



**T.C.  
PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ  
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI**

**LOKAL İLERİ VE METASTATİK KÜÇÜK HÜCRELİ DIŞI AKCİĞER  
KARSİNOMLU HASTALARDA TEDAVİ ÖNCESİ VE SONRASI SERUM  
MİRNA EKSPRESYON DÜZEYLERİNİN TEDAVİ YANITI VE SAĞKALIM  
ÜZERİNE OLAN ETKİSİNİN ARAŞIRILMASI**

**(UZMANLIK TEZİ)**

**TEZ DANIŞMANI:DOÇ. DR. GAMZE GÖKÖZ DOĞU**

**DR.NAİL ÖZHAN**

**DENİZLİ-2015**



**T.C.**  
**PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ**  
**İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI**

**LOKAL İLERİ VE METASTATİK KÜÇÜK HÜCRELİ DIŞI AKCİĞER  
KARSİNOMLU HASTALARDA TEDAVİ ÖNCESİ VE SONRASI SERUM  
MİRNA EKSPRESYON DÜZEYLERİNİN TEDAVİ YANITI VE SAĞKALIM  
ÜZERİNE OLAN ETKİSİNİN ARAŞIRILMASI**

**(UZMANLIK TEZİ)**

**TEZ DANIŞMANI: DOÇ. DR. GAMZE GÖKÖZ DOĞU**

**DR. NAİL ÖZHAN**

**DENİZLİ - 2015**

Bu çalışma Pamukkale Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi'nin 09.07.2014 tarih ve 2014TPF029 nolu kararı ile desteklenmiştir.

ONAY SAYFASI

Doç. Dr. Gamze Gököz DOĞU danışmanlığında Dr. Nail ÖZHANTarafından yapılan”LOKAL İLERİ VE METASTATİK KÜÇÜK HÜCRELİ DIŞI AKCİĞER KARSİNOMLU HASTALARDA TEDAVİ ÖNCESİ VE SONRASI SERUM MİRNA EKSPRESYON DÜZEYLERİNİN TEDAVİ YANITI VE SAĞKALIM ÜZERİNE OLAN ETKİSİNİN ARAŞIRILMASI ” başlıklı tez çalışması 13/10/2015 tarihinde yapılan tez savunma sınavı sonrası yapılan değerlendirme sonucu jürimiz tarafından İç Hastalıkları Anabilim Dalı’nda TIPTA UZMANLIK TEZİ olarak kabul edilmiştir.

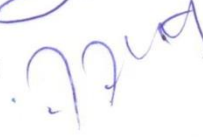
BAŞKAN Prof.Dr.Arzu YAREN



ÜYE Prof.Dr.Sabri BARUTÇA



ÜYE Doç.D.r. Gamze GÖKÖZ DOĞU



Yukarıdaki imzaların adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylarım.

13.10.2015

Prof.Dr. Ali İHSAN BOZKURT

Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanı 4.



## TEŞEKKÜR

Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi 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. Ali Keskin ve tez hocam Tıbbi Onkoloji Bilim Dalı Başkanı Sayın Doç. Dr. Gamze Gököz Doğu 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 başta sevgili eşim Elif Örs Özhan ve saygıdeğer aileme teşekkür ediyorum.

Tez çalışmam boyunca başta Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı bölüm başkanı Prof. Hakan Akça olmak üzere çalışmam boyunca yardımlarını esirgemeyen Tıbbi Biyoloji Ana Bilim Dalı Asistanlarına teşekkürü borç bilirim.

# İÇİNDEKİLER

Sayfa No

ONAY SAYFASI .....	III
TEŞEKKÜR .....	IV
İÇİNDEKİLER .....	V
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	VIII
TABLolar DİZİNİ.....	X
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	XI
ÖZET .....	XII
SUMMARY .....	XIV
1.GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER .....	2
2.1 AKCİĞER KANSERİ EPİDEMİYOLOJİSİ.....	2
2.2 AKCİĞER KANSERİ ETYOLOJİSİ .....	2
2.2.1 Sigara İçmek.....	2
2.2.2 Diğer Risk Faktörleri .....	3
2.3 AKCİĞER KANSERİ HİSTOLOJİK SINIFLANDIRILMASI.....	4
2.3.1 Adenokarsinom.....	4
2.3.2 Skuamöz Hücreli Karsinom.....	6
2.3.3 Büyük hücreli karsinom.....	7

2.3.4 Küçük hücreli karsinom .....	7
2.4 AKCİĞER KANSERİNDE TARAMA VE ERKEN TANI.....	8
2.5 KLİNİK.....	8
2.5.1 Primer Tümörün Büyümesine Bağlı Semptom ve Bulgular.....	8
2.5.2 Akciğer Kanserinin İntratorasik Yayılımına Bağlı Semptom ve Bulgular..	9
2.5.3 Akciğer Kanserinin İntratorasik Yayılımına Bağlı Semptom ve Bulgular..	10
2.5.4 Paraneoplastik sendromlar .....	11
2.6 AKCİĞER KANSERİNDE EVRELEME.....	13
2.6.1 Akciğer Kanseri Evrelemesinde TNM sınıflaması.....	13
2.6.2 Küçük Hücreli Akciğer Kanseri Evrelemesinde İkili Sistem.....	16
2.7 MİRNA.....	17
2.7.1 MikroRNA'ların Tarihçesi.....	17
2.7.2 MikroRNA'ların Oluşumu .....	18
2.7.3 MikroRNA'ların Fonksiyonu .....	18
2.7.4 MikroRNA'ların Klinik Önemi ve Hastalıklarla İlişkisi .....	19
2.7.5 MikroRNA ve Kanser .....	19
2.7.6 Akciğer Kanserinde Tümör Baskılayıcı Fonksiyona Sahip miRNA'lar.....	20
2.7.7 Akciğer Kanserinde Onkogenik Fonksiyona Sahip miRNA'lar: Onkomirler .....	23
2.7.8 Akciğer Kanserinde miRNA'ların Biyomarkır Olarak Yeri.....	24
2.7.9 Akciğer Kanserinde miRNA'lar ve Hedefe Yönelik Tedavi.....	26

<b>3.MATERYAL VE METOD</b> .....	27
3.1. RNA İzolasyonu Protokolü.....	27
3.2. Cdna Eldesi.....	26
3.3. Real Time Reaksiyonu .....	27
3.4. İstatistiksel Analiz.....	29
<b>4. BULGULAR</b> .....	29
4.1. Hastaların özellikleri.....	30
4.2. Sağkalım Analizleri .....	32
4.3. Tedavi Öncesi Ve Sonrası miRNA Ekspresyon Değişimlerinin Sağ Kalıma Etkisi.....	32
4.4 Tedavi Öncesi Ve Sonrası MİRNA Düzeyleri .....	34
4.5 Tedavi Sonrası MİRNA Ekspresyon Değişiminin Tedavi Yanıtı Üzerine Olan Etkisi.....	48
<b>5.TARTIŞMA</b> .....	51
5.1. Çalışmaya Dahil Edilen miRNA Tipleri .....	44
5.1.1 miR-146a.....	54
5.1.2 miR-146b.....	55
5.1.3 miR-200.....	56
5.1.4 miR-21.....	57
5.1.5 miR-205.....	58
5.1.6 miR-9.....	59

5.1.7 miR-155.....	59
5.1.8 miR-192.....	60
5.1.9 miR-23.....	61
5.1.10 miR-372.....	62
5.1.11 miR-25.....	62
5.1.12 miR-486.....	63
5.1.13 miR-30.....	64
5.1.14 miR-1.....	65
5.1.15 miR-499.....	65
5.1.16 miR-520.....	66
<b>6. SONUÇLAR .....</b>	<b>68</b>
<b>KAYNAKLAR.....</b>	<b>69</b>



## **SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ**

**BT:** Bilgisayarlı tomografi

**DM:** Diabetes mellitus

**DSÖ:** Dünya Sağlık Örgütü

**ECOG PS:** Doğu Kooperatif Onkoloji Grubu Performans Ölçeği

**GS:** Genel sağkalım

**HT:** Hipertansiyon

**KHDAK:** KHDAK

**KOAH:** Kronik Obstrüktif Akciğer Hastalığı

**KPS:** Karnofsky performans skorlaması

**PET:** Pozitron Emisyon tomografi

**PFS:** Progresyonsuz sağ kalım

## TABLULAR DİZİNİ

<b>Tablo-1.</b> Akciğer Kanserinin Histolojik Tipleri ve Radyolojik-Klinik Bulguları...5	5
<b>Tablo-2</b> IASLC/ ATS / ERS akciğer adenokarsinomu sınıflandırması.....7	7
<b>Tablo-3</b> Akciğer kanserinde başlangıç semptom ve bulgularının sıklığı.....12	12
<b>Tablo-4:</b> Akciğer kanserinin neden olduğu uzak metastazlar ve sıklığı.....13	13
<b>Tablo-5:</b> Ekstratorasik yayılıma ait semptom ve bulgular.....13	13
<b>Tablo-6:</b> Akciğer kanseri ile ilişkili paraneoplastik sendromlar.....14	14
<b>Tablo-7:</b> 7.TNM Akciğer Kanseri Evrelemesinde T Faktörü.....15	15
<b>Tablo-8:</b> 7.TNM Akciğer Kanseri Evrelemesinde N faktörü.....16	16
<b>Tablo-9:</b> 7.TNM Akciğer Kanseri Evrelemesinde M Faktörü.....16	16
<b>Tablo-10:</b> Küçük Hücreli Dışı Akciğer Kanserinde Evreler.....17	17
<b>Tablo-11 .</b> Çalışma hastalarının sosyodemografik özellikleri.....30	30
<b>Tablo-12.</b> Progresyonsuz sağkalımı etkileyen faktörler(Kaplan meier ve Log-rank)33	33
<b>Tablo-13 .</b> Genel sağkalımı etkileyen faktörler(Kaplan meier ve Log-rank).....34	34
<b>Tablo-14.</b> Progresyonsuz Sağkalımı etkileyen istatistiksel olarak anlamlı faktörler(Kaplan meier).....35	35
<b>Tablo 15 .</b> Genel Sağkalımı etkileyen istatistiksel olarak anlamlı faktörler(Kaplan meier).....37	37
<b>Tablo-16.</b> Progresyonsuz sağ kalımda çoklu değişkenli analiz sonuçları */** .....40	40
<b>Tablo-17.</b> Genel sağ kalımda çoklu değişkenli analiz sonuçları */** .....41	41
<b>Tablo-18.</b> Progresyonsuz sağ kalımda çoklu değişkenli analiz sonuçları */** .....42	42

<b>Tablo-19.</b> Genel sağ kalımda çoklu değişkenli analiz sonuçları */** .....	43
<b>Tablo-20</b> Herbir miRNA için tedavi öncesi ve sonrasındaki ortalama değerlerin karşılaştırılması.....	45
<b>Tablo-21:</b> Herbir hasta için miR-9, miR-21, miR23, miR25, miR-30, miR-146a ve 146b' nin tedavi sonrası ekspresyon düzeylerinin tedavi öncesi düzeylerine göre kat değişim oranları.....	46
<b>Tablo-22:</b> Herbir hasta için miR-155, miR-192, miR200, miR205, miR-372, miR-486, miR-499 ve 520' nin tedavi sonrası ekspresyon düzeylerinin tedavi öncesi düzeylerine göre kat değişim oranları.....	47
<b>Tablo-23:</b> miRNA tiplerine göre kat değişimi oranı >0.5 olanlar ve tedaviye verdikleri yanıtı göre sınıflandırılması.....	49
<b>Tablo-24:</b> miRNA tiplerine göre kat değişimi oranı >0.5 olanlar ve tedaviye verdikleri yanıtı göre sınıflandırılması.....	50

## ÖZET

Akciğer kanseri en sık görülen 2. ve en çok ölüme neden olan kanser hastalığıdır. Akciğer kanseri gelişiminde diğer tüm kanser hastalıklarında olduğu gibi tümör supresör genlerde oluşan mutasyonlar ve protoonkogenler önemli yer tutarlar. Ayrıca akciğer kanserine bağlı mortalite ve mortalitenin azaltılması için platin bazlı kemoterapiler ile yeterli sonuçlar alınamaması üzerine hedefe yönelik tedaviler ön plana çıkmıştır. Son yıllarda yapılan çalışmalar miRNA'ların onkogeneze önemli yer tuttuğunu ve yeni bir tedavi hedefi olabileceğini göstermiştir. Bu çalışmada kliniğimize başvuran KHDAK tanılı hastalarda tanı anında ve tedavi sonrası miRNA ekspresyon değişiminin tedavi yanıtı ve sağ kalıma olan etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır.

Çalışmamıza 2013- 2015 yılları arasında Pamukkale Üniversitesi Onkoloji Bölümüne başvuran KHDAK olan 38 hasta alınmıştır. Hastaların tanı anında ve tedavi sonrası daha önceden belirlenmiş olan miRNA'ların(mir-1,mir-9, mir-21, mir-23, mir-25, mir-30, mir-146a, mir146b, mir155, mir192, mir200, mir-205, mir-372, mir-486, mir499, mir-520) ekspresyon düzeylerinin ölçümü yapıldı. Tedavi sonrası kat değişim oranlarının tedavi yanıtı ve sağ kalım üzerine olan etkileri istatistiksel olarak analiz edildi.

Çalışmamız sonunda tüm miRNA tiplerinde tedavi öncesine göre istatistiksel olarak anlamlı ( $p<0.001$ ) derecede ekspresyon değişimi gözlemlendi. Tedavi sonrası ekspresyon kat değişim oranlarının sağ kalım analizlerinde istatistiksel anlamlı sonuç bulunmadı. Sadece miR-486'nın tanı anındaki ekspresyon seviyesi istatistiksel olarak anlamlı olma ( $p=0.059$ ) eğiliminde idi. Hastaların kilo kaybı, cinsiyet ve tedavi sırasında toksisite gelişmesinin sağ kalım üzerine istatistiksel olarak anlamlı fark oluşturduğu görüldü. Hastaların patolojik tipleri, sigara kullanımı, evreleri arasında sağ kalım analizlerinde istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilmedi.

Literatürde akciğer kanserli hastalarda miRNA'ların tedavi sonrası kat değişim oranlarının tedavi yanıtı ve sağ kalım üzerine olan etkisini araştıran çalışma bulunmamaktadır. Bu konuda yapılacak daha fazla hasta sayısı içeren çalışmalara ihtiyaç bulunmaktadır.

**Anahtar kelimeler:** MİRNA, KÜÇÜK HÜCRELİ DIŞI AKCİĞER KANSERİ, mir-1, mir-9, mir-21, mir-23, mir-25, mir-30, mir-146a, mir-146b, mir-155, mir-192, mir-200, mir-205, mir-372, mir-486, mir-499, mir-520.

## SUMMARY

Lung cancer is second most frequent cancer and the most frequent cause of cancer-related death. Proto-oncogenes and mutations in tumor suppressor genes are important in development of lung carcinoma as well as any other tumors. Furthermore, in order to decrease morbidity and mortality in lung carcinoma, target specific treatments stood out after experiencing inadequate outcomes with Platin based chemotherapies. Recent studies demonstrate that miRNA takes an important place in oncogenesis and might be a new treatment target. In this study, we investigated patients with non-small cell lung cancer who consulted to our clinic to see the change on miRNA expression between diagnosis and after treatment. And we also investigated this change's effects on treatment response and survival.

This study included 38 patients who consult Pamukkale University Hospital Clinic of Onchology with NSCLC between 2014-2015. Sceduled miRNA (mir-1, mir-9, mir-21, mir-23, mir-25, mir-30, mir-146a, mir-146b, mir-155, mir-192, mir-200, mir-205, mir-372, mir-486, mir-499, mir-520) expression levels are measured when patients diagnosed and after they treated. Fold changes after treatment and its effect on treatment response and survival statically analysed.

As a result of our study, expression changes on all miRNA types were observed statically significant ( $p < 0,001$ ). After treatment fold changes were not significantly related to survival analyses. Expression levels on diagnosis were statically significant for only miR-486 ( $P:0.059$ ). Factors effecting survival has investigated. Wight loss, gender and developing toxicity during treatment are observed statically significant. Whereas pathological type, smoking and stage weren't statically significant.

There is not a study about miRNA fold changes after treatment and its effect on treatment response and survival. Further studdies with more patients are needed.

**Keywords:** mirna, Non-Small-Cell LungCancer, mir-1,mir-9, mir-21, mir-23, mir-25, mir-30, mir-146a, mir146b, mir155, mir192, mir200, mir-205, mir-372, mir-486, mir499, mir-520.

## 1.GİRİŞ VE AMAÇ

Akciğer kanseri, 20. yüzyılın başlarında nadir görülen bir hastalık iken, sigara içme alışkanlığındaki artışa paralel olarak sıklığı giderek artmış ve dünyada en sık görülen kanser türü haline gelmiştir (1). Tüm dünyada kanser olgularının %12,8'inden ve kanser ölümlerinin %17,8'inden akciğer kanseri sorumludur (9).Akciğer kanserli olgularda tanı sonrası 5 yıllık yaşam, 1974-76 yılları arasında %12 iken, 1992-97 yılları arasında çok az yükselmiş ve %15 oranına ulaşmıştır (42). Amerika Birleşik Devletleri (ABD) ve Batı Avrupa toplumlarında sigara karşıtı kampanyalar sonucu akciğer kanseri görülme sıklığı 1980'den sonra erkeklerde azalma eğilimine girmiştir. Kadınlarda sigara kullanımı alışkanlığındaki artış nedeniyle Doğu Avrupa ülkeleri ve ülkemizde akciğer kanseri sıklığı giderek artmaktadır (107). Akciğer kanseri sadece 2001 yılında bir milyondan fazla ölüme neden olmuştur (1,19).

Ülkemizde Sağlık Bakanlığının tüm sağlık kuruluşlarında tanı alan kanser olgularının kaydedildiği pasif kanser kayıt sistemi verilerine göre akciğer kanseri insidansı 11.5/100.000'dir (5). Histopatolojik olarak ABD ve Japonya'da en sık adenokanser saptanırken Asya ülkelerinde skuamöz hücreli kanser hala en sık kanser tipidir (1,12,109). Ülkemizde en sık skuamöz hücreli kanser (yaklaşık % 45) görülmekte, bunu benzer oranla (yaklaşık % 20) küçük hücreli kanser ve adenokanser izlemektedir. Büyük hücreli kanser % 2 oranıyla en az görülen kanser tipidir (108).Cerrahi yöntemlerdeki yeniliklere, radyoterapi ve kemoterapideki gelişmelere rağmen, akciğer kanserinin sağkalım süresi %16'dır (110). Bu nedenle, akciğer kanserinin genetik olarak gelişimini çözmek ve yeni tedavi hedefleri geliştirmek için hücresel moleküller üzerinde daha çok çalışılması gerekmektedir.

MikroRNA'lar çoğalma, hücre farklılaşması ve apoptoz gibi temel hücre fonksiyonları gerçekleşirken, hedef mRNA'ların proteine dönüşümünün düzenlenmesinde görev yapmaktadır. Gen ifadesini düzenleyebilen kodlama yapmayan, korunmuş, küçük boyutlu RNA'lardır. İlk miRNA (lin-4) 1993 yılında keşfedilmiş ve ikinci bir miRNA'nın keşfi için aradan uzun yıllar geçmiştir. MikroRNA terimi ise 2001 yılından itibaren kullanılmaya başlanmıştır (20). Bugün tanımlanmış yaklaşık 2000

miRNA vardır. Birçok farklı hastalığın patogeneğinde miRNA'ların rol oynadığı gösterilmiştir (11). Kanser gelişiminde onkojen ve tümör baskılayıcı genler gibi davrandıklar deneysel çalışmalarla gösterilmiştir (11).

Meme , over , endometrium kolon vb solid kanser türlerinde serum tümör markerları tanı ve tedavi sonrası klinisyenlere yol gösterirken akciğer kanserinde böyle bir tümör marker bulunmamaktadır. Günümüzde akciğer kanserinde klinisyenlere yol gösterecek tanı ve tedavi sonrası takipte kullanılabilir bir tümör belirteci ihtiyaç bulunmaktadır. Bu ihtiyaçdan yola çıkarak son yıllarda dünya genelinde yapılan çalışmalarda KHDAK hastalarında mikroRNA'ların onkogeneğinde oynadıkları önemli rol nedeniyle, gelecek vadede tanısal ve prognostik biyomarkırlar olarak kabul edilmeye başlanmıştır. Belli miRNA'ların tümör dokusunda, serumda ve balgamda ekspresyon profillerinin saptanmasının bilgi sağlayıcı olduğu düşünülmektedir.

Ülkemizde bu konuda yeterli çalışma olmaması nedeniyle bizler tespit ettiğimiz yeni tanı KHDAK hastalarında serum mikro-rna profillerini tespit etmek ve tedavi sonrası bu düzeylerdeki değişikliklere bakarak sonuçları dünya üzerindeki diğer çalışmalarla korele ederek KHDAK hastalarının gelecekte tanı , prognoz tayini , ve tedavi sonrası takipte serum mikroRNA tipi ve düzeylerinin yol gösterici olabileceğini düşünmekteyiz. Yine buradan yola çıkarak gelecekte mikro-RNA üzerinden etki edebilecek hedefe yönelik tedavilerin keşfi ile klinisyenlerin KHDAK tedavi etkinliklerini arttırabileceklerini düşünmekteyiz.



## **2. GENEL BİLGİLER**

### **2.1 AKCİĞER KANSERİ EPİDEMİYOLOJİSİ**

Akciğer kanseri , 20. Yüzyıl başlarında nadir görülmekte iken, 1950 yılından itibaren sigara içme alışkanlığındaki artışa paralel olarak sıklığı giderek artmış ve dünyada en sık görülen kanser türü haline gelmiştir (1). Tüm dünyada 2012 yılında yaklaşık olarak 1.8 milyon insanda akciğer kanseri gelişmiş ve tahmini 1.6 milyon hastanın ölümüne neden olmuştur (2). Amerika birleşik devletlerinde ise 2014 yılında tahmini 224000 yeni vaka gelişmiş ve 160 bini hayatını kaybetmiştir (3,4).

Ülkemizde akciğer kanseri insidansı 11.5/100.000'dir ve tüm kanserler içinde erkeklerde %38.6 'lık oranla en büyük bölümü oluşturmaktadır (5). Kadınlarda ise %5.2'lik oranla 7.sıradadır. Erkeklerde insidansı 61.6/100.000, kadınlarda 5.1/100.000'dir (6). Sağlık Bakanlığı verilerine göre akciğer kanseri sıklığı batı bölgelerimizde en yüksek (Akdeniz 41.0/100.000,Ege ve İç Anadolu 39.5/100.000),Güneydoğu ve Doğu Andolu bölgelerimizde ise en düşük (sırayla 17.7/100.000, 11.7/10- 0.000) değerlerdedir (5).

### **2.2 AKCİĞER KANSERİ ETYOLOJİSİ**

#### **2.2.1 Sigara İçmek**

Sigara akciğer gelişiminden %94 oranında sorumludur. Akciğer kanseri insidansı sigara miktarı ve içme süresine bağlı olarak artış göstermektedir.Sigara içenlerde akciğer kanseri riski içmeyenlerden 24-36 kat daha fazladır. Türkiye'de sigara içme prevalansı kadınlarda %24, erkeklerde %63'tür. Gelişmiş ülkelerde sigara içimi prevalansı kadınlarda % 20-40, erkeklerde % 30-40 iken gelişmekte olan ülkelere bu oranlar sırasıyla % 2-10 ve % 40-60'tır. Dünya genelinde ise erkeklerde % 47-52, kadınlarda % 10-12 sıklıkta sigara kullanımı olduğu tahmin edilmektedir (8).

Yapılan son çalışmalar, günlük sigara tüketimi ve yaş faktörü gözönünde bulundurulmadığında sigara içen kadınlarda akciğer kanseri gelişme riskinin erkeklere göre daha yüksek olduğunu göstermiştir. Pasif olarak sigara dumanını inhale eden kişilerde de akciğer kanseri sıklığı artar. Pasif sigara içiminde risk %3,5'tur (1). Sigaranın kenarından çıkan duman(sidestram) çevredeki dumanın asıl önemli kısmını oluşturur ve sigaranın ortasından çıkan dumandan (mainstream) çok daha fazla toksin ve karsinojen taşır. Bu yüzden pasif olarak bu havayı soluyan kişiler de risk altındadır. 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 (7).

### **2.2.2 Diğer Risk Faktörleri**

Akciğer kanseri gelişiminde etkili olduğu belirtilen diğer risk faktörleri yaş, ırk, cinsiyet, meslek, hava kirliliği, radyasyon, geçirilmiş akciğer hastalığı sekeli, diyet, viral enfeksiyonlar, genetik ve immünolojik faktörlerin tümü % 6 oranında etkilidir (8). İşyerinde birçok fiziksel ve kimyasal karsinojenlerle karşılaşmakta ve bu etmenler de akciğer kanseri için risk oluşturmaktadır.Örneğin mesleksel radon maruziyetinde risk 20 kat artmaktadır. Tütün kullanımıyla beraber bu artış daha fazladır. Ev içi radon maruziyetinin akciğer kanserlerinin % 10'unun nedeni olduğu tahmin edilmektedir. Akciğer kanseri gelişiminde rol oynayan diğer bir etken de asbesttir.Latent periyod genellikle 20 yılın üzerindedir. Asbestin değişik tipleri arasında da karsinojenite potansiyeli açısından farklılıklar mevcuttur. Asbest maruziyetinde akciğer kanseri gelişme riski 5 kat artar iken, sigara ile birlikte olduğunda risk 50-100 kat artmaktadır (10).

Akciğerde skatris bırakan tüberküloz, bronşektazi, pnömoni, interstisyel akciğer hastalıkları, abse, pulmoner emboli gibi hastalıklarda, skar dokusunun kanser gelişimine zemin oluşturduğu ve akciğer tüberkülozu geçiren olgularda akciğer kanseri gelişme riskinin 8 kat fazla olduğu belirtilmektedir (16). Akciğer kanserli hastaların sigara içen akrabaları, kontrol bireylerin sigara içen akrabaları ile karşılaştırıldığında, bunlarda akciğer kanserinden ölüm riski 2-2,5 kat daha fazla bulunmuştur bulunmuştur. Ayrıca akciğer kanserli hastaların akrabalarında akciğer dışı kanser sıklığında da artış gözlenmiştir (8). Suçlanan genetik faktörlerden biri olan P-450 enzim sisteminde yer

alan aril hidrokarbon hidroksilaz enziminin artmış aktivitesi akciğer kanseri riskini 8 kat artırır (10).

Akciğer kanseri gerekli tedbirler alındığında önlenmesi mümkün olabilecek bir hastalıktır. Bilinen risk faktörleri elimine edildiğinde % 85-100 oranında gelişiminin engellenebileceği tahmin edilmektedir (12). Bu konuda en önemli basamak, sigara kullanımını en aza indirecek hatta tümüyle ortadan kaldıracak önlemlerin öncelikle alınmasıdır.

### 2.3 AKCİĞER KANSERİ HİSTOLOJİK SINIFLANDIRILMASI

Akciğer kanserinin histolojik bulgulara göre sınıflandırılması 2011 yılında Dünya sağlık örgütü tarafından güncellenmiştir (13). Büyüme hızı, yayılımı, metastazın zamanlaması, kemoterapi ve radyoterapiye yanıtına göre temelde küçük hücreli dışı ve küçük hücreli olmak üzere iki ana başlık altında toplanmıştır. KHDAK de kendi aralarında; adenokarsinom, skuamöz hücreli karsinom ve büyük hücreli karsinom olarak subgruplara ayrılmıştır (Tablo 1).

**Tablo-1.** Akciğer Kanserinin Histolojik Tipleri ve Radyolojik-Klinik Bulguları

<b>Küçük Hücreli Dışı Akciğer Kanseri</b>
<b>Adenokarsinom</b>
En sık görülen tür Genellikle sigara içmeyen kadın hastalarda görülür Sıklıkla periferik yerleşimli Radyolojik olarak hava bronkogramları şeklinde prezente olabilir
<b>Skuamöz Hücreli Kanser</b>
İkinci en sık rastlanılan tür Sigara ile yakın ilişkili Sıklıkla santral yerleşimli Kaviteleşme gösterebilir
<b>Büyük Hücreli Kanser</b>
En nadir görülen tür Sıklıkla periferik yerleşimli
<b>Küçük Hücreli Akciğer Kanseri</b>
Sigara ile yakın ilişkili Sıklıkla santral yerleşimli Mediastinal lenfadenopati birlikteliği sıktır En kötü prognozlu tür

Yeni sınıflandırmaya göre tüm akciğer kanserlerinin yaklaşık %83'ü KHDAK, %16'sı küçük hücreli akciğer kanserinden oluşmaktadır (14).

### **2.3.1 Adenokarsinom**

Tüm akciğer kanserlerinin yaklaşık %50'sini oluşturur. Diğer akciğer kanserlerinin aksine adenokarsinomlar ile sigara içimi arasında zayıf bir ilişki olup, çoğunlukla sigara içmeyen kadın hastalarda görülür. Aynı zamanda diğer alt tiplere göre daha genç yaşta ortaya çıkmaktadır (34). Daha önceden parankimde varolan skar dokusundan gelişebilir ve bu nedenle "skar karsinomu" olarak da adlandırılır. Sıklıkla periferik ve subplevral alanlarda yerleşim gösterir. Radyolojik olarak iyi sınırlı lobule veya spikule konturlu lezyonlar veya soliter pulmoner nodul şeklinde görülebilirler. Bilgisayarlı tomografide (BT), kitle içerisinde hava bronkogramları izlenebilir. Periferik yerleşimli kitleler doğrudan plevra invazyonu yaparak plevra boyunca dairesel büyüme gösterirler.

2011 yılında adenokarsinom histopatolojik tipi için IASLC (International Association for the Study of Lung Cancer), ATS (American Thoracic Society) ve ERS (European Respiratory Society) multidisipliner çalışması ile yeni bir sınıflandırma yapılmış ve özellikle bronkoalveolar karsinom tipinin isimlendirilmesinde farklılık oluşturulmuştur (13) (Tablo 2).

**Tablo-2.** IASLC/ ATS / ERS akciğer adenokarsinomu sınıflandırması (13)

<b>Preinvaziv lezyonlar</b>
Atipik adenomatöz hiperplazi
İn situ adenokarsinom ( $\leq 3$ cm, önceki bronkoalveolar karsinom)
Nonmüsinöz
Müsinöz
Mikst müsinöz/nonmüsinöz
<b>Minimal invaziv adenokarsinom (<math>\leq 3</math>cm lepidik baskın tümör, <math>\leq 5</math> mm invazyon)</b>
Nonmüsinöz
Müsinöz
Mikst müsinöz/nonmüsinöz
<b>İnvaziv adenokarsinom</b>
Lepidik (önceki nonmüsinöz Bronkoalveolar pattern $> 5$ mm invazyon )
Asiner
Papiller
Micropapiller
Müsin üreten solid
<b>İnvaziv adenokarsinom varyantları</b>
İnvaziv müsinöz adenokarsinom
Kolloid
Fetal ( düşük ve yüksek evreli )
Enteric

Sonuç olarak yeni sınıflamada, prognozu belirlemede total boyuttan ziyade içerdiği komponentle birlikte invazyon boyutu ön plana çıkmıştır. Nonmüsinöz komponent varlığında kitle radyolojik olarak pür buzlu cam dansitesinde veya semisolid, müsinöz komponent arttıkça ise solid lezyon veya konsolidasyon şeklinde prezente olmaktadır.

Solid komponent arttıkça lenf nodu metastazı sıklığı artar. Semisolid nodüllerde buzlu cam  $> 50\%$  olmasıyla, Epidermal growth faktor reseptör (EGFR) mutasyonu arasında doğru orantı mevcuttur. Radyolojik incelemelerde malign-benign buzlu cam ayırımı için, 3 ay sonra kontrol toraks BT’de, görünümün devam etmesi, buzlu cam dansitesi içinde solid komponentin varlığı, spikule kontur, plevral retraksiyon ve bronkovasküler intertisyumda kalınlaşma maligniteyi düşündürür.

### **2.3.2 Skuamöz Hücreli Karsinom**

Tüm akciğer kanserlerinin yaklaşık % 25-30 'u skuamöz hücreli karsinomdur. Skuamöz hücreli karsinom, bronkojenik karsinomlar arasında ülkemizde en sık görülen karsinom türüdür (35). Sıklıkla sigara içimi ile yakın ilişkili, genellikle santral yerleşimli ve kaviteleşme gösterebilen akciğer kanseritürüdür. Kitle santral yerleşim gösterdiğinden tipik olarak bronşta total veya subtotal obstrüksiyona neden olup, postobstruktif pnömoni veya atelektaziye neden olur.

Postobstruktif atelektaziye sekonder komşu fissurde meydana gelen yer değişikliğine 'Golden S' bulgusu denir. Metastaz yapmadan endobronşial kitle lezyonu oluşturup ana bronşları tıkayarak belirti verdiğiinden, teşhisi daha erken konur ve prognozu daha iyidir (36). Periferik yerleşim gösterdiğinde en sık 'Pancoast Sendromu' yapan akciğer kanseri türüdür. Pancoast sendromu; alt brakial pleksus tutulumuna bağlı aynı taraftaki üst ekstremitte kaslarında atrofi ve ağrı, sempatik zincir tutulumuna bağlı Horner sendromu birlikteliğidir. Komşu yumuşak doku ve kemik invazyonu gösterebilir. Göğüs duvarı, brakial pleksus, komşu vaskuler yapı ve spinal kanal yayılımının belirlenmesinde manyetik rezonans (MR), bilgisayarlı (BT) 'ye göre üstündür.

### **2.3.3 Büyük Hücreli Karsinom**

En az rastlanılan akciğer kanseri türüdür. Sıklıkla sigara içimi ile yakın ilişkili, hızlı büyüyen, erken metastaz yapan kötü prognozlu bir türdür. Genellikle periferik yerleşimli olmakla beraber santralde de görülebilir. Radyolojik görünümü tipik olarak büyük periferik yerleşimli kitleler şeklindedir (29).

### **2.3.4 Küçük Hücreli Akciğer Karsinomu**

Tüm akciğer kanserlerinin yaklaşık %13-20'sini küçük hücreli akciğer kanseri oluşturmaktadır (30). ABD'de tüm kanserlerden ölümlerin %4'ünü oluşturmaktadır (31). Ortalama sağkalım oldukça kötüdür (Erken evre hastalarda 14-18 ay, ileri evre hastalarda 6-8 ay) (30). Küçük hücreli akciğer kanseri, sigara içimi ile yakından ilişkili olup, hızlı büyüyen ve erken metastaz yapan bir türdür. Ektopik hormon salgılamasına bağlı gelişen, klinik hormon sendromlarının en sık görüldüğü türdür. Büyük oranda lobar ve ana bronşlarda santral yerleşimlidir. Nekroz

ve kanama siktir. Yüksek oranda lenf nodu ve komşu yapılara invazyon gösterir ve lenfatik yayılır. Bu nedenle akciğer posteroanterior (PA) grafilerinde hiler-parahiler yerleşimli kitle ve mediastinal genişleme şeklinde tipik görünümü vardır. BT’de lenfoma benzeri yaygın mediastinal lenfadenopatiler (LAP)’lar şeklinde görülür.

Vena kava inferiorun (VCI) bası, invazyon veya trombozuna sekonder VCI Sendromunun en sık gösteren akciğer tümörüdür (32). Pekçok hasta tanı anında yaygın hastalığa sahip olduğundan cerrahi şansı olmaz, kemoterapi (KT) ve radyoterapi (RT) alırlar. Cerrahi rezeksiyon sadece metastazı olmayan, soliter pulmoner nodul şeklindeki küçük hücreli akciğer kanseri hastalarında mümkün olur. KT ve RT’ye yanıt çok iyi olup, tümör çoğu zaman tamamen yok olur ancak kısa süre sonra rekürren yaygın hastalık şeklinde prezente olur (33).

## **2.4 AKCİĞER KANSERİNDE TARAMA VE ERKEN TANI**

Akciğer kanserlerinde 5 yıllık sağkalım oranı %13-15 olarak bilinmektedir. Rezeksiyon yapılabilen ve 3 cm’den küçük olan (T1) periferik tümörlerde sağkalım oranı %60-80 ’lere çıkmaktadır (15). 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 Comprehensive Canser Network-2014(NCCN-2014) 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 KLİNİK**

Akciğer kanserli olguların % 90’ından fazlası kliniğe başvurdukları anda tümörün lokal, bölgesel, metastatik veya sistemik etkileri nedeniyle semptomatiktir. Bunun nedeni hastalığın agresif biyolojisi, lokal ileri veya metastatik evreye gelinceye kadar semptom vermemesidir (16).

### **2.5.1 Primer Tümörün Büyümesine Bağlı Semptom Ve Bulgular**

#### ***Öksürük:***

Öksürük hastaların %50-75 inde tanı anında mevcuttur. Özellikle squamöz hücreli ve küçük hücreli karsinomu olan hastalarda daha sık görülmektedir. Bunun nedeni bu tip akciğer karsinomlarının daha çok merkezi hava yollarını tutma eğiliminde olmasıdır (17).Öksürük yeni ortaya çıkmış olabileceği gibi çoğu yoğun sigara içicisi olan olgularda kronik bronşit-amfizem nedeniyle daha önceden var olan öksürüğün karakter değiştirmesi şeklinde de ortaya çıkabilir ve bu durum klinisyen açısından uyarıcı olmalıdır. Bu olgularda öksürüğün şiddetinin artması, tedaviye yanıt vermemesi veya kanlı balgam ile birlikte olması akciğer kanserinin işareti olabilir (18).

#### ***Hemoptizi:***

Akciğer tanısı alan hastaların %25 ile 50 sinde hemoptizi rapor edilmektedir (19). Hastayı hekime yönlendiren en dikkat çekici semptomlardan biri olan hemoptizi, göğüs radyografisi normal olan bir olguda tek ipucu olabilir. Kırk yaşın üzerindeki hemoptizi semptomu varlığı durumunda olgular akciğer radyografisi ve fiberoptik bronkoskopi ile araştırılmalıdır (18). Hemoptizi büyük volümlerde olduğu takdirde hastada asfiksiye neden olabilir.

#### ***Nefes Darlığı:***

Nefes darlığı akciğer kanserli hastaların tanı anında sık karşılaşılan bir semptomdur. Yaklaşık olarak vakaların %25 inde görülür (17).Endobronşial tümörün major atelektaziye neden olması, kitlenin büyüyerek yer kaplaması veya büyük hava yollarına, ana damarlara ya da kalbe bası yapması, artan plevral-perikardiyal sıvı nefes darlığını ortaya çıkarabilir veya var olan nefes darlığını arttırabilir. Hava yollarına bası veya tıkanıklık sonucunda dispne ve stridor, lokalize ronküs, segmental amfizem, tekrarlayan veya rezolüsyonu gecikmiş pnömoniler meydana gelebilir (18).



### **2.5.2 Akciğer Kanserinin İntratorasik Yayılımına Bağlı Semptom Ve Bulgular:**

Akciğer kanserinin intratorasik yayılımı direkt genişleme ya da lenfatikler yoluyla sinir, organ, diafragma ve göğüs duvarı tutulumuna, bu da çeşitli semptom ve bulgulara neden olmaktadır.

#### ***Ses Kısıklığı:***

Sigara içenlerde gelişen kalıcı ses kısıklığının ayırıcı tanısına hem akciğer kanseri hem de larenks kanseri girer. Akciğer kanseri olan hastalarda buna rekürrent laringeal sinirin tutulumu neden olmaktadır (21,22).

#### ***Süperior Vena Kava Sendromu:***

Primer tümörün sağ tarafta yerleştiği akciğer kanseri vakalarında süperior vena kava obstrüksiyonu ile daha sık karşılaşılmaktadır. KHDAKnde (özellikle skuamöz hücreli) obstrüksiyon yavaş geliştiği için fizik muayenede kollateral venöz genişlemeler saptanabilir. Yüz, boyun ve göz kapaklarında ödem, ekstremiteler ve göğüsün üst bölümleri, omuz ve boyunda genişlemiş venler izlenmektedir. Bu bulgulara baş ağrısı, baş dönmesi, uyuşukluk, bulanık görme, göğüs ağrısı, nefes darlığı, öksürük ya da disfaji eşlik eder (18,23,24).

#### ***Plevra Tutulumu:***

Plevral sıvı birikimi, göğüs ağrısı ve nefes darlığı yakınmalarına neden olabilir. Oluş mekanizması ne olursa olsun sitolojik incelemede malign hücreler saptanmasa bile plevral sıvı birikimi kötü prognoza işaretler. Plevral sıvı genellikle hemorajiktir (26,27).

Akciğer kanserinde başlangıç semptom ve bulgularının sıklığı Tablo-3 'de özetlenmiştir.

**Tablo-3:** Akciğer kanserinde başlangıç semptom ve bulgularının sıklığı (25)

<b>Semptom ve bulgular</b>	<b>Yaklaşık görülme sıklığı (%)</b>
Öksürük	75
Kilo kaybı	68
Nefes darlığı	58-60
Göğüs ağrısı	45-49
Hemoptizi	29-35
Kemik ağrısı	25
Çomak parmak	20
Ateş	15-20
Kuvvetsizlik	10
Süperior vena kava sendromu	4
Disfaji	2
Wheezing, stridor	2

### **2.5.3 Akciğer kanserinin ekstratorasik yayılımına bağlı semptom ve bulgular**

Ekstratorasik metastaz sıklığı yapılan otopsi serilerinde skuamöz hücreli karsinomda % 54, adenokarsinomda % 82, büyük hücreli karsinomda % 86'dır (20). Hasta hekime başvurduğu sırada olguların çoğunda elimizdeki evreleme yöntemleri ile saptanamasa bile toraks dışına yayılım vardır. Bazı durumlarda ise, ekstratorasik metastazlara ait semptomlar klinik görünümüne hakim olabilirler (23-28). Akciğer kanserinin neden olduğu uzak metastazlar ve sıklığı Tablo-4 'de gösterilmiştir.

**Tablo-4:**Akciğer kanserinin neden olduğu uzak metastazlar ve sıklığı(23-28)

<b>Tutulan bölge</b>	<b>Sıklık (%)</b>
Santral sinir sistemi	0-20
Kemik	25
Kalp, perikard	20
Böbrek	10--15
Gastrointestinal sistem	12
Plevra	8--15
Adrenal	2--22
Karaciğer	1--35
Deri, yumuşak doku	1--3

Fizik muayenede skalen, supraklavikuler, aksiller lenf bezlerinde büyümeler görülebilir. Ekstratorasik yayılıma ait semptom ve bulgular Tablo-5 'de özetlenmiştir.

**Tablo-5:**Ekstratorasik yayılıma ait semptom ve bulgular (23-28)

<b>Santral sinir sistemi (SSS) metastazı</b>	Tanı aşamasında hastaların %10' unda SSS metastazları bulunmaktadır. Beyin parankimi metastazlarının %80-85' i supratentoriyal bölgede, sıklıkla da frontal loblarda yer alır.
<b>Kemik metastazı</b>	Vertebralar, pelvis, kaburgalar ve femur en sık tutulum bölgeleridir. Lokalize kemik ağrısı, serum kalsiyum, alkalin fosfataz yüksekliği kemik metastazının işareti olabilir.
<b>Karaciğer metastazı</b>	İştahsızlık, epigastrik ağrı, sertleşmiş ve sıklıkla nodüler yüzeye sahip karaciğer büyümesi ile birliktedir. Serum transaminaz değerleri yükselebilir.
<b>Adrenal bez metastazı</b>	Klinik bulgu vermediği için klinisyence tanınması zordur ama BT %41-90 duyarlılığa sahip bir yöntemdir.
<b>Pankreas metastazı</b>	Sıklıkla küçük hücreli karsinom nedeniyle olur ve obstrüktif sarılık görülür.
<b>Subkutanöz ya da intradermal metastazlar</b>	Göve, boyun ve kafa derisinde ağrısız, eflatun renginde iyi sınırlı kitleler şeklindedir.

<b>Nadir metastaz bölgeleri</b>	Gastrointestinal ve böbrek metastazları nadirdir ve klinik olarak sessizdir. Bulanık görme ve uçuşan lekeler koroidal metastazlara bağlı gelişebilir.
<b>Organ spesifik olmayan metastaz bulguları</b>	Kilo kaybı, iştahsızlık, ateş, halsizlik ve anemi.

#### 2.5.4 Paraneoplastik Sendromlar:

Paraneoplastik sendromlar sıklıkla küçük hücreli akciğer kanserinde görülmekle birlikte diğer tüm akciğer kanseri tiplerinde de görülebilmektedir. Sıklıkla tümörün kendisinden veya metastazlarından uzak bölgelerde görülen, kansere bağlı olarak gelişen bir grup semptom ve bulgudan oluşmaktadır. Akciğer kanseri ile ilişkili paraneoplastik sendromlar Tablo-6 'da özetlenmiştir. Polipeptid hormonlar, hormona benzer peptidler, antikolar, immün kompleksler, prostaglandinler ya da sitokinler gibi tümörün oluşturduğu sistemik faktörlerin ürünleriyle oluşurlar. Paraneoplastik sendromların tanınması altta yatan akciğer kanserinin erken tanı ve tedavisine olanak sağlayabilir (29).

**Tablo-6:** Akciğer kanseri ile ilişkili paraneoplastik sendromlar (29).

<b>Endokrin</b>	Cushing sendromu, nonmetastatik hiperkalsemi, uygunsuz ADH sendromu, jinekomasti, hiperkalsitoninemi*, FSH, LH artışları*, hipoglisemi*, hipertiroidi, karsinoid sendrom*
<b>Nörolojik</b>	Subakut duyusal nöropati, mononöritis multipleks, intestinal psödo-obstruksiyon* Lambert-Eaton sendromu*, kanserle ilişkili retinopati, ensefalomiyelit* (limbik, beyin sapı, subakut kortikal serebellar), nekrotizan myelopati*
<b>Metabolik</b>	Laktik asidoz*, hipourisemi*, hiperamilazemi*
<b>İskelet</b>	Parmaklarda çomaklaşma, hipertrofik osteoartropati
<b>Renal</b>	Glomerülonefrit*, nefrotik sendrom*
<b>Cilde ait</b>	Hipertrikoz, lanuginosa, eritema gyratum repens, paraneoplastik akrokeratoz ( bazex hastalığı ), eritrodermi, Sweet sendromu*
<b>Hematolojik</b>	Anemi, lökositoz*, eozinofili*, lökomoid reaksiyon*, trombositoz, trombositopenik purpura
<b>Koagülopatiler</b>	Dissemine intravasküler koagülasyon*, trombofilebit, trombotik non-bakteriyel endokardit*
<b>Sistemik</b>	Ateş, anoreksi, kaşeksi, ortostatik hipotansiyon* , hipertansiyon*
<b>Kollagen Vasküler</b>	Dermatomyozit* , polimiyozit* , sistemik lupus eritematozus* , vaskülit*

## 2.6 AKCİĞER KANSERİNDE EVRELEME

Akciğer kanseri evrelemede uluslararası TNM (primer tümör yayılımı- bölgesel lenf nodu tutulumu-intratorasik veya uzak metastaz) evreleme sistemi kullanılmaktadır. Uluslararası akciğer kanser evreleme komitesi bu amaçla, 2005 yılında yayınlanan TNM evrelemesi 6. sürümünü 2009 yılında güncelleyerek 2010 yılının temmuz ayında 7. sürüm olarak yayınlanmıştır (37).

### 2.6.1 Akciğer kanseri evrelemede TNM sınıflaması

Akciğer kanserinde 7. TNM evrelemesi Tablo-7-8-9 'da özetlenmiştir.

**Tablo-7:** 7.TNM Akciğer Kanseri Evrelemede T Faktörü (37)

<b>TX</b>	Primer tümör değerlendirilemiyor, balgam veya bronş yıkamada malign hücreler olmasına rağmen bronkoskopi ve görüntüleme tümör görüntülenemiyor
<b>T0</b>	Primer tümöre ait belirti yok
<b>Tis</b>	Karsinoma insitu
<b>T1</b>	Tümör en büyük çapı $\leq 3$ cm, akciğer veya viseral plevra ile çevrili, bronkoskopik olarak lob bronşundan daha proksimale (ana bronşa) invazyon göstermeyen tümör T1a: Tümör en büyük çapı $\leq 2$ cm T1b: Tümör en büyük çapı $> 2$ cm fakat $\leq 3$ cm
<b>T2</b>	Tümör en büyük çapı $> 3$ fakat $\leq 7$ cm ya da; ana bronşa invaze ve ana karinaya uzaklığı $\geq 2$ cm, visseral plevraya invaze, hiler bölgeye ulaşan ancak tüm akciğeri kapsamayan atelektazi veya obstrüktif pnömoni T2a: Tümör en büyük çapı $> 3$ fakat $\leq 5$ cm T2b: Tümör en büyük çapı $> 5$ fakat $\leq 7$ cm
<b>T3</b>	Tümör $> 7$ cm veya göğüs duvarı (superior sulkus tümörleri dahil), mediastinal plevra, diyafragma, frenik sinir, paryetal perikard yapılarından birine invaze ya da ana karina tutulumu olmadan ana karinaya uzaklık $< 2$ cm ya da bütün bir akciğeri kaplayan atelektazi veya obstrüktif pnömoni ile birlikte olan tümör ya da aynı lobda farklı bir nodül olması
<b>T4</b>	Tümör herhangi bir boyutta ve beraberinde; mediasten, kalp, büyük damarlar, trakea, rekürren laringeal sinir, özofagus, vertebra korpusu ve ana karina yapılarından birine invazyon ya da aynı taraf akciğerde farklı bir lobda nodül

**Tablo-8:**7.TNM Akciğer Kanseri Evrelemesinde N faktörü (37)

<b>Nx</b>	Bölgesel lenf bezlerinin değerlendirilememesi
<b>N0</b>	Bölgesel lenf nodu metastazı yok
<b>N1</b>	Aynı taraf peribronşiyal ve/veya aynı taraf hiler lenf bezlerine metastaz ve primer tümörün direkt yayılması ile intrapulmoner bezlerin tutulması
<b>N2</b>	Aynı taraf mediastinal ve/veya subkarinal lenf bezlerinin tutulması
<b>N3</b>	Karşı taraf mediastinal, hiler; aynı veya karşı taraf supraklaviküler veya skalen lenf bezlerinin tutulması

**Tablo-9:**7.TNM Akciğer Kanseri Evrelemesinde M Faktörü (37)

<b>M</b>	Uzak metastaz varlığının değerlendirilememesi
<b>M</b>	Uzak metastaz olmaması
<b>M1a</b>	Primer tümör ile farklı lobda satellit nodül olması. Plevral, perikardiyal malign ya da nodül olması
<b>M1b</b>	Uzak organ metastazı

**Tablo-10:** Küçük Hücreli Dışı Akciğer Kanseri Evreler (37)

Evre	TNM Alt Grubu
<b>0</b>	Karsinoma in situ
<b>IA</b>	T1a-bN0M0
<b>IB</b>	T2aN0M0
<b>IIA</b>	T2bN0M0 / T1N1M0 / T2aN1M0
<b>IIB</b>	T3N0M0 / T2bN1M0
<b>IIIA</b>	T4N0M0 / T3N1M0 / T4N1M0 / T1-2-3N2M0
<b>IIIB</b>	T4N2M0 / T1-2-3-4N3M0
<b>IV</b>	T1-2-3-4N1-2-3M0

## 2.6.2 Küçük Hücreli Akciğer Kanseri Evrelemede İkili Sistem

American Joint Committee On Cancer (AJCC) ve Uluslararası Kanser Savaş Örgütü (UICC) 1996 yılında TNM sisteminde yaptığı son düzenlemede, yeni evreleme sisteminin küçük hücreli dahil olmak üzere akciğer kanserinin 4 ana hücre tipine de uygulanmasını önermişlerdir. Ancak “Veterans Administration Lung Cancer Group” un (VALG) önerdiği sınırlı ve yaygın hastalıktan oluşan ikili sistem pratik hayatta daha çok kullanılmıştır. “International Association for the Study Lung Cancer” (IASLC) 1989’da bu sistemi tekrar düzenlemiştir (28). Kabaca Evre I, II, III’ü sınırlı, Evre IV’ü yaygın hastalık kabul edebileceğimiz bu sistem Tablo-10’da gösterilmiştir.

**Tablo-10:** Küçük Hücreli Akciğer Kanseri Evrelemede İkili Sistem (28)

Sınırlı Hastalık:	Bir hemitoraksa sınırlı tümör; aynı ya da karşı tarafa hilar, mediastinal ve supraklaviküler lenf bezi metastazi; aynı taraf malign plevral effüzyon (TNM’ ye göre Evre 1,2,3 )
Yaygın hastalık:	Sınırlı hastalık kapsamına girmeyen tümör. (TNM’ ye göre Evre 4 )

## 2.7 MİKRORNA

MikroRNA’lar genom üzerinde protein kodlayan intron veya ekzon bölgeleri ve protein kodlamayan bölgelerdeki RNA genlerinden transkripsiyonu sağlanan, fakat proteine translasyonu gerçekleşmeyen, fonksiyonel RNA molekülleridir. Transkripsiyonel ve posttranskripsiyonel seviyede negatif gen düzenleyiciler olarak rol oynarlar. Yaklaşık olarak 20-25 nükleotid uzunluğunda, tek zincirli, protein kodlaması yapmayan kısa RNA dizileridir (38).

MiRNA’lar, small nükleolar RNA’lar (snoRNAs), small nükleer RNA’lar (snRNAs), short interfering RNA’lar (siRNAs) ve PIWI interacting RNA’ları (piRNAs) içeren small RNA’ların endojen sınıfındadır. İnsan genomunun yaklaşık %3’ünü

oluşturan miRNA'lar protein kodlayan genlerin %30'unun düzenlenmesi sağlarlar (39). İnsan genomunda miRNA'ları kodlayan yüksek seviyede korunmuş yüzlerce gen bölgesi keşfedilmiştir. Şu an itibariyle, insan genomunda 1000'in üzerinde mikroRNA tanımlanmıştır (40-41).

### **2.7.1 MikroRNA'ların Tarihçesi:**

Lee ve çalışma arkadaşları 1993 yılında Victor Ambros laboratuvarında yuvarlak solucan olan *Caenorhabditis Elegans*'ta lin-4 olarak adlandırdıkları genin hiçbir protein kodlamamasına karşın 22 nükleotid uzunluğunda küçük bir RNA transkripte ettiğini tespit etmişlerdir. Lin-4'ün lin-14 mRNA'sının 3'UTR bölgesiyle baz eşleşmesi yaparak lin-14'ün translasyonunu baskıladığını göstermişlerdir (42,43). 2000 yılında Reinhart ve ark. *C.elegans*'da 22 nükleotit uzunluğunda, lethal-7 (let-7) olarak adlandırılan, canlının gelişim zamanlamasını düzenleyen farklı bir mikroRNA keşfetmişlerdir ve bu miRNA'nın lin-41, lin-28, lin42 ve daf12 mRNA'larının fonksiyonlarını baskıladığını ileri sürmüşlerdir (44). Let-7'nin *Drosophila* ve insanları da içine alan türler arasında da korunmuş olduğu keşfedilmiş olup, bu durum let-7 nin önemli bir biyolojik fonksiyona sahip olduğunu göstermiştir (45).

2001 yılında lin-4 ve let-7 'ye benzeyen birçok küçük RNA molekülü, hemen hemen bütün çok hücreli organizmalarda keşfedilmesiyle mikroRNA terimi kullanılmaya başlanmıştır (46). 2002 yılında miRNA 'larla kanser arasındaki ilişkiyi araştıran çalışmalar yapılmıştır. Yapılan çalışmaların sayısı arttıkça insan genomunda yaklaşık 1000 miRNA 'nın olduğu ileri sürülmüştür (47). 2006 'da miRNA'ların organize terminoloji ve sekanslarını içeren bir veritabanı olan miRBase kurulmuştur (48). Son güncellemeler ile miRBase 21 veritabanında insan genomunda tanımlanmış 1996 tane miRNA vardır (49).

### **2.7.2 MikroRNA'ların Oluşumu:**

MikroRNA'lar birbirini izleyen üç basamaklı işlem sonucunda meydana gelir. İlk basamakta miRNA genlerinden primer miRNA (pri-miRNA)'ların transkripsiyonu gerçekleşir. İkinci basamakta primimiRNA'lar prekürsör miRNA (pre-miRNA)'lara nükleus içinde dönüştürülür. Üçüncü ve son basamakta olgun miRNA'ların sitoplazma içinde oluşumu gerçekleşir (50,51). 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" kuyruguna sahip sap-ilmik yapısındadır (Şekil-1). 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 (52).

Bir nükleaz olan Drosha ile çift iplikli RNA bağlayıcı bir protein olan Pasha'nin oluşturduğu bu komplekse mikro işlemci kompleks (Mikroprocessor complex) adı verilir (50,53). 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) çevrilir (50,54,55).

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 (50,54,56).

### **2.7.3 MikroRNA'ların Fonksiyonu:**

MikroRNA'lar fonksiyonlarını kendi nükleotid dizilerine komplementer hedef genleri tanıma özelliğinin sayesinde 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 (50,41).

MikroRNA, hedef mRNA'nin 3'ucundaki translasyona uğramayan bölgesi (untranslatedregion-UTR)ya da hedef mRNA'nin 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 ihtivaeder ve translasyonun baskılanması ile sonuçlanır. ORFbölgesi 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 (50,57,58).

#### **2.7.4 MikroRNA'ların Klinik Önemi ve Hastalıklarla İlişkisi:**

Dolaşımdaki miRNA'ların sadece kanda bol miktarda bulunması ile değil aynı zamanda oldukça kararlı bir yapı göstermesi nedeniyle klinikte hastalıkların tanısı ve prognozunda önemli bir biyobelirteç olarak kullanılabileceği gösterilmiştir. Yapılan son çalışmalarla miRNA'ların başta kan olmak üzere çeşitli vücut sıvılarında varlığı potansiyel klinik biyobelirteç olarak kullanımını mümkün kılmıştır. miRNA'lar plazmada bulunan RNAaz'lara oldukça dirençlidirler. Bunların yanı sıra miRNA'ların kaynatma,yüksek/düşük pH, uzun süreli depolama, dondurup çözme gibi zor koşullara dayanıklı olduğu da bildirilmiştir. Kısacası miRNA'ların kararlı olması, invazyona gerek kalmadan kolaylıkla elde edilebilmesi (doku, serum veya plazmadan), serum ve plazma örnekleri ile çalışmayı mümkün kılmaktadır. Ayrıca miRNA'ların formalin ile fikse edilmiş dokularda stabil kalması doku çalışmalarına da olanak vermiştir (59).

Yapılan son çalışmalar ile miRNA'lardaki mutasyonlar ve ekspresyon düzensizlikleri ile birçok hastalık arasında direkt bir ilişki olduğu gösterilmiştir. miRNA'lar organizmada bir çok biyolojik süreçte görev aldığı için, miRNA genlerinde meydana gelen çeşitli mutasyonlar hastalıklara neden olabilmektedir. miRNA'ların başta kanser olmak üzere, kardiovasküler bozukluklar, inflamuar hastalıklar, enfeksiyonlar, gelişimsel bozukluklar, musküler bozukluklar, nörodejeneratif hastalıklar gibi çeşitli hastalıklarla ilişkisi olduğu gösterilmiştir (60).

### 2.7.5 MikroRNA ve Kanser:

Hücreler anormal olarak çoğaldıklarında ve apoptoz fonksiyonlarını kayb ettiklerinde genellikle kanserleşme özelliği gösterirler. MikroRNA'ların hücre proliferasyonu ve apoptoz gibi birçok biyolojik süreçte etkili anahtar moleküller oldukları bugün artık açık bir şekilde bilinmektedir. Kanser gelişim sürecine mikroRNA'ların katkıda bulunduğunun ilk kanıtı, Calin ve arkadaşlarının 2001 yılında Kronik Lenfositik Lösemili (KLL) hastalarda yaptıkları moleküler çalışmayla ortaya konulmuştur. Gelişmiş ülkelerde en sık görülen yetişkin lösemi formu olan KLL hastalarının yaklaşık % 50'sinde 13q14 bölgesi delesyona uğradığı bilinmektedir.

Yapılan detaylı delesyon analizleri sonucunda bu bölgede yalnızca mir-15-a ve mir-16-1 genlerinin bulunduğu saptanmış ve Calin ve arkadaşları tarafından da 245 insan ve fare miRNA probu içeren miRNA mikroarray çalışmasıyla mir-15a ve mir-16-1'in ekspresyon düzeylerinin B hücreli KLL hastalarının % 68'inde bu miRNA'ların ekspresyonlarının azaldığı ya da hiç yapılmadığı bulunmuştur. Ayrıca miRNA ekspresyon profilinin, KLL hastalarının klinik ve biyolojik davranışıyla yakın ilişkili olduğu raporlanmıştır. Kanseri ve normal dokular arasındaki bu ekspresyon farklılıklarının belirlenmesi, miRNA'ların kanser patogeneziindeki rollerini daha da güçlendirmiştir (50,61).

Calin ve arkadaşlarının, 2004 yılında yaptıkları diğer bir çalışmada, insan miRNA genlerinin kanser ile ilişkisini araştırmak için, 186 adet miRNA geninin DNA üzerindeki pozisyonunu haritalandırarak ilgili genlerin daha önceden bilinen belirli kanser türlerinin ilişkili olduğu genetik değişiklikler ile karşılaştırılmıştır. Bu miRNA genlerinin çoğunlukla, heterozigotitenin kaybolduğu bölgeler olan kırılma kısımlara yerleşik olduğu saptanmıştır. Bu kırılma kısımlar amplifikasyonun minimal olduğu bölgeler veya genel kromozomal kırılmanın olduğu bölgeleridir. Bu bölgelerde moleküler lezyon sonucu oluşan genetik hasar spesifik kanserlere neden olmaktadır (50,62,63). 2003 yılında Michael ve arkadaşları, insanlardaki solid organ tümörlerini (kolonik ve rektal adeno karsinomlar) normal dokular ile karşılaştırdıklarında ekspresyon seviyeleri değişmiş olan miRNA'ları rapor ettiler (64). Daha sonraki yıllarda solid organ tümörlerine bağlı değişikliğe uğramış miRNA seviyeleri farklı kanser

türlerinde (meme, lenfoma, beyin, tiroid, akciğer, prostat ve hepatosellüler karsinoma) bulunmuştur (65,66).

MikroRNA'lar, hedefledikleri mRNA'nın moleküler düzeydeki özelliklerine göre onkogenik veya tümör süpresör özellik kazanabilirler. Normal dokularda miRNA'lardan bazılarının protoonkogenlerin translasyonunu inhibe ettiği rapor edilmiştir. Fonksiyonları bir onkogenin ekspresyonunu kontrol etmek olan bu miRNA'lar "tümör süpresör miRNA'lar" (TSmir) olarak bilinmektedir. Dolayısıyla tümör baskılayıcı miRNA'ların ekspresyonunun azalması onkogenin ekspresyonunun artmasına ve tümör oluşumuna sebep olacaktır. Bunun tersi olarak, "onko-mir" olarak ifade edilen bazı miRNA'ların kanser gelişimini arttırdığı görülmektedir. Sonuç olarak mikroRNA'lar, onkogen ve tümör süpresör mRNA'ların her ikisini de potansiyel hedef olarak görüp, fonksiyonlarını bu mRNA'lar üzerinden gösterirler (50,66,67).

#### **2.7.6 Akciğer Kanseri Tumor Baskılayıcı Fonksiyona Sahip miRNA'lar:**

Let-7 miRNA ailesinin genleri farklı kromozomal bölgelerde, özellikle kromozomlardaki fragil bölgelerde haritalanmıştır. Bu genler akciğer kanserinde sıklıkla kaybolur (68). Normalde Let-7 ailesine ait miRNA'ların akciğer dokusunda yüksek seviyelerde bulunduğu in vivo ve in vitro çalışmalarla gösterilmiştir (69,70). Tümör baskılayıcı aktiviteye sahiptir. Hücre büyümesini ve hücre siklusunun ilerlemesini baskılayıcı görev yapar (70). Takamizawa ve arkadaşları Let-7 ailesine ait miRNA'ların akciğer tümörlerinde %40 ve akciğer kanseri hücre dizilerinde %60 oranında azaldığını göstermişlerdir. Ayrıca, bu çalışmada KHDAK olgularında azalmış LET-7 ekspresyonu kötü prognozla ilişkilendirilmiştir (71). Çok sayıda Let-7 ailesi hedef geni vardır. Bunlar hücre siklusu kontrolörleri: CDC25A, CDK6, cyclin D2 ve K-RAS, HMGA2, c-MYC onkojenleridir (72). Let-7 ailesinin hedef genleri değerlendirildiğinde tümör baskılayıcı aktivite kolayca anlaşılmaktadır.

Bir başka miRNA ailesi miR-34'ün, birçok farklı kanser tipinde, p53 tarafından uyarılan tümör baskılayıcı etkisi olduğu gösterilmiştir (73-76). Bir transkripsiyon faktörü olan p53 miR-34 ailesi genlerinin okunmasını indükler. Bu aileye ait genlerin promotörleri metilasyonla inaktive edilebilen CpG bölgesine sahiptir. miR-34 ailesinin hedef genleri c-myc, CREB, cyclin E, CDK4/6, Bcl-2'dir (72). Bu ailenin ektopik

ekspresyonu akciğer kanserli hücrelerde büyüme ve çoğalmayı özellikle cyclin E'yi baskılayarak yavaşlatır (77).Feng ve arkadaşları, farelerde ve KHDAK hücre dizilerinde yaptıkları çalışmalarında artmış miR-192 ekspresyonunun retinoblastoma 1 (RB1) mRNA'sını hedefleyerek tümör baskılayıcı etkiye yol açtığını, dolayısıyla hücre çoğalmasını baskıladığını ve apoptozu uyardığını göstermişlerdir (78).

Yapılan bir başka çalışmada ise miR-451 seviyesinde izlenen artışın, KHDAK hastalarında tümör hücrelerinin farklılaşmasında, patolojik evreleme ve lenf nodu metastazın üzerinde etkili olduğu saptanmıştır. miR-451, ras related protein14 (RAB14)'ü hedef alarak kuvvetle baskılar. Bunun sonucunda tümör baskılayıcı etkiye yol açar (79). Akciğer kanserlerinin yayılmasında miRNA'ların yeri olduğu gösterilmiştir. KHDAK'larda kanser dokusu normal akciğer dokusu ile karşılaştırılmış ve bu iki dokudaki hücrelerin farklı hsa-miR-125a-3p ve hsa-miR- 125a-5p ekspresyon profilleri sergilediği anlaşılmıştır. Bu miRNA'ların A549 ve SPC-A-1 hücre dizilerinde hücre göçü ve invazyonu açısından baskılayıcı veya artıcı ters etkilere sahip olduğu da gösterilmiştir (80). Bir adaptör protein olan proto-onkojen c-Crk (CRK) hücre adezyonu, proliferasyonu ve migrasyonunu artıran intraselüler sinyal yollarında görev yapmaktadır. Akciğer kanseri hücrelerinde miR-126 CRK'yi baskılayarak bu etkileri azaltmaktadır (81). Adenokarsinomlarda CRK benzeri bir etkiye sahip olan Flt1 ise miR-200 tarafından baskılanmaktadır (82).

### **2.7.7 Akciğer Kanserinde Onkojenik Fonksiyona Sahip miRNA'lar: Onkomirler**

Onkojenik özelliklere sahip miRNA'lar onkomir olarak adlandırılmaktadır. Onkomirler çok çeşitli kanser türlerinde kontrolsüz büyümeyi artırıcı ve antiapoptotik yönde fonksiyon gösterirler. MiR-17-92 (miR-17, miR- 18a, miR-19a, miR-20a, miR-19b-1, miR-92-1) topluluğunun tüm üyeleri 13q31.3'de yer alır ve onkojen olarak değerlendirilir. C-MYC ile birlikte çalışarak tümör gelişimini hızlandırır ve neovaskülarizasyonu kolaylaştırır. KHAK'da tümör dokusunda miktarları artmaktadır. Düzeylerindeki artış RB1 inaktivasyonuna yol açar (83).

HeLa hücrelerinde PTEN mRNA'larını hedef aldıkları gösterilmiştir (84). PTEN PI3K/Akt yolağında görev yapmakta ve apoptoz yolunu açık tutmaktadır. Akciğer kanserleri ve diğer bazı herediter ve sporadik kanserlerde mutasyona uğrar veya

ortamdan elimine edilir (85). MiR-17-92'nin akciğer kanserlerinde hücre çoğalmasını nasıl indüklediği halen moleküler mekanizması tam olarak bilinmeyen, araştırılması gereken bir alandır. MiR-31 ise direkt olarak tümör baskılayıcı “large tumor suppressor 2 (LATS2)” ve “PP2A regulatory subunitBa isoform (PPP2R2A)” genlerinin mRNA'larını yıkarak onkogenik etki yapar. MiR-31'in ortamda olmadığı durumlarda klonal olarak akciğer kanseri hücrelerinin büyümesi ve in vivo tümör gelişimi baskılanmaktadır (87).

### **2.7.8 Akciğer Kanserinde miRNA'ların Biyomarkır Olarak Yeri:**

MikroRNA'lar onkogeneizde oynadıkları önemli rol nedeniyle, gelecek vadeden tanısal ve prognostik biyomarkırlar olarak kabul edilmeye başlanmıştır. Belli miRNA'ların tümör dokusunda, serumda ve balgamda ekspresyon profillerinin saptanmasının bilgi sağlayıcı olduğu düşünülmektedir.

#### ***Tanısal Biyomarkırlar:***

Balgam sitolojisi akciğer kanserinin tanısında çok uzun yıllardan beri kullanılır. Xie ve arkadaşları kanser hastalarının balgam örneklerinde miR-21 ekspresyonunun kanser olmayan bireylere göre artmış olduğunu göstermişlerdir (87). Daha sonra yapılan çalışmalarda da balgamda artmış miR-21 ekspresyonunun %69.9 duyarlılık ve %100 özgüllükle akciğer kanserinde tanı koyduruculuğu olduğu rapor edilmiştir (88). Böylece balgamda artmış miR-21 ekspresyonunun tespiti akciğer kanseri tanısında kullanılabilecek noninvaziv bir yaklaşım olarak değer kazanmıştır.

Shen ve arkadaşları erken dönem KHDAK'da 12 farklı miRNA'nın alışılmadık bir şekilde eksprese olduğunu tanımlamışlardır. Bunların arasından beş miRNA'nın tümör dokusu ve plazmadaki ekspresyon düzeyleri karşılaştırıldığında önemli derecede bir fark saptanmıştır. Ayrıca, miR-21, miR-126, miR-210 ve miR-486-5p düzeylerini normal kontrollerle karşılaştırıldığında %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 (89). KHDAK'da erken

dönemde miR-1254 ve miR-574-5p ekspresyonu önemli derecede artmış olarak bulunmuştur (90).

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 (91). 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 (92).

### ***Prognoz Biyomarkırları:***

Az diferansiye tümör dokusunda düşük seviyede ifade edilen let-7a-2 ve yüksek düzeyde ifade edilen miR-155 akciğer adenokarsinomlarında azalmış sağkalım süresine işaret etmektedir (69,93). Ayrıca, evre bağımsız olarak akciğer kanserlerinde azalmış let-7 ekspresyonunun postoperatif azalmış sağkalım süresiyle ilişkili olduğu da ileri sürülmüştür (80). Hu ve arkadaşları cerrahi ve adjuvan kemoterapi ile tedavi edilen evre IIIa akciğer adenokarsinom ve skuamöz hücreli karsinom tanısı almış hastalarda serumda yüksek oranda ifade bulan miR-486 ve miR-30d'nin azalmış sağkalım süresine işaret ettiğini bildirmişlerdir. Aynı çalışmada, serumda miR-1 ve miR-499'un düşük oranda ifade edilmesinin de yine kısa sağkalım süresiyle ilişkili olduğu gösterilmiştir (94). Bir başka çalışmada ise skuamöz hücreli karsinom tümör dokusunda yüksek miR-146b düzeyinin yine kısa sağkalımla ilişkili olduğu saptanmıştır (95). Gallardo ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada ise, tümör dokularındaki düşük miR-34 ekspresyonu ile yüksek nüks riski arasında ilişki bulunmuştur. Bu hastalarda düşük miR-34 ekspresyonu P53 mutasyonları ile birlikte değerlendirildiğinde ise yine hastaların relaps olasılığının yüksek olduğu gösterilmiştir (96). KHDAK olan hastalarda beş farklı miRNA'nın ifade profili ile prognoz arasında nasıl bir ilişkili olduğunu araştıran Yu ve arkadaşları let-7a ve miR-221'in koruyucu olarak hareket ettiğini, miR-137, miR-372 ve miR-182'nin ise ölüm riskini artırdığını rapor etmişlerdir (97).

Gao ve arkadaşları ise yüksek miR21, düşük miR-143 ve düşük miR-181a ekspresyonunun KHDAK tanısı ve/veya prognozu açısından değeri olduğunu

göstermişlerdir (98). KHAK'da yüksek düzeyde miR-574-5'in kemoterapiye direnç ile önemli derecede ilgili olduğu saptanmıştır (99). Bir başka çalışmada ise adenokarsinom olgularının dondurulmuş dokularından yapılan üç kohortta miR-21, miR-17 ve miR-155 değerlendirilmiştir. Yüksek miR-21 ekspresyonu kötü prognozla ilişkili olarak bulunmuştur (100).

### **2.7.9 Akciğer Kanserinde miRNA'lar ve Hedefe Yönelik Tedavi:**

Özgül miRNA'lar tümör gelişiminin kontrolünde önemli bir rol oynar. Bu karsinogenezin de özgül miRNA'ların farmakolojik hedefler olarak seçilmesine yol açmıştır. Bu yaklaşımla, onkomirleri baskılayan miRNA deriveleri antikanser ajanlar olarak kullanıma sunulmaya başlanmıştır. Bu amaçla, modifiye edilmiş miRNA deriveleri olan kilitlenmiş nükleik asitler [locked nucleic acid (LNA)] kullanılmıştır. LNA'lar antagomirler olarak da adlandırılmaktadır. Fare modelleri ve insan olmayan primatlarda LNA'ların özgül olarak miRNA'ları baskıladıkları gösterilmiştir (101).

Çeşitli antagomirler hayvan modellerinde başarılı sonuçlar vermiştir (102,103). Yakın gelecekte akciğer kanserinde antagomirleri kullanarak onkomirleri baskılamak oldukça rağbet gören bir yaklaşım olacaktır. İkinci yaklaşım ise tümör baskılayıcı aktivitesi olan miRNA'ların etkisini artırmak ya da bozulmuş olan aktivitelerini düzeltmektir. Fare modellerinde intravenöz olarak verilen miR-34 analogları ile antitümörojenik etki sağlanmıştır (104). Yine, miR-34 tedaviye dirençli K-ras (LSL-G12D) (/+); Trp53 (LSLR172H) (/+) akciğer adenokarsinomlu farelerde tümör oluşumunu ve ilerlemesini engellemiştir (105). Bir başka çalışmada ise KHDAK'lı farelerde intranasal olarak verilen let-7'nin antitümöral etkisi olduğu gösterilmiştir (106). EGFR ve sinyal yolağını hedefleyen miR-133b'nin KHDAK'da hücre büyümesini inhibe ettiği gösterilerek gelecek için potansiyel tedavi ajanı olabileceği bildirilmiştir (106).

Akciğer kanseri gelişiminde ortaya çıkan onkomirlerin ve tümör baskılayıcı aktiviteye sahip olan miRNA'ların ekspresyon profillerinin daha iyi anlaşılması miRNA temelli tedaviler için oldukça aydınlatıcı olacaktır. Şimdilik erken dönem prelinik testlerin yapılmış olmasına rağmen var olan çalışmalar gelecek için umut vermektedir.



### 3.MATERYAL VE METOD

#### 3.1 RNA İzolasyonu Protokolü

Hastalardan toplanan 5 ml kan örnekleri 4000 rpm de 7 dakika santrifüj edilerek serum elde edilmiştir. Elde edilen serum örnekleri taze olarak RNA izolasyonu sağlanmıştır. RNA izolasyonu Qiagen miRNeasy kit (katalog no:217184, Germany) kullanılmıştır. 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 gerçekleştirilmiştir. Oluşan üst berrak faz alınarak toplam hacmin 1,5 katı %96'lık saf alkol eklenmiştir. Daha sonra kit içerisinde bulunan kolonlardan 8000 xg de 15 saniye santrifüj edilmiştir. Daha sonra kit içerisinde bulunan RWT ve RPM solüsyonları 500 µl konularak 8000 xg de 15 saniye santrifüj edilerek kolon yıkanmıştır. Ardından % 80'lik alkol 500 µl konularak 8000 xg de 2 dakika santrifüj işlemi yapılmıştır. Daha sonra 8000 xg de 4 dakika alkol buharlaştırma işlemi için santrifüj edilmiştir. Son olarak 20000 xg de 1 dakika RNase içermeyen su konularak RNA elde edilmiştir. elde edilen RNA ölçülenen -80°C de saklanmıştır.

#### 3.2 cDNA 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

### 3.3 Real-Time Reaksiyonu

Real time reaksiyonu için elde edilen cDNA'lar kullanılmıştır. Bunun için Qiagen (Germany) özel olarak dizayn edilen miR-146 a, miR-146b, miR—200, miR-205, miR-9, miR-155, miR-192, miR-23, miR-520, miR-21, miR-372, miR-29, miR-486, miR-30d, miR-1 miR-499 primerleri kullanılmıştır. Normalizatör olarak miR-39 kullanılmıştır. 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<sup>0</sup>C de 15 dakika bir basamak, 94<sup>0</sup>C 30 saniye, 55<sup>0</sup>C 30 saniye, 70<sup>0</sup>C 15 saniye 40 basamak olarak gerçekleştirilmiştir.

### 3.4 İstatistiksel Analiz

Realtime analiz sonuçları qiagen analiz sayfası <http://pcrdataanalysis.sabiosciences.com/pcr/arrayanalysis.php?target=readout&subtarget=cusQC&test=1&standard=on> web sitesi kullanılarak. RT<sup>2</sup> Profiler PCR Array Data Analysis version 3.5 kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

## 4.BULGULAR

### 4.1. Hastaların Özellikleri

Çalışmamıza 2 (%5,2)'si kadın 36 (%94,7)'sı erkek olmak üzere toplam 38 yeni tanı küçük hücreli dışı akciğer kanserli hasta alındı. Hastaların medyan yaşı 64 olup, yaş aralığı 38-81 arasındaydı. Hastalar 31 Mart 2014 ve 17 Eylül 2015 tarihleri arasında 16 ay süre ile izlendi. Hastaların ortalama takip süresi  $7,8 \pm 2,18$  aydı. ECOG (Eastern Cooperative Oncology Group) performans skoru 10 (%26) hastada 0, 18 (%47,3) hastada 1, 9 (%23) hastada 2, 1 (%2,6) hastada 3 idi.

Hastaların 36 (%94,7)'sında sigara öyküsü mevcuttu. 2 (%5,2) hastada sigara öyküsü yoktu. Ortalama sigara tüketimi 47 paket/yıl olarak belirlendi. Tanı 25 (%65,7) hastada bronkoskopiyle, 2 (%5,2) hastada lobektomiyle, 4 (%10,5) hastada wedge rezeksiyonla, 4 (%10,5) hastada transtorasik biyopsiyle, 3 (%7,8) hastada mediastinoskopiyle konmuştu.

Özgeçmişlerine göre değerlendirildiğinde hastaların 9 (%23,6)'unda HT ( hipertansiyon ), 11 (%28,9)'inde KOAH ( kronik obstruktif akciğer hastalığı ), 5 (%13,1)'inde DM ( diyabetes mellitus ), 2 (%5,2)'sinde DM ve HT, (%2,6)' inde DM ve KOAH, 1 ( %2,6) ' inde HT ve KOAH varken, 9 (%34,2) hastada ek hastalık bulunmamaktaydı. Aile öyküsüne göre, 6 (%15,7) hastada akciğer kanseri, 2 (%5,2) hastada larinks kanseri, 2 (%5,2) hastada beyin tümörü ve 1 (%2,6) hastada hepatoselüler kanser mevcut iken, 28 (%73,6) hastada ailede malignite öyküsü yoktu. 2 hastada ise ailede 1 den fazla kanser öyküsü mevcut idi.

Onaltı (%42,1) skuamöz hücreli, 18 (%47,3) hasta adenokarsinom, 2 (%5,2) hasta NOS (Başka türlü sınıflandırılmayan akciğer kanseri) ve 2 (%5,2) hasta büyük hücreli akciğer kanseri olarak raporlanmıştı.

Evrelere göre ise hastaların 1 (%2,6)'i evre 2A, 1 (%2,6)'i evre 2B, 9 (%23,6)'u evre 3A, 9 (%23,6)'u evre 3B, 18 (%47,3) 'i evre 4 olarak değerlendirildi. Otuz sekiz (%100) hasta kemoterapi almış, kemoterapi almayan hasta bulunmamakta idi. On iki (%31,7) hasta radyoterapi almışken, 26 (%68,4) hasta radyoterapi almamıştı. Kilo kaybı açısından değerlendirildiğinde hastaların 20 (%52)'inde kilo kaybı görülürken, 18(%48)' inde kilo kaybı görülmemişti.

Hastaların takibinde 6 (%15,7) parsiyel yanıt, 24 (%63,1) progresyon, 4 (%10,5) tam yanıt, 4 (%10,5) stabil hastalık olarak değerlendirildi. Ortalama progresyonsuz sağ kalımları 6 ay, genel sağ kalımları 7,7 ay idi. Hastaların sosyodemografik özellikleri tablo 11'de gösterilmiştir.

**Tablo-11 . Çalışma hastalarının sosyodemografik özellikleri**

		N	%
Cinsiyet	Kadın	2	5,2
	Erkek	36	94,7
Yaş	≤60	11	28,9
	>60	27	71,0
Meslek	Ev hanımı	2	5,2
	Memur	3	7,8
	İşçi	15	39,4
	Çiftçi	18	47,3
Yaşadığı yer	Şehir merkezi	17	44,7

	Perifer (ilçe, köy vs.)	21	55,2
Operasyon tipi	Mediastinoskopi	3	7,8
	Transtorasik bx.	4	10,5
	Lobektomi	2	5,2
	Wedge rezeksiyon	4	10,5
	Bronkoskopik bx.	25	65,7
Histopatolojik tipi	Skuamöz	16	42,1
	Adenokarsinom	18	47,3
	NOS	2	5,2
	Büyük hücreli	2	5,2
Ailede Malignite	Beyin tm	2	5,2
	Hepatoselüler tm	1	2,6
	Larenks tm	2	5,2
	Akciğer tm	6	15,7
	Yok	27	71,05
Sigara öyküsü (paket/yıl)	Kullanmayan	2	5,2
	0-20	3	7,8
	20-50	18	47,3
	>50	15	39,4
Ek hastalık	Var	29	76,3
	Yok	9	23,6
Kilo kaybı	Var	20	52
	Yok	18	48
Evre	Evre 1A	0	0
	Evre 2A	1	2,6
	Evre 2B	1	2,6
	Evre 3A	9	23,6
	Evre 3B	9	23,6
	Evre 4	18	47,3

## 4.2. SAĞKALIM ANALİZLERİ

Çalışmamızdaki 38 hastanın cinsiyetine göre progresyonsuz ve genel sağ kalım analizi yapıldı. Cinsiyete göre hastaların PFS analizi istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptandı. ( $p<0,05$ ). GS analizinde ise istatistiksel anlamlı farklılık saptanmadı. ( $p>0,05$ )

Altmış yaş altı ve 60 yaş üzeri olarak gruplandırılan hastaların progresyonsuz ve GS analizleri yapıldı. İki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ( $p>0,05$ ).

Hastalar mesleki olarak işçi, memur, ev hanımı ve çiftçi olarak gruplandırıldığında progresyonsuz ve genel sağ kalım analizlerinde istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı ( $p>0,05$ )

Hastaların bronkoskopi, transtorasik biyopsi, lobektomi, mediastinoskopi veya wedge biyopsiyle tanı almasının progresyonsuz ve genel sağ kalım üzerine anlamlı bir fark oluşturmadığı görüldü ( $p>0,05$ ).

Hastaların patolojik tipleri, sigara kullanımı, evreleri arasında progresyonsuz ve GS analizlerinde istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilmedi ( $p>0,05$ ).

Hastalar kilo kaybı açısından değerlendirildiğinde PFS ve GS açısından istatistiksel anlamlı farklılık ortaya çıktı. ( $p<0.001$ )

Hastaların kemoterapiye sekonder toksisite açısından PFS açısından anlamlı bir fark ortaya çıkmazken, GS analizleri yapıldığında istatistiksel olarak anlamlı farklılık

olduğu ortaya konuldu ( $p<0.05$ ). Hastaların sosyodemografik ve klinik özelliklerinin progresyonsuz ve GS açısından istatistiksel analizleri tablo 12 ve 13 'de gösterilmiştir.

**Tablo-12. Progresyonsuz sağkalımı etkileyen faktörler(Kaplan meier ve Log-rank)**

		Ortalama $\pm$ SD	P
Cinsiyet	Erkek	8,4 $\pm$ 0,5	0,010
	Kadın	4,0 $\pm$ 1,0	
Yaş	0-60 yaş	9,5 $\pm$ 0,9	0,148
	>60 yaş	7,3 $\pm$ 0,5	
Meslek	Ev hanımı	4,0 $\pm$ 1,0	0,076
	Çiftçi	8,4 $\pm$ 0,7	
	İşçi	8,1 $\pm$ 0,7	
	Memur	5,5 $\pm$ 1,0	
Sigara kullanımı	Yok	6 $\pm$ 2,8	0,321
	0-20 paket/yıl	6 $\pm$ 3,6	
	20-50 paket/yıl	6,4 $\pm$ 2,3	
	>50 paket/yıl	5,6 $\pm$ 2,4	
Histopatolojik tipi	Büyük hücreli	7,5 $\pm$ 0,3	0,926
	NOS	4,5 $\pm$ 1	
	Adenokarsinom	7,7 $\pm$ 0,7	
	Skvamöz	8,1 $\pm$ 0,8	
Evre	1-2	10 $\pm$ 0	0,9
	3	8,3 $\pm$ 0,7	
	4	7,4 $\pm$ 0,7	
Tanısal girişim	Mediastinoskopik bx	8,3 $\pm$ 2,0	0,11
	Transtrorasik bx.	4,0 $\pm$ 1,4	
	Lobektomi	9,0 $\pm$ 1,4	
	Wedge	2,5 $\pm$ 2,0	

	rezeksiyon		
	Bronkoskopik bx.	6±2,3	
Toxisite	VAR	6,47±1,1	0,153
	YOK	8,3±0,5	
Yaşadığı yer	Taşra	8,2±0,6	0,992
	Kent	7.1±0,6	
Kilo kaybı	VAR	6,1±0,6	P<0.001
	YOK	10,5±0,3	

\*p<0,05 değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

**Tablo-13 . Genel sağkalımı etkileyen faktörler(Kaplan meier ve Log-rank)**

		Ortalama ±SD	P
Cinsiyet	Erkek	10,2±0,7	0,232
	Kadın	8,5±0,5	
Yaş	0-60 yaş	10,2±0,5	0,091
	>60 yaş	9,9±0,8	
Meslek	Ev hanımı	8,5±0,5	0,434
	Çiftçi	10,4±1,1	
	İşçi	9,7±0,5	
	Memur	6,3±0,5	
Sigara kullanımı	Yok	9,5±2,1	0,102
	0-20 paket/yıl	8,3±2,5	
	20-50 paket/yıl	8,2±2,0	
	>50 paket/yıl	6,6±2,1	
Histopatolojik tipi	Büyük hücreli	10±0	0,970
	NOS	7,5±1	
	Adenokarsinom	9,3±0,5	
	Skvamöz	10,6±1,1	
Evre	1-2	14±0	0,541
	3	8,9±0,5	
	4	9±,0,6	
Tanısal girişim	Mediastinoskopik bx	9,6±1,1	0,044
	Transtrorasiik bx.	6,2±0,9	
	Lobektomi	11±4,2	
	Wedge	9,0±1,8	



	rezeksiyon		
	Bronkoskopik bx.	7,3±1,9	
Toxisite	VAR	6,9±0,8	0,015
	YOK	11,4±0,7	
Yaşadığı yer	Taşra	10,2±0,9	0,46
	Kent	9,5±0,5	
Kilo kaybı	VAR	8,4±0,8	P<0.001
	YOK	10,7±0,2	

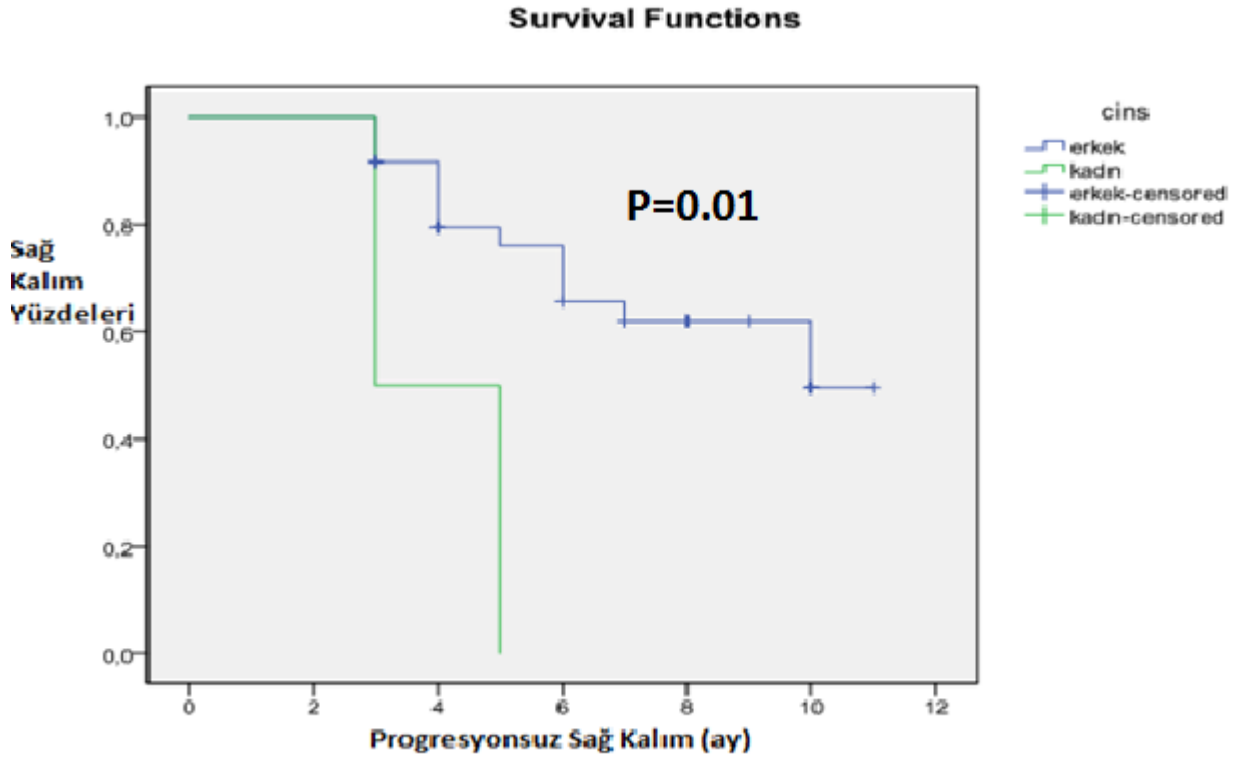
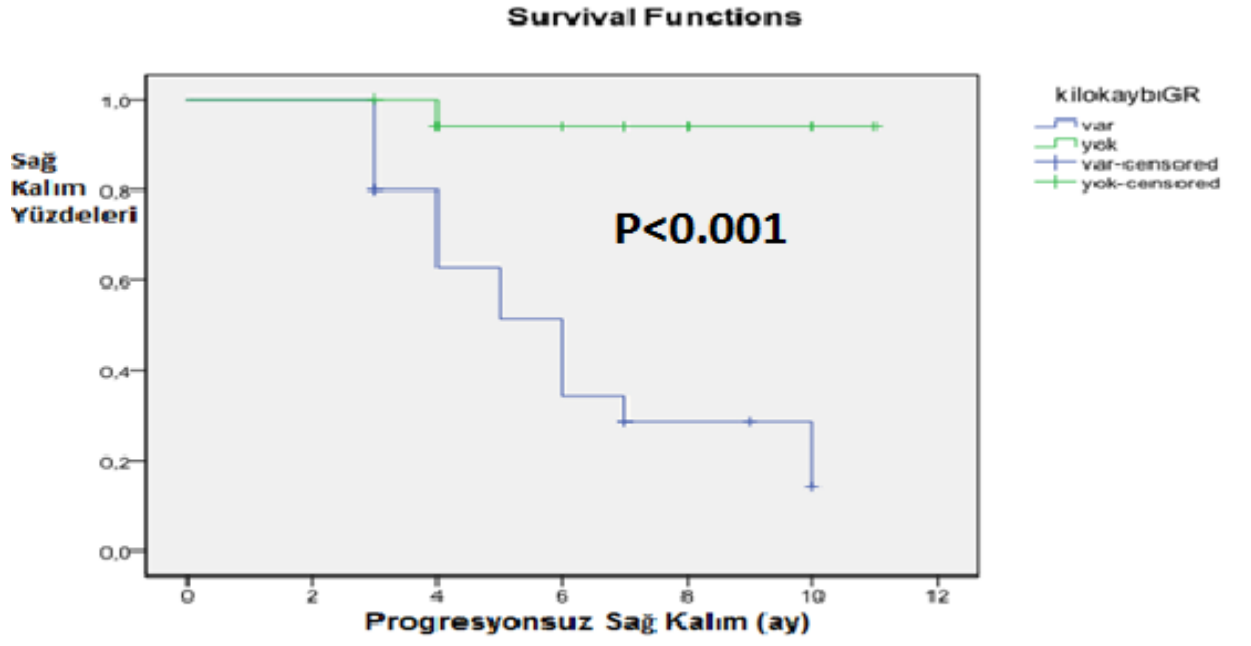
\*p<0,05 değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

Hastaların Kaplan-meier yöntemi ile yapılan sağkalım analizlerinde cinsiyet (PFSp=0,010) ve kilo kaybı (PFSp<0.001) açısından PFS üzerinde istatistiksel olarak anlamlı farklılık oluşturduğu görüldü (Tablo-14).

**Tablo 14. Progresyonsuz Sağkalımı etkileyen istatistiksel olarak anlamlı faktörler(Kaplan meier)**

		Ortalama ±SD	p değeri
Cinsiyet	Erkek	8,4 ± 0,5	0,010
	Kadın	4,0 ± 1,0	
Kilo kaybı	Var	6,1 ± 0,6	P<0.001
	Yok	10,5 ± 0,3	
	Yok	22,00±3,94	



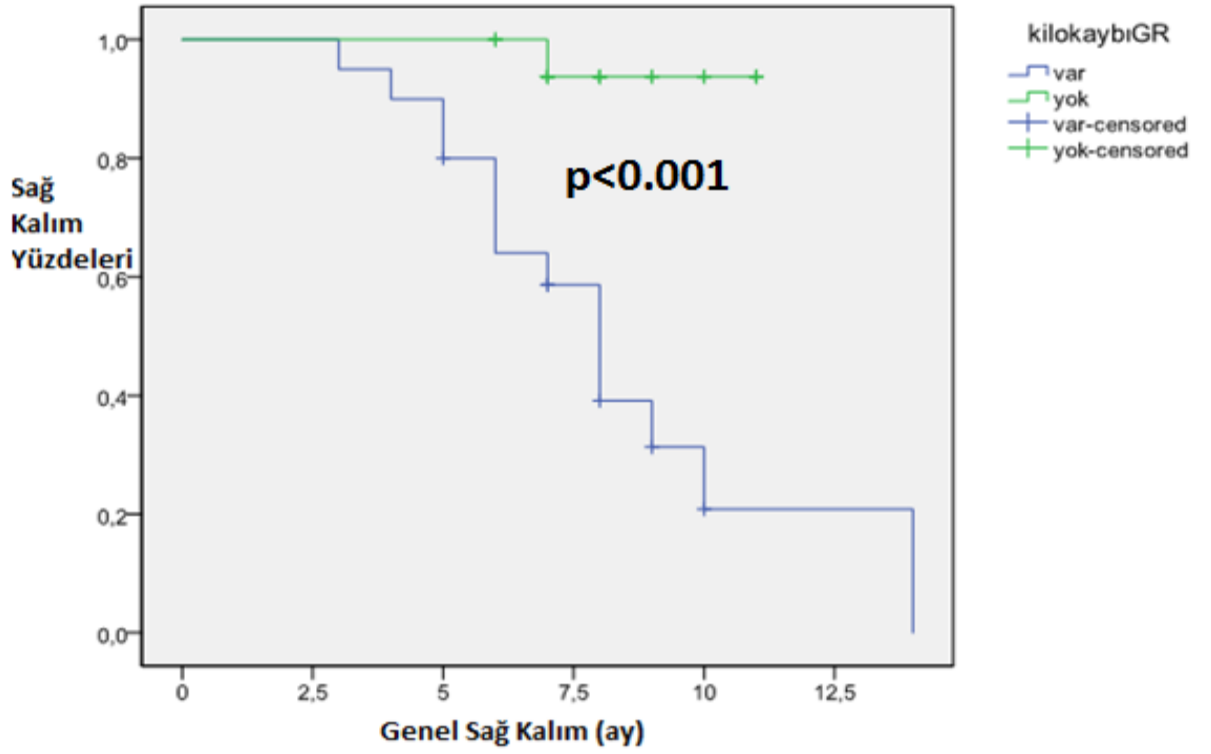


Hastaların Kaplan-meier yöntemi ile yapılan sağkalım analizlerinde toksisite (GS p:0.015), kilo kaybı (GS p=0.01) ve tanısal girişim (GS p:0.044) açısından GS üzerinde istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar ortaya çıktı (Tablo-15).

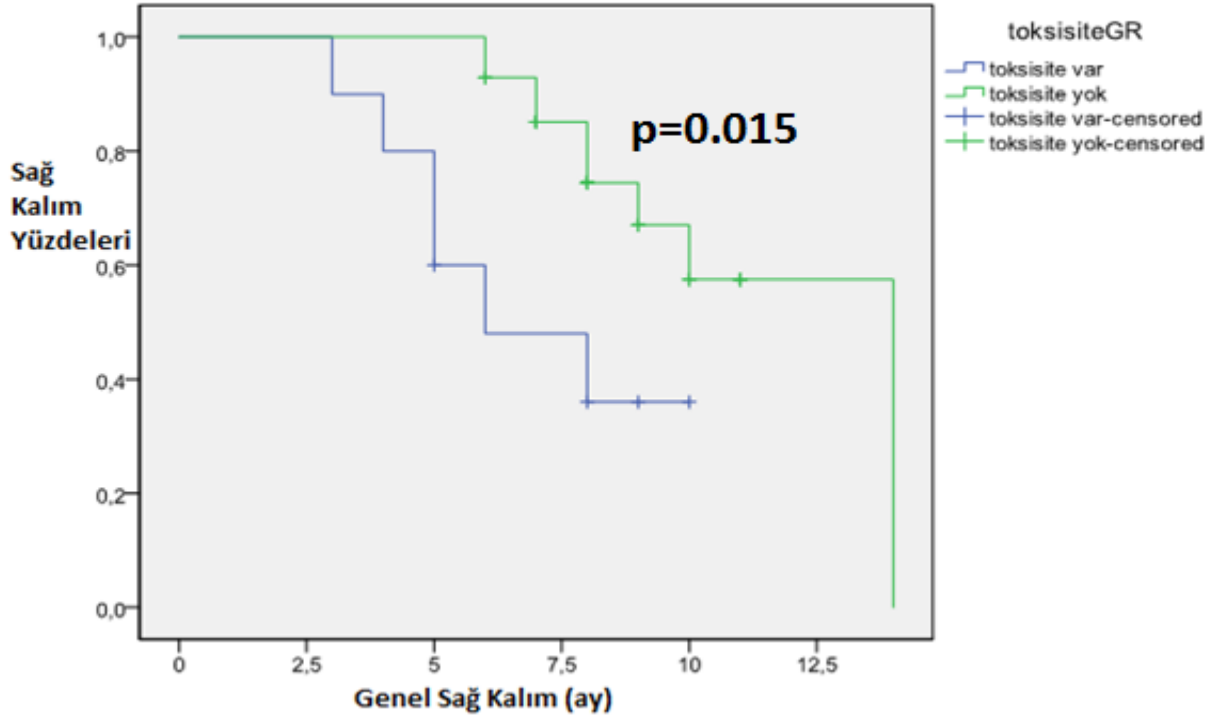
**Tablo 15.Genel Sağkalımı etkileyen istatistiksel olarak anlamlı faktörler(Kaplan meier)**

		Ortalama ±SD	P
Tanısal girişim	Mediastinoskopik bx	9,6±1,1	0,044
	Transtorasik bx	6,2±0,9	
	Lobektomi	11,0±4,2	
	Wedge rezeksiyon	9,0±1,8	
	Bronkoskopik bx	7,3±1,9	
Toxisite	Var	6,9±0,8	0,015
	Yok	11,4±0,7	
Kilo kaybı	Var	8,4±0,8	P=0.01
	Yok	10,7±0,2	

### Survival Functions



### Survival Functions



#### 4.3 TEDAVİ ÖNCESİ VE SONRASI MİRNA EKSPRESYON DEĞİŞİMLERİNİN SAĞKALIMA ETKİSİ

Hastaların tedavi öncesi ve tedavi sonrası miRNA  $2^{-\Delta Ct}$  değerleri tespit edilmiş ve <http://pcrdataanalysis.sabiosciences.com/pcr/arrayanalysis.php> sitesinde RT<sup>2</sup> Profiler PCR Array Data Analysis 3.5 programı kullanılarak kat değişim oranları hesaplanmış ve istatistiksel analizleri yapılmıştır. Hastaların tedavi öncesi miRNA ekspresyon düzeyleri ve tedavi sonrası kat değişim oranlarının progresyonsuz ve GS açısından istatistiksel analizleri yapılmıştır. Çalışmada bazı miRNA tiplerinde belirli sayıda hastada hiç ekspresyon gösterilmemiştir. Bu hastalar tedavi öncesi ve sonrası analizlerinde çalışma dışında bırakılmıştır.

Hastaların kilo kaybı varlığı, cinsiyet ve tedavi öncesi miRNA ekspresyon seviyeleri progresyonsuz sağkalımda açısından çoklu regresyon analizi ile değerlendirildi. PFS analizinde kilo kaybı (OR:15.9, %95 CI=2.0-123.0, p=0.008) istatistiksel olarak anlamlı saptandı. GS analizinde ise hastaların kilo kaybı, toksisite ve miRNA ekspresyon seviyeleri açısından çoklu regresyon analizi yapıldı. Kilo kaybı (OR:13.6, %95 CI= 1,764-105,527, p=0,012) istatistiksel olarak anlamlı tespit edildi. Ayrıca miR-486 (OR:0,9 ,%95 CI= 0,9-1 p=0,059) anlamlı olma eğilimde saptandı. Tablo 16 ve 17'de herbir hastanın tanı anındaki mirna ekspresyon düzeyine göre sağ kalım açısından cox regresyon analizi sonuçları gösterilmiştir.

<b>Tablo-16. Progresyonsuz sağ kalımda çoklu değişkenli analiz sonuçları */**</b>			
Değişkenler	OR	%95 GA min-max	P değeri
KİLO KAYBI	15,9	2,0-123,0	0,008
CİNSİYET	0,3	0,074-1,679	0,191
miR-1	1	0,9-1,0	0,776
miR-9	1,15	0-2887,261	0,972
miR-21	0,9	0,996-1,01	0,494
miR-23	0,9	0,9-1,01	0,838
miR-25	0,712	0,3-1,6	0,42
miR-30	0,963	0,716-1,29	0,804
miR-146a	0,96	0,68-1,37	0,859
miR-146b	0,9	0,48-1,77	0,828
miR-155	1	0-205	0,994
miR-192	0,18	0-23	0,496
miR-200	0,576	0,039-8,409	0,686
miR-205	0,2	0-168	0,696
miR-372	0,9	0-224	0,988
miR-486	0,9	0,9-1	0,336
miR-499	0,07	0-939474	0,756
miR-520	0	0-1,58	0,881

\*Cox regresyon analizi yapılmış olup modele kilo kaybı ve toksisite dahil edilmiş ve her bir miRNA bu iki parametre ile değerlendirilmiştir. \*\*p<0.05 anlamlı olarak kabul edilmiştir. GA: Güven aralığı. miRNA tedavi öncesi CT değerlerine göre analiz edilmiştir.

<b>Tablo-17. Genel sağ kalımda çoklu değişkenli analiz sonuçları</b>			
*/**			
Değişkenler	OR	%95 GA min-max	P değeri
KİLO KAYBI	13,6	1,764-105,527	0,012
TOKSİSİTE	2,381	0,807-7,021	0,116
miR-1	0,9	0,9-1,0	0,628
miR-9	0	0-0,9	0,546
miR-21	0,9	0,9-1,0	0,122
miR-23	0,9	0,9-1,0	0,443
miR-25	0,6	0,2-1,6	0,335
miR-30	0,9	0,6-1,2	0,703
miR-146a	0,9	0,6-1,4	0,8
miR-146b	0,96	0,5-1,8	0,908
miR-155	0,17	0-95,2	0,586
miR-192	0,002	0-12,4	0,248
miR-200	0,3	0-59	0,671
miR-205	0,1	0-141	0,551
miR-372	0,1	0-114	0,571
<b>miR-486</b>	0,9	0,9-1	<b>0,059</b>
miR-499	0,006	0-1027252	0,752
miR-520	0	0-2,07	0,443

\*Cox regresyon analizi yapılmış olup modele kilo kaybı ve toksisite dahil edilmiş ve her bir miRNA bu iki parametre ile değerlendirilmiştir. \*\*p<0.05 anlamlı olarak kabul edilmiştir. GA: Güven aralığı. miRNA tedavi öncesi CT değerlerine göre analiz edilmiştir.

İkinci değerlendirme olarak; hastaların kemoterapi sonrası tedavi öncesine göre ekspresyonlarındaki kat değişim oranlarının progresyonsuz ve GS üzerine olan etkisini değerlendirmek için cox-regresyon analizleri yapılmıştır. Sonuçlar tablo 18 ve 19'da gösterilmiştir.



<b>Tablo-18. Progresyonsuz sağ kalımda çoklu değişkenli analiz sonuçları */**</b>			
Değişkenler	OR	%95 GA min-max	P değeri
KİLO KAYBI	13,6	1,764-105,527	0,012
CİNSİYET	0,3	0,807-7,021	0,116
miR-1	0,002	0-335,85	0,434
miR-9	0,004	0-190,48	0,465
miR-21	0,05	0-26,7	0,355
miR-23	0,051	0-69,0	0,419
miR-25	0,87	0,2-2,8	0,828
miR-30	0,42	0,022-8,3	0,574
miR-146a	0,072	0-35,7	0,406
miR-146b	0,056	0-54,9	0,412
miR-155	0,002	0-171,9	0,288
miR-192	0,084	0-14	0,343
miR-200	0,06	0-704	0,394
miR-205	0,904	0,2-3,9	0,894
miR-372	0,07	0-239,9	0,528
miR-486	0,1	0-10,6	0,343
miR-499	0	0-0,18	0,417
miR-520	1	0,9-1	0,989

\*Cox regresyon analizi yapılmış olup modele kilo kaybı ve cinsiyet dahil edilmiş ve her bir miRNA bu iki parametre ile değerlendirilmiştir. \*\*p<0.05 anlamlı olarak kabul edilmiştir. GA: Güven aralığı. miRNA tedavi sonrası kat değişim oranları baz alınarak analiz edilmiştir.

<b>Tablo-19. Genel sağ kalımda çoklu değişkenli analiz sonuçları */**</b>			
Değişkenler	OR	%95 GA min-max	P değeri
KİLO KAYBI	13,6	1,764-105,527	0,012
TOXİSİTE	0,3	0,807-7,021	0,116
miR-1	0,081	0-262,5	0,542
miR-9	0,07	0-298,8	0,537
miR-21	0,2	0-81,3	0,604
miR-23	0,13	0-89,1	0,542
miR-25	0,94	0,32-2,7	0,997
miR-30	0,75	0,14-3,92	0,737
miR-146a	0,23	0-60,6	0,609
miR-146b	0,184	0-101,7	0,599
miR-155	0,09	0-431	0,39
miR-192	0,2	0-50,1	0,574
miR-200	0,011	0-25954	0,477
miR-205	0,9	0,2-3,8	0,955
miR-372	0,1	0-172,3	0,552
miR-486	0,39	0-30,7	0,673
miR-499	0	0-8,48	0,629
miR-520	1	0,89-1,1	0,996

\*Cox regresyon analizi yapılmış olup modele kilo kaybı ve cinsiyet dahil edilmiş ve her bir miRNA bu iki parametre ile değerlendirilmiştir. \*\*p<0.05 anlamlı olarak kabul edilmiştir. GA: Guven aralığı. miRNA tedavi sonrası kat değişim oranları baz alınarak analiz edilmiştir.

#### 4.5 TEDAVİ ÖNCESİ VE SONRASI MİRNA DÜZEYLERİ

Çalışmamıza 16 tip miRNA dahil edilmiştir. Bu miRNA tipleri sırası ile miR-520, miR-146a, miR-146b, miR-200, miR-205, miR-9, miR-155, miR-192, miR-23, miR-372, miR-21, miR-25, miR-486, miR-30, miR-1 ve miR-499'dur. Kontrol grubu olarak hastaların tedavi öncesi miRNA ekspresyon düzeyleri ele alınmıştır. Hastaların tedavi sonrası miRNA ekspresyon seviyeleri kontrol grup olarak kabul ettiğimiz tedavi öncesi değerleri ile karşılaştırılarak istatistiksel analizler yapılmıştır.

Hastaların öncelikle tedavi öncesi ve sonrasındaki miRNA  $2^{-\Delta Ct}$  değerleri tespit edilmiş ve <http://pcrdataanalysis.sabiosciences.com/pcr/arrayanalysis.php> sitesinde RT<sup>2</sup> Profiler PCR Array Data Analysis 3.5 programı kullanılarak kat değişim oranları hesaplanmıştır.

Çalışmamızda bazı miRNA tipleri hastalarda tedavi öncesinde ve sonrasında hiç ekspresyon göstermemiştir. Bu hastalar tedavi öncesi ve sonrası analizlerde çalışma dışında bırakılmıştır. Tedavi sonrası değerlendirmeye alınan her bir miRNA için hasta sayısı şöyledir; miRNA-1 için 38 hasta, miRNA-9 için 21 hasta, miRNA-21 için 38 hasta, miRNA-23 için 38 hasta, miRNA-25 için 38 hasta, miRNA-30 için 37 hasta, miRNA-146a için 38 hasta, miR-146b için 37 hasta, miRNA-155 için 32 hasta, miRNA-192 için 38 hasta, miR-200 için 34 hasta, miRNA-205 için 37 hasta, miR-372 için 31 hasta, miR-486 için 38 hasta, miRNA-499 için 14 hasta ve miRNA-520 için 24 hasta değerlendirmeye alınmıştır.

Her bir mirna tipinin tedavi öncesi ve sonrası ekspresyon düzeylerinin ortalaması tablo-20'de gösterilmiştir.

**Tablo-20** Herbir miRNA için tedavi öncesi ve sonrasındaki ortalama değerlerin karşılaştırılması ( Ö: Tedavi öncesi, S: Tedavi sonrası, M: Ortalama, N: Hasta sayısı, KDO: Kat değişim oranı.)

miRNA tipi	M	N	KDO	P
miR-1 Ö	8,209110263	38	0,6663	p<0.001
miR-1 S	0,072639289	38		
miR-9 Ö	0,515882816	21	0,6873	p<0.001
miR-9 S	0,000242395	21		
miR-21 Ö	18,08118479	38	0,4647	p<0.001
miR-21 S	0,033740526	38		
miR-23 Ö	237,7560251	38	0,4492	p<0.001
miR-23 S	0,0429755	38		
miR-25 Ö	0,981651842	38	0,3124	p<0.001
miR-25 S	0,003315263	38		
miR-30 Ö	1,263037579	37	0,5097	p<0.001
miR-30 S	0,003382342	37		
miR-146a Ö	1,604827737	38	0,1242	p<0.001
miR-146a S	0,004231132	38		
miR-146b Ö	0,965220105	37	0,4785	p<0.001
miR-146b S	0,001321263	37		
miR-155 Ö	0,025898132	32	0,2773	p<0.001
miR-155 S	0,00002726	32		
miR-192 Ö	0,447771632	38	0,3609	p<0.001
miR-192 S	0,000405105	38		
miR-200 Ö	0,347766737	34	0,1659	p<0.001
miR-200 S	0,000110026	34		
miR-205 Ö	0,039613447	37	0,2552	p<0.001
miR-205 S	0,000186553	37		
miR-372 Ö	0,022178237	31	0,4101	p<0.001
miR-372 S	0,00002118	31		
miR-486 Ö	227,4088756	38	0,6644	p<0.001
miR-486 S	0,241287211	38		
miR-499 Ö	0,019408237	14	0,0498	p<0.001
miR-499 S	0,00000342	14		
miR-520 Ö	0,029799184	24	0,7963	p<0.001
miR-520 S	0,029711974	24		
miR-39 Ö	1	1	1	
miR-39 S	1	1		

Çalışmaya katılan ve ekprese olduğu gösterilen tüm hastalar için tedavi sonrası ekspresyon düzeyleri tedavi öncesi ile karşılaştırılarak kat değişim oranları hesaplandı ve istatistiksel analizleri yapıldı(tablo-21,22).

**Tablo-21:** Herbir hasta için miR-9, miR-21, miR23, miR25, miR-30, miR-146a ve 146b' nin tedavi sonrası ekspresyon düzeylerinin tedavi öncesi düzeylerine göre kat değişim oranları.

H	mir 1	mir 9	mir21	mir 23	mir 25	mir30	mir146a	mir146b
1	0,0043		0,0083	0,0098	0,004	0,0079	0,0175	0,0081
2	0,0065		0,004	0,002	0,006	0,0019	0,0187	0,0085
3	0,0012	0,0037	0,0013	0,0016	0,0067	0,0014	0,0017	0,0017
4	0,0878	0,0191	0,2017	0,0974	<b>1,3566</b>	0,3923	0,2483	0,2643
5	0,0009	<b>1,141</b>	0,0008	0,0012	0,0008	0,0015	0,0008	0,0007
6	0,0006		0,0005	0,0007	0,0007	0,0006	0,0008	0,0004
7	0,0022	0,00002	0,0087	0,0033	0,0066	0,0078	0,0028	0,0039
8	0,0206	0,00002	0,0036	0,0075	0,0029	0,006	0,0007	0,0006
9	0,0001	0,0219	0,0001	0,0002	0,0002	0,0001	0,0021	0,0001
10	0,3276	0,0005	0,3164	0,1397	0,0866	0,1022	0,0054	0,0137
11	0,0009	0,0002	0,0002	0,0008	0,0027	0,0003	0,0005	0,0009
12	0,0011	0,0008	0,0017	0,0016	0,0055	0,0011	0,0012	0,0013
13	<b>19,027</b>	0,0004	0,0324	<b>10,63</b>	0,0008	0,0007	0,0015	0,0006
14	0,0813		0,0048	0,0006	0,0025	0,0048	0,0022	0,0011
15	0,0884	<b>0,624</b>	0,1497	0,115	0,1166	0,0552	0,0994	0,1948
16	0,0718		0,0155	0,0808	0,0067	0,0209	0,0647	0,0382
17	0,0196		0,0042	0,00002	0,003	0,0085	0,0095	0,0126
18	0,0006	0,0008	0,0009	0,0008	0,0011	0,0039	0,0016	0,0013
19	0,0035	0,0017	0,0029	0,003	0,0076	0,0034	0,0036	0,0034
20	0,0007	0,0014	0,0022	0,0011	0,0067	0,0018	0,0013	0,0017
21	0,0061		0,0022	0,0074	0,0474	0,009	0,0086	0,0221
22	0,0022		0,0049	0,0033	0,0102	0,0049	0,007	0,0067
23	0,0025	0,0522	0,0005	0,0024	0,0018	0,0011	0,0035	0,0042
24	0,027		0,0112	0,0171	0,0005	0,0018	0,0006	0,0004
25	0,0007		0,0179	0,0009	0,0054	0,0141	0,0006	
26	0,0006		0,0056	0,0007	0,0243	0,0191	0,0009	0,0089
27	0,0191	0,0003	0,0647	0,0266	0,366	<b>0,521</b>	0,0215	0,0387
28	0,00002		0,0004	0,00002	0,0013	0,002	0,0001	0,0006
29	0,00002		0,0004	0,00002	0,0013	0,002	0,0001	0,0006
30	<b>0,986</b>	<b>2,362</b>	<b>0,669</b>	<b>1,043</b>	0,1058	0,3635	0,3896	0,3487
31	<b>1,729</b>		<b>1,376</b>	<b>1,815</b>	<b>0,9931</b>	<b>2,3784</b>	<b>1,4845</b>	<b>1,4641</b>
32	0,1134	<b>0,504</b>	0,1426	0,0988	0,2031	0,1649	0,134	0,1869
33	0,1466	0,1604	0,0328	<b>103,97</b>	0,078	0,0684	0,0583	0,0229
34	0,0356	0,0915	0,0063	0,0361	0,0173	0,0407	0,027	0,0148

35	0,2952	<b>9,4479</b>	0,0173	0,0571	0,0319	0,0158	0,178	0,0518
36	0,2553		0,0587	0,2852	0,1426	0,0595	0,1368	0,2398
37	<b>1,717</b>		<b>99,733</b>	<b>1,729</b>	<b>1,3013</b>	<b>3,5308</b>	<b>1,2924</b>	<b>13,3614</b>
38	0,2382		<b>14,026</b>	0,1684	<b>6,9163</b>	<b>11,551</b>	0,4931	<b>1,3755</b>

**Tablo-22:** Herbir hasta için miR-155, miR-192, miR200, miR205, miR-372, miR-486, miR-499 ve 520' nin tedavi sonrası ekspresyon düzeylerinin tedavi öncesi düzeylerine göre kat değişim oranları. ( 0.5< olanlar koyu punto ile belirtilmiştir)

H	mir 155	mir 192	mir 200	mir 205	mir 372	mir 486	mir 499	mir 520
1	0,0022	0,0018	0,0004	0,0211		0,0027		
2	0,0012	0,0014	0,0009	0,0257	0,0005	0,0001	0,0005	
3	0,0011	0,0089	0,0003	0,0085	0,008	0,0016	0,0004	0,0005
4	0,0967	0,3711	0,0501	<b>1,6702</b>	0,0723	0,2349	0,0284	0,0191
5	0,0028	0,0022	0,0014	0,001	0,0068	0,0016	0,0359	
6	0,0014	0,0003	0,00002	0,0033		0,0014		
7	0,0001	0,002	0,0001	0,0009	0,0001	0,0007	0,00002	0,00002
8	0,0001	0,0006	0,0001	0,0001	0,00002	0,0002	0,00002	0,00002
9	0,0001	0,0002	0,0002	0,0009	0,0002	0,0001		
10	0,0005	0,01	0,0005	0,0102	0,0005	0,0011		
11	0,0009	0,0008	0,0003	0,0026	0,0002	0,0001	0,0002	0,0002
12	0,0008	0,0014	0,0018	0,0015	0,0067	0,0004	0,0011	0,0084
13		0,0003	0,0001	0,0003	0,0009	0,0027	0,0031	
14		0,0003	0,0006	0,0015	0,0019	0,0001	0,0007	0,0012
15	0,3923	0,1406	0,3737	<b>0,5987</b>	<b>0,6242</b>	0,1843	<b>0,6242</b>	<b>0,6242</b>
16	0,0221	0,0044	0,0412	0,0066	0,0203	0,0104		
17	0,0196	0,0072	0,0054	0,0023	0,0156	0,0025		
18	0,0016	0,0019	0,0049	0,0028	0,019	0,0013	0,0008	<b>8,3977</b>
19	0,0047	0,0039	0,0019	0,0294	0,0015	0,0022	0,0015	0,0015
20	0,0005	0,0063	0,0005	0,0017	0,0014	0,0008	0,0014	
21	0,0022	0,0028	0,0013	0,0118	0,0005	0,0005		
22	0,0058	0,0047	0,0027	0,0315	0,0219	0,0194		
23	0,0097	0,0013	0,0031	0,0321	0,0401	0,0001		
24		0,0003				0,0021		
25		0,0069		0,0252		0,0003		
26		0,1387		0,0836		0,0005		
27	0,0035	0,0928	0,0009	0,034	0,0007	0,1805		0,0003
28	0,0007	0,0007	0,0007	0,0024	0,0007	0,0001		
29	0,0007	0,0007	0,0007	0,0024	0,0007	0,0001		
30	0,5	0,4665	<b>0,7738</b>	0,3923	<b>2,6574</b>	<b>0,9659</b>		
31	<b>0,7022</b>	<b>1,2311</b>	0,4175	<b>1,4641</b>		<b>0,551</b>		
32	0,4033	0,2793	0,3035	<b>0,8179</b>	<b>0,5905</b>	0,0813		<b>0,5035</b>
33	0,1684	0,2316	0,1604	0,4444	<b>1,0281</b>	0,0167		<b>18561,17</b>

34	0,1476	0,0081	0,0191	0,0424	0,1731	0,0018		
35	5,0982	0,0445	0,3585	0,3143	5,0281	0,0256		
36	0,409	0,0477	0,6199	0,0404	1,434	0,0261		
37	0,8766	4,5315	2,4967	1,9319	0,9593	81,5719		
38		6,0629		1,3851		0,2192		

Herbir miRNA ekspresyonları ayrı ayrı incelendiğinde; miR-1 için 38 hastanın 3' ünde ekspresyon seviyesinde artış 35 hastada azalma, miR-9 için 4 hastada artış 17 hastada azalma, miR-21 için 35 hastada azalma 3 hastada artış, miR-23 33 hastada azalma 5 hastada artış, miR-25 için 35 hastada azalma 3 hastada artış, miR-30 için 34 hastada azalma 4 hastada artış, miR-146a 36 hastada azalma 2 hastada artış, miR-146b için , 34 hastada azalma 3 hastada artış saptanmıştır. Tüm ekspresyon değişimleri istatistiksel olarak analiz edildiğinde anlamlı ( $p < 0.001$ ) derecede ilişkili saptanmıştır.

miR-155 için 28 hastada azalma 4 hastada artış, miR-192 için 36 hastada azalma 2 hastada artış, miR-200 için 33 hastada azalma 1 hastada artış, miR-205 için 33 hastada azalma 4 hastada artış, miR-372 için 27 hastada azalma 4 hastada artış, miR-486 37 hastada azalma 1 hastada artış, miR-499 için 13 hastada azalma 1 hastada artış, miR-520 hastada 11 hastada azalma 2 hastada ise artış saptanmıştır. Tüm ekspresyon değişimleri istatistiksel olarak analiz edildiğinde anlamlı ( $P < 0.001$ ) derecede ilişki saptanmıştır.

#### 4.6 TEDAVİ SONRASI MİRNA EKSPRESYON DEĞİŞİMİNİN TEDAVİ YANITI ÜZERİNE OLAN ETKİSİ

Hastaların tedaviye verdikleri yanıtlar ve miRNA kat değişim oranları arasındaki ilişki değerlendirildi. Hastalar öncelikle kat değişim oranları  $0.5 <$  ve  $0.5 >$  altında olacak şekilde 2 gruba ayrıldı. Daha sonra bu gruplar tedaviye yanıt verenler ve yanıtız olanlar olmak üzere 2 alt gruplara bölündü. Tedaviye tam yanıt, parsiyel yanıt verenler ve stabil olanlar aynı grupta toplandı. Progresyon gelişen hastalar ise tedaviye yanıtız gruba dahil edildi. Tümör süpresör özellikteki miRNA'lar ve onkojenik özellikteki miRNA'lar kendi grupları içerisinde değerlendirildi.

Tablo-23'de miRNA tiplerine göre kat değişim oranı  $>0.5$  olanlar ve tedaviye verdikleri yanıtı göre sınıflandırılmaları gösterilmektedir.

**Tablo-23: miRNA tiplerine göre kat değişimi oranı >0.5 olanlar ve tedaviye verdikleri yanıtta göre sınıflandırılması.**

Kat değişim oranı 0.5< (tümör süpressör grup)	Hasta Sayısı	Yanıt Veren	Yanıt Vermeyen
*miR-1	3	3	0
*miR-21	3	3	0
*miR-23	4	4	0
miR-30	3	2	1
miR-146A	1	1	0
miR-146B	2	2	0
miR-192	2	2	0
miR-486	2	2	0
miR-499	1	0	1

Kat değişim oranı 0.5< (onkojenik grup)	Hasta Sayısı	Yanıt Veren	Yanıt Vermeyen
miR-9	5	1	4
miR-25	3	2	1
miR-155	3	2	1
miR-200	2	1	1
miR-205	5	2	3
miR-372	6	2	4
miR-520	4	1	3



Tablo 24 de miRNA tiplerine göre kat değişim oranı 0.5> olanlar ve tedaviye verdikleri yanıtta göre sınıflandırılmaları gösterilmektedir.

**Tablo 24: miRNA tiplerine göre kat değişim oranı <0.5 olanlar ve tedaviye verdikleri yanıtta göre sınıflandırılması**

Kat değişim oranı 0.5> (tümör süpressör grup)	Hasta Sayısı	Yanıt Veren	Yanıt Vermeyen
miR-1	34	11	23
miR-21	30	11	9
miR-23	33	10	23
miR-30	34	12	22
miR-146A	36	13	23
miR-146B	34	12	22
miR-192	35	12	23
miR-486	35	12	23
miR-499	13	2	11

Kat değişim oranı 0.5> (onkojenik grup)	Hasta Sayısı	Yanıt Veren	Yanıt Vermeyen
miR-9	16	5	11
miR-25	34	12	22
miR-155	28	8	20
miR-200	31	10	21
miR-205	31	11	20
miR-372	24	8	16
miR-520	9	0	9

## 5.TARTIŞMA

Akciğer kanseri , 20. Yüzyıl başlarında nadir görülmekte iken, 1950 yılından itibaren sigara içme alışkanlığındaki artışa paralel olarak sıklığı giderek artmış ve dünyada en sık görülen kanser türü haline gelmiştir (1). Tüm dünyada 2012 yılında yaklaşık olarak 1.8 milyon insanda akciğer kanseri gelişmiş ve tahmini 1.6 milyon hastanın ölümüne neden olmuştur (2). Amerika birleşik devletlerinde ise 2014 yılında tahmini 224000 yeni vaka gelişmiş ve 160 bini hayatını kaybetmiştir (3,4).

Ülkemizde akciğer kanseri insidansı 11.5/100.000'dir ve tüm kanserler içinde erkeklerde %38.6 'lık oranla en büyük bölümü oluşturmaktadır (5). Kadınlarda ise %5.2'lik oranla 7.sıradadır. Erkeklerde insidansı 61.6/100.000, kadınlarda 5.1/100.000'dir (6). Sağlık Bakanlığı verilerine göre akciğer kanseri sıklığı batı bölgelerimizde en yüksek (Akdeniz 41.0/100.000,Ege ve İç Anadolu 39.5/100.000),Güneydoğu ve Doğu Andolu bölgelerimizde ise en düşük (sırayla 17.7/100.000, 11.7/10- 0.000) değerlerdedir (5). Bizim çalışmamıza alınan 38 yeni tanı akciğer kanserli hastanın 2 (%5,2)'si kadın 36 (%94,7)'sı erkek idi. Ülkemizde akciğer kanseri sıklığında erkeklerin özellikle yüksek oranda gözükmemesinin sebebi toplumumuzda sigara içiciliğinin özellikle erkeklerde daha fazla olmasından kaynaklanmakta olduğu düşünülmüştür. Akciğer kanseri tüm yaş gruplarında izlenmesine rağmen en sık olarak 50-70 yaş arasında görülmektedir. Hastalığın başlama yaşının aşağı inmesinde temel faktör sigaradır. Sigaraya başlama yaşı düştükçe ve içilen sigara miktarı artıkça, görülme yaşı daha da aşağılara inmektedir. Bizim çalışmamızda hastaların ortalama yaşı 64 olup, yaş aralığı 38-81 arasındaydı.

Akciğer kanserinin histolojik bulgulara göre sınıflandırılması 2011 yılında DSÖ tarafından güncellenmiştir (13). Büyüme hızı, yayılımı, metastazın zamanlaması, kemoterapi ve radyoterapi yanıtına göre temelde küçük hücreli dışı ve küçük hücreli olmak üzere iki ana başlık altında toplanmıştır. Küçük hücreli dışı akciğer kanserleri de kendi aralarında; adenokarsinom, skuamöz hücreli karsinom ve büyük hücreli karsinom olarak subgruplara ayrılmıştır. Yeni sınıflandırmaya göre tüm akciğer kanserlerinin yaklaşık %83 ' ü KHDAK, %16' sı küçük hücreli akciğer kanserlerinden oluşmaktadır. Küçük hücreli dışı akciğer kanserlerinin alt gruplarına baktığımızda ise %38 Adenokarsinom (bronşiolalveolar karsinom da dahil) , %20

Skvamöz hücreli karsinom, %5 Büyük hücreli karsinom %18 Sınıflandırılmayan diğer küçük hücreli dışı karsinomlar, %16 diğerleri şeklindedir (14).

Çalışmamızda ise hastaların 16 (%42,1)'sı skuamöz hücreli, 18 (47,3)'i adenokarsinom, 2 (%5,2)'si NOS (Başka türlü sınıflandırılmayan akciğer kanseri), 2 (%5,2)'si büyük hücreli akciğer kanseriydi. Çalışmamızdaki histolojik grupların oranlarına baktığımızda skuamöz hücreli akciğer kanserinin oranının literatüre göre daha yüksek olduğu saptandı ve bunun farklı olmasının sebebinin görece olarak hasta sayısının az olması, sigara içicilik oranının fazla olması ve coğrafi faktörlerin olabileceği düşünüldü. Sigara akciğer gelişiminden %94 oranında sorumludur. Akciğer kanseri insidansı sigara miktarı ve içme süresine bağlı olarak artış göstermektedir. Sigara içenlerde akciğer kanseri riski içmeyenlerden 24-36 kat fazladır. Türkiye'de sigara içme prevalansı kadınlarda %24, erkeklerde %63'tür. Gelişmiş ülkelerde sigara içimi prevalansı kadınlarda %20-40, erkeklerde %30-40 iken gelişmekte olan ülkelerde bu oranlar sırasıyla %2-10 ve %40-60 'tır. Dünya genelinde ise erkeklerde %47-52, kadınlarda %10-12 sıklıkta sigara kullanımı olduğu tahmin edilmektedir (8). Çalışmamıza alınan hastaların 36 (%94,7)'sı sigara öyküsü mevcutken 2 (%5,2) hastada sigara öyküsü yoktu. Ortalama sigara tüketimi 47 paket/yıl olarak belirlendi. Elde etmiş olduğumuz bu veriler sigara içiminin akciğer kanseri ile yakın ilişkide olduğunu gösteren literatür bilgileri ile uyumlu olarak değerlendirildi.

Akciğer kanserli hastaların sigara içen akrabaları, kontrol bireylerin sigara içen akrabaları ile karşılaştırıldığında, bunlarda akciğer kanserinden ölüm riski 2-2.5 kat daha fazla bulunmuştur. Ayrıca akciğer kanserli hastaların akrabalarında akciğer dışı kanser sıklığında da artış gözlemlenmiştir (8). Çalışmamızda ise hastaların 1. derece akrabalarında kanser öyküsü olanlardan; 6 (%15,7) hastada akciğer kanseri, 2 (%5,2) hastada larinks kanseri, 2 (%5,2) hastada beyin tümörü ve 1 (%2,6) hastada hepatoselüler kanser mevcuttu. 28 (%73,6) hastada ailede malignite öyküsü yoktu. Literatür verileri ile uyumlu olarak 1. derecede aile bireylerinde akciğer kanseri olması malignite riskinin arttığını destekleyen bir bulgu olarak karşımıza çıkmıştır.

Akciğer kanseri mortalitesi yüksek bir hastalıktır. Tanı sonrası sadece %13-15 hasta 5 yıl ve üzeri hayatta kalabilmektedir (15). Bizim çalışmamızda hastaların 16 ay süre ile gözlenmiştir. Takip edilen 16 aylık süre içinde GS ve PFS analizleri

yapılmıştır. Hastaların ortalama progresyonsuz sağ kalımları  $6.08 \pm 2.40$  ay, genel sağ kalımları  $7,7 \pm 2.18$  ay olarak saptandı. Hastaların takibinde 6 (%15,7) parsiyel yanıt, 24 (%63,1) progresyon, 4 (%10,5) regresyon, 4 (%10,5) stabil hastalık olarak değerlendirildi. Progresyon oranlarının yüksek olması mortalite oranlarının da yükselme ihtimalini göstermektedir.

Mortalite ve morbidite oranları bu denli yüksek olması nedeniyle akciğer kanserinin önlenmesine ve tedavisine yönelik çalışmalar önem kazanmaktadır. Hastanede yatış oranları, iş gücü kayıplarının yüksek olması da akciğer kanseri tedavilerinin maliyetlerini de artırmaktadır. Tedavi maliyetlerindeki artışla akciğer kanserinin toplumda etkilediği kişi sayısı artmakta ve önemli bir halk sağlığı problemi haline gelmektedir. Sigara kullanımı ile yüksek oranda ilişkili olması; akciğer kanserinin önlenmesinde en önemli adımın sigara içilmemesi veya bırakılması olduğunu göstermektedir. Akciğer kanserlerinde 5 yıllık sağkalım oranı %13-15 olarak bilinmektedir. Rezeksiyon yapılabilen ve 3 cm' den küçük olan(T1) periferik tümörlerde sağkalım oranı %60-80'lere çıkmaktadır (15). 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 Comprehensive Cancer Network-2014 (nccn-2014) 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(dbbt) ile tarama önermektedir. Cerrahi yöntemlerdeki yeniliklere, radyoterapi ve kemoterapideki gelişmelere rağmen, akciğer kanserinin sağkalım süresi %16'dır (110). Bu nedenle, akciğer kanserinin genetik olarak gelişimini çözmek ve yeni tedavi hedefleri geliştirmek için hücresel moleküller üzerinde daha çok çalışılması gerekmektedir.

MikroRNA'lar çoğalma, hücre farklılaşması ve apoptoz gibi temel hücre fonksiyonları gerçekleşirken, hedef mRNA'ların proteine dönüşümünün düzenlenmesinde görev yapmaktadır. Gen ifadesini düzenleyebilen kodlama yapmayan, korunmuş, küçük boyutlu RNA'lardır. İlk miRNA (lin-4) 1993 yılında keşfedilmiş ve ikinci bir miRNA'nın keşfi için aradan uzun yıllar geçmiştir.

MikroRNA terimi ise 2001 yılından itibaren kullanılmaya başlanmıştır (20). Bugün tanımlanmış yaklaşık 2000 miRNA vardır. Birçok farklı hastalığın patogeneğinde miRNA'ların rol oynadığı gösterilmiştir (11). Kanser gelişiminde onkojen ve tümör baskılayıcı genler gibi davrandıkları deneysel çalışmalarla gösterilmiştir (11).

miRNA'ın akciğer kanserindeki ekspresyon farklılıklarının prognoz ve tanıdaki değeri son yıllarda bir çok araştırmacı tarafından yoğun bir şekilde çalışılmaya başlanmıştır. Urmo Vosa ve arkadaşları 2012 yılı Aralık ayında international journal of cancer (IJC) da yayınlanan çalışmalarında akciğer kanserinde mikroRNA ifadeleri alanında yayınlanmış 20 çalışmanın kapsamlı bir metaanalizini yaptıklarında , 598 akciğer kanserli doku ve 528 normal doku örneği incelendi ve 7 mikroRNA tipinde (miR-21, miR-210, miR-182, miR-31, miR-200b, miR-205 and miR-183 ) upregülasyon , 8 mikroRNA tipinde (miR-126-3p, miR-30a, miR-30d, miR-486-5p, miR-451a, miR-126-5p, miR-143 and miR-145) ise downregülasyon olduğunu gösterdiler.

Akciğer kanserli doku örneklerinde bazı mikroRNA tiplerinin sağlıklı dokulardan istatistiksel olarak anlamlı derecede ekspresyon farklılıklarının gösterilmesinden sonra araştırmacılar tarafından son yıllarda non-invaziv bir yöntem olan serum örneklerinde mikroRNA üzerine çalışmalar yapılmaya başlanmıştır. Whang RJ ve arkadaşları tarafından 2015 yılında 70 NSCLC hasta grubunda miR-125a-5p, miR-145 ve miR-146a sağlıklı kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı derecede yüksek eksprese olduğunu gösterdiler ve bu 3 miRNA'nın kullanışlı bir noninvaziv belirteç olabileceği önerilmiştir.

## **5.1 ÇALIŞMAYA DAHİL EDİLEN MİRNA TİPLERİ**

### **5.1.1 miR-146a**

Wang RJ ve arkadaşlarının 2015 yılında 70 nscle hastasının serum miR-146a ekspresyon düzeylerinin sağlıklı kontrol grubuyla kıyasladıklarında anlamlı derecede overeksprese olduğunu ve buradan yola çıkarak gelecekte miR-146a'nın

non invaziv tanı yöntemi olarak kullanılabileceğini öne sürdüler. Chaohui Wu ve arkadaşları tarafından 2014 yılında yapılan başka bir çalışmada ise tümörlü doku ve hastalarının serumları sağlıklı gruplar ile karşılaştırılmış. Çalışma sonucunda miR-146a ekspresyonunun sağlıklı doku ve sağlıklı grup serumları ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük eksprese olduğunu göstermişlerdir. Düşük miR-146a ekspresyon düzeylerinin ileri evre hastalık , lenf nodu metastazı ve kötü sağ kalım açısından istatistiksel olarak anlamlı derecede ilişkili olduğunu göstermişlerdir. miR-146 a nın sağ kalım açısından ve kemoterapi yanıtı açısından potansiyel bir belirteç olduğunu belirtmişlerdir (111).

Yine Cheng G ve arkadaşları tarafından 2013 yılında küçük hücreli akciğer kanseri dokularında yaptıkları bir çalışmada düşük miR-146a ekspresyonunun ileri evre ve uzak metastazla istatistiksel olarak anlamlı derecede ilişkili olduğunu göstermişlerdir (112). Literatür incelendiğinde çelişkili sonuçlar olmakla beraber KHDAK 'de miR-146a nın tümör süpresör fonksiyon gördüğü düşünülmektedir.

Bizim çalışmamızda sağlıklı grup olmaması nedeniyle hastaların miR-146a nın tanı açısından önemi değerlendirilememiştir ve bu çalışmamızın bir eksiği olarak göz önüne çıkmaktadır.Hastaların tamamında miR146a eksprese olmuştur. Tedavi öncesi ve sonrası miR-146a ekspresyon seviyelerinin değişimi incelendiğinde ise hastaların istatistiksel olarak anlamlı ( $p<0.001$ ) ekspresyon farklılıkları gösterdiği anlaşılmıştır.Bu sonuçtan yola çıkarak MiR-146 nın kemoterapiye sensitif olduğunu söyleyebiliriz. Hastaların tedavi öncesi ekspresyon değerlerinin ve tedavi sonrası kat değişimi oranlarının GS ve progresyonuz sağkalım açısından analizleri yapıldığında ise anlamlı değişiklikler saptanmamıştır. Bunun nedeninin hasta takip süresinin kısa olmasından ve hasta sayımızın az olmasından kaynaklandığını düşünmekteyiz.

### **5.1.2 miR-146b**

Rani S ve arkadaşlarının 2013 yılında yaptıkları çalışmada 80 akciğer adenokanserli hasta ve sağlıklı kontrol gurubu serumunda miR-146b ekspresyon seviyelerini karşılaştırmışlar ve hasta grubunda istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek eksprese olduğunu saptamışlar.MiR-146b nin tanısal amaçlı potansiyel bir biyomarker olarak kullanılabileceğini öne sürmüşlerdir (113). Heegaard NH ve arkadaşlarının 2012 yılında yaptıkları bir çalışmada 220 erken evre KHDAK hasta grubu ile 220 sağlıklı kontrol gurubunun serum ekspresyon düzeyleri karşılaştırıldığında hasta grupta anlamlı derecede düşük eksprese olduğunu ortaya çıkartmışlardır. Bir başka çalışmada ise Raponi M ve arkadaşları tarafından yapılan

çalışmada skuamöz hücreli karsinom tümör dokusunda yüksek miR-146b düzeyinin yine kısa sağkalımla ilişkili olduğu saptanmıştır (114).

Bizim çalışmamızda 38 hastadan sadece bir hastada ekspresyon gözlemlenmemiş olup teknik nedenlere bağlı olabileceği düşünülmüştür.

Hastaların tedavi sonrası ekspresyon seviyelerine bakıldığında 3 hasta dışında tüm hastalarda tedavi öncesine göre istatistiksel olarak anlamlı derecede ( $p<0.001$ ) azaldığı görülmüştür. 3 hastanın klinik özellikleri analiz edildiğinde diğer hastalardan ayırt edici önemli bir farklılık saptanmamıştır. Hastaların tedavi öncesi ekspresyon değerlerinin ve tedavi sonrası kat değişimi oranlarının GS ve progresyonuz sağkalım açısından analizleri yapıldığında ise anlamlı değişiklikler saptanmamıştır. miR-146b'in tedavi sonrası kemoterapiye sensitif olarak azaldığı görülmekle birlikte tedavi yanıtı ve sağ kalım açısından bir önemi saptanamamıştır.

### **5.1.3 miR-200**

Yu L ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada ameliyatla elde edilen tümör dokularından ve balgamdan yapılan miRNA analizlerinde normal kontrollerle yapılan karşılaştırmanın sonucunda miR-200b'nin yüksek ekspresyonunun akciğer adenokarsinomlarında %80.6 duyarlılık ve %91.7 özgüllükle tanı koydurucu olduğu gösterilmiştir (115). Guo L ve arkadaşlarının 2015 yılında erken evre akciğer adenokanserli hasta dokusuyla normal sağlıklı dokular karşılaştırıldığında miR-200 ün kanserli dokuda daha fazla eksprese olduğunu göstermişlerdir (116). Rut Tejero ve arkadaşlarının yaptığı bir başka çalışmada ise 155 küçük hücreli dışı akciğer kanserli dokuda miR-200 yüksek eksprese olmasının adenokanserli alt tipte daha kısa sağ kalım ile anlamlı derecede ilişkili olduğunu göstermişlerdir. Fakat squamöz hücreli alt grupta ise bu ilişkiyi gösterememişlerdir (117).

Bizim çalışmamızda 38 hastanın sadece 4 ünde miR-200 ekspresyonu gözlemlenmedi ve bu dört hastanın ekspresyon saptanan diğer hasta grubundan ayıracak anlamlı klinik özellikler tespit edilmedi. Diğer 34 hastanın tamamında tedavi ile istatistiksel olarak anlamlı ( $p<0.001$ ) derecede ekspresyon değişimi gözlemlendi. Hastaların tedavi öncesi ekspresyon değerlerinin ve tedavi sonrası kat değişimi oranlarının GS ve progresyonuz sağkalım açısından analizleri yapıldığında ise anlamlı değişiklikler saptanmamıştır.

### **5.1.4 miR-21**

Literatür taraması yapıldığında son yıllarda KHDAK tanı ve prognoz tayininde üzerine en çok çalışılan miRNA tiplerinden birinin miR-21 olduğu görülmektedir. Bir çok çalışma olmasına rağmen sonuçlar arasında tutarsızlıkların olması nedeniyle miR-21'in klinik alanda kullanımı yaygınlaşmamıştır. Xie ve arkadaşlarının 2010 yılında akciğer kanseri hastalarının balgam örneklerinde miR-21 ekspresyon seviyelerinin sağlıklı kontrol grupları ile karşılaştırıldığında artmış olduğunu göstermişlerdir (118). Gao W ve arkadaşları tarafından 2010 yılında yapılan başka bir çalışmada ise 47 küçük hücreli akciğer kanseri içeren doku sağlıklı doku grupları ile karşılaştırıldığında miR-21 'in istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek seviyede eksprese olduğunu göstermişlerdir. Yine aynı çalışmada yüksek miR-21 ekspresyon seviyelerinin kötü sağkalım ve ileri evre hastalıkla anlamlı derecede ilişkili olduğunu göstermişlerdir (119). Shen ve arkadaşlarının 2011 yılında yaptıkları çalışmada 58 KHDAK hastasının serum örnekleri 29 sağlık kontrol grubu serumuyla karşılaştırıldığında miR-21 anlamlı derecede yüksek eksprese olduğunu göstermişlerdir (120).

Vosa U ve arkadaşları tarafından 2013 yılında yapılan 598 tümörlü ve 528 sağlıklı doku grubunu içeren bir metaanalizde miR-21'in kanserli dokuda istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek eksprese olduğunu göstermişlerdir (121). Literatür taramasından çıkan yaygın sonucun miR-21'in KHDAKnde gerek doku gerekse serum örneklerinde yüksek seviyede eksprese olduğu tanısal ve prognostik değerinin olduğu görülmektedir. Yine Le HB ve arkadaşlarının 2012 yılında operasyon öncesi ve sonrası miR-21 in serum ekspresyon değişimlerini analiz ettikleri çalışmada operasyon sonrası hastaların serum ekspresyon seviyelerinin istatistiksel olarak anlamlı derecede azaldığı göstermişler ve buradan yola çıkarak hastalık rekürrensini göstermede potansiyel bir belirteç olabileceğini öne sürmüşlerdir (122).

Bizim çalışmamızda 38 hastanın hepsinde miR-21 in eksprese olduğu görülmüştür. Tedavi sonrası ekspresyon seviyeleri tedavi öncesi ile karşılaştırıldığında 38 hastanın 35 inde istatistiksel olarak anlamlı ( $p<0.001$ ) derecede azalma saptanmıştır. Sadece 3 hastada ekspresyon seviyeleri artmıştır bu 3 hastanın 2 tanesi tedaviye yanıt veren grupta olmak ile beraber istatistiksel değerlendirme için hasta sayısı yeterli değildir. MiR-21'in kemoterapiye sensitif olarak azaldığı görülmekle birlikte hastaların tedavi öncesi ekspresyon değerlerinin ve tedavi sonrası kat değişimi oranlarının GS ve progresyonuz sağkalım açısından analizleri yapıldığında anlamlı değişiklikler saptanmamıştır.



### 5.1.5 miR-205

Zhanq YK ve arkadaşları tarafından 2012 yılında yapılan bir çalışmada 54 squamöz hücreli akciğer kanseri dokusu , 51 adenokanser hücreli akciğer kanseri dokusu ve sağlıklı kontrol grubunu dahil ettiklerinde özellikle squamöz hücreli grupta olmak üzere miR-205 ekspresyon seviyesinin arttığını göstermişlerdir (123). Yine aynı çalışmada yüksek ekspresyon seviyesinin squamöz hücreli akciğer kanseri grubunda lenf nodu metastazı ile istatistiksel olarak anlamlı derecede ilişkili olduklarını saptamışlardır (123). Vosa U ve arkadaşları tarafından 2013 yılında yapılan 598 tümörlü ve 528 sağlıklı doku grubunu içeren bir metaanalizde miR-205'in kanserli dokuda istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek eksprese olduğunu göstermişlerdir (124). Jianq M ve arkadaşları tarafından 2013 yılında yapılan 20 KHDAK dokusu 20 benign akciğer hastalığı olan ve 20 sağlıklı doku grubunun incelendiği çalışmada miR-205-5p ve miR-205-3p seviyesinin KHDAK grubunda diğer iki gruba göre istatistiksel olarak anlamlı derecede daha yüksek eksprese olduğunu göstermişlerdir (125). Yine başka bir çalışmada Aushev VN ve arkadaşları squamöz hücreli akciğer kanseri hastalarında cerrahi öncesi ve sonrası serum miR-205 ekspresyon seviyelerini karşılaştırdıklarında cerrahi sonrası ekspresyonun anlamlı derecede düşük saptandığını göstermişlerdir (126).

Bizim çalışmamızda 38 hastanın sadece 1 tanesinde tedavi öncesi miR-205 ekspresyonu gözlemlenmedi diğer tüm hastalarda ekspresyon belirli seviyede gözlemlendi. Ekspresyon izlenmeyen hasta klinik olarak incelendiğinde lobektomi ile tanı aldığı ve tanı anında uzak organ metastazı saptanmadığı tespit edildi. Hastanın takibinde ise kemoterapiye tam yanıt alındığı gözlemlendi. Biz miR-205'in bu hastada eksprese olmamasının vücutta geride kalan kanser dokusunun minimal düzeye inmiş olabileceğinden ve bu neden bu onkogen özellikteki miRNA ekspresyon olmadığını öngördük. Fakat hasta sayısının ve tam yanıtlı hasta sayısının yetersiz olması nedeniyle istatistiksel olarak anlamlandırabilmek için daha kapsamlı çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

Çalışmamızda tedavi öncesi ve sonrası ekspresyon analizlerinde 4 hasta dışında tüm hastalarda miR-205 de istatistiksel olarak anlamlı derecede azalma saptanmıştır. Ekspresyon seviyelerinde artma olan 4 hasta incelendiğinde diğer hasta grubundan farklılık gösteren anlamlı klinik özellik saptanmadı. Tedavi sonrası miR-205 seviyelerindeki anlamlı azalma kemoterapiye sensitif olduğunu göstermekle

birlikte , hastaların hem tedavi öncesi miR-205 düzeylerinin hem de tedavi sonrası kat değişim oranlarının sağ kalım ilişkisi analiz edildiğinde istatistiksel anlamlı bir sonuç saptanmamıştır.

### **5.1.6 miR-9**

Son yapılan çalışmalarda miR-9'un bir çok çeşitli insan kanserinde farklı ekspresyon seviyelerine sahip olduğunu göstermiştir. Buna rağmen KHDAKnde miR-9'un klinik önemi henüz aydınlatılamamıştır. Xu T ve arkadaşlarının 2014 yılında yaptıkları çalışmada 116 kanserli dokudaki miR-9 ekspresyon seviyeleri sağlıklı dokular ile karşılaştırılmış. Araştırma sonucunda kanserli dokuda sağlıklı dokuya göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek miR-9 ekspresyon seviyeleri saptamışlardır. Ve yine aynı çalışmada yüksek miR-9 ekspresyon seviyelerinin ileri evre, yüksek tümör boyutu ve lenf nodu metastazı ile anlamlı derecede ilişkili olduğunu göstermişlerdir (127).

Bizim çalışmamızda sağlıklı kontrol grubu bulunmadığı için miR-9'un tanınışal açıdan değerlendirilmesi yapılamamıştır. 38 hastadan 16 sında miR-9 hiç eksprese olmamıştır. Ekspresyon göstermeyen hasta grubu diğer hasta grubu ile kıyaslandığında anlamlı bir klinik farklılık tespit edilmedi. Eksprese olan 22 hastada 18 hastanın ekspresyon düzeyleri tedavi sonrası istatistiksel olarak anlamlı ( $p<0.001$ ) derecede azalırken 4 hastada artış göstermiştir. Ekspresyon artışı gösteren 4 hastanın diğer hastalardan anlamlı klinik bir farklılığı saptanmamıştır. Tedavi sonrası miR-9 seviyelerindeki anlamlı azalma kemoterapiye sensitif olduğunu göstermekle birlikte, hem tedavi öncesi miR-9 düzeyleri hem de tedavi sonrası kat değişim oranlarının sağ kalım ilişkisi analiz edildiğinde istatistiksel anlamlı bir sonuç saptanmamıştır.

### **5.1.7 miR-155**

Mir-155 bugüne kadar hem hematolojik malignitelerde hem de solid tümörlerde en tutarlı sonuçların alındığı mikrona'lerden biridir. Yapılan çalışmalarda sıklıkla malign dokularda ekspresyon seviyelerinin arttığı onkojenik bir mirna olabileceği öne sürülse de tümör süprese özellikte olduğunu belirten çalışmalar da yayınlanmıştır. Gao Y ve arkadaşlarının 2013 yılında yaptıkları çalışmada 162 tane evre 3 KHDAK hastanın patolojik materyalinde miR-155 ekspresyon düzeylerini incelemişler ve prognostik açıdan değerini araştırmışlardır. Çalışmanın

sonucunda yüksek eksprese olmuş miR-155 nin istatistiksel olarak anlamlı derecede kötü klinik sonuçlarla ilişkili olduğunu göstermişlerdir (128).

Bizim çalışmamızda 38 hastadan 6 hastada miR-155 hiç eksprese olmamıştır. Eksprese olmayan 6 hasta klinik olarak incelendiğinde diğer hasta grubundan anlamlı farklılıklar gözlemlenmemiştir. Hastaların tedavi öncesi ve sonrası ekspresyon farklılıkları incelendiğinde ise 4 hasta dışında tümünde istatistiksel olarak anlamlı ( $p<0.001$ ) derecede tedavi öncesine ekspresyon azalması gösterdikleri tespit edilmiştir. Artış gösteren 4 hasta diğer hasta grubuyla karşılaştırıldığında anlamlı klinik farklılık gözlemlenmemiştir. Tedavi sonrası miR-155 seviyelerindeki anlamlı azalma kemoterapiye sensitif olduğunu göstermekle birlikte, hem tedavi öncesi miR-155 düzeyleri hem de tedavi sonrası kat değişim oranlarının sağ kalım ilişkisi analiz edildiğinde istatistiksel anlamlı bir sonuç saptanmamıştır.

#### **5.1.8 miR-192**

Shipeng Feng ve arkadaşlarının akciğer kanser dokusunda yaptıkları bir çalışmada sağlıklı dokulara kıyasla miR-192 ekspresyon düzeylerinin istatistiksel olarak anlamlı derecede azaldığını ve gelecekte yeni bir tedavi hedefi olarak kullanılabileceğini önermişlerdir (129). Zhanq F ve arkadaşlarının 2014 yılında KHDAKnde miR-192 ve cisplatin direnci arasındaki ilişkiyi saptamak üzere bir çalışma düzenlemişlerdir. Bu çalışma sonucunda cisplatin direncli hücre kültürlerinde miR-192' nin istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek seviyede eksprese olduğu göstermişler ve yüksek miR-192 ekspresyonunun cisplatin direncine sebep olduğunu apoptozu inhibe ettiğini göstermişlerdir (130).

miR-192 ve küçük hücreli akciğer kanseri arasındaki ilişkiyi saptama üzerine literatürde henüz yeterli çalışma bulunmamaktadır. Bizim çalışmamızda ise 38 hastanın tümünde tedavi öncesinde miR-192 ekspresyonu saptanmıştır. Fakat sağlıklı kontrol grubu çalışılmadığı için tanısal açıdan değerlendirme yapılamamıştır. Hastaların tedavi sonrası ekspresyon değerleri öncesi değerlerine göre kıyaslandığında ise 2 hasta hariç diğer tüm hastalarda istatistiksel olarak anlamlı ( $p<0.001$ ) derecede azalma saptanmıştır. Ekspresyonda artış gösteren iki hasta değerlendirildiğinde ise diğer hasta grubundan anlamlı klinik farklılık saptanamamıştır. Tedavi sonrası miR-192 seviyelerindeki anlamlı azalma

kemoterapiye sensitif olduğunu göstermekle birlikte; hem tedavi öncesi miR-192 düzeyleri hem de tedavi sonrası kat değişim oranlarının sağ kalım ilişkisi analiz edildiğinde istatistiksel anlamlı bir sonuç saptanmamıştır.

### **5.1.9 miR-23**

Yaptığımız literatür taraması sonucu miR-23 ve akciğer kanseri ile ilişkili bir çalışma tespit edemedik. Çok yaygın olmamakla birlikte literatürde diğer solid tümörlerle yapılmış çalışmalar mevcut. Örneğin He Y ve arkadaşlarının 2014 yılında osteosarkomlu hastalarda yürüttükleri bir çalışmada sağlıklı dokulara göre kanserli dokularda miR-23 ün daha az eksprese olduğunu göstermişler ve bunun gelecekte osteosarkom için bir tanısal belirteç olarak kullanılabileceğini öne sürmüşlerdir (131). Yine Cai S ve arkadaşlarının 2015 yılında yaptıkları çalışmada prostat kanserli dokularda sağlıklı dokulara kıyaslama yapıldığında; miR-23 ün daha az eksprese olduğunu göstermişler ve düşük ekspresyon düzeylerinin kötü klinik sonuçlarla ilişkili olabileceğini ile sürmüşlerdir (132).

Bizim çalışmamızda ise tedavi öncesinde tüm hastalarda miR-23 ün eksprese olduğunu gördük , sağlıklı kontrol grubu kullanmadığımız için tanısal değerlendirme yapamamakla birlikte gelecekte yapılacak çalışmalarla birlikte miR-23'ün akciğer kanseri tanısı ile ilişkilendirilebileceğini düşünmekteyiz. Tedavi öncesi ve sonrası ekspresyon farklılıklarını analiz ettiğimizde ise 4 hasta haricinde tüm hastalarımızda istatistiksel olarak anlamlı ( $p<0.001$ ) derecede ekspresyon seviyelerinde azalma gözlemlenmiştir. Ekspresyon gösteren hasta grubunun tamamının tedaviye yanıt veren grupta olması ve tedaviye yanıtız tüm hastalarda ekspresyon seviyesinde azalma olması klinik açıdan anlamlı bulunmuştur. Gelecekte daha fazla hasta sayısı ile miR-23'ün tümör süpressör özelliğini ortaya çıkartacak çalışmalara ihtiyaç bulunmaktadır. Tedavi sonrası miR-23 seviyelerindeki anlamlı azalma kemoterapiye sensitif olduğunu göstermekle birlikte; hem tedavi öncesi miR-23 düzeyleri hem de tedavi sonrası kat değişim oranlarının sağ kalım ilişkisi analiz edildiğinde istatistiksel anlamlı bir sonuç saptanmamıştır.

### **5.1.10 miR-372**

Yaptığımız literatür taramasında miR-372 ve akciğer kanseri ilişkisini tanımlayan yeterli çalışma bulunmadığını tespit ettik. Roa WH ve arkadaşlarının 2012 yılında KHDAK hastalarının balgamındaki miR-372 seviyesinin sağlıklı kontrol grubundaki balgam örneklerindeki ekspresyon seviyeleri ile karşılaştırdıklarında hasta grup balgam örneklerinde artmış ekspresyon olduğunu göstermişlerdir. Bunun gelecekte akciğer kanserinin erken tanısında kullanılabilecek bir potansiyel belirteç olabileceğini ile sürmüşlerdir (133). Yine aynı mantıkla düzenlenen başka bir çalışmada Kim Jo ve arkadaşları balgam ve bronkoalveolar lavaj örneğinde miR-372 ekspresyon seviyelerinin arttığını ve bunun gelecekte erken tanı için potansiyel bir belirteç olabileceğini öne sürmüşlerdir (134).

Bizim çalışmamızda ise 7 hasta dışında tüm hastalarda tedavi öncesinde miR-372 eksprese olmuştur. Sağlık kontrol grubu çalışılmadığı için tanısal anlamda değerlendirme yapılamamıştır. Serum örneğinde ekspresyon izlenmeyen 7 hastanın klinik özellikleri incelendiğinde diğer hasta grubundan farklılaştıracak bir bulgu saptanmadı. Tedavi öncesi ve sonrası değişimlere bakıldığında ise; ekspresyon gösteren hastalar içerisinde 4 hasta haricinde 34 hastada istatistiksel olarak anlamlı derecede ekspresyon seviyelerinde azalma gözlemlenmiştir. Tedavi sonrası miR-372 seviyelerindeki anlamlı azalma kemoterapiye sensitif olduğunu göstermekle birlikte; hem tedavi öncesi miR-23 düzeyleri hem de tedavi sonrası kat değişim oranlarının sağ kalım ilişkisi analiz edildiğinde istatistiksel anlamlı bir sonuç saptanmamıştır.

#### **5.1.11 miR-25**

2008 yılında Chen ve arkadaşları tarafından 152 akciğer kanseri ve 75 sağlıklı kontrol grubunun dahil edildiği çalışmada , akciğer kanserli hasta serumlarında miR-25 in istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek eksprese olduğunu göstermişler ve tanısal belirteç olarak kullanılabileceğini göstermişlerdir (135). Yang T ve arkadaşlarının 2015 yılında yaptıkları çalışmada KHDAK dokusunda miR-25'in sağlıklı dokulara göre kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı derece yüksek ekspresyon düzeyleri saptanmıştır. Dacic S ve arkadaşlarının adenokanserli akciğer kanseri dokularında miR-25 ekspresyon seviyelerini inceledikleri çalışmada sadece EGFR pozitif doku gruplarında yüksek seviyede eksprese olduğunu göstermişlerdir (136). Xu FX ve arkadaşları tarafından 2014 yılında yapılan çalışmada 100 adenokanserli akciğer kanseri dokusunda yüksek miR-25 ekspresyon düzeyinin lenf

nodu metastazı , iler evre hastalık ve kötü sağ kalım açısından istatistiksel olarak anlamlı derecede ilişkili olduğunu göstermişlerdir (137).

Bizim çalışmamızda tedavi öncesi değerlendirmede tüm hastalarda miR-25 ekspresyonu gözlemlenmiştir. Sağlıklı kontrol grubu çalışılmadığı için tanısal değerlendirme yapılamamıştır. Tedavi ile değişim açısından değerlendirme yapıldığında ise 3 hasta dışında tüm hastalarda tedavi sonrası istatistiksel olarak anlamlı derecede ekspresyonda azalma saptanmıştır. Ekspresyonda artış gösteren 3 hastanın klinik özellikleri değerlendirildiğinde ise fark yaratacak bir özellik saptanmamıştır. Tedavi sonrası miR-25 seviyelerindeki anlamlı azalma kemoterapiye sensitif olduğunu göstermekle birlikte; hem tedavi öncesi miR-25 düzeyleri hem de tedavi sonrası kat değişim oranlarının sağ kalım ilişkisi analiz edildiğinde istatistiksel anlamlı bir sonuç saptanmamıştır.

#### **5.1.12 miR-486**

Lei Yu ve arkadaşlarının 2010 yılında KHDAK alt tipi olan adenokanserli hastaları dahil ettikleri çalışmalarında; balgam ve kanserli dokuda miR-482 ekspresyon düzeylerinin sağlıklı kontrol grubu ile karşılaştırmasını yapmışlardır. Çalışma sonunda adenokanserli hasta grubunda istatistiksel olarak anlamlı derecede miR-486'nın ekspresyon düzeyinin daha düşük olduğunu göstermişlerdir (138). Yine başka bir çalışmada 2012 yılında Solomides CC ve arkadaşları tarafından küçük hücreli dışı akciğer kanseri dokularında miR-486 ekspresyon düzeylerinin normal dokuya göre belirgin derecede azaldığını göstermişler ve gelecekte tanısal bir biyomarker olabileceğini öne sürmüşlerdir (139).

Wang J ve arkadaşlarının 2014 yılında yaptıkları bir çalışmada ise benzer sonuçlar elde etmişler küçük hücreli dışı akciğer kanserli dokularda normal dokulara göre miR-486 ekspresyon seviyelerinin istatistiksel olarak düşük olduğunu göstermişlerdir. Yine aynı çalışmada miR-486 düşük ekspresyon seviyelerinin ileri evre ve lenf nodu metastazı ile istatistiksel olarak anlamlı derecede ilişkili olduğunu göstermişlerdir (140).

Bizim çalışmamızda ise 38 hastanın tamamında tedavi öncesi miR-486 ekspresyonu gözlemlenmiştir. Sağlıklı hasta grubu kullanılmadığı için tanısal açıdan değerlendirme yapılamamıştır. Tedavi sonrası hastalardaki ekspresyon değişiklikleri analiz edildiğinde ise; 1 hasta dışında tüm hastalarda istatistiksel olarak anlamlı

derecede ekspresyon azalması saptanmıştır. miR-486 tanı anındaki ekspresyon seviyesinin GS açısından istatistiksel analizi yapıldığında anlamlı olma eğiliminde ( $p=0.059$ ) bulunmuştur. PFS açısından analiz edildiğinde anlamlı sonuç saptanmamıştır. Yine tedavi sonrası kat değişimi sağ kalım ilişkisi analiz edildiğinde anlamlı sonuçlar saptanmamıştır.

### **5.1.13 miR-30**

Son yıllarda yapılan çalışmalar çeşitli kanserlerde miR-30'un bir tümörsüpresör ajan gibi davrandığını göstermektedir. Zhong Z ve arkadaşlarının 2014 yılında yaptıkları çalışmada 85 KHDAK dokusunda miR-30' un sağlıklı dokuya göre istatistiksel olarak anlamlı olacak derecede daha düşük eksprese olduğunu göstermişlerdir. MiR-30'un fazla ekspresyon göstermesinin invazyonu engellerken düşük eksprese olduğu durumlarda ise invazyonun daha fazla geliştiğini göstermişlerdir (141). Yine Zhong K ve arkadaşları tarafından miR-30'un küçük hücreli dışı akciğer kanserli dokuda tümör gelişimini inhibe etmedeki rolünü ayınlamak üzere düzenlenen çalışmada; miR-30' un kanserli dokularda sağlıklı dokulara göre daha düşük seviyede eksprese olduklarını göstermişlerdir. Aynı çalışmanın başka bir sonucu ise miR-30'un Rab18 adlı protein ekspresyonu azaltarak tümör proliferasyonunu engellediğini göstermişlerdir (142).

Bizim çalışmamızda ise tedavi öncesi hastaların serum miR-30 ekspresyon seviyelerine bakıldığında sadece bir hastanın hiç ekspresyon göstermediği görülmüştür. Bu hastanın klinik özellikleri incelendiğinde diğer hastalardan öne çıkan bir farklılık gözlemlenmemiştir. Tedavi öncesi ve sonrası ekspresyon değişimlerini analiz ettiğimizde ise 4 hasta dışında tüm hastalarda istatistiksel olarak anlamlı derecede ekspresyon azalması gözlemlenmiştir. Yine bu 4 hastayı diğer hastalardan farklı kılacak bir klinik özellik saptanmamıştır.

Tedavi sonrası miR-30 seviyelerindeki anlamlı azalma kemoterapiye sensitif olduğunu göstermekle birlikte; hem tedavi öncesi miR-30 düzeyleri hem de tedavi sonrası kat değişim oranlarının sağ kalım ilişkisi analiz edildiğinde istatistiksel anlamlı bir sonuç saptanmamıştır.

### **5.1.14 miR-1**

Literatür taraması yapıldığında miR-1 ve akciğer kanseri arasında ilişkinin irdelendiği ilk çalışmayı 2008 yılında Nasser MW ve arkadaşları yapmıştır. Bu

çalışmanın sonunda normal akciğer dokusunda miR-1'in yüksek seviyede eksprese olurken akciğer kanserli dokularda belirgin olarak ekspresyon seviyelerinde azalma olduğunu göstermişlerdir. MiR-1' in gelecekte yapılacak çalışmalar ile hem tanısal biyobelirteç hem de yeni bir tedavi hedefi olarak kullanılabileceğini öne sürmüşlerdir (143). Zhao Q ve arkadaşlarının 2014 yılında yaptıkları başka bir çalışmada ise yine benzer sonuçlar elde etmişler ve küçük hücreli akciğer kanseri dokularında miR-1 'ekspresyon seviyelerinin normal sağlıklı dokulara kıyasen istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük olduğunu göstermişlerdir (144).

Buradan yola çıkarak literatür taramamızda vardığımız genel sonuç; miR-1'in KHDAK 'de tümör süresör ajan gibi davrandığıdır. Bizim çalışmamızda ise tedavi öncesi hastaların tamamında miR-1 ekspresyonu gözlemlenmiştir. Tedavi öncesi ve sonrası ekspresyon değişimleri analiz edildiğinde ise 3 hasta dışında tüm hastalarda ekspresyon seviyelerinin istatistiksel olarak anlamlı derecede azaldığı saptanmıştır. Ekspresyon artışı izlenen 3 hasta analiz edildiğinde ise 2 sinin tedaviye yanıt veren grupta olduğu görülmüştü ve klinik anlamlı olduğu düşünülmüştür..

Tedavi sonrası miR-30 seviyelerindeki anlamlı azalma kemoterapiye sensitif olduğunu göstermekle birlikte; hem tedavi öncesi miR-30 düzeyleri hem de tedavi sonrası kat değişim oranlarının sağ kalım ilişkisi analiz edildiğinde istatistiksel anlamlı bir sonuç saptanmamıştır.

#### **5.1.15 miR-499**

Li M ve arkadaşları tarafından 2014 yılında bir çalışmada KHDAK hastalarının serum örnekleri miR-499 ekspresyon analizi açısından çalışılmış ve evre-1-2 hastalar ile evre-3-4 hastalar arasında karşılaştırma yapılmıştır. Çalışma sonuçlarına göre ileri evre hastalarda erken evredeki hastalara göre istatistiksel olarak anlamlı derecede miR-499 seviyeleri düşük eksprese olmuştur. Çalışma sonunda miR-499 un hem tanısal bir biyobelirteç olarak kullanılabilceğini hem de prognoz tayininde klinisyene yol gösterebileceği konusunda öneride bulunmuşlardır (145).Yine başka bir çalışmada ise Vinci S ve arkadaşları tarafından 2011 yılında yapılmış 101 sağlıklı ve kanserli doku araştırmaya dahil edilmiştir. Çalışma sonucunda miR-499 ekspresyonunun kanserli doku ve sağlıklı grup arasında karşılaştırma yapıldığında anlamlı bir fark ortaya koyulmamıştır (146).

Bizim çalışmamızda ise tedavi öncesi değerlere bakıldığında sadece 14 hastada miR-499 ekspresyonu saptadık geri kalan 24 hastada miR-499 hiç eksprese



olmadı. Ekspresyon gözlenmeyen grup ile eksprese olan grup arasında ne histolojik alt tip ne de tedaviye klinik yanıt açısından anlamlı bir fark bulunamadı. Tedavi öncesi ve sonrası ekspresyon değişimleri analiz edildiğinde ise 1 hasta dışında tüm hastalarda istatistiksel olarak anlamlı derecede azalma saptandı.

Tedavi sonrası miR-499 seviyelerindeki anlamlı azalma kemoterapiye sensitif olduğunu göstermekle birlikte; hem tedavi öncesi miR-499 düzeyleri hem de tedavi sonrası kat değişim oranlarının sağ kalım ilişkisi analiz edildiğinde istatistiksel anlamlı bir sonuç saptanmamıştır.

### **5.1.16 miR-520**

Son yıllarda yapılan araştırmalar miR-520 ailesinin çeşitli solid tümörlerin gelişiminde önemli rol oynadığını ortaya çıkarmıştır. Bu çalışmalardan 2015 yılında Yan L ve arkadaşları tarafından kolorektal kanserlerde miR-520 nin rolünü ortaya çıkartmak için yapılan çalışmada kolorektal kanser içeren dokularda miR-520 ekspresyon oranının sağlıklı dokular ile kıyaslandığında önemli derecede down regüle olduğunu göstermişlerdir (147). 2012 yılında Keklikoglou I ve arkadaşları tarafından meme kanserli dokularda yapılan çalışmalarında miR-520/373 ailesinin östrojen reseptörü negatif meme kanserli dokularda nükleer faktör  $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B) ve TGF-  $\beta$  yolları üzerinden metastaz ve invazyon önleyicileri rollerini ortaya çıkartmışlar ve gelecekte miR-520 üzerinden geliştirilecek bir tedavi modelitesinin etkili olabileceğini öne sürmüşlerdir (148).

Biz çalışmamızda 38 KHDAK hastasının serumlarında miR-520 ekspresyon seviyelerinin tedavi öncesi ve sonrası değişimlerini ve GS açısından istatistiksel analizlerini yaptık. Hastaların sadece 13 tanesinde miR-520 ekspresyonu gözlemlendi. 25 hastada eksprese olmadı. Eksprese olan ve olmayan hastalar arasında anlamlı klinik farklılıklar gözlemlenmedi. Yine sağ kalım analizi yapıldığında istatistiksel açıdan anlamlı farklılıklar gözlemlenmemiştir. Eksprese olan hastaların tedavi öncesi ve sonrası ekspresyon farklılıkları istatistiksel olarak analiz edildiğinde anlamlı ( $p < 0.001$ ) olarak tespit edildi. miR-520 nin hastalara verilen kemoterapötik ajanlara karşı sensitif olduğu ve bu nedenle tedavi öncesi ve sonrası değerleri arasında anlamlı değişiklikler oluşabileceği düşünüldü.

Tüm literatür verileri ve kendi çalışmamızın sonuçlarını birlikte değerlendirdiğimizde miRNA' ların gelecekte erken tanı , prognoz tayini ve erken

nüks hastalığı saptamada potansiyel biyobelirteçler olabilecekleri görülmektedir. MiRNA' lar üzerine daha yüksek hasta katılımı ve uzun takip süreli çalışmaların yapılması gerektiğini düşünmekteyiz.

## 6. SONUÇ

KHDAK olan hastalarda kemoterapi öncesi ve sonrası miRNA ekspresyon seviyesi değişimlerini ve bu değişimlerin tedavi yanıtı ve sağ kalım açısından ilişkisini araştırdığımız bu çalışmanın sonuçlarına göre:

- Hastaların Kaplan-meier yöntemi ile yapılan sağkalım analizlerinde cinsiyet (PFSp=0,010) ve kilo kaybı (PFSp<0.001) açısından PFS üzerinde istatistiksel olarak anlamlı farklılık oluşturduğu görüldü.
- Hastaların Kaplan-meier yöntemi ile yapılan sağkalım analizlerinde toksisite (GSp:0.015), kilo kaybı (GSp<0.01) ve tanısal girişim (GSp:0.044) açısından GS üzerinde istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar ortaya çıktı.
- Hastaların patolojik tipleri, sigara kullanımı, evreleri arasında progresyonsuz ve GS analizlerinde istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilmedi.
- Çalışılan tüm miRNA' ların tedavi sonrası ekspresyon değerleri analiz edildiğinde tedavi öncesine göre istatistiksel olarak anlamlı derecede (p<0.001) ekspresyon farklılığı gösterdiği tespit edildi.
- Çalışılan tüm miRNA' ların tedavi sonrası istatistiksel olarak anlamlı derecede azalması nedeniyle kemoterapiye sensitiv oldukları tedavi ile belirgin değişiklik gösterdikleri görüldü ve gelecekte yapılacak çalışmalarla tedavi sonrası erken nüks saptamada ve tedavi hedefi olarak kullanılacak bir potansiyel belirteç olduğu düşünüldü.
- Çalışılan tüm miRNA tiplerinin tedavi öncesi ve sonrası ekspresyon değişimlerinin tedavi yanıtı , GS ve progresyonsuz sağkalım açısından anlamlı bir ilişkisi olmadığı belirlendi. Sadece miR-486 tanı anındaki ekspresyon düzeyinin GS üzerinde istatistiksel olarak anlamlı olma (p=0,059) eğiliminde olduğu görüldü.
- Hastaların tedavi sonrası miRNA kat değişim oranları <0.5 ve >0.5 olarak sınıflandırıldığında miR-23'ün 0.5< üzerinde olan tüm hastaların tedaviye yanıt veren grupta olduğu görüldü. Literatürde tümör süpressör özelliği ön

planda olan miR-23'ün sadece tedaviye yanıt veren grupta artmış olması klinik olarak anlamlı bulunmuştur.

Sağlıklı grup çalışmamıza dahil edilemediği için tanısal açıdan değerlendirme yapılamadı. Literatür verilerinde tedavi sonrası serum miRNA değişimlerini ve bunu tedavi yanıtı, progresyonsuz ve GS açısından ilişkisini irdeleyen çalışma bulunmaması nedeniyle karşılaştırma yapılamadı. Hasta takibinin kısa süreli olması , hasta sayısının az olması ve erken evre hasta sayısının az olması nedeniyle GS ve PFS açısından daha sağlıklı ilişki kurulabilmesi için gelecekte bu alanda daha fazla çalışmanın yapılması gerektiği kanaatindeyiz.

#### KAYNAKLAR

- 1) Spiro SG, Porter JC: Lung cancer-Where are we today? Current advances in staging and nonsurgical treatment. Am J Respir Crit Care Med 2002;166:1166-96.
- 2) Brambilla E, Travis WD. Lung cancer. In: World Cancer Report, Stewart BW, Wild CP (Eds), World Health Organization, Lyon 2014.
- 3) Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, 2015. CA Cancer J Clin 2015; 65:5.
- 4) Siegel R, Ma J, Zou Z, Jemal A. Cancer statistics, 2014. CA Cancer J Clin 2014; 64:9.
- 5) Kanser bildirimlerinin değerlendirilmesi 1993-1994. T.C. Sağlık Bakanlığı Kanser Savaş Daire başkanlığı. Yayın no: 582, Ankara 1997.
- 6) Fidaner C, Eser SY, Parkin DM. Incidence in Izmir in 1993-1994: first results from Izmir Cancer Registry. Eur J Cancer 2001;37:83- 92.
- 7) 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.
- 8) İtil O. Akciğer kanserlerinin epidemiyolojisi ve etyolojisi. In: Haydaroğlu A; ed. Akciğer kanserleri: Tanı ve tedavi. İzmir: Ege Üniversitesi Basımevi; 2000:15-34.
- 9) Parkin GM, Pisani P, Ferlay J. Global cancer statistics. CA Cancer J Clin 1999; 49: 33-64.
- 10) Bilgel N. Akciğer kanserlerinin epidemiyolojisi. In: Engin K, Özyardımcı N; eds. 6. Uludağ Onkoloji Sempozyumu Kitabı ve Konsensus Raporu. Bursa: Uludağ Üniversitesi Yayınları; 2001:35- 8.
- 11) Ruvkun G. Molecular biology. Glimpses of a tiny RNA world.Science 2001; 294: 797-9.
- 12) Skuladottir H, Olsen JH, Hirsch FR. Incidence of lung cancer in Denmark: historical and actual status. Lung Cancer 2000;27:107-18.

- 13) Travis WD, Brambilla E, Noguchi M, et al. International association for the study of lung cancer/american thoracic society/european respiratory society international multidisciplinary classification of lung adenocarcinoma. J Thorac Oncol 2011
- 14) Goldstraw P, Crowley J, Chansky K, et al. The IASLC Lung Cancer Staging Project: Proposals for the revision of the TNM stage groupings in the forthcoming (seventh) edition of the TNM Classification of malignant tumours. J Thorac Oncol 2007;2:706-14.
- 15) 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.
- 16) Tatar D, Kılınç O, Yorgancıoğlu A ve ark. Akciğer tümörü ve akciğer tüberkülozu birlikteliği. Solunum 2000;2:56-60
- 17) Humphrey LL, Deffebach M, Pappas M, et al. Screening for lung cancer with low-dose computed tomography: a systematic review to update the US Preventive services task force recommendation. Ann Intern Med 2013; 159:411.
- 18) Kvale PA. Lung Cancer. In ACCP Pulmonary Board Review. Continuing medical education course syllabus, USA, 2002;35-50
- 19) Postmus PE. Epidemiology of lung cancer. In: Fishman AP, Elias JA, Fishman JA et al; eds: Fishman's pulmonary diseases and disorders. New York: McGraw Hill Companies; 1998:1707-19.
- 20) Sayed D, Abdellatif M. MicroRNAs in development and disease. Physiol Rev 2011; 91: 827-87.
- 21) Kris MG, Johnson BE, Berry LD, et al. Using multiplexed assays of oncogenic drivers in lung cancers to select targeted drugs. JAMA 2014; 311:1998.
- 22) Vanderlaan PA, Yamaguchi N, Folch E, et al. Success and failure rates of tumor genotyping techniques in routine pathological samples with non-small-cell lung cancer. Lung Cancer 2014; 84:39.
- 23) Nesbitt JC. Superior vena cava syndrome: surgery and stents. In: Pass HI, Mitchell JB, Johnson DH; eds. Lung cancer principle and practice. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2000: 1056-70.
- 24) Çağırıcı U. Akciğer kanserlerinin semptomları, bulguları. In: Haydaroğlu A; ed. Akciğer kanserleri: Tanı ve tedavi. İzmir: Ege Üniversitesi Basımevi; 2000:165-73.
- 25) European Respiratory Monograph 2001;17:86-98.
- 26) Kraut M, Wozniak A. Clinical presentation. In: Pass HI, Mitchell JB, Johnson DH et al; eds. Lung cancer principle and practice. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2000:521-34.
- 27) Çağırıcı U. Akciğer kanserlerinin semptomları, bulguları. In: Haydaroğlu A; ed. Akciğer kanserleri: Tanı ve tedavi. İzmir: Ege Üniversitesi Basımevi; 2000:165-73.
- 28) Stahel RA, Ginsberg R, Havemann K et al. Staging and prognostic factors in small-cell lung carcinoma of the lung. Consensus report. Lung Cancer 1989;5:119-26.
- 29) Rosado-de-Christensen ML, Templeton PA, Moron CA. Bronchogenic carcinoma: radiologic-pathologic correlation. Radiographics 1994;14:429-46.
- 30) Sculier JP, Chansky K, Crowley JJ, et al. The impact of additional prognostic factors on survival and their relationship with the anatomical extent of disease

- expressed by the 6th Edition of the TNM Classification of Malignant Tumors and proposals for the 7th edition. *J Thorac Oncol* 2008;3: 457-66.
- 31) Govindan R, Page N, Morgensztern D, et al. Changing epidemiology of small cell lung cancer in the United States over the last 30 years: analysis of the surveillance, epidemiologic, and end results database. *J Clin Oncol* 2006;24:4539-44.
  - 32) Müller NL, Miller RR. Neuroendocrine carcinomas of the lung. *Semin Roentgenol* 1990;25:96-104.
  - 33) Hinson JA Jr, Perry MC. Small cell lung cancer. *CA Cancer J Clin* 1993;43:216-25.
  - 34) Passlick B, Siene W, Seen-Hibler R ve ark. Overexpression of matrix metalloproteinase 2 predicts unfavorable outcome in early stage nonsmall cell lung cancer. *Clin Cancer Research*. 2000, 6:3944-3948.
  - 35) Yaman M. Akciğer Kanseri. In: Erk M. Göğüs Hastalıkları 11. cilt, İstanbul 2001; Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Yayın No:237, 753 805
  - 36) Aydanur Kargı, Ali Veral. Patolojik Tanı ve sorunları. In: Akkoçlu A, Öztürk C. Akciğer kanseri multidisipliner yaklaşım. Toraks Kitapları Sayı:1 Bilimsel Tıp Yayınevi; Ankara 1999:1:17-21.
  - 37) Sobin LH, Gospodarowicz MK, Wittekind C. Lung and pleural tumours, TNM classification of malignant tumours. Wiley- Blackwell 2009; 138-46.
  - 38) Ambros V. The functions of animal microRNAs. *Nature*. 2004;431: 350–355.
  - 39) Lim LP, Lau NC, Garrett-Engele P, Grimson A, Schelter JM, Castle J, Bartel DP, Linsley PS, Johnson JM. Microarray analysis shows that some microRNAs downregulate large numbers of target mRNAs. *Nature* 2005; 433: 769-773
  - 40) Narry KV. Small RNAs: Classification, Biogenesis, and Function. *Mol Cells* 2005; 19(1):1-15.
  - 41) Shenouda SK, Alahari SK. MikroRNA function in cancer: oncogene or a tumor suppressor. *Cancer Metastasis Rev*. 2009; 28(3-4):369-78
  - 42) 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(5): 843-54.
  - 43) Jemal A, Thomas A, Murray T et al. Cancer statistics, 2002. *CA Cancer J Clin* 2002; 52: 23-47
  - 44) Reinhart BJ, Slack FJ, Basson M, et al. The 21-nucleotide *let-7* RNA regulates developmental timing in *Caenorhabditis elegans*. *Nature* 2000;403, 901–906.
  - 45) Pasquinelli AE, Reinhart BJ, Slack F, et al. Conservation of the sequence and temporal expression of *let-7* heterochronic regulatory RNA. *Nature* 2000;408(6808):86–89.
  - 46) Lagos-Quintana M, Rauhut R, Lendeckel W, Tuschl T. Identification of novel genes coding for small expressed RNAs. *Science* 2001;294:853–858
  - 47) 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.
  - 48) 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.
  - 49) [http://www.mirbase.org/cgi-bin/mirna\\_summary.pl?org=hsa](http://www.mirbase.org/cgi-bin/mirna_summary.pl?org=hsa)

- 50) Saydam F, Değirmenci İ, Güneş HV. Mikro RNA'lar ve kanser. *Dicle Medical Journal* 2011; 38(1):113-20.
- 51) Kwak PB, Iwasaki S, Tomari Y. The microRNA pathway and cancer. *Cancer Sci* 2010; 101(11): 2309-15.
- 52) Lee YS, Dutta A. The tumor suppressor microRNA let-7 represses the HMGA2 oncogene. *Genes Dev* 2007; 21(9):1025-30.
- 53) Esquela-Kerscher A, Slack FJ. Oncomirs – microRNAs with a role in cancer. *Nat Rev Cancer* 2006; 6(4):259-69.
- 54) Lund E, Guttinger S, Calado A, Dahlberg JE, Kutay U. Nuclear export of microRNA precursors. *Science* 2004; 303(5654): 95-8.
- 55) 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.
- 56) Gregory RI, Chendrimada TP, Cooch N, Shiekhattar R. Human RISC couples microRNA biogenesis and posttranscriptional gene silencing. *Cell* 2005; 123(4): 631-40.
- 57) 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
- 58) Pillai RS. MicroRNA function: multiple mechanisms for a tiny RNA. *RNA* 2005;11(12):1753-61.
- 59) Mitchell PS, Parkin RK, Kroh EM, Fritz BR, Wyman SK, Pogosova-Agadjanyan EL, Peterson A, Noteboom J, O'Brian KC, Allen A, Lin DW, Urban N, Drescher CW, Knudsen BS, Stirewalt DL, Gentleman R, Vessella RL, Nelson PS, Martin DB, Tewari M. Circulating microRNAs as stable blood-based markers for cancer detection. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2008 Jul 29;105(30):10513-8. doi: 10.1073/pnas.0804549105. Epub 2008 Jul 28. PubMed PMID: 18663219; PubMed Central PMCID: PMC2492472.
- 60) Lu M, Zhang Q, Deng M, Miao J, Guo Y, Gao W, Cui Q. An analysis of human microRNA and disease associations. *PLoS One.* 2008;3(10):e3420. doi: 10.1371/journal.pone.0003420. Epub 2008 Oct 15. PubMed PMID: 18923704; PubMed Central PMCID: PMC2559869.
- 61) 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.
- 62) Wijnhoven BP, Michael MZ, Watson DI. MicroRNAs and cancer. *Br J Surg* 2007; 94(1): 23-30.
- 63) Calin GA, Sevignani C, Dumitru CD, Hyslop T, Noch E, Yendamuri S, et al. Human microRNA genes are frequently located at fragile sites and genomic regions involved in cancers.
- 64) Michael MZ, O'Connor SM, van Holst Pellekaan NG, Young GP, James RJ. Reduced accumulation of specific microRNAs in colorectal neoplasia. *Mol Cancer Res* 2003; 1(12): 882-91.
- 65) Le Quesne J, Caldas C. Micro-RNAs and breast cancer. *Molecular Oncology* 2010; 4(3): 230-41.
- 66) Murakami Y, Yasuda T, Saigo K, Urashima T, Toyoda H, Okanoue T, Shimotohno K. Comprehensive analysis of microRNA expression patterns in hepatocellular carcinoma and non-tumorous tissues. *Oncogene* 2006; 25(17): 2537-45

- 67) Cowland JB, Hother C, Gronbaek K. MicroRNAs and cancer. *APMIS* 2007; 115(10):1090 -106.
- 68) Calin GA, Sevignani C, Dumitru CD, Hyslop T, Noch E, Yendamuri S, et al. Human microRNA genes are frequently located at fragile sites and genomic regions involved in cancers. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004; 101: 2999-3004.
- 69) Yanaihara N, Caplen N, Bowman E, Seike M, Kumamoto K, Yi M, et al. Unique microRNA molecular profiles in lung cancer diagnosis and prognosis. *Cancer Cell* 2006; 9: 189-98.
- 70) 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: 635-47.
- 71) Takamizawa J, Konishi H, Yanagisawa K, Tomida S, Osada H, Endoh H, et al. Reduced expression of the let-7 microRNAs in human lung cancers in association with shortened postoperative survival. *Cancer Res* 2004; 64: 3753-6.
- 72) Liu X, Sempere LF, Guo Y, Korc M, Kauppinen S, Freemantle SJ, et al. Involvement of microRNAs in lung cancer biology and therapy. *Transl Res* 2011; 157: 200-8.
- 73) Corney DC, Flesken-Nikitin A, Godwin AK, Wang W, Nikitin AY. MicroRNA-34b and MicroRNA-34c are targets of p53 and cooperate in control of cell proliferation and adhesion-independent growth. *Cancer Res* 2007; 67: 8433-8. Zamani AG, Zamani A. 61 *Tuberk Toraks* 2013; 61(1): 57-62
- 74) Welch C, Chen Y, Stallings RL. MicroRNA-34a functions as a potential tumor suppressor by inducing apoptosis in neuroblastoma cells. *Oncogene* 2007; 26: 5017-22.
- 75) Tazawa H, Tsuchiya N, Izumiya M, Nakagama H. Tumor-suppressive miR-34a induces senescence-like growth arrest through modulation of the E2F pathway in human colon cancer cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 2007; 104: 15472-7.
- 76) Bommer GT, Gerin I, Feng Y, Kaczorowski AJ, Kuick R, Love RE, et al. p53-mediated activation of miRNA34 candidate tumor-suppressor genes. *Curr Biol* 2007; 17: 1298-307
- 77) Liu X, Sempere LF, Galimberti F, Freemantle SJ, Black C, Dragnev KH, et al. Uncovering growth-suppressive MicroRNAs in lung cancer. *Clin Cancer Res* 2009; 15: 1177-83.
- 78) Feng S, Cong S, Zhang X, Bao X, Wang W, Li H, et al. MicroRNA-192 targeting retinoblastoma 1 inhibits cell proliferation and induces cell apoptosis in lung cancer cells. *Nucleic Acids Res* 2011; 39: 6669-78.
- 79) Wang R, Wang ZX, Yang JS, Pan X, De W, Chen LB. MicroRNA- 451 functions as a tumor suppressor in human non-small cell lung cancer by targeting ras-related protein 14 (RAB14). *Oncogene* 2011; 30: 2644-58.
- 80) Jiang L, Huang Q, Zhang S, Zhang Q, Chang J, Qiu X, et al. Hsa-miR-125a-3p and hsa-miR-125a-5p are down regulated in non-small cell lung cancer and have inverse effects on invasion and migration of lung cancer cells. *BMC Cancer* 2010; 10: 318.
- 81) Crawford M, Brawner E, Batte K, Yu L, Hunter MG, Otterson GA, et al. MicroRNA-126 inhibits invasion in non-small cell lung carcinoma cell lines. *Biochem Biophys Res Commun* 2008; 373: 607-12.

- 82) Roybal JD, Zang Y, Ahn YH, Yang Y, Gibbons DL, Baird BN, et al. miR-200 Inhibits lung adenocarcinoma cell invasion and metastasis by targeting Flt1/VEGFR1. *Mol Cancer Res* 2011; 9: 25-35.
- 83) Lin PY, Yu SL, Yang PC. MicroRNA in lung cancer. *Br J Cancer* 2010; 103: 1144-8.
- 84) He L, Thomson JM, Hemann MT, Hernando-Monge E, Mu D, Goodson S, et al. A microRNA polycistron as a potential human oncogene. *Nature* 2005; 435: 828-33
- 85) Salmena L, Carracedo A, Pandolfi PP. Tenets of PTEN tumor suppression. *Cell* 2008; 133: 403-14.
- 86) Liu X, Sempere LF, Ouyang H, Memoli VA, Andrew AS, Luo Y, et al. MicroRNA-31 functions as an oncogenic microRNA in mouse and human lung cancer cells by repressing specific tumor suppressors. *J Clin Invest* 2010; 120: 1298-309.
- 87) 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. *Lung Cancer* 2010; 67: 170-6
- 88) 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
- 89) Shen J, Todd NW, Zhang H, Yu L, Lingxiao X, Mei Y, et al. Plasma microRNAs as potential biomarkers for non-small-cell lung cancer. *Lab Invest* 2011; 91: 579-87
- 90) 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-small cell lung cancer. *J Thorac Oncol* 2011; 6: 482-8.
- 91) 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.
- 92) 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.
- 93) Donnem T, Eklo K, Berg T, Sorbye SW, Lonvik K, Al-Saad S, et al. Prognostic impact of MiR-155 in non-small cell lung cancer evaluated by in situ hybridization. *J Transl Med* 2011; 9: 6.
- 94) Hu Z, Chen X, Zhao Y, Tian T, Jin G, Shu Y, et al. Serum microRNA signatures identified in a genome-wide serum microRNA expression profiling predict survival of non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol* 2011; 28: 1721-6.
- 95) Raponi M, Dossey L, Jatkoe T, Wu X, Chen G, Fan H, et al. MicroRNA classifiers for predicting prognosis of squamous cell lung cancer. *Cancer Res* 2009; 69: 5776-83.
- 96) Gallardo E, Navarro A, Vinolas N, Marrades RM, Diaz T, Gel B, et al. miR-34a as a prognostic marker of relapse in surgically resected non-small-cell lung cancer. *Carcinogenesis* 2009; 30: 1903-9.
- 97) Yu SL, Chen HY, Chang GC, Chen CY, Chen HW, Singh S, et al. MicroRNA signature predicts survival and relapse in lung cancer. *Cancer Cell* 2008; 13: 48-57.
- 98) Gao W, Yu Y, Cao H, Shen H, Li X, Pan S, et al. Deregulated expression of miR-21, miR-143 and miR-181a in non small cell lung cancer is related to



- clinicopathologic characteristics or patient prognosis. *Biomed Pharmacother* 2010; 64: 399-408
- 99) Ranade AR, Cherba D, Sridhar S, Richardson P, Webb C, Paripati A, et al. MicroRNA 92a-2\*: a biomarker predictive for chemoresistance and prognostic for survival in patients with small cell lung cancer. *J Thorac Oncol* 2010; 5: 1273-8.
- 100) Saito M, Schetter AJ, Mollerup S, Kohno T, Skaug V, Bowman ED, et al. The association of microRNA expression with prognosis and progression in early-stage, non-small cell lung adenocarcinoma: a retrospective analysis of three cohorts. *Clin Cancer Res* 2011; 17: 1875-82.
- 101) Elmen J, Lindow M, Schütz S, Lawrence M, Petri A, Obad S, et al. LNA-mediated microRNA silencing in non-human primates. *Nature* 2008; 452: 896-9.
- 102) Krützfeldt J, Rajewsky N, Braich R, Rajeev KG, Tuschl T, Manoharan M, et al. Silencing of microRNAs in vivo with 'antagomirs'. *Nature* 2005; 438: 685-9.
- 103) Ma L, Reinhardt F, Pan E, Soutschek J, Bhat B, Marcusson EG, et al. Therapeutic silencing of miR-10b inhibits metastasis in a mouse mammary tumor model. *Nat Biotechnol* 2010; 28: 341-7.
- 104) Wiggins JF, Ruffino L, Kelnar K, Omotola M, Patrawala L, Brown D, et al. Development of a lung cancer therapeutic based on the tumor suppressor microRNA-34. *Cancer Res* 2010; 70: 5923-30.
- 105) Kasinski AL, Slack FJ. miRNA-34 prevents cancer initiation and progression in a therapeutically resistant K-ras and p53- induced mouse model of lung adenocarcinoma. *Cancer Res* 2012; 72: 5576-87.
- 106) Trang P, Medina PP, Wiggins JF, Ruffino L, Kelnar K, Omotola M, et al. Regression of murine lung tumors by the let-7 microRNA. *Oncogene* 2010; 29: 1580-7.
- 107) Çelik İ. Akciğer kanserinde epidemiyoloji. In: Engin K, Özyardımcı N; eds. Akciğer kanserleri. Tanı ve tedavide temel ilkeler ve uygulamalar. İstanbul: Avrupa Tıp Kitapçılık Ltd. Şti.; 2001:50-56
- 108) Turkish Thoracic Society, Lung and Pleural Malignancies Study Group. Pattern of lung cancer in Turkey 1994-1998. *Respiration* 2002;69:207-10.
- 109) Cha Q, Chen Y, Du Y. The trends in histological types of lung cancer during 1980-1988, Guangzhou, China. *Lung Cancer* 1997;17:219-30.
- 110) Jemal A, Siegel R, Ward E, Hao Y, Xu J, Thun MJ. Cancer statistics, 2009. *CA Cancer J Clin* 2009; 59: 225-49.
- 111) **Wang RJ**, Zheng YH, Wang P, Zhang JZ. *Int J Clin Exp Pathol*. 2015 Jan 1;8(1):765-71. eCollection 2015.
- 112) Chen G, Umelo IA, Lv S, Teugels E, Fostier K, Kronenberger P, Dewaele A, Sadones J, Geers C, De Grève J. *PLoS One*. 2013;8(3):e60317. doi: 10.1371/journal.pone.0060317. Epub 2013 Mar 26.
- 113- Rani S, Gately K, Crown J, O'Byrne K, O'Driscoll L. *Cancer Biol Ther*. 2013 Dec;14(12):1104-12. doi: 10.4161/cbt.26370. Epub 2013 Sep 4.

- 114--- Heegaard NH, Schetter AJ, Welsh JA, Yoneda M, Bowman ED, Harris CC. *Int J Cancer*. 2012 Mar 15;130(6):1378-86. doi: 10.1002/ijc.26153. Epub 2011 Aug 26.
- 115- 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.
- 116- Guo L, Wang J, Yang P, Lu Q, Zhang T, Yang Y. *IUBMB Life*. 2015 Aug 27. doi: 10.1002/iub.1412. [Epub ahead of print]
- 117- Tejero R, Navarro A, Campayo M, Viñolas N, Marrades RM, Cordeiro A, Ruíz-Martínez M, Santasusagna S, Molins L, Ramirez J, Monzó M. *PLoS One*. 2014 Jul 8;9(7):e101899. doi: 10.1371/journal.pone.0101899. eCollection 2014.
- 118- Xie Y, Todd NW, Liu Z, Zhan M, Fang H, Peng H, Alattar M, Deepak J, Stass SA, Jiang F. *Lung Cancer*. 2010 Feb;67(2):170-6. doi: 10.1016/j.lungcan.2009.04.004. Epub 2009 May 14.
- 119- Gao W, Yu Y, Cao H, Shen H, Li X, Pan S, Shu Y. *Biomed Pharmacother*. 2010 Jul;64(6):399-408. doi: 10.1016/j.biopha.2010.01.018. Epub 2010 Feb 25.
- 120- Shen J, Liu Z, Todd NW, Zhang H, Liao J, Yu L, Guarnera MA, Li R, Cai L, Zhan M, Jiang F. *BMC Cancer*. 2011 Aug 24;11:374. doi: 10.1186/1471-2407-11-374.
- 121- Võsa U, Vooder T, Kolde R, Vilo J, Metspalu A, Annilo T. *Int J Cancer*. 2013 Jun 15;132(12):2884-93. doi: 10.1002/ijc.27981. Epub 2012 Dec 27.
- 122- Le HB, Zhu WY, Chen DD, He JY, Huang YY, Liu XG, Zhang YK. *Med Oncol*. 2012 Dec;29(5):3190-7. doi: 10.1007/s12032-012-0303-z. Epub 2012 Jul 11.
- 123- Zhang YK, Zhu WY, He JY, Chen DD, Huang YY, Le HB, Liu XG. *J Cancer Res Clin Oncol*. 2012 Oct;138(10):1641-50. Epub 2012 May 22.
- 124- Võsa U, Vooder T, Kolde R, Vilo J, Metspalu A, Annilo T. *Int J Cancer*. 2013 Jun 15;132(12):2884-93. doi: 10.1002/ijc.27981. Epub 2012 Dec 27.
- 125- Jiang M, Zhang P, Hu G, Xiao Z, Xu F, Zhong T, Huang F, Kuang H, Zhang W. *Mol Cell Biochem*. 2013 Nov;383(1-2):67-75. doi: 10.1007/s11010-013-1755-y. Epub 2013 Jul 24.
- 126- Aushev VN, Zborovskaya IB, Laktionov KK, Girard N, Cros MP, Herceg Z, Krutovskikh V.

PLoS One. 2013 Oct 9;8(10):e78649. doi: 10.1371/journal.pone.0078649.  
eCollection 2013.

127- Xu T, Liu X, Han L, Shen H, Liu L, Shu Y.  
Clin Transl Oncol. 2014 May;16(5):469-75. doi: 10.1007/s12094-013-1106-1. Epub  
2013 Sep 10.

128- Gao Y, Fu S, Jiang W, Li B, Tian Y, Fu X.  
Zhongguo Fei Ai Za Zhi. 2014 May;17(5):417-23. doi: 10.3779/j.issn.1009-  
3419.2014.05.10. Chinese.

129- Feng S, Cong S, Zhang X, Bao X, Wang W, Li H, et al. MicroRNA-192  
targeting retinoblastoma 1 inhibits cell proliferation and induces cell apoptosis in  
lung cancer cells. Nucleic Acids Res 2011; 39: 6669-78.

130- Zhang F, Li Y, Wu H, Qi K, You J, Li X, Zu L, Pan Z, Wang Y, Li Y, Li Y,  
Wang M, Shen W, Zhou Q.  
Zhongguo Fei Ai Za Zhi. 2014 May;17(5):384-90. doi: 10.3779/j.issn.1009-  
3419.2014.05.04. Chinese.

131- He Y<sup>1</sup>, Meng C, Shao Z, Wang H, Yang S. Cell Physiol  
Biochem. 2014;34(5):1485-96. doi: 10.1159/000366353. Epub 2014 Oct 8.

132- Cai S<sup>1</sup>, Chen R<sup>2</sup>, Li X<sup>3</sup>, Cai Y<sup>4</sup>, Ye Z<sup>2</sup>, Li S<sup>2</sup>, Li J<sup>4</sup>, Huang H<sup>5</sup>, Peng S<sup>4</sup>, Wang  
J<sup>4</sup>, Tao Y<sup>4</sup>, Huang H<sup>6</sup>, Wen X<sup>7</sup>, Mo J<sup>7</sup>, Deng Z<sup>8</sup>, Wang J<sup>9</sup>, Zhang Y<sup>4</sup>, Gao X<sup>4</sup>, Wen  
X<sup>4</sup>. Oncotarget. 2015 Feb 28;6(6):3904-17.

133- Roa WH, Kim JO, Razzak R, Du H, Guo L, Singh R, Gazala S, Ghosh S, Wong  
E, Joy AA, Xing JZ, Bedard EL.  
Clin Invest Med. 2012 Oct 6;35(5):E271.

134- Kim JO, Gazala S, Razzak R, Guo L, Ghosh S, Roa WH, Bédard EL.  
Anticancer Res. 2015 Apr;35(4):1873-80.

135- Chen X<sup>1</sup>, Ba Y, Ma L, Cai X, Yin Y, Wang K, Guo J, Zhang Y, Chen J, Guo  
X, Li Q, Li X, Wang W, Zhang Y, Wang J, Jiang X, Xiang Y, Xu C, Zheng P, Zhang  
J, Li R, Zhang H, Shang X, Gong T, Ning G, Wang J, Zen K, Zhang J, Zhang CY.  
Cell Res. 2008 Oct;18(10):997-1006. doi: 10.1038/cr.2008.282.

136- Yang T, Chen T, Li Y, Gao L, Zhang S, Wang T, Chen M.  
Tumour Biol. 2015 Mar;36(3):1903-11. doi: 10.1007/s13277-014-2793-0. Epub 2014  
Nov 29.

- 137- Xu FX, Su YL, Zhang H, Kong JY, Yu H, Qian BY.  
*Asian Pac J Cancer Prev.* 2014;15(3):1197-203.
- 138- Yu L, Todd NW, Xing L, Xie Y, Zhang H, Liu Z, Fang H, Zhang J, Katz RL, Jiang F.  
*Int J Cancer.* 2010 Dec 15;127(12):2870-8. doi: 10.1002/ijc.25289.
- 139- Solomides CC, Evans BJ, Navenot JM, Vadigepalli R, Peiper SC, Wang ZX.  
*Acta Cytol.* 2012;56(6):645-54. doi: 10.1159/000343473. Epub 2012 Nov 24.
- 140- Wang J, Tian X, Han R, Zhang X, Wang X, Shen H, Xue L, Liu Y, Yan X, Shen J, Mannoor K, Deepak J, Donahue JM, Stass SA, Xing L, Jiang F.  
*Oncogene.* 2014 Feb 27;33(9):1181-9. doi: 10.1038/onc.2013.42. Epub 2013 Mar 11.
- 141- Zhong Z, Xia Y, Wang P, Liu B, Chen Y.  
*Mol Med Rep.* 2014 Nov;10(5):2575-9. doi: 10.3892/mmr.2014.2494. Epub 2014 Aug 14.
- 142- Zhong K, Chen K, Han L, Li B.  
*BMC Cancer.* 2014 Sep 24;14:703. doi: 10.1186/1471-2407-14-703.
- 143- Nasser MW, Datta J, Nuovo G, Kutay H, Motiwala T, Majumder S, Wang B, Suster S, Jacob ST, Ghoshal K.  
*J Biol Chem.* 2008 Nov 28;283(48):33394-405. doi: 10.1074/jbc.M804788200. Epub 2008 Sep 25.
- 144- Zhao Q, Zhang B, Shao Y, Chen L, Wang X, Zhang Z, Shu Y, Guo R.  
*Future Oncol.* 2014 Jan;10(1):49-57. doi: 10.2217/fon.13.242.
- 145- Li M, Zhang Q, Wu L, Jia C, Shi F, Li S, Peng A, Zhang G, Song X, Wang C.  
*Oncol Rep.* 2014 Apr;31(4):1961-7. doi: 10.3892/or.2014.3029. Epub 2014 Feb 18.
- 146- Vinci S, Gelmini S, Pratesi N, Conti S, Malentacchi F, Simi L, Pazzagli M, Orlando C.  
*Clin Chem Lab Med.* 2011 Sep 9;49(12):2073-80. doi: 10.1515/CCLM.2011.708.
- 147- Yan L, Yu J, Tan F, Ye GT, Shen ZY, Liu H, Zhang Y, Wang JF, Zhu XJ, Li GX.  
*Am J Cancer Res.* 2015 Mar 15;5(4):1447-59. eCollection 2015.

148- Keklikoglou I, Koerner C, Schmidt C, Zhang JD, Heckmann D, Shavinskaya A, Allgayer H, Gückel B, Fehm T, Schneeweiss A, Sahin O, Wiemann S, Tschulena U. *Oncogene*. 2012 Sep 13;31(37):4150-63. doi: 10.1038/onc.2011.571. Epub 2011 Dec 12.