



T.C.

**PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ TIP
FAKÜLTESİ İÇ HASTALIKLARI
ANABİLİM DALI**

**KÜÇÜK HÜCRELİ DIŞI AKCİĞER KANSERİ TANISINDA
MİRNA TÜRLERİNİN PREDİKTİF ÖNEMİ**

UZMANLIK TEZİ

DR. DURMUŞ LEVENT GÜLER

TEZ DANIŞMANI

**DR. ÖĞRETİM ÜYESİ. UZM. DR
SERKAN DEĞİRMENCİOĞLU**

DENİZLİ-2019

**PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ TIP
FAKÜLTESİ İÇ HASTALIKLARI
ANABİLİM DALI**

**KÜÇÜK HÜCRELİ DIŞI AKCİĞER KANSERİ TANISINDA
MİRNA TÜRLERİNİN PREDİKTİF ÖNEMİ**

UZMANLIK TEZİ

DR. DURMUŞ LEVENT GÜLER

TEZ DANIŞMANI

**DR. ÖĞRETİM ÜYESİ. UZM. DR
SERKAN DEĞİRMENCİOĞLU**

DENİZLİ–2019

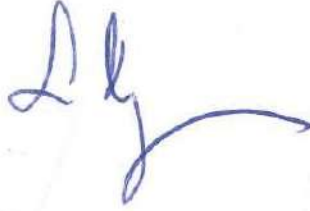
ONAY SAYFASI

Öğr. Gör. Uzm. Dr. Öğretim Üyesi Serkan DEĞİRMENCİOĞLU danışmanlığında Dr. Durmuş Levent GÜLER tarafından yapılan '**Küçük Hücreli Dışı Akciğer Kanseri Tanısında Mirna Türlerinin Prediktif Önemi**' başlıklı tez çalışması 24.06.2019 tarihinde yapılan tez savunma sınavı sonrası yapılan değerlendirme sonucu jürimiz tarafından İç Hastalıkları Anabilim Dalı'nda TIPTA UZMANLIK TEZİ olarak kabul edilmiştir.

BAŞKAN: Prof . Dr. Gamze Gököz Doğu



ÜYE: Dr.Öğretim Üyesi Serkan Değirmencioğlu



ÜYE: Dr.Öğretim Üyesi Esin Oktay



Yukarıdaki imzaların adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylarım.

24/06/2019

Prof. Dr. Osman ÇİFTÇİ
Pamukkale Üniversitesi

TEŞEKKÜR

Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakóltesi Hastanesi'ndeki uzmanlık eğitimim süresince, emeklerini esirgemeyen her daim bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım, en başta değerli hocalarım İç Hastalıkları Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Ahmet Nadir YÖNETÇİ, Tıbbi Onkoloji Bilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Gamze Gököz Doğu ve tez hocam Tıbbi Onkoloji Bilim Dalı Dr.Öğretim Üyesi Sayın Serkan DEĞİRMENCİOĞLU olmak üzere tüm hocalarıma saygı ve teşekkürü borç bilirim.

Dört yıllık bu zorlu asistanlık dönemimde yaşadığım onca sıkıntılı ve sancılı süreçte bir an olsun desteklerini esirgemeyen her zaman varlıklarını yanımda hissettiğim saygıdeğer aileme teşekkür ediyorum.

Tez çalışmam boyunca başta Tıbbi Genetik Ana Bilim Dalı bölüm Dr. Öğretim Üyesi Aydın DEMİRAY olmak üzere çalışmam boyunca yardımlarını esirgemeyen Tıbbi Genetik Ana Bilim Dalı Asistanlarına teşekkürü borç bilirim.

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

ONAY SAYFASI.....	III
TEŞEKKÜR.....	IV
İÇİNDEKİLER.....	V
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	VII
TABLolar DİZİNİ.....	VIII
ÖZET	IX
SUMMARY.....	XI
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1 AKCİĞER KANSERİ EPİDEMİYOLOJİSİ.....	3
2.2 AKCİĞER KANSERİ ETYOLOJİSİ	4
2.2.1 Sigara İçmek.....	4
2.2.2 Çevresel ve Mesleki Risk Faktörleri.....	6
2.2.3 Diğer Akciğer Hastalıkları.....	8
2.3 AKCİĞER KANSERİ HİSTOLOJİK SINIFLANDIRILMASI.....	9
2.4 MOLEKÜLER PATOGENEZ.....	11
2.4.1 EGFR Mutasyonu.....	11
2.4.2 ALK Rearranjmanı.....	12
2.4.3 ROS1 Rearranjman.....	13
2.4.4 RET Rearranjmanı.....	13
2.4.5 MET Mutasyonu ve Amplifikasyonu.....	13
2.5 AKCİĞER KANSERİNDE TARAMA VE ERKEN TANI.....	14
2.5.1 Akciğer kanserinde radyolojik tanı.....	14
2.6 AKCİĞER KANSERİNDE EVRELEME.....	15
2.7 KRONİK OBSTRUKTİF AKCİĞER HASTALIĞI (KOAİ).....	20
2.7.1 Tanım.....	20
2.7.2 Epidemiyoloji.....	20

2.7.3 Risk Faktörleri.....	20
2.7.4 Patogenez.....	21
2.7.5 Fiziopatoloji	22
2.8 MiRNA.....	22
2.8.1 MikroRNA'ların Yapısı ve Keşfi.....	23
2.8.2 MikroRNA'ların Oluşumu.....	23
2.8.3 MikroRNA'ların Fonksiyonu.....	24
2.8.4 Tümör Süpresör mikroRNA'lar.....	25
2.8.5 Onkogenik miRNA'lar.....	26
2.8.6 Akciğer kanseri ve miRNA'lar.....	27
2.8.7 KOAH ve MikroRNA İlişkisi.....	28
3. MATERYAL VE METOD.....	29
3.1 ÇALIŞMAYA ALINAN HASTA ÖZELLİKLERİ.....	29
3.2 RNA İZOLASYONU PROTOKOLÜ.....	29
3.3 cDNA ELDESİ.....	30
3.4 REAL-TİME REAKSİYONU.....	30
3.5 İSTATİSTİKSEL ANALİZ.....	31
4. BULGULAR	31
4.1 HASTALARIN ÖZELLİKLERİ.....	31
4.1.1 KOAH Tanılı Hastalarının Özellikleri.....	31
4.1.2 Akciğer Kanseri Hastalarının Özellikleri.....	32
4.1.3 Hastaların miRNA ekspresyon düzeyleri.....	34
4.1.4 KOAH ve Akciğer Kanseri Hastalarındaki miRNA ekspresyon seviyelerinin birbirleri ile ilişkisi.....	36
4.1.5 KOAH hastalarının miRNA ekspresyon seviyelerinin hasta özellikleri ile korelasyon analizi.....	38
5. TARTIŞMA.....	42
6. SONUÇ.....	56
7. KAYNAKLAR.....	58

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

ACCP-2013: American College of Clinical Pharmacy- 2013

AJCC: American Joint Committee on Cancer

ALK: Anaplastik Lenfoma Kinaz

AML: Akut miyelooid lösemi

BIC: B cell Integration Cluster

BT: Bilgisayarlı Tomografi

CRP: C-reaktif protein

DSÖ: Dünya Sağlık Örgütü

DM: Diabetes mellitus

DDBT: Düşük doz bilgisayarlı tomografi

ECOG: Eastern Cooperative Oncology Group

EGFR: Epidermal büyüme faktör reseptörü

EMT: Epitelyal-Mezenkimal Transisyon

FİSH: Floresan in situ hibridizasyon

HT: Hipertansiyon

IARC: International Agency for Research on Cancer

KBY: Kronik böbrek yetmezliği

KHAK: Küçük Hücreli Akciğer Karsinomu

KHDAK: Küçük Hücreli Dışı Akciğer Karsinomu

KLL: Kronik Lenfositik Lösemi

KOAH: Kronik Obstrüktif Akciğer Hastalığı

K-ras: Kirsten Rat Sarcoma Virüs

MET: Mezenkimal epitelyal geçiş geni

MiRNA: MikroRNA

NCCN-2019: National Comprehensive Cancer Network-2019

NCCN: National Comprehensive Cancer Network

ORF: Open reading frame

PAH: Polisiklik Aromatik hidrokarbonlar

PET: Pozitron Emisyon Tomografi

PD-1/PD-L1: programlı ölüm reseptörü 1

Pre-miRNA: prekürsör miRNA

Pri-miRNA: primer miRNA

RISC: RNA-induced silencing complex

ROS: Proto onkojen tirozin protein kinaz 1
RT: Radyoterapi
SiRNA: Short interfering RNA
TKİ: Tirozin Kinaz İnhibitörü
VALSG: Veterans Administration Lung Study Group
VKİ: Vücut Kütle İndeksi

TABLolar DİZİNİ

Tablo 1 Mesleki karsinojenler ve ilgili mesleki maruziyetler*	7
Tablo 2 Şüpheli mesleki karsinojenler ve ilgili mesleki maruziyetler*	8
Tablo 3 Akciğer Kanserinin Histolojik Tipleri ve Radyolojik-Klinik Bulguları	10
Tablo 4 N-Bölgesel lenf bezleri	17
Tablo 5 M-Uzak metastaz	17
Tablo 6 T-Primer tümör	18
Tablo 7 EVRE GRUPLARI-2	19
Tablo 8 KOAH gelişiminde bugüne kadar tespit edilmiş risk faktörleri	21
Tablo 9 KOAH hastalarının özellikleri	32
Tablo 10 Akciğer kanseri hastalarının özellikleri	33
Tablo 11 KOAH Hastalarındaki Mirna Ekspresyon Sonuçları	34
Tablo 12 KHDAK Hastalarındaki Mirna Ekspresyon Sonuçları	35
Tablo 13 KOAH ve Akciğer Kanseri Hastalarındaki miRNA ekspresyon seviyelerinin birbirleri ile ilişkisi	36
Tablo 14 KHDAK hastalarının miRNA ekspresyon seviyelerinin hasta özellikleri ile korelasyon analizi - 1	38
Tablo 15 KHDAK hastalarının miRNA ekspresyon seviyelerinin hasta özellikleri ile korelasyon analizi – 2	39
Tablo 16 Koah hastalarının miRNA ekspresyon seviyelerinin hasta özellikleri ile korelasyon analizi -1	40
Tablo 17 KOAH hastalarının miRNA ekspresyon seviyelerinin hasta özellikleri ile korelasyon analizi – 2	41

ÖZET

Akciğer kanseri, kansere bağlı ölümlerin tüm dünyadaki en sık nedenini oluşturmaktadır. Kronik obstruktif akciğer hastalığı ise zararlı gaz ve partiküllere karşı havayolları ve akciğerin artmış kronik inflamatuvar yanıtı ile ilişkili ve genellikle ilerleyici özellikteki kalıcı hava yolu obstruksiyonu ile karakterize, yaygın, önlenemez ve tedavi edilebilir bir hastalıktır. KOAH doğal seyrinde akciğer kanserine dönüşebilmektedir. Her iki hastalığın da etiyojisi incelendiğinde büyük oranda sigara dumanına maruziyetin önemli olduğu görülmektedir. KOAH ve akciğer kanseri büyük oranda sigara gibi ortak etiyojistik nedenlere dayalı ortaya çıktığı öngörüldüğü için patogenezlerinde muhtemel benzerlikler bulunduğu düşünülmektedir. Son yıllarda yapılan çalışmalar, miRNA'ların onkogeneizde önemli yer tuttuğunu ve yeni bir tanısal biyobelirteç olabileceğini göstermiştir.

Çalışmaya yeni tanı almış otuz KHDAK hastası ve tedavileri devam etmekte olan otuz KOAH tanı hastası dahil edildi. Dışlama kriteri olarak KOAH grubunda herhangi bir ikincil malignite olması, KHDAK grubunda ise KOAH tanısı olması kullanılmıştı. Hastaların plazma örnekleri toplandı ve daha önceden belirlenmiş olan miRNA'ların (miR-20b, miR-518, miR-let-7d, miR-26a, miR-33a, miR-let-7b, miR-199-5p, miR-369-5p, miR-940, miR-662, miR-328, miR-641, miR-935, miR-93, miR-383, miR-449b, miR-511, miR-636, miR-513b, miR-635) ekspresyon düzeylerinin ölçümü yapıldı. Çalışma sonunda miRNA ekspresyon düzeyi değişimlerinin iki grup arasındaki farkları istatistiksel olarak analiz edildi. Analiz sonucunda 15 miRNA (miR-let-7d (p=0.006), miR-26a (p=0.01), miR-33a(p=0.001), miR-let-7b(p=0.001), miR-199-5p(p=0.001), miR-328(p=0.038), miR-641(p=0.001), miR-935(p=0.032), miR-93(p=0.01), miR-383(p=0,001), miR-449b(p=0.001), miR-511(p=0.001), miR-636(p=0.001), miR-513b(p=0.03) ve miR-635(p=0.01) tipinin istatistiksel olarak anlamlı (p<0.05) derecede farklılık gösterdiği tespit edildi. Hastaların klinikopatolojik özellikleri ve miRNA ekspresyon seviyesi değişimleri arasında korelasyon analizi yapıldığında ise; KOAH grubunda lökosit ve nötrofil değerleri ile anlamlı (p<0.05) ilişki saptanırken, KHDAK grubunda sadece albumin değerleri ile anlamlı (p<0.05) ilişki saptanmıştır.

Sonuç olarak anlamlı farklılık tespit edilen miRNA'ların yapılacak çok merkezli ve daha fazla olgu sayısı içeren çalışmalar ile desteklenmesi sonucunda tanısal biyobelirteç olabilecekleri öngörülmektedir.

Anahtar kelimeler: miRNA, küçük hücreli dışı akciğeri kanseri KOAH, miR-20b, miR-518, miR-let-7d, miR-26a, miR-33a, miR-let-7b, miR-199-5p, miR-369-5p, miR-940, miR-662, miR-328, miR-641, miR-935, miR-93, miR-383, miR-449b, miR-511, miR-636, miR-513b, miR-635

SUMMARY

Lung cancer is the most common cause of cancer-related deaths worldwide. Chronic obstructive pulmonary disease, on the other hand, is a common, preventable and curable disease which is associated with progressive persistent airway obstruction and associated with increased chronic inflammatory response of airways and lungs against harmful gases and particles. COPD can turn into lung cancer in its natural course. When the etiology of both diseases is examined, it is seen that exposure to cigarette smoke is a major cause. COPD and lung cancer are thought to have similarities in their pathogenesis, as they occur largely due to common etiological causes such as smoking. Recent studies have shown that miRNAs play an important role in oncogenesis and may be a new diagnostic biomarker.

Thirty newly diagnosed NSCLC patients and thirty COPD patients with ongoing treatment were included in the groups. Exclusion criteria were any secondary malignancy in the COPD group and the diagnosis of COPD in the NSCLC group. Plasma samples of the patients were collected and the previously determined miRNAs (miR-20b, miR-518, miR-let-7d, miR-26a, miR-33a, miR-let-7b, miR-199-5p, miR-369 -5p, miR-940, miR-662, miR-328, miR-641, miR-935, miR-93, miR-383, miR-449b, miR-511, miR-636, miR-513b, miR-635) expression levels were measured. At the end of the study, differences in miRNA expression level changes between the two groups were statistically analyzed. At the end of the analysis, 15 miRNA (miR-let-7d ($p = 0.006$), miR-26a ($p = 0.01$), miR-33a ($p = 0.001$), miR-let-7b ($p = 0.001$), miR-199-5p ($p = 0.001$), miR-328 ($p = 0.038$), miR-641 ($p = 0.001$), miR-935 ($p = 0.032$), miR-93 ($p = 0.01$), miR-383 ($p = 0,001$), miR-449b ($p = 0.001$), miR-511 ($p = 0.001$), miR-636 ($p = 0.001$), miR-513b ($p = 0.03$) and miR-635 ($p = 0.01$). When the correlation analysis was made between the clinicopathological features and changes in miRNA expression levels of the patients, a significant correlation was found between leukocyte and neutrophil values in the COPD group ($p < 0.05$), but only albumin levels in the NSCLC group ($p < 0.05$).

As a result of this study, the miRNAs that we detected may be a new

diagnostic biomarker as a result of further studies.

Key words: miRNA, non-small cell lung cancer COPD, miR-20b, miR-518, miR-let-7d, miR-26a, miR-33a, miR-let-7b, miR-199-5p, miR-369-5p miR-940, miR-662, miR-328, miR-641, miR-935, miR-93, miR-383, miR-449b, miR-511, miR-636, miR-513b, miR-635.

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Akciğer kanseri tüm dünyadaki kansere bağılı ölümlerin en sık nedenidir [1]. Mortalitenin bu oranda yüksek olmasının nedeni, hastalığın tanısının geç konulması ve tanı anında ileri evre olması nedeniyle tedavi olasılığının azalmasıdır. Günümüz verilerine göre akciğer kanserlerinin %85'ini küçük hücre dışı akciğer kanserleri oluşturmaktadır. Küçük hücreli dışı akciğer kanserinin en sık görülen temel histolojik alt türleri de adenokarsinom ve skuamöz hücreli karsinomdur [2]. Yeni keşfedilen hedefe yönelik tedavi modalitelerinin artmasına rağmen gecikmiş tanıya bağılı ve tanı anında ileri evre olması sebebi ile beklenen sağkalım süresi kısadır. Bu sebeple bu vakaların çok daha erken evrede yakalanmaları ve kür şansı tanınabilmesi için tanısal biyobelirteç çalışmaları önem kazanmaktadır.

MicroRNA'lar (miRNA), kanser progresyonunun epiteliden-mezenkimale geçiş (EMT), invazyon ve proliferasyon gibi çeşitli mekanizmalarını kontrol eden birçok kritik yollardaki kilit moleküllerin ekspresyonlarını post-transkripsiyonel olarak düzenleyen kodlanmayan RNA molekülleridir [3]. EMT; akciğer kanseri ve birçok epitel kökenli kanserin metastatik kaskatlarında başlatıcı bir mekanizmadır. Bu süreçte kanser hücrelerinin, mezenşimal hücre fenotipine dönüşümü sonucu invazyon ve metastaz yapabilme yetenekleri artmaktadır. Dolayısıyla, EMT ve invazyonu indükleyen veya baskılayan yolları hedef alan miRNA ekspresyonundaki normalden sapmalar, bu yolların aşırı aktivasyonlarına veya inhibisyonlarına yol açabilmektedir.

Bu özelliklerinden dolayı miRNA'lar; tümör baskılayıcı veya onkogenik olarak fonksiyon göstericiler olarak sınıflandırılabilen ve günümüzde kanser hastalarında olası prognostik ve prediktif moleküller olmaları bakımından yoğun olarak incelenmektedir [4-9].

EMT, transforme edici büyüme faktörü- β (TGF- β) ve epidermal büyüme faktörü (EGF) gibi çeşitli onkogenik sinyal yolları tarafından kontrol edilir. TGF- β sinyal yolağı, metastatik kanser hücrelerinde aşırı aktiflenmesi nedeniyle bu yolağın düzenleyici molekülleri çeşitli tümör baskılayıcı miRNA'lar için kritik hedeflerdir. Biyoinformatik analizler ile, bu yolağın aktivasyonu için gerekli TGF- β reseptör 1 (TGFB1) ve TGF- β reseptör 2 (TGFB2) gibi kilit molekülleri direkt hedef

alabilen çeşitli miRNA'lar tespit edilmiştir [10]. Kronik obstruktif akciğer hastalıkları genellikle tütün ürünleri ve çevresel toksinler nedeniyle ortaya çıkan ve seyrinde akciğer kanserine ilerleyebilen bir hastalıklar grubunu tanımlamaktadır. KOAH ve akciğer kanseri büyük oranda sigara gibi ortak etiyolojik nedenlere dayalı ortaya çıktıkları için patogeneplerinde muhtemel benzerlikler bulunduğu düşünülmektedir. Bu ortak olası patogeneplerden yola çıkarak çalışmamızdaki amacımız; biyoinformatik analizlerle belirlenen miRNA'ların, küçük hücreli dışı akciğer kanserli hastalardaki tedavi öncesi dolaşımdaki miRNA'ların ekspresyon seviyelerinin analiz edilmesi, küçük hücreli dışı akciğer kanseri için muhtemel tanısal biyobelirteç potansiyellerinin saptanması ve bunların kronik obstruktif akciğer hastalıklarında eksprese edilen miRNA'lardan ayrılmasıdır.

Çalışmamızda değerlendireceğimiz başlıca miRNA'lar; hsa-miR-199b-3p, hsa-miR-33a, hsa-miR-635, hsa-miR-935, hsa-miR-662, hsa-miR-518b, hsa-miR-20b, hsa-miR-641, hsa-miR-662, hsa-miR-369-5p, hsa-miR-383, hsa-miR-636, hsa-miR-940, hsa-miR-26a, hsa-miR-328, hsa-miR-513b, hsa-miR-93, hsa-let-7b, hsa-let-7d, hsa-miR-u6, has-miR-39'dan oluşmaktadır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1 AKCİĞER KANSERİ EPİDEMİYOLOJİSİ

Akciğer kanseri yaygın olarak tanı konulabilen bir kanser çeşidi olamakla birlikte dünya çapında en önemli önlenebilir ölüm sebeplerinden biridir. GLOBOCAN (Global Cancer Observatory) 2018'ye göre, akciğer kanserinin yıllık 1,76 milyon kişinin ölümüne neden olduğu tahmin edilmektedir [11]. 2003-2007 yılları arasında Amerika, Asya, Avrupa ve Avustralya'da yer alan 24 ülkede yaşa göre standardize akciğer kanseri insidans oranları erkeklerde 100,000'de 33,3 ila 66,8 arasında, kadınlarda 100,000'de 10,5 ila 37,4 arasında olarak belirlenmiştir. İnsidansı en yüksek olan ülke Çin olarak görülmüş ve insidansı erkeklerde 100.000'de 53,3'e ve kadınlarda 100.000'e 21,9' a kadar ulaşmış olarak saptanmıştır [12].

Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) akciğer kanserinin 2012 yılında toplam 1.8 milyon yeni tanı ile tüm kanserlerin %12.9'unu oluşturduğunu bildirmiştir [13]. Amerika Birleşik Devletleri'nde ise 2014 yılında tahmini 224000 yeni tanı alan akciğer kanseri hastasının 160 bini hayatını kaybetmiştir [14-15].

Akciğer kanseri dünyada ilk sırada iken Türkiye'de de erkekler arasında ilk sıralarda görülen kanser türüdür Türkiye'de ise 2007-2012 verilerine göre akciğer kanseri insidansı erkekler de 59,3/100.000, kadınlarda ise 10/100.000 olarak saptanmıştır. Ülkemizde yaklaşık yılda 27.000 kişiye akciğer kanseri teşhisi koyulurken, 24.000 civarında kişi ise bu hastalıktan hayatını kaybetmektedir. Türkiye'de medyan tanı alma yaşı 63 olarak görülmekte, 40 yaşın altındaki kişilerde bu kansere nadir olarak rastlanılmaktadır. Her 10 akciğer kanserinden en az sekizinin tütün ve tütün ürünlerine bağlı kullanımdan kaynaklandığı bilinmektedir. Hastalık genellikle ileri evrelerde teşhis edilmektedir, ülkemizde görülen vakalarda tanı anında %18'inde lokâlize, %30'unda bölgesel, %52'sinde ise uzak yayılım gözlenmiştir [16-17].

2.2. Akciğer Kanseri Etiyolojisi:

2.2.1.Sigara İçmek

Hiç sigara kullanımı olmayan kişiler; hayatı boyunca hiç sigara içmemiş veya yüz adetten daha az sigara içenlerdir. Pasif içicilik ise sigara kullanımı olmayan bireylerin, içiciler tarafından üflenen sigara dumanına (çevrede biriken sigara dumanı) maruz kalmalarına denir. Akciğer kanseri vakalarının yaklaşık %85'inde sigara kullanımı sorumlu tutulmaktadır [18]. Akciğer kanseri tanılı Avrupalı ve Amerikalı erkek hastaların, yaklaşık %98'inde kadınların da %70-90'ında sigara içme öyküsü mevcuttur. Akciğer kanserli hastaların %10'dan azı hiç sigara içmemiştir. Doğu toplumlarındaki kadınlarda çok daha düşük (% 6-57) sigara içme oranları gözlenmiştir. Batı toplumlarında, daha genç akciğer kanseri hastaları daha çok sigara içenler iken, Doğu toplumunu popülasyonunda bunun tam tersi bir tablo söz konusudur. Bu nedenle, Batılı ve Batılı olmayan toplumlarda akciğer kanseri epidemiyolojik paternlerinin farklı olması muhtemeldir, sigara içmeyenlerdeki diğer risk faktörleri genel olarak kadınlar arasında ve özellikle Doğu toplumundaki kadınlar arasında daha önemli görülmektedir [19].

Günümüzün genel istatistikleri, akciğer kanseri vakalarının %15'inin ve kadınlarda görülen akciğer kanserlerinde %53'ünün sigaraya bağlı olmadığını göstermiştir [20]. Avrupa ve Kanada vakalarına dayanan son analizler, hiç sigara içmeyenler ve kadınlarda adenokarsinomun en yaygın akciğer kanseri alt tipi olduğunu göstermiştir. Aynı çalışmalarda sigara içen erkeklerde ise skuamöz hücreli karsinom daha baskın görülmüştür [21]. Sigara başlama yaşı, sigara içme süresi, içilen sigara sayısı ile tütün ve sigara tipi (filtreli, filtresiz, puro, düşük tar ve nikotin içeriği vb.) akciğer kanseri gelişme riskini etkiler [22].

Sigara dumanı, gaz ve parçacıklı bileşiklerden oluşan bir aerosoldür. Tütün bağımlılığının birincil belirleyicisi nikotindir. Katran ise nikotin ve su çıkarıldıktan sonra sigara dumanında kalan toplam partikül maddesidir. Katran maruziyeti akciğer kanseri riskinin önemli bir bileşeni gibi görünmektedir. Sigara dumanının bileşimi, bir içici tarafından soluma yoğunluğuna bağlı olarak büyük ölçüde değişebilmektedir. Sigara dumanında 4000'den fazla kimyasal bileşen mevcuttur.

Ana dumanın ağırlığının %95'i gaz halindeki bileşiklerden oluşur, ağırlığın geri kalanı ise parçacık bileşeninden oluşmaktadır [23].

Duman bileşenlerinin dozajı, inhalasyonun süresi, yoğunluğu, bir filtrenin varlığı, filtrenin yeterliliği ve teneffüs edilmeden önce dumanın soğuma süresi ile değişmektedir. Sigara kullanımının yoğunluğunu belirleyen birincil faktör, sigara içicisinin nikotin bağımlılığıdır ve günümüzdeki sigaralar eskiye nazaran daha az nikotin ve katran içermesi nedeniyle, sigara içenler, nikotin ihtiyacını karşılamak için daha derin inhalasyonlar ve daha fazla sayıda sigara içme eğilimindedirler. Bu sebepten dolayı, sigara fabrikaları tarafından yapılan katran ve nikotin içeriğinin ölçümleri, gerçekte olan bireysel maruz kalmayı önemli ölçüde görmezden gelmektedir. Düşük verimli filtreli sigaraların, akciğer adenokarsinomunun insidansındaki artışa katkısı olduğu düşünülmektedir [24].

Sigara içinde inhalasyonla alınan birçok kanserojen madde vardır. Bunların en önemlileri; N-nitrozaminler ve polisiklik aromatik hidrokarbonlardır (PAH). Bu bileşikler, sigara başına yaklaşık her içimde 5–200 ng kadar ortaya çıkmaktadır. Diğer karsinojenler ise aldehitler, benzen ve bütadien gibi uçucu organik bileşiklerdir. Bu bileşiklerden de yaklaşık her bir sigarada 10-1000 mikrogram kadar bulunmaktadır [25]. N-nitrozaminler gibi tütün karsinojenleri direk DNA'ya bağlanabilir veya sigara dumanında kansere neden olan başka bir kimyasalla kovalent olarak bağlanmış DNA eklentileri oluşturabilir. Onarım işlemleri bu DNA eklentilerini kaldırabilir, normal DNA'yı yeniden sentezleyebilir veya hasar görmüş DNA'lı hücreleri apoptozise götürebilmektedir. Bununla birlikte, DNA adüktlerini çıkarmak için normal DNA onarım mekanizmalarının başarısızlığı, kalıcı mutasyonlara yol açabilmektedir. N-nitrozaminler, ayrıca kritik onkogenler ve tümör süpresör genlerinin sinyal yol aktivasyonu bozarak tümör oluşumuna neden olabilmektedir [26].

N-nitrozaminler K-ras (Kirsten Rat Sarcoma Virüs) onkogenlerinin aktivasyonu ile sonuçlanan DNA mutasyonları ilede ilişkilendirilmektedir. K-ras onkojen aktivasyonu, insan akciğer adenokarsinomlarının % 24'ünde tespit edilmesi ile birlikte sigarayı bırakan akciğer adenokarsinomlu hastalarda bile bu mutasyon tespit edilebilmektedir. Sigaranın bırakılmasına rağmen bu mutasyonların düzelmediği görülmektedir [25].

Bu şekilde, sigarayı bırakmış eski kullanıcılarının yıllar sonra bile, akciğer kanseri riskindeki artış açıklanabilmektedir. Ayrıca tütün dumanında bulunan

benzoapiren metabolitlerinin spesifik olarak p53 tümör baskılayıcı gen lokuslarına zarar verebildiği gözlenmiştir. Tütün dumanında bulunan PAH'lar nokta mutasyonlarına da neden olabilmektedir [27].

Sigara içen 9 kişiden birinde nihayetinde akciğer kanseri gelişmektedir. Uzun süreli sigara içicilerdeki akciğer kanseri ile ilgili göreceli risk, yaşam boyu sigara içmeyenlere göre 10-30 kat arttığı tahmin edilmektedir. Ağır içicilerde kümülatif akciğer kanseri riski 30 kata kadar çıkabilmektedir. Hiç sigara içmeyenlerde % 1'den daha az ömür boyu akciğer kanseri riski bulunmaktadır [28-29].

Sigaranın akciğer kanseri etiyolojisindeki önemi nedeniyle akciğer kanserini önlemedeki en önemli adımın sigaraya başlanmasının önlenmesi ve içicilerin sigarayı bırakmaya teşvik edilmesi olduğu görülmektedir. Tütün içiminin ortadan kaldırılmasıyla dünya çapında tüm kansere bağlı ölümlerinin yaklaşık %20'sinin önlenebileceği tahmin edilmektedir [30].

2.2.2. Çevresel ve Mesleki Risk Faktörleri

Günlük hayatta kullanımı olan bazı maddelerin akciğerde kanserojen etkileri olduğu bilinmektedir. Bu maddelerden arsenik, asbest, berilyum, kadmiyum, klorometil eterler, krom, nikel, radon, silika ve vinil klorür IARC (International Agency for Research on Cancer) tarafından karsinojen olarak tanımlamıştır. Bu ajanlara maruz kalma ile ilgili meslekler Tablo 1 ve 2'de gösterilmiştir. 2000 yılında, dünya genelinde akciğer kanseri ölümlerinin %10'unun (88.000 ölüm) ve kadınlar arasındaki akciğer kanserine bağlı ölümlerin %5'inin (14.300 ölüm), asbest, arsenik, berilyum gibi mesleki akciğer kanserojenlerine maruz kalmaya bağlı olabileceği tahmin edilmektedir [31-32]. Radon gazı, akciğer kanser riskini %8-11 oranlarında ve başka bir çevresel etmen olan asbestosisde akciğer kanser riskini 1.5-5.4 kat arttırmaktadır. Taşocağı veya yeraltında çalışanların maruz kaldığı silika, zararlılara karşı kullanılan kimyasallar olan pestisid, ağır metaller (nikel, kadmiyum, krom), polisiklikaromatik hidrokarbonlar ve klorometil eterler bilinen diğer kanserojen maddelerdir [33].

Tablo 1 Mesleki karsinojenler ve ilgili mesleki maruziyetler*

Bilinen Kanserojen	Mesleki Maruziyet
Arsenik	Bakır, kurşun veya çinko madeni eritme Böcek öldürücü imalatı Madencilik
Asbest	Asbest madenciliği Asbest tekstil üretimi Fren balatası üretimi Çimento üretimi İnşaat işi Yalıtım çalışması Tersane işi
Berilyum	Seramik üretimi Elektronik ve havacılık ekipmanları imalatı Madencilik
Klorometil eterler	Kimyasal üretim
Krom	Krom üretimi Krom galvanik deri tabakalama Pigment üretimi
Nikel	Nikel madenciliği Paslanmaz ve ısıya dayanıklı çelik üretimi Alüminyum üretimi Hidrokarbon bileşikler üretimi Ferrokrom alaşımı üretimi
Radon	Madencilik
Silika	Seramik ve Cam Endüstrisi Döküm endüstrisi Granit endüstrisi Metal maden eritme Madencilik ve taş ocaklığı

* Lung Cancer: Epidemiology, Etiology, and Prevention'den uyarlanmıştır [34].

Tablo 2 Şüpheli mesleki karsinojenler ve ilgili mesleki maruziyetler*

Şüpheli Kanserojen	Mesleki Maruziyet
Akrilonitril	Tekstil imalatı Plastik, petrokimya imalatı
Kadmiyum	Galvanik Pigment üretimi Plastik endüstrisi
Formaldehit	Formaldehit reçine üretimi Sentetik elyaflar Yalıtım çalışması Yalıtım üretimi
Vinil klorür	Plastik üretimi

*Clinics in chest medicine Lung Cancer: Epidemiology, Etiology, and Prevention'den uyarlanmıştır [35].

2.2.3. Diğer Akciğer Hastalıkları

Kronik obstrüktif akciğer hastalığı (KOAH), akciğer kanseri hastalarının % 40-70'ini etkilemektedir. Bu da ortak sigara maruziyetini yansıtmaktadır. Yapılan çalışmalarda KOAH akciğer kanseri gelişimi açısından artmış risk ile ilişkilendirilmiştir. Akciğer kanseri olan sigara içmeyen kadınlara yönelik bir çalışma, hava akımı obstrüksiyonu ile akciğer kanseri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki olduğu gösterilmiştir [35]. Spirometrik hafif ve orta şiddetli KOAH olan 5887 sigara içicisi ile yapılan bir çalışmada KOAH ve akciğer kanseri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki olduğu gösterilmiştir [36].

Yeni yapılan büyük kohort çalışmalarında da, KOAH'ın, özellikle erkeklerde akciğer kanseri için artmış risk ile ilişkili olduğu gösterilmiştir [37-38]. Yaş, cinsiyet ve sigara içme öyküsünden bağımsız olarak, yeni tanı konmuş akciğer kanseri hastalarında KOAH prevalansı, eşit süre sigara içenlere göre 6 kat daha fazla tespit edilmiştir [39]. KOAH, kortikosteroidlere iyi yanıt veren kronik inflamasyon ile karakterize bir hastalık olması nedeniyle kronik inflamasyonunun da kendisinin,

akciğer kanseri ile ilişkili olduğu ileri sürülmüştür. Hollanda'da yapılan bir çalışmada, C-reaktif protein (CRP) düzeyi yüksek olan (>3 mg/L'den) hastalarla düşük C-reaktif protein düzeyi (<1 mg/L) olanlar karşılaştırılmış ve yüksek CRP düzeyi olanlarda akciğer kanseri gelişme olasılığının arttığı bulunmuştur [40].

Akciğer kanseri ile ilişkisi incelenen bir diğer hastalık da interstisyel fibrozisdir ve yapılan çalışmalar interstisyel fibrozisin akciğer kanseri riskinde artışa neden olduğunu göstermektedir. Sigara kullanan interstisyel fibrozisli hastalarda sigara bırakıldıktan sonra bile akciğer kanseri insidansı belirgin olarak yüksek gözlenmektedir [41]. Asbestozis ve skleroderma gibi akciğerde fibrozis yapan diğer hastalıkların da interstisyel fibrozis gibi akciğer kanseri ile ilişkili olabileceği düşünülmektedir. İnterstisyel pulmoner hastalığın maligniteye yatkınlıkla olan mekanizmaları net olmamakla birlikte, kronik inflamasyona bağlı epitelyal transformasyon, epitelyal hiperplazi, onkogenlerin bozukluğu ve enfeksiyonlar gibi çeşitli hipotezler ileri sürülmüştür [42].

2.3 AKCİĞER KANSERİ HİSTOLOJİK SINIFLANDIRILMASI

Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ), diğer organ ve sistemlerde olduğu gibi, akciğer tümörlerinin sınıflandırmasında da tanı ve tedavi alanındaki gelişmeleri izleyerek yenilikler yapmaktadır. İlk olarak 1967'de başlayan akciğer tümör sınıflandırması; 1981, 1999 ve 2004 yıllarında değişik isimlerle yenilenerek yayınlanmıştır. 2015 DSÖ Akciğer Tümörleri Sınıflandırması önemli yenilikler getirmiş, patoloji uzmanları tarafından hızla kullanılmaya başlanmıştır. Son güncel sınıflama Tablo-3'de özetlenmiştir.

Tablo 3 Akciğer Kanserinin Histolojik Tipleri ve Radyolojik-Klinik Bulguları

Adenokarsinom
* Lepidik
* Asiner
* Papiller
* Mikropapiller
* Solit
* İnvaziv musinöz (mix invaziv müsinoz ve non-musinöz) * Kolloid
* Fetal
* Enterik
* Minimal invaziv
* Preinvaziv (atipik adenomatöz hiperplazi, adenokarsinoma in situ [non-musinöz ve musinöz])
Skvamöz Hücreli Karsinom
* Keratinize
* Non- Keratinize
* Bazaloid
Büyük Hücreli Karsinom
Adenoskuamöz Karsinom
Sarkomatoid Karsinom
* Plemorfik karsinom
* İğ hücreli karsinom
* Dev hücreli karsinom
* Karsinosarkom
* Pulmoner blastom
<u>Nöroendokrin karsinom</u>
* Küçük hücreli karsinom
* Büyük hücreli nöroendokrin karsinom
* Karsinoid (tipik, atipik I)

Akciğer kanseri, solunum epitel hücrelerinden ortaya çıkar ve iki geniş kategoriye ayrılabilir. Küçük hücreli akciğer kanseri (KHAK), nöroendokrin özellikler sergileyen hücrelerden oluşan oldukça malign bir tümördür ve akciğer kanseri vakalarının %15'ini oluşturmaktadır. Küçük hücreli olmayan akciğer kanseri (KHDAK) olguların % 85'ini oluşturmaktadır adenokarsinom, skuamöz hücreli karsinom ve büyük hücreli karsinom olarak 3 ana patolojik alt tipe ayrılmaktadır. Adenokarsinom tüm akciğer kanseri vakalarının %38,5'ini, skuamöz hücreli karsinom %20'sini, büyük hücreli karsinom %9'unu ve diğer karsinomlar %3,5'ini oluşturmaktadır. Son on yılda adenokarsinom insidansında artış olmuştur. Adenokarsinom, KHDAK'ları içinde en sık görülen skuamöz hücreli karsinom tipinin yerini almıştır [2].

2.4. MOLEKÜLER PATOGENEZ

Son yıllarda akciğer kanserinin, moleküler patogenezinin aydınlatılmasında ve tedavi yaklaşımlarında yeni gelişmeler olmaktadır. Akciğer kanserinde birçok moleküler değişiklik ve sürücü mutasyonu tanımlanmıştır. Özellikle hedefe yönelik tedavi sürecinde son derece etkili farmakolojik formları da bulunan epidermal büyüme faktörü reseptörü (EGFR), anaplastik lenfoma kinaz (ALK) ve proto onkojen tirozin protein kinaz 1 (ROS1) en bilinen moleküler yolaklardır. Akciğer kanserinde immünoterapi, programlı ölüm reseptörü 1 (PD-1/PD-L1) yolağının blokajını hedeflemektedir.

2.4.1. EGFR Mutasyonu

Epidermal büyüme faktörü reseptörü geni kromozom 7p12-13'e lokalizedir. EGFR mutasyonu; bu gen üzerinde aktive edici bir mutasyon olup, gefitinib, erlotinib gibi tirozin kinaz inhibitörlerinin hedef bölgesi bu mutasyondur [43-44].

EGFR mutasyonu akciğer adenokarsinomlarının yaklaşık %20'sinde bulunmaktadır [43]. Mutasyon polimeraz zincir reaksiyonu veya sekanslama

yöntemleriyle tespit edilmektedir. Mutasyonlar genellikle EGFR geni üzerinde 18-21. ekzonlar arasında bulunmaktadır. En sık izlenen mutasyonlar ekzon 19 ve ekzon 21 üzerindedir [45-46]. Ekzon 20 üzerinde saptanan mutasyonlar genellikle tedaviye dirençten sorumlu tutulmaktadır EGFR tirozin kinaz inhibitörleriyle tedavi olan hastaların büyük bir kısmında ilaca karşı gelişen direnç nedeniyle relapslar olmaktadır. İlaç direncin büyük kısmı diğer EGFR mutasyonlarına ikincil olarak tedavi sürecinde gelişen yeni bir mutasyon olan T790M mutasyonuna bağlıdır [47]. Relaps anında alınan yeni biyopsilerde de T790M mutasyonu bulunabilmektedir. Son yıllarda yapılan çalışmalarda bu mutasyon sebebiyle ilaç direnci gelişen hastalarda yeni geliştirilen ilaç formlarıyla iyi sonuçlar alındığı gözlenmiştir [48]. T790M mutasyonu tedavi öncesi hastalarda tespit edildiği takdirde “germline” mutasyon olarak kabul edilmektedir, bu durumda herediter kanser sendromunları akla getirilmelidir [49].

2.4.2. ALK Rearranjmanı

Akciğer adenokarsinomlarının %5’inde ALK genini içeren bir dizi kromozomal mutasyon görülmektedir. Kromozomal bir insersiyon olan EML4 - ALK füzyon rearanjmanı en sık tespit edilenidir [50]. ALK rearanjmanı gözlenen hastalar krizotinib gibi tirozin kinaz inhibitörleri ile tedaviye iyi yanıt vermektedir [51].

ALK rearanjmanı saptanan hastalar genelde genç ve hiç sigara içemeyen ya da hafif sigara içen hastalardır. Floresan in situ hibridizasyon (FISH) yöntemiyle ALK rearanjmanının saptanması günümüzde tercih edilen yöntemdir. ALK rearanjmanının %15 ve üstünde izlenmesi pozitif kabul edilmektedir [52-53]. Krizotinib başlanan hastalarda ilk bir yıl içinde genellikle direnç gelişmektedir. Krizotinibe direnç durumunda ya da krizotinibi tolere edemeyen hastalarda ceritinib, alectinib veya brigatinib gibi daha etkin tirozin kinaz inhibitörleri ile tedavi önerilmektedir [54-55].

2.4.3. ROS1 Rearranjman

ROS1 insülin reseptör ailesinin üyesi olan bir tirozin kinaz reseptörüdür. Akciğer adenokarsinomlu hastalarda %1-2 civarında tespit edilmekte ve ALK gibi ROS1 rearranjmanı saptanan hastalarda krizotinibe iyi yanıt vermektedir [50]. ROS1 rearranjmanı gösterebilmek için FİSH, PCR gibi yöntemler kullanılmaktadır [56-57]. ROS1’de uygulanan FİSH yöntemi ALK rearranjmanı için uygulanan yöntemle aynı olup, %15 ve üstü pozitiflik olarak kabul edilmektedir. ROS1 rearranjmanını ortaya koyabilmek için henüz “altın standart” kabul edilen bir yöntem yoktur [58].

ROS1 rearranjmanı EGFR, KRAS ve BRAF gibi diğer gen değişiklikleri ile birlikte olabilmektedir [59]. ROS1 rearranjmanı gösteren hasta grubunda da krizotinib direnci gelişebilmektedir. ROS1 mutasyonlarının krizotinibe dirençten sorumlu olduğu düşünülmektedir [60]. Bu hastalarda “cabozantinib” gibi multi kinaz inhibitörleri kullanılabilir [61-62].

2.4.4. RET Rearranjmanı

RET rearranjmanı akciğer adenokarsinomlu hastaların ortalama %1-2’sinde saptanmakla birlikte sıklıkla sigara kullanmayan hastalarda saptanmaktadır. RET gen değişiklikleri FİSH yöntemiyle saptanabilmektedir, sekanslama veya PCR yöntemleride kullanılabilir [63-64].

İmmünohistokimyasal yöntemlerin RET rearranjmanı tespitinde yeri bulunmamaktadır. RET gen değişikliklerinin en sık rastlanan formu KIF5B-RET füzyonudur [64-65]. Günümüze kadar yapılmış klinik çalışmalarda, RET rearranjmanı izlenen hastalarda multikinaz inhibitörleri ile tedavide yeterli yanıt gözlenmemiştir [64].

2.4.5. MET Mutasyonu ve Amplifikasyonu

Mezenkimal epitelyal geçiş geni (MET) amplifikasyonu FİSH ve yeni nesil sekanslama yöntemleriyle tespit edilebilirken, MET mutasyonu sekanslama ve PCR

yöntemleriyle saptanabilmektedir. MET mutasyonu sıklıkla DNA bazlı sekanslama yöntemiyle tespit edilir ve mutasyonlar genellikle ekzon 14 çevresindedir. Ekzon 14 delesyonlu hastalarda MET inhibitörlerine iyi yanıt verdiğini gösteren çeşitli çalışmalar bulunmaktadır [66-67]. EGFR inhibitörlerine direnç mekanizmalarından birinin de kazanılmış MET amplifikasyonu olduğu öngörülmektedir [68]. De novo MET amplifikasyonuna sahip hastada ise artmış krizotinib yanıtı görülebilmektedir [69].

2.5. AKCİĞER KANSERİNDE TARAMA VE ERKEN TANI

Günümüz verilerine göre akciğer kanseri tanısı olan hastalarda 5 yıllık sağkalım oranı %13-15 dir. Cerrahi olarak tümörün tamamın çıkarılabilmesi ve 3 cm'den küçük olan (T1) periferik tümörlerde sağkalım oranı %60-80'lere ulaşabilmektedir [70]. İleri evre akciğer kanseri olgularında bu oran oldukça düşüktür. Bu nedenle hastalığın belirti vermeden, erken dönemde yakalanması tedavi şansını arttırmaktadır. Akciğer kanserini erken evrede tespit edebilen tarama yöntemleri akciğer kanserlerinden ölümleri azaltacak, toplum sağlığında iyileşme sağlayacaktır. Günümüzde akciğer kanseri için oluşturulan rehberler National Comperhensive Cancer Network-2019 (NCCN-2019) ve American College of Clinical Pharmacy- 2013 (ACCP-2013); 55- 74 yaş arasında 30 paket-yıl veya daha fazla sigara içmiş olup halen içenlere veya 15 yıl içinde sigarayı bırakmış olanlara yılda bir düşük doz bilgisayarlı tomografi (DDBT) ile tarama önermektedir.

2.5.1. Akciğer kanserinde radyolojik tanı

Akciğer kanseri olan tüm hastalara, ilk yapılması gereken radyolojik tetkik ileride karşılaştırmak amacıyla bazal bir göğüs röntgeni çekmektir. Bazal bir göğüs röntgeninde pulmoner nodüller, plevral efüzyon, kaburga destrüksiyonu (direkt veya metastatik) veya frenik sinirin tutulumunu gösteren artmış hemidiyafragma ve dolayısıyla lokal olarak ilerlemiş hastalığı da içeren hastalık evresini gösteren bulgularda görülebilmektedir.

Tüm akciğer kanseri tanısı alan hastalarda boyun tabanından adrenal bezlerin altına kadar bilgisayarlı tomografi (BT) ile taranması önerilmektedir. BT, tümör boyutu, kitlenin mediastinal ve vasküler invazyonunu, tümörün hava yollarındaki proksimal uzantısını belirleyebilir ve uzak metastazların varlığını tespit etmekte faydalıdır. BT, cerrahi rezeksiyon için kabul edilen hastalarda önemli anatomik bilgi sağlamakla birlikte, tüm bu avantajlarına rağmen BT taramasının, benign ve malign mediastinal lenf nodu ayrımı yapılmasındaki zorlukları, mikroskopik nodal ve metastatik hastalığı tespit edememe gibi eksiklikleri de mevcuttur [71].

2.5. AKCİĞER KANSERİNDE EVRELEME

Akciğer kanseri tanısı olan hastada etkin tedavi yöntemini belirlemek sağkalım süresi hakkında bilgi sahibi olmak amacıyla hastalığın anatomik yaygınlığının belirlenmesi ve klinik olarak evrelendirilmesi gereklidir. KHDAK evrelendirmesinde IASLC (American Joint Committee on Cancer) tarafından geliştirilen TNM (T: primer tümör, N: lenf nodu, M: metastaz) evrelendirme sistemi ile yapılmaktadır. TNM evrelendirme sistemi en son 8. baskı olarak, Ocak 2017 yılında yeniden belirlenmiştir. 8. Evreleme sisteminde bir önceki 7. Evreleme sistemi ile kıyaslandığındaki değişikliklerin “T ve M” faktörleri üzerinde yoğunlaştığı, N faktöründe değişiklik yapılmadığı dikkat çekmektedir [72] (Tablo 4).

Küçük hücreli akciğer kanseri (KHAK) evreleme sistemi de farklı olup uzun yıllardır sınırlı ve yaygın evre şeklinde VALSG (Veterans Administration Lung Study Group) klasifikasyonu ile yapılmaktadır [73]. Pratikte her iki evreleme sisteminin kombinasyonu kullanılmakta, genellikle kişiye özel tolere edilebilir radyoterapi alanına göre değerlendirilmektedir. TNM sınıflaması tablo 5-6-7’de, TNM sınıflamasına göre evreleme ise tablo-8’de belirtilmiştir.

Tablo 4 Yedinci ve sekizinci evreleme sistemleri arasındaki değişikliklere genel bakış

Açıklama	7. Sınıflama	8. Sınıflama
T		
Karsinoma in situ	Tis	Tis (skvamöz veya adenokarsinom karsinoma in situ)
Minimal invaziv adenokarsinom	-	T1mi
≤ 1 cm	T1a	T1a
> 1-2 cm	T1a	T1b
> 2-3 cm	T1b	T1c
> 2-3 cm	T1b	T1c
> 3-4 cm	T2a	T2a
> 4-5 cm	T2a	T2b
> 5-7 cm	T2b	T3
> 7 cm	T3	T4
Karinaya 2 cm'den daha yakın bronş tutulumu	T3	T2
Karina invazyonu	T4	T4
Hiler bölgeye uzanan lobar atelektazi/pnömoni	T2	T2
Total atelektazi/pnömoni	T3	T2
Diyafragma invazyonu	T3	T4
Mediastinal plevra invazyonu	T3	
-Göğüs duvarı invazyonu (superior sulkus tümörleri, frenik sinir, pariyetal plevra dahil)	T3	T3
Primer tümörle aynı lobda nodül yada nodüller	T3	T3
Primer tümörle aynı akciğerde fakat farklı lobda nodül yada nodüller	T4	T4
Kalp ve mediastinal ana yapıların invazyonu	T4	T4
N		
Lenf nodu tutulumu yok ya da bölgesel lenf nodu tutulumu	N0, N1, N2, N3	N0, N1, N2, N3
M		
Toraks kavitesi içerisindeki metastazlar	M1a	M1a
Tek ekstratorasik metastaz	M1b	M1b
Multiple ekstratorasik metastaz	M1b	M1c

Tablo 4 N-Bölgesel lenf bezleri

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

Tablo 5 M-Uzak metastaz

M-Uzak metastaz	
M0	Uzak metastaz yok
M1	Uzak metastaz var

Tablo 6 T-Primer tümör

T-Primer tümör		
Tx		Primer tümör değerlendirilemiyor veya malign hücrelerin balgam ya da bronşiyal yıkama sıvısında gösterildiği ancak tümörün bronkoskopi veya görüntüleme yöntemleri ile saptanamadığı durumlar
T0		Primer tümör kanıtı yok
Tis		Karsinoma in situ (adenokarsinoma in situ ve skuamöz hücreli karsinoma in situ'yu kapsar)
T1		Ana bronş tutulumu olmadan akciğer veya visseral plevra ile çevrili, en geniş çapı ≤ 3, bronkoskopik olarak lob bronşundan daha proksimalde invazyon bulgusu olmayan tümör (örn. ana bronşta olmayan)1
	T1mi	Minimal invaziv adenokarsinom*
	T1a	Tümörün en geniş çapı ≤ 1 cm 2**
	T1b	Tümörün en geniş çapı > 1 cm, ≤ 2 cm
	T1c	Tümörün en geniş çapı > 2 cm, ≤ 3 cm
T2		Tümörün en geniş çapı > 3 cm, ≤ 5 cm veya aşağıdaki özelliklerden en az birine sahip olan Tümör*** *Karinayı invaze etmeden, karinaya uzaklığına bakılmaksızın ana bronşu tutan tümör * Visseral plevra invazyonu *Hiler bölgeye uzanan atelektazi veya obstrüktif pnömoni (atelektazi/pnömoni akciğerin bir bölümünü veya tümünü kapsayabilir)
	T2a	Tümörün en geniş çapı > 3 cm, ≤ 4 cm
	T2b	Tümörün en geniş çapı > 4 cm, ≤ 5 cm
T3		Tümörün en geniş çapı > 5 cm, ≤ 7 cm veya aşağıdaki yapılardan birine direkt invazyon; * Göğüs duvarı (superior sulkus tümörleri dahil), frenik sinir, parietal perikard * Primer tümörle aynı lobda nodüller
T4		Tümörün en geniş çapı > 7 cm veya aşağıdaki yapılardan birine invazyon; * Diyafram, mediasten, kalp, büyük damarlar, trakea, rekürren laringeal sinir, özefagus, vertebra gövdesi, karina * Primer tümörle aynı akciğerde fakat farklı lobda nodül(ler)
* Ana bronşun proksimaline uzanan, bronşiyal duvara sınırlı invazyon gösteren herhangi bir büyüklükteki nadir yüzeysel tümör yayımı da T1a olarak sınıflandırılır. ** Soliter adenokarsinom (3 cm'den daha büyük boyutta olmayan), daha baskın olarak lepidik paternli ve herhangi bir odakta 5 mm'den daha büyük boyutta invazyona sahip olmayan *** Bu özellikleri ile T2 tümör; eğer ≤ 4 cm veya büyüklüğü belirlenemiyor ise T2a; eğer > 4 cm fakat ≤ 5 cm ise T2b olarak sınıflandırılır.		
M1a		Karşı akciğerde metastatik nodül(ler), plevral veya perikardiyal metastatik nodüller veya malign plevral veya perikardiyal efüzyon
M1b		Tek bir ekstratorasik organda, tek metastaz
M1c		Bir veya birden çok organda multipl ekstratorasik metastaz

Tablo 7 EVRE GRUPLARI-2

EVRE GRUPLARI-2				
EVRE		T	N	M
Gizli (occult) karsinom		Tx	N0	M0
Evre 0		Tis	N0	M0
Evre I	IA1	T1mi	N0	M0
		T1a	N0	M0
	IA2	T1b	N0	M0
	IA3	T1c	N0	M0
	IB	T1c	N0	M0
Evre II	IIA	T2b	N0	M0
	IIB	T1a	N1	M0
		T1b	N1	M0
		T1c	N1	M0
		T2a	N1	M0
		T2b	N1	M0
T3	N0	M0		
Evre III	IIIA	T1a	N2	M0
		T1b	N2	M0
			N2	M0
		T2a	N2	M0
		T2b	N2	M0
		T3	N1	M0
		T4	N0	M0
		T4	N1	M0
	IIIB	T1a	N3	M0
		T1b	N3	M0
		T1c	N3	M0
		T2a	N3	M0
		T2b	N3	M0
		T3	N2	M0
		T4	N2	M0
	IIIB	T3	N3	M0
T4		N3	M0	
Evre IV	IVA	Herhangi bir T	Herhangi bir N	M1a
		Herhangi bir T	Herhangi bir N	M1b
	IVB	Herhangi bir T	Herhangi bir N	M1c

2.7. KRONİK OBSTRÜKTİF AKCİĞER HASTALIĞI (KOAİ)

2.7.1. TANIM

Kronik Obstrüktif Akciğer Hastalığı (KOAİ), genellikle zararlı partikül veya gazlara ciddi maruziyetin neden olduğu havayolu ve/veya alveoler anormalliklere bağlı kalıcı hava akımı kısıtlanması ve solunumsal semptomlarla karakterize, yaygın, önlenebilir ve tedavi edilebilir bir hastalıktır [74].

2.7.2. EPİDEMİYOLOJİ

Son 200 yıldır ortalama yaşam süresinin artması ve geleneksel risk faktörlerinin (yetersiz beslenme, kirlı su, hijyenik olmayan koşullar, ev içi kirlilik vb.) giderek azalması fakat çağımızın yeni risk faktörlerinin (tütün, fiziksel inaktivite, obezite, mesleki riskler, hava kirliliği vb.) ortaya çıkması hastalık kalıplarının insidanslarının da değişmesine neden olmuştur [75]. Günümüzde enfeksiyona bağlı hastalıklar giderek azalırken, kronik hastalıklar en büyük mortalite ve morbidite nedeni haline gelmiştir [76]. Tüm dünyada ölümlerin %66'sı kronik hastalıklar nedeniyle gerçekleşmektedir. Kalp damar hastalıkları, kanserler, kronik solunum hastalıkları ve diyabetes mellitus tüm kronik hastalıkların %80'ini oluşturmaktadır. 2010 yılında kronik solunum hastalıkları yüzünden gerçekleşen 3.8 milyon ölümün 2.9 milyonunun nedeni KOAİ'tir [77].

2.7.3. RİSK FAKTÖRLERİ

Sigara içimi, en çok çalışılan KOAİ risk faktörü olmasına karşın, yapılan epidemiyolojik çalışmalar sigara içmeyenlerde de kronik hava akımı kısıtlaması gelişebileceğini göstermiştir. KOAİ'lı sigara içiciler ile karşılaştırıldığında, kronik hava akımı kısıtlamasına sahip sigara içmeyenler, daha az semptoma, daha hafif hastalığa ve daha az sistemik inflamasyona sahiptirler. İlginçtir ki, kronik hava akımı obstrüksiyonuna sahip hiç sigara içmemiş kişilerde, kronik hava akımı obstrüksiyonu

bulunmayanlara göre akciğer kanseri veya kardiyovasküler morbidite riski artmış görünmemektedir. Ancak, pnömoni gelişme riskleri ve solunum yetmezliğinden ölüm riskleri daha yüksek bulunmuştur [77]. KOAH gelişiminde bugüne kadar tespit edilmiş risk faktörleri tablo-9’da gösterilmiştir [80].

Tablo 8 KOAH gelişiminde bugüne kadar tespit edilmiş risk faktörleri

Genetik faktörler	Akciğerlerin büyüme ve gelişmesindeki sorunlar
Sigara dumanı	Cinsiyet
Organik ve inorganik mesleki toz ve kimyasallar	Yaş
Ev içi hava kirliliği (Özellikle kapalı alanda biyomas yakıtlarla ısınma ve yemek pişirme nedeniyle)	Solunum yolu enfeksiyonları Sosyoekonomik düzey Kronik Bronşit
Dış ortam hava kirliliği	Astım/Bronşial hiperreaktivite

2.7.4. Patogenez

KOAH’ın temel özelliği, tam olarak geri dönüşümlü olmayan hava akımı kısıtlanmasıdır. Küçük hava yollarının yeniden yapılanması ve parankimin amfizematöz yıkımı sonucu elastik geri çekim gücünün (recoil) azalması, FEV1 ’in ilerleyici azalmasına, akciğerlerin ekspirasyonda yeterince boşalamamasına ve sonuçta statik ve dinamik hiperinflasyona neden olur. Küçük hava yolu duvarının kalınlaşması ve akciğer doku harabiyetine yol açan mekanizmalar çok iyi bilinmemektedir. Fakat, sürecin karmaşık genetik belirleyiciler, akciğer büyümesi ve çevresel uyaranlar zemininde birbiriyle etkileşim halindeki çok faktörlü patobiyolojik bir süreç olduğu düşünülmektedir. KOAH patogenezindeki karmaşıklık, kendini büyük farklılıkları olan klinik fenotipler şeklinde gösterir [78-79].

2.7.5. Fizyopatoloji

Günümüzde, KOAH'ın altında yatan hastalık süreçlerinin nasıl bu hastalığa özgü fizyolojik anormalliklere ve semptomlara yol açtığı iyi bilinmektedir. Örneğin, periferik hava yollarının inflamasyonu ve daralması FEV1 'de azalmaya yol açarken, amfizeme ikincil parankimal yıkım da hava akımı kısıtlanmasına katkıda bulunmakta ve gaz değişimini azaltmaktadır [78-81].

KOAH fizyopatolojisinde rol oynayan mekanizmalar aşağıda özetlenmiştir;

- Aşırı mukus sekresyonu
- Hava akımı kısıtlanması ve hava hapsi
- Gaz değişimi anormallikleri
- Pulmoner hipertansiyon
- Sistemik özellikler
- Alevlenmeler

2.8. MiRNA

MikroRNA'lar, genom üzerinde protein kodlayan intron veya ekzon bölgeleri ve protein kodlamayan bölgelerdeki RNA genlerinden transkripsiyonu sağlanan, fakat proteine translasyonu gerçekleştirilmeyen, fonksiyonel küçük RNA molekülleridir. [82] MikroRNA'lar protein translasyonunun inhibisyonuna ve/veya mRNA'nın yıkımına neden olurlar ve bir ya da birden fazla hedef geni baskılayarak hücrenin gelişim, farklılaşma, çoğalma ve ölümü gibi farklı olaylarda görev üstlenirler.

MiRNA genlerinin %50'sinden fazlası kanser ile ilişkilendirilmiş genom üzerinde bulunur. Bu yüzden malign hastalıklardaki rolü giderek daha fazla araştırmanın konusu olmaktadır. Yapılan çok sayıda deneysel çalışma; miRNA'ların yeni bir onkogen veya tümör baskılayıcı gen sınıfı oluşturabileceğini göstermiştir. Normal ve patolojik dokular arasında farklı seviyede ifade edilen miRNA'lar tespit

edilerek, insan kanserlerinde tanı ve tedavide etkili olabilecek yeni miRNA'lar belirlenebilecektir.

2.8.1. MikroRNA'ların Yapısı ve Keşfi

İyi tanımlanmış iki tane küçük RNA tipi bulunmaktadır; *MikroRNA* (*miRNA*)'lar ve *short interfering RNA* (*siRNA*)'lar. miRNA ve siRNA'lar biyokimyasal ve fonksiyonel olarak ayırt edilemediklerinden orijinlerine göre ayrılırlar. MiRNA'lar dsRNA'ların hairpin (saç tokası) şekilli prekürsörlerinden elde edilirken, siRNA'lar uzun dsRNA'lardan oluşur. İlk keşfedilen küçük RNA miRNA'dır [83]

İnsan genomunda miRNA'ları kodlayan yüksek seviyede korunmuş yüzlerce gen bölgesi keşfedilmiştir. Şu an itibariyle, insan genomunda 1000'in üzerinde mikroRNA tanımlanmıştır [84]. İlk mikroRNA, Lee ve çalışma arkadaşları tarafından 1993 yılında Victor Ambros laboratuvarında *Caenorhabditis elegans*'ta adlı yuvarlak solucanda *lin-4* olarak isimlendirdikleri genin protein kodlamasında görev almamasına rağmen 22 nükleotid uzunluğunda küçük bir RNA transkribe ettiği için rapor edilmiştir [85].

1993 yılında keşif yapılmasına rağmen miRNA olarak ilk kez tanımlanması 2001 yılında yapılmıştır [86]. 2002 yılında miRNA'larla kanser arasındaki ilişkiyi araştıran çalışmaları yapılmaya başlanmıştır. Yapılan çalışmaların sayısı arttıkça insan genomunda yaklaşık 1000 miRNA'nın olduğu ileri sürülmüştür [87]. 2006'da miRNA'ların organize terminoloji ve sekanslarını içeren bir veritabanı olan miRBase kurulmuştur [88]. Son güncellemeler ile miRBase 21 veritabanında insan genomunda tanımlanmış 1996 tane miRNA vardır [89].

2.8.2. MikroRNA'ların Oluşumu

MikroRNA'lar art arda oluşan üç kademeli işlem sonucunda oluşmaktadır. İlk olarak miRNA genlerinden primer miRNA (*pri-miRNA*)'ların transkripsiyonu gerçekleşir. İkincisi *primiRNA*'lar prekürsör miRNA (*pre-miRNA*)'lara nükleus

içinde dönüştürülür. Son basamakta ise olgun miRNA'ların sitoplazma içinde oluşumu gerçekleşir [90]. MikroRNA'lar, primer transkript (pri-miRNA) olarak RNA polimeraz II enzimi tarafından genomik DNA'dan sentezlenir. Pri-miRNA (500-3000 baz), "cap" ve "poli A" kuyruğuna sahip sap-ilmik yapısındadır. Çekirdekte pri-miRNA, RNAaz III enzim ailesinin bir endonükleazi olan Drosha ve kofaktörü Pasha (veya DGCR8), tarafından yaklaşık olarak 70 nükleotid uzunluğunda olan premiRNA'ya dönüştürülür [91]. Bir nükleaz olan Drosha ile çift iplikli RNA bağlayıcı bir protein olan Pasha'nın oluşturduğu bu komplekse mikro işlemci kompleks (Mikroprocessor complex) adı verilir [92]. Pre-miRNA molekülü bir nükleer taşıma reseptörü olan Exportin 5 ve nükleer bir protein olan RAN-GTP'ye bağımlı şekilde sitoplazmaya taşınır. Sonrasında, premiRNA'lar sitoplazmada RNAaz III enzim ailesinden Dicer adlı endonükleaz ile kesilerek 18-24 nükleotid uzunluğunda çift zincirli miRNA (miRNA dubleksine)'ya çevrilir [93-94].

Dicer, aynı zamanda RNA ile tetiklenmiş susturma kompleksi (RNA-induced silencing complex; RISC) oluşumunu başlatır. Dicer, pre-miRNA'nin sap-ilmliğini kestikten sonra miRNA dubleksinden, RISC kompleksinin içinde yer alan bir RNAz olan argonaute'un etkisiyle 5'ucu daha kararlı olanı seçilip sadece biri miRNA RISC kompleksine katılır. Bu iplik, kılavuz iplik (guide strand) olarak adlandırılırken diğer iplik anti-kılavuz veya yolcu iplik olarak adlandırılır. Yolcu iplik RISC kompleksinin substratı olarak sindirilir. MikroRNA'lar, RISC kompleksine entegre olduktan sonra, ya argonaute proteinleri yardımıyla mRNA'nin yıkımına ya da protein translasyonunun baskılanmasına neden olarak fonksiyon görürler [95].

2.8.3. MikroRNA'ların Fonksiyonu

Kendi nükleotid dizilerine komplimenter hedef genleri tanıyarak ve onları etkileyerek mikroRNA'lar fonksiyonlarını gerçekleştirirler. MikroRNA'nın yapıya eklenmesi ile oluşan RISC kompleksi baz eşleşme özelliği ile mRNA'ya bağlanarak ilgili genin protein translasyonunun inhibisyonuna ve/veya mRNA'nın yıkılmasına sebep olur [85]. MikroRNA, hedef mRNA'nın 3'ucundaki translasyona uğramayan bölgesi (untranslated region-UTR) ya da hedef mRNA'nın ORF (open reading frame) bölgesine bağlanır. Bu bağlanma pozisyonu mikroRNA kompleksinin mRNA'ya

nasıl komplementer olduğuna bağlıdır. 3'UTR bölgesine bağlanma; kusurlu tam olmayan, eksik komplementerliği ihtiva eder ve translasyonun baskılanması ile sonuçlanır. ORF bölgesi içine bağlanma ise kusursuz, tam komplementerliği gösterir ve Argonaute2 (Ago2) tarafından mRNA'nın yıkımı ile sonuçlanır. Ayrıca, mikroRNA'ların her birinin birden fazla mRNA'nın ekspresyonunu düzenleyebildiği ve mRNA'ların her birinin de birden fazla mikroRNA tarafından hedeflenebildiği bilinmektedir [96-97].

Hücreler apoptozis fonksiyonlarını kaybettiklerinde ve anormal olarak çoğalmaya başladıklarında kanserleşme özelliği gösterirler. MikroRNA'ların hücre proliferasyonu ve apoptozis üzerine etkili anahtar moleküller oldukları bugün artık açık bir şekilde bilinmektedir.

2.8.4. Tümör Süpresör mikroRNA'lar

MikroRNA'ların kanserleşme sürecine etkisi olduğu ilk olarak 2001 yılında miR-15a ve miR16-1'in keşfedilmesi ile rapor edilmesine rağmen bu mikroRNA'ların kanser gelişimin sürecine etki mekanizmaları 2005 yılında Cimmino ve arkadaşlarının KLL (Kronik Lenfositik Lösemi)'li bireylerde yaptıkları çalışma ile ortaya konmuştur. Çalışma sonucunda adı geçen iki miRNA'nın ekspresyon seviyelerinin KLL hücrelerinde, anti-apoptotik B hücreli lenfoma proteini olan Bcl-2'nin üretimi ile ters ilişkili olduğu tespit edildi [98-100].

Cimmino ve arkadaşları tarafından miR-15a ve miR16-1'in düşük seviyelerinin (tümör süpresör fonksiyon kaybı) yüksek seviyede Bcl-2 proteini ile ilişkili olduğu, dolayısıyla anormal hücre büyümesini gerçekleştirdiği anlaşılmıştır, Bunun dışında bu iki miRNA'nın yüksek seviyelerinin (normal tümör süpresör aktivite) ise apoptozis ile ilişkili olduğu ortaya konularak normal seviyelerinin kontrolsüz hücre büyümesini engellediği ve bundan dolayıda tümör süpresör aktiviteye sahip oldukları belirlenmiştir. [100]. Tümör süpresör özellik gösteren bir diğer miRNA, let-7 ailesinin üyeleridir (let-7b, let7c, let-7d, let-7f ve let-7g). Kanserli hastaların akciğer dokusu ile normal akciğer dokusu karşılaştırıldığında kanserli dokuda çoğunlukla düşük let-7 seviyeleri gözlenmiştir. Bir akciğer kanseri hücre kültürü modelindeki let-7 seviyeleri, normal hastaların akciğer dokusundaki

let-7 seviyelerinden daha yukarılara çıkarıldığı zaman, kanser hücrelerinin büyümesinin önemli derece de azaldığı saptanmıştır [101].

Üç adet izoformu bulunan miR-29 (miR-29a, miR-29b, miR-29c), tümör süpresör karakter sergileyen diğer mikroRNA'lar arasındadır. Mir-29 ailesinin üyelerinin kronik lenfositik lösemi (KLL), akciğer kanseri, invaziv meme kanseri, akut miyelooid lösemi (AML) ve kolanjiyokarsinom hücrelerini baskılayıcı olarak aktivite gösterdiği yapılan çalışmalar ile ortaya konulmuştur [102-103].

MikroRNA-143'ün de birçok histolojik tümör türlerinde, anormal büyümeyi baskıladığı görülmüştür. B-hücreli kanserler, meme, serviks, kolorektal, mesane ve hipofiz tümörlerinde, miR-143'ün tümör süpresör olarak görev yaptığı rapor edilmiştir. Serviks kanserinde miR-143'ün hücre proliferasyonunu baskıladığı, kolorektal kanser hücrelerinde ise KRAS (viral onkogen) ve KRAS'ın sinyal yolunu doğrudan inhibe ettiği gösterilmiştir [104].

2.8.5. Onkogenik miRNA'lar

Tümör süpresör miRNA'ların tersine, onkogenik miRNA'lar çoğunlukla kanser türlerinde kontrolsüz büyümeyi artırıcı ve/veya antiapoptotik yönde fonksiyon gösterirler. İlk olarak keşfedilen onkogenik miRNA'lardan olan ve protein kodlamayan gen olan BIC (B cell Integration Cluster) ile eksprese edilen miR-155'tir. Son yapılan çalışmalarda, miR-155'in B hücreli lenfoma, meme, pankreas, akciğer ve Hodgkin lenfoma gibi kanserlerde ekspresyon seviyesinin artmış olduğu gösterilmiştir [105-109].

Bir onkogen gibi fonksiyon gösterdiği tespit edilen diğer bir mikroRNA ise miR-21'dir. Mir21 literatürde en çok üzerine çalışılan miRNA'lardan biri olup AML, KLL gibi hematolojik malignitelerde ve birçok solid tümörde (pankreas, prostat, mide, kolon, akciğer, meme ve karaciğer kanseri) yüksek seviyede ekspresyonu saptanmıştır [110-113].

Mir-21, transkripsiyonel olarak Stat3 tarafından IL-6 sinyal yolağında aktif duruma geçmektedir. Mir-21, invazyon ve metastaz üzerinde etkili olduğu saptanmıştır. Mir-21, hücre hareketi ve invazyonu konusundaki rolünü tümör süpresör bir protein olan PTEN'in mRNA'sini hedefleyerek göstermektedir. PTEN,

birkaç MMP (Matriks Metalloproteaz)' proteininin ekspresyonunu engelleyerek dolayısıyla hücre invazyonunu azaltarak tümör süpresör bir etki göstermektedir. Ayrıca son zamanlarda, kolorektal kanserlerde mir-21'in, PDCD4'ü baskıladığı, bunun da kanser invazyonu ve metastazı ile sonuçlandığı belirlenmiştir [114-115].

2.8.6. Akciğer kanseri ve miRNA'lar

MikroRNA'lar bir çok solid tümörde olduğu gibi akciğer kanserinin de patogenezinde önemli rol oynamaktadır. Literatürde birçok çalışma sonucunda prognostik ve tanısal bir biyobelirteç olabileceği görülmüştür. Akciğer kanseri ile ilgili MiRNA çalışmalarında örneklem olarak patolojik doku spesmenleri, kan ve balgam örnekleri gibi çok çeşitli farklı dokularda incelemeler yapılabilmektedir. Balgam sitolojisi akciğer kanserinin tanısında çok uzun yıllardan beri kullanılmaktadır. Örneğin Xie ve arkadaşları kanser hastalarının balgam örneklerinde miR-21 ekspresyonunun kanser olmayan bireylere göre artmış olduğunu göstermişlerdir [116]. Daha sonra yapılan çalışmalarda da balgamda artmış miR-21 ekspresyonunun %69.9 duyarlılık ve %100 özgüllükle akciğer kanserinde tanı koyduruculuğu olduğu rapor edilmiştir [117]. Böylece balgamda artmış miR-21 ekspresyonunun tespiti akciğer kanseri tanısında kullanılabilir noninvaziv bir yaklaşım olarak değer kazanmıştır.

Shen ve arkadaşlarının KHDAK tanısı olup erken evredeki hastalarda yaptıkları çalışmada 12 mikroRNA'nın belirgin şekilde ekspresyon farklılığı gösterdiğini tespit etmişlerdi. Doku ve plazmadaki ekspresyon seviyelerini karşılaştırdıklarında ise 5 miRNA'nın farklı sonuçlar verdiğini gözlemlemişlerdir. Ayrıca, miR-21, miR-126, miR-210 ve miR-486-5p düzeylerini normal kontrollerle karşılaştırdığında %86.2 duyarlılık ve %96.6 özgüllükle KHDAK'ın ayırt edebildiği görülmüştür. Oluşturdukları bir miRNA paneli ile de evre I KHDAK'lı hastalara %73.3 duyarlılık ve %96.6 özgüllükle tanı koymuşlardır. Ek olarak, bu miRNA'ların düzeylerini skuamöz hücreli kanserler ve akciğer adenokarsinomlarında kıyasladıklarında tanı koyduruculuğun akciğer adenokarsinomlarında daha özgül olduğunu göstermişlerdir [118]. KHDAK'da erken

dönemde miR-1254 ve miR-574-5p ekspresyonu önemli derecede artmış olarak bulunmuştur [119].

Bir başka çalışmada ameliyatla elde edilen tümör dokularından ve balgamdan yapılan miRNA analizlerinde normal kontrollerle yapılan karşılaştırmanın sonucunda miR-21, miR-486, miR-375 ve miR-200b'nin yüksek ekspresyonunun akciğer adenokarsinomlarında %80.6 duyarlılık ve %91.7 özgüllükle tanı koydurucu olduğu gösterilmiştir [120]. Xing ve arkadaşları da benzer sonuçlara ulaşarak akciğer kanserinin tanısında balgamda miR- 205, miR-210 ve miR-708 ekspresyonunun gösterilmesinin %73 duyarlılık ve %96 özgüllükle tanı koydurucu olduğunu rapor etmişlerdir [121].

2.8.7. KOAH VE MİKRORNA İLİŞKİSİ

KOAH, kalıcı ve aşırı inflamasyon sonucu alveolar lezyonların geliştiği ve bunun sonucunda akciğer fonksiyonlarında hızlı bir azalmanın ortaya çıktığı ve hava akımı sınırlaması ile karakterize olabilen kronik heterojen bir hastalıktır [122]. İnflamasyon ve hücre yapısı değişiklikleri gibi birçok faktör KOAH'ın başlatılmasında ve ilerlemesinde rol oynamaktadır.

KOAH patogenezi ile ilgili yapılan çalışmalar sonucunda miRNA'ların da hastalık gelişiminde rol oynayabileceği gösterilmiştir. MiRNA'lar çeşitli hücrel ve moleküler yolları hedefleyerek epigenetik düzenleyici olarak rol aldıkları bilinmektedir. miRNA'ların deregülasyonunun kardiyovasküler hastalıklar, inme, diyabet, kanser ve KOAH gibi çeşitli hastalıkların başlatılması ve ilerlemesi ile ilişkili olabileceği gösterilmiştir [123-129].

Literatürde birçok çalışmada miRNA'ların up regülasyonunun veya down regülasyonunun KOAH patogenezinde ilişkili olabileceği gösterilmiş durumdadır [129]. MiR-223, miR-1274a, miR-101 ve miR-144 dahil olmak üzere birçok miRNA, etkilerini KOAH patogenezinde de yer alan bir dizi hücrel ve moleküler yolak (Smad, transforme büyüme faktörü β [TGF- β], Kras, Notch ve Wnt) üzerinden gerçekleştirir [123]. Dolayısıyla, bu moleküllerin KOAH hastaları için yeni tanı ve tedavi edici biyobelirteçler olarak kullanılabileceği görülmektedir.

3. MATERİYAL VE METOD

3.1 Çalışmaya Alınan Hasta Özellikleri

Çalışmamız eylül 2018- ocak 2019 tarihleri arasında Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Onkoloji Bilim Dalı ve Göğüs hastalıkları bilim dalında yapılmıştır. Çalışma için Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi girişimsel olmayan etik kurulundan 03.04.2018 tarihinde, 07 sayılı kurul kararı ile izin alınmış olup katılan hastalara açıklama yapılarak aydınlatılmış yazılı onamları alınmıştır. Hastaların dosya bilgilerine hastane medulla sisteminden ve Tıbbi Onkoloji poliklinik dosyalarından ulaşılmıştır. Çalışmaya daha önce invaziv yöntemler kullanılarak histopatolojik olarak küçük hücreli dışı akciğer kanseri hastalığı olduğu kanıtlanmış hastalar ve göğüs hastalıkları ana bilim dalında takipli KOAH tanılı hastalar dahil edilmiştir. 30 adet KHDAA ve kontrol grubu olarak da 30 tane KOAH hastası değerlendirmeye alınmıştır. KHDAA grubunda kemoterapi almış olan hastalar ve KOAH tanısı olan hastalar dışlanmıştır. KHDAA hasta grubundan kemoterapi öncesi 1 kez kan alınmıştır. Aynı şekilde KOAH hasta grubundan da kontrolleri sırasında 1 kez kan alınmıştır. Hastaların yaş, cinsiyet, sigara içme durumları gibi demografik verilerinin yanısıra laboratuvar verileri, tümör patolojileri ve tümör evreleri kaydedildi. KOAH tanısı olan hastalar FEV-1'e göre hafif, orta, ağır ve çok ağır olacak şekilde dereceleri sınıflandırıldı. KOAH grubunda kan alımı sırasında herhangi bir enfeksiyon olmadığı gösterilmiştir. Her hastadan biyokimya tüpüne 5 ml kan örneği alındı.

3.2 RNA İzolasyonu Protokolü

Hastalardan toplanan 5 ml kan örnekleri 4000 rpm de 7 dakika santrifüj edilerek serum elde edildi. Elde edilen serum örnekleri taze olarak RNA izolasyonu sağlandı. RNA izolasyonu Qiagen miRNeasy kit (katalog no:217184, Germany) kullanıldı. Protokol ise; 100 µl serum örneğine qiazol 900 µl ilave edilerek oda sıcaklığında 5 dakika inkübe edildi. Ardından 180 µl kloroform ilave edilerek 15 saniye vorteks edildi. Santrifüj işlemi 12000 xg de 15 dakika +4°C de

gerçekleştirildi. Oluşan üst berrak faz alınarak toplam hacmin 1,5 katı %96'lık saf alkol eklendi. Daha sonra kit içerisinde bulunan kolonlardan 8000 xg de 15 saniye santrifüj edildi. Daha sonra kit içerisinde bulunan RWT ve RPM solüsyonları 500 µl konularak 8000 xg de 15 saniye santrifüj edilerek kolon yıkandı. Ardından % 80'lik alkol 500 µl konularak 8000 xg de 2 dakika santrifüj işlemi yapıldı. Daha sonra 8000 xg de 4 dakika alkol buharlaştırma işlemi için santrifüj edildi. Son olarak 20000 xg de 1 dakika RNase içermeyen su konularak RNA elde edildi. Elde edilen RNA ölçülen -80°C de saklandı.

3.3cDNA Eldesi

İzolasyonu gerçekleştirilen RNA'lar üretici firmanın belirttiği şekilde elde edildi (miScript II RT kit Qiagen, Germany). Total RNA (1ng-4 ng) 8 µl, HiSpec tamponu 4 µl, nucleis mix 2 µl, miScript RT 2 µl, saf su 4 µl toplam 20 µl olacak şekilde reaksiyon miksi hazırlandı. Reaksiyon şartları; 37°C de 60 dakika, 95°C de 5 dakika 1 siklus olarak gerçekleştirildi. Ardından reaksiyon sonunda örnekler -20°C de saklandı.

3.4Real-Time Reaksiyonu

Real time reaksiyonu için elde edilen cDNA'lar kullanıldı. Bunun için Qiagen (Germany) özel olarak dizayn edilen hsa-miR-199b-3p, hsa-miR-33a, hsa-miR-635, hsa-miR-935, hsa-miR-662, hsa-miR-518b, hsa-miR-20b, hsa-miR-641, hsa-miR-662, hsa-miR-369-5p, hsa-miR-383, hsa-miR-636, hsa-miR-940, hsa-miR-26a, hsa-miR-328, hsa-miR-513b, hsa-miR-93, hsa-let-7b, hsa-let-7d, hsa-miR-u6, hsa-miR-39 primerleri kullanıldı. 12,5 µl master miks, 1 universal primer µl, 1 µl primer, 5,5 µl RNase içermeyen su, 5 µl cDNA olarak toplam hacim 25 µl olacak şekilde hazırlanmıştır. Reaksiyon şartları; 95°C de 15 dakika bir basamak, 94°C 30 saniye, 55°C 30 saniye, 70°C 15 saniye 40 basamak olarak gerçekleştirildi. Normalizatör olarak ise normal akciğer dokusu fibroblast hücresi kullanıldı. Tüm çıkan örnekler U6'ya karşı ifadeleri 2 üzeri delta ct olacak şekilde oranlandı. Çıkan sonuçlardaki 1 üzerindeki değerler upregülasyon, 1 altındaki

değerler ise dowregülasyon olarak kabul edildi.

3.5 İstatistiksel Analiz

Veriler SPSS 25.0 paket programıyla analiz edilmiştir. Kategorik olarak yapılan incelemeler sayı ve yüzde olarak ifade edilmiştir. Sürekli değişkenlerin arasındaki ilişkiler Spearman korelasyon analiziyle incelenmiştir. Kategorik değişkenler arasındaki farklılıklar ise Ki kare analizi ile incelenmiştir. Tüm incelemeler $p \leq 0.05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir. MiRNA değerleri için kabul edilen cutoff değerleri ROC eğrisine göre hesaplanmış olup 1 ve üzerindeki değerler ekspresyon artışı, diğer değerler ise ekspresyonda azalma olarak kabul edilmiştir.

4.BULGULAR

4.1. HASTALARIN ÖZELLİKLERİ

4.1.1 KOAH Tanılı Hastalarının Özellikleri

Çalışmamıza 30 KOAH tanılı hasta dahil edilmiştir. Tüm hastalar göğüs hastaları tarafından takipli ve tedavileri devam etmekte olan hastalar idi. 30 hastanın 1 (%3)'i kadın ve 29 (%97) tanesi erkektir. Medyan yaş 68 olup yaş aralığı 49-90 arasındadır. Yirmisekiz (%93) hastada sigara öyküsü mevcut iken sadece iki hastada sigara kullanım öyküsü yoktu. Ortalama sigara tüketimi 46 paket/yıl olarak belirlendi.

Hastalar FEV-1 değerlerine göre hastalık ağırlık derecesi sınıflandırması yapıldığında; 1 hasta (%3) hafif, 14 hasta (%47) orta, 15 hasta (%50) ağır kategoride yer aldı. Çok ağır KOAH sınıfında hasta bulunmamaktadır. Özgeçmişlerine göre değerlendirildiğinde; KOAH grubundaki hastaların 10 (%33) 'unda HT, 4 (%13)'ünde DM, 3 (%10)'ünde KBY (kronik böbrek yetmezliği), 6 (%20)'sında KAH eşlik etmekte idi. Hastalara eşlik eden malignite bulunmamakta

idi. Hastaların medyan albumin değeri 3.6, medyan wbc değeri 10340, medyan lenfosit değeri 1800, medyan nötrofil değeri 7605, medyan trombosit değeri 252000, medyan hemoglobin değeri 13.9 ve medyan LDH değeri 208 olarak tespit edildi.

Tablo 9 KOAH hastalarının özellikleri

		N	%
Cinsiyet	Kadın	1	3
	Erkek	27	97
Yaş	≤60	12	40
	>60	18	60
Sigara öyküsü (paket/yıl)	Var	28	93
	Yok	2	7
Ek hastalık	Var	11	37
	Yok	19	63
Hastalık Ağırlık Düzeyi	Hafif	1	3
	Orta	14	47
	Ağır	15	50
	Cok ağır		
Malignite	Var	0	0
	Yok	30	100

4.1.2 Akciğer Kanseri Hastalarının Özellikleri

Çalışmamıza 30 küçük hücreli dışı akciğer kanseri hastası dahil edilmiştir. Tüm hastalar yeni tanı olup kemonatif hastalardan oluşmaktadır. Otuz hastanın 3 (%10) 'ü kadın ve 27 (%90) tanesi erkektir. Medyan yaş 64 olup yaş aralığı 45-79 arasındadır. 28 (%93) hastada sigara öyküsü mevcut iken sadece iki hastada sigara kullanım öyküsü yoktur. ECOG (Eastern Cooperative Oncology Group) performans skoru tüm hastalarda 1 ve 2 arasında değişmekte idi.

Özgeçmişlerine göre değerlendirildiğinde; hastaların 8 (%27)'inde HT (hipertansiyon), 6 (%20)'sında DM (diyabetes mellitus), 4 (%13)'ünde KAH (koroner arter hastalığı) eşlik etmekte idi. 19 (%63) hastada ise herhangi bir ek hastalık bulunmuyordu. İkinci primer kanseri hiçbir hasta bulunmamakta idi.

Patolojik tanılarına göre değerlendirildiğinde; 13 (%43) hasta skuamöz hücreli karsinom, 12 (%40) hasta adenokarsinom ve 5 (%17) hastada küçük hücreli dışı tiplendirilemeyen olarak raporlandırılmıştır. Akciğer kanseri hastalarının evrelerine göre değerlendirildiğinde; 1 (%3) hasta evre 2, 14 (%47) hasta evre 3 ve 15 (%50) hasta ise evre 4 olarak tanı almıştır. Hastaların medyan albumin değeri 3.8, medyan wbc değeri 7615, medyan lenfosit değeri 1290, medyan nötrofil değeri 5175, medyan trombosit değeri 249000 medyan hemoglobin değeri 12.9 ve medyan LDH değeri 178 olarak tespit edildi.

Tablo 10 Akciğer kanseri hastalarının özellikleri

		N	%
Cinsiyet	Kadın	3	10
	Erkek	27	90
Yaş	≤60	12	40
	>60	18	60
Histopatolojik tipi	Skvamöz	13	43
	Adenokarsinom	12	40
	NOS	5	17
Sigara öyküsü (paket/yıl)	Var	28	93
	Yok	2	7
Ek hastalık	Var	11	37
	Yok	19	63
Evre	Evre 2	1	3
	Evre 3	14	47
	Evre 4	15	50
KOAİ	Var	0	0
	Yok	30	100

4.1.3 Hastaların miRNA ekspresyon düzeyleri

30 KOAH ve 30 küçük hücreli dışı akciğer kanseri hastasında toplam 21 adet miRNA (hsa-miR-199b-3p, hsa-miR-33a, hsa-miR-635, hsa-miR-935, hsa-miR-662, hsa-miR-518b, hsa-miR-20b, hsa-miR-641, hsa-miR-662, hsa-miR-369-5p, hsa-miR-383, hsa-miR-636, hsa-miR-940, hsa-miR-26a, hsa-miR-328, hsa-miR-513b, hsa-miR-93, hsa-let-7b, hsa-let-7d, hsa-miR-u6, has-miR-39) ekspresyon seviyesi incelenmiştir. Tablo 11 ve tablo 12’de KOAH ve KHDAK hastalarının miRNA ekspresyon düzeylerindeki değişiklikler gösterilmiştir.

Tablo 11 KOAH Hastalarındaki miRNA Ekspresyon Sonuçları

miRNA	Artmış	Azalmış
MiR20B	8	22
MiR518B	3	27
MiR-LE7D	5	25
MiR26A	10	20
miR33A	8	22
MiR-LET-7B	3	27
MiR199-5P	13	17
MiR369-5P	19	11
MiR328	20	10
MiR641	5	25
MiR935	15	15
MiR940	25	5
MiR93	13	17
MiR662	13	17
MiR383	5	25
MiR449B	1	29
MiR511	4	26
miR636	0	30
MiR513B	29	1
miR635	20	10

Tablo 12 KHDAK Hastalarındaki miRNA Ekspresyon Sonuçları

miRNA	Artmış	Azalmış
MiR20B	12	18
MiR518B	7	23
MiR-LE7D	15	15
MiR26A	20	10
MiR33A	24	6
MiR-LET-7B	25	5
MiR199-5P	26	4
MiR369-5P	23	7
MiR328	12	18
MiR641	26	4
MiR935	23	7
MiR940	19	11
MiR93	4	26
MiR662	15	15
MiR383	20	10
MiR449B	16	14
MiR511	27	3
miR636	18	12
MiR513B	20	10
miR635	10	20

4.1.4 KOAH ve Akciğer Kanseri Hastalarındaki miRNA ekspresyon seviyelerinin birbirleri ile ilişkisi (Tablo 13)

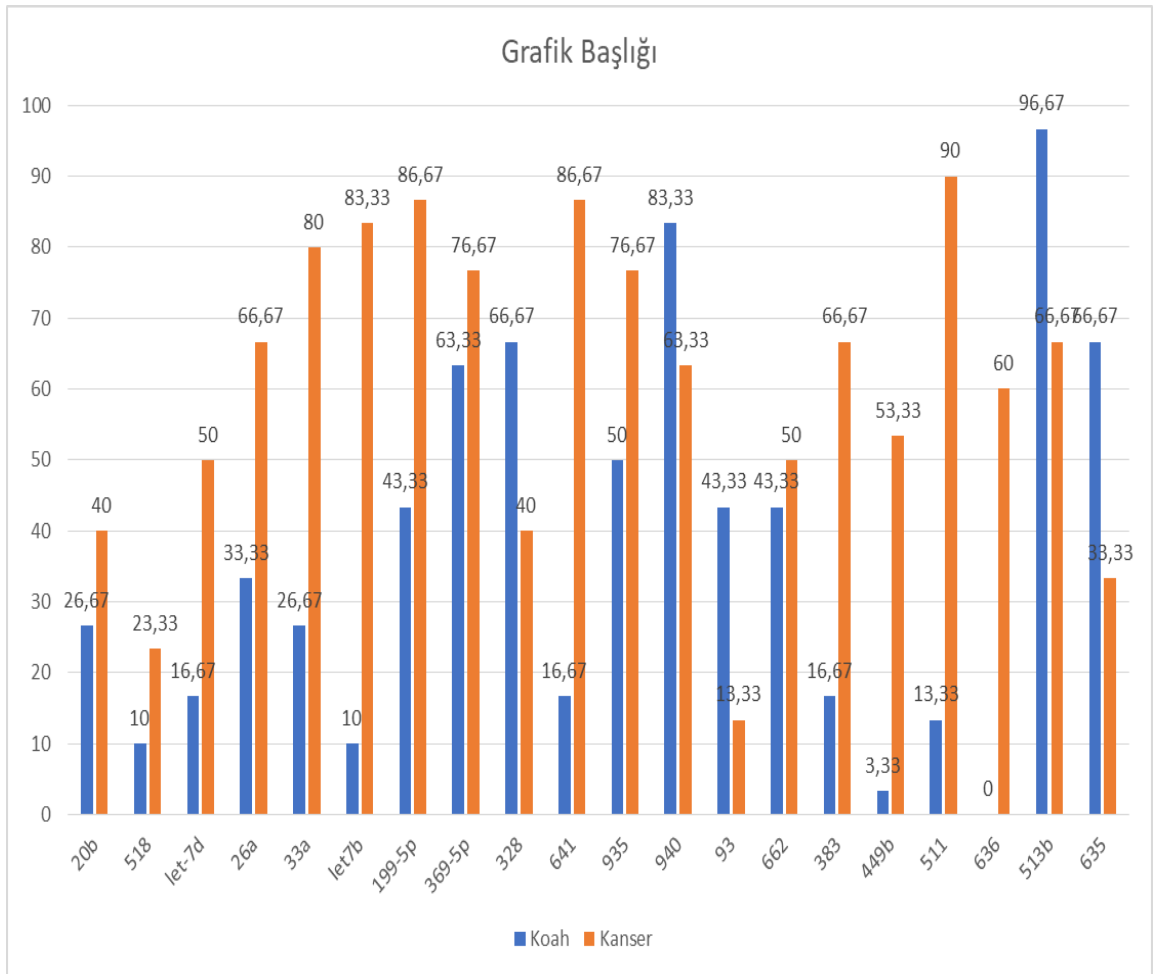
		Akciğer Kanseri	KOAH	p değeri
miR-20b	Artan	12 (%40)	8 (%26.7)	0,273
	Azalan	18 (%60)	22 (%73)	
miR-518	Artan	7 (23.3)	3 (%10)	0.166
	Azalan	23 (%76.7)	27 (%90)	
Let-7d	Artan	15 (%50)	5(16.7)	0.006
	Azalan	15 (%50)	25 (%83.3)	
miR-26a	Artan	20 (%66.7)	10 (%33.3)	0.01
	Azalan	10 (%33.3)	20 (%66.7)	
miR-33a	Artan	24 (%80)	8 (%26.7)	0.0001
	Azalan	6 (%20)	22 (%73)	
Let-7b	Artan	25 (%83.3)	3 (%10)	0.0001
	Azalan	5 (%16.7)	27 (%90)	
miR-199-5p	Artan	26 (%86.7)	12 (%43.3)	0.0001
	Azalan	4 (%13.3)	17 (%56.7)	
mir-328	Artan	12 (%40)	20 (%67.7)	0.038
	Azalan	18 (%60)	10 (%33.3)	
miR-641	Artan	26 (%86.7)	5 (%16.7)	0.0001
	Azalan	4 (%13.3)	25 (%83.3)	
miR-935	Artan	23 (%76.7)	15 (%50)	0.032
	Azalan	7 (%23.3)	15 (%50)	
miR-940	Artan	19 (%63.3)	25 (%83.3)	0.082
	Azalan	11 (%36.7)	5 (%16.7)	
miR-93	Artan	4 (%13.3)	13 (%43.3)	0.01
	Azalan	26 (%86.7)	17 (%56.7)	
miR-662	Artan	15 (%50)	13 (%43.4)	0.605
	Azalan	15 (%50)	17 (%56.7)	
miR-383	Artan	20 (%66.7)	5(%16.7)	0.0001
	Azalan	10 (%33.3)	25 (%83.3)	
miR-449b	Artan	16 (%53.3)	1 (%3.3)	0.0001
	Azalan	14 (%46.7)	29(%96.7)	
miR-511	Artan	27 (%90)	4 (%13.3)	0.0001
	Azalan	3 (%10)	26 (%86.7)	
miR-636	Artan	18 (%60)	0 (%0)	0.0001
	Azalan	12 (%40)	30 (%100)	
miR-513b	Artan	20 (%66.7)	29 (%96.7)	0.003
	Azalan	10 (%33.3)	1 (%3.33)	
miR-635	Artan	10(%33.3)	20 (%66.7)	0.01
	Azalan	20 (%66.7)	10 (%33.3)	
miR-369 5p	Artan	23 (%76.7)	19 (%63.3)	0,199
	Azalan	7 (23.3)	11 (%36.7)	

**Tüm incelemeler $p \leq 0.05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

*Kategorik değişkenler arasındaki farklılıklar ise Ki kare analizi ile incelenmiştir.

Küçük Hücreli Akciğer Kanseri (KDAK) ve Kronik Obstrüktif Akciğer Hastalığı (KOAH) tanısı olan hastalarda miRNA yüksek ekspresyon düzeyleri aşağıdaki grafik 1 de gösterilmiştir. Bir değerinin üzeri anlamlı kabul edilmiştir.

Grafik 1



**Veriler SPSS 25.0 paket programıyla analiz edilmiştir.

**Tüm incelemeler $p \leq 0.05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

KOAH ve akciğer kanseri hastaları arasındaki miRNA ekspresyon seviyelerinin benzerlik ve farklılık açısından ki kare testi kullanılarak istatistiksel analizi yapıldı. Analiz sonucunda; miR-let-7d, miR-26a, miR-33a,let-7b, miR-199-59, miR-328, miR-641, miR-935, miR-93, miR-338, miR-449b, miR-511, miR-636, miR-512b ve miR-635'in ekspresyon seviyeleri akciğer kanseri ve KOAH hastaları arasında istatistiksel derece anlamlı olacak şekilde farklılık gösterdi.

4.1.5 KOAH hastalarının miRNA ekspresyon seviyelerinin hasta özellikleri ile korelasyon analizi

KOAH hastalarının tümünde miRNA ekspresyon düzeyleri ile lökosit ve nötrofil değerleri arasında istatistiksel anlamlılık ve negatif yönde orta düzeyde korelasyon ilişkisi tespit edilmiştir. Değerler tablo 14'de gösterilmiştir.

Tablo 14 KHDAK hastalarının miRNA ekspresyon seviyelerinin hasta özellikleri ile korelasyon analizi - 1

AkciğerCA	mir20b	mir518	mir.let.7d	mir.26a	mir33a	mir.let7b	mir199.5p	mir.369.5p	mir328	mir641	
Evre	r	-0,330	-0,326	-0,326	-0,325	-0,330	-0,326	-0,324	-0,326	-0,323	-0,319
	p	0,075	0,079	0,079	0,080	0,075	0,079	0,080	,078	0,082	0,086
Alb	r	0,413*	0,413*	0,411*	0,425*	0,402*	0,411*	0,414*	0,413*	0,409*	0,410*
	p	0,023	0,023	0,024	0,019	0,027	0,024	0,023	0,023	0,025	0,025
Wbc	r	0,034	0,045	0,040	0,018	0,046	0,040	0,036	0,037	0,040	0,033
	p	0,857	0,815	0,833	0,923	0,811	0,833	0,850	0,845	0,832	0,864
Neu	r	0,065	0,077	0,071	0,053	0,075	0,071	0,069	0,067	0,073	0,070
	p	0,734	0,688	0,708	0,781	0,695	0,708	0,717	0,725	0,702	0,712
Lenf	r	-0,270	-0,267	-0,269	-0,281	-0,258	-0,269	-0,270	-0,268	-0,272	-0,280
	p	0,149	0,154	0,150	0,133	0,168	0,150	0,149	0,153	0,145	0,134
Hb	r	-0,256	-0,247	-0,248	-0,245	-0,254	-0,248	-0,249	-0,248	-0,247	-0,258
	p	0,172	0,189	0,186	0,191	0,175	0,186	0,185	0,187	0,188	0,169
Plt	r	0,003	0,000	-0,002	-0,002	-0,001	-0,002	-0,008	-0,001	-0,004	-0,007
	p	0,988	0,998	0,993	0,992	0,997	0,993	0,967	0,995	0,985	0,969
Ldh	r	-0,033	-0,042	-0,039	-0,047	-0,037	-0,039	-0,031	-0,045	-0,035	-0,035
	p	0,864	0,827	0,839	0,805	0,846	0,839	0,869	0,815	0,855	0,853

**Veriler SPSS 25.0 paket programıyla analiz edilmiştir.

**Tüm incelemeler $p \leq 0.05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

**Sürekli değişkenlerin arasındaki ilişkiler Spearman korelasyon analiziyle incelenmiştir.

Tablo 15 KHDAK hastalarının miRNA ekspresyon seviyelerinin hasta özellikleri ile korelasyon analizi – 2

KHDAK hastalarının miRNA ekspresyon seviyelerinin hasta özellikleri ile korelasyon analizi-2											
Akciğer CA		mir935	mir940	mir93	mir662	mir338	mir.449b	mir511	mir636	mir.513b	mir635
evre	r	-0,330	-0,326	-0,328	-0,326	-0,330	-0,319	-0,319	-0,326	-0,326	-0,326
	p	0,075	0,079	0,077	0,079	0,075	0,086	0,086	0,078	0,079	0,079
alb	r	0,414*	0,413*	0,407*	0,411*	0,405*	0,405*	0,412*	0,412*	0,411*	0,411*
	p	0,023	0,023	0,025	0,024	0,027	0,027	0,024	0,024	0,024	0,024
wbc	r	0,040	0,038	0,040	0,040	0,043	0,042	0,041	0,034	0,043	0,040
	p	0,835	0,842	0,834	0,833	0,820	0,825	0,831	0,859	0,820	0,833
neu	r	0,069	0,069	0,070	0,071	0,072	0,075	0,076	0,067	0,074	0,071
	p	0,718	0,718	0,713	0,708	0,706	0,692	0,692	0,727	0,696	0,708
lenf	r	-0,266	-0,270	-0,269	-0,269	-0,259	-0,272	-0,276	-0,270	-0,265	-0,269
	p	0,156	0,149	0,151	0,150	0,167	0,145	0,140	0,148	0,158	0,150
hb	r	-0,252	-0,246	-0,251	-0,248	-0,251	-0,251	-0,251	-0,245	-0,249	-0,248
	p	0,180	0,191	0,181	0,186	0,180	0,180	0,181	0,192	0,185	0,186
plt	r	0,002	-0,002	-0,001	-0,002	-0,002	-0,003	-0,006	-0,006	-0,003	-0,002
	p	0,993	0,990	0,997	0,993	0,993	0,986	0,974	0,976	0,986	0,993
ldh	r	-0,041	-0,044	-0,037	-,039	-0,042	-0,027	-0,048	-0,032	-0,040	-0,039
	p	0,831	0,819	0,846	0,839	0,826	0,889	0,800	0,866	0,835	0,839

**Veriler SPSS 25.0 paket programıyla analiz edilmiştir.

**Tüm incelemeler $p \leq 0.05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

**Sürekli değişkenlerin arasındaki ilişkiler Spearman korelasyon analiziyle incelenmiştir.

Tablo 16 Koah hastalarının miRNA ekspresyon seviyelerinin hasta özellikleri ile korelasyon analizi -1

KOA H		mir20b	mir518	mir.let.7d	mir.26a	mir33a	mir.let7b	mir199.5p	mir.369.5p	mir328	mir641
FEV.1	R	0,058	0,058	0,058	0,058	0,058	0,058	0,058	0,058	0,058	0,058
	P	0,759	0,759	0,759	0,759	0,759	0,759	0,759	0,759	0,759	0,759
Ağırlık	R	-0,011	-0,011	-0,011	-0,011	-0,011	-0,011	-0,011	-0,011	-0,011	-0,011
	P	0,954	0,954	0,954	0,954	0,954	0,954	0,954	0,954	0,954	0,954
Alb	R	0,178	0,178	0,178	0,178	0,178	0,178	0,178	0,178	0,178	0,178
	P	0,345	0,345	0,345	0,345	0,345	0,345	0,345	0,345	0,345	0,345
Wbc	R	-0,383*	-0,383*	-0,383*	-0,383*	-0,383*	-0,383*	-0,383*	-0,383*	-0,383*	-0,383*
	P	0,037	0,037	0,037	0,037	0,037	0,037	0,037	0,037	0,037	0,037
Neu	R	-0,410*	-0,410*	-0,410*	-0,410*	-0,410*	-0,410*	-0,410*	-0,410*	-0,410*	-0,410*
	P	0,025	0,025	0,025	0,025	0,025	0,025	0,025	0,025	0,025	0,025
Lenf	R	0,127	0,127	0,127	0,127	0,127	0,127	0,127	0,127	0,127	0,127
	P	0,505	0,505	0,505	0,505	0,505	0,505	0,505	0,505	0,505	0,505
Hb	R	0,255	0,255	0,255	0,255	0,255	0,255	0,255	0,255	0,255	0,255
	P	0,174	0,174	0,174	0,174	0,174	0,174	0,174	0,174	0,174	0,174
Plt	R	-0,256	-0,256	-0,256	-0,256	-0,256	-0,256	-0,256	-0,256	-0,256	-0,256
	P	0,173	0,173	0,173	0,173	0,173	0,173	0,173	0,173	0,173	0,173
LDH	R	-0,288	-0,288	-0,288	-0,288	-0,288	-0,288	-0,288	-0,288	-0,288	-0,288
	P	0,123	0,123	0,123	0,123	0,123	0,123	0,123	0,123	0,123	0,123

**Veriler SPSS 25.0 paket programıyla analiz edilmiştir.

**Tüm incelemeler $p \leq 0.05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

**Sürekli değişkenlerin arasındaki ilişkiler Spearman korelasyon analiziyle incelenmiştir.

Tablo 17 KOAH hastalarının miRNA ekspresyon seviyelerinin hasta özellikleri ile korelasyon analizi – 2

KOAH		mir935	mir940	mir93	mir662	mir338	mir.449b	mir511	mir636	Mir.513b	mir635
FEV.1	r	0,058	0,058	0,058	0,058	0,058	0,058	0,058	0,058	0,058	0,058
	p	0,759	0,759	0,759	0,759	0,759	0,759	0,759	0,759	0,759	0,759
Ağırlık	r	-0,011	-0,011	-0,011	-0,011	-0,011	-0,011	-0,011	-0,011	-0,011	-0,011
	p	0,954	0,954	0,954	0,954	0,954	0,954	0,954	0,954	0,954	0,954
Alb	r	0,178	0,178	0,178	0,178	0,178	0,178	0,178	0,178	0,178	0,178
	p	0,345	0,345	0,345	0,345	0,345	0,345	0,345	0,345	0,345	0,345
Wbc	r	-0,383*	-0,383*	-0,383*	-0,383*	-0,383*	-0,383*	-0,383*	-0,383*	-0,383*	-0,383*
	p	0,037	0,037	0,037	0,037	0,037	0,037	0,037	0,037	0,037	0,037
Neu	r	-0,410*	-0,410*	-0,410*	-0,410*	-0,410*	-0,410*	-0,410*	-0,410*	-0,410*	-0,410*
	p	0,025	0,025	0,025	0,025	0,025	0,025	0,025	0,025	0,025	0,025
Lenf	r	0,127	0,127	0,127	0,127	0,127	0,127	0,127	0,127	0,127	0,127
	p	0,505	0,505	0,505	0,505	0,505	0,505	0,505	0,505	0,505	0,505
Hb	r	0,255	0,255	0,255	0,255	0,255	0,255	0,255	0,255	0,255	0,255
	p	0,174	0,174	0,174	0,174	0,174	0,174	0,174	0,174	0,174	0,174
Plt	r	-0,256	-0,256	-0,256	-0,256	-0,256	-0,256	-0,256	-0,256	-0,256	-0,256
	p	0,173	0,173	0,173	0,173	0,173	0,173	0,173	0,173	0,173	0,173
LDH	r	-0,288	-0,288	-0,288	-0,288	-0,288	-0,288	-0,288	-0,288	-0,288	-0,288
	p	0,123	0,123	0,123	0,123	0,123	0,123	0,123	0,123	0,123	0,123

**Veriler SPSS 25.0 paket programıyla analiz edilmiştir.

**Tüm incelemeler $p \leq 0.05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

**Sürekli değişkenlerin arasındaki ilişkiler Spearman korelasyon analiziyle incelenmiştir.

5. TARTIŞMA

Akciğer kanseri dünyada kanser ile ilişkili ölümlerin başında gelmektedir. KOAH ise Amerika Birleşik Devletleri'nde ölüm nedenlerinde 4. sırada yer almaktadır. 2020 yılı itibariyle ise sıklığının daha da artıp 3. sıraya yükseleceği tahmin edilmektedir [130-131]. Sigara dumanına maruziyet hem KOAH hem de akciğer kanseri gelişimi için ana risk faktörünü oluşturmaktadır [132]. Bunun dışında akciğer kanseri etiyojisinde tütün kullanımından bağımsız olarak tek başına KOAH'ın varlığı önemli yer tutmaktadır. Genel itibariyle bakıldığında ise akciğer kanseri hastalarının %50-80' inde KOAH varlığı eşlik etmektedir [1].

KOAH tanılı hastalarda ve uzun süreli sigara kullanım öyküsü olan KHDAK hastalarında skuamöz hücreli karsinom alt tipi diğer patolojik alt tiplere göre daha yaygın tespit edilmektedir [133-134]. Etiyolojik sebeplerin benzerliğini göz önünde bulundurduğumuzda bu iki hastalığın altında benzer patolojik mekanizmaların yattığı görülmektedir. Bu hipotezden yola çıkan Young ve arkadaşları KOAH ve akciğer kanserinin moleküler genetik düzeyde doğrudan bağlantılı olduğuna dair kanıtlar sağlamışlardır. [135].

MikroRNA(miRNA)'ların keşfi ve birçok solid tümörle ilişkisinin saptanması üzerine akciğer kanseri ve miRNA arasındaki ilişkiyi gösterebilme adına birçok çalışma yapılmıştır. Yapılan çalışmalar sonucunda miRNA'ların akciğer kanseri tanısında, prognozunda ve tedaviye yanıtta çok değerli biyobelirteçler olabileceği ortaya konmuştur [136]. Akciğer kanseri ve miRNA ilişkisini ortaya koyan çok sayıda çalışma bulunmakla birlikte KOAH açısından baktığımızda ise bu alandaki çalışmalar daha sınırlı sayıdadır. Sato ve arkadaşlarının yaptıkları bir çalışmada KOAH hastalarındaki anormal inflamatuvar yanıtın patogeneğinde miR-146a'nın rol oynadığını göstermişlerdir [137]. Yine başka bir çalışmada KOAH tanısı almış ve sigara içmeye devam eden bireyler ile hiç sigara içmemiş ve hava yolu obstrüksiyon bulguları olmayan hastaların balgam örnekleri karşılaştırıldığında sekiz miRNA'nın diğer miRNA'lardan farklı ekspresyon gösterdikleri tespit edilmiştir. Bakılan bu sekiz miRNA'dan ikisi olan let-7c ve miR-125b de ise istatistiksel anlamlı derecede ekspresyon farklılıkları görülmüştür (46). Let-7 düzeyinin balgam örneğindeki TNF

reseptör 2 ile ters orantılı olduğu ve let-7'nin hedef geni üzerinde baskılayıcı etkisi olduğu gösterilmiştir [138].

KOAH hastaları ve normal sağlıklı bireylerin karşılaştırıldığı benzer iki çalışmada ise let-7c, miR-1 ve miR-146a'ın KOAH'lı bireylerde normal sağlıklı bireylere göre ekspresyon seviyelerinin baskılandığı gösterilmiştir. [138-140]. Ezzie ve arkadaşları KOAH hastalarının akciğer dokusundaki miR-15b seviyesinin sigara içen ama obstrüksiyon bulgusu olmayan bireylerin akciğer dokusundaki seviyeler ile kıyasla daha yüksek olduğunu tespit ettiler [123]. MiRNA'ların akciğer kanseri ve KOAH patogenezindeki öneminin anlaşılmasından sonra yapılan çalışmalar bu iki ortak etyolojik ve patogenetik mekanizmayı paylaştığı düşünülen bu iki hastalıktaki benzer ve farklı miRNA'lar tespit edilmesine yönelik yapılmıştır.

Molina-Pinelo ve arkadaşları KOAH ve KHDAK tanısı almış hastaları dahil ettikleri çalışmalarında bu iki hasta grubundaki benzer ve farklı ekspresyon gösteren miRNA'ları tespit etmeyi amaçlamışlardır. Çalışmaya dahil ettikleri hastaları 4 farklı gruba ayırmışlardır. Bu gruplar sadece KOAH tanısı olan, KOAH ve akciğer adenokarsinomu birlikteliği olan, sadece akciğer adenokarsinomu tanısı olan ve kontrol grubu olarak da sigara içmemiş sağlıklı bireyleri içerecek şekilde düzenlenmiştir. Çalışmada bireylerin bronkoalveolar lavaj örneklerindeki miRNA ekspresyon seviyeleri ölçülmüştür. Çalışma sonunda sadece Akciğer adenokanser tanısı almış ve sadece KOAH tanısı almış hastalarda 3 miRNA'nın (miR-486-3p miR-15b miR-425) benzer şekilde upregüle olduğu görülmüştür. Sadece KOAH tanısı olanlar ile KOAH ve akciğer adenokarsinomu tanısı birlikteliği olan gruplar karşılaştırıldığında ise bu 3 miRNA'nın (miR-486-3p miR-15b miR-425) yine benzer şekilde upregüle olduğu bunun haricinde ise 2 miRNA'nın (miR-342-3p miR-365) daha upregüle olduğu görülmüştür. Araştırmacılar çalışmanın sonunda KOAH ve akciğer adenokarsinomu birlikteliği ile sadece izole Akciğer kanseri tanısı olan hastalarda benzer miRNA ekspresyon değişiklikleri yanında farklı değişimlerin de olabileceğini öne sürmüşleridir [140].

Yine benzer bir çalışmada Halvorsen ve arkadaşları akciğer kanseri KOAH

ve sağlıklı bireylerden oluşan grupları içeren çalışmalarında 6 miRNA'nın (miR-429, miR-205, miR-200b, miR-203, miR-125b and miR-34b) kanser grubunda KOAH ve sağlıklı birey grubuna göre istatistiksel anlamlı derecede farklı ekspresyon düzeyine ulaştığını göstermişlerdir. Çalışmalarının sonunda bu altı miRNA kombinasyonunun akciğer kanseri erken tanısında yol gösterici bir biyomarker olarak gelecekte kullanılabileceğini öne sürmüşlerdir [141].

Biz de çalışmamızda etiyojisi büyük oranda benzer olan bu iki hastalığın temelindeki muhtemel benzer moleküler mekanizmaları aydınlatmaya yönelik miRNA ekspresyon seviyelerini ölçmeyi amaçladık. Bu çalışma için daha önceden belirlenmiş olan 21 çeşit miRNA tipi ekspresyon analizi için değerlendirmeye alınmıştır. Değerlendirme için hastaların kan örnekleri tercih edilmiştir. Bu yöntemi seçmemizdeki sebep bronkoskopi veya biopsi gibi daha invaziv yöntemler yerine hasta kan örneği alma gibi daha minimal invaziv bir yöntemle bunun yapılabilmesini sağlamaktır.

Mir20b'in yapılan birçok çalışmada çeşitli solid tümör tiplerinde deregüle olduğu ve bunun malignite patogeneğinde etkili olduğu ortaya konmuştur [142-143]. Örneğin beyin metastazı yapmış olan meme kanseri hastalarında beyin metastazı olmayanlara göre mir-20b ekspresyon seviyesi daha yüksek saptanmıştır. Çalışma sonunda mir-20b'nin meme kanser hücrelerinin invazyon ve koloni oluşturabilme yeteneğini arttırdığı araştırmacılar tarafından belirtilmiştir [144]. Diğer bir çalışmada ise gastrik kanser dokusunda mir-20b'nin sağlık dokuya göre ekspresyon düzeyinin anlamlı derece yüksek olduğu ve lenf nodu metastaz durumu ile bu ekspresyon artışının korele olduğu gösterilmiştir [145].

Yapılan çalışmalar mir20b'nin birçok kanser türünde önplanda onkomir özellik sergilediğini göstermektedir. Çalışmamızın konusu olan KHK ve KOAH ile ilgili ise yeterli sayıda çalışma bulunmamaktadır. Az sayıdaki araştırmadan biri olan Liun Peng ve arkadaşlarının akciğer kanseri dokusu ve normal sağlıklı doku üzerinde mir-20b ekspresyon düzeylerini analiz ettikleri çalışmalarında akciğer kanseri dokusunda sağlıklı dokuya göre anlamlı derecede ekspresyon seviyesinin

yüksek olduğunu ve kanser grubundaki hastalarda ekspresyon seviyesinin yüksekliği ile kötü sağkalımın korele olduğu göstermişlerdir [146].

Çalışmamızda ise KOAH grubunda 8 hastada (%26.7) hastada miR-20b'nin ekspresyon artışı olurken 22 hastada (%73.3) ekspresyon seviyeleri azalmıştır. Akciğer kanseri grubunda ise 12 hastada (%40) ekspresyon artışı olur iken 18 hastada (%60) ekspresyon seviyesi azalmıştır. İki grup arasındaki istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmamıştır ($p=0,273$). KHDAK grubunda KOAH grubuna göre daha fazla sayıda hastada overekspresyon görülmesi literatürdeki miR-20b'nin oncomir özelliğini desteklemektedir. Bu sebeple istatistiksel olarak anlamlı fark olmamakla birlikte klinik olarak anlamlı olduğu düşünülmüştür. Hastaların klinikopatolojik özellikleri ile miR-20b seviyeleri arasında korelasyon analizi yaptığımızda ise KOAH grubunda lökosit ($p=0.037$) ve nötrofil ($p=0.025$) sayıları ile negatif yönde istatistiksel anlamlı korelasyon görülürken KHDAK grubunda ise albümin ile pozitif yönde anlamlı ($p=0.023$) ilişki saptanmıştır.

KHDAK grubundaki hastaların tümör patolojisi, evre ve sigara içme durumu ile miR-20b ekspresyon seviyeleri arasında ilişki saptanmamıştır. Bununla birlikte Lijung Peng ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmalarında miR-20b ile tümör çapı ve evresi arasında anlamlı ilişki saptadıklarını göstermişlerdir. Fakat bizim çalışmamızda böyle bir ilişki kurulamamış olup bu çalışmamızın hasta sayısının sınırlı olması ve heterojen hasta grubu içermesi ile ilgili olabileceği düşünülmüştür. Mir-20b ve KOAH ilişkisini araştıran çalışmalara da baktığımız ise literatürde oldukça kısıtlı sayıda çalışma olduğu görülmektedir. Az sayıda çalışmadan biri olan Sonia Molina-Pinelo ve arkadaşlarının sadece KOAH, sadece KHDAK ve iki tanıyı da içeren 3 farklı hasta grubunu inceledikleri çalışmalarında mir-20b 'nin sadece KOAH ve KHDAK hastalarının birlikte olduğu grupta anlamlı derecede ekspresyon artışı gösterdiğini saptamışlardır.

MiR-635 hakkında az sayıda çalışma yapılmış olan ve gerek kanser hücresi gerek de KOAH akciğer dokusundaki fonksiyonu yeterince aydınlatılamamış mikroRNA'lardan biridir. Literatürdeki az sayıda çalışmadan biri olan Yan Zhang ve

arkadaşlarının KHDAK dokusunda yaptıkları analizlerinde normal sağlıklı dokulara göre KHDAK kanseri dokusunda anlamlı derecede ekspresyon farklılığı gösterdiği ve tümör süpresör fonksiyon gösterdiğini belirtmişlerdir [147]. Çalışmamızda da benzer sonuçlar alınmış olup malign olmayan KOAH grubunda daha fazla orandaki sayıda hastada ekspresyon artışı gözlemlenmiştir. KHDAK grubunda sadece 10 hastada (%33.3) ekspresyon artışı gözlemlenir iken KOAH grubunda 20 hastada (%66.7) ekspresyon artışı gözlemlenmiştir. Bu sonuç benzer diğer çalışmadaki tümör süpresör fonksiyonunu destekleyici özelliktedir. İki grup arasındaki ekspresyon farklılığının istatistiksel olarak değerlendirildiğinde ise anlamlı sonuca ulaşılmıştır ($p=0.01$). Araştırmamız gerek KOAH gerek ise KHDAK üzerine miR-635 ile yapılmış ilk çalışmalardan olup literatüre değerli katkılar sunacağını düşünmekteyiz. Hastaların klinikopatolojik özellikleri ve miR-635 arasında korelasyon analizi yaptığımızda ise KOAH grubunda lökosit ve nötrofil ile negatif yönde anlamlı ilişki saptanır iken KHDAK grubunda ise sadece albumin değerleri ile pozitif yönde ilişki saptanmıştır.

MiR-383 ve kanser arasındaki ilişkiyi ortaya koymayı amaçlayan bir çok çalışmada araştırmacılar miR-383 ekspresyon seviyelerinin kanser dokusunda sağlık dokuya göre daha düşük olduğunu ortaya koymuşlardır [148]. Yine devam eden çalışmalarda akciğer kanseri hücre kültürlerine miR-383 seviyesini arttırıcı miRNA mimik tedavisi uygulandığında kanser hücrelerinin proliferasyonunun, migrasyonunun ve invazyonunun baskılandığı gösterilmiştir [148]. Benzer bir çalışmada Shasha ve arkadaşları akciğer adenokanser dokusunda sağlıklı dokuya göre ekspresyon seviyelerinin anlamlı derecede daha düşük bulunduğunu ve bunun tümör boyutu ve diferansiyasyon ile korele olduğunu göstermişlerdir [149]. Leidinger ve arkadaşları ise KHDAK ve KOAH ayırımında miR-383'ün anlamlı derecede farklı ekspresyon gösterdiğini ve bunun gelecekte potansiyeli olan bir biyomarker olarak kullanılabileceğini ileri sürmekte idiler [150]. Çalışmamızda ise literatürdeki çalışmaların aksine malign grupta daha fazla orandaki sayıda hastada miR-383'ün ekspresyon artışı olduğunu gözlemledik. KHDAK grubunda 20 hastada (%66.7) ekspresyon artışı 10 hastada (%33.3) ekspresyon düşüşü gözlemlenir iken KOAH grubunda ise hastaların büyük çoğunluğunda (%83.3) ekspresyon düşüşü

gözlemledik. Bu durum literatürde tümör süpresör özelliği ön planda olan miR-383'ün farklı hasta popülasyonlarında ve farklı alt tiplerde oncomir olarak da davranabileceğini düşünmekteyiz. İki grup arasındaki ekspresyon farklılığının istatistiksel açıdan anlamlı ($p=0.0001$) olması literatür ile uyumlu olup, gelecekte KOAH ve KHDAK hastalarının ayırımında kullanılabileceğini düşünmekteyiz. Hastaların klinikopatolojik özellikleri ve miR-383 arasında korelasyon analizi yaptığımızda ise KOAH grubunda lökosit ve nötrofil ile negatif yönde anlamlı ilişki saptanır iken KHDAK grubunda ise sadece albumin değerleri ile pozitif yönde ilişki saptanmıştır.

MiR-518 üzerine yapılan son çalışmalarda hem tümör süpresör gen hem de onkogenler üzerine etkili olabileceği gösterilmiştir. Zhang ve arkadaşlarının yaptığı örnek bir çalışmada özefagus skuamöz hücreli kanserde miR-518'in downregüle olduğu ve bunun hücre profilerasyonun ve invazyonun üzerinde etkili olabileceğini göstermişlerdir [151]. Bir başka çalışmada ise glioblastoma hücresinde sağlıklı dokuya göre miR-518'in downregüle olduğunu ve ekspresyon düzeylerinin tümör çapı, grade ve prognozla ilişkili olduğunu göstermişlerdir [152]. Genel olarak literatür incelendiğinde mir-518'in tümör süpresör özellik gösterdiği görülmektedir. miR-518'in akciğer kanserindeki rolünü gösteren çalışmalar ise oldukça sınırlı sayıdadır. Çalışmamızda KHDAK grubundaki hastaların %76.7 sinde miR-518 downregüle olurken sadece %23.3 oranında hastada overeksprese olmuştur. Bu durum literatürdeki benzer çalışmalar ile uyumludur. KOAH grubunda ise %90 oranında hastada downregüle olur iken %10 hastada overeksprese olduğu görülmüştür. KOAH ve miR-518 ilişkisini ortaya koyan çalışma sayısı sınırlıdır. Bu nedenle çalışmamızdaki %90 gibi yüksek oranda hastada downregüle olmasının dikkat çekici ve klinik anlamlı olduğunu gelecekteki çalışmalar için yol gösterici olabileceğini düşünmekteyiz. KHDAK ve KOAH grubu arasında ekspresyon seviyesi açısından karşılaştırılma yapıldığında ise anlamlı farklılık saptanmamıştır ($p=0.166$). Her iki grupta hastaların klinikopatolojik özellikleri ve ekspresyon seviyeleri arasında korelasyon analizleri yapıldığında KOAH grubunda lökosit ($p=0.037$) ve nötrofil ($p=0.025$) düzeyleri arasında istatistiksel anlamlı derecede ve negatif yönde korelasyon ilişkisi saptanır iken KHDAK grubunda sadece albümin ile anlamlı

($p=0.023$) pozitif yönde korelasyon saptanmıştır.

Let-7d literatürde hakkında çok sayıda çalışma yapılmış olan miRNA'lerden biridir. Birçok kanser türünde tümör süpressör olarak davrandığı gösterilmiştir. Akciğer kanseri çalışmalarında da benzer sonuçlar elde edilmiştir. Çalışmaların büyük bir bölümünde düşük let-7d ekspresyonu kötü sağkalım metastaz ve invazyon ile ilişkili bulunurken karşıt çalışmalar da mevcuttur [153]. Örneğin Zhao ve arkadaşları düşük let-7d ekspresyonunun metastaz invazyon ve ileri evre ile ilişkili olduğunu göstermişlerdir [154]. Çalışmamızda ise KHDAK grubunda hastaların yarısında yüksek ekspresyon saptanırken diğer yarısında ise düşük ekspresyon saptanmıştır. KOAH grubunda ise %83.3 gibi büyük orandaki sayıda hastada ekspresyon düşük saptanmıştır. Bu durum ise literatürdeki yapılmış olan mevcut çalışmalar ile uyumsuz olduğu görülmektedir. Hasta sayımızın az ve heterojen olmasının bu sonuca sebep olabileceği düşünülmüştür. İki grup arasında ekspresyon seviyeleri açısından ise anlamlı ($p=0.006$) farklılık saptanmıştır. Let-7d ve KOAH üzerine yapılan çalışma sayısı yeterli olmayıp KOAH tanılı hastalarımızın büyük çoğunluğunda ekspresyon seviyesinin düşük saptanması klinik olarak anlamlıdır. Hastaların klinikopatolojik özellikleri ve miRNA seviyeleri arasında korelasyon analizi yapıldığında ise; KOAH grubundaki hastaların lökosit ($p=0.037$) ve nötrofil ($p=0.025$) değerleri ile let-7d arasında anlamlı ilişki saptanır iken KHDAK grubunda ise sadece albümin ile anlamlı ilişki saptanmıştır.

Literatürdeki miR-26a üzerine yapılmış olan çalışmalarda meme kanseri tiroid kanseri ve liposarkomda tümör süpresör etki gösterdiği saptanmıştır [155-157]. Bu çalışmalardan farklı olarak beyin kanserinde ise yüksek seviyede eksprese olduğu ve bunun hastalık progresyonu ile ilişkili olabileceği gösterilmiştir [158]. KHDAK ve KOAH hastalarındaki önemi ise şuna dek tam netliğe kavuşturulamamıştır. Çalışmamızın sonuçlarında ise KHDAK grubunda KOAH grubuna göre miR-26a anlamlı ($p=0.01$) derecede daha yüksek eksprese olduğunu tespit ettik. Bu durum miR26a 'nın akciğer kanserinde patogenetik mekanizmada rol oynayabileceğini ve özellikle onkojenik tarafta yer alabileceğini göstermektedir. Hastaların klinikopatolojik özellikleri ile korelasyon analizi yapıldığında ise KHDAK grubunda

albümin ile pozitif yönde ($p=0.019$), KOAH grubunda ise lökosit ($p=0.037$) ve nötrofil (0.025) ile negatif yönde anlamlı ilişki saptanmıştır.

MiR-33a'nın akciğer kanseri doku hücresinde sağlıklı dokulara göre daha düşük eksprese olduğu ve tümör süpresör özellik göstermesi sebebiyle kanser hücresinin migrasyonunu ve büyümesini engellediği tespit edilmiştir [159]. Benzer bir çalışmada Du ve arkadaşları da aynı sonuca ulaşmış ve akciğer kanserinde miR33a'nın downregüle olduğunu ve kanser hücresinin proliferasyonunu engelleyici yönde etki ettiğini göstermişlerdir [160]. Hou ve arkadaşları ise çalışmalarının sonunda miR-33a'nın yüksek ekspresyonunun olumlu sağkalımla korele olduğunu öne sürmüşlerdir [161]. Çalışmamızda ise literatürden farklı olarak KHDAK hasta grubunda KOAH grubuna göre istatistiksel anlamlı farklılık oluşturacak şekilde daha fazla orandaki (%80) hasta sayısında miR-33a ekspresyon seviyesi yüksek tespit edilmiştir ($p=0.0001$). KOAH grubunda ise sadece 8 (%26.7) hastada ekspresyon seviyesi yüksek saptanmıştır. Diğer benzer çalışmalarda malign dokularda sağlıklı dokulara göre daha düşük orandaki hasta sayısında ekspresyon seviyeleri yüksek saptanırken bizim çalışmamızdaki sonuçların belirgin farklılık oluşturmuştur [161]. KOAH hastalarımızın %73'ü gibi yüksek orandaki hasta sayısında ekspresyon seviyesinin düşük saptanmasının klinik olarak anlamlıdır. Klinikopatolojik özellikler açısından değerlendirdiğimizde ise KOAH grubunda lökosit ($p=0,037$) ve nötrofil ($p=0.025$) değerleri ile negatif yönde anlamlı korelasyon saptanırken KHDAK grubunda albümin ($p=0.023$) değerleri ile pozitif yönde anlamlı korelasyon saptanmıştır.

Mir-let-7b, let-7 ailesinin bir üyesi olup birçok kanser türünde düşük eksprese olduğu ve tümör süpresör özellik gösterdiği tespit edilmiştir. Yapılmış olan akciğer kanseri çalışmasında da aynı şekilde normal sağlıklı dokuya göre azalmış ekspresyon gösterdiği ve ekspresyon düzeylerinin kötü sağkalımla ilişkili olduğu gösterilmiştir [162]. Çalışmamızda ise literatürün aksine KHDAK grubunda KOAH grubuna göre anlamlı ($p=0.0001$) derecede daha fazla orandaki hasta sayısında ekspresyon artışı gözlemlendi. KHDAK grubunda 25 hastada (%83.3) ekspresyon artışı olurken KOAH grubunda ise sadece 3 hastada (%10) artış gözlemlendi. Hastaların klinikopatolojik

özellikleri açısından korelasyon analizi yapıldığında ise; KOAH grubunda lökosit ($p=0.037$) ve nötrofil ($p=0.025$) değerleri ile negatif yönde anlamlı ilişki saptanır iken KHDAK grubunda sadece albümin ($p=0.024$) değerleri ile pozitif yönde anlamlı ilişki saptanmıştır.

Mir-199-5p'nin Ahmadi ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada akciğer kanseri hücre dokularında düşük ekspresyon gösterdiğini ve bunun sonucunda GRP78 geni üzerinden kanser hücresinin büyümesini ve çoğalmasını indüklediği göstermişlerdir [163]. KHDAK hastalarında mikroRNA düzeylerinin incelendiği başka bir çalışmada ise upregüle olduğu gösterilmiştir [164]. Yine KHDAK hastalarının dahil edildiği bir başka çalışmada ise düşük miR-199-5p'nin hastalık agresifliği ve kötü prognozla ilişkili olduğu ortaya konmuştur. MiR-199-5p'nin KHDAK kanserindeki önemi ve yeri tam netliğe kavuşmamakla birlikte tümör süpresör özelliği çalışmalarda ağırlık göstermektedir. Çalışmamızda ise KHDAK hastalarının büyük çoğunluğunda ekspresyon artışı gösterirken (%86.7) KOAH hastalarında ise daha az oranda (%43.3) hastada ekspresyon artışı tespit edilmiştir. Bu farklılık istatistiksel olarak anlamlı ($p=0.0001$) saptanmıştır. Bu farklılığın akciğer kanserinin belirli alt tiplerinde miR-199-5p'nin farklı davranış sergiliyor olabileceğinden ve kısıtlı hasta sayısından kaynaklanabileceğini düşünmekteyiz. Mizuno ve arkadaşlarının KOAH ve miR-199-5p ilişkisini inceledikleri çalışmalarında normal dokuya göre KOAH tanılı akciğer dokusunda miR-199-5p nin over eksprese olduğunu ve bunun hastalık ağırlığı ile korelasyon gösterdiğini tespit etmişlerdir [165]. Fakat çalışmamızda KOAH hastalarında miR-199-5p ile KOAH ağırlık derecesi arasında bir korelasyon kurulamamıştır. Diğer taraftan lökosit ($p=0.037$) ve nötrofil ($p=0.025$) değerleri arasında ise negatif yönde anlamlı ilişki saptanmıştır. KHDAK grubunda ise sadece albümin ($p=0.023$) ile pozitif yönde anlamlı korelasyon görüldü.

Leidinger ve arkadaşlarının çalışmasında KOAH hastalarına göre KHDAK hastalarında miR-369-5p'nin anlamlı derecede daha düşük ekspresyon gösterdiklerini tespit etmişlerdir [166]. Güncel literatürde KOAH ve KHDAK üzerine çalışmalar yeterli olgunluğa ulaşmamış durumda olup kendi çalışmamıza göre KOAH ve

KHDAK grupları arasında ekspresyon seviyeleri açısından anlamlı farklılığa ulaşamamıştır ($p=0.199$). KOAH grubunda 19 hastada ekspresyon artışı gözlenirken KHDAK grubunda ise 23 hastada ekspresyon artışı kaydedilmiştir. Klinikopatolojik özellikler açısından KOAH grubunda lökosit ($p=0.037$) ve nötrofil ($p=0.025$) değerleri ile KHDAK grubunda ise albumin ($p=0.023$) ile anlamlı korelasyon saptanmıştır.

MiR-328, Shen ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada KHDAK hücre kültüründe normal dokulara göre daha yüksek seviyede ekspresyon gösterdiğini ve bunun inhibisyonunun KHDAK hastalarında yeni bir tedavi hedefi olabileceğini öne sürmüşlerdir [167]. Wei Ma ve arkadaşları ise miR-328'in KHDAK grubunda sağlıklı dokulara göre daha düşük seviyede eksprese olduğunu ve düzey artışının radyoterapiye cevap ile pozitif yönde ilişkili olabileceğini göstermişlerdir [168]. KOAH ile ilişkili olarak yapılan başka bir çalışmada ise hastaların solunum yollarındaki hava sirkülasyonundan elde edilen örneklerde miR-328'in düşük eksprese olduğu gözlemlenmiştir [169]. Çalışmamızda ise KOAH grubunda yüksek orandaki hasta sayısında (%66.7) yüksek ekspresyon gösterdiği KHDAK grubunda ise hastaların sadece %40'ında yüksek eksprese olduğu gözlemlenmiştir. İki grup arasındaki bu farklılık istatistiksel olarak anlamlı ($p=0.038$) saptanmıştır. Elde ettiğimiz sonuçlar yapılmış olan mevcut çalışmalar ile uyumludur. Mir-328 ekspresyon düzeyi ve hastaların klinikopatolojik özellikleri açısından ilişkisine bakıldığında ise; KOAH grubunda lökosit ve nötrofil değerleri arasında KHDAK grubunda ise sadece albumin değerleri arasında pozitif yönde korelasyon saptanmıştır.

MiR-641 üzerine çeşitli kanserlerde birçok çalışmalar yapılmış ve miR-641'in özellikle başboyun kanserinde yüksek seviyede ekspresyonunun apoptozu indükleyici ve kanser hücre büyümesini baskılayıcı yönde etki ettiği gösterilmiştir [170]. Yine başka bir çalışmada ise miR-641'in inhibisyonunun sisplatin olan duyarlılığı arttırdığı gösterilmiştir [171]. KHDAK üzerine çalışma sayısı sınırlı olup Nan ve arkadaşlarının KHDAK hastalarında normal sağlıklı bireyelere göre miR-641'in düşük seviyede eksprese olduğunu ve bunun bir tedavi hedefi olarak

kullanılabilirliğini göstermişlerdir [172]. Çalışmamızın sonuçlarında ise KHDAK grubunda %86.7 gibi yüksek orandaki hasta sayısında miR-641'in yüksek ekspresyonu tespit ettik. KOAH grubunda ise sadece %16.7 oranında hastada yüksek seviyede eksprese oldu ve bu durum istatistiksel olarak anlamlı olmakla birlikte ($p=0.0001$) literatürdeki az sayıdaki çalışma ile farklılık göstermektedir. Mir-641 ve hasta özellikleri arasında analizler yapıldığında ise KOAH grubunda lökosit ($p=0.037$) ve nötrofil ($p=0.025$) değerleri arasında KHDAK grubunda ise albümin ($p=0.025$) değerleri arasında anlamlı derecede ilişki saptanmıştır.

MiR-935 birçok kanserde çalışılmasına rağmen KHDAK üzerine yapılmış araştırma sayısı sınırlıdır. Wang ve ekibinin yaptığı bir çalışmada KHDAK doku spesmenlerinde sağlıklı dokulara göre ekspresyon seviyesinin anlamlı derecede daha düşük tespit edildiğini, ekspresyon artışının lenf nodu metastazı ve kötü sağkalım ile ilişkili olduğunu saptamışlardır [173]. Tao ve arkadaşları ise aksi sonuçlara ulaşmış ve KHDAK dokusunda mir-935'in yüksek seviyede eksprese olduğunu ve bunun IL-27 üzerinden kanser hücrelerinin çoğalmasını ve yayılmasını tetiklediğini göstermişlerdir. Buradan yola çıkarak miR-935 inhibisyonunun yeni bir tedavi seçeneği olabileceğini ileri sürmüşlerdir [174]. Çalışmamızda ise miR-935 KHDAK grubunda %76.7 oranındaki hasta sayısında yüksek eksprese olur iken KOAH grubunda ise %50 hastada yüksek ekspresyonu saptanmıştır. İki grup arasındaki farklılık istatistiksel olarak anlamlı ($p=0.032$) bulunmuştur. KOAH ve miR-935 ile ilgili literatürde yeterli çalışma bulunmamakta olup %50 hastada yüksek ekspresyon saptanmıştır. Hastalarımızın klinikopatolojik özellikleri açısından değerlendirme yaptığımızda ise KOAH grubunda lökosit ($p=0,037$) ve nötrofil ($p=0,025$) değerleri arasında negatif yönde anlamlı derecede korelasyon saptanır iken KHDAK grubunda ise sadece albümin değerleri ile pozitif yönde anlamlı ($p=0.023$) korelasyon saptanmıştır.

Mir-940 ve solid tümörler üzerine yapılan çalışmaların büyük çoğunluğunda malignitelere düşük seviyede eksprese olduğu ve tümör süpresör olarak etki ettiği görülmektedir [175-177]. KHDAK ve KOAH ile ilişkili çalışmalar az sayıda olmakla birlikte KHDAK hastalarında miR-940'ın yüksek seviyede ekspresyonunun platin

direnci ile ilişkili olabileceği gösterilmiştir [178]. Çalışmamızda miR-940 KOAH hastalarında daha yüksek (%83.3) orandaki hasta sayısında yüksek seviyede eksprese oldu. KHDAK gurubunda ise %63.3 oranındaki hasta sayısında yüksek ekspresyon gösterdi. Malign grupta sayının daha az olması klinik olarak anlamlı olup literatürdeki diğer çalışma sonuçları ile korale gözükmemektedir. İki grup arasında farklılık istatistiksel açıdan değerlendirildiğinde ise anlamlı ($p=0.082$) fark saptanmamıştır. Hastaların özellikleri ve miR-940 ilişkisi analiz edildiğinde ise; KOAH grubunda lökosit ($p=0.037$) ve nötrofil ($p=0,025$) değerleri ile anlamlı korelasyon saptanırken, KHDAK grubunda sadece albümin ($p=0.023$) değerleri arasında anlamlı ilişki saptanmıştır.

Literatürde son yıllarda yapılan çalışmalarda miR-93 'ün oncomir özelliği ön plana çıkmıştır. Örneğin Wei ve arkadaşları KHDAK ve miR-93 arasındaki ilişkiyi açıklamak üzere yaptıkları çalışmalarında sağlıklı dokulara göre ekspresyon seviyesinin yüksek olduğunu, oncomir olarak etki yaptığını, ve ekspresyon artışının metastaz ve kötü sağkalımla ilişki olduğunu gösterdiler [179]. Yine benzer sonuçları Chunmei ve arkadaşları da ulaşılarak miR-93 yüksek seviyeli ekspresyonunun tümör boyut artışını ve metastazını kolaylaştırdığını gösterdiler [180]. Çalışmamızda ise literatürden farklı olarak KHDAK grubu hastalarının %86.7'sinde düşük seviyede eksprese olduğu görüldü. KOAH grubunda ise hastaların %56.7'sinde düşük seviyede ekspresyon gösterdiğini gözlemledik. İki grup arasında farklılık ise istatistiksel açıdan anlamlı ($p=0.01$) saptandı. KOAH ve miR-93 ilişkisi üzerine literatürde sınırlı sayıda çalışma olup etkinliği açısından net bir kanıt yoktur. Kendi çalışmamızda da hastaların yarıya yakını yüksek seviyede eksprese olur iken geri kalan kısımda ise düşük ekspresyon gözlemlenmiştir. Bu durum hasta sayılarının birbirine yakın olması nedeniyle KOAH grubumuzun kendi içerisinde klinik anlamlılığa ulaşmamıştır. Hasta klinikopatolojik özellikleri açısından değerlendirdiğimizde KOAH grubunda lökosit ($p=0.037$) ve nötrofil ($p=0.025$) ile negatif yönde anlamlı ilişki saptanır iken KHDAK grubunda sadece albümin ($p=0.025$) ile pozitif yönde anlamlı ilişki bulunmuştur.

MiR-662 Leidinger ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada KOAH

hastalarında KHDAK hastalarına göre anlamlı derecede farklı eksprese olduğunu gösterdiler [181]. Devam eden çalışmalarda KHDAK hastalarında miR-662 prognostik bir belirteç olarak kullanileceği ortaya çıkartılmıştır [182]. Çalışmamızda ise KOAH ve KHDAK grupları arasında benzer sonuçlar ortaya çıkmıştır. İstatistiksel olarak da anlamlı farklılığa ulaşılamamıştır (p=0.605). Klinikopatolojik özellikler açısından değerlendirdiğimizde ise KOAH grubunda lökosit ve nötrofil ile KHDAK grubunda ise sadece albümin ile anlamlı korelasyon saptanmıştır.

miR-636'nın KOAH hastalarının tümünde düşük seviyede eksprese olması çalışmamızda en dikkat çekici sonuçlardan birini oluşturmaktadır. KHDAK grubunda ise 18 (%60) hastada yüksek seviyede eksprese olur iken 12 hastada (%40) düşük seviyede ekspresyon saptanmıştır. İki grup arasında bu fark istatistiksel olarak da anlamlı (p=0.0001) bulunmuştur. Literatüre baktığımızda ise KHDAK hastalarında KOAH hastalarına göre yüksek seviyede eksprese olduğu çalışmalarda gösterilmiştir [181-183]. Çalışma sonuçlarımız literatür tarafından desteklenmektedir. Hastaların klinikopatolojik özelliklerini değerlendirdiğimizde ise; diğer miRNA lar ile benzer sonuçlar alındı. KOAH grubunda lökosit ve nötrofil ile anlamlı ilişki saptanırken KHDAK grubunda ise sadece albümin değerleri ile anlamlı ilişki saptandı.

Diğer belirgin farklılık gözlemlediğimiz miRNA ise 449-b oldu. KOAH grubundaki hastalardan sadece bir tanesinde yüksek seviyede eksprese olurken KHDAK grubunda 16 hastada (%53.3) yüksek eksprese oldu, İki grup arasında bu farklılık istatistiksel olarak anlamlı (p=0.0001) bulundu. Yapılan çalışmalarda MiR-449-b nin bir çok solid tümör de düşük eksprese olduğu, ve ekspresyon seviyesi artışının apoptozu indüklediği ve kanser hücrelerini baskılama yönünde etki yaptığı gösterilmiştir [184-185]. Sonrasında yapılan çalışmalarda KHDAK olgularında da benzer sonuçlar elde edilmiş ve önplanda tümör süpresör özellik gösterdiği anlaşılmıştır [186]. Ardından Wenting ve arkadaşları 449-b'nin ekspresyon seviyesi ile hasta özellikleri arasındaki ilişkiyi incelemişler çalışma sonuçlarına göre düşük miR-449-b seviyesinin kötü sağkalım ve ileri evre hastalıkla korele olduğunu göstermişlerdir [187]. Sonuçlarımız daha önceki çalışma sonuçları farklılıklar

taşımakta olup KOAH grubuna göre malign grupta daha fazla yüksek ekspresyon gözlemledik. Bu durum hasta gruplarımızın heterojen olmasından ve hasta sayısının kısıtlı olmasından kaynaklanıyor olabilir. Klinikopatolojik özellikleri incelediğimizde ise KOAH grubunda lökosit ve nötrofil ile korelasyon saptanır iken KHDAK grubunda ise sadece albümin değerleri ile anlamlı korelasyon saptandı.

MiR-513b ve akciğer kanseri üzerine yapılmış çalışma sayısı sınırlıdır. Wang ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada KHDAK dokularında normal sağlıklı dokuya göre ekspresyon seviyelerinin düşük oranda olduğu, bu ekspresyon seviye düşüşünün hücre büyümesi ve metastazı ile ilişkili olabileceği, miR-513b ekspresyon seviyesini yükseltecek yeni tedavi yöntemleri ile hücre büyümesinin baskılanabileceğini ileri sürmüşlerdir [188]. KOAH açısından baktığımızda ise Leidinger ve ekibinin çalışmasında miR-513b'nin KHDAK grubuna göre anlamlı derece ekspresyon farklılığı gösterdiğini ortaya koymuşlardır [192]. Çalışmamızda ise KOAH grubunda dikkat çekici bir sonuç elde edilmiş olup 1 hasta hariç tüm hastalarda yüksek seviyede ekspresyon artışı göstermiştir. KHDAK grubunda ise 20 hastada (%66.7) yüksek seviye ekspresyon gözlenirken 10 (%33.3) hastada ekspresyon düşüşü gözlenmiştir. İki grup arasındaki farklılık istatistiksel açıdan anlamlı ($p=0.003$) olarak saptanmıştır. Klinikopatolojik özellikler açısından ise diğer mikroRNA'lardan anlamlı bir farklılık saptanmamış olup KOAH grubunda lökosit ($p=0.037$) ve nötrofil ($p=0.025$) değerleri arasında KHDAK grubunda ise albümin ($p=0.024$) değerleri arasında anlamlı ilişki saptanmıştır.

Mir-635 ile KHDAK ve KOAH üzerine yapılmış araştırma sayısı sınırlıdır. Bunlardan en dikkat çeken Zhang ve arkadaşlarının miR-635'in KHDAK'inde tümöregenezi baskıladığını ve tümör süpressör özellik gösterdiğini bildirdikleri çalışmadır [189]. Bizim sonuçlarımıza göre KOAH grubunda 20 hastada (%66.7) yüksek ekspresyon gözlenir iken KOAH grubunda ise 10 hastada (%33.3) yüksek ekspresyon seviyeleri gözlemlenmiştir. KHDAK grubundaki hastalarımızın büyük çoğunluğunda düşük eksprese olması Zhang ve arkadaşlarının yaptıkları çalışma ile uyumlu gözükmektedir. Klinikopatolojik özellikler açısından yine diğer mikroRNA'lar gibi benzer korelasyon özellikleri sergilemiştir.

Çalıştığımız son miRNA olan miR-511'in akciğer kanseri, hepatoselüler kanser ve over kanseri gibi bir çok kanser türünde düşük eksprese olduğunu ve tümör süpressör etki yaptığı gösterilmiştir [190-191]. Bununla birlikte bazı araştırmacılar da HCV ilişkili diffüz büyük B hücreli lenfoma gibi kanser türlerinde onkomir olarak etki yaptığını ve yüksek eksprese olabildiğini göstermişlerdir [193-194]. Farklı kanser türlerinde iki yönlü hareket edebileceğine dair kanıtlar bulunmaktadır. Çalışmamızda KOAH grubunda hastaların sadece 4'ün de yüksek seviyede eksprese olur iken KHDAK grubundaki hastaların ise %90'ında yüksek eksprese olmuştur. Çalışmamız bu sebeple diğer akciğer kanseri çalışmalarından farklı olarak miR-511'in daha çok onkomir tarafında da yer alabileceğini göstermektedir (p=0.0001). Klinikopatolojik özellikler ve korelasyon analiz sonuçları ise diğer miRNA lar ile benzer sonuçlanmıştır.

6. SONUÇ

KHDAK tanısı alan hastalarımızda kemoterapi öncesi miRNA ekspresyon seviyelerini ölçtüğümüz ve KOAH tanısı olan kontrol grubu hastaları ile kıyaslama yaptığımız bu çalışmanın sonuçlarına göre:

- KOAH ve KHDAK grupları arasında ekspresyon seviyeleri açısından karşılaştırdığımızda analiz ettiğimiz 20 miRNA'dan 15 tanesinde istatistiksel anlamlı fark saptanmıştır. Bu miRNA'lar sırasıyla miR-let-7d (p=0.006), miR-26a (p=0.01), miR-33a (p=0.001), miR-let-7b(p=0.001), miR-199-5p(p=0.001), miR-328(p=0.038), miR-641(p=0.001), miR-935(p=0.032), miR-93(p=0.01), miR-338(p=0,001), miR-449b(p=0.001), miR-511(p=0.001), miR-636(p=0.001), miR-513b(p=0.03) ve miR-635(p=0.01)'dir. Bu miRNA'ların gelecekte yapılacak olan kapsamlı ve destekleyici çalışmalar ile KOAH ve KHDAK ayırımında potansiyel biyobelirteçler olarak kullanılabilirlerini düşünmekteyiz.

- KOAH tanılı hastalarımızın tümünde miR-636 seviyesi azalmış olarak tespit edildi. KHDAK grubunda ise 18 hastada artmış 12 hastada ise azalmış olarak tespit edildi. İki grup arasındaki bu fark istatistiksel olarak anlamlı ($p=0.001$) saptandı. KOAH hastalarının tümünde miR-636 ekspresyon seviyesinin azalmış olması gelecekte tanısal bir biyomarker olarak kullanılabilmesi açısından büyük potansiyel taşıdığını göstermektedir. Bu alanda daha fazla hasta sayısı içeren kapsamlı çalışmalara ihtiyaç bulunmaktadır.
- Aynı şekilde miR-449b KOAH hastalarının sadece bir tanesinde yüksek ekspresyon olur iken geri kalan tüm hastalarda düşük ekspresyon göstermiştir. Bu durum klinik olarak anlamlı saptanmıştır. KHDAK grubu ile kıyaslandığında ise fark istatistiksel olarak anlamlı ($p=0.001$) bulunmuştur. KOAH grubunda bir hasta dışında tüm hastalarda düşük ekspresyon saptanması miR-449'nin gelecekte bu konuyu destekleyici kapsamlı çalışmalar ile KOAH için tanısal biyomarker olarak kullanılabileceğini göstermektedir.
- KOAH grubundaki hastalarımızın klinikopatolojik özellikler ve miRNA ekspresyon seviyeleri açısından korelasyon analizi yaptığımızda hastaların sadece lökosit ve nötrofil değerleri ile miRNA ekspresyon seviyeleri arasında istatistiksel anlamlı ($p<0.05$) derecede farklılık olduğunu tespit ettik. Sigara içme durumu ve FEV-1 değerleri ile istatistiksel anlamlı ilişki bulunmadı.
- Aynı şekilde KHDAK grubundaki hastaların klinikopatolojik özellikleri ve miRNA ekspresyon seviyeleri arasında ilişkiyi incelediğimizde ise; sadece kan albümin düzeyleri ile ekspresyon seviyeleri arasında istatistiksel anlamlı ($p<0.05$) korelasyon olduğunu tespit ettik. Sigara içme durumu ve hastalık evresi ile ise istatistiksel anlamlı ilişki bulunmadı.

7.KAYNAKLAR

1. Parkin GM, Pisani P, Ferlay J. Global cancer statistics. *CA Cancer J Clin*1999; 49: 33-64.
2. Fong, C.J. Carlton J. Fong, Kathleen M. Murphy, John D. Westbrook, et al. Psychological interventions to facilitate employment outcomes for cancer survivors: A systematic review and meta-analysis. *Research on Social Work Practice*, 2018. **28**(1): p. 84-98.
3. Shenouda SK, Alahari SK. MicroRNA function in cancer: oncogene or a tumor suppressor? *Cancer Metastasis Rev.* 2009; 28:369–378.
4. Cimmino A, Calin GA, Fabbri M, et al. miR-15 and miR-16 induce apoptosis by targeting BCL2. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005;102:13944–13949.
5. Eis PS, Tam W, Sun L, Chadburn A, Li Z, Gomez MF, Lund E, Dahlberg JE. Accumulation of miR-155 and BIC RNA in human B cell lymphomas. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005;102:3627–3632.
6. Kluiver J, Poppema S, de Jong D, et al. BIC and miR-155 are highly expressed in Hodgkin, primary mediastinal and diffuse large B cell lymphomas. *J Pathol* 2005;207:243–249.
7. Gironella M, Seux M, Xie MJ, et al. Tumor protein 53-induced nuclear protein 1 expression is repressed by miR-155, and its restoration inhibits pancreatic tumor development. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 2007;104:16170–16175.

8. Lin PY, Yu SL, Yang PC. MicroRNA in lung cancer. *Brit J Cancer* 2010;103:1144-1148.
9. Iorio MV, Ferracin M, Liu CG, et al. MicroRNA gene expression deregulation in human breast cancer. *Cancer Res* 2005;65:7065–7070.
10. Ong J, Timens W, Rajendran V, Algra A, Spira A, Lenburg ME, Campbell JD, van den Berge M, Dirkje S. Identification of transforming growth factorbeta-regulated microRNAs and the microRNA targetomes in primary lung fibroblasts *PLoS One*. 2017 Sep 14;12(9):e0183815.
11. Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, Siegel RL, Torre LA, Jemal A Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA: a cancer journal for clinicians*, 2018. 68(6): p. 394-424.
12. Devesa SS, Bray F, Vizcaino AP, Parkin DM, International lung cancer trends by histologic type: male: female differences diminishing and adenocarcinoma rates rising. *International journal of cancer*, 2005. 117(2): p. 294-299.
13. Brambilla E, Travis WD. Lung cancer. In: *World Cancer Report*, Stewart BW, Wild CP (Eds), World Health Organization, Lyon 2014.
14. Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, 2015. *CA Cancer J Clin* 2015; 65:5.
15. Siegel R, Ma J, Zou Z, Jemal A. Cancer statistics, 2014. *CA Cancer J Clin* 2014; 64:9.
16. <http://www.kanser.gov.tr/index.php/daire-faaliyetleri/kanser-kayitciligi.html>.

17. <http://www.saglik.gov.tr/TR/belge/1-15486/dunya-veturkiyede-kanser.html>.
18. Peto, J., That the effects of smoking should be measured in pack-years: misconceptions 4. 2012, Nature Publishing Group.
19. Toh, C.-K. and W.-T. Lim, Lung cancer in never-smokers. *Journal of clinical pathology*, 2007. 60(4): 337-340.
20. Parkin DM, Bray F, Ferlay J, Pisani P. *Global cancer statistics, 2002*. *CA: a cancer journal for clinicians*, 2005. 55(2): 74-108.
21. Pesch B, Kendzia B, Gustavsson P, Jöckel KH, Johnen G, Pohlabein H, et al. Cigarette smoking and lung cancer—relative risk estimates for the major histological types from a pooled analysis of case–control studies. *International journal of cancer*, 2012. 131(5): p. 1210-1219.
22. Halilçolar H, Tatar D, Ertuğrul G ve ark. *Epidemiyoloji*. In: Akkoçlu A, Öztürk C; eds. *Akciğer kanseri multidisipliner yaklaşım*. *Toraks Kitapları*, Ankara: Bilimsel Tıp Yayınevi; 1999:17-22.
23. Hoffmann, D.H., Ilse, The changing cigarette, 1950-1995. *Journal of Toxicology and Environmental Health Part A*, 1997. 50(4): p. 307-364.
24. Wynder, E.L. and D. Hoffmann, Smoking and lung cancer: scientific challenges and opportunities. *Cancer Research*, 1994. 54(20): p. 5284-5294
25. Hecht, S.S., Tobacco smoke carcinogens and lung cancer. *JNCI: Journal of the National Cancer Institute*, 1999. 91(14): p. 1194-1210.
26. Akopyan, G. and B. Bonavida, Understanding tobacco smoke carcinogen NNK and lung tumorigenesis. *International journal of oncology*, 2006. 29(4): p. 745-752.

27. Smith LE, Denissenko MF, Bennett WP, Li H, Amin S, Tang M, et al. Targeting of lung cancer mutational hotspots by polycyclic aromatic hydrocarbons. *Journal of the National Cancer Institute*, 2000. **92**(10): p. 803811.
28. Mattson, M.E.E.S. Pollack, and J.W. Cullen, what are the odds that smoking will kill you? *American journal of public health*, 1987. **77**(4): p. 425-431.
29. Jemal A, Ward E, Hao Y, Thun M, et al. Trends in the leading causes of death in the United States, 1970-2002. *Jama*, 2005. **294**(10): p. 1255-1259.
30. Pisani, P., F. Bray, and D.M. Parkin, Estimates of the world-wide prevalence of cancer for 25 sites in the adult population. *International journal of cancer*, 2002. **97**(1): p. 7281.
31. Steenland K, Burnett C, Lalich N, Ward E, Hurrell J, et al. Dying for work: the magnitude of US mortality from selected causes of death associated with occupation. *American journal of industrial medicine*, 2003. **43**(5): p. 461-482.
32. Driscoll T, Nelson DI, Steenland K, Leigh J, Concha-Barrientos M, Fingerhut M, et al. The global burden of disease due to occupational carcinogens. *Am J Ind Med*. 2005 Dec;48(6):419-31.
33. Bulaşıcı olmayan hastalıklar-programlar ve kanser. T.C. Sağlık Bakanlığı, Türkiye Halk Sağlığı Kurumu, Kanser daire Başkanlığı. 2015-Ankara. <http://kanser.gov.tr/Dosya/Bilgi-Dokumanlari/raporlar/birim.pdf>.
34. Cruz, C.S.D., L.T. Tanoue, and R.A. Matthay, Lung cancer: epidemiology, etiology, and prevention. *Clinics in chest medicine*, 2011. **32**(4): p. 605-644.

35. Wu AH, Fontham ET, Reynolds P, Greenberg RS, Buffler P, Liff J, et al., Previous lung disease and risk of lung cancer among lifetime nonsmoking women in the United States. *American journal of epidemiology*, 1995. **141**(11): p. 1023-1032.
36. Anthonisen NR, Connett JE, Kiley JP, Altose MD, Bailey WC, Buist AS., et al. Effects of smoking intervention and the use of an inhaled anticholinergic bronchodilator on the rate of decline of FEV1: The Lung Health Study. *Jama*, 1994. **272**(19): p. 1497-1505.
37. Turner MC, Chen Y, Krewski D, Calle EE, Thun MJ., et al. Chronic obstructive pulmonary disease is associated with lung cancer mortality in a prospective study of never smokers. *American journal of respiratory and critical care medicine*, 2007. **176**(3): p. 285-290.
38. Loganathan RS, Stover DE, Shi W, Venkatraman E., et al. Prevalence of COPD in women compared to men around the time of diagnosis of primary lung cancer. *Chest*, 2006. **129**(5): p. 1305-1312.
39. Young RP, Hopkins RJ, Christmas T, Black PN, Metcalf P, Gamble GD, et al., COPD prevalence is increased in lung cancer, independent of age, sex and smoking history. *European Respiratory Journal*, 2009. **34**(2): p. 380-386.
40. Siemes C, Visser LE, Coebergh JW, Splinter TA, Wittteman JC, Uitterlinden AG, et al., C-reactive protein levels, variation in the C-reactive protein gene, and cancer risk: the Rotterdam Study. *Journal of clinical oncology*, 2006. **24**(33): p. 5216-5222.
41. Hubbard R, Venn A, Lewis S, Britton J. Lung cancer and cryptogenic fibrosing alveolitis: a populationbased cohort study. *American journal of respiratory and critical care medicine*, 2000. **161**(1): p. 5-8.

42. Le Jeune I, Gribbin J, West J, Smith C, Cullinan P, Hubbard R. The incidence of cancer in patients with idiopathic pulmonary fibrosis and sarcoidosis in the UK. *Respiratory medicine*, 2007. **101**(12): p. 2534-254.
43. Lynch TJ, Bell DW, Sordella R, Gurubhagavatula S, Okimoto RA, Brannigan BW, et al. Activating mutations in the epidermal growth factor receptor underlying responsiveness of non-small-cell lung cancer to gefitinib. *New England Journal of Medicine*, 2004. **350**(21): p. 2129-2139.
44. Rosell R, Carcereny E, Gervais R, Vergnenegre A, Massuti B, Felip E, et al. Erlotinib versus standard chemotherapy as first-line treatment for European patients with advanced EGFR mutation-positive non-small-cell lung cancer (EURTAC): a multicentre, open-label, randomised phase 3 trial. *The lancet oncology*, 2012. **13**(3): p. 239-246.
45. Paez JG, Jänne PA, Lee JC, Tracy S, Greulich H, Gabriel S, et al., EGFR mutations in lung cancer: correlation with clinical response to gefitinib therapy. *Science*, 2004. **304**(5676): p. 1497-1500.
46. Pao W, Miller VA, Politi KA, Riely GJ, Somwar R, Zakowski MF, et al. Acquired resistance of lung adenocarcinomas to gefitinib or erlotinib is associated with a second mutation in the EGFR kinase domain. *PLoS medicine*, 2005. **2**(3): p. e73.
47. James Chih-Hsin Yang, Dong-Wan Kim, David Planchard, Yuichiro Ohe, M.D., Suresh S. Ramalingam, et al. AZD9291 in EGFR inhibitor-resistant non-small-cell lung cancer. *New England Journal of Medicine*, 2015. **372**(18): p. 1689-1699, 77.

48. Pareek V, Welch M, Ravera E, Zampolin RL, Sequist LV, Halmos B, Marked differences in CNS activity among EGFR inhibitors: case report and mini review. *Journal of Thoracic Oncology*, 2016. **11**(11): p. e135-e139.
49. Helena A. Yu, Maria E, Arcila, Megan Harlan, Zsofia Stadler, Marc Ladanyi, Michael F. Berger, et al. Germline EGFR T790M mutation found in multiple members of a familial cohort. *Journal of Thoracic Oncology*, 2014. **9**(4): p. 554-558.
50. Takeuchi K, Soda M, Togashi Y, Suzuki R, Sakata S, Hatano S, et al. RET, ROS1 and ALK fusions in lung cancer. *Nature medicine*, 2012. **18**(3): p. 378-80.
51. Shaw AT, Kim DW, Nakagawa K, Seto T, Crinó L, Ahn MJ, et al. Crizotinib versus chemotherapy in advanced ALK-positive lung cancer. *New England Journal of Medicine*, 2013. **368**(25): p. 2385-2394.
52. Cutz JC, Craddock KJ, Torlakovic E, Brandao G, Carter RF, Bigras G, et al. Canadian anaplastic lymphoma kinase study: a model for multicenter standardization and optimization of ALK testing in lung cancer. *Journal of Thoracic Oncology*, 2014. **9**(9): p. 1255-1263.
53. Kwak EL, Bang YJ, Camidge DR, Shaw AT, Solomon B, Maki RG, et al. Anaplastic lymphoma kinase inhibition in non-small-cell lung cancer. *New England Journal of Medicine*, 2010. **363**(18): p. 1693-1703.
54. Jain, R.K. and H. Chen, Spotlight on brigatinib and its potential in the treatment of patients with metastatic ALK-positive non-small cell lung cancer who are resistant or intolerant to crizotinib. *Lung Cancer: Targets and Therapy*, 2017. **8**: p. 169.

55. Kwak EL, Bang YJ, Camidge DR, Shaw AT, Solomon B, Maki RG, Anaplastic lymphoma kinase inhibition in metastatic non-small cell lung cancer: clinical impact of alectinib. *OncoTargets and therapy*, 2017. **10**: p. 4535.
56. Bergethon K, Shaw AT, Ou SH, Katayama R, Lovly CM, McDonald NT, et al. ROS1 rearrangements define a unique molecular class of lung cancers. *Journal of clinical oncology*, 2012. **30**(8): p. 863.
57. Mehrad M, Roy S, Bittar HT, Dacic S. Next-Generation Sequencing Approach to Non-Small Cell Lung Carcinoma Yields More Actionable Alterations. *Archives of pathology & laboratory medicine*, 2017.
58. Sholl LM, Sun H, Butaney M, Zhang C, Lee C, Jänne PA, et al. ROS1 immunohistochemistry for detection of ROS1-rearranged lung adenocarcinomas. *The American journal of surgical pathology*, 2013. **37**(9).
59. Warth A, Muley T, Dienemann H, Goeppert B, Stenzinger A, Schnabel PA, et al. ROS1 expression and translocations in nonsmall cell lung cancer: clinicopathological analysis of 1478 cases. *Histopathology*, 2014. **65**(2): p. 187-194.
60. Mazières J, Zalcman G, Crinò L, Biondani P, Barlesi F, Filleron T et al. Crizotinib therapy for advanced lung adenocarcinoma and a ROS1 rearrangement: results from the EUROS1 cohort. *Journal of clinical oncology*, 2015. **33**(9): p. 992-999.
61. Ahn Song, Tae Min Kim, Dong-Wan Kim, Seong Hyun Kim, Bhumsuk Keam, Se-Hoon Lee, et al. Molecular changes associated with acquired resistance to crizotinib in ROS1-rearranged non-small cell lung cancer. *Clinical Cancer Research*, 2015. **21**(10): p. 2379-2387.

62. Alexander Drilon, Romel Somwar, Jacob P. Wagner Nadeem. A. Vellore Christopher A. EideMatthew. S. Zabriskie,et al. novel crizotinib-resistant solvent-front mutation responsive to cabozantinib therapy in a patient with ROS1-rearranged lung cancer. *Clinical Cancer Research*, 2016. **22**(10): p. 2351-2358.
63. Wang R, Hu H, Pan Y, Li Y, Ye T, Li C, et al. RET fusions define a unique molecular and clinicopathologic subtype of non–small-cell lung cancer. *Journal of Clinical Oncology*, 2012. **30**(35): p. 4352-4359.
64. Oliver Gautschi, Julie Milia, Thomas Filleron, Juergen Wolf, David P. Carbone, Dwight Owen, Targeting RET in patients with RET-rearranged lung cancers: results from the global, multicenter RET registry. *Journal of Clinical Oncology*, 2017. **35**(13): p. 1403-1410.
65. Kohno T, Ichikawa H, Totoki Y, Yasuda K, Hiramoto M, Nammo T, et al. KIF5B-RET fusions in lung adenocarcinoma. *Nature medicine*, 2012. **18**(3): p. 375.
66. Paik PK, Drilon A, Fan PD, Yu H, Rekhtman N, Ginsberg MS,et al. Response to MET inhibitors in patients with stage IV lung adenocarcinomas harboring MET mutations causing exon 14 skipping. *Cancer discovery*, 2015. **5**(8): p. 842-849.
67. Frampton GM, Ali SM, Rosenzweig M, Chmielecki J, Lu X, Bauer TM, et al. Activation of MET via diverse exon 14 splicing alterations occurs in multiple tumor types and confers clinical sensitivity to MET inhibitors. *Cancer discovery*, 2015. **5**(8): p. 850-859.
68. Engelman JA, Zejnullahu K, Mitsudomi T, Song Y, Hyland C, Park JO, et al. MET amplification leads to gefitinib resistance in lung cancer by activating ERBB3 signaling. *science*, 2007. **316**(5827): p. 1039-1043.

69. Rabeau A, Rouquette I, Vantelon JM, Taranchon-Clermont E, Mazières J. Interest of crizotinib in a lung cancer patient with de novo amplification of MET. *Revue des maladies respiratoires*, 2017. **34**(1): p. 57-60.
70. Aberle DR, Gamsu G, Henschke CI, Naidich DP, Swensen SJ. A consensus statement of the society of thoracic radiology. Screening for lung cancer with helical computed tomography. *J Thorac Imaging* 2001; 16: 65-8
71. Society, A.T., Pretreatment evaluation of non-small-cell lung cancer. *Am J Respir Crit Care Med*, 1997. **156**: p. 320-332.
72. Nicholson AG, Chansky K, Crowley J, Beyruti R, Kubota K, Turrisi A, et al. The International Association for the Study of Lung Cancer Lung Cancer Staging Project: proposals for the revision of the clinical and pathologic staging of small cell lung cancer in the forthcoming eighth edition of the TNM classification for lung cancer. *Journal of Thoracic Oncology*, 2016. **11**(3): p. 300-311.
73. Zelen, M. Keynote address on biostatistics and data retrieval. *Cancer chemotherapy reports*. Part 3, 1973. **4**(2): p. 31.
74. Global Strategy for the Diagnosis, Management and Prevention of COPD, Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease (GOLD) 2017. Available from: <http://goldcopd.org>.
75. Lim SS, Vos T, Flaxman AD, Danaei G, Shibuya K, Adair-Rohani H, Amann M, et al. A comparative risk assessment of burden of disease and injury attributable to 67 risk factors and risk factor clusters in 21 regions, 1990–2010: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2010. *The Lancet*. 2013;380(9859):2224-60.

76. Paczek L, Nowak M. The paradox of the 21st century—is there really an epidemic of most common killers? *International journal of general medicine*. 2011; 4:799.
77. Lozano R, Naghavi M, Foreman K, Lim S, Shibuya K, Aboyans V, et al. Global and regional mortality from 235 causes of death for 20 age groups in 1990 and 2010: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2010. *The Lancet*. 2013;380(9859):2095-128.
78. Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease (GOLD). Global strategy for the diagnosis, management, and prevention of chronic obstructive pulmonary disease: updated 2014. [http:// www.goldcopd.org/uploads/users/files/ GOLD_Report2014_Feb07.pdf](http://www.goldcopd.org/uploads/users/files/GOLD_Report2014_Feb07.pdf).
79. Barnes PJ. Cellular and molecular mechanisms of chronic obstructive pulmonary disease. *Clin Chest Med* 2014; 35: 71-86.
80. Brashier BB, Kodgule R. Risk factors and pathophysiology of chronic obstructive pulmonary disease (COPD). *J Assoc Physicians India* 2012; 60:17-21.
81. O'Donnell DE, Laveneziana P, Webb K, Neder JA. Chronic obstructive pulmonary disease: Clinical integrative physiology. *Clin Chest Med* 2014; 35: 51-70.
82. Shenouda SK, Alahari SK. MicroRNA function in cancer: oncogene or a tumor suppressor? *Cancer Metastasis Rev*. 2009; 28:369–378.
83. Lee RC, Feinbaum RL, Ambros V. The *C. elegans* heterochronic gene *lin-4* encodes small RNAs with antisense complementarity to *lin-14*. *Cell* 1993; 75: 843–854.

84. Narry KV. Small RNAs: Classification, Biogenesis, and Function. *Mol Cells* 2005; 19(1):1-15.
85. Saydam F, Değirmenci İ, Güneş HV. Mikro RNA'lar vekanser. *Dicle Medical Journal* 2011; 38(1):113-20.
86. Ruvkun G. Molecular biology. Glimpses of a tiny RNA world. *Science* 2001; 294(5543): 797-9.
87. Berezikov E, Guryev V, van de Belt J, Wienholds E, Plasterk RH, Cuppen E (2005). Phylogenetic shadowing and computational identification of human microRNA genes. *Cell* .120: 21-24.
88. Griffiths-Jones S, Grocock RJ, van Dongen S, Bateman A, Enright AJ (2006). miRBase: microRNA sequences, targets and gene nomenclature. *Nucleic Acids Res* 34: D140-144.
89. http://www.mirbase.org/cgi-bin/mirna_summary.pl?org=hsa.
90. Kwak PB, Iwasaki S, Tomari Y. The microRNA pathway and cancer. *Cancer Sci* 2010; 101(11):2309-15.
91. Lee Y, Ahn C, Han J, Choi H, Kim J, Yim J, et al. The nuclear RNase III Drosha initiates microRNA processing. *Nature* 2003; 425 (6956):415-9.
92. Esquela-Kerscher A, Slack FJ. Oncomirs - microRNAs with a role in cancer. *Nat Rev Cancer* 2006; 6(4):259-69.
93. Lund E, Guttinger S, Calado A, Dahlberg JE, Kutay U. Nuclear export of microRNA precursors. *Science* 2004; 303(5654): 95-8.

94. Zhang H, Kolb FA, Brondani V, Billy E, Filipowicz W. Human Dicer preferentially cleaves dsRNAs at their termini without a requirement for ATP. *Embo J.*2002(21); 21: 5875-85.
95. Gregory RI, Chendrimada TP, Cooch N, Shiekhattar R. Human RISC couple's microRNA biogenesis and posttranscriptional gene silencing. *Cell* 2005; 123(4):631-40.
96. Sun W, Li YSJ, Huang HD, Shyy JYJ, Chien S. MicroRNA: A Master Regulator of Cellular Processes for Bioengineering Systems. *Annu Rev Biomed Eng* 2010; 12: 1-27.
97. Pillai RS. MicroRNA function: multiple mechanisms for a tiny RNA. *RNA* 2005;11(12):1753-61.
98. Calin GA, Dumitru CD, Shimizu M, Bichi R, Zupo S, Noch E, et al. Frequent deletions and downregulation of micro-RNA genes miR15 and miR16 at 13q14 in chronic lymphocytic leukemia. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002; 99(24):15524-29.
99. Cowland JB, Hother C, Gronbaek K. MicroRNAs and cancer. *APMIS* 2007; 115(10):1090 -106.
100. Cimmino A, Calin GA, Fabbri M, Iorio MV, Ferracin M, Shimizu M, et al. miR-15 and miR-16 induce apoptosis by targeting BCL2. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005;102(39):13944-9.
101. Sevli S, Uzumcu A, Solak M, Ittmann M, Ozen M. The function microRNAs, small potent molecules in human prostate cancer. *Prostate Cancer Prostatic Dis* 2010; 13(3): 208-17.

102. Johnson SM, Grosshans H, Shingara J, Byrom M, Jarvis R, Cheng A, et al. RAS is regulated by the let-7 microRNA family. *Cell* 2005;120(5): 635-47.
103. Mott JL, Kobayashi S, Bronk SF, Gores GJ. Mir-29 regulates Mcl-1 protein expression and apoptosis. *Oncogene* 2007; 26(42):6133-140.).
104. Amaral FC, Torres N, Saggiaro F, Neder L, Machado HR, Silva WA Jr, et al. MicroRNAs differentially expressed in ACTH-secreting pituitary tumors. *J Clin Endocrinol Metab* 2009;94(1):320-3.
105. Eis PS, Tam W, Sun L, Chadburn A, Li Z, Gomez MF, et al. Accumulation of miR-155 and BIC RNA in human B cell lymphomas. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005; 102:3627–3632.
106. Kluiver J, Poppema S, de Jong D, Blokzijl T, Harms G, Jacobs S, et al. BIC and miR-155 are highly expressed in Hodgkin, primary mediastinal and diffuse large B cell lymphomas. *J Pathol* 2005; 207:243–249.45.
107. Gironella M, Seux M, Xie MJ, Cano C, Tomasini R, Gommeaux J, et al. Tumor protein 53-induced nuclear protein 1 expression is repressed by miR-155, and its restoration inhibits pancreatic tumor development. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 2007; 104:16170–16175. 33.
108. Lin PY, Yu SL, Yang PC. MicroRNA in lung cancer. *Brit J Cancer* 2010; 103:1144-1148.34.
109. Lorio MV, Ferracin M, Liu CG, Veronese A, Spizzo R, Sabbioni S, et al. MicroRNA gene expression deregulation in human breast cancer. *Cancer Res* 2005; 65:7065–7070.

110. Garzon R, Volinia S, Liu CG, Fernandez-Cymering C, Palumbo T, Pichiorri F, et al. MicroRNA signatures associated with cytogenetics and prognosis in acute myeloid leukemia. *Blood* 2008; 111:3183–3189.
111. Calin GA, Ferracin M, Cimmino A, Di Leva G, Shimizu M, Wojcik SE, et al. A microRNA signature associated with prognosis and progression in chronic lymphocytic leukemia. *N Engl J Med* 2005; 353:1793–80146.
112. Ciafrè SA, Galardi S, Mangiola A, Ferracin M, Liu CG, Sabatino G, et al., Extensive modulation of a set of microRNAs in primary glioblastoma. *Biochem Biophys Res Commun* 2005; 334:1351–1358.
113. Meng F, Henson R, Wehbe-Janek H, Ghoshal K, Jacob ST, Patel T, et al., MicroRNA-21 regulates expression of the PTEN tumor suppressor gene in human hepatocellular cancer. *Gastroenterology* 2007; 133:647–658.
114. Löffler D, Brocke-Heidrich K, Pfeifer G, Stocsits C, Hackermüller J, Kretzschmar AK, et al., Interleukin-6 dependent survival of multiple myeloma cells involves the Stat3-mediated induction of microRNA-21 through a highly conserved enhancer. *Blood* 2007; 110:1330–1333.
115. Frankel LB, Christoffersen NR, Jacobsen A, Lindow M, Krogh A, Lund AH. Programmed cell death 4 (PDCD4) is an important functional target of the microRNA miR-21 in breast cancer cells. *J Biol Chem* 2008; 283:1026–1033.
116. Xie Y, Todd NW, Liu Z, Zhan M, Fang H, Peng H, et al. Altered miRNA expression in sputum for diagnosis of non-small cell lung cancer. *LungCancer* 2010; 67: 170-6.
117. Wang Q, Wang S, Wang H, Li P, Ma Z. MicroRNAs: novel biomarkers for lung cancer diagnosis, prediction and treatment. *Exp Biol Med (Maywood)* 2012; 237: 227-35.

118. Shen J, Todd NW, Zhang H, Yu L, Lingxiao X, Mei Y, et al. PlasmamicroRNAs as potential biomarkers for non-small-cell lung cancer. *LabInvest* 2011; 91: 579-87.
119. Foss KM, Sima C, Ugolini D, Neri M, Allen KE, Weiss GJ. miR- 1254 and miR-574-5p: serum-based microRNA biomarkers for early-stage non-smallcell lung cancer. *J Thorac Oncol* 2011; 6: 482-8.
120. Yu L, Todd NW, Xing L, Xie Y, Zhang H, Liu Z, et al. Early detection of lung adenocarcinoma in sputum by a panel of microRNA markers. *Int J Cancer* 2010; 127: 2870-8.
121. Xing L, Todd NW, Yu L, Fang H, Jiang F. Early detection of squamous cell lung cancer in sputum by a panel of microRNA markers. *Mod Pathol* 2010; 23: 1157-64.
122. Decramer M, Janssens W, Miravittles M. Chronic obstructive pulmonary disease. *Lancet*. 2012; 379:1341–51.
123. Ezzie ME, Crawford M, Cho JH, Orellana R, Zhang S, Gelinas R, et al. Gene expression networks in COPD: MicroRNA and mRNA regulation. *Thorax*. 2012; 67:122–31.
124. Mirzaei H, Masoudifar A, Sahebkar A, Zare N, Sadri Nahand J, Rashidi B, et al. MicroRNA: A novel target of curcumin in cancer therapy. *J Cell Physiol*. 2018; 233:3004–15.
125. Mirzaei H. Stroke in women: Risk factors and clinical biomarkers. *J Cell Biochem*. 2017; 118:4191–202.

126. Rabieian R, Boshtam M, Zareei M, Kouhpayeh S, Masoudifar A, Mirzaei H, et al. Plasminogen activator inhibitor type-1 as a regulator of fibrosis. *J Cell Biochem.* 2018; 119:17–27.
127. Keshavarzi M, Darijani M, Momeni F, Moradi P, Ebrahimnejad H, Masoudifar A, et al. Molecular imaging and oral cancer diagnosis and therapy. *J Cell Biochem.* 2017; 118:3055–60.
128. Mirzaei H, Momeni F, Saadatpour L, Sahebkar A, Goodarzi M, Masoudifar A, et al. MicroRNA: Relevance to stroke diagnosis, prognosis, and therapy. *J Cell Physiol.* 2018; 233:856–65.
129. Rashidi B, Hoseini Z, Sahebkar A, Mirzaei H. Anti-atherosclerotic effects of Vitamins D and E in suppression of atherogenesis. *J Cell Physiol.* 2017; 232:2968-76.
130. Xu J, Kochanek KD, Murphy SL, Tejada-Vera B. Deaths: Final data for 2007. *Natl Vital Stat. Rep.* 58, 1–135 (2010).
131. Murray CJL. *The Global Burden of Disease.* World Health Organization, Geneva, Switzerland; Harvard School of Public Health, Boston, MA; World Bank (1996).
132. Young RP, Hopkins RJ, Christmas T, Black PN, Metcalf P, Gamble GD. COPD prevalence is increased in lung cancer, independent of age, sex and smoking history. *Eur Respir J* 2009; 34: 380–386.
133. Torres JP, Marín JM, Casanova C, Cote C, Carrizo S, Cordoba-Lanus E, et al. Lung cancer in patients with chronic obstructive pulmonary disease – incidence and predicting factors. *Am J Respir Crit Care Med* 2011; 184: 913–919.

134. Purdue MP, Gold L, Järnholm B, Alavanja MC, Ward MH, Vermeulen R. Impaired lung function and lung cancer incidence in a cohort of Swedish construction workers. *Thorax* 2007; 62: 51–56.
135. Young RP, Hopkins RJ. COPD and lung cancer linked at a molecular genetic level. *Chest* 2011; 140: 266–267.
136. Landi MT, Zhao Y, Rotunno M, Koshiol J, Liu H, Bergen AW, et al. MicroRNA expression differentiates histology and predicts survival of lung cancer. *Clin Cancer Res* 2010; 16: 430–441.
137. Sato T¹, Liu X, Nelson A, Nakanishi M, Kanaji N, Wang X, et al. Reduced miR-146a increases prostaglandin in chronic obstructive pulmonary disease fibroblasts. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 182(8), 1020–1029 (2010).
138. Van Pottelberge GR, Mestdagh P, Bracke KR, Thas O, van Durme YM, Joos GF, et al. MicroRNA expression in induced sputum of smokers and patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 183(7), 898–906 (2011).
139. Lewis A, Riddoch-Contreras J, Natanek SA, Donaldson A, Man WD, Moxham J, et al. Downregulation of the serum response factor/miR-1 axis in the quadriceps of patients with COPD. *Thorax* 2012; 67: 26–34.
140. Molina-Pinelo S, Pastor DM, Suarez R, Romero RB, De la Pen M G, Salinas A, et al. MicroRNA clusters: dysregulation in lung adenocarcinoma and COPD *Eur Respir J* 2014; 43: 1740–1749.
141. Halvorsen A R, Bjaanæs M, LeBlanc M, Holm M A, Bolstad N, Rubio L, et al. A unique set of 6 circulating microRNAs for early detection of non-small cell lung cancer, *Oncotarget.* 2016 Jun 14; 7(24): 37250–37259.

142. Li JY, Zhang Y, Zhang WH, Jia S, Kang Y, Zhu XY. Differential distribution of miR-20a and miR-20b may underly metastatic heterogeneity of breast cancers. *Asian Pac J Cancer Prev.* 2012;13: 1901–1906.
143. Sun Y, Wu J, Wu SH, Thakur A, Bollig A, Huang Y, et al. Expression profile of microRNAs in c-Myc induced mouse mammary tumors. *Breast Cancer Res Treat* 2009;118: 185–196. 10.1007/s10549-008-0171-6.
144. Ahmad A, Ginnebaugh KR, Sethi S, Chen W, Ali R, Mittal S, Sarkar FH. Oncotarget. MiR-20b is up-regulated in brain metastases from primary breast cancers 2015 May 20; 6(14):12188-95.
145. Xue TM, Tao LD, Zhang M, Xu GC, Zhang J, Zhang PJ. *Onco Targets Ther.* miR-20b overexpression is predictive of poor prognosis in gastric cancer. 2015; 8(8):1871-6.
146. Peng L, Li S, Li Y, Wan M, Fang X, et al. Regulation of BTG3 by microRNA-20b-5p in non-small cell lung cancer *Oncology Letters* 18: 137-144, 2019.
147. Zhang Y, Sun Z, Zhang Y, Fu T, Cun Liu, Liu Y, Lin Y, The microRNA-635 suppresses tumorigenesis in non-small cell lung cancer, Author links open over lay panel. 2016 Dec;84:1274-1281.
148. Huo F, Liu Y, Huangfu G, Zheng Y, Liu L, Cao W, et al. MicroRNA-383 suppress cell proliferation and invasion by targeting GPC5 in human non-small cell lung cancer Up-regulation of miR-383-5p suppresses proliferation and enhances chemosensitivity in ovarian cancer cells by targeting TRIM27 Author links open overlay panel Jing Jiang Chuanmei Xie Yujuan Liu QiShi Yan Chen. *Biomedicine & Pharmacotherapy* 109 (2019) 595-601.

149. Zhao S, Gao X, Zang S, Li Y, Feng X, and Yuan X MicroRNA-383-5p acts as a prognostic marker and inhibitor of cell proliferation in lung adenocarcinoma by cancerous inhibitor of protein phosphatase 2A *Oncol Lett.* 2017 Sep; 14(3): 3573–3579.
150. Leidinger P, Keller A, Borries A, Huwer H, Rohling M, Huebers J, et al. Specific peripheral miRNA profiles for distinguishing lung cancer from COPD. *Lung Cancer.* 2011 Oct;74(1):41-7. doi: 10.1016/j.lungcan.2011.02.003. Epub 2011 Mar 8.
151. Zhang M, Zhou S, Zhang L, Zhang J, Cai H, Zhu J, Huang C, et al. miR-518b is down-regulated and involved in cell proliferation and invasion by targeting Rap1b in esophageal squamous cell carcinoma. *FEBS Lett.* 2012 Sep 21;586(19):3508-21. doi: 10.1016/j.febslet.2012.08.007. Epub 2012 Aug 14.
152. Xu X, Zhang F, Chen X, Ying Q, Yuan X MicroRNA-518b functions as a tumor suppressor in glioblastoma by targeting PDGFRB *Mol Med Rep.* 2017 Oct; 16(4): 5326–5332. Published online 2017 Aug 21. doi: 10.3892/mmr.2017.7298.
153. Boyerinas B, Park SM, Hau A, Murmann AE, Peter ME: The role of let-7 in cell differentiation and cancer. *Endocr Relat Cancer.* 2010, 17: F19-F36. 10.1677/ERC-09-0184.
154. Zhao B, Han H, Chen J, Zhang Z, Li S, Fang F, Zheng Q, Ma Y, Zhang J, Wu N, Yang Y. MicroRNA let-7c inhibits migration and invasion of human non-small cell lung cancer by targeting ITGB3 and MAP4K3. *Cancer Lett* 2014; 342: 43-51.
155. Lee DH, Amanat S, Goff C, Weiss LM, Said JW, Doan NB, Sato-Otsubo A, Ogawa S, Forscher C, Koeffler HP. Overexpression of miR-26a-2 in human

liposarcoma is correlated with poor patient survival. *Oncogenesis*. 2013;2: e47. doi: 10.1038/oncsis.2013.10.

156. Lv M, Zhang X, Li M, Chen Q, Ye M, Liang W, et al. miR-26a and its target CKS2 modulate cell growth and tumorigenesis of papillary thyroid carcinoma. *PLoS One*. 2013;8: e67591. doi: 10.1371/journal.pone.0067591. 23.

157 Gao J, Li L, Wu M, Liu M, Xie X, Guo J, Tang H, Xie X. miR-26a inhibits proliferation and migration of breast cancer through repression of MCL-1. *PLoS One*. 2013;8: e65138. doi: 10.1371/annotation/4c8d2e73-67b1-473d-ae8e-4f847a5f7ef8.

158. Qian X, Zhao P, Li W, Shi ZM, Wang L, Xu Q, Wang M, Liu N, Liu LZ, Jiang BH. MicroRNA-26a promotes tumor growth and angiogenesis in glioma by directly targeting prohibitin. *CNS Neurosci Ther*. 2013; 19:804–812.

159. M. Kang Y, Li Y, Zhao S, He J, Shi Du M, Zhang Y, et al. miR-33a inhibits cell proliferation and invasion by targeting CAND1 in lung cancer. MiR-33a suppresses proliferation of NSCLC cells via targeting METTL3 mRNA. *Biochem Biophys Res Commun*. 2017; 482:582–9.

160. Du M, Zhang Y, Mao Y, Mou J, Zhao J, Xue Q, Wang D, Huang J, Gao S, Gao Y. MiR-33a suppresses proliferation of NSCLC cells via targeting METTL3 mRNA. *Biochem Biophys Res Commun*. 2017; 482:582–9.

161. Hou LK, Ma YS, Han Y, Lu GX, Luo P, Chang ZY, Xie RT, Yang HQ, Chai L, Cai MX, Wu TM, Yu F, Qin SS, et al. Association of microRNA-33a Molecular Signature with Non-Small Cell Lung Cancer Diagnosis and Prognosis after Chemotherapy. *PLoS One*. 2017;12: e0170431.

162. Takamizawa J, Konishi H, Yanagisawa K, Tomida S, Osada H, Endoh H ,et al. (2004) Reduced expression of the let-7 microRNAs in human lung cancers in association with shortened postoperative survival. *Cancer Res*64: 3753–3756.
163. Ahmadi A, Khansarinejad B, Hosseinkhani S, Ghanei M, Mowla SJ. Xiaomei Yuan miR-199a-5p and miR-495 target GRP78 within UPR pathway of lung cancer. *Gene*. 2017 Jul 15;620:15-22. doi: 10.1016/j.gene.2017.03.032. Epub 2017 Mar 28.
164. Gallach S, Lewintre E J, Fariñas S C, Montaner D , Alonso S, Sirera R, at al. MicroRNA profiling associated with non-small cell lung cancer: next generation sequencing detection, experimental validation, and prognostic value *Oncotarget*. 2017 Jun 22;8(34):56143-56157. doi: 10.18632/oncotarget.18603. eCollection 2017 Aug 22.
165. Mizuno S, Bogaard HJ, Gomez-Arroyo J, Alhussaini A, Kraskauskas D, Cool CD, et al. “MicroRNA-199a-5p is associated with hypoxia-inducible factor-1 α expression in lungs from patients with COPD,” *Chest*, vol. 142, no. 3, pp. 663–672, 2012.
166. Leidinger P., Keller A., Borries A., Huwer H., Rohling M., Huebers J., Lenhof H. P., Meese E. (2011). Specific peripheral miRNA profiles for distinguishing lung cancer from COPD. *Lung Cancer* 74, 41–47. doi:10.1016/j.lungcan.2011.02.003.
167. Shen M, Cai L, Jiang K, Xu W, Chen Y, Xu Z The therapeutic role of inhibition of miR-328 on pulmonary carcinoma induced by chlamydia pneumoniae through targeting histone H2AX. *Cancer Biomark*. 2018 Dec 27. doi: 10.3233/CBM-181999.

168. Wei Ma, Chao-nan Ma, Nan-nan Zhou, Xian-dong Li & Yi-jie Zhang Up-regulation of miR-328-3p sensitizes non-small cell lung cancer to radiotherapy *Scientific Reports* volume6, Article number: 31651 (2016) .
169. Pinkerton M, Chinchilli V, Banta E, Craig T, August A, Bascom R, et al., Differential expression of microRNAs in exhaled breath condensates of patients with asthma, patients with chronic obstructive pulmonary disease, and healthy adults. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2013; 132:217–219. doi: 10.1016/j.jaci.2013.03.006.
170. Yao T, Rao Q, Liu L, Zheng C, Xie Q, Liang J, Lin Z. Exploration of tumor-suppressive microRNAs silenced by DNA hypermethylation in cervical cancer. *Virology* 2013; 10:175.
171. Richards EJ, Coppola M, Guo J, Kong W, Cheng JQ. Abstract B28: MicroRNA-641 activates MAPK by targeting NF1 and cooperates with its host gene AKT2 in human cancer. *Cancer Res.* 2012;72(2 Suppl): B28.
172. Nan Shu, Jun Li, and Ning Xu. miR-641 Functions as a Tumor Suppressor by Targeting MDM2 in Human Lung Cancer Qinglong Kong, *Oncology Research Featuring Preclinical and Clinical Cancer Therapeutics*, Volume 26, Number 5, 2018, pp. 735-741(7).
173. Wang C, Li S, Xu J, Niu W, Li S. microRNA-935 is reduced in non-small cell lung cancer tissue, is linked to poor outcome, and acts on signal transduction mediator E2F7 and the AKT pathway. *Br J Biomed Sci.* 2019 Jan;76(1):17-23. doi: 10.1080/09674845.2018.1520066. Epub 2018 Oct 30.
174. Wang T, Chen Y, Nie H, Huang Y, Zhao Y, and Yang J IL-27 inhibits non-small-cell lung cancer cell metastasis by miR-935 in vitro *Onco Targets Ther.* 2019; 12: 1447–1454. Published online 2019 Feb 21. doi: 10.2147/OTT.S173207.

175. S. Rajendiran, A. V. Parwani, R. J. Hare, S. Dasgupta, R. K. Roby, and J. K. Vishwanatha, MicroRNA-940 suppresses prostate cancer migration and invasion by regulating MIEN1. *Molecular Cancer*, vol. 13, no. 1, article 250, 2014.
176. J Ma, F Sun, C Li, Y Zhang, W Xiao, Z Li, et al. Depletion of intermediate filament protein Nestin, a target of microRNA-940, suppresses tumorigenesis by inducing spontaneous DNA damage accumulation in human nasopharyngeal carcinoma. *Cell Death & Disease*, vol. 5, no. 8, Article ID e1377, 2014.
177. Liu X, Ge X, Zhang Z, Zhang X, Chang J, Wu Z, et al. MicroRNA-940 promotes tumor cell invasion and metastasis by downregulating ZNF24 in gastric cancer. *Oncotarget*, vol. 6, no. 28, pp. 25418–25428, 2015
178. Wang Q, Shi S, He W, Padilla MT, Zhang L, Wang X, Zhang B, Lin Y: Retaining MKP1 expression and attenuating JNK-mediated apoptosis by RIP1 for cisplatin resistance through miR-940 inhibition. *Oncotarget* 2014; 5:1304-1314.
179. Yang W, Bai J, Liu D, Wang S, Zhao N, Haiyan Zhang R. MiR-93-5p up-regulation is involved in non-small cell lung cancer cells proliferation and migration and poor prognosis Author links open overlay panel *Gene*. 2018 Mar 20;647:13-20. doi: 10.1016/j.gene.2018.01.024. Epub 2018 Jan 5.
180. Li C, Lyu J, Meng QH. MiR-93 Promotes Tumorigenesis and Metastasis of Non-Small Cell Lung Cancer Cells by Activating the PI3K/Akt Pathway via Inhibition of LKB1/PTEN/CDKN1A *J Cancer*. 2017; 8(5): 870–879. Published online 2017 Mar 7. doi: 10.7150/jca.17958.

181. Leidinger P, Keller A, Borries A, Huwer H, Rohling M, Huebers J, et al. Specific peripheral miRNA profiles for distinguishing lung cancer from COPD. *Lung Cancer* 2011.
182. Skrzypski M, Czapiewski P, Goryca K, Jassem E, Wyrwicz L, Pawłowski R, et al. Prognostic value of microRNA expression in operable non-small cell lung cancer patients. *Br J Cancer*. 2014;110(4):991–1000.
183. Sanfiorenzo C, Ilie MI, Belaid A, Barlési F, Mouroux J, Marquette CH, et al. Two panels of plasma microRNAs as non-invasive biomarkers for prediction of recurrence in resectable NSCLC. *PLoS One*. 2013;8(1): e54596.
184. Yang X, Feng M, Jiang X, Wu Z, Li Z, Aau M, et al. (2009) miR-449a and miR-449b are direct transcriptional targets of E2F1 and negatively regulate pRb-E2F1 activity through a feedback loop by targeting CDK6 and CDC25A. *Genes Dev* 23: 2388–2393.
185. Bou Kheir T, Futoma-Kazmierczak E, Jacobsen A, Krogh A, Bardram L, Hother C, et al. (2011) miR-449 inhibits cell proliferation and is down-regulated in gastric cancer. *Mol Cancer* 10: 29.
186. Jeon HS, Lee SY, Lee EJ, Yun SC, Cha EJ, Choi E, et al. (2012) Combining microRNA-449a/b with a HDAC inhibitor has a synergistic effect on growth arrest in lung cancer. *Lung Cancer* 76: 171–176.
187. Luo W, Huang B, Li Z, Li H, Sun L, Zhang Q, Qiu X, Wang E MicroRNA-449a Is Downregulated in Non-Small Cell Lung Cancer and Inhibits Migration and Invasion by Targeting c-Met Published: May 29, 2013 <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0064759>.

188. Wang J, Sheng Z, Cai Y. Effects of microRNA-513b on cell proliferation, apoptosis, invasion, and migration by targeting HMGB3 through regulation of mTOR signaling pathway in non-small-cell lung cancer. *J Cell Physiol.* 2019 Jul;234(7):10934-10941.

189 Zhang Y, Sun Z, Zhang Y, Fu T, Liu C, Liu Y, Lin Y The microRNA-635 suppresses tumorigenesis in non-small cell lung cancer. *Biomed Pharmacother.* 2016 Dec;84:1274-1281. doi: 10.1016/j.biopha.2016.10.040. Epub 2016 Oct 28.

190 Zhang J, Chong CC, Chen GG, Lai PB. A seven-microRNA expression signature predicts survival in hepatocellular carcinoma. *PLoS One.* 2015;10(6):e0128628. doi: 10.1371/journal.pone.0128628.

191. Kim TH, Kim YK, Kwon Y, Heo JH, Kang H, Kim G, et al. Deregulation of miR-519a, 153, and 485-5p and its clinicopathological relevance in ovarian epithelial tumours. *Histopathology.* 2010;57(5):734–43. doi: 10.1111/j.1365-2559.2010.03686. x.

192. Zhang C, Chi YL, Wang PY, Wang YQ, Zhang YX, Deng J, et al. miR-511 and miR-1297 inhibit human lung adenocarcinoma cell proliferation by targeting oncogene TRIB2. *PLoS One.* 2012;7(10): e46090. doi: 10.1371/journal.pone.0046090.

193. Augello C, Gianelli U, Savi F, Moro A, Bonoldi E, Gambacorta M, et al. MicroRNA as potential biomarker in HCV-associated diffuse large B-cell lymphoma. *J Clin Pathol.* 2014;67(8):697–701. doi: 10.1136/jclinpath-2014-202352.

194. Tserel L, Runnel T, Kisand K, Pihlap M, Bakhoff L, Kolde R, et al. MicroRNA expression profiles of human blood monocyte-derived dendritic cells and macrophages reveal miR-511 as putative positive regulator of Toll-like receptor 4. *J Biol Chem.* 2011;286(30):26487–95. doi: 10.1074/jbc.M110.213561.