, VN: Vitronektin.

2.4.4. MMP Ekspresyonunun Regülasyonu

Oldukça yıkıcı gücü olan MMP'lerin ekspresyonu, transkripsiyon, salgılanma, yerleşim, aktivasyon ve inhibisyon gibi değişik basamaklarla kontrol edilmektedir. MMP salgılayan hücrelerde MMP depolanması olmaz ve ekspresyon en düşük düzeyde tutulur. Sadece nötrofiller sekretuar granüllerinde MMP-8 ve MMP-9 depolar. MMP'lerin ekspresyonu, büyüme faktörleri, sitokinler, forbol esterleri gibi kimyasal ajanlarla, onkogenlerle, hücre-hücre ve hücre-ekstrasellüler matriks etkileşimleri ile düzenlenir (105).

2.4.5. Gen Transkripsiyonu

Ekstrasellüler uyarılara cevap verebilen MMP genleri (MMP-1, MMP-13, MMP-3, MMP-10, MMP-7, MMP-12, MMP-9 ve MMP-19) promotor bölgelerinde aktivatör protein-1 (AP-1) bağlantı bölgesi içerirler. Jun ve Fos onkogenleri AP-1 bağlanma bölgesine bağlanır ve MMP geninin transkripsiyonunu aktive eder. Proksimal veya distal AP-1 bağlantı bölgesine, ETS transkripsiyon faktörleri bağlayan polyomavirus enhancer A bağlayıcı protein-3 (PEA-3) bölgesi eşlik eder. AP-1 ve PEA-3 birlikte büyüme faktörleri, onkogen ürünleri ve tümör promoterlarına karşı cevabı düzenler (106).

Çeşitli MMP tipleri ve TIMP'ler akciğer, over, pankreas, malign melanom, prostat, meme, baş-boyun ve kolorektal kanserlerde araştırılmıştır (107-112). Bu çalışmaların arasında en önemlileri akciğer hastalıkları ile yapılmış olanlarıdır. MMP'lerin ve TIMP'lerin akciğer kanserinde prognostik faktör olarak değerlendirilebileceği ve sağkalıma etkisi olduğu da gösterilmiştir (113,114). Kanserde MMP'lerin serumda yüksek düzeyde belirlenmesinin, metastazların erken tanısında oldukça faydalı olacağı bildirilmektedir (115).

2.4.6. Kanser Gelişiminde MMP Enzim Ailesinin Rolü

Temel kanser araştırmaları onkogenlerin fonksiyon kazanmaları veya tümör baskılayıcı genlerin fonksiyonlarını yitirmeleri üzerine odaklanmıştır (116,117). Bununla birlikte tümörlerin ve stromal hücrelerin hücre dışı

matriksleri, tümör gelişiminde oldukça önemlidir (118). MMP'ler tümör mikro çevresini düzenlemede önemli bir yere sahiptir ve kanserli hücrelerdeki ekspresyonu normal hücrelere nazaran oldukça fazladır. MMP'ler proteolitik enzimlerdir ve temel olarak protein yıkımında rol oynarlar. Hücre büyümesinde, farklılaşmasında, apoptoziste, hücre göçünde, invazyonda ve tümörlerdeki angiogenez'de bir takım roller üstlenmişlerdir. Yapılan farmasötik çalışmalarda MMP baskılayıcıları geliştirilmiştir ama klinik denemelerde elde edilen sonuçlar çok olumlu değildir. MMP'lerle yapılan ilk çalışmalar, MMP'lerin tümör gelişiminin son safhalarına; metastaz ve invazyon üzerine odaklanmıştır. Fakat son zamanlarda yapılan çalışmalarda ise MMP'lerin angiogenez'de de önemli rol oynadıklarını göstermiş, dolayısıyla da MMP'lerin tümör gelişiminde de önemli olduğu ortaya konmuştur (119).

Gelatinaz A (MMP-2); kolon, pankreas, mesane, prostat, akciğer, deri karsinomlarında, meme ve over kanserinde ve hemen tüm kanser tiplerinde tümör stromasına sınırlandırılmış olarak izlenir. Prostat kanserinde neoplastik epitel dokusunda, hipofarinks ve pankreas kanserinde ise hem neoplastik epitel hem de tümör stromasında görülmesi ender rastlanan durumlardır (99).

Matrilysin (PUMP-1, MMP-7); mide, akciğer, meme, prostat ve kolorektal kanserlerde artar. Tüm tümör hücrelerinde bu artış neoplastik hücrede saptanmaktadır. Kolorektal kanserde artmış matrilysin düzeyleri tümörün geç evresi ile ilişkilidir. Bazal hücreli karsinomların atipik malign tümörler oldukları ve metastaz yapmadıkları bilinmektedir ve bu tümörlerde matrilysin düzeyinde artış olmayışı, matrilysin tümör progresyonunda önemli bir rolü olduğuna kanıttır (99).

2.4.6.1. MMP'ler Apoptozisi Düzenler

MMP'lerin hem apoptozis hem de anti apoptozis üzerine etkisi vardır. MMP-3, MMP-7 ve MMP-11, memede yüksek seviyede sentezlendiklerinde, laminini yıkama uğratarak apoptozisi düzenlerler (120). MMP-7 hücre zarında bağlı olan Fas Ligandı serbest hale getirerek yolaklara bağlı olarak apoptozisi ya uyarır veya baskılar. Örneğin, MMP-7 ERBB-4 tirozin kinazı aktifleştirerek hücre canlılığını sağlayan HB-EGF'yi olgun hale geçirerek

apoptozisi baskılar (121). MMP-11'inde apoptozisi baskıladığını gösteren çalışmalar mevcuttur (122).

2.4.6.2. MMP'ler Anjiogenezi Düzenler

Yapılan çalışmalar MMP'lerin anjiogeneze pozitif düzenleyici olduklarını göstermiştir. Temel olarak hücre dışı matriksi yıkarak, epitel hücrelerin stromal hücreler arasına girmesine olanak sağlar. Dahası MMP-2, MMP-9 ve MMP-14 direkt olarak anjiogenezi düzenler (123).

2.4.6.3. Hücre İnvazyonu ve Metastaz

Hücre dışı matriksin yıkımı, malign hücrelerin invazyonu için oldukça önemlidir. MMP'lerin bu yıkım görevleri, sadece malign hücreler için değil aynı zamanda fibroblastlar ve savunma görevi yapan hücrelerin invazyonunu da kolaylaştırır (101). Tümörlerde bazal membran; stromal bağ doku ile neoplastik epitel hücrelerini ayıran bir bariyer görevi görür. Malign tümörlerde temel membran yapısı çözülerek, neoplastik epitel hücrelerinin stroma içerisine yayılmasına izin verir (124). Tümör invazyonun başlangıcı hücrelerin temel membranla ilişkisinin kaybolması ve hücrelerin daha serbest hareket edebilmesiyle direkt olarak ilgilidir. Genel olarak temel membranda tümör hücre invazyonunun gerçekleşmesi üç aşamada olur. Birinci aşamada neoplastik hücreler temel membranın altında birbirlerine tutunurlar. Ardından malignant hücreler proteolitik enzimler üreterek, temel membranı yıkıma uğratırlar. En son aşamada ise tümör hücreleri temel membranı geçerek, stroma bağ dokusu içine girerler. Yapışma, yıkım ve invazyon basamakları tümör gelişiminde hücre dışı matriksin içinde birçok defa tekrarlanır. Daha sonra damarlar vasıtasıyla dağılan hücreler, başka bir yere tutunur, temel membranları yıkar ve metastaza yol açarlar (125). Bunun yanı sıra tümörün gelişimi ve metastazı için angiogeneze de ihtiyaç duyulur (126).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1 Materyal

Bu çalışma Helsinki Deklarasyonu Kararlarına, Hasta Hakları Yönetmeliğine ve etik kurallarına uygun olarak yapılmış olup, Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulundan onay almıştır (Proje No: TF.07.13, Etik kurul tarihi: 28.05.2007 Karar No: 05–2007/25). Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Şahinbey Araştırma ve Uygulama Hastanesi Göğüs Cerrahisi Kliniğinde, Aralık 1997 ile Şubat 2008 yılları arasında, KHDAK tanısı konmuş ve ameliyat edilmiş 182 hastadan patoloji arşivinde blokları bulunan 132 hasta, çalışmaya dahil edildi (4 kadın, 128 erkek). Kontrol grubu için ise sağlıklı, bireysel kanser hikayesi olmayan aynı yaş ve cinsiyet özelliklerine sahip 80 kişi seçildi. KHDAK tanısı ve tümörün patolojik evresi, hastanedeki kıdemli patologlar tarafından postoperatif histopatolojik araştırmalar ya da bronş mukoza biopsisi ile tümör-nod-metastaz (TNM) klasifikasyonu temelinde sınıflandırıldı. Gen polimorfizmleri analizinde kullanılacak DNA'yı izole etmek amacıyla patoloji bloklarından steril koşullarda 5 mikronluk 3-5 kesit, steril 1.5 ml'lik ependorflar içine alındı. Sağlıklı kontrol grubundan, Etilen Diamin Tetra Asetik Asit (EDTA)'lı tüplere 2ml kan alındı.

İzole edilen DNA'larda, MMP2, 7, 13 genlerine ait 1'er polimorfizm PCR-RFLP yöntemi ile belirlendi (9,127,128).

3.2. DNA İzolasyonu ve PCR

Hasta bireylerin patoloji bloklarından alınan kesitlerden DNA izolasyonu ve sağlıklı kontrol grubundan EDTA'lı tüplere alınan kan örneklerinden DNA izolasyonu, kit ile yapılmıştır (Puregene, Gentra, USA). Analiz edilen MMP gen bölgelerinin amplifikasyon ve kesim bilgileri Tablo 7'de verilmiştir.

3.3. MMP Gen Polimorfizmlerinin Analizi

MMP-2, 7, 13 genlerine ait polimorfizm analizleri Tablo 7’de verilen koşullarda gerçekleştirilmiştir. Elde edilen hasta ve kontrol grubuna ait sonuçlar ki-kare testi ve Hardy-Weinberg (HWE) eşitliğinden bir sapma olup olmadığı araştırıldı.

Tablo 7. Analiz edilen MMP gen bölgelerin amplifikasyon ve kesim bilgileri.

Analiz edilen bölge	Primer dizisi	Primer bağlanma sıcaklığı	Kesim enzimi ve koşulları
MMP2 (-735)	GGT AAA ATG AGG CTG AGA CCT G ATA GGG TAA ACC TCC CCA CAT T	60 °C ve 30 siklus	Hinf I, 37°C ve ON* inkübasyon
MMP7 (-181)	AAG AGC TCC AGA AGC AGT GG GAG ATA GTC AAG GGA TGA TAT CAG C	57.1 °C ve 35 siklus	EcoR I, 37°C ve ON inkübasyon
MMP13 (A77G)	GAC AAA TCA TCT TCA TCA CC GAT ACG TTC TTA CAG AAG GC	61.2 °C ve 30 siklus	Xsp I, 37°C ve ON inkübasyon

*ON; 1 gecelik yaklaşık 18 saat inkübasyon, primer bağlanma sıcaklığı gradient PCR aleti kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

3.4. Genetik İnceleme Malzemeleri

Çalışma kapsamında yapılacak genetik incelemeleri, Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Merkez Laboratuvarı Moleküler ve Genetik Anabilim Dalında yapıldı. DNA izolasyonu için; Thermo Electron Corporation marka santrifüj, Electro Mag marka M16 Vortex Mixer, Wealtec marka ısı bloğu ve Ependorf marka (10µ -1000µ) arası pipetler kullanıldı. PCR için, Applied Biosystems 9700 marka PCR, Esco Pcr Hood marka steril kabin, Ependorf marka (0,5µ -1000µ arası) pipetler kullanıldı. Analiz için ise Wealtec Elite 300 marka elektroforez, Wealtec Dolphin View marka jel görüntüleme cihazı, Sartorius BP221S marka hassas terazi, Beko marka mikrodalga fırın, Satuart

Scientific marka su banyosu, Ependorf marka (0.5µ-1000µ arası) pipetler ve Zenon marka bilgisayar kullanıldı.

3.5. Sarf Malzemeler

- 1- Parafin bloktan DNA izolasyon kiti
- 2- Kandan DNA izolasyon kiti
- 3- 200 bç'lik primer
- 4- EcoRI kesim enzimi
- 5- Hinfli kesim enzimi
- 6- Taq DNA polimeraz
- 7- dNTP mix
- 8- DNA markır pUC19 Mspl kesimi
- 9- Agaroz
- 10- EDTA
- 11- Tris-Base
- 12- Etidyum Bromür
- 13- Pipet ucu 10 ul'lik
- 14- Pipet ucu 100 ul'lik
- 15- Pipet ucu 1000 ul'lik
- 16- Santrifüj tüpü 1.5ml'lik
- 17- Santrifüj tüpü 0.5ml'lik
- 18- PCR tüpü 0.2ml'lik
- 19- DNA saklama kabı
- 20- Boric asit
- 21- MMP-2 (72kDa Collagense IV) (Rabbit PAb)
- 22- MMP-7 Matrilysin Ab-1 (ID2)
- 23- MMP-13 (Collagense-3) Ab-5
- 24- Ultra Vision Polyvalent (Rabbit Mause) HRP kit
- 25- AEC Crobogen&Substrate System
- 26- UltrAb Diluent
- 27- Vision Mount
- 28- Phoaphate Buffered Saline (PBS)
- 29- Citrate Buffer pH 6.0

30- Mayer's Hematoxylin

31- Hydrogen Peroxide Block

3.6.1. Patoloji Laboratuvarında Yapılan İmmünohistokimyasal Yöntem Aşamaları

Çalışmaya dahil edilen tüm hastaların tümör alanlarının hematoksil-eozin (HE) kesitleri, yeniden değerlendirildi. Her bir olgu için histomorfolojik olarak tümör differansiasyonunu en iyi temsil eden, nekroz içermeyen, doku fiksasyon ve takip sorunu olmayan, morfolojinin en iyi korunmuş olduğu kesite ait parafin blok, çalışma için seçildi. Seçilen parafin bloklardan 4µ kalınlığında hazırlanan kesitlere immünohistokimyasal yöntem uygulandı.

Doku bloklarından hazırlanan tüm preparatlara immünohistokimyasal olarak MMP-2, MMP-7 ve MMP-13 antikorları uygulandı. Kesitin %25'den daha az boyanması 1+, %25–50 arasında boyanması 2+, %50'den daha fazla boyanma şiddeti olması da 3+ olarak değerlendirildi. Elde edilen sonuçlarla klinik veriler (morbidite, mortalite, evresi, kanserin tipi...) istatistik olarak karşılaştırıldı.

3.6.2. İmmünohistokimyasal Boyama Yöntemi

- 1) Mikrotomdan 0,4 mikron kalınlığında kesitler alındı.
- 2) Alınan kesitler etüvde 70 derecede 30 dakika bekletildi. Daha sonra Xylol içerisinde 15 dakika bekletilerek deparafinizasyon işlemi gerçekleştirildi.
- 3) Deparafinizasyon işleminden sonra mikrodalgada Citrate buffer (10x) (Heat-induced Epitope Retrieval) içerisinde 15 dakika muamele edildi.
- 4) Bu işlem bittikten sonra boyama sehпасına alındı.
- 5) Kesitlerin üzerine %3 Hidrogen peroxide Block damlatılarak, 15 dakika bekletildi.
- 6) Phosphate Buffer Solution (PBS) ile yıkandı.
- 7) Large Volume Ultra V Block ile 5 dakika muamele edildi.

- 8) Large Volume Ultra V Block kesitin üzerinden uzaklaştırıldıktan sonra hazırladığımız antikorlar (MMP-2, MMP-7, MMP-13) kesitler üzerine damlatılıp 30 dakika bekletildi.
- 9) PBS ile yıkandı.
- 10) Kesitle üzerine Biotinylated Goat anti-polyvalent damlatılıp 10 dakika bekletildi.
- 11) PBS ile yıkandı.
- 12) Large Volume Streptavidin Peroxidase damlatılır ve 10 dakika bekletildi.
- 13) PBS ile yıkandı
- 14) Diaminobenzidin (DAB) substrate+ DAB chromogen ikilisinden hazırladığımız karışım kesitlere damlatılıp 5 dakika bekletildi.
- 15) Çeşme suyunda yıkandı.
- 16) Zıt boyama olarak Hemotoxilen boyada 1 dakika bekletildi.
- 17) Çeşme suyunda yıkandı.
- 18) Önce Alkolden sonra Xyol'den geçirildi.
- 19) Entellent ile kapatma işlemi yapıldı.

3.8. İstatistik Analiz

MMP polimorfizmi, akciğer kanseri histolojik tipi, evresi, lenf nodu tutulumu, yaş, cinsiyet, immunohistokimyasal parametrelerden, klinik sonlanımın bağımsız belirleyicisini araştırmak için, univaryant ve multivaryant stepwise Cox proportional hazard regresyon analizi kullanıldı. Sağ kalım oranlarını karşılaştırmak için Kaplan-Meier sağkalım analizi yapıldı. Her bir değişkenin yaşam süresi üzerine olan olası etkisi Log-Rank testi ile değerlendirildi. Fisher's exact testi kategorik değişkenler için kullanıldı. Hardy-Weinberg analizi beklenen ve gözlenen genotip frekanslarını karşılaştırmak için kullanıldı. Odds ratio (OR) ve %95 güvenirlilik aralığı (CI) mutlak regresyon modeli kullanarak ve yaş-cinsiyete göre ayar yapılarak hesaplanmıştır.

Tüm istatistik analizler için $p < 0.05$ değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. Veriler, SPSS 13.0 / Windows programı kullanılarak analiz edildi.

4. BULGULAR

4.1. Demografik ve Klinik Özellikler

Çalışmamıza opere ettiğimiz 132 KHDAK'lı hastaları dahil ettik. Hastaların demografik özellikleri geriye dönük olarak tarandı (Tablo 8). Dördü kadın 128'i erkekti. Yaş ortalaması 60 (38–79) idi. 77 hasta epidermoid kanser 55 hasta non-epidermoid kanser grubundaydı. Hastaların 35'i (%26.5) evre I, 41 tanesi (%31.1) evre II, 56 tanesi (%42.4) evre III+IV olarak bulundu. 125 hastaya komplet rezeksiyon (R0), 7 hastaya ise inkomplet rezeksiyon (R1) yapıldı. Hastaların 3 tanesi dışındaki 129 hasta, sigara içicisi idi. KHDAK nedeniyle 48 (%36.4) hastaya üst lobektomi, 24 (%18.2) hastaya alt lobektomi ve 60 (45.4) hastaya pnömonektomi yapılmıştı (Tablo 8, Tablo 9). Rutin kontrole gelen hastaların dışındaki hastalara telefon yoluyla ulaşıldı, kimi telefonların iptal edildiği görüldü. 20 hastaya hiçbir şekilde ulaşamadı. Sağ-kalım analizi yapılabilen hasta sayısı 112'di. Ortalama sağ kalım tüm hastalar için 23.9 (3-124.9) ay olarak bulundu. Epidermoid kanser grubunda 15.5 (3-123.8) ay, non-epidermoid kanser grubunda 27.6 (3-124.9) aydı.

Tablo 8: Demografik ve klinik özellikler

<i>KHDAK'lı 132 hastanın karakteristik özellikleri</i>				
		Tüm hastalar	Epidermoid	Non Epidermoid
		<i>n</i> =132 (%)	<i>n</i> (%)	<i>n</i> (%)
Histolojik tip			77 (58.3)	55 (41.7)
Yaş (ortalama)		60 (38–79)	61.6 (39–78)	58 (38–76)
Cinsiyet	<i>Kadın</i>	4 (3)	3 (3.9)	1 (1.8)
	<i>Erkek</i>	128 (97)	74 (96.1)	54 (98.2)
Ortalama yaşam süresi (ay)		<i>n</i> =112*	23.9 (3–124.9)	15.5 (3–123.8)
Evre	<i>I</i>	35 (26.5)	22 (28.6)	13 (23.6)
	<i>II</i>	41 (31.1)	23 (29.9)	18 (32.7)
	<i>III</i>	56 (42.4)	32 (41.5)	24 (43.7)
Rezeksiyon tipi	<i>Üst Lobektomi</i>	48 (36.4)	21 (27.3)	27 (49.1)
	<i>Alt Lobektomi</i>	24 (18.2)	9 (11.7)	15 (27.3)
	<i>Pnomonektomi</i>	60 (45.4)	47 (61)	13 (23.6)
Rezeksiyon şekli	<i>R0</i>	125 (94.7)	72 (93.5)	53 (96.4)
	<i>R1</i>	7 (5.3)	5 (6.5)	2 (3.6)
Sigara	<i>Evet</i>	129 (97.8)	75 (97.4)	54 (98.2)
	<i>Hayır</i>	3 (2.2)	2 (2.6)	1 (1.8)

*: Yaşadığı veya öldüğü bilinen toplam hasta sayısı. R0: Komplet rezeksiyon, R1: İnkomplet rezeksiyon

Tablo 9: Epidermoid ve non-epidermoid kanserli hastaların genetik polimorfizm ve immunohistokimyasal özellikleri

		Tüm hastalar	Epidermoid	Non Epidermoid
		<i>n</i> =132 (%)	<i>n</i> (%)	<i>n</i> (%)
Histolojik tip			77 (58.3)	55 (41.7)
MMP2 genotip	<i>GG</i>	121 (91.7)	70 (98.6)	51 (92.7)
	<i>AG</i>	11 (8.3)	7 (1.4)	4 (7.3)
	<i>AA</i>	0 (0)	0 (0)	0 (0)
MMP7 genotip	<i>GG</i>	2 (1.5)	1 (1.3)	1 (1.8)
	<i>AG</i>	10 (7.5)	7 (9)	3 (5.4)
	<i>AA</i>	120 (91)	69 (89.7)	51 (92.8)
MMP13 genotip	<i>GG</i>	7 (5.3)	2 (2.6)	5 (9)
	<i>AG</i>	7 (5.3)	2 (2.6)	5 (9)
	<i>AA</i>	118 (89.4)	73 (94.8)	45 (82)
MMP2 immunboyanma	<i>1+</i>	17 (12.9)	11 (14.3)	6 (10.9)
	<i>2+</i>	49 (37.1)	30 (39)	19 (34.5)
	<i>3+</i>	66 (50)	36 (46.7)	30 (54.6)
MMP7 immunboyanma	<i>1+</i>	46 (34.8)	28 (36.4)	18 (32.7)
	<i>2+</i>	45 (34.1)	28 (36.4)	17 (30.9)
	<i>3+</i>	41 (31.1)	21 (27.2)	20 (36.4)
MMP13 immunboyanma	<i>1+</i>	40 (30.3)	24 (31.2)	16 (29.1)
	<i>2+</i>	49 (37.1)	29 (37.7)	20 (36.4)
	<i>3+</i>	43 (32.6)	24 (31.1)	19 (34.5)

4.2. MMP Polimorfizmlerinin Karşılaştırılması

MMP-2, 7, 13 gen polimorfizmlerinin her biri;

Akciğer Ca/Tümör dokusu ile sağlıklı kontrol A

Akciğer Ca/Tümör dokusu ile Akciğer Ca/Normal dokusu B

Akciğer Ca/Normal dokusu ile sağlıklı kontrol C olarak karşılaştırılarak değerlendirildi (Tablo 10).

Tablo 10: Akc Ca/T, Akc Ca/N ve sağlıklı kontrol grubu arasındaki MMP-2, MMP-7, MMP-13 gen polimorfizmlerinin karşılaştırılması

MMP	Genotip	Akc Ca/T	Akc Ca/N	Sağlıklı Kontrol	HWE	OR	95% CI	p
		n^a (%)	n^b (%)	n^c (%)				
MMP2	GG	121 (91.7)	67 (98.5)	80 (100)	0.008 ¹	1.661 ¹	1.485-1.859 ¹	0.008 ¹
	AG	11 (8.3)	1 (1.5)	- (0)	0.066 ²	6.091 ²	0.770-48.210 ²	0.062 ²
	AA	-	-	-	0.935 ³	0.621 ³	0.559-0.690 ³	1.000 ³
MMP7	GG	2 (1.5)	- (0)	- (0)	0.011 ¹	0.619 ¹	0.557-0.688 ¹	0.528 ¹
	AG	10 (7.5)	1 (1.5)	1 (1.3)	0.022 ²	6.475 ¹	0.813-51.575 ¹	0.055 ¹
	AA	120 (91)	67 (98.5)	79 (98.7)	0.955 ³	7.900 ¹	1.007-61.972 ¹	0.020 ¹
MMP13	GG	7 (5.3)	2 (2.9)	- (0)	0.0002 ¹	0.610 ¹	0.547-0.680 ¹	0.047 ¹
	AG	7 (5.3)	5 (7.4)	- (0)	0.630 ²	0.610 ¹	0.547-0.680 ¹	0.047 ¹
	AA	118 (89.4)	61 (89.7)	80 (100)	0.0012 ³	0.596 ¹	0.531-0.668 ¹	0.001 ¹

^an=132, ^bn=68, ^cn=80, OR (95%CI) yaş ve cinsiyete göre ayarlanmıştır. ¹Akc Ca/T ile sağlıklı kontrol, ²Akc Ca/T ile Akc Ca /N, ³ Akc Ca/N ile sağlıklı kontrol genotip sıklığının karşılaştırılması, HWE: Hardy-Weinberg Equilibrium

4.2.1. MMP-2 Gen Polimorfizmi Bakılan;

A) Sağlıklı kontroller ile akciğer tümörlerine ait polimorfizmler karşılaştırıldığında;

- 1) Tümör DNA'larında HWE'den sapma gözlenmezken ($p= 0.617$), sağlıklı kontrollerde HWE'de bir sapmanın olduğu ($p=0.000$) belirlenmiştir.

- 2) Allel frekansları açısından karşılaştırıldığında, sağlıklı grupta gözlenmeyen A allelinin, tümörlerde anlamlı derecede yüksek bulunduğu ($p=0.008$) belirlenmiştir.
- 3) Genotip sıklığı açısından karşılaştırıldığında, sağlıklı grupta gözlenmeyen AG genotipinin, tümörlerde anlamlı derecede artmış bulunduğu ve GG genotipinin anlamlı derecede azaldığı ($p=0.008$) belirlenmiştir.
- 4) GG genotipinde azalmanın akciğer kanseri riskini 1,6 kat arttırabileceği gösterilmiştir (Tablo 10).

B) Akciğer kanseri hastalarına ait normal akciğer DNA'sı ile tümör DNA'sına ait polimorfizmler karşılaştırıldığında;

- 1) Hem akciğer kanseri hastalarına ait normal DNA'larda ($p=0.951$) hem de tümör DNA'larında ($p=0.617$) HWE'den bir sapmanın olmadığı belirlenmiştir.
- 2) Allel frekansları ve genotip sıklığı açısından karşılaştırıldığında, anlamlı bir fark tespit edilememiştir (Tablo 10).

C) Sağlıklı kontrollere ait DNA'larla akciğer kanserli hastalara ait normal DNA'lar karşılaştırıldığında;

- 1) Sağlıklı grupta HWE'den bir sapma gözlenirken ($p=0.000$), diğer grupta bir sapmanın olmadığı ($p=0.951$) gözlenmiştir.
- 2) Hem allel sıklığı hem de genotip sıklığı açısından her iki grupta istatistiksel bir anlam saptanmamıştır (Tablo 10).

4.2.2. MMP-7 Gen Polimorfizmi Bakılan;

A) Sağlıklı kontroller ile Akciğer Ca/T ait polimorfizmler karşılaştırıldığında;

- 1) Sağlıklı kontrollerde HWE'den bir sapma gözlenmezken ($p=0.955$), tümör DNA'larında HWE'den bir sapmanın olduğu ($p=0.004$) belirlenmiştir.
- 2) Allel frekansları açısından karşılaştırıldığında, G allelinin sağlıklı kontrollerde nadir görülürken, tümör grubunda anlamlı bir artışının ($p=0.011$) olduğu belirlenmiştir.
- 3) Genotip sıklığı açısından karşılaştırıldığında; Sağlıklı grupta nadir gözlenen AG genotipi ile hiç gözlenmeyen GG genotipinin tümör

DNA'larında anlamlı şekilde artmış olarak bulunduğu ($p=0.020$) belirlenmiştir.

4) AG ve GG'nin artmasının yani AA'nın azalmasının akciğer kanseri riskini 7.9 kat arttırdığı söylenebilir (Tablo 10).

B) Akciğer Ca/N DNA'sı ile Akciğer Ca/T DNA'sı karşılaştırıldığında;

- 1) Normal DNA'larda HWE'den sapma gözlenmezken ($p=0.951$), tümör DNA'larında HWE'den bir sapmanın olduğu ($p=0.004$) belirlenmiştir.
- 2) Allel frekansları açısından karşılaştırıldığında; Nadir görülen G allelinin, tümör dokularında anlamlı bir şekilde artmış olduğu ($p=0.022$) belirlenmiştir.
- 3) Genotip sıklığı açısından karşılaştırıldığında; AA genotipinin azaldığı, buna karşın AG+GG genotipinin arttığı, fakat istatistik anlamın olmadığı gözlenmiştir (Tablo 10).

C) Sağlıklı kontrollere ait DNA'larla, Akciğer Ca/N DNA'ları karşılaştırıldığında;

- 1) Heriki grupta da HWE'den anlamlı sapma gözlenmemiştir ($p=0.955$).
- 2) Allel frekansı ve genotip açısından anlamlı bir ilişki saptanmamıştır (Tablo 10).

4.2.3. MMP-13 Gen Polimorfizmi Bakılan;

A) Sağlıklı kontroller ile Akciğer Ca/T ait polimorfizmler karşılaştırıldığında;

- 1) Hem sağlıklı kontrollerde ($p=0.000$) hem de tümör DNA'larında HWE'den bir sapmanın olduğu ($p=2.328$) belirlenmiştir.
- 2) Allel frekansları açısından karşılaştırıldığında; G alleli sağlıklı grupta bulunmazken, tümör DNA'larında anlamlı oranda yüksek bulunduğu ($p=0.0002$) belirlenmiştir.
- 3) Genotip sıklığı açısından karşılaştırıldığında; AG ve GG genotipinin tümör DNA'larında anlamlı olarak artmış olduğu ($p=0.047$), buna karşın AA'nın azalmış olduğu saptanmıştır ($p=0.001$).

- 4) AG ve GG'nin bulunmasının akciğer kanseri riskini 1.6 kat arttırdığı saptanmıştır (Tablo 10).

B) Akciğer Ca/N DNA'sı ile Akciğer Ca/T DNA'sı karşılaştırıldığında;

- 1) Hem normal akciğer DNA'larında ($p=0.0008$) hem de tümör DNA'larında ($p=2.328$) HWE'den sapmanın olduğu belirlenmiştir.

2) Allel frekansları, genotip sıklığı ve risk açısından anlamlı bir ilişki saptanmamıştır (Tablo 10).

C) Sağlıklı kontrollere ait DNA'larla Akciğer Ca/N DNA'ları karşılaştırıldığında;

- 1) Hem sağlıklı kontrollerde ($p=0.000$) hem normal akciğer DNA'larında ($p=0.0008$) HWE'den bir sapmanın olduğu belirlenmiştir.

2) Allel frekansı açısından karşılaştırıldığında; G alleli sağlıklı grupta bulunmazken, kanserli hastaların normal akciğer DNA'larında anlamlı oranda artmış olduğu ($p=0.0012$) belirlenmiştir.

3) Genotip sıklığı açısından karşılaştırıldığında; AG ve GG genotipinin sağlıklı kontrollerde bulunmaz iken akciğer kanserli hastalara ait normal doku DNA'larında dahi anlamlı oranda bulunduğu ($p=0.019$) belirlenmiştir. AA genotipinin sağlıklı kontrol grubuna göre Akc Ca/N dokuda azalmış olması anlamlı olarak bulunmuştur ($p=0.047$). Zaten Akc Ca/T dokusunda da AA genotipinin azaldığı görülmüştür.

4) AG ve GG genotipinin akciğer kanseri riskini 1.6 kat arttırdığı belirlenmiştir (Tablo 10).

4.3. Epidermoid ve Non-Epidermoid Karsinomların Polimorfizmlerle Karşılaştırılması

MMP-2 polimorfizmi olan epidermoid kanserli hastaların tümörlü dokuları ile sağlıklı kontrol grubu karşılaştırıldığında, sağlıklı kontrol grubunda hiç A alleli bulunmadığı görülürken, tümörlü dokuda AG genotipinin arttığı

görülmektedir. Bununla beraber tümör dokusunda GG genotipinin anlamlı olarak ($p=0.006$) azalması, akciğer kanseri sıklığını arttırmaktadır (Tablo 11).

Tablo 11: Epidermoid Akc Ca/T, Akc Ca/N ve sağlıklı kontrol grubu arasındaki MMP-2, MMP-7, MMP-13 gen polimorfizmlerinin karşılaştırılması.

MMP	Genotip	Ep Akc Ca /T n^a (%)	Ep Akc Ca /N n^b (%)	Sağlıklı kontrol n^c (%)	OR	95% CI	p
MMP2	GG	70(91)	39(97.5)	80(100)	1.100 ^{1&}	1.025-1.181 ^{1&}	0.006 ^{1&}
	AG/AA	7+0 (9)	1+0(2.5)	-(0)	4.072 ^{2*}	0.483-34.343 ^{2*}	0.197 ^{2*}
					1.026 ^{3&}	0.976-1.078 ^{3&}	0.333 ^{3&}
MMP7	GG	1(1.3)	-(0)	-(1.3)	0.487 ^{1&}	0.415-0.572 ^{1&}	0.490 ^{1&}
	AA/AG	69+7(98.7)	39+1(100)	79+1(98.7)	0.665 ^{2&}	0.574-0.748 ^{2&}	1.000 ^{2&}
MMP13	GG	2(2.6)	1(2.5)	-(0)	1.487 ^{1&}	0.411-0.569 ^{1&}	0.239 ^{1&}
	AA/AG	73+2(97.4)	39+0(97.5)	80+0 (100)	1.076 ^{2*}	0.094-12.327 ^{2*}	0.953 ^{2*}
					0.328 ^{3&}	0.253-0.424 ^{3&}	0.333 ^{3&}

^an=77, ^bn=40, ^cn=80, *:OR (95%CI) yaşa ve cinsiyete göre ayarlanmış ¹Akc Ca/T ile sağlıklı kontrol, ²Akc Ca/T ile Akc Ca / N, ³ Akc Ca /N ile sağlıklı kontrol genotip sıklığının karşılaştırılması, [&]Fisher's Exact Test.

Non-epidermoid grup MMP-2 polimorfizmin de, tümörlü doku ile sağlıklı kontrol arasında karşılaştırmada; sağlıklı grupta A alleli bulunmazken, tümör dokusunda AG genotipinin arttığı, GG genotipinin azaldığı ve kanser riskini arttırdığı ($p=0.026$) bulunmuştur. Aynı grupta ayrıca MMP-13 de; sağlıklı kontrol grubunda GG genotipi bulunmazken, tümör dokusunda anlamlı olarak ($p=0.010$) arttığı ve kanser riskini arttırdığı gözlemlenmiştir (Tablo 12).

Tablo 12: Non-Epidermoid Akc Ca/T, Akc Ca/N ve sağlıklı kontrol grubu arasındaki MMP-2, MMP-7, MMP-13 gen polimorfizmlerinin karşılaştırılması.

MMP	Genotip	Non Ep Akc Ca/T n^a (%)	Non Ep Akc Ca/N n^b (%)	Sağlıklı kontrol n^c (%)	OR	95% CI	p
MMP2	GG	51(92.7)	28(100)	80(100)	1.078 ^{1&}	1.001-1.161 ^{1&}	0.026 ^{1&}
	AG/AA	4+0(7.3)	0+0(0)	-(0)	1.078 ^{2&}	1.001-1.161 ^{2&}	0.295 ^{2&}
MMP7	GG	1(1.8)	-(0)	-(0)	0.403 ^{1&}	0.328-0.495 ^{1&}	0.407 ^{1&}
	AA/AG	51+3(98.2)	28+0(100)	79+1(100)	0.659 ^{2&}	0.563-0.770 ^{2&}	1.000 ^{2&}
MMP13	GG	5(9.1)	1(3.6)	-(0)	1.100 ^{1&}	1.012-1.196 ^{1&}	0.010 ^{1&}
	AA/AG	45+5(90.9)	22+5(96.4)	80+0(100)	2.916 ^{2*}	0.315-26.959 ^{2*}	0.346 ^{2*}
					0.252 ^{3&}	0.182-0.350 ^{3&}	0.259 ^{3&}

^an=55, ^bn=28, ^cn=80, *:OR (95%CI) yaş ve cinsiyete göre ayarlanmış ¹Akc Ca/T ile sağlıklı kontrol, ²Akc Ca/T ile Akc Ca / N, ³ Akc Ca /N ile sağlıklı kontrol genotip sıklığının karşılaştırılması, [&]Fisher's Exact Test..

4.4. Prognostik Faktörler

Sağ-kalımı bilinen 112 hastanın Log rank testi ile bakılan prognostik faktörlerinde, hastaların yaşının 60'ın altında olması ($p=0.019$), lenf nodu metastazının olmaması ($p=0.039$), düşük evreli olması ($p=0.022$) ve üst

lobektomi yapılmış ($p=0.009$) olması gibi sağ-kalıma olumlu katkıları olan bilindik faktörlerin yanında MMP-13 GG genotipinin varlığı ($p=0.041$) olumsuz faktör olarak yer aldığını söyleyebiliriz (Tablo 13).

Tablo 13: KHDAK 'li 112 hastanın tek değişkenli (Log rank test) prognostik faktörleri

	n	10 yıllık Median TY (10 yıllık TY olasılığı)	Log Rank p-değeri
Hastalar	112	23.9	
Yaş			
<60 yıl	55	42.2	0,019
≥60 yıl	57	15.5	
Evre			
1	29	42.2	0.022
2	32	17.5	
3	51	14.3	
Histolojik grup			
Epidermoid kanser	65	15.5	0.291
Non-Epidermoid kanser	47	27.6	
Lenf nodu			
N0	63	39.3	0.039
N1	27	14.3	
N2	22	14.7	
Cerrahi			
Üst lobektomi	30	69.5	0.009
Alt lobektomi	22	23.9	
Pnomonektomi	52	13.8	
HMMP2 genotip			
GA/AA	9	59.6	0.562
GG	103	22.6	
HMMP7 genotip			
GG	2	(100)	0.107
GA/AA	111	22.6	
HMMP13 genotip			
GG	7	9.3	0.041
GA/AA	105	29.9	
HMMP2 immunhistokimya			
% 0-25	14	11.7	0.388
% 25-50	45	24.4	
% >50	52	14.8	
HMMP7 immunhistokimya			
% 0-25	41	24.4	0.881
% 25-50	36	17.5	
% >50	34	23.9	
HMMP13 immunhistokimya			
% 0-25	34	24.5	0.142
% 25-50	42	14.5	
% >50	35	24.8	

TY: total yaşam

Prognostik faktörlerin multivariant Cox regresyon analizleri yapıldığında, yaşın 60'ın altında olması (rölatif risk: 0.482 OS: 0.292–0.797 p=0.004), düşük evreli olması (rölatif risk: 0.533 OS: 0.298–0.954 p=0.034) yanında tümör dokusunda MMP-13 GG genotipinin varlığında anlamlı bulunmuştur (rölatif risk:3.801 OS: 1.60–8.549 p=0.001) (Tablo 14).

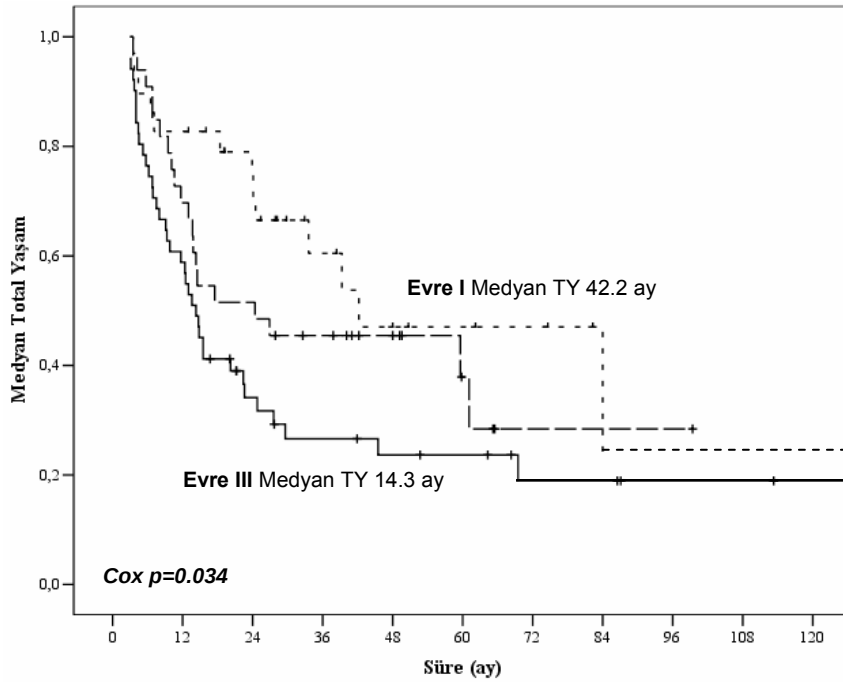
Tablo 14: KHDAK'li 112 hastanın Cox regresyon hazard modeli ile multivariant analizi. (tek değişkenli analizde $p < 0.10$ un altında kalan yaş, evre, lenf nodu, cerrahi, MMP-13 genotipi ayrı prognostik faktör grup olarak (back ward) alınarak yapılan değerlendirmede)

Değişkenler	OS		
	Rölatif risk	Güven Aralığı	Anlam
Yaş (yıl)			
<60 yıl/ ≥60 yıl	0.482	0.292–0.797	0.004
Evre			
I/II-III	0.533	0.298–0.954	0.034
HMMP13			
GG/AA-AG	3.801	1.60–8.549	0.001

OS: Ortalama yaşam süresi.

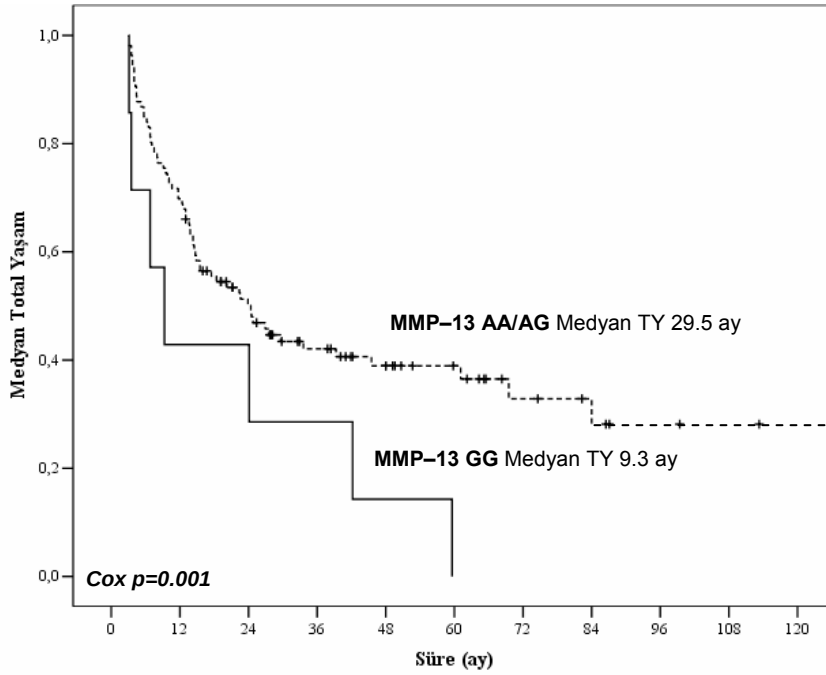
4.5. Yaşam Analizi

Evre I medyan total yaşam süresi 42.2 ay, Evre III 14.3 ay olarak bulundu (Şekil 1).



Şekil 1: KHDAK'de evrenin medyan total yaşam süresi üzerine etkisi

MMP-13 AA/AG genotiplerinde medyan ortalama yaşam süresi 29.5 ay, GG genotipinde ise 9.3 ay olarak bulundu (Şekil 2).



Şekil 2: MMP-13 genotipinin medyan total yaşam süresi üzerine etkisi

4.6. Polimorfizmlerin Çeşitli Klinik Parametrelerle Karşılaştırılması

Hastaların yaş, evre, lenf nodu, epidermoid ve non-epidermoid kanser alt gruplarının polimorfizmlerle karşılaştırılması Tablo 15, 16, 17, 18 gösterilmektedir.

Tablo 15: İleri yaş ile MMP polimorfizmlerinin karşılaştırılması.

MMP	Genotip	Yaş > 60 <i>n</i> ^a (%)	Yaş < 60 <i>n</i> ^b (%)	OR	95% CI	p
MMP2	GG	66 (93)	55 (90.2)			
	AG	5 (7)	6 (9.8)			
	AA	-(0)	-(0)	1.440 [§]	0.417–4.974 [§]	0.754 [§]
MMP7	GG	2 (2.8)	-(0)	1.029 [§]	0.989–1.071 [§]	0.499 [§]
	AG	6 (8.5)	4 (6.6)	1.315 [§]	0.353–4.896 [§]	0.752 [§]
	AA	63 (88.7)	57 (93.4)	1.810 [§]	0.517–6.332 [§]	0.383 [§]
MMP13	GG	2 (2.8)	5 (8.1)	0.325 [§]	0.061–1.737 [§]	0.248 [§]
	AG	5 (7)	2 (3.3)	2.235 [§]	0.418–11.955 [§]	0.450 [§]
	AA	64 (90.2)	54 (88.6)	0.844 [§]	0.278–2.556 [§]	0.784 [§]

^a*n*=71, ^b*n*=61, *:OR(95%CI) yaş ve cinsiyete göre ayarlanmış, [§]Fisher's Exact Test

Tablo 16: Epidermoid, non-epidermoid kanser grubunun karşılaştırılması.

MMP	Genotip	Epi <i>n</i> ^a (%)	Non epi <i>n</i> ^b (%)	OR	95% CI	p
MMP2	GG	70 (98.6)	51 (92.7)			
	AG	7 (1.4)	4 (7.3)			
	AA	-(0)	-(0)	0.547*	0.146–2.051*	0.371*
MMP7	GG	1 (1.3)	1 (1.8)	0.980*	0.058–16.566*	0.989*
	AG	7 (9)	3 (5.4)	0.262*	0.056–1.226*	0.089*
	AA	69 (89.7)	51 (92.8)	0.331*	0.083–1.327*	0.119*
MMP13	GG	2 (2.6)	5 (9)	2.836*	0.516–15.574*	0.230*
	AG	2 (2.6)	5 (9)	2.836*	0.516–15.574*	0.230*
	AA	73 (94.8)	45 (82)	2.980*	0.826–10.754*	0.095*

^an=77, ^bn=55, *:OR(95%CI) yaş ve cinsiyete göre ayarlanmış**Tablo 17:** N0 ile N I-II karşılaştırılması.

MMP	Genotip	N 0 <i>n</i> ^a (%)	N I-II <i>n</i> ^b (%)	OR	95% CI	p
MMP2	GG	68 (90.7)	53 (93)			
	AG	7 (89.3)	4 (7)			
	AA	-(0)	-(0)	0.668*	0.179–2.492*	0.548*
MMP7	GG	1 (1.3)	1 (1.7)	1.204*	0.071–20.364*	0.898*
	AG	7 (9.3)	3 (5.3)	0.487*	0.116–2.037*	0.324*
	AA	67 (89.4)	53 (93)	0.571*	0.157–2.074*	0.395*
MMP13	GG	5 (6.7)	5 (8.3)	1.269*	0.336–4.790*	0.725*
	AG	6 (8)	1 (1.7)	0.185*	0.021–1.814*	0.127*
	AA	64 (85.3)	54 (90)	0.609*	0.201–1.847*	0.382*

^an=75, ^bn=57, *:OR(95%CI) yaş ve cinsiyete göre ayarlanmış**Tablo 18:** Evre I ile Evre II-III ün karşılaştırılması.

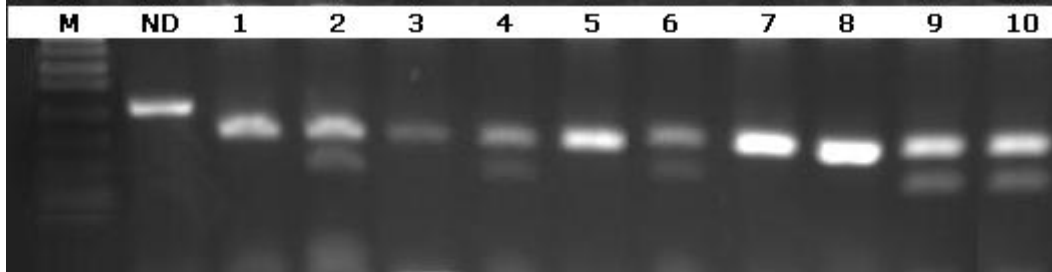
MMP	Genotip	E I <i>n</i> ^a (%)	E II-III <i>n</i> ^b (%)	OR	95% CI	p
MMP2	GG	31 (88.6)	90 (93)			
	AG	4 (11.4)	7 (7)			
	AA	-(0)	-(0)	0.519*	0.139–1.940*	0.329*
MMP7	GG	0 (0)	2 (2.1)	1.021 [§]	0.992–1.051 [§]	1.000 [§]
	AG	5 (14.3)	5 (5.1)	0.227*	0.058–0.896*	0.034*
	AA	30 (85.7)	90 (92.8)	0.372*	0.106–1.312*	0.124*
MMP13	GG	3 (8.6)	4 (4.1)	0.329*	0.067–1.625*	0.173*
	AG	3 (8.6)	4 (4.1)	0.329*	0.067–1.625*	0.173*
	AA	29 (82.8)	89 (91.8)	0.393*	0.122–1.261*	0.116*

^an=35, ^bn=97, *:OR(95%CI) yaş ve cinsiyete göre ayarlanmış, [§]Fisher's Exact Test

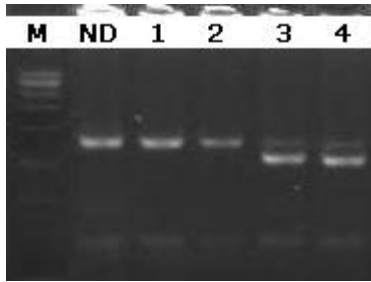
MMP-7 AG genotipinin evre I de yüksek olması (OR: 0.227 95%CI:0.058-0.896 p=0.034) iyi prognoz işareti olabileceğini gösterdi (Tablo 18)

4.7. Polimorfizmlerin Agoroz Jel Elektroforezindeki Görüntüleri

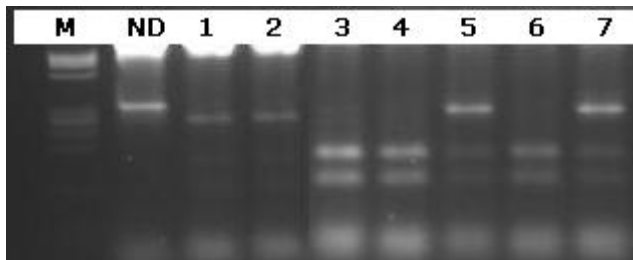
MMP-2, 7, 13 genlerine ait polimorfizmlerin agora jeldeki görüntüleri. Şekil 3, 4 ve 5'te bu bölgelere ait örnek resimler verilmiştir.



Şekil.3 Etidyum bromid ile boyanmış MMP2 (Hinf I kesimi) DNA fragmentlerinin Agoroz jel elektroforezi görüntüsü (M=DNA uzunluk cetveli, ND: Kesim uygulanmamış PCR ürünü, 1. 3. 5. 7. 8→ GG; 2. 4. 6. 9. 10→ GA)



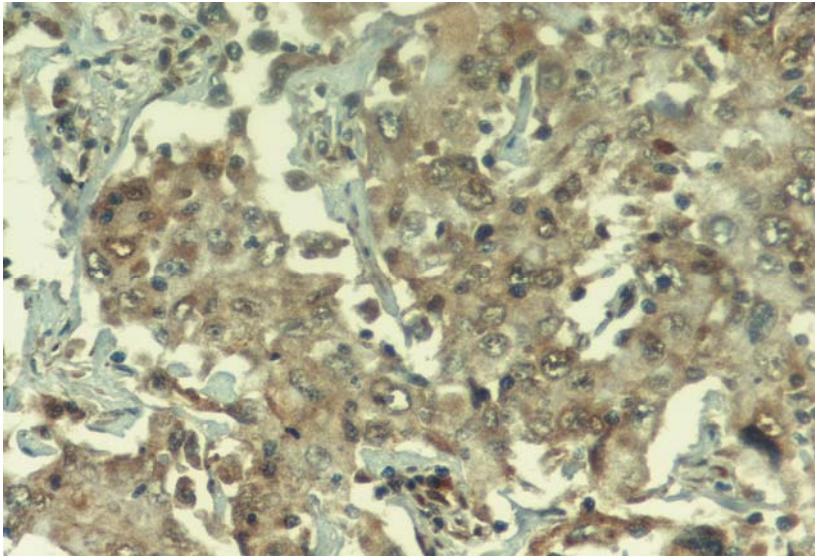
Şekil.4 Etidyum bromid ile boyanmış MMP7 (EcoR I kesimi) DNA fragmentlerinin Agoroz jel elektroforezi görüntüsü (M=DNA uzunluk cetveli, ND: Kesim uygulanmamış PCR ürünü, 1. 2→ AA; 3. 4 →AG)



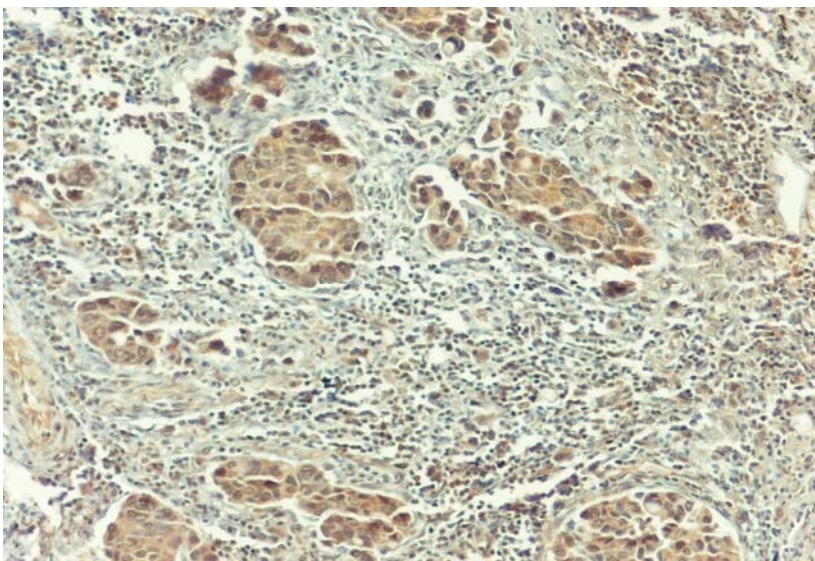
Şekil.5 Etidyum bromid ile boyanmış MMP13 (Xsp I kesimi) DNA fragmentlerinin Agoroz jel elektroforezi görüntüsü (M=DNA uzunluk cetveli, ND: Kesim uygulanmamış PCR ürünü, 1. 2. 5. 7→ AG; 3. 4. 6→GG)

4.8. MMP-2, 7, 13 Gen Polimorfizmlerinin İHK Boyanma Görüntüleri

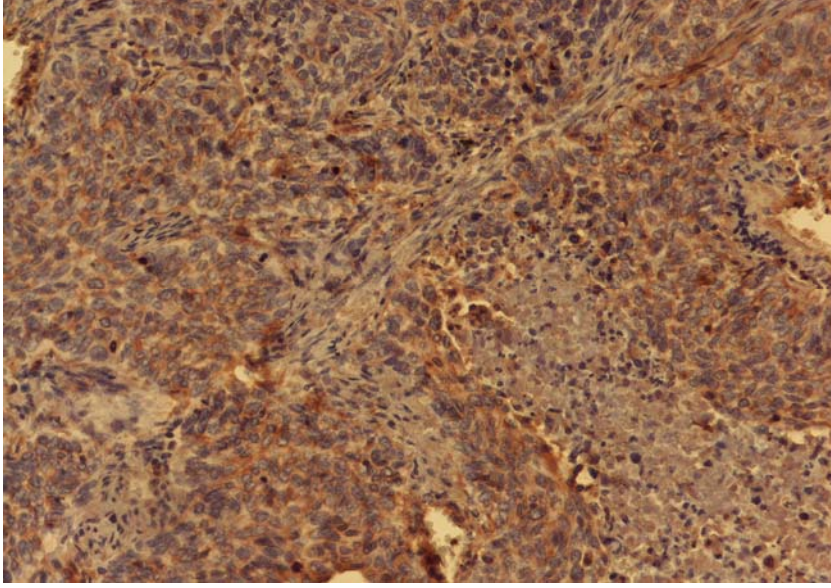
İmmünohistokimyasal analizleri yapılan MMP-2, MMP-7, MMP-13'lerin, hastaların klinik parametreler ve bulunan polimorfizmlerle ilişkisi istatistik olarak tespit edilememiş olup, boyanan preparatların görüntüsü resimde verilmektedir (Resim 5, 6, 7).



Resim 5: Az diferansiye epidermoid kanserde MMP-2 ile orta derecede boyanma (x400)



Resim 6: Adenokarsinomda MMP-7 ile orta derecede boyanma (x200)



Resim 7: Epidermoid kanserde MMP-13 ile güçlü boyanma (x400)

5. TARTIŞMA

Akciğer kanseri sıklığının son yıllarda giderek artması ve mortalitesinin yüksek olması, akciğer kanseri ile mücadeleyi daha da önemli hale getirmektedir. Hastaların çoğunda tanı konulduğu an yaygın hastalık nedeniyle, akciğer kanserinin prognozu kötüdür. Akciğer kanserinin prognozunda, performans durumu, nodal metastatik tutulum ve uzak metastaz gibi parametreler önemli olmakla birlikte, bugün için TNM sınıflandırması prognozun en iyi belirleyicisidir. Buna rağmen bu evrelendirme sisteminde, evreler kendi içinde tedaviye yanıt ve nüks açısından heterojen grupları içermekte, aynı evrelerdeki hastalarda tedavinin etkisi ve prognoz, farklılıklar göstermektedir. Bu yüzden de daha homojen grupları ayırmak üzere yeni prognostik sistemleri oluşturma zorunluluğu belirmiştir (22,129-131).

Akciğer kanserinin prognozunda erken tanının öneminin anlaşılması ve tanı aşamasındaki güçlükler, tümör belirleyicilerine ilişkin çalışmaları da zorlamaktadır.

Gelişmiş ülkelerde KHDAK'leri içinde en fazla görülen histolojik tip her ne kadar adenokarsinom olsa da, gelişmekte olan ülkelerde epidermoid karsinom en sık olarak görülmektedir (132).

Akciğer kanseri, meme kanseri, kolorektal kanser gibi solid kanserlerle MMP polimorfizminin ilişkisini araştıran birçok çalışma yapılmıştır. Bu çalışmalardan bazıları, MMP polimorfizmleri ile yatkınlık ve/veya klinik sonuçların ilişkili olduğunu kanıtlamıştır (133).

MMP'ler normal embriyolojide kollajen ve proteoglikanlar gibi birçok ECM komponentinin yıkımından ve karsinoma gibi birçok hastalığın gelişim sürecinde yeniden yapılanmadan sorumlu, çinko bağımlı enzim grubudur. Bazı tümörlerde MMP'lerin aşırı salınımına rastlanmış ve bu salınımın tümör invazyonu ve metastazı ile anjiogenezisi ve karsinogenezisi arttırabilme

korelasyonu tespit edilmiştir. Akciğer kanseri patogenezinde MMP'lerin önemi belirtilmiştir (134,135).

Biz de çalışmamızda, KHDAK de MMP-2, 7, 13 gen polimorfizmlerini ve İHK boyanma özelliklerini gösterip, klinik parametrelerle ilişkilerini değerlendirdik.

Çalışmamızdaki akciğer kanseri hasta grubunda %58.3 oranında epidermoid karsinom saptanmıştır. Akciğer kanserli hastalarda tanı konulduğu anda hastaların çoğunluğunun yaygın hastalıklı olması ile uyumlu olarak bizim hastalarımızda %42.4 ünü evre III oluşturmaktadır.

Kang Shan ve arkadaşları (133), Çin halkında endometriozis ve adenomyozisde MMP-7 (-181 A/G) ve MMP-9 (1562 C/T) promotör bölgelerindeki polimorfizmleri incelemişler, MMP-7 G allelinin; kolorektal kanser ile, Zhang J ve arkadaşları (9), özofagus skuamöz hücreli karsinom, gastrik kardial kanseri ve KHDAK ile ilişkili, kanser büyümesi ve lenf nodu metastazı ile ilgili olduğunu bulmuşlardır.

MM-Ishikawa T ve arkadaşlarının (137) kolorektal karsinomlu hastalarda ki yaptığı çalışmalarında, artmış evre ile beraber MMP-7'nin ekspresyonunda artmış olduğunu bulmuşlardır.

MMP-7 -181 G allelinin yüksek ekspresyonu; hücresel proliferasyonu, invazyon ve apoptozu, hücre yüzeyi sinyallerini değiştirebilir (138,139). Ek olarak artmış MMP-7 -181 G ekspresyonu, MMP-2 gibi MMP ailesinin diğer üyelerinin aktivasyonunun artmasına neden olabilir (140).

Zhang ve arkadaşları (9), 2001–2003 yılları arasında 702 kanser vakasında (258 özefagus kanseri, 201 gastrik karsinom, 243 akciğer kanserli) yaptıkları bir çalışmada, hastaların venöz kanlarında MMP-7 -181 A/G polimorfizmini incelemişler, bu polimorfizmin tüm bu kanserlerle ilişkili olduklarını bulmuşlardır.

-181 G allelinin artmış promotör aktivitesi MMP-7 mRNA artışına ve dolayısı ile protein ekspresyonunun artışına neden olur. MMP-7'nin aşırı aktivitesi -181 G allelinin etkisi ile MMP-7 protein sheddase aktivitesi doğrultusunda malign dönüşüme neden olur (TNF alfa, E-kaderin, Fas ligand substratları

ile). Bu substratlar sinyal iletiminde, hücre-hücre adezyonunda ve apoptozda önemli rol alırlar (9).

Ghilardi ve arkadaşları (136) kolorektal kanserlerin hem tanı aldığı ilk dönemde hem de takibin sonlandığı dönemde homozigot -181 G allelinin, lenf nodu tutulumuna neden olduğunu göstermiş; Sasaki ve arkadaşları (141) karşıt olarak akciğer kanserinde MMP-7 mRNA aşırı ekspresyonunun, çok az bir oranda lenf nodu tutulumunda eğilime neden olacağını bildirmiştir.

Çalışmamızda polimorfizmlere göre lenf nodunun tutulumunda anlamlı fark bulunmazken, tek değişkenli (Long rank) prognostik faktörlerde N0 ile N1-NII arasından anlamlı fark tespit edildi ($p=0.039$) fakat bu farkın Cox regresyon analizinde değişkenler arasında yer almadığı görüldü. Çalışmamızda Akc Ca/T ile sağlıklı kontrol grubu arasında MMP-7 -181 polimorfizmi incelenmiş, tümörlü dokuda G allelinin anlamlı artışı ($p=0.011$) görülmüştür. Ayrıca evre-I'de AG genotipinde artış olması, iyi prognozla ilişkiliydi ($OR=0.227$, %95 $CI=0.058-0.896$, $p=0.034$). Akc Ca/T ile sağlıklı kontrol grubunun karşılaştırılmasında MMP-7 -181 polimorfizmin de Akc Ca/T dokuda AA genotipinin azalırken AG+GG genotipinin anlamlı artmasının ($p=0.020$), akciğer kanseri sıklığını 7.9 kat arttırdığı bulunmuştur.

MMP-2'nin KHDAK tümör hücrelerinde artmış ekspresyon seviyeleri kötü prognoz göstergesidir, birçok akciğer kanseri tipinde, invazif ve metastatik potansiyelle sıkı bir ilişki içindedir (7).

Rollin ve arkadaşlarının (142) evre I-II-III-IV akciğer kanserli 90 hasta ve 90 kontrol grubunda yaptıkları çalışmada, MMP-2 -735 polimorfizminin kanser riski ve lenf nodu metastazıyla ilişkisi tespit edilememiş, fakat T allel taşıyıcılarında, olmayanlara göre daha iyi prognoz tespit edilmiştir.

Chunyuan Yu ve arkadaşları (128), 527 özofagus kanserli ve 777 sağlıklı kontrol grubuyla yaptıkları çalışmada, MMP-2 -735 polimorfizminin yaygın kanserler için genel risk faktörü olabileceğini göstermişlerdir. Bu çalışmada MMP-2 -1306C/T ve -735C/T polimorfizmleri ile özofagus skuamöz hücreli kanserinin patolojik evrelemesi arasında anlamlı ilişki bulunamamıştır.

Zhou ve arkadaşlarının (143) 770 hasta ve 777 kontrol grubunda baktığı MMP-2 -735 polimorfizminde sigara etkisiyle birlikte, kansere artmış yatkınlık tespit edilmiştir.

Sigara içiciliği varlığında tümör gelişimi ile MMP polimorfizmi arasındaki ilişki Yu ve arkadaşları tarafından da raporlanmıştır (144). MMP-2 promotor polimorfizmi ve sigara içimi etkileşiminin, akciğer kanseri gelişimindeki riski ispatlanmıştır.

Yifeng zhou ve arkadaşları (143) 770 akciğer kanseri ve 777 kontrol grubunda PCR yöntemiyle MMP-2 -1306 ve -735 polimorfizmlerini incelemişler ve genotip sıklığı açısından HW eşitliğinde anlamlı fark bulamamışlardır. Fakat her iki genotip taşıyıcılarında artmış akciğer kanseri riski tespit etmişlerdir. Bu çalışmaya göre -735 CC, TT ve CT genotip taşıyıcıları yüksek kanser gelişme riskine sahiptirler (OR, 1.57; %95 CI, 1.27–1.95).

Çalışmamızda Akc Ca/T ile sağlıklı kontrol grubunun karşılaştırılmasında MMP-2 -735 promotor polimorfizminin A allelinin, tümürlü dokuda anlamlı olarak bulunduğu ($p=0.008$), GG genotipinin azalmasının ise anlamlı olarak ($OR=1.091$, %95 CI=1.036–1.148, $p=0.008$) akciğer kanseri riskinin 1.6 kat arttırabileceği, non-epidermoid kansere göre ($p=0.026$) epidermoid kanserlerde tümör dokusunda GG genotipinin daha anlamlı olarak ($OR=1.100$, %95 CI=1.025–1.181, $p=0.006$) azaldığı tespit edilmiştir. Çalışmamızda 132 hastanın 129 (%97.8)'u sigara içmiş, 3 tanesi (%2.2) ise içmemişti, geriye dönük incelemede günlük içilen paket/yıl, bırakıldıysa süresi gibi veri bilgileri olmadığından istatistik çalışmasına dahil edilemedi. Kanser gelişiminde sigaranın ve dozunun tek başına veya MMP polimorfizmi kombinasyonu ile etkisini saptamak için, daha fazla örnekle, daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır.

Zhang XJ ve arkadaşları (127) MMP-13 A77G bölgesindeki tek nükleotit polimorfizmini PCR-RFLP yöntemiyle genotiplendirmişlerdir. Çalışmaya 316 özofagus skuamöz hücreli kanseri, 243 gastrik kardial kanseri, ve 603 sağlıklı kontrol dahil edilmiş. MMP-13 A/A A/G G/G genotipleri sigara içme durumuna göre derecelendirilmiş, kanserli hastalardaki genotip ve allotip dağılımları,

sağlıklı kontrol grubundan anlamlı olarak farklı bulunamamıştır ($p>0.05$). Buna göre de MMP-13 A77G SNP kanser hassasiyeti ile ilişkili olmayabileceği fakat A/G genotipinin sigara içenlerde mide kardia kanserine karşı koruma sağlayabileceği belirtilmiştir. MMP-13'ün in vivo olarak, invaziv malign tümörlerde, meme karsinomu, baş, boyun ve vulvanın skuamöz hücreli karsinomlarında, malign melanom, kondrosarkomlarda ekspresyonu belirlenmiştir (145).

Zhen-Dong Gu ve arkadaşları (146) 208 özofagus skuamöz hücreli kanser hastasının kanında immunohistokimyasal olarak MMP-1, MMP-7, MMP-9 ve MMP-13 ekspresyonlarının hayatta kalmayla olan ilişkisini incelemişlerdir. Buna göre; MMP-7 ekspresyonu pozitif hastalarda, medyan ortalama yaşam süresinin 23 ay olduğu, negatif olanlarda ise 77 ayın üzerinde olduğu, MMP-13 ekspresyonunu pozitif olan hastalarda 18 ay, negatif olanlarda ise 39 ay olduğu görülmüştür. Ekspresyonları negatif olan erken evre özofagus skuamöz hücreli kanserlerinde, hastalıksız geçen yaşam süresinin daha uzun olduğu görülmüştür.

Yamashita ve arkadaşları (147) 48 hastada, Yamamoto ve arkadaşları (148) 100 hastada yaptıkları çalışmalarda, MMP-7 ekspresyonunun bağımsız risk faktörü olduğunu, ayrıca Etoh ve arkadaşları (149) 45 özofagus skuamöz hücreli kanserinde MMP-13 ekspresyonunun varlığının, bağımsız prognostik faktör olarak görev yaptığını buldular.

Y. L. Lee ve arkadaşları (150), Tayvan toplumunda, 225 KHDAK hastası ve 289 kontrol üzerinde PCR-RFLP analizi kullanılarak MMP-7 (-181A/G) ve MMP-13 (77G/A) promoter bölgelerindeki tek nükleotid mutasyonlarının genotipik dağılımı ve allel sıklıklarını araştırmışlardır. Toplamda hastalarla kontroller arasında allel frekansları ve genotip dağılımlarında anlamlı değişiklikler mevcuttu. MMP-7 (-181A/G) ($p<0.0001$) ve MMP-13 (77G/A) ($p=0.004$) genotip dağılımları akciğer kanseri hastaları ve sağlıklı kontroller arasında anlamlı derecede farklıydı. Lojistik regresyon analizinde MMP-7'nin GG genotipinde, AA veya AG genotipine göre, akciğer kanseri için daha yüksek olasılık oranı ($OR= 19.1$, $\%95\ CI=2.49-146.5$, $p<0.0001$) olduğu ve MMP-13 için ise AA genotipinin GA ve GG genotiplerine göre akciğer kanseri

için daha yüksek olasılık oranı olduğunu bulmuşlardır (OR=1.72, %95 CI=1.17–2.55, p=0.007).

Çalışmamızda, sağlıklı kontroller ile akciğer tümör dokusuna ait MMP-7 -181 A/G ve MMP-13 77A/G ait gen polimorfizmleri karşılaştırıldığında; MMP-7'nin sağlıklı grupta nadir gözlenen AG genotipi ile hiç gözlenmeyen GG genotipinin birlikte tümör DNA'larında anlamlı şekilde artmış olarak bulunduğu (p=0.020) ve akciğer kanseri riskini anlamlı şekilde arttırdığı bulunmuştur. Lee ve arkadaşlarının çalışma sonuçlarının tersine, bizim çalışmamızda, MMP-13 için AG ve GG genotipinin, tümör DNA'larında anlamlı olarak artmış olduğu (p=0.047), buna karşın AA'nın azalmış olduğu saptanmıştır. AG ve GG'nin bulunmasının akciğer kanseri riskini 1.6 kat arttırdığı saptanmıştır.

Thomas ve arkadaşlarının (151) 2000 yılında yaptıkları 115 KHDAK hastasının MMP ekspresyonunun karşılaştırmalı immunohistokimyasal çalışmasında, elde edilen bulgular, tümörün klinik ve histolojik özellikleriyle ilişkiliydi, skuamöz hücreli kanser ile adenokarsinom karşılaştırıldığında, skuamöz hücreli kanserlerde, MMP-1, MMP-11, MMP-13 ve MMP-14 aşırı ekspresyonu daha sık görülmüştü.

Leeman MF ve arkadaşları (152), kolorektal kanser dokusunda MMP-13 ekspresyonunun varlığını İHK yöntemlerle incelemişler ve MMP-13 ekspresyonunun düşük sağ kalımla ilişkili olduklarını bulmuşlardır. Çalışmamızda yapılan İHK incelemelerde hiçbir MMP polimorfizmi anlamlı istatistik sonuç vermemiştir.

Paricia Gonzalez-Arriaga ve arkadaşları (153) 501 akciğer kanseri tanısı alan hasta grubuyla 510 sağlıklı kontrol grubunda yaptıkları çalışmada MMP-1 (-1607 1G/2G), MMP-8 (+17 C/G) ve MMP-13 (77 A/G) promotor bölgelerindeki polimorfizmlerin, akciğer kanseri gelişimi ve hayatta kalma zamanı üzerine etkilerini incelemişler, akciğer kanserinde MMP-1 ve MMP-13 gibi MMP'lerin sayılarının artmasının, skuamöz hücreli karsinom ve adenokarsinomanın progresyon ve prognozu ile ilişkili olduğunu göstermişlerdir.

Yapılan iki yeni çalışmada da MMP-13 77 A/G polimorfizmi ile, meme kanseri ve nazofarinks kanseri arasında ilişki olmadığı gösterilmiştir (154,155). MMP-13 77 A/G polimorfizminin hastanın yaşam süresi ve akciğer kanseri gelişimi üzerine, Cox regresyon multivariant analizlerle istatistik olarak farklılık olmadığını göstermişlerdir. Oysa ki bizim çalışmamızda Akc Ca/T ile sağlıklı kontrol grubu karşılaştırılmış MMP-13 A77G polimorfizminin G allelinin tümör dokusunda anlamlı olarak yüksek bulunduğu ve AG/GG genotipinin varlığı akciğer kanseri insidansını 1.6 kat arttırdığı ($p=0.047$), Cox regresyon analizinde MMP-13 GG/AA-AG genotipi $p=0.001$ anlamlı olarak bulunmuştur. MMP-13 AA/AG genotiplerinde medyan ortalama yaşam süresi 29.5 ay, GG genotipinde ise 9.3 ay olarak bulundu.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Genetik polimorfizmler, tıpta bazı hastalıklara karşı duyarlılıkta bireysel farklılıkları belirlememizi sağlar. Bazı gen polimorfizmleri (alleller) bir hastalık riskini artırırken bazıları azaltabilmekte (koruyucu allel), bazı polimorfik alleller ise yalnızca çevresel bir faktörün etkisi altındayken riski etkileyebilmektedir.

Çalışmamızın sonucunda;

MMP-2;

1- GG genotipinde azalmanın akciğer kanseri riskini 1.6 kat arttırabileceğini göstermiştir.

2- Genotip sıklığı açısından karşılaştırıldığında, sağlıklı grupta gözlenmeyen AG genotipinin, tümörlerde anlamlı derecede arttığı ve GG genotipinde anlamlı derecede azaldığı ($p=0.008$) belirlenmiştir.

MMP-7;

1- Allel frekansları açısından, G allelinin, sağlıklı kontrollerde nadir görülürken tümör grubunda anlamlı bir artışının ($p=0.011$) olduğu belirlendi.

2- Genotip sıklığı açısından karşılaştırıldığında; Sağlıklı grupta nadir gözlenen AG genotipi ile hiç gözlenmeyen GG genotipinin, tümör DNA'larında anlamlı şekilde artmış olarak bulunduğu ($p=0.020$) belirlendi.

3- AG ve GG'nin artmasının yani AA'nın azalmasının akciğer kanseri riskini anlamlı şekilde arttırdığı saptandı.

4- AG genotipinin evre I de yüksek olmasının iyi prognoz işareti olduğu ($p=0.034$) belirlendi.

5- AA genotipi azalırken, AG ve GG genotipinin artmasının, akciğer kanseri riskini 7.9 kat arttırmış olduğu belirlendi.

MMP-13;

1- Allel frekansları açısından, G alleli sağlıklı grupta bulunmazken, tümör DNA'larında anlamlı oranda yüksek bulunduğu ($p=0.0002$) belirlenmiştir.

- 2- AG ve GG'nin bulunmasının akciğer kanseri riskini 1.6 kat arttırdığı saptanmıştır.
- 3- AG ve GG genotipi akciğer kanseri riskini 1.6 kat artırır.
- 4- Cox regresyon multivariant analizde, yaş, evre kadar MMP-13 GG/AA-AG polimorfizminin de ($p=0.001$) medyan total yaşam süresine etkili olduğu bulundu.
- 5- MMP-13 AA/AG varlığında total yaşamın 29.5 ay, GG varlığında 9.3 ay olduğu bulundu.
- 6- Ayrıca bütün polimorfizmler ile yapılan İHK incelemelerde gruplar ve klinik parametrelerle yapılan istatistik karşılaştırılmasında hiçbir anlam bulunamadığı gibi, MMP-13 GG polimorfizmi bulunan hastalar arasındada İHK olarak istatistik fark yoktu.

Akciğer kanserinde bilindik iyi prognostik faktörler olan, 60 yaşın altında olunması ($p=0.019$), düşük evreli olunması ($p=0.022$), lenf bezi metastazının olmaması ($p=0.039$), cerrahi olarak üst lobektomi yapılmış olması ($p=0.009$) yanında, MMP-13 GG genotipinin varlığının bulunmasında ($p=0.041$) prognozda önemli bir değişkendi. Cox regresyon analizinin sonucunda, akciğer kanserinin prognozunun belirlenmesinde yaş ve evre kadar, MMP-13 GG genotipinin de önemli olduğunu söyleyebiliriz.

Kanser gelişiminde genlerin ve varyasyonlarının, çevresel risk faktörleriyle birlikte etkisi, tek tek göstermiş oldukları etkinin toplamından daha fazla olabilmektedir. Kanser gelişimi ya da kansere yatkınlıkla ilgili genlerin ve polimorfizmlerin bilinmesi, hiç şüphesiz pek çok kanserin erken tanısı ve tedavisinde yararlı olabilecektir.

Hastalık yatkınlığı ile ilişkili genetik varyantları tanımlamak sadece patogenez ile ilgili altta yatan faktörle ilgili bilgilerimizi geliştirmemize yardım etmeyecek, ayrıca farklı tedavilerin gelişmesini kolaylaştıracaktır.

Son yıllarda öncelikle erken evre KHDAK'de araştırılmaya başlanan gen profillerinin, yakın bir gelecekte hastalığın prognozunu daha iyi belirlememizi sağlayacağını ve tedavi seçimlerimizde bize daha doğru bir yol göstereceğini ümit ediyoruz.

Sonuç olarak; MMP'ler tümör gelişimi, progresyonu ve metastazı için anahtar nokta olarak kabul edildiğinden, MMP genotipleme çalışmalarındaki uyumsuzluklara rağmen bu araştırma sahasında daha ileri çalışmalar yapılması gerekliliğine inanıyoruz.

7. KAYNAKLAR

- 1) Altın S. Akciğer kanseri. Toraks derneği akciğer ve plevra maligniteleri çalışma grubu, 2006;7(2):1-35.
- 2) Fernandes AM, Hamburger AW, Gerwin BI. Production of epidermal growth factor related ligands in tumorigenic and benign human lung epithelial cells. *Cancer Letters*. 1999;142:55–63.
- 3) Perez-Soler R, Mendelson J. Growth factor receptors as a target for therapy. In: Roth JA, Cox JD, Hong WK eds. *Lung cancer*. 2nd ed. Blackwell Science Inc. 1998:309–341.
- 4) Siegfried JM, Demichele MA, Davis AG, Hunt JD, Vohra KP, Pilewski JM. Growth factors and receptors in non small cell lung cancer. In: Brambilla C, Brambilla E, ed. *Lung tumors fundamental biology and clinical management*. New York, Marcel Dekker Inc. 1999:317- 336.
- 5) Takanami I, Imamuma T, Hashizume T, Kikuchi K, Yamamoto Y, Yamamoto T, et al. Expression of PDGF, IGF-II, bFGF and TGF- β 1 in pulmonary adenocarcinoma. *Path Res Pract*. 1996;192:1113–1120.
- 6) Bolon I, Robert C. Matrix proteases and transcription factors in the process of dissemination. In: Brambilla C, Brambilla E, eds. *Lung tumors Fundamental biology and clinical management* New York, Marcel Dekker Inc. 1999:399–422.
- 7) Passlick B, Sienel W, Seen-Hibler R, Wöckel W, Thetter O, Mutschler W, et al. Overexpression of matrix metalloproteinase 2 predicts unfavorable outcome in early stage nonsmall cell lung cancer. *Clin Cancer Research*. 2000;6:3944–3948.
- 8) Cox G, Jones JL, O'Byrne KJ. Matrix metalloproteinase 9 and the epidermal growth factor signal pathway in operable nonsmall cell lung cancer. *Clin Cancer Research*. 2000;6:2349–2355.
- 9) Zhang J, Jin X, Fang S, Wang R, Li Y, Wang N, et al. The functional polymorphism in the matrix metalloproteinase–7 promoter increases susceptibility to esophageal squamous cell carcinoma, gastric cardiac adenocarcinoma and non-small cell lung carcinoma. *Carcinogenesis*. 2005;26:1748–1753.
- 10) Ohta M, Tsuchiya R, Shimoyama M, Sawamura K, Mori T, Miyazawa N, et al. Adjuvant chemotherapy for completely resected stage III non-small-cell lung cancer. Results of a randomized prospective study. The Japan Clinical Oncology Group. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 1993;106(4):703–708.

- 11) T.C. Sağlık Bakanlığı. Kanseri istatistikleri. Erişim:www.saglik.gov.tr. Erişim tarihi: 29.06.2008.
- 12) T.C. Sağlık Bakanlığı: Türkiye genelinde kanser olgularının dağılımı (1999) Erişim: www.kanser. saglik.gov.tr. Erişim tarihi: 29.06.2008.
- 13) Türk Toraks Derneği Akciğer Kanseri Tanı Ve Tedavi Rehberi. Toraks Dergisi. 2006;7(2):1–35.
- 14) Alberg AJ, Ford JG, Samet JM; American College of Chest Physicians. Epidemiology of lung cancer: ACCP evidence-based clinical practice guidelines (2nd edition). Chest. 2007;132(3:suppl):293–555.
- 15) Alberg AJ, Brock MV, Samet JM. Epidemiology of lung cancer: looking to the future. Clin Oncol. 2005;23(14):3175–3185.
- 16) Sardari Nia P, Weyler J, Colpaert C, Vermeulen P, Marck EV, Schil PV. Prognostic value of smoking status in operated non-small cell lung cancer. Lung Cancer. 2005;47:351–359.
- 17) Kotnis A, Sarin R, Mulherkar R. Genotype, phenotype and cancer: Role of low penetrance genes and environment in tumour susceptibility. J Biosci. 2005;30:93–102.
- 18) Bouchardy C, Benhamou S, Jourenkova N, Dayer P, Hirvonen A. Metabolic genetic polymorphisms and susceptibility to lung cancer. Lung Cancer. 2001;32:109–112.
- 19) World Health Organization. WHO Report On The Global Tobacco Epidemic, 2008.
- 20) Özlü T, Bülbül Y. Smoking and lung cancer. Tüberküloz Toraks. 2005;53(2):200–209.
- 21) Alberg AJ, Samet JM. Epidemiology of lung cancer. Chest. 2003;123:21–49.
- 22) Mulshine JL. Reducing lung cancer risk. Chest. 1999;116:493–496.
- 23) Köktürk N, Öztürk C, Kırıçoğlu CE. Sigara ve akciğer kanseri. Solunum. 2003;5:139–145.
- 24) Taylor R, Najafi F, Dobson A. Meta-analysis of studies of passive smoking and lung cancer: effects of study type and continent. Int J Epidemiol. 2007;36(5):1048–1059.
- 25) Denissenko MF, Pao A, Tang MS, Pfeifer GP. Preferential formation of benzo(a)pyrene adducts at lung cancer mutational hotspots in p53. Science. 1996;274:430–432.

- 26) Freedman ND, Leitzmann MF, Hollenbeck AR, Schatzkin A, Abnet CC. Cigarette smoking and subsequent risk of lung cancer in men and women analysis of prospective cohort study. *Lancet Oncol*. 2008;9:649–656.
- 27) Yurdakul AS, Çalışır HC, Demirağ F, Taci N, Öğretensoy M. Akciğer kanserinin histolojik tiplerinin dağılımı (2216 olgunun analizi). *Toraks Dergisi*. 2002;3:59–65.
- 28) Ruano-Ravina A, Figueiras A, Barros-Dios JM. Lung cancer and related risk factors: an update of the literature. *Public Health*. 2003;117:149–156.
- 29) Bosetti C, Boffetta P, La Vecchia C. Occupational exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons, and respiratory and urinary tract cancer: a quantitative review to 2005. *Ann Oncol*. 2007;18:431–436.
- 30) Cortez BA, Machado-Santelli GM. Chrysotile effects on human lung cell carcinoma in culture: 3-D reconstruction and DNA quantification by image analysis. *BMC Cancer*. 2008;8(1):181–183.
- 31) Marinaccio A, Scarselli A, Binazzi A, Mastrantonio M, Ferrante P, Iavicoli S. Magnitude of asbestos-related lung cancer mortality in Italy. *Br J Cancer*. 2008;99(1):173–175.
- 32) Wei Q, Spitz MR. The role of DNA repair capacity in susceptibility to lung cancer: a review. *Cancer Metastasis Rev*. 1997;16:295–307.
- 33) Catelinois O, Rogel A, Laurier D, Billon S, Hemon D, Verger P, Tirmarche M. Lung cancer attributable to indoor radon exposure in France: impact of the risk models and uncertainty analysis. *Environ Health Perspect*. 2006;114(9):1361–1366.
- 34) Hofmann W, Crawford-Brown DJ, Fakir H, Monchaux G. Modeling lung cancer incidence in rats following exposure to radon progeny. *Radiat Prot Dosimetry*. 2006;122(1-4):345–348.
- 35) Vineis P, Forastiere F, Hoek G, Lipsett M. Outdoor air pollution and lung cancer: Recent epidemiologic evidence. *Int J Cancer*. 2004;111(5):647–652.
- 36) Vineis P, Husgavel-Pursiainen K. Air pollution and cancer: biomarker studies in human population. *Carcinogenesis*. 2005;26(11):1846–1855.
- 37) Divisi D, Di Tommaso S, Salvemini S, Garramone M, Crisci R. Diet and cancer. *Acta Biomed*. 2006;77(2):118–123.
- 38) Smith TJ, Yang G, Seril ND, Liao J, Kim S. Inhibition of 4-(methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-butanone induced lung tumorigenesis by dietary olive oil and squalene. *Carcinogenesis*. 1998;19:703–706.
- 39) Zhang Y, Shu XO, Gao YT, Ji BT, Yang G, Li HL, et al. Family history of cancer and risk of lung cancer among nonsmoking Chinese women. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2007;16(11):2432–2435.

- 40) Ganti AK, Loberiza FR, Kessinger A. Association of positive family history with survival of patients with lung cancer. *Lung Cancer* 2008. Article in press, July 15.
- 41) Gorlova OY, Weng SF, Zhang Y, Amos CI, Spitz MR, Wei Q. DNA repair capacity and lung cancer risk in never smoker. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2008;17(6):1322–1328.
- 42) Wu X, Zhao H, Suk R, Christiani DC. Genetic susceptibility to tobacco-related cancer. *Oncogene.* 2004;23:6500–6523.
- 43) Forgacs E, Zöchbauer-Müller S, Olah E, Minna JD. Molecular genetic abnormalities in the pathogenesis of human lung cancer. *Pathology Oncology Research.* 2001;7:6–13.
- 44) Berwick M, Vineis P. Markers of DNA repair and susceptibility to cancer in humans: an epidemiologic review. *J Natl Cancer Inst.* 2000;92: 874–897.
- 45) Zienoldiny S, Campa D, Lind H, Ryberg D, Skaug V, Stangeland L, et al. Polymorphisms of DNA repair genes and risk of non-small cell lung cancer. *Carcinogenesis.* 2006;27(3):560–567.
- 46) World Health Organization. Histological typing of lung and pleural tumors. World Health Organization. 2004.
- 47) Mountain CF. Revisions in the international system for staging lung cancer. *Chest.* 1997;111:1710–1717.
- 48) D’Addario G, Fellip E. Non-small-cell lung cancer: ESMO clinical recommendations for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol.* 2008;19(suppl 2):39–40.
- 49) Mountain CF, Dresler CM. Regional lymph node classification for lung cancer staging. *Chest.* 1997;111:1718–1723.
- 50) Detterbeck FC, Socinski MA. 2B or not 2B: The current question in staging nonsmall cell lung cancer. *Chest.* 1997;112:229–234.
- 51) Milroy R. Staging of Lung Cancer. *Chest.* 2008;133:593–595.
- 52) Groome PA, Bolejack V, Crowley JJ, Kennedy C, Krasnik M. The IASLC lung cancer staging project: Validation of the proposal for revision of the T, N, M descriptors and consequent stage groupings in the forthcoming (seventh) edition on the TNM classification of malignant tumours. *J Thorac Oncol.* 2007;2:694–705.
- 53) Collins J, Stern EJ. *Chest Radiology.* Lippincott Williams&Wilkins, 1999:1325-1360.
- 54) Gamze U. Akciğer kanserlerinde siklooksijenaz-2, vasküler endotelial büyüme faktörü, osteopontin ve human papilloma virüsün prognostik önemi. Uzmanlık tezi, Çukurova Üniv. Tıp Fak. Göğüs Hastalıkları A.D. Adana 2007.(yayınlanmamış), s 18-23.

- 55) Aysan T, Göksel T. Akciğer kanserlerinde evreleme ve prognostik faktörler. In Haydaroglu AO. Akciğer Kanserleri tanı ve tedavi. İzmir Ege Üniversitesi Basımevi, 2000:91–101.
- 56) Enön S, Tokat OA, Güngör A. Küçük hücreli dışı akciğer kanserinde nodal evrelemede invaziv prosedürlerin üstünlükleri. Tüberküloz Toraks. 2005;53(4):401–406.
- 57) Spiro SG, JC Porter. Lung Cancer- Where are we today? Current advances in staging and nonsurgical treatment. Am J Respir Crit Care Med. 2002;166:1166–1196.
- 58) Yüncü G, Alıcı H, Sevinç S, Gülle AA, Üçvet A. Akciğer kanserinin preoperatif evrelemesinde toraks bilgisayarlı tomografisi ve mediastinoskopinin rolü. Toraks Dergisi. 2003;4(1):61–64.
- 59) Lewis JW Jr, Pearlberg JL, Beute GH, Alpern M, Kvale PA, Cross BH, et al. Can computed tomography of the chest stage lung cancer? — Yes and no. Ann Thorac Surg, 1990;49:591–596.
- 60) Silvestri GA, Tanoue LT, Margolis M, Barker J, Detterbach F. The noninvasive staging of non-small cell lung cancer. Chest. 2003;123:147–156.
- 61) Pugatch RD. Radiologic evaluation in chest malignancies. Chest. 1995;107:294–297.
- 62) Patz EF, Erasmus JJ, Mc Adams HP, Connolly JE, Marom EM, Goodman PC et al. Lung cancer staging and management: Comparison of contrast- enhance and nonenhanced helical CT of the thorax. Radiology. 1999;212:56–60.
- 63) Heelan RT, Demas BE, Carevelli JF. Superior sulcus tumors: CT and MR imaging. Radiology. 1989;170:637–641.
- 64) Webb WR, Gatsonis C, Zerhouni EA. CT and MR imaging in staging nonsmall cell bronchogenic carcinoma. Radiology. 1991;178:705–713.
- 65) Grover FL. The role of CT and MRI in staging of the mediastinum. Chest. 1994;106:391–396.
- 66) Kramer H, Harry JM. Groen. Current concepts in the mediastinal lymph node staging of nonsmall cell lung cancer. Ann Surg. 2003;238:180–188.
- 67) Kodallı N, Göğüs Cerrahisinde Görüntüleme Yöntemleri. Editör Yüksel M, Kalaycı NG. Göğüs Cerrahisi, 1.Baskı, İstanbul, Bilmedya Grup, 2001:49–63.
- 68) Higashi K. FDG PET in the evaluation of the aggressiveness of pulmonary adenocarcinoma Nucl Med Commun. 2000;21:707–714.

- 69) Marom EM. Staging non small cell lung cancer with whole body PET. Radiology. 1994;212:803–809.
- 70) Detterbeck FC, DeCamp MM Jr, Kohman LJ, Silvestri GA. Lung cancer. Invasive staging: The guidelines. Chest. 2003;123:167–175.
- 71) Toloza EM, Harpole L, Detterbeck F, McCrory DC. Invasive staging of non-small cell lung cancer: a review of the current evidence. Chest. 2003;123:157–166.
- 72) Llyod C, Silvestri GA. Mediastinal staging of non-small-cell lung cancer. Cancer Control. 2001;8(4):311–317.
- 73) Schrevens L, Lorent N, Doods C, Vansteenkiste J. The Role of PET Scan in diagnosis, Staging, and Management of Non-Small Cell Lung Cancer. Oncologist. 2004;9:633–643.
- 74) Rong F, Cui B. CT scan directed transbronchial needle aspiration biopsy for mediastinal nodes. Chest. 1998;114:36–39.
- 75) Bilaceroğlu S, Cagiotariotaciota U, Günel O, Bayol U, Perim K. Comparison of rigid and flexible transbronchial needle aspiration in the staging of bronchogenic carcinoma. Respiration 1998;65:441–449.
- 76) Reed CE, Silvestri GA. Diagnosis and staging of lung cancer. In Shields TW (ed): General Thoracic Surgery. 6th ed. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins, 2005;1534–1548.
- 77) Kalaycı G. Akciğer kanserinin cerrahi tedavisi, tanı ve evreleme, metastaz yolları. Editör Yüksel M, Kalaycı NG. Göğüs Cerrahisi, 1.Baskı, İstanbul, Bilmedya Grup, 2001:233–260.
- 78) Akamatsu H, Terashima M, Koike T, Takizawa T, Kurita Y. Staging of primary lung cancer by computed tomography-guided percutaneous needle cytology of mediastinal lymph nodes. Ann Thorac Surg. 1996;62:352–355.
- 79) Yasufuku K, Nakajima T, Motoori K, Sekine Y, Shibuya K, Hiroshima K, Fujisawa T. Comparison of endobronchial ultrasound, positron emission tomography, and CT for lymph node staging of lung cancer. Chest. 2006;130:710–718.
- 80) Gupta NC, Frank AR, Dewan NA, Redepenning LS, Rothberg ML, Mailliard JA. Solitary pulmonary nodules: detection of malignancy with PET with 2-[F–18]-fluoro–2-deoxy-D-glucose. Radiology. 1992;184(2):441–444.
- 81) Bakheet SM, Saleem M, Powe J, Al Amro A, Larsson SG, Mahassin Z. F–18 fluorodeoxyglucose chest uptake in lung inflammation and infection. Clin Nucl Med. 2000;25:273–278.
- 82) Gebitekin C. Göğüs Cerrahisinde İnvazif Tanı Yöntemleri. Editör Yüksel M, Kalaycı NG. Göğüs Cerrahisi, 2001:83–94.

- 83) Passlick B. Mediastinal staging. Lung Cancer. 2004;45(2):85-87.
- 84) McNeill TM, Chamberlain JM. Diagnostic anterior mediastinotomy. Ann Thorac Surg. 1966;2:532–539.
- 85) Avtan L, Kalaycı G. Video Torakoskopik Cerrahi. Editör Yüksel M, Kalaycı NG. Göğüs Cerrahisi, 2001:143–160.
- 86) Landreneau RJ, Hazelrigg SR, Mack MJ, Fitzgibbon LD, Dowling RD, Acuff TE, et al. Thoracoscopic mediastinal lymph node sampling: useful for mediastinal lymph node stations inaccessible by cervical mediastinoscopy. J Thorac Cardiovasc Surg. 1993;106(3):554–558.
- 87) Karahalil B, Kocabas NA. hOGG1 SER326CYS genetic polymorphism in a Turkish population. Arch Toxicol. 2005;79:377–380.
- 88) Strachan T, Andrew P. Human Molecular Genetics 2. New York and London; 1999:105.
- 89) Fohlman J, Blomberg J, Fröman G, Engstrand L, Johansson A, Friman G. Microbial diagnosis with PCR will become clinically beneficial with a faster analysis. Lakartidningen. 2004;101(17):1488–1492.
- 90) Türk Farmakoloji Derneği Eğitim Sempozyumu. Genetik araştırmalarda kullanılan yöntemlerin farmakoloji de uygulamaları. 2 Haziran 2006 – Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi, Van.
- 91) Maniatis T, Fritsch EF, Sambrook F, Molecular Cloning a Laboratory Manuel, Cold Spring Harbor Laboratory; USA, 1983.
- 92) Ömer Faruk Bayrak. MMP–1 geni promotor bölgesindeki polimorfizmin ovaryum kanseri riski üzerine etkisi. Yüksek Lisans Tezi, Erzurum 2006.
- 93) Trovo MG, Minatel E, Veronesi A, Roncadin M, De Paoli A, Franchin G, et al. Combined radiotherapy and chemotherapy versus radiotherapy alone in locally advanced epidermoid bronchogenic carcinoma. Cancer. 1990;65:400-405.
- 94) Ennis BW, Matrisian LM. Matrix degrading metalloproteinases. J Neuro-Oncology, 1994;18:105–109.
- 95) Sethi CS, Bailey TA, Luthert PJ, Chong NHV. Matrix metalloproteinase biology applied to vitreoretinal disorders. Br J Ophthalmol. 2000;84:654–664.
- 96) Gordon JL, Drummond AH, Galloway WA. Metalloproteinase inhibitors as therapeutics. C Rheumatology. 1993;11(suppl.8):91–94.
- 97) Nagase H, Fields GB. Human matrix metalloproteinase specificity studies using collagen sequence-based synthetic peptides biopolymers Peptid science. 1996;40:399–416.

- 98) Matrisian LM. Metalloproteinases and their inhibitors in matrix remodeling. *Tig* April 1990;6:4,s.28.
- 99) Evans JD, Ghaneh P, Kawesha A, Neoptolemos JP. Role of Matrix Metalloproteinases and their inhibitors in pancreatic cancer. *Digestion*. 1997;58:520–528.
- 100) Kuzuya M, Iguchi A. Role of matrix metalloproteinases in vascular remodeling. *J Atheroscler Thromb*. 2003;10:275–282.
- 101) Vihinen P, Kahari VM. Matrix metalloproteinases in cancer: Prognostic markers and therapeutic targets. *Int J Cancer*. 2002;99:157–166.
- 102) Nagase H, Woessner JF Jr. Matrix metalloproteinases. *J Biol Chem*. 1999;274:21491–21494.
- 103) Hoekstra R, Eskens FA, Verweij J. Matrix metalloproteinase inhibitors: Current developments and future perspectives. *Oncologist*. 2001;6:415–427.
- 104) Sternlicht MD, Werb Z. How matrix metalloproteinases regulate cell behavior. *Annu Rev Cell Dev Biol*. 2001;17:463–516.
- 105) Saarialho-Kere UK, Chang ES, Welgus HG. Distinct localization of collagenase and tissue inhibitor of metalloproteinases expression in wound healing associated with ulcerative pyogenic granuloma. *J Clin Invest*. 1992;90:1952–1957.
- 106) Gutman A and Wasylyk B. The collagenase gene promoter contains a TPA and oncogene-responsive unit encompassing the PEA3 and AP-1 binding sites. *EMBO J*. 1990;9:2241–2246.
- 107) Baker EA, Bergin FG, Leaper DJ. Matrix metalloproteinases, their tissue inhibitors and colorectal cancer staging. *Br J Surg*. 2000;87(9):1215–1221.
- 108) Capon F, Emonard H, Hornebeck W, Maquart FX, Bernard P. Expression and activation of pro-gelatinase A by human melanoma cell lines with different tumorigenic potential. *Clin Exp Metastasis*. 1999;17(6):463–469.
- 109) Furuya M, Ishikura H, Ogawa Y, Kawarada Y, Shibata M, Fujimoto S, et al. Analyses of matrix metalloproteinases and their inhibitors in cyst fluid of serous ovarian tumors. *Pathobiology*. 2000;68(6):239–244.
- 110) Mizumoto H, Saito T, Ashihara K, Nishimura M, Takehara M, Tanaka R, et al. Expression of matrix metalloproteinases in ovarian endometriomas: immunohistochemical study and enzyme immunoassay. *Life Sciences*. 2002;71:259–273.
- 111) O-Charoenrat P, Rhys-Evans PH. Expression of matrix metalloproteinases and their inhibitors correlates with invasion and metastasis in squamous cell carcinoma of the head and neck. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg*. 2001;127(7):813–820.

- 112) Zucker S, Lysik RM, DiMassimo BI, Zarrabi HM, Moll UM, Grimson R, et al. Plasma assay of gelatinase B: tissue inhibitor of metalloproteinase complexes in cancer. *Cancer*. 1995;76(4):700–708.
- 113) Pinto CA, Carvalho PE, Antonangelo L, Garippo A, Da Silva AG, Soares F, et al. Morphometric evaluation of tumor matrix metalloproteinase 9 predicts survival after surgical resection of adenocarcinoma of the lung. *Clin Cancer Res*. 2003;9(8):3098–3104.
- 114) Ylisirnio S, Hoyhtya M, Turpeenniemi-Hujanen T. Serum matrix metalloproteinases –2,-9 and tissue inhibitors of metalloproteinases –1, -2 in lung cancer -TIMP–1 as a prognostic marker. *Anticancer Res*. 2000;20(2B):1311–1316.
- 115) Yang SF, Hsieh YS, Lin CL, Hsu NY, Chiou HL, Chou FP, et al. Increased plasma levels of urokinase plasminogen activator and matrix metalloproteinase–9 in nonsmall cell lung cancer patients. *Clin Chim Acta*. 2005;354(1–2):91–99.
- 116) Hanahan D, Weinberg R. A. The hallmarks of cancer. *Cell*. 2000;100:57–70.
- 117) Sun Y, Cheung JM, Martel-Pelletier J, Pelletier JP, Wenger L, Altman RD, et al. Wild type and mutant p53 differentially regulate the gene expression of human collagenase–3 (hMMP–13). *J Biol Chem*. 2000;275:11327–11332.
- 118) Bissell M J, Radisky D. Putting tumours in context. *Nature Rev. Cancer*. 2001;1:46–54.
- 119) Wang TC, Cardiff RD, Zukerberg L, Lees E, Arnold A, Schmidt EV. Mammary hyperplasia and carcinoma in MMTV-cyclin D1 transgenic mice. *Nature*. 1994;369:669–671.
- 120) Alexander CM, Howard EW, Bissell MJ, Werb Z. Rescue of mammary epithelial cell apoptosis and entactin degradation by a tissue inhibitor of metalloproteinases–1 transgene. *J Cell Biol*. 1996;135:1669–1677.
- 121) Yu WH, Woessner JF, McNeish JD, Stamenkovic I. CD44 anchors the assembly of matrilysin/MMP–7 with heparin-binding epidermal growth factor precursor and ErbB4 and regulates female reproductive organ remodeling. *Genes Dev*. 2002;16:307–323.
- 122) Boulay A, Mason R, Chenard MP, El Fahime M, Cassard L, Bellocq JP, et al. High cancer cell death in syngeneic tumors developed in host mice deficient for the stromelysin–3 matrix metalloproteinase. *Cancer Res*. 2001;61:2189–2193.
- 123) Kolb C, Mauch S, Peter HH, Krawinkel U, Sedlacek R. The matrix metalloproteinase RASI–1 is expressed in synovial blood vessels of a rheumatoid arthritis patient. *Immunol. Lett*. 1997;57:83–88.
- 124) Barsky SH, Siegal GP, Jannotta F, Liotta LA. Loss of basement membrane components by invasive tumors but not by their benign counterparts, *Lab Invest*. 1983;49:140–147.

- 125) Chambers A.F, Groom A.C, MacDonald I.C. Dissemination and growth of cancer cells in metastatic sites, *Nat Rev Cancer*. 2002;2:563–572.
- 126) He Y, Karpanen T, Alitalo K. Role of lymphangiogenic factors in tumor metastasis, *Biochim Biophys Acta*. 2004;1654:3–12.
- 127) Zhang XJ, Guo W, Wang N, Zhou RM, Dong XJ, Li Y. The association of MMP–13 polymorphism with susceptibility to esophageal squamous cell carcinoma and gastric cardiac adeno-carcinoma. *Yi Chuan*. 2006;28(12):1500–1504.
- 128) Chunyuan Y, Yifeng Z, Xiaoping M, Ping X, Wen T, and Dongxin L. Functional Haplotypes in the Promoter of Matrix Metalloproteinase–2 Predict Risk of the Occurrence and Metastasis of Esophageal Cancer. *Cancer Research*. 2004;64:7622–7628.
- 129) Ginsberg MS, MD. Epidemiology of lung cancer. *Seminars in Roentgenology*, 2005;83–89.
- 130) Bucherri G. Circulating biomarkers for lung cancer. *Ann Ital Chir*, 1999;70:831–838.
- 131) Fleischhacker M, Beinert T, Possinger K. Molecular genetic characteristic of lung cancer useful as real tumor markers?. *Lung Cancer*. 1999;25:7–24.
- 132) Topuz E, Aydiner A. Akciğer kanseri. In: Topuz E, Aydiner A, Karadeniz AN, editors. *Klinik onkoloji*. İstanbul: İ.Ü. Onkoloji Enstitüsü Yayınları; 2000. p. 82–89.
- 133) Kang S, Zuo LF, Du H, Guo W, Wang N, Jin X, et al. Polymorphisms in the promoter regions of the matrix metalloproteinases-7, -9 and the risk of endometriosis and adenomyosis in China. *Molecular Human Reproduction*. 2006;12;35–39.
- 134) Elkington PTG, Friendland JS. Matrix Metalloproteinases in destructive pulmonary pathology. *Occasional Review Thorax*. 2006;61:259–266.
- 135) Hartoq CM, Wermelt JA, Sommerfeld CO, Eichler W, Dalhoff K, Braun J. Pulmonary matrix metalloproteinase excess in hospital acquired pneumonia. *Am J Respir Crit Care Med* 2003;167:593–598.
- 136) Ghilardi G, Biondi M.L, Erario M, Guagnellini E, Scorza R. Colorectal carcinoma susceptibility and metastases are associated with matrix metalloproteinase–7 promoter polymorphisms. *Clin Chem*. 2003;49:1940–1942.
- 137) Ishikawa T, Ichikawa Y, Mitsuhashi M, Momiyama N, Chishima T, Tanaka K, et al. Matrilysin is associated with progression of colorectal tumor. *Cancer Lett*. 1996;107:5–10.
- 138) Saarialho-Kere UK, Crouch EC, Parks WC. Matrix metalloproteinase matrilysin is constitutively expressed in adult human exocrine epithelium. *J Invest Dermatol*. 1995;105(2):190–196.

- 139) Holler N, Tardivel A, Kovacsovics-Bankowski M, Hertig S, Gaide O, Martinon F, et al. Two adjacent trimeric Fas ligands are required for Fas signaling and formation of a death-inducing signaling complex. *Mol Cell Biol*. 2003;23(4):1428–1440.
- 140) Barille S, Bataille R, Rapp MJ, Harousseau JL, Amiot M. Production of metalloproteinase–7 (matrilysin) by human myeloma cells and its potential involvement in metalloproteinase–2 activation. *J Immunol*. 1999;163(10):5723–5728.
- 141) Sasaki H, Yukiue H, Moiriyama S, Kobayashi Y, Nakashima Y, Kaji M, et al. Clinical significance of matrix metalloproteinase–7 and Ets–1 gene expression in patients with lung cancer. *J Surg Res*. 2001;101:242–247.
- 142) Rollin J, Regina S, Vourc'h P, Lochmann S, Blechet C, Reverdiau P, Gruel Y. Influence of MMP–2 and MMP–9 promoter polymorphisms on gene expression and clinical outcome of non-small cell lung cancer. *Lung Cancer*. 2007;56:273–280.
- 143) Zhou Y, Yu C, Miao X, Wang Y, Tan W, Sun T, et al. Functional haplotypes in the promoter of matrix metalloproteinase–2 and lung cancer susceptibility. *Carcinogenesis*. 2005;26:1117–1121.
- 144) Yu C, Pan K, Xing D, Liang G, Tan W, Zhang L, et al. Correlation between a single nucleotide polymorphism in the matrix metalloproteinase–2 promoter and risk of lung cancer. *Cancer Res*. 2002;62(15):6430–6433.
- 145) Freije JM, Diez Itza I, Balbin M, Sanchez LM, Bosco R, Tolivia J, et al. Molecular cloning and expression of collagenase–3, a novel human matrix metalloproteinase produced by breast carcinomas. *J Biol Chem*. 1994;269:16766–16773.
- 146) Zhen-DG, Ji-You L, Ming L, Jin G, Xiao-Tian S, Yang K, et al. Matrix metalloproteinases expression correlates with survival in patients with esophageal squamous cell carcinoma. *American J Gastroenterology*. 2005;100:1835–1843.
- 147) Yamashita K, Mori M, Shiraishi T, Shibuta K, Suqimachi K. Clinical significance of matrix metalloproteinase–7 in esophageal carcinoma. *Clin Cancer Res*. 2000;6:1169–1174.
- 148) Yamamoto H, Adachi Y, Itoh F, Iku S, Matsuno K, Kusano M, et al. Association of matrilysin expression with recurrence and poor prognosis in human esophageal squamous cell carcinoma. *Cancer Res*. 1999;59:3313–3316.
- 149) Etoh T, Inoue H, Yoshikawa Y, Bernard GF, Kitano S, Mori M. Increased expression of collagenase–3 (MMP–13) and MT1-MMP in oesophageal cancer is related to cancer aggressiveness. *Gut*. 2000;47:50–56.
- 150) Lee Y.L, Chen S. C, Chen W, Cheng W. E, Shih C. M. The association of MMP–7 and MMP–13 genetic polymorphisms with susceptibility to non-small cell lung cancer in Taiwan. *Europa 2 oral presentation* 2008;147:1335.

- 151) Thomas P. R, Khokha F. A, Shepherd R, Feld M, Tsao S. Differential expression of matrix metalloproteinases and their inhibitors in non-small cell lung cancer. *J. Pathol.* 2000;190:150–156.
- 152) Leeman MF, McKay JA, Murray GI: Matrix metalloproteinase 13 activity is associated with poor prognosis in colorectal cancer. *J Clin Pathol.* 2002;55:758–762.
- 153) Patricia González-Arriaga, M Felicitas López-Cima, Ana Fernández- Somoano, Teresa Pascual, Manuel G Marrón, et al. Polymorphism +17 C/G in Matrix Metalloprotease MMP8 decreases lung cancer risk. *BMC Cancer.* 2008;8:378-390.
- 154) Lei H, Hemminki K, Altieri A, Johansson R, Enquist K, Hallmans G, et al. Promoter polymorphisms in matrix metalloproteinases and their inhibitors: few associations with breast cancer susceptibility and progression. *Breast Cancer Res Treat.* 2007;103(1):61–69.
- 155) Zhou G, Zhai Y, Cui Y, Qiu W, Yang H, Zhang X, et al. Functional polymorphisms and haplotypes in the promoter of the MMP2 gene are associated with risk of nasopharyngeal carcinoma. *Hum Mut.* 2007;28(11):1091–1097.

8. EKLER

GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ

REZEKSİYON UYGULANAN KÜÇÜK HÜCRELİ DIŞI AKCİĞER KANSERLERİNDE MATRİKS METALLOPROTEİNAZ GEN POLİMORFİZMLERİNİN KLİNİK PARAMETRELERLE İLİŞKİSİ, GÖNÜLLÜ BİLGİLENDİRME FORMU

Rezeksiyon uygulanan küçük hücreli dışı akciğer kanserlerinde matriks metalloproteinaz gen polimorfizmlerinin klinik parametrelerle ilişkisini araştırmak amacıyla yapılan çalışmada; Kontrol grubu olarak tarafımdan kan alınacağı ve bu kandan DNA' mın izole edileceği, izole edilen DNA' mın bu çalışma dışında hiçbir yerde ve çalışmada kullanılmıyacağı, ilgili doktor tarafından anlatılmıştır. Bu araştırma esnasında bana ek bir ilaç verilmeyeceği ve girişim yapılmayacağı, kan örneği alınırken hipotansiyon, çok azda olsa nörolojik hasar oluşabileceği, yan etki ve komplikasyonlar oluştuğunda derhal tedavisine başlanacağı konusunda bilgilendirildim.

Fakülte Etik Kurulunun bu çalışmanın Helsinki Deklerasyonu'nda belirtilen maddelere göre ahlaki, vicdani ve tıbbi kurallara uygun olduğunu onayladığı konusunda bilgilendirildim. Bu ilacın/tıbbi uygulamanın etki açısından Dünya Sağlık Örgütü (WHO)'nün kurallarına uygun olarak incelediğini ve planlanan doz/yöntemin insanlara uygulanmasının sakıncalı olmayacağı bana anlatıldı. Ayrıca bana, bu çalışmanın tıbbi olarak geçerli olduğu ve en son bilimsel yöntemlere uygun olarak yapıldığı bildirildi. Bunun, açık bir çalışma olduğu bana anlatıldı.

Beni muayene eden doktora, daha önceki ve şu andaki tüm hastalıklarımı ve şu anda uygulanan tedaviyi bildirdiğimi teyid ederim. Son dört haftada, herhangi bir çalışmada yer almadım.

Bu bilgiler dahilinde, alınan kanımdan DNA' mın izole edilmesini, ayrıca bu çalışmanın gereklerinin yapılmasını kabul ediyorum.

Yukarıdaki, araştırmadan önce gönüllüye verilmesi gereken bilgileri içeren metni okudum. Bana, tanık huzurunda, yukarıda konusu belirtilen araştırmayla ilgili yazılı ve sözlü açıklama yapıldı. Araştırmaya gönüllü olarak katıldığımı ve katılmama hakkımın olduğunu, araştırma başladıktan sonra devam etmeyi istememe hakkına sahip olduğum gibi, kendi isteğime bakılmaksızın araştırmacı tarafından araştırma dışı bırakılabileceğimi biliyorum. Bu koşullarda söz konusu araştırmaya, hiçbir baskı ve zorlama olmaksızın, kendi rızam ile katılmayı kabul ediyorum.

Gönüllü No.:

Tarih:

Gönüllünün Adı, Soyadı:

Tanık:

Gönüllünün Doğum Tarihi:

Doktorun İmzası:

**GAZÜ DNA / DOKU BANKASI VE
GEN ARAŞTIRMALARI LABORATUVARI
DNA ÖRNEKLEME BİLGİ FORMU**

ÖRNEK SAHİBİNİN

Adı :

Soyadı :

Doğum tarihi : / / 19

Doğum yeri :

Cinsiyeti : E ☐ K ☐

Adres :

Telefon :

Anne Baba arasında akrabalık : Var ☐ Yok ☐

Derecesi : Birinci Kuzen ☐ İkinci Kuzen ☐ Uzak Akraba ☐

Büyükanne ve Büyükbabanın doğduğu yer : Annenin annesi : Babanın annesi :

Annemin babası : Babanın babası :

Örnek Tarihi :

Tanı :

Kalıtım Şekli :

Otosomal dominant ☐
X' e bağlı dominant ☐
Maternal ☐

Otosomal resesif ☐
X'e bağlı resesif ☐
Ailevi ☐ Bilinmiyor ☐

Örnek :

Kan : EDTA ☐ ACD ☐

Doku : Kas ☐ Fibroblast ☐

Örneği gönderen doktorun :
İmza :

Adı: Soyadı :

Bölüm : Telefon :

Örneği teslim alanın :
İmza :

Adı : Soyadı:

Deep freeze kodu :

Not:

Lütfen formları eksiksiz ve her birey için ayrı doldurunuz, aksi takdirde bilgisayar kayıtlarına geçmek mümkün olamamaktadır. Ayrıca arkaya aile ağacını çizmeniz önemle rica olunur.