

**T.C.
Süleyman Demirel Üniversitesi
Tıp Fakültesi
Göğüs Hastalıkları Anabilim Dalı**

**İLERİ EVRE AKCİĞER KANSERİNDE TEDAVİ ÖNCESİ DOKU
VE SERUM MMP-2, MMP-9 VE TIMP-1 DÜZEYLERİNİN
KLİNİKOPATOLOJİK FAKTÖRLER İLE İLİŞKİSİ VE
PROGNOSTİK ÖNEMİ**

Dr. Zeynep ÇINAR

UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANI

Doç. Dr. Necla SONGÜR

**Bu tez Süleyman Demirel Üniversitesi Araştırma Projeleri Yönetim Birimi
tarafından “1760-TU-08” proje numarası ile desteklenmiştir.**

ISPARTA - 2010

ÖNSÖZ

Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Göğüs Hastalıkları Anabilim Dalı'nda aldığım uzmanlık eğitimim sırasında engin bilgi ve tecrübelerinden faydalanarak yetişmemi sağlayan tez danışmanım saygıdeğer hocam Sayın Doç. Dr. Necla SONGÜR'e, asistanlığım boyunca büyük ilgi ve desteklerini gördüğüm, bilgi ve görüşlerinden yararlandığım, değerli hocam Prof. Dr. Ahmet AKKAYA başta olmak üzere, Doç. Dr. Münire ÇAKIR, Doç. Dr. Ünal ŞAHİN, Yrd. Doç. Dr. Ahmet BİRCAN ve Yrd. Doç. Dr. Önder ÖZTÜRK'e ve büyük bir uyum içerisinde çalıştığım tüm asistan arkadaşlarıma teşekkürü bir borç olarak görüyorum. Tezin hazırlanma sürecinde bana yardımlarını esirgemeyen Patoloji AD'dan Doç. Dr. Sema BİRCAN, Biyokimya AD'dan Doç. Dr. Recep SÜTÇÜ ve çalışmamın sonuçlarının istatistiksel açıdan değerlendirmesinde büyük katkıları olan Üniversitemiz Ziraat Fakültesinde görevli Yrd. Doç. Dr. Özgür KOŞKAN hocalarıma, patoloji teknisyeni Vasfi BARAN'a ve projemizi destekleyen Süleyman Demirel Üniversitesi Rektörlüğü Bilimsel Araştırma Yönetim Birimine sonsuz teşekkürlerimi sunuyorum.

Bu günlere gelmemde bana karşı maddi ve manevi yardımlarını esirgemeyen aileme en derin sevgi ve şükranlarımı sunarım.

Dr. Zeynep ÇINAR
Isparta- 2010

İÇİNDEKİLER

| | |
|--|----|
| ÖNSÖZ..... | i |
| İÇİNDEKİLER | ii |
| SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ | iv |
| ŞEKİLLER DİZİNİ | v |
| TABLolar DİZİNİ | vi |
| 1. GİRİŞ ve AMAÇ | 1 |
| 2. GENEL BİLGİLER..... | 3 |
| 2.1. Akciğer Kanseri | 3 |
| 2.1.1. Epidemiyoloji ve Etyoloji | 3 |
| 2.1.2. Akciğer Kanserinde Patoloji | 5 |
| 2.1.3. Akciğer Kanserlerinde Tanı | 7 |
| 2.1.3.1. Semptom ve Bulgular..... | 7 |
| 2.1.3.2. Fizik Muayene..... | 7 |
| 2.1.4. Akciğer Kanserinde Evreleme | 9 |
| 2.1.5. Akciğer Kanserinde Prognostik Faktörler..... | 11 |
| 2.1.5.1. Küçük Hücreli Dışı Akciğer Kanserinde Prognostik Faktörler | 12 |
| 2.1.5.2. Küçük Hücreli Akciğer Kanserinde Prognostik Faktörler | 15 |
| 2.1.6. Akciğer Kanserlerinde Tedavi | 16 |
| 2.1.6.1. Küçük Hücreli Dışı Akciğer Kanserinde Tedavi Yaklaşımları..... | 16 |
| 2.1.6.2. Küçük Hücreli Akciğer Kanserinde Tedavi Yaklaşımları | 18 |
| 2.2. Matriks Metalloproteinazlar | 19 |
| 2.2.1. Ekstrasellüler Matriks ve Matriks Metalloproteinazların Önemi | 19 |
| 2.2.2. Matriks Metalloproteinazların Yapısı | 19 |
| 2.2.3. Matriks Metalloproteinazların Sınıflandırılması..... | 21 |
| 2.2.4. Jelatinazlar (MMP-2, MMP-9) | 23 |
| 2.2.4.1. Matriks Metalloproteinaz 2 (Jelatinaz A) | 23 |
| 2.2.4.2. Matriks Metalloproteinaz 9 (Jelatinaz B)..... | 24 |
| 2.2.5. Matriks Metalloproteinazların Aktivitesinin Düzenlenmesi..... | 25 |
| 2.2.6. Matrix Metalloproteinazların Ekspresyon ve Regülasyonu..... | 26 |
| 2.2.7. Matriks Metalloproteinazların Spesifik Doku İnhibitörleri | 27 |
| 2.2.8. Kanser ve Matrix Metalloproteinazlar | 29 |
| 2.3. Akciğer Kanserinde Matrix Metalloproteinazların Rolü | 30 |

| | |
|---|-----------|
| 3. MATERYAL ve METOD | 31 |
| 3.1. Hasta Grubu | 31 |
| 3.1.1. Araştırmaya Dahil Olma Ölçütleri | 31 |
| 3.1.2. Araştırmadan Çıkarılma Ölçütleri | 31 |
| 3.2. Radyolojik Yöntemler | 32 |
| 3.2.1. Akciğer Radyografisi | 32 |
| 3.2.2. Akciğer Bilgisayarlı Tomografisi | 32 |
| 3.3. İnvaziv Girişimler | 33 |
| 3.3.1. Bronkoskopi | 33 |
| 3.3.2. Endoskopik Ultrasonografi (EUS) | 33 |
| 3.4. Evreleme | 33 |
| 3.5. Evrelere Göre Tedavi ve İzlem | 34 |
| 3.6. Prognostik Faktörler | 34 |
| 3.7. Serum Örneklerinin Toplanması ve Örneklerde MMP-2, MMP-9 ve TIMP-1 Düzeylerinin Çalışılması | 35 |
| 3.7.1. Prosedür | 35 |
| 3.8. Doku MMP-2, MMP-9, TIMP-1 Ekspresyonlarının İmmünohistokimyasal Yöntemle İncelenmesi ve Değerlendirilmesi | 35 |
| 4. BULGULAR | 38 |
| 4.1. Hastaların Genel Karakteristikleri | 38 |
| 4.2. İleri Evre Akciğer Kanseri Hastalarda Serum MMP-2, MMP-9 ve TIMP-1 Düzeyleri | 40 |
| 4.2.1. Serum MMP-2, MMP-9 ve TIMP-1'in Klinikopatolojik Faktörler İle İlişkisi | 41 |
| 4.3. Tümör Dokularında MMP-2, MMP-9 ve TIMP-1 Ekspresyonlarının İmmünohistokimyasal İncelemesi | 42 |
| 4.3.1. Tümör Dokularında MMP-2, MMP-9 ve TIMP-1 Ekspresyonlarının Klinikopatolojik Faktörler İle İlişkisi | 47 |
| 4.4. Sağ Kalım Analizi | 48 |
| 6. SONUÇ | 60 |
| 7. ÖZET | 61 |
| 8. SUMMARY | 62 |
| 9. KAYNAKLAR | 63 |

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

| | |
|--------------|--|
| ALP | : Alkalen fosfataz |
| BM | : Bazal membran |
| BT | : Bilgisayarlı tomografi |
| ECOG | : Eastern Cooperative Oncology Group |
| EGF | : Epidermal growth factor |
| ELISA | : Enzyme-Linked Immunosorbent Assay |
| ESM | : Ekstrasellüler matriks |
| EUS | : Endoskopik Ultrasonografi |
| IASLC | : International Association for the Study of Lung Cancer |
| İİAB | : İnce iğne aspirasyon biopsisi |
| KHAK | : Küçük Hücreli Akciğer Kanseri |
| KHDAK | : Küçük Hücreli Dışı Akciğer Kanseri |
| KT | : Kemoterapi |
| LDH | : Laktik dehidrogenaz |
| LN | : Lenf nodu |
| LAP | : Lenfadenopati |
| MMP | : Matriks metalloproteinaz |
| MR | : Manyetik rezonans |
| NSE | : Nöron spesifik enolaz |
| PCNA | : Proliferatif Cell Nuclear Antigen |
| PET | : Pozitron Emisyon Tomografi |
| RT | : Radyoterapi |
| TBNA | : Transbronşiyal ince iğne aspirasyon biopsisi |
| TGF | : Transforming Growth Faktör |
| TIMP | : Doku inhibitör matriks metalloproteinaz |
| TNM | : Tümör-Nod-Metastaz |
| VEGF | : Vasküler endotelial growth faktör |
| VKİ | : Vücut kitle indeksi |
| WHO | : World Health Organization “Dünya Sağlık Örgütü “ |

ŞEKİLLER DİZİNİ

| | |
|---|----|
| Şekil 1. MMP enzimlerinin moleküler yapısı | 21 |
| Şekil 2. Hücre yüzeyinde MMP aktivasyon kaskadı. | 26 |
| Şekil 3. MMP enzim aktivitesinin düzenlenmesi..... | 27 |
| Şekil 4. Tümör hücrelerinde MMP-2 ile immunohistokimyasal boyanma..... | 44 |
| Şekil 5. Tümör hücrelerinde MMP-9 ile immunohistokimyasal boyanma..... | 45 |
| Şekil 6. Tümör hücrelerinde TIMP-1 ile immunohistokimyasal boyanma..... | 46 |
| Şekil 7. Tedavi modalitelerine göre sağ kalım eğrileri | 49 |
| Şekil 8. Çok değişkenli analizde 36 hastada TIMP-1 ile immün pozitif ve negatif boyanma durumlarına göre risk oranı. | 50 |
| Şekil 9. Çok değişkenli analizde 36 hastada MMP-9 ile immün pozitif ve negatif boyanma durumlarına göre risk oranı. | 51 |
| Şekil 10. Çok değişkenli analizde 36 hastada kilo kaybı olup olmama durumuna göre risk oranı. | 51 |

TABLolar DİZİNİ

| | |
|---|----|
| Tablo 1. Malign akciğer tümörlerinde histolojik sınıflama | 6 |
| Tablo 2. Akciğer kanserinde başlangıç semptom ve bulguların sıklığı | 7 |
| Tablo 3. Akciğer kanserinde semptom ve bulgular | 8 |
| Tablo 4. Küçük hücreli dışı akciğer kanserinde TNM sınıflaması | 10 |
| Tablo 5. Küçük hücreli dışı akciğer kanserinde TNM'ye göre evreleme | 11 |
| Tablo 6. Küçük hücreli akciğer kanseri evrelemesinde ikili sistem..... | 11 |
| Tablo 7. ECOG performans skalası | 13 |
| Tablo 8. Karnofsky performans skalası | 13 |
| Tablo 9. Matriks metalloproteinazlar | 22 |
| Tablo 10. Jelatinazların salınımını etkileyen faktörler..... | 25 |
| Tablo 11. Çalışma ile ilgili gerekli görülen koşullar..... | 32 |
| Tablo 12. Tüm hastaların ve histopatolojik alt gruplarının genel özellikleri..... | 39 |
| Tablo 13. Hastaların başvuru sırasındaki semptomları | 40 |
| Tablo 14. İleri evre akciğer kanserli hastalarda ve sağlıklı kontrol grubunda tedavi öncesi ölçülen serum MMP-2, MMP-9 ve TIMP-1 seviyeleri | 41 |
| Tablo 15. Serum MMP-2, MMP-9 ve TIMP-1 düzeylerinin klinikopatolojik parametreler ile ilişkisi..... | 42 |
| Tablo 16. Tümör dokularında MMP-2, MMP-9 ve TIMP-1 ile boyanma şiddeti ve yaygınlığı | 47 |
| Tablo 17. Tümör dokularında MMP-2, MMP-9 ve TIMP-1 ile immün pozitif ve immün negatif boyanan olgularda klinikopatolojik özellikler | 48 |
| Tablo 18. Çok değişkenli analizde bağımsız prognostik faktörler..... | 50 |

1. GİRİŞ ve AMAÇ

Akciğer kanseri günümüzde önemli bir sağlık sorunudur. Tüm dünyada kanser olgularının %12,8'inden, kanser ölümlerinin %17,8'inden akciğer kanseri sorumludur (1). Primer akciğer kanserlerinin %70-80'ini Küçük Hücreli Dışı Akciğer Kanseri (KHDAK) oluşturmaktadır. Tanı anında KHDAK hastaların, %50'sini toraks dışına metastazlı olgular, %10-15'ini lokal ilerlemiş rezeksiyona uygun olmayan hastalar oluşturur. Yeni tedavi ve girişimlere rağmen prognoz genellikle kötüdür ve ortalama 5 yıllık sağ kalım %2'dir (2).

Kanserlerde prognostik faktörler, sonucu önceden belirlemede önemlidir. Kanserın biyolojik davranışı önceden belirlenebilirse, bu bilgiler tedaviyi değerlendirmede ve klinik çalışmaları planlamada kullanılabilir. 1997'de güncellenmiş olan IASLC (International Association for the Study of Lung Cancer) çalışma grubunun görüş birliği raporuna göre performans durumu, kilo kaybı ve hastalığın evresi en önemli prognostik faktörler olarak bildirilirken, serum laktik dehidrogenaz (LDH), albumin düzeyi, yaş, cinsiyet, histolojik özellikler ve biyolojik faktörler olası prognostik faktörler olarak gösterilmiştir (3). Prognoz ve tedaviyi belirlemede çeşitli biyolojik belirleyiciler araştırılmakla birlikte ideal bir klinik prognostik faktör henüz geliştirilememiştir. Son yıllarda ileri evre akciğer kanserli hastalarda yeni prognostik faktörlerin belirlenmesi gerektiği önemle vurgulanmaktadır.

Tümör hücrelerinin lokal invazyonu ve metastazları öncelikle bazal membran (BM) tabakasının yıkılmasını gerektirir. Bu amaçla kanser hücreleri proteolitik enzimler üretir. Matriks metalloproteinazlar (MMP), ekstrasellüler matriksi ve bazal membranı (BM) yıkabilen enzimlerdir. Organizmada doku inhibitör matriks metalloproteinazlar (TIMP-1,-2,-3,-4) tarafından inhibe edilerek dengede tutulurlar (4). Son yıllarda yapılan çalışmalar ile çeşitli solid tümörlerde tümör hücrelerinin invitro olarak MMP-2 ve MMP-9 ürettiği ve bu enzimlerin tümör invazyonu, kötü prognoz ve diferansiasyonla ilişkili olduğu gösterilmiştir (5). Erken evre akciğer kanserlerinde, dolaşımda ve rezeke edilmiş akciğer dokularında artmış olan MMP-2 düzeylerinin tümör hücrelerinin yayılımı ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Ayrıca erken evre akciğer kanserlerinde, MMP-2, MMP-9 ve TIMP-1'in dolaşımda artmış

düzeylerinin negatif prognostik faktörler olduğu çeşitli klinik çalışmalar ile gösterilmiştir. Bununla birlikte akciğer kanserinde MMP'ların klinik ve prognostik önemini inceleyen çalışmaların büyük çoğunluğu erken evre akciğer kanserlerinde gerçekleştirilmiştir. Literatürde, ileri evre akciğer kanserinde serum MMP-2, MMP-9 ve TIMP-1 düzeylerinin prognoza olan etkisi ile ilgili olarak birkaç klinik çalışma bulunmakla birlikte ileri evre akciğer kanserinde doku örneklerinde MMP-2, MMP-9 ve TIMP-1 düzeylerinin klinik önemi ve prognoza olan etkisi ile ilgili hiçbir klinik çalışma bulunmamaktadır.

Kliniğimizde hastalarımızın büyük bir bölümünü ileri evre akciğer kanserli hastalar oluşturmaktadır. Sağ kalım oranları oldukça düşük olan bu hasta grubunda, tedaviyle ilgili karar ve değerlendirmeler oldukça zordur. Bu nedenle, bu hasta grubunda tedavi öncesi sağ kalımı etkileyebilecek faktörlerin ortaya çıkarılması, hastalarla ilgili tedavi modellerinin seçiminde ve/veya tedavi verip vermeme kararlarının alınmasında yol gösterici olacaktır.

Çalışmamızda, ileri evre akciğer kanserlerinde tedavi öncesi doku ve serum örneklerinde MMP-2, MMP-9 ve TIMP-1 düzeylerinin klinikopatolojik faktörler ile ilişkisi ve prognoza olan etkisinin prospektif olarak araştırılması amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Akciğer Kanseri

2.1.1. Epidemiyoloji ve Etyoloji

20. yüzyılın başında akciğer kanseri nadir olarak görülen bir hastalık iken son yıllarda sigara içme alışkanlığındaki artışa paralel olarak sıklığı giderek artmıştır. Günümüzde en sık görülen kanser türüdür (6). Tüm dünyada kanser olgularının %12,8'inden ve kanser ölümlerinin %17,8'inden akciğer kanseri sorumlu tutulmaktadır (1).

Akciğer kanserli olgularda 5 yıllık yaşam, 1974-1976 yıllarında %12 iken, 1992-1997 yılları arasında çok az yükselmiş ve %15 oranına ulaşmıştır (7). 2001 yılında akciğer kanseri bir milyondan fazla ölüme yol açmıştır (6). 1993-1994 yıllarında Ülkemizde Sağlık Bakanlığının pasif kanser kayıtlarına göre akciğer kanseri insidansı 11,5/100 000'dir (8). Ülkemizde akciğer kanserinin özelliklerini belirlemek amacıyla Türk Toraks Derneği Akciğer ve Plevra Maligniteleri Çalışma Grubu (TAPMG) tarafından yapılan ulusal, hastane bazlı retrospektif çalışma yapılmıştır. Bu çalışmada, 11 849 akciğer kanserli olgunun %90,4'ü erkek, %9,6'sı kadın olup, olguların %56,7'si 46-65 yaşları arasında yer almaktadır. Olguların yaklaşık %90'ında sigara kullanma öyküsü saptanmıştır (%77,9 aktif sigara içisi, %10,8 sigarayı bırakmış). Ülkemizde %45 oranında en sık skuamöz hücreli kanser, yaklaşık %20 oranında küçük hücreli ve adenokanser görülmektedir. Büyük hücreli kanser %2 oranında en az görülen kanser tipidir. Tanı anında olguların %86,7'si lokal ileri ve ileri evrede yer almaktadır (9).

Akciğer kanseri gelişiminden %94 oranında sigara sorumludur. Akciğer kanseri riski, sigara içenlerde içmeyenlere göre 24-36 kat artmıştır. Pasif sigara içiminde ise risk %3,5 olarak bildirilmiştir. Sigaraya başlama yaşı, sigara içme süresi, sigaranın tipi, içilen sigara sayısı akciğer kanseri gelişme riskini etkiler (10). Gelişmiş ülkelerde sigara içimi prevalansı kadınlarda %20-40, erkeklerde %30-40 iken gelişmekte olan ülkelerde bu oranlar sırasıyla %2-10 ve %40-60'tır. Ülkemizde ise sigara içme prevalansı kadınlarda %24, erkeklerde %63'tür (11).

Yaş, ırk, cinsiyet, meslek, hava kirliliği, radyasyon, geçirilmiş akciğer hastalığı sekeli, diyet, viral infeksiyonlar, genetik ve immunolojik etkenler akciğer kanseri gelişiminde %6 oranında etkilidir (10). Akciğer kanseri insidansı yaşla artmakta, 6.-7. dekatta pik yapmaktadır. 50 yaş altında %5-10 oranında görülmektedir (6, 12). Bu grupta genellikle aile öyküsü vardır ve en sık izlenen kanser tipi adenokanserdir (6).

Akciğer kanserli olgular büyük oranda ileri (Evre IV) ya da lokal ileri evrede (Evre IIIA ve IIIB) saptanmaktadır. Olguların %70'i tanı anında radikal tedavi yöntemi olan cerrahi şansına sahip olamamaktadır (6).

Asbest, kadmiyum, nikel, krom gibi mesleksel etkenler ve radyasyon akciğer kanseri riskini arttırmaktadır. Asbest maruziyetinde risk 5 kat artarken, sigara ile beraber risk 50-100 kat artar. Radon maruziyetinde risk 20 kat artmaktadır. Su, doğal gaz veya ev içi yapı malzemeleri ile olabilen radon maruziyeti, akciğer kanserlerinin %10'unda etken olduğu tahmin edilmektedir (13).

Bronşektazi, abse, pnömoni, tüberküloz, interstisyel akciğer hastalıkları, pulmoner emboli gibi akciğerde skar bırakan hastalıkların kanser gelişimine zemin oluşturduğu düşünülmektedir. Akciğer tüberkülozu geçiren olgularda akciğer kanseri gelişme riski 8 kat artmıştır (14). Fibrozis alanlarında epitelyal metaplazi ve hiperplazi siktir ve yüksek proliferatif aktivite, bazende sitolojik atipi gösterir (15). Fibrotik bölgeye komşu epitelyal hücreler ve makrofajlardan salınan *transforme edici büyüme faktörü-β1* gibi faktörlerin benzer proliferatif hücrelerde tümör gelişimini artırması olasıdır (16).

Akciğer kanserinde diyetin rolünü araştıran birçok çalışma yapılmıştır. β karoten (provitamin A) ve A vitamini bakımından fakir diyet akciğer kanseri riskini arttırır. Vitamin E ve selenyum antioksidan etkiyle riski azalmaktadır. Özellikle yeşil çay koruyucu etki göstermektedir (11).

Çoğu akciğer kanseri olgusunda sigara ve çeşitli mesleksel karsinojenler sorumlu olsa da, bu ajanlara maruz kalan az sayıda hastada kanser gelişir. Bu bireysel yatkınlık kısmen hastalığa olan duyarlılığı veya direnci sağlayan konağa özel faktörler ile açıklanabilir. Sigara içen ve akciğer kanseri için aile öyküsü olan kişilerde akciğer kanseri gelişim riski sigara içmeyen ve aile öyküsü olmayan kişilere

göre 30-35 kat fazladır (17). Suçlanan genetik faktörlerden biri olan P 450 enzim sisteminde yer alan aril hidrokarbon hidroksilaz enziminin artmış aktivitesi akciğer kanseri riskini 8 kat arttırır (13).

Akciğer kanseri önlenebilir bir hastalıktır. Bilinen risk faktörleri elimine edildiğinde %85-100 oranında gelişiminin engellendiği tahmin edilmektedir (6).

2.1.2. Akciğer Kanserinde Patoloji

Akciğer kanserinde patolojik sınıflama, 1981'de Dünya Sağlık Örgütü (WHO) tarafından yapılmıştır. Daha sonra patolojik tanı yöntemleri ve kriterlerinde belirgin değişiklikler gerçekleşmiş ve 2004 yılında WHO tarafından yeniden düzenlenmiştir (Tablo 1).

Tablo 1. Malign akciğer tümörlerinde histolojik sınıflama (WHO, 2004)

| | |
|---|---|
| Malign Epitelyal Tümörler | Mezenkimal Tümörler |
| Skvamöz hücreli karsinom | Anjiyosarkom |
| Papiller | Plöropulmoner blastom |
| Berrak hücreli | Kondroma |
| Küçük hücreli | Konjenital peribronşial miyofibroblastik |
| tümör | |
| Bazaloid | Diffüz pulmoner lenfanjiyomatozis |
| Küçük hücreli karsinom | İnflamatuar miyofibroblastik tümör |
| Kombine küçük hücreli karsinom | Lenfanjiyoleiyomiyomatozis |
| Adenokarsinom | Sinovyal sarkom |
| Adenokarsinom mikst tip | Monofazik |
| Asiner adenokarsinom | Bifazik |
| Papiller adenokarsinom | Pulmoner arter sarkoması |
| Bronkioloalveoler | Pulmoner ven sarkoması |
| Non-müsinöz | Benign epitelyal tümörler |
| Müsinöz | Papillomalar |
| Mikst müsinöz ve non-müsinöz | Skvamöz hücreli papillom |
| ya da belirsiz hücre tipi | Ekzofitik |
| Müsin salgılayan solid adenokarsinom | Ters yerleşimli |
| Fetal adenokarsinom | Glandüler papilloma |
| Müsinöz karsinom | Mikst skuamöz hücreli ve glandüler |
| | papilloma |
| Müsinöz kistadenokarsinom | Adenomalar |
| Taşlı yüzük adenokarsinom | Alveolar adenoma |
| Berrak hücreli adenokarsinom | Papiller adenoma |
| Büyük hücreli karsinom(BHK) | Tükrük bezi tipi adenom |
| Büyük hücreli nöroendokrin karsinom(BHNEK) | Müköz gland adenomu |
| Kombine BHNEK | Pleomorfik adenom |
| Bazaloid karsinom | Diğerleri |
| Lenfoepitelyoma benzeri karsinom | Müsinöz kistadenom |
| Berrak hücreli karsinom | Lenfoproliferatif tümörler |
| Rabdoid fenotipinde BHK | MALT tipi marjinal zon B-hücre |
| | lenfoması |
| Adenoskuamöz karsinom | Diffüz büyük hücreli lenfoma |
| Sarkomatoid karsinom | Lenfomatoid granüloatozis |
| Pleomorfik karsinom | Langerhans hücreli histiyositozis |
| İğ hücreli karsinom | Hamartom |
| Dev hcreli karsinom | Sklerozan hemanjiom |
| Karsinosarkom | Berrak hücreli tümör |
| Pulmoner blastom | Germ hücreli tümör |
| Karsinoid tümörler | Teratom matür |
| Tipik karsinoid | İmmatür |
| Atipik karsinoid | Diğer germ hücreli tümörler |
| Tükrük bezi tipindeki karsinoidler | İntrapulmoner blastom |
| Mukoepidermoid karsinom | Melanoma |
| Adenoid kistik karsinom | Metastatik tümörler |
| Epitelyal-miyoepitelyal karsinom | |
| Preinvaziv lezyonlar | |
| Skvamöz hücreli in situ karsinom | |
| Atipik adenomatöz hiperplazi | |
| Diffüz idiyopatik pulmoner nöroendokrin hücre hiperplazisi | |

2.1.3. Akciğer Kanserlerinde Tanı

2.1.3.1. Semptom ve Bulgular

Akciğer kanseri çoğunlukla akciğer radyografisinde anormal bir bulgu, yeni ortaya çıkan veya daha önceden var olupta karakter değiştiren klinik bulgu veya semptom ile kendini gösterir. Akciğer kanserli olguların %90'ından fazlası tanı döneminde tümörün lokal, bölgesel, metastatik veya sistemik etkilerinden dolayı semptomatiktir (18). Akciğer kanserinde tümörün yerleşim yerine, tümörün toraks ve uzak organ yayılımına bağlı ortaya çıkan semptom, bulgular ve görülme sıklığı Tablo 2 ve 3'de gösterilmiştir.

2.1.3.2. Fizik Muayene

Akciğer kanserli olgularda fizik muayenede plevral sıvı birikimi, lokalize ronküs, supraklavikular lenfadenopati (LAP), *Horner* sendromu bulguları (tek taraflı enoftalmi, ptozis, miyozis, aynı taraf yüz ve üst ekstremitelerde anhidrozis), hepatomegali, kaşeksi, lokalize kemik duyarlılığı, periferik motor ve/veya duyuşsal nöropati bulguları, nörolojik bulgular olabileceği gibi hiçbir fizik muayene bulgusu olmayabilir.

Tablo 2. Akciğer kanserinde başlangıç semptom ve bulguların sıklığı (18)

| Semptom ve bulgular | Görülme sıklığı (%) |
|-----------------------------|---------------------|
| 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 |
| Vena Kava Süperior Sendromu | 4 |
| Disfaji | 2 |
| Vizing, stridor | 2 |

Tablo 3. Akciğer kanserinde semptom ve bulgular (19)

Primer tümörün büyümesine bağlı semptom ve bulgular

Öksürük
Hemoptizi
Nefes darlığı
Atelektazi
Plevral-perikardial sıvı
Stridor
Lokalize ronküs
Segmental amfizem
Tekrarlayan veya rezolüsyonu gecikmiş pnömoni

Tümörün intratorasik yayılımına bağlı semptom ve bulgular

Omuz, kol ağrısı
Kol, el kaslarında atrofi
Kaslarda güçsüzlük
Tek taraflı enoftalmi
Pitozis
Miyozis
Aynı taraf yüz ve üst ekstremitede anhidrozis
Vena kava superior sendromu (yüz ve boyunda ödem, kollateral venöz genişlemeler)
Ses kısıklığı
Göğüste ağrı (göğüs duvarı invazyonuna bağlı)
Frenik sinir felcine bağlı hemidiafragma yüksekliği
Radyografik olarak kosta destrüksiyonu

Tümörün ekstratorasik yayılımına bağlı semptom ve bulgular

Lokalize kemik ağrısı
Serum kalsiyum, ALP yüksekliği
Sertleşmiş ve sıklıkla nodüler yüzeye sahip karaciğer büyümesi
Karaciğer enzimlerinde yükseklik
Ciltte ağrısız iyi sınırlı lezyonlar
Bulanık görme ve uçuşan lekeler görme
Epigastrik ağrı
İştahsızlık, halsizlik, kilo kaybı, ateş
Anemi

Paraneoplastik sendromlar

Cushing sendromu
Uygunsuz ADH sendromu
Jinekomasti
Nonmetastatik hiperkalsemi
Subakut duyusal nöropati
Mononöritis multipleks
Parmaklarda çomaklaşma, hipertrofik osteoartropati
Anemi
Kaşeksi, anoreksi

Akciğer kanseri şüphesi olan olgulara tanı aşamasında direk akciğer grafisi, Toraks Bilgisayarlı Tomografi (BT), Manyetik rezonans (MR), Pozitron Emisyon Tomografi/Bilgisayarlı tomografi (PET/BT) gibi görüntüleme yöntemleri yardımcı olur. Ama mutlaka patolojik tanı girişimleri gerekmektedir. Bu aşamada lezyonun lokalizasyonu tanı açısından zorluğa neden olabilir. Bronkoskopik olarak görülen santral lezyonlarda alınan biopsilerle doku tanısı sağlanabilir. Periferik lezyonlarda genel olarak lavaj, fırçalama, transbronşial fırçalama, transbronşial iğne aspirasyonu kombine edilerek tanı olasılığı artırılır. Göğüs duvarına yakın yerleşimli lezyonlarda BT eşliğinde transtorasik biopsi en uygun yaklaşımdır (19).

2.1.4. Akciğer Kanserinde Evreleme

Akciğer kanseri tanısı koyduktan sonraki basamak hastaların uygun evrelemesidir. Küçük hücreli dışı akciğer kanseri (KHDAK) evrelemesinde TNM (Tümör-Nod-Metastaz) sistemi kullanılır. TNM sınıflaması ve TNM'ye göre evreleme Tablo 4 ve 5'de gösterilmiştir. KHAK'nin evrelemesinde ise sınırlı ve yaygın hastalık olmak üzere ikili sistem kullanılır (Tablo 6).

Tablo 4. Küçük hücreli dışı akciğer kanserinde TNM sınıflaması

PRİMER TÜMÖR (T)

Tx: Primer tümörün belirlenememesi veya balgam ya da bronş lavajında malign hücrelerin tespit edilip görüntüleme teknikleri ya da bronkoskopi ile tümörün gösterilememesi.

T0: Primer tümör belirtisi yok.

Tis: Karsinoma insitu

T1: En geniş çapı ≤ 3 cm, akciğer veya visseral plevra ile çevrili, bronkoskopik olarak lob bronşundan daha proksimale (ana bronşa) invazyon göstermeyen tümör(örneğin ana bronşta olmayan tümör*)

T2: Tümörün aşağıdaki özelliklerden en az birine sahip olması

- En geniş çapı >3 cm,

- Ana bronş invaze ancak ana karinaya uzaklık ≥ 2 cm,

- Hiler bölgeye ulaşan ancak tüm akciğeri kapsamayan atelektazi ya da obstrüktif pnömoni.

T3: Tümörün herhangi bir büyüklükte olup göğüs duvarı(superior sulkus tümörleri dahil), diafragma, mediastinal plevra, pariyetal perikard gibi yapılardan herhangi birine direkt invazyon göstermesi; veya karinaya 2 cm'den daha yakın ancak karinayı tutmayan ana bronştaki tümör; veya bütün bir akciğeri kapsayan atelektazi veya obstrüktif pnömoni ile birlikte olan tümör.

T4: Tümörün herhangi bir büyüklükte olup mediasten, kalp, büyük damarlar, trakea, özofagus, vertebral kolon, karina gibi yapılardan herhangi birini invaze etmesi; veya malign plevral veya perikardiyal sıvı ile birlikte olan tümör**;

BÖLGESEL LENF NODU(N)

Nx: Bölgesel lenf bezinin değerlendirilememesi.

N0: Bölgesel lenf bezi metastazı yok.

N1: Aynı taraf peribronşiyal ve/veya aynı taraf hiler lenf bezlerine metastaz ve primer tümörün direkt yayılması ile intrapulmoner bezlerin tutulması.

N2: Aynı taraf mediastinal ve/veya subkarinal lenf bezlerine metastaz.

N3: Karşı taraf mediastinal, hiler, aynı veya karşı taraf supraklavikular veya skalen lenf bezi metastazı.

UZAK METASTAZ(M)

Mx: Uzak metastaz varlığının değerlendirilememesi.

M0: Uzak metastaz yok.

M1: Uzak metastaz var.***

* Ana bronşun proksimaline uzanan, bronşial duvara sınırlı invazyon gösteren herhangi bir büyüklükteki nadir yüzeyel tümör de T1 grubuna girer.

** Akciğer kanseri ile birlikte olan plevral efüzyonların çoğu tümöre bağlıdır. Bununla birlikte bazı hastalarda plevral sıvının yinelenen sitolojik incelemelerinde tümör saptanamaz. Bu olgularda plevral sıvı kanlı ve eksuda özelliğinde değildir. Klinik ve sıvının özellikleri tümörü düşündürmüyorsa sıvı evrelemede dikkate alınmamalı ve hasta da T1, T2 veya T3 olarak değerlendirilmelidir.

*** Tümörün olduğu lob dışındaki tümör nodülleri M1 olarak sınıflandırılır.

Tablo 5. Küçük hücreli dışı akciğer kanserinde TNM'ye göre evreleme

| | |
|---------------------------|---------------------------------|
| EVRE 0 : TisN0M0 | EVRE IIIB : T4N0M0 |
| EVRE IA : T1N0M0 | T4N1M0 |
| EVRE IB : T2N0M0 | T4N2M0 |
| EVRE IIA : T1N1M0 | T1N3M0 |
| EVRE IIB : T2N1M0 | T2N3M0 |
| T3N0M0 | T3N3M0 |
| EVRE IIIA : T3N1M0 | T4N3M0 |
| T1N2M0 | EVRE IV : Herhangi bir T |
| T2N2M0 | Herhangi bir N |
| T3N2M0 | M1 |

Tablo 6. Küçük hücreli akciğer kanseri evrelemesinde ikili sistem

| |
|--|
| Sınırlı hastalık Bir hemitoraksa sınırlı tümör Aynı ya da karşı taraf hiler, mediastinal ve supraklavikular lenf bezi metastazı Aynı taraf malign plevral efüzyon (TNM'ye göre Evre I,II, III) |
| Yaygın hastalık Sınırlı hastalık kapsamına girmeyen tümör (TNM'ye göre Evre IV) |

2.1.5. Akciğer Kanserinde Prognostik Faktörler

Akciğer kanseri kötü prognozu ve 5 yıllık sağ kalım oranlarının %10-15 olması ve sıklığı nedeniyle önem taşıyan bir kanserdir (20). Ana bronşta tümörü olan ve mediastinal lenf nodu (LN) metastazı olan hastalarda 5 yıllık sağ kalım oranı %0'a düşerken, LN tutulumu olmayan periferik lezyonlarda %65'lere çıkmaktadır (21).

Tüm kanserlerde prognostik faktörler sonucu önceden tahmin etmede önemlidir. Kanserin biyolojik davranışı tedaviye başlamadan önce belirlenebilirse, tedaviyi belirleme ve klinik çalışmaları planlamada kullanılabilir.

2.1.5.1. Küçük Hücreli Dışı Akciğer Kanserinde Prognostik Faktörler

KHDAK, heterojen biyolojik davranış özelliğine sahip bir kanserdir. Olgular aynı histolojik tipte de olsalar, kemoterapi (KT) ve radyoterapiye (RT) yanıt yönünden farklılıklar olabilir. Yapılan çalışmalar sonucunda KHDAK'de birçok prognostik faktör tanımlanmıştır. KHDAK'de prognostik faktörler 5 ana başlıkta incelenebilir.

1. Hastaya ait klinik faktörler

a. Yaş

40 yaş altında tanı gecikmesinden dolayı prognoz kötü olmaktadır (22). Nitekim 40 yaş altı hastaların çoğunda ileri evre kanser tanısı konmaktadır. Diğer taraftan yaşlı hastalarda tümör büyümesinin daha yavaş olması ve metabolik hastalık oranının göreceli olarak düşmesine karşın (23), komorbid hastalıkların prevalansının artması nedeniyle prognoz yine kötüleşmektedir (24). Yaş cerrahi tedavi planlanan hastalarda tek başına prognostik faktör değildir. Diğer faktörlerle beraber değerlendirilmelidir. Performans durumu iyi olan, kardiyopulmoner riski düşük olan yaşlı hastalarda prognoz, genç hastaların prognozuna benzer. KT verilmesi planlanan 70-75 yaş üstü hastalarda ilaç toksisitesi yaşam kalitesini olumsuz etkileyeceğinden verilmez. RT alan olgularda yaş prognostik faktör değildir (25).

b. Performans durumu

ECOG 0-2 veya Karnofsky performans durumu %70'in üzerinde olan hastalarda prognoz daha iyidir (3). İyi performans durumuna sahip evre IV olgular daha yüksek objektif yanıt sağlama, daha az tedavi toksisitesi ve daha iyi yaşam süresine sahiptirler. Performans durumu iyi olmayan olgularda aşırı toksisite ve yaşam süresini kısaltıcı etkiden dolayı KT uygulanmamalıdır. ECOG ve Karnofsky performans durum skalaları Tablo 7 ve 8'de gösterilmiştir.

Tablo 7. ECOG performans skalası

| | |
|----|---|
| 0. | Yakınması yok. Normal aktivitesini sürdürüyor. |
| 1. | Tümör bulguları var ancak normal yaşantısını sürdürebiliyor. |
| 2. | Tümör bulguları rahatsız edici düzeyde ancak günün %50'den fazlasını yatak dışında geçiriyor. |
| 3. | Ciddi derecede rahatsızlığı olup günün %50'sinden fazlasını yatakta geçiriyor. |
| 4. | İleri derecede rahatsızlığı olup günün tamamını yatakta geçiriyor |

Tablo 8. Karnofsky performans skalası

| | |
|---|-----|
| Normal, yakınması yok | 100 |
| Normal aktivitesini yapabiliyor. | 90 |
| Hastalığın minör bulgu ve belirtisi var. | 80 |
| Kendine bakabilir, normal aktivite ve işini yapamaz. | 70 |
| İhtiyaçlarını karşılayabilir, nadiren yardım gerekir. | 60 |
| Sıkça yardım ve tıbbi bakım gerekir. | 50 |
| Özel bakım ve yardım gerekir. | 40 |
| Hastane bakımı gerektirecek durumda. | 30 |
| Çok hasta, hastanede aktif destek tedavisi gereksinimi var. | 20 |
| Ölmek üzere | 10 |
| Ölüm | 0 |

c. Kilo kaybı

Özellikle ileri evre KHDAK'de son 6 ayda vücut ağırlığının %5-10'undan daha fazla kilo kaybı kötü prognostik faktördür (26).

d. Cinsiyet

Evre ve diğer risk faktörlerine göre gruplandırma yapıldığı zaman kadınların daha iyi sonuçlar vermesi nedeniyle cinsiyet prognostik olarak önemli olabilir. Kadın hastalar erkeklerden daha uzun yanıt süresi ve yaşam süresine sahiptirler (27).

2. Histolojik Özellikler

a. Hücre tipi

Bir tümörün histolojik tipi ile prognozu arasındaki ilişki kesin olsa da diğer prognostik faktörler ile histolojik tip arasındaki korelasyon derecesini öngörmek

zordur. Bazı çalışmalarda tümörün evresi esas alındığında, histolojik tipin prognoza etkisinin çok anlamlı olmayabileceği de ortaya konmuştur (28). Birçok araştırmada skuamöz hücreli karsinomun, aynı evredeki adenokanser ve büyük hücreli kansere göre prognozunun daha iyi olduğu gösterilmiştir (29). Bronkoalveoler karsinomda nodüler form diffüz forma göre, müsin salgılamayanlar ise müsin salgılayanlara göre daha iyi prognoz gösterirler (30).

b. Diferansiyasyon

Histolojik *grade* ve proliferatif aktivite de prognozla ilişkilidir (31).

3. Laboratuvar Bulguları

Serum LDH, kalsiyum, alkalen fosfataz seviyeleri yüksek olan ve hemoglobin <11g/dl olan olgularda prognoz daha kötüdür (25). Ayrıca serum albumin düzeyinin 3,5 mg/dl'nin altında olması yaşam süresi yönünden kötü prognostik faktör olarak tanımlanmıştır (32).

4. Genetik Faktörler

A- Proliferatif Aktivite Belirteçleri

1. Kromozomal anormallikler ve DNA içeriği

Skuamöz hücreli karsinomda DNA içeriği diploid olan tümörlerde anöploid olanlara göre prognoz daha iyidir. KHDAK'li hastaların %49-60'ında kromozom 3p delesyonu gözlenmiştir. Bu delesyon sağ kalımı, evre ve histolojik tipden bağımsız olarak olumsuz yönde etkiler (33).

2. Ki-67

Prolifere olan hücreler tarafından eksprese edilen nükleer antijen ile reaksiyona giren monoklonal bir antikordur. Ki-67 skoru yüksek olan rezeke KHDAK'li olgularda hastalısız yaşam süresi daha düşüktür (34).

3. PCNA (Proliferatif Cell Nuclear Antigen)

PCNA, DNA sentezinde rol alan nükleer proteindir. PCNA ekspresyonu geç G1 fazında artar, S-fazında maksimum olur, G2 fazında azalır. Evre I olgularda yüksek PCNA aktivitesi metastaz gelişimi ile birlikte (34).

B. Onkogenler ve büyüme faktörleri

K ras ve L-Myc onkogeni kötü prognostik faktörlerdir. *Epidermal growth factor* (EGF) ve *Transforming Growth Factor- α* (TGF- α) ve bunların hücre reseptörleri olan erb1 veya erb2 pozitifliği kötü prognozla ilişkidir (25). Bcl-2 protoonkogeni, apoptozisi inhibe eder. Bcl-2 ekspresyonu kötü prognozla ilişkilidir (34).

C. Tümör baskılayıcı genler

Retinoblastom gen delesyonu, p53 geni mutasyonu veya amplifikasyonu varsa kötü prognoz işaretidir (25).

5. Tümör Evresi

Akciğer kanserinde en önemli prognostik faktör, hastalığın evresidir. Erken evrede lenf nodu metastazı yoksa primer tümörün çapı önem kazanmaktadır. T1 tümörlerde 5 yıllık sağ kalım oranı %60 iken, T2 tümörde %40 civarındadır. Bununla birlikte T1 tümör çapı prognostik bir anlam ifade etmeyebilir (35). T3 tümörler ileri tümörler olmasına karşın konvansiyonel kriterlere göre rezektabl tümörlerdir. T4 tümörler anrezektabl tümörlerdir ve prognoz belirgin olarak kötüdür. Ayrıca evre IIIB ve IV tümörlerde prognozu etkileyen bir heterojenite söz konusudur.

Radyografi, TBNA veya mediastinoskopi ile N2 tanısı alan olgularda cerrahi ile 5 yıllık sağ kalım %2 iken, torakotomi ile N2 olduğu gösterilen olgularda rezektabilite yükselmekte ve 5 yıllık sağ kalım %15-20 olmaktadır (36).

Beyin metastazı, karaciğer ve kemik metastazlarına göre daha kötü prognoza sahiptir. Ayrıca metastaz sayısı arttıkça prognoz kötüleşir (25).

2.1.5.2. Küçük Hücreli Akciğer Kanserinde Prognostik Faktörler

KHAK'de çok sayıda prognostik faktör tanımlanmıştır. Bu faktörler hastaya (performans durumu, yaş, cinsiyet ırk), tümöre (evresi, metastaz yeri ve sayısı) veya kandaki bazı parametrelere (enzim, elektrolit, tümör belirteçleri) bağlıdır.

a. Hastaya ait faktörler

Performans durumu iyi olan, 70 yaşın altındaki hastalar, kadın hastalar ve kilo kaybının olmadığı ya da %5 'in altında olduğu hastalar iyi prognoza sahiptir (26).

b. Tümör faktörleri

Sınırlı evredeki olgularda prognoz iyidir. Ayrıca plevral sıvının ve mediastinal/supraklaviküler lenf nodu metastazının olmadığı KHAK'de prognoz iyidir (25).

c. Serum ve kan testleri

Laktat dehidrogenaz (LDH), alkalen fosfataz (ALP), karaciğer fonksiyon testlerindeki yükseklik, sodyum, albumin, hemoglobin düşüklüğü kötü prognozla ilişkilidir (26).

d. Tümör belirleyicileri

Nöron spesifik enolaz (NSE) yüksekliği kötü prognozla ilişkilidir (25).

2.1.6. Akciğer Kanserlerinde Tedavi

2.1.6.1. Küçük Hücreli Dışı Akciğer Kanserinde Tedavi Yaklaşımları

Tedavi, hastalığın evresi ve hastanın performans durumu dikkate alınarak planlanmalıdır.

TXN0M0 ve Yüzeysel Tümörlerde Tedavi

Yüksek risk grubu olup, akciğer radyografisi ve fizik muayenesi normal ancak balgam sitolojisi pozitif olan olgulardır. Bu hastalara spiral toraks BT taraması önerilir. Spiral toraks BT'de lezyon saptanırsa cerrahi önerilir. BT'de lezyon saptanamayan olgulara otofloresan bronkoskopi yapılmalıdır. İnvazyon derinliği 3 mm'yi ve uzunluğu 1 cm'yi geçmeyen yüzeysel tümör saptanırsa cerrahi tedavi önerilir. Spiral BT ya da otofloresan bronkoskopi ile lezyon saptanamayan olgular izlenmelidir (37).

Evre IA-IB'de tedavi

Evre IA ve IB tümörlerinin tedavisinde standart yaklaşım, cerrahi olarak tümörün çıkartılması ve hiler, mediastinal lenf bezi diseksiyonu ile tam rezeksiyonudur (38). Tam olarak rezeke edilmiş olgulara RT veya sistemik KT önerilmez (39). Cerrahi sınır pozitifliğinde tamamlayıcı cerrahi, uygun değilse RT uygulanır. Medikal inoperabl olan ya da operasyonu kabul etmeyen hastalara torasik RT önerilir (40).

Evre IIA-IIB'de tedavi

Evre IIA ve IIB tümörlerinin tedavisinde standart yaklaşım, cerrahi olarak tümörün tam rezeksiyonudur. Hiler ve mediastinal lenf bezi diseksiyonu rutin olarak yapılmalıdır (38). Superior sulkus tümörleri cerrahi yönden değerlendirilmelidir. Mediastinal lenf bezi metastazı, subklavian damar, vertebra ile brakial pleksusun derin invazyonu, *Horner* sendromu negatif prognostik faktörler olup bu durumda seçilmiş bazı hastalar dışında cerrahi önerilmez. MR ile değerlendirilip invazyon saptanmayan olgularda mediastinoskopi yapılmalıdır. Bu tetkikler sonunda T3 ya da minimal invazyon gösteren T4N0-1 olgular neoadjuvan eş zamanlı KT+RT ya da RT programına alınmalıdır. Neoadjuvan KT ya da RT sonrası hastalara en az lobektomi olacak şekilde cerrahi uygulanmalıdır. Cerrahi sınır negatif olan ve postoperatif LN metastazı saptanmayan olgularda adjuvan tedaviye gerek yoktur. Cerrahi düşünülmeyen olgulara KT+RT ya da sadece RT önerilir (41).

Evre IIIA'da tedavi

Göğüs duvarı, mediastinal plevral, parietal perikard, mediastinal yağ dokusu ve ana bronş tutulumu nedeniyle T3(N1) olgularda tercih edilecek tedavi, cerrahi tam rezeksiyondur. Tam rezeke edilen olgularda torasik RT uygulaması lokal nüksü azaltır. Preoperatif değerlendirmede N2 saptanmayan olgularda primer tümörün rezeksiyonu ve mediastinal LN diseksiyonu ile operasyon tamamlanır. Tam rezeke edilen ve N2 saptanmayan olgularda postoperatif RT'ye gerek yoktur (42, 43).

Preoperatif mediasten değerlendirmesi (BT, mediastinoskopi, PET, diğer nodal biopsiler) negatif olan, ancak torakotomi sırasında frozen ile N2 saptanan olgularda tam rezeksiyon yapılabilecekse operasyona devam edilir. Tam rezeke edilen olgularda, lokal nüks riskini azaltmak için toraksa RT uygulanır (44). Tam

rezeksiyon mümkün değilse veya ekstrakapsüler nodal hastalık, 'bulky' veya çok istasyonlu nodal hastalık varsa planlanan operasyona devam edilmemelidir (41, 43).

N2 olgularda neoadjuvan KT ya da KT-RT konusunda pek çok çalışma yayınlanmış ve halen yürütülmektedir. Bu çalışmaların sonucu olarak N2 olgularda neoadjuvan KT sonrası 'down stage' gözlenirse cerrahi uygulanması yönünde görüş birliği vardır. 'Down stage' olmayan olgularda cerrahinin yeri tartışmalıdır ve pnömektomi gerektiren olgularda yüksek mortalite riski nedeniyle cerrahiden kaçınılmalıdır. Bulky N2 olan olgularda uygun tedavi seçeneği kemoradyoterapidir (19).

Evre IIIB'de tedavi

Rezeksiyon potansiyeli olan T4N0-1M0 olgularda (superior vena kava, sol atrium, vertebra cismi, ana karina, distal pulmoner arterin minimal tutulduğu seçilmiş olgularda) 2-3 kür sisplatin bazlı sistemik indüksiyon KT uygulandıktan sonra, primer tümörde küçülme varsa cerrahi yönden tekrar değerlendirilir. Stabil ise ya da progresyon varsa, radikal torasik RT veya eş zamanlı kemoradyoterapi programına alınır. Cerrahi için uygun olmayan ve performans durumu ECOG 0-1 olgularda ardışık ya da eş zamanlı KT-RT uygulanır (45).

Evre IV'de tedavi

Evre IV KHDAK'de mevcut tedavilerin hiçbirisi ile kür sağlamak mümkün değildir. Temel tedavi yaklaşımı sisplatin bazlı kombinasyon kemoterapisidir (46), ancak KT uygulamasında amaç semptom kontrolü ile progresyonsuz sağ kalım ve genel sağ kalımda uzama elde etmeye yöneliktir olmalıdır.

2.1.6.2. Küçük Hücreli Akciğer Kanseri Tedavi Yaklaşımları

Küçük hücreli akciğer kanseri (KHAK) kemosensitif bir tümör olması nedeniyle temel tedavi kemoterapidir. Sınırlı evre KHAK'nin tedavisi sistemik KT ve torasik RT'dir. Sınırlı evre hastalıkta torasik RT'nin uygulanması lokal nüksü azaltır ve yaşam süresini uzatır (47). Yaygın evre KHAK'de kombinasyon KT rejimleri ile tedavi edilmelidir. En uygun kombine tedavi olarak sisplatin/etoposid önerilmektedir (48). Kemoterapiye tam yanıt görülen olgularda toraksa RT ve koruyucu kranial RT düşünülmelidir (49).

2.2. Matriks Metalloproteinazlar

2.2.1. Ekstrasellüler Matriks ve Matriks Metalloproteinazların Önemi

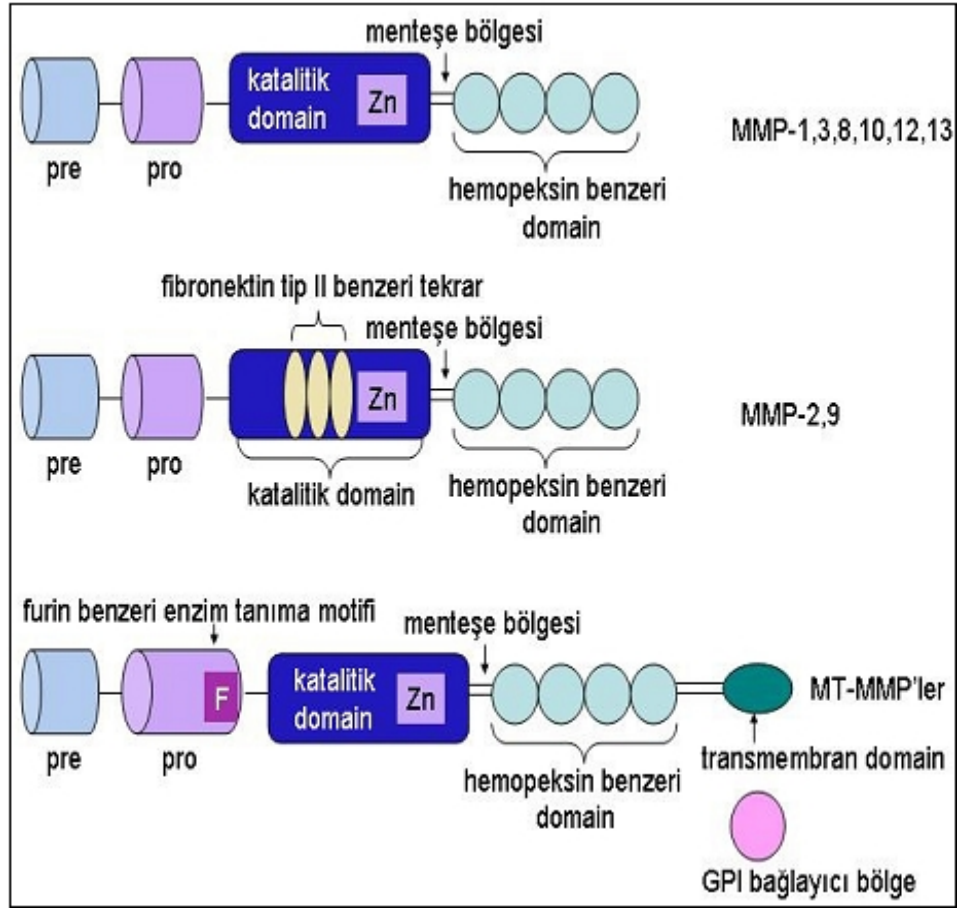
Matriks Metalloproteinazlar, ekstrasellüler matriks komponentlerini yıkıma uğratan çinko ve kalsiyum bağımlı nötral endopeptidazlardır (50). Ekstrasellüler matriks (ESM), hücreler arası boşlukta özel bir ortam oluşturan dinamik, interaktif bir yapıdır (51, 52). Dokulardaki hücrelerin bir arada tutulmasına yardımcı olur. Bunun yanı sıra hücre büyümesi ve farklılaşmasını kontrol eden pek çok hormon için rezervuar görevi yapar. Bu yapı hücrelerin özel fonksiyonları gerçekleştirmesi için kendilerini yönlendirecek hücre içi sinyalleme yolları ile direk ya da indirek olarak etkileşmesini sağlar (52). Matriks ile hücreler arasında meydana gelen bu etkileşmeler organizmanın normal gelişimi ve fonksiyonu için kritik rol oynar (53). Hücre ve matriks etkileşmeleri ESM bileşenlerinin hidrolizinden sorumlu olan proteolitik enzimler tarafından düzenlenir. Bu enzimler ESM yapısının bileşimini ve bütünlüğünü düzenleyerek matriks molekülleri tarafından oluşturulan sinyallerin kontrolü, hücre proliferasyonu, farklılaşması ve ölümünde de temel rol oynar (53, 54). Bu enzim sistemlerinin içinde MMP'lar önemli bir grubu oluşturmaktadır. MMP'ların diğer isimleri matriksinlerdir (55). Türlerine göre endotel hücreleri, fibroblast, trombositler, T lenfositler, kondrositler, epitel hücreleri, nötrofiller gibi oldukça çeşitli hücrelerden eksprese edilirler (50, 56). Organizmada fizyolojik olayların sürdürülmesinde MMP aktivitesi ile onların spesifik endojen doku inhibitörleri (TIMP) arasında sürekli bir denge söz konusudur (57). MMP'lar ve TIMP'lar normal dokularda düşük düzeyde eksprese edilirler ve birçok biyolojik süreçte rol oynarlar. Bunlar arasında kemiğin yeniden yapılanması, yara iyileşmesi, embriyogenezis, anjiogenez, inflamasyon, apoptozis, immun cevap gelişimi sayılabilir. Ayrıca kanser, amfizem, astım, fibrotik akciğer hastalığı, ateroskleroz gibi patolojik olaylarda da rol alırlar (56).

2.2.2. Matriks Metalloproteinazların Yapısı

MMP'lar bazı ortak yapısal özelliklere sahiptirler. MMP'lar prodomain, prodomain, katalitik domain, menteşe bölgesi, hemopeksin/vitronektin benzeri domain bölümlerini içerirler (58, 59).(Şekil 1)

1. Pre-domain bölgesi: MMP'ların tümü tipik olarak N terminalinde enzimin lider dizilimi olan pre-domain içerirler (58, 59). 80 amino asit içeren aminoterminal propeptiddir (60). Molekülü sekresyon için hedefleyen ve latent enzimde bulunmayan peptid dizesidir (4, 60).
2. Pro-domain bölgesi: Enzimin latent formda kalmasından sorumludur (56).
3. Katalitik domain: 170 aminoasit içerir (61). Çinko bağlayan bölgedir. Ek olarak yapısal çinko ve kalsiyum iyonu içerir. Bu bölge stabilite ve enzimatik aktivitenin oluşması için gereklidir (56). Jelatinaz enzimleri bu bölümde 3 tane fibronektin tip II benzeri ilave bir domain bulundurlar. Bu kısım jelatin ve kollajene yüksek afinite ile bağlanmayı sağlayarak proteolitik aktiviteyi artırır, ayrıca elastolitik aktivite için de temeldir (62).
4. Menteşe bölgesi: Prolinden zengin olup, katalitik domaini hemopeksin benzeri domaine bağlar. MMP-7 ve MMP-26'da bulunmaz (59, 63, 64).
5. Hemopeksin benzeri domain: 200 aminoasit içerir (61). MMP-7 ve MMP-26 hariç tüm MMP'larda bulunur. Bu bölge "hem" bağlayan bir peptiddir. Ayrıca endojen doku inhibitörlerinin, jelatinaz grubu MMP'lara ve MMP-13'e bağlanması ile ilişkilidir (65, 66)

Ayrıca bu yapısal özelliklere ek olarak MT-MMP'lar, MMP-11, MMP-23, MMP-28 prodomain ile katalitik domain arasında yer alan "fürin benzeri enzim tanıma motifi" içerirler. Bu kısım enzimin hücre içi fürin benzeri proteazlar tarafından tanınmasını sağlar. MT-MMP'lar salgılanma öncesi bu motifi tanıyan proteazlarla aktive edilirler (58, 59)



Şekil 1. MMP enzimlerinin moleküler yapısı (58) no'lu kaynaktan modifiye edilmiştir.

2.2.3. Matriks Metalloproteinazların Sınıflandırılması

Günümüze kadar 23 çeşit MMP tanımlanmıştır. MMP'lar substrat spesifitesine göre 6 ana grupta sınıflandırılır (61) (Tablo 9).

Tablo 9. Matriks metalloproteinazlar (61).

| ENZİM | MMP |
|--|--|
| Kollajenazlar İnterstisyel kollajenaz(kollajenaz 1) Nötrofil kollajenaz(kollajenaz 2) Kollajenaz 3 | MMP-1 MMP-8 MMP-13 |
| Jelatinazlar Jelatinaz A Jelatinaz B | MMP-2 MMP-9 |
| Stromelisinler Stromelisin 1 Stromelisin 2 | MMP-3 MMP-10 |
| Matrisilinler Matrisilin 1 Matrisilin 2 Stromelisin 3 | MMP-7 MMP-26 MMP-11 |
| Membran tipi MMPs (A) Transmembran tip MT1-MMP MT2-MMP MT3-MMP MT5-MMP (B) GPI anchored MT4-MMP MT6-MMP | MMP-14 MMP-15 MMP-16 MMP-24 MMP-17 MMP-25 |
| Diğerleri Makrofaj elastaz – Enamelisin – CA-MMP – Epilisin | MMP-12 MMP-19 MMP-20 MMP-21 MMP-23 MMP-27 MMP-28 |

2.2.4. Jelatinazlar (MMP-2, MMP-9)

Jelatinaz enzimleri, diğer MMP'lerden farklı olarak katalitik bölgede 3 tane fibronektin tip II benzeri ilave bir domain bulundururlar. Bu kısım jelatin ve kollajene yüksek afinite ile bağlanmayı sağlayarak proteolitik aktiviteyi artırır, ayrıca elastolitik aktivite için de temeldir (62). Jelatinazlar, Tip IV, V, VII, X, XI ve XIV kollajen, jelatin, elastin, proteoglikan kor proteinleri, myelin temel protein, fibronektin, fibrillin-1 gibi proteinleri yıkma özelliğine sahiptirler (67, 68). Diğer MMP'lar gibi inaktif proformlar olarak salınırlar ve ekstrasellüler olarak aktive edilirler. $\alpha 2$ makroglobulin ve TIMP'lar tarafından inhibe ederler. Bu enzimler epitelyal tümörlerin lokal yayılımına neden olur. Jelatinazlar, ESM yıkımı, anjiogenez, doku remodeling ve hücre migrasyonu süreçlerinde önemli rol oynarlar. Ayrıca birçok sitokin ve kemokin üzerinde etkileri vardır. MMP-9, IL-8'i parçalayarak daha potent IL-8 ortaya çıkmasını sağlar (69). Yine TNF- α , TGF- β ve IL-1 β 'yi inaktif formdan aktif forma dönüştürür (70-72). MMP-9, VEGF'ün salınımını arttırarak anjiogenezde rol alır. VEGF de MMP-2'nin endotel hücrelerinden salınımını arttırarak BM yıkımına yol açar ve yeni damar oluşumuna neden olur (69).

2.2.4.1. Matriks Metalloproteinaz 2 (Jelatinaz A)

Jelatinaz A olarak da isimlendirilir. Latent formu 72 kDa, aktif formu 66 kDa ağırlığındadır (60). Keratinositler, fibroblastlar, endotel hücreleri, kondrositler, osteoblastlar, monositler gibi birçok hücre ve transforme olmuş değişik hücrelerden salınırlar. Akciğerde bronş epitel hücreleri, bronş düz kas hücreleri ve fibroblastlar MMP-2 üretir (73, 74). MMP-2, jelatin, kollajen IV, V, VII, X, elastin, fibronektini parçalar (75). MMP-2 aynı zamanda tip 1 kollajeni yıkarak ESM'in "*remodeling*" olayında önemli rol üstlenir (67, 68). MMP-2 solusyonlarda MMP-1 ve diğer kollajenazlara göre daha zayıf kollajenolitik aktivite gösterir. Çünkü proMMP-2 hücre yüzeyine yerleşmiştir ve membran tipi MT-MMP'lar tarafından aktive edilir. ProMMP-2 perisellüler alanda birikebilir ve lokal kollajenolitik aktiviteye neden olabilir. Kollajenazların parçalamış olduğu küçük kollajen fragmanlarını parçalayarak bir işbirlikçi gibi davranabilir. Çünkü bu fragmanlar 37 C[□] vücut ısısında denatüre olur (76). MMP-2, TIMP-2, -3, -4 ve $\alpha 2$ makroglobulin tarafından

inhibe edilir (77, 78). MMP-2 kolon (79), pankreas (80), meme (81), over (82), prostat (83) ve akciğer (84) kanserlerinde tümör dokusunda ekspresyonu artmış olarak saptanmış ve kötü prognostik faktör olarak değerlendirilmiştir.

2.2.4.2. Matriks Metalloproteinaz 9 (Jelatinaz B)

Jelatinaz B olarak da adlandırılır. Latent formu 92 kDa, aktif formu 84 kDa ağırlığındadır (80). MMP-9, akciğer dokusunda infeksiyon veya inflamatuvar hastalıklar sırasında uyarılan bronş epitel hücreleri, *clara* hücreleri, alveolar tip II hücreleri, fibroblast, düz kas hücreleri ve endotel hücrelerinden üretilir. Lökosit, lenfosit, eosinofil, makrofaj, NK hücreleri, dentritik hücreler ve mast hücreleri tarafından da üretilir (85, 86). Ayrıca primer ve sekonder akciğer kanser hücreleri de MMP-9 için kaynaktır (87). MMP-9, jelatin ve tip IV bazal membran kollajeni için substrat spesifiktir. Ayrıca MMP-9 Tip III, Tip V kollajen, elastin (80, 88) ve fibronektini parçalar (60). Kolorektal, mesane, mide kanserinde ve derinin yassı hücreli karsinomlarında makrofajlarda saptanmıştır (89). MMP-9 akciğer kanserinde birçok çalışmada tümör hücrelerinde ve serumda arttığı gösterilmiş ve kötü prognozla ilişkilendirilmiştir. MMP-9, TIMP-1,-3,-4 ve $\alpha 2$ makroglobulin tarafından inhibe edilir (69). Jelatinazların salınımını etkileyen faktörler Tablo 10'da gösterilmiştir.

Tablo 10. Jelatinazların salınımını etkileyen faktörler (90).

| Aktive edici faktörler | | | İnhibe edici faktörler |
|----------------------------------|--------------------|----------------------|------------------------|
| Hücre yüzeyinde etkili faktörler | Kimyasal ajanlar | Diğerleri | |
| Kalsiyum iyonoforA23187 | C-AMP | Viral transformasyon | Retinoik asit |
| Konkanavalin A | Kolsişin | Onkogenler | Glukokortikoidler |
| Kristaller | Lipopolisakkarit | Otokrin ajanlar | Östrojen |
| Ürat | Mitomisin C | Fibroblastların | Progesteron |
| Hidroksiapatit | Pentoksifilin | yaşlanması | Adenovirüs-5EIA |
| Kalsiyum pirofosfat | Forbol diesterleri | İnterlökin 1 | geni |
| İntegrin reseptör antikoru | Prostaglandin E | Epidermal büyüme | |
| Polihidroksietilmethakrilat | Trifluoperazin | faktörü | |
| Fagositoz | UV ışını | Platelet büyüme | |
| | | faktörü | |
| | | TNF | |

2.2.5. Matriks Metalloproteinazların Aktivitesinin Düzenlenmesi

Fürin tarafından aktif hale getirilen birkaç üyenin dışında MMP'ların tümü inaktif zimojenler olarak salınırlar. MMP'ların matriks degradasyonu yapabilmesi için proteolitik kırılma ile aktif forma dönüşmesi gerekir. Üç farklı aktivasyon mekanizması tanımlanmıştır (65).

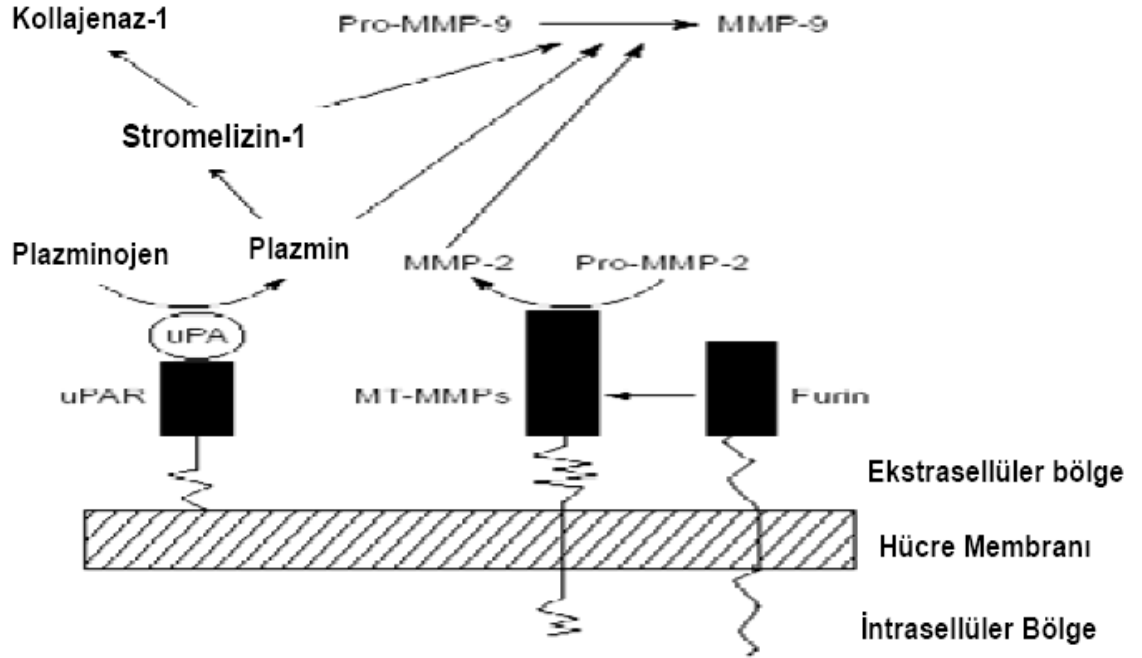
1. *Stepwise* aktivasyon
2. Mt-MMP'lar ile hücre yüzeyinde aktivasyon
3. İntrasellüler aktivasyon

ProMMP olarak salınan enzimler; SH reaktif ajanlar, civalı bileşikler, reaktif oksijen ve denatüranları gibi nonproteolitik ajanlar ve proteinazlar tarafından invitro aktive edilirler. Tüm durumlarda Cyn-Zn (*sistein swich*) etkileşiminin kesilmesi gereklidir ve bu aktivasyon *stepwise* aktivasyon olarak adlandırılır. *Stepwise* aktivasyon esnasında ilk adım plazmin, tripsin, elastaz ve kallikrein gibi bir proteinaz ve diğer MMP'lar ile gerçekleşir. Bu proteinazların invivo ortamda çoğu potent patolojik aktivatörleri plazmin yoluyla olur (65, 91). Ayrıca aktive olan MMP'lar da diğer proMMP'ları aktive edebilir. Membran bağımlı MT-MMP'lar hücre yüzeyinde

proMMP-2 enzimlerini aktive edebilir (65, 92). Hücre yüzeyinde MMP aktivasyon kaskadı Şekil 2’de gösterilmiştir.

Plazmin, MMP’nin propeptit domaininin plazminojene hassas bölgesine atak yapar. Propeptitte konformasyonel bir değişiklik meydana gelir ve ikinci bir proteinaz ile hızla kırılarak aktive edilir. MMP’ın hücre yüzeyinde aktivasyonu, hücre migrasyonu esnasında ESM’in degradasyonunda önemlidir. Membranda bulunan MT1-MMP ile MMP-2’nin aktivasyonu bu olaya örnektir (65).

Bazı MMP’lar intrasellüler olarak aktive olurlar. MMP-11’in (stromelizin) golgi ile ilişkili subtulisin benzeri proteinaz tarafından aktivasyonu buna örnektir [15].

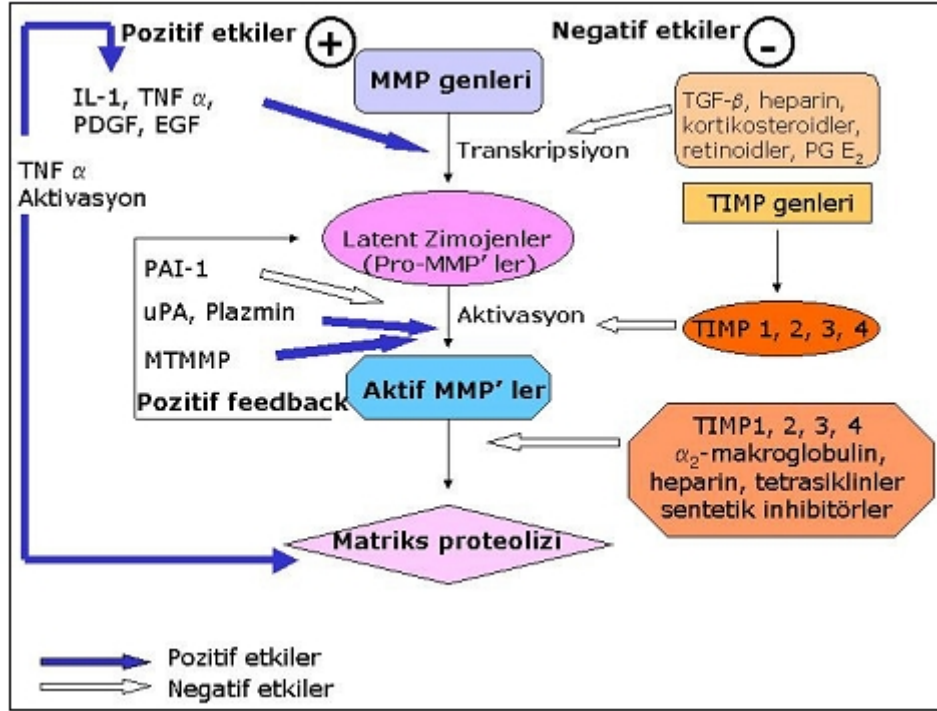


Şekil 2. Hücre yüzeyinde MMP aktivasyon kaskadı (65, 93).

2.2.6. Matrix Metalloproteinazların Ekspresyon ve Regülasyonu

Normal yetişkin dokularında MMP’ların ekspresyonu düşük düzeyde bulunur. Bazı fizyolojik ve patolojik *remodeling* olaylarında ekspresyonları upregüle olur. MMP fonksiyonları hem gen aktivasyonu hem de protein aktivasyonu aşamalarında düzenlenir. MMP’ların transkripsiyonel regülasyonu, proksimal promoter bölgelerinde yer alan AP-1 düzenleyici eleman ile sağlanır. MMP gen transkripsiyonu sitokinler (IL1-4), büyüme faktörleri (EGF, TGF- α , TGF- β 1, TNF-

α , Basic fibroblast growth faktör), hücre-hücre ve hücre-matriks etkileşimleri ile uyarılabilir. Bu aktivatörlerin reseptöre bağlanması ile en az 3 değişik sınıf mitojen aktive edilmiş kinazlar (MAP) tarafından sağlanan intrasellüler olaylar zinciri ile hücresel AP-1 transkripsiyon faktörü aktif hale geçirilir ve AP-1 cis elementine bağlanarak MMP geninin transkripsiyonunu sağlar (4, 94). MMP enzim aktivitesinin düzenlenmesi Şekil 3’de gösterilmiştir.



Şekil 3. MMP enzim aktivitesinin düzenlenmesi (66) no'lu kaynaktan modifiye edilmiştir.

2.2.7. Matriks Metalloproteinazların Spesifik Doku İnhibitörleri

MMP aktivitesinin kontrolünde spesifik doku inhibitörleri anahtar rol oynar. Bunun yanı sıra α_2 makroglobulin, heparin, tetrasiklinler, C reaktif protein ve sentetik inhibitörler aktif MMP inhibisyonu yaparlar (66)

TIMP'lar bağ dokusu metabolizmasının düzenlenmesinde temel proteinlerdir (56). Endotel hücresi, vasküler kas hücresi, makrofajlar, kan hücreleri ve bağ dokusu hücrelerinden salınırlar (50). Günümüzde TIMP-1,-2,-3,-4 olmak üzere tanımlanmış 4 TIMP türü vardır (56). TIMP'lar, MMP enzim aktivitesini ve MMP/TIMP dengesini kontrol altında tutarlar. MMP'lara irreversibl ve nonkovalent bağlanarak

latent enzim formunun aktivasyonunu ve katalitik aktivitenin sürdürülmesini inhibe ederler (57). EGF, TGF- β , IL-1 β , IL-6, retinoik asit, onkostatin, forbol esterleri, FGF gibi ajanlarla TIMP'ların aktivitesi artar. Konkonovalin, deksametazon ile inhibe olur. Yine TNF- α 'nın düşük konsantrasyonlarında TIMP-1 üretimi artar, yüksek konsantrasyonlarında üretimi baskılanır (95).

TIMP'lar, MMP enzim aktivitesini inhibe etme yönünde benzerlik göstermekle beraber matriksteki lokalizasyonları ve gen ekspresyonu düzenlenmesi açısından aralarında farklar vardır (96).

Aktif MMP inhibitörlerinden biri de α 2 makroglobulindir. Yüksek molekül ağırlığı nedeniyle bağlandığı MMP'nin molekül ağırlığını artırıp hareket yeteneğini kısıtlar (56).

Tetrasiklin analogları MMP molekülünün çinko içeren aktif bölgesine bağlanarak enzimde yapısal değişikliğe yol açarlar ve enzimin aktivitesini kaybetmesine neden olurlar (97).

Son yıllarda peptid ve nonpeptid yapıda sentetik MMP inhibitörleri üretilmiştir. Bu inhibitörler en çok kanser, kardiyovasküler hastalıklar, artrit, psöriazis gibi hastalıkların tedavisinde denenmiştir (98).

TIMP-1

Aktif formu 28 kDa ağırlığında bir siyaloproteindir (99). Özellikle makrofajlar olmak üzere birçok hücrede üretilir ve salgılanır, trombositlerde rezidü olarak bulunur (95). Akciğerde fibroblast, bronş epitel hücreleri, alveolar makrofaj, nötrofil, hava yolu düz kas hücrelerinden salınır (73, 100, 101). TIMP-1'in, MT1-MMP üzerinde inhibitör etkileri yoktur (102). Trombosit kaynaklı büyüme faktörü, fibroblast büyüme faktörü, forbol esterleri, IL-1 gibi birçok uyaran TIMP-1'in fibroblastlardan ekspresyonunu artırır (77). Ayrıca TNF- α 'nın düşük konsantrasyonlarında TIMP-1 üretimi artarken, yüksek konsantrasyonlarında üretimi baskılanır (95). TIMP-1, proMMP-9'a bağlanarak proMMP-9/TIMP-1 kompleksini oluşturur. Bu kompleks bütün aktif MMP'ları inhibe eder ve daha aktif stabil form olan proMMP-9/TIMP-1/MMP kompleksini oluşturur (103). MMP'lar üzerine inhibitör etkileriyle tümör büyümesini, invazyon ve metastazını inhibe ederler (104).

TIMP-2

21 kDa ağırlığında glikolize olmamış bir proteindir (105). TIMP-2, MMP-9 dışındaki MMP'ları inhibe eder. Spesifik olarak MMP-2'yi inhibe eder. Alveoler epitelyum hücreleri ve özellikle tip II pnömositlerden, hava yolu düz kas hücrelerinden salınır (73, 101). Fibroblastlarda proMMP-2 ile birlikte sekrete edilir (77).

TIMP-3

21 kDa ağırlığında glikolize olmamış MMP inhibitörüdür. TIMP-3 ekstrasellüler matriksden transforme olmuş hücrelerin ayrılmasını kolaylaştırır ve morfolojik değişiklikleri başlatır (105). TIMP-3, MMP-1,-2,-3,-9 ve -13'ü inhibe eder (77).

TIMP-4

MMP-2,-7 ve MMP-9'u inhibe eder (78). Tümör invazyonunu ve metastazını inhibe ettiği gösterilmiştir (106).

2.2.8. Kanser ve Matrix Metalloproteinazlar

Kanser dokusunda tümör ile infiltre olmuş stromal hücrelerde matriksi degrade eden proteaz sisteminin komponentleri sıklıkla saptanmaktadır. Bu bulgular kanser invazyon sürecinde stromal hücrelerin aktif rol oynadığını göstermektedir. Kanser invazyonunda ekstrasellüler matriksin ve bazal membranın parçalanması önemli rol oynar. Bu parçalanma çeşitli ekstrasellüler proteolitik enzimlerin birlikte çalışmaları ile başlar. Bu enzimler proteazlar olarak bilinir ve bu grupta serin proteaz ailesi ve MMP ailesi vardır. Bu enzimlerin aktivitesi, proenzim aktivatörleri, spesifik inhibitörleri ve hücre yüzey reseptörleri ile düzenlenmektedir (89).

MMP'lar, ekstrasellüler matriksi (ESM) parçalayarak hücre migrasyonu ve biyoaktif molekül salınımını sağlar. Böylelikle malign transformasyona ve kanser progresyonuna katkıda bulunur (107-109). MMP'lar uzak metastaz süreçlerinde rol alır (110). MMP'lar anjiogeneze farklı mekanizmalarla pozitif ve negatif rol alır. MMP-9, ESM'den vasküler endotelial growth faktörün (VEGF) mobilizasyonunu sağlar (108). Kollajen IV içindeki kriptomik *epitop* 'un ortaya çıkması ile MMP-2 ve

MMP-9 anjiogenezi düzenler. Tersine MMP-7, ESM'den endostatin fragmanlarını salarak anti-anjiogenik faktör olarak görev alır (110).

2.3. Akciğer Kanserinde Matrix Metalloproteinazların Rolü

Akciğerde birçok hücre tipinde MMP'lar ve TIMP'lar saptanmıştır. Bu enzimler bronşial ağacın ve alveollerin yapısal hücrelerinden ve de inflamatuvar hücrelerin stimülasyonu ile üretilir. Sağlıklı akciğerde fibroblastlar temel olarak MMP-2 üretir, fakat MMP-1 ve TIMP-1 için de hücreler kaynağıdır. MMP-2, MMP-9 ve onların major inhibitörleri TIMP-1 bronşial epitel hücrelerinden salgınır. Ek olarak alveolar epitel hücrelerinden ve özellikle tip II pnömositlerden TIMP-2 ve MMP-1 üretilir (73). Nötrofiller MMP-9, MMP-8 ve TIMP-1 üretir ve sekonder granüllerin aktive olmasıyla salgınır (100). Alveoler makrofajlar MMP-1, MMP-9, MMP-12 ve TIMP-1 üretir (86).

MMP-9 ve TIMP-1 erken evre KHDAK ve KHAK hastaların serumlarında sağlıklı kişilerin serumları ile karşılaştırıldığında artmış olarak saptanır. MMP-9 ile TIMP-1 arasında doğal fizyolojik bir ilişki vardır (111). KHDAK'de MMP-1, MMP-2 ve MMP-9 tümör invazyonuna ve metastazına katkıda bulunur ve güvenilir prognostik faktör olarak önerilir (112). MMP-1'in aşırı salgınımı diğer kanser tiplerinde olduğu gibi akciğer kanserinde de kötü prognozla ilişkilidir (113). Bazal membran yıkımı ya da MMP-2 salgınımı invaziv akciğer adenokarsinom prognozu ile koreledir (114). MMP ekspresyonu kanser subtiplerinde farklı fonksiyonlarda olabilir. MMP-11,-13,-14, TIMP-2,-3, MMP-1 ve MMP-9'a göre daha sık sekrete edilir. Bu enzimlerden bazılarının oynadığı rol KHAK ve KHDAK'de farklı gibi görünüyor (115). MMP-2'nin stromal fibroblastlardan güçlü salgınımı skuamöz hücreli karsinomda adenokarsinoma göre daha sıktır. MMP-2, tümörle ilişkili anjiogenezi de rol oynar. MMP-2'nin intratümöral mikrodamarlarda yüksek yoğunlukta olduğu gösterilmiştir. MMP-2'nin VEGF ile birlikte yüksekliği kötü prognozla ilişkilidir (116). Ayrıca postoperatif prognoz stromal MMP-2 ile de bağlantılıdır (117).

MMP-9'un KHDAK hastalarda yükseldiği gösterilmiş olmakla birlikte akciğer kanserindeki rolü net değildir. KHDAK'de MMP-9 metastatik süreçte rol alır (118). TIMP-1 ve TIMP-2 ekspresyonu kanser evresiyle ilişkilidir (119) ve akciğer adenokarsinom prognozunda belirteç olarak kullanılabilir (120).

3. MATERYAL ve METOD

Çalışmamız Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi (SDÜTF) Göğüs Hastalıkları, Patoloji ve Biyokimya Anabilim Dallarının işbirliğinde Ocak 2007 ve Ocak 2009 tarihleri arasında gerçekleştirilmiştir. Tez projesi için gerekli “etik kurul onayı” SDÜTF Etik Kurul Başkanlığı’ndan alınmış ve ayrıca hastalara araştırma hakkında ayrıntılı bilgi veren “bilgilendirme ve onam formları” okutularak, bilgi sahibi olmaları sağlanmıştır.

3.1. Hasta Grubu

Ocak 2007 ve Ocak 2009 tarihleri arasında, hastanemiz Göğüs Hastalıkları Kliniği’nde ileri evre akciğer kanseri tanısı konularak tedavisi planlanan toplam 44 hasta tedavisine başlanmadan prospektif olarak çalışmaya alındı. Yaşları 43-84 arasında değişmekteydi ve ortalama yaş 65 ± 2 idi. 8 erkek ve 8 kadın (ortalama yaş 41 ± 2) olmak üzere sigara kullanmayan ve son 3 ayda akciğer enfeksiyonu geçirmemiş sağlıklı 16 kişi kontrol grubu olarak çalışmaya dahil edildi.

3.1.1. Araştırmaya Dahil Olma Ölçütleri

Hastalarda çalışmaya alınma kriterleri olarak; ileri evre akciğer kanseri tanısı almış olmak, tanı ve tedavi prosedürlerini kabul etmiş olmak, kabul edildi.

3.1.2. Araştırmadan Çıkarılma Ölçütleri

Önceden kanser tanısı alarak RT veya KT gören hastalar, ikametgâhının çalışmanın devamına engel olacak kadar uzak olması, sağ kalımı etkileyecek başka sistem hastalığının varlığı, hastanın tetkik ve tedaviyi kabul etmemesi durumunda çalışmaya alınmadı (Tablo 11).

Tablo 11. Çalışma ile ilgili gerekli görülen koşullar

| |
|--|
| <p><i>Çalışmaya dahil edilme kriterleri</i></p> <ol style="list-style-type: none">1. Histopatolojik olarak ileri evre akciğer kanseri tanısı almış olmak2. Hastanın tüm tanı ve evreleme prosedürlerini kabul etmiş olması3. İkametgahının tanı ve takip aşamalarına engel oluşturacak kadar uzak olmaması <p><i>Çalışmaya dahil edilmeme kriterleri</i></p> <ol style="list-style-type: none">1. İkametgahının tanı ve takip aşamalarına engel oluşturacak kadar uzak olması2. Sağ kalımı etkileyecek başka sistem hastalığının varlığı3. Daha önceden kanser tanısı ve KT ya da RT varlığı4. Hastanın tetkik ve tedaviyi kabul etmemesi <p><i>Çalışmadan çıkarılma kriterleri</i></p> <ol style="list-style-type: none">1. Hastanın tetkiklerini tamamlamaması |
|--|

Hastaların yaş dağılımları, sigara alışkanlıkları, geldikleri yöre ve meslekleri kaydedildi ve anamnez, fizik muayene, radyolojik, biyokimyasal yöntemler ile değerlendirildi ve gerekli girişimler planlandı. Tüm hastalara çalışma ve yapılacak muayene yöntemleri hakkında bilgi verilerek izinleri alındı.

3.2. Radyolojik Yöntemler

3.2.1. Akciğer Radyografisi

Postero-anterior (PA) ve lateral akciğer grafileri göğüs hastalıkları uzmanı tarafından değerlendirildi.

3.2.2. Akciğer Bilgisayarlı Tomografisi

Mediastinal lenf nodları ve akciğer parankimi akciğer bilgisayarlı tomografi (BT) (Philips Tomoscan AV) ile 7 mm kesit kalınlığı alınarak radyoloji uzmanı tarafından değerlendirildi.

3.3. İnvaziv Girişimler

3.3.1. Bronkoskopi

Hastalara Pentax FB-18V marka fiberoptik bronkoskop ile nazal ve/veya oral yoldan topikal anestezi altında yapıldı. Lokal anestezi sağlamak amacıyla %2'lik aritmal uygulandı. Histopatolojik materyal, lezyonun özelliklerine göre *forceps* biopsi ya da transbronşiyal ince iğne aspirasyon biopsisi ile elde edildi.

3.3.2. Endoskopik Ultrasonografi (EUS)

Bronkoskopik tetkik sırasında endobronşial lezyon görülmeyen ve bronkoskopik ve/veya transtorasik ince iğne aspirasyon biyopsileri ile tanı konulamayan vakalarda mediastinal lezyonlar EUS ile değerlendirildi. EUS muayeneleri hastanemiz Gastroenteroloji Kliniği EUS laboratuvarında gastroenteroloji uzmanı tarafından yapıldı ve ulaşılabilen kitle ve lenf nodlarından biopsiler alındı.

Hastanın orofarinksine %5'lik Xylocain sprey ile lokal premedikasyon ve gereken vakalarda midazolom 2,5 mg intravenöz yapıldı. Sol yan yatar pozisyonda, hastanın vital fonksiyonları bir uzman hekim tarafından sürekli kontrol edilerek gerçekleştirildi. Ekoendoskop radial probu özefagus alt ucuna kadar ilerletildikten sonra yavaşça geri çekilerek, önce 7,5 MHz frekans ile sonra 12,5 MHz frekansla tüm alanlar sistematik bir biçimde değerlendirildi. LAP ve/veya kitle tanımlandıktan sonra lineer endoskopi probu ile biyopsiler alınarak işleme son verildi.

Bronkoskopik ve/veya EUS girişimler ile yetersiz kalınan ve/veya lezyonun periferik olarak lokalize olduğu vakalarda Akciğer BT eşliğinde İİAB ve/veya *tru-cut* biyopsileri ile tanıya ulaşıldı.

Tüm hastalarda akciğer kanseri tanısı histopatolojik muayene ile konuldu. Histopatolojik değerlendirme hastanemiz Patoloji Anabilim Dalı laboratuvarında KHAK ve KHDAK'nin önceden tanımlanmış histopatolojik kriterlerine göre yapıldı.

3.4. Evreleme

Metastaz değerlendirilmesi öncelikle hastanın semptomlarının ve laboratuvar bulgularının yönlendirdiği şekilde yapıldı. Lenf nodu metastazları akciğer BT ve endosonografi ile değerlendirildi. Uzak organ metastazları ise, batın ultrasonografisi

ya da BT, kraniyal BT ve/veya MR ve kemik sintigrafisi ile değerlendirildi. Plevral sıvı mevcudiyetinde plevral sıvının sitolojik analizi negatif gelen olgulara plevra biyopsisi uygulandı. Bir metastatik odak saptandığında, tümör yaygın evre olarak kabul edilerek tetkikler sonlandırıldı. Radyolojik olarak uzak metastaz saptanmayan olgularda olası kemik iliği metastazları için kemik iliği biyopsisi uygulandı. TNM evrelendirmesine göre evre IIIB, IV KHDAK veya VALG sınıflamasına göre yaygın evre KHAK olan hastalar “ileri evre akciğer kanseri” olarak kabul edildi.

3.5. Evrelere Göre Tedavi ve İzlem

Histopatolojik olarak akciğer kanseri tanısı alan ve TNM’ye göre ileri evre kabul edilen hastalara performans durumu göz önüne alınarak tedavileri planlandı. Performans durumu kötü bulunan hastalara yalnızca destek tedavisi verildi. Evre IIIB KHDAK’li hastalara KT-RT, Evre IV hastalara KT ve ileri evre KHAK tanısı alan hastalara ise KT verildi. Ağrı, hemoptizi, vena kava superior sendromu ve dispne gibi yakınmaları olan hastalara semptomatik rahatlama amacıyla palyatif RT uygulandı. Hastalar tanı anından ölüme ve/veya en son takip tarihine kadar belli aralıklarla izlendi. Kontrole düzenli gelmeyen hastalara telefon ya da mektupla ulaşılarak son durumları hakkında bilgi edinildi. Hastalar 2 yıl boyunca takip edildi.

3.6. Prognostik Faktörler

İleri evre akciğer kanseri tanısı alan 44 hastada sağ kalımı etkileyebileceğini düşündüğümüz faktörler tedavi öncesi değerlendirildi; cinsiyet, yaş, performans durumu, evre (TNM), son 6 ayda kilo kaybı, hematolojik değişkenler (hemoglobin, lökosit, lenfosit), vücut kitle indeksi (VKİ), biyokimyasal değişkenler (serum albümin, LDH, ALP).

Tedavi öncesinde her hastada performans durumu ECOG performans skalası ile değerlendirildi.

Boy ve kilo değerleri ölçülerek kaydedildi ve vücut kitle indeksleri (VKİ: kilo/boy²) hesaplandı. Son 6 ayda önceki kilosunun %10’undan fazlasını kaybetmesi kilo kaybı olarak kabul edildi.

3.7. Serum Örneklerinin Toplanması ve Örneklerde MMP-2, MMP-9 ve TIMP-1 Düzeylerinin Çalışılması

Tedavi öncesi hastalardan ve sağlıklı kontrol grubundan alınan 7 cc venöz kan örnekleri 3000 devirde 5 dakika santrifüj edildi ve serumları ayrıştırıldı. ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) yöntemi ile MMP-2, MMP-9 ve TIMP-1 çalışılmak üzere -70 °C'de saklandı.

Serum MMP-2, MMP-9 ve TIMP-1 ölçümü, (The RayBio®,USA Human) ELISA kiti kullanılarak yarışmalı ELISA yöntemi ile belirlendi.

3.7.1. Prosedür

Tüm çözeltiler, serum örnekleri ve okutulacak standartlar hazırlandı. Her kuyucuğa 100 µl standart ya da serum örneği koyulup 2,5 saat oda sıcaklığında veya 4 °C'de bir gece beklendi. Her kuyucuğa 100 µl biotin antikordan eklendi. 1 saat oda sıcaklığında inkübe edildi. Hazırlanmış streptavidin solüsyonundan 100 µl eklenip oda sıcaklığında 45 dakika inkübe edildi. Her kuyucuğa 100 µl tetrametilbenzidin (TMB) substrat solüsyonu eklendi. 30 dakika oda sıcaklığında inkübe edildi. Her kuyucuğa 50 µl yıkama solüsyonu eklendi ve 10 dakika içinde 450 nm'de mikropate ELISA okuyucusunda konsantrasyonlar belirlendi.

3.8. Doku MMP-2, MMP-9, TIMP-1 Ekspresyonlarının İmmünohistokimyasal Yöntemle İncelenmesi ve Değerlendirilmesi.

Çalışmaya alınan 44 olgunun (35 KHDAK, 9 KHAK) Patoloji Anabilim Dalı arşivinde yer alan ve KHDAK ile KHAK tanısı almış hematoksilen eozin kesitler tekrar incelenerek immünohistokimyasal işlem için uygun parafin bloklar seçildi. Olguların tamamı bronkoskopik, endoskopik ve *tru-cut* işlemi ile elde edilmiş küçük doku biyopsilerinden oluşmaktaydı. Histopatolojik tanıları WHO 2004 klasifikasyon sistemine göre yapılmıştı. Buna göre 14 adet tiplendirilemeyen KHDAK, 9 epidermoid karsinom, 5 adenokarsinom ile 8 KHAK olgusundan oluşmaktaydı. İmmünohistokimyasal olarak MMP-2, MMP-9 ve TIMP-1 ekspresyonlarının gösterilmesi için *Streptavidin biotin peroxidase* yöntemi uygulandı. Seçilen bloklardan polilizinli lamlara 5 µm kalınlığında kesitler alındı. 37 °C'de bir gece

etüvde bekletilerek kurutuldu. Deparafinizasyon işlemi için 20 dakika ksilende bırakıldı. Absollü alkolde 20 dakika bekletilip çeşme suyunda yıkandı. Antijen *retrieval* işlemi için 20 dakika Citratte Buffer içinde PT modulle (Labvision) cihazında 98 °C’de kesitler ısıtılarak distile suya alındı. Sonrasında kesitlere hidrojen peroksit (H2O2) bloking damlatılarak 20 dakika inkübasyon yapıldı. 2-5 dakika PBS’te yıkandı. 5 dakika ultra V bloking yapıldı. Ultra V blok akıtılıp uzaklaştırılarak hemen primer antikorlar damlatıldı. MMP-9 (Kat No: RB-9234-P1 *ThermoFisher Scientific-Labvision Freemont CA 94539-USA*) için 1/50 dilüsyon, 30 dakika inkübasyon; MMP-2 (*MS-567-P1 ThermoFisher Scientific-Labvision Freemont CA 94539-USA*) için 1/100 dilüsyon, 30 dakika inkübasyon; TIMP-1 (*MS-608-P1 Thermo Fisher Scientific-Labvision Freemont CA 94539-USA*) için 1/100 dilüsyon, 30 dakika inkübasyon yapıldı. Sonrasında PBS’de yıkandı. Sekonder antikör için Biotinyloted Goat Anti-Polyvolent (Kat No: TP-125-BN Labvision) damlatıldı. 20 dakika inkübasyon yapıldı ve Fosfatla tamponlanmış salin (PBS) solusyonunda yıkandı. *Streptavidin Peroxidase* (Kat No: TS-125-HR Labvision) damlatılarak 20 dakika inkübe edildi ve PBS’te yıkandı. Dietilaminobenzidin (DAB) kromojeni (Kat No: TA-125-HD) yapıldı. 5-15 dakika inkübasyon yapılarak distile suda yıkandı. Alkolden geçirildi. Oda ısısında kurutuldu. Ksilenin içine konularak entelon ile kapatıldı.

MMP-2 ve MMP-9 için plesanta tümörü, TIMP-1 için mesane tümörü pozitif kontrol olarak kullanıldı. İmmünohistokimyasal boyamalar ışık mikroskopunda değerlendirildi. Değerlendirme hastaların klinik bilgilerinden habersiz iki patolog tarafından yapıldı. MMP-2, MMP-9 ve TIMP-1 için tümör hücrelerinde sitoplazmik boyanma pozitif olarak kabul edildi. Tümör hücrelerinde sitoplazmik boyanma gösteren olgular pozitif, göstermeyenler negatif kabul edildi. Tüm incelenen antikörler yönünden immün pozitif olan olgularda boyanmanın şiddetine ve yaygınlığına göre aşağıdaki skorlama uygulandı.

Boyanma şiddetine göre: 1= zayıf, 2= orta ve 3= kuvvetli immün pozitif; tümör hücrelerindeki boyanma yaygınlığına göre: 1+ = %10’dan az, 2+ = %10 ile 50 arasında, 3+ = %50’den fazla pozitiflik. Ayrıca her olgu için boyanma şiddeti ve boyanma yaygınlığı skorları toplanarak toplam boyanma skoru (TBS) elde edildi. Toplam boyanma skoruna göre olgular 0 ile 6 arasında dağılım gösterdi ve

istatistiksel incelemeyi kolaylaştırmak için olgular 0= TBS'si "0" negatif olanlar; 1= TBS'si "1-2" olan olgular; 2= TBS'si "3-4" olan olgular, 3= TBS'si "5-6" olanlar şeklinde tekrar gruplandırıldı.

İstatistik analizler

Hastaların tüm özellikleri SPSS 15.0 for Windows hazır programına kaydedildi.

İki grup ortalaması ve dağılımlar arasındaki farklılıklar *student's t-test* ve *Mann-Whitney U* test ile değerlendirildi. Serum MMP-9 özelliği bakımından KHAK, KHDAK ve sağlıklı gruplarda parametrik testlerin ön şartlarından olan varyansların homojenliği ön şartı yerine gelmemiştir. Bu nedenle nonparametrik yöntemlerden olan *Kruskal-Wallis testi* kullanılmıştır. Serum MMP-2, MMP-9 ve TIMP-1 düzeylerinin klinikopatolojik faktörler ile ilişkisi *Pearson correlation* test istatistiği kullanılarak analiz edildi.

Doku MMP-2, MMP-9 ve TIMP-1 ekspresyonunun (immün pozitif/immün negatif) yaş, ECOG, VKİ, evre, tümörün histolojik tipi, hematolojik ve biyokimyasal parametreler ile bağımsızlık durumları *Chi-square* testi ile analiz edildi. Doku MMP-2, MMP-9 ve TIMP-1 ile pozitif boyanan hücrelerde boyanmanın şiddeti ve yaygınlığı dikakate alınarak elde edilen TBS skorlarının yaş, ECOG, VKİ, evre, hemotolojik ve biyokimyasal parametreler ile ilişkisi ise *Spearman correlation* test istatistiği kullanılarak analiz edildi.

Toplam survi hastanın kliniğimizde histopatolojik tanısının konulmasından ölümüne kadar geçen süre olarak kabul edildi. Sağ kalım eğrileri *Kaplan-Meier* yöntemiyle çizildi ve sağ kalım açısından gruplar arası karşılaştırmalar "*log-rank*" analiziyle yapıldı. Tedavi öncesi değişkenlerin her birinin bağımsız prognostik önemi çok değişkenli analiz "*Cox regression with covariate survival analysis*" yöntemi ile analiz edildi.

P değerinin 0,05'in altında olması, istatistik olarak önemli kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1. Hastaların Genel Karakteristikleri

Ocak 2007 ve Ocak 2009 tarihleri arasında 44 hasta çalışmaya alındı. Doku ve serum MMP ölçümleri 36 hastada gerçekleştirilebildi. Hastaların genel karakteristikleri Tablo 12’de gösterilmiştir. Hastaların büyük bir çoğunluğu erkekti (%78) ve sigara kullanmakta idi. Ortalama yaş 65 ± 2 (43-84) ve ortalama performans durumu “ECOG” olguların %69,4’inde 1 idi. Olgularda baskın olan histopatolojik tip KHDAK ve özellikle “epidermoid karsinom” du. Yalnızca %25’i başvuru sırasında sigara kullanmıyordu ve en sık semptom öksürüktü (%90). Tablo 13’de hastaların başvuru sırasındaki semptomların dağılımları gösterilmiştir. Antineoplastik tedavi toplam 30 (% 82,7) hastaya verildi. 25 (% 69,4) hastaya yalnızca KT, 5 (%13,9) hastaya KT+palyatif RT ve 6 (%16,7) hastaya ise yalnızca destek tedavisi uygulandı.

Tablo 12. Tüm hastaların ve histopatolojik alt gruplarının genel özellikleri

| | | Tüm hasta grubu N=36 | KHDAK N=28 | KHAK N=8 |
|--|----------------------------|---------------------------------|-----------------------|---------------------|
| Değişkenler | | Ortalama±SH veya N(%) | | |
| Yaş (yıl) | | 64,5±2 | 66,43±2 | 58,1±4,5 |
| Cinsiyet | Erkek | 28 (77,8) | 21(75) | 7(87,5) |
| | Kadın | 8 (22,2) | 7(25) | 1(12,5) |
| Sigara (pk/yıl) | | 54±0,18 | 53±9,4 | 58,38±17,1 |
| VKİ (kg/m²) | | 24,5±0,9 | 25,7 ±1,0 | 20,5±1,4 |
| Kilo kaybı | Yok | 17 (47,2) | 13 (46,4) | 4 (50) |
| | Var | 19 (52,8) | 15 (53,6) | 4 (50) |
| ECOG | 0 | 3 (8,3) | 2 (7,1) | 1 (12,5) |
| | 1 | 25 (69,4) | 20 (71,4) | 5 (62,5) |
| | 2 | 1 (2,8) | 1 (3,6) | 0 (0) |
| | 3 | 6 (16,7) | 5 (17,9) | 1 (12,5) |
| | 4 | 1 (2,8) | 0 (0) | 1 (12,5) |
| Evre | IIIB | 4 (11,1) | 4 (14,3) | 0 (0) |
| | IV | 32 (88,9) | 24 (85,7) | 8 (100) |
| T | T1 | 0 (0) | 0 (0) | 0 (0) |
| | T2 | 16 (44,4) | 12 (42,9) | 4(50) |
| | T3 | 6 (16,7) | 16 (21,4) | 0(0) |
| | T4 | 14 (28,9) | 10 (35,7) | 4(50) |
| N | N0 | 7 (19,4) | 6 (21,4) | 1(12,5) |
| | N1 | 2 (5,6) | 2 (7,1) | 0(0) |
| | N2 | 11 (30,6) | 7 (25) | 4(50) |
| | N3 | 16 (44,4) | 13 (46,4) | 3(37,5) |
| M | M0 | 4 (11,1) | 4 (14,3) | 0(0) |
| | M1 | 32 (88,9) | 24 (85,7) | 8(100) |
| Histopatoloji | Adenokarsinom | 5(13,8) | 5(13,8) | |
| | Epidermoid karsinom | 9(25) | 9(25) | |
| Albümin (gr/dl) | | 3,9±0,1 | 3,8±0,1 | 4,1±0,2 |
| Hemoglobin (gr/dl) | | 13,5±0,3 | 13,3±0,3 | 13,4±0,5 |
| Lökosit (mm³) | | 10 100±670 | 10 300±670 | 9 600±1 500 |
| Lenfosit (mm³) | | 1 644±100 | 1 600±140 | 1 700±200 |
| LDH (U/L) | | 280±21 | 267±22 | 326±57 |
| ALP (U/L) | | 115±18 | 113±18 | 99±8 |
| VKİ: Vücut kitle indeksi; ECOG: <i>Eastern Cooperative Oncology Group</i> ; T: Tümör; N: Nod; M: Metastaz; ALP: Alkalen fosfat; LDH: Laktik dehidrogenaz; TNM: Tümör-Nod-Metastaz, SH: Standart hata | | | | |

Tablo 13. Hastaların başvuru sırasındaki semptomları (N= 36)

| Semptom | | N (%) |
|-----------------------------------|---------------|-----------|
| Öksürük | | 32 (88,9) |
| Balgam | | 23 (63,9) |
| Nefes darlığı | | 19 (52,8) |
| Hemoptizi | | 17 (47,2) |
| Kilo kaybı | | 19 (52,8) |
| Diğerleri | Göğüs ağrısı | 10 (27,7) |
| | İştahsızlık | 4 (11,1) |
| | Ses kısıklığı | 4 (11,1) |
| | Sırt ağrısı | 3 (8,3) |
| | VKSS | 1 (2,7) |
| VKSS: Vena Kava Süperior Sendromu | | |

4.2. İleri Evre Akciğer Kanserli Hastalarda Serum MMP-2, MMP-9 ve TIMP-1 Düzeyleri

Çalışmamızda hasta grubu ile kontrol grubu arasında serum MMP-9 (sırasıyla; 1447,2±153 pg/ml; 896±89 pg/ml) düzeyleri arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı iken (p= 0,025), serum MMP-2 (sırasıyla; 29,6±7,3 ng/ml; 27±4,2 ng/ml) ve TIMP-1 (sırasıyla 8980±555 pg/ml; 9287±940 pg/ml) düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık yoktu (sırasıyla; p= 0,613, p= 0,769). KHDAK'li olgular (sırasıyla; 31,8±9,2 ng/ml; 1259,2±99,2 pg/ml; 9252,7±705 pg/ml) ile KHAK'li olgularda (sırasıyla; 22±7,7 ng/ml; 2105,4±562,8 pg/ml; 8024,8±234 pg/ml) ölçülen serum MMP-2, MMP-9 ve TIMP-1 düzeyleri arasında da istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmadı. KHDAK'li hastaların adenokanser ve epidermoid subtiplerinde ölçülen serum MMP-9 düzeyleri karşılaştırıldığında ise epidermoid kanser tipindeki artış istatistiksel olarak anlamlı idi (p= 0,013). Serum MMP-9 düzeyleri açısından KHDAK'li hastalar ile kontrol grubu arasında fark istatistiksel olarak önemli değildi. KHAK'li hastalar ile kontrol grubunda ölçülen serum MMP-9 düzeyleri arasındaki fark istatistiksel olarak önemli iken (p= 0,031), serum MMP-2 ve TIMP-1 düzeyleri arasındaki farkın istatistiksel olarak bir önemi gösterilemedi. Tablo 14'de total hasta grubu, KHDAK ve KHAK'li olgular ile KHDAK'li olguların histopatolojik subgrupları ve kontrol grubunda ölçülen serum MMP-2, MMP-9 ve TIMP-1 düzeyleri verilmiştir.

Tablo 14. İleri evre akciğer kanserli hastalarda ve sağlıklı kontrol grubunda tedavi öncesi ölçülen serum MMP-2, MMP-9 ve TIMP-1 seviyeleri

| | Serum MMP-9 (pg/ml) | Serum MMP-2 (ng/ml) | Serum TIMP-1 (pg/ml) |
|--|------------------------|------------------------|-------------------------|
| Ortalama±SH | | | |
| Total (N= 36) | 1447±153 | 29,6±7 | 8980±555 |
| Kontrol (N= 16) | 896±89 | 27±4 | 9287±940 |
| | | <i>P=0,025</i> | |
| KHAK (N= 8) | 2105±562 | 22,0±7,7 | 8024,8±234 |
| KHDAK (N=28) | 1259±99 | 31,8±9 | 9252,7±705 |
| | | <i>P=0,031</i> | |
| Adenokanser | 846±117 | 27,5±5,9 | 8598,5±1473 |
| Epidermoid | 1526±200 | 20,4±4,9 | 10334±1848 |
| | | <i>P=0,013</i> | |
| MMP: Matriks metalloproteinaz; KHDAK: Küçük hücreli dışı akciğer kanseri; KHAK: Küçük hücreli akciğer kanseri; SH: Standart hata | | | |

4.2.1. Serum MMP-2, MMP-9 ve TIMP-1'in Klinikopatolojik Faktörler İle İlişkisi

Tedavi öncesi serum MMP-2, MMP-9 ve TIMP-1 düzeylerinin klinikopatolojik parametreler ile ilişkisi analiz edildi. Serum MMP-9 ile VKİ ve albümin düzeyleri arasında negatif (sırasıyla; $r = -0.394$, $p = 0,017$; $r = -0.317$, $p = 0,05$) bir korelasyon mevcuttu. Serum MMP-2 ve TIMP-1 ile klinikopatolojik parametreler arasında anlamlı bir korelasyon gösterilemez iken, benzer şekilde serum MMP-9 ile MMP-2 arasında korelasyon anlamlı değildi ($r = 0,019$, $p = 0,88$). Benzer şekilde serum TIMP-1 ile MMP-2 ve MMP-9 arasında da anlamlı bir korelasyon bulunmadı (sırasıyla; $r = -0,091$, $p = 0,52$; $r = -0,044$, $p = 0,75$). Tedavi öncesi serum MMP-2, MMP-9 ve TIMP-1 düzeylerinin klinikopatolojik parametreler ile ilişkisi Tablo 15'de gösterilmiştir.

Tablo 15. Serum MMP-2, MMP-9 ve TIMP-1 düzeylerinin klinikopatolojik parametreler ile ilişkisi

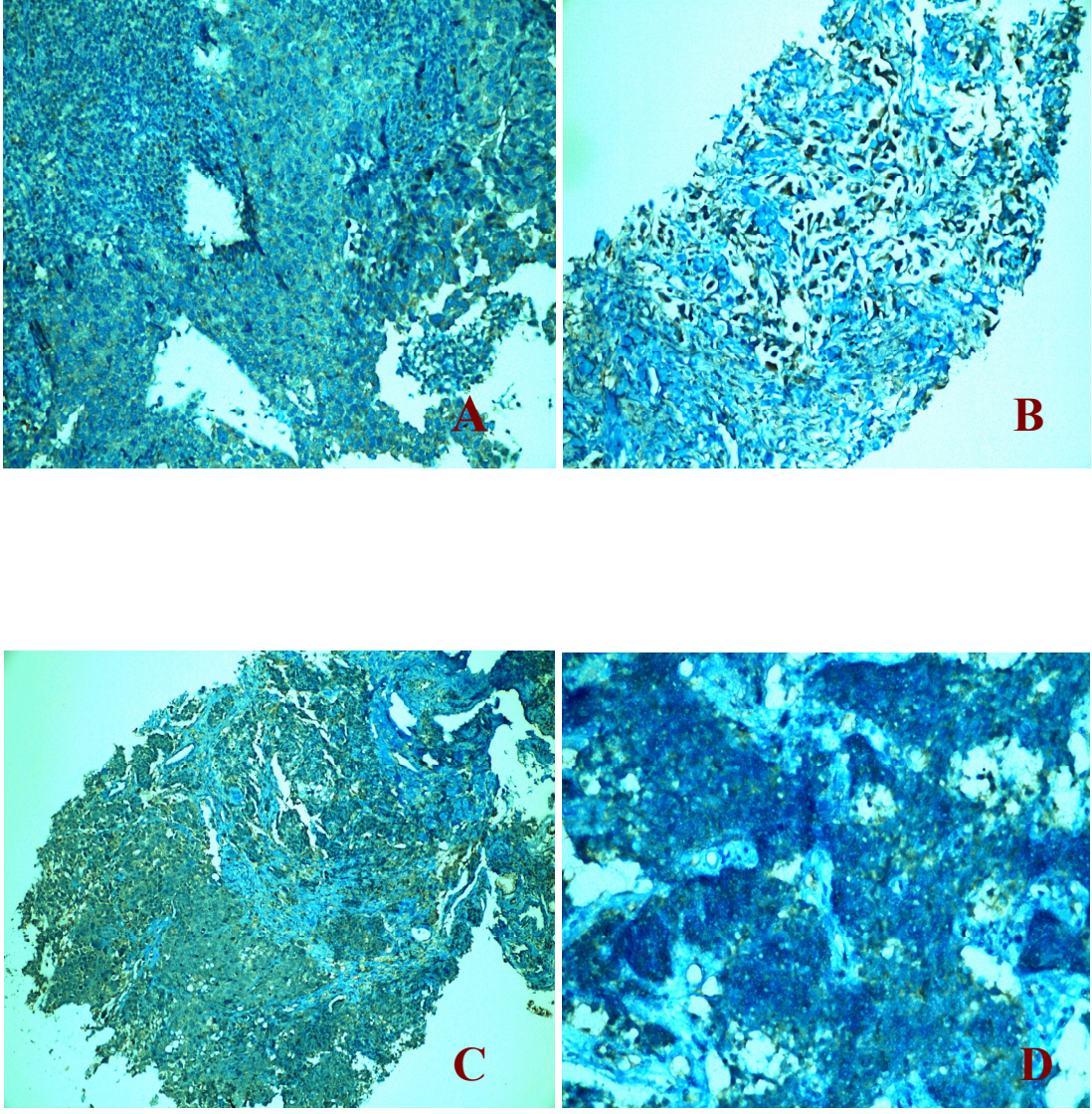
| Değişkenler | N | MMP-2 | P | MMP-9 | P | TIMP-1 | P |
|--------------------------------|----------|---------|----------|---------|------------|---------|--------------|
| | | (ng/ml) | | (pg/ml) | | (pg/ml) | |
| Ortalama±SH | | | | | | | |
| Yaş (yıl) | <60 | 15 | 38,3±17 | AD | 1208,5±135 | AD | 9133±710 |
| | >60 | 21 | 23,4±3,3 | | 1617±240 | | 8871±819 |
| ECOG | 0-2 | 29 | 33,7±9 | AD | 1398±135 | AD | 8494±487 |
| | 3-4 | 7 | 12,7±3 | | 1649,6±586 | | 10991±1955 |
| TNM (IIIB/IV) | IIIB | 4 | 27±8 | AD | 1510±367 | AD | 8322±1308 |
| | IV | 32 | 30±8 | | 1439±168 | | 9062±607 |
| VKİ (kg/m ²) | < 22 | 9 | 18,7±4,3 | AD | 1839,8±438 | 0.017 | 8314±503 |
| | ≥ 22 | 27 | 33,3±9,6 | | 1316±141 | | 9202±720 |
| Kilo kaybı | Yok | 17 | 40±15 | AD | 1358,5±197 | AD | 8506,6±613,6 |
| | Var | 19 | 20,4±3 | | 1526,6±235 | | 9403±902 |
| Albümin (gr/dl) | < 3,5 | 9 | 54±28 | AD | 1899±319 | 0.05 | 9043±1020 |
| | ≥ 3,5 | 27 | 22±2 | | 1297±168 | | 8959±668 |
| Hemoglobin (gr/dl) | < 12 | 6 | 18,5±3 | AD | 1297±285 | AD | 8123±783 |
| | ≥ 12 | 30 | 32±9 | | 1477±176 | | 9151±647 |
| Lökosit (mm ³) | < 12 000 | 27 | 24±3 | AD | 1471±196 | AD | 8792±630 |
| | ≥ 12 000 | 9 | 47±28 | | 1376±191 | | 9545±1212 |
| Lenfosit (mm ³) | < 1500 | 17 | 35±15 | AD | 1568±262 | AD | 9308±1015 |
| | ≥ 1500 | 19 | 25±3,4 | | 1339±176 | | 8687±553 |
| LDH (U/L) | < 200 | 12 | 20,5±3,4 | AD | 1547±199 | AD | 10180±1349 |
| | ≥ 200 | 24 | 34,2±11 | | 1397±210 | | 8380±470 |
| ALP (U/L) | < 120 | 26 | 20,2±2 | AD | 1367±174 | AD | 8676±453 |
| | ≥ 120 | 10 | 54±25 | | 1656±322 | | 9771±1653 |

MMP: Matriks metalloproteinaz; VKİ: Vücut kitle indeksi; LDH: Laktik dehidrogenaz; ALP: Alkalen fosfat; ECOG: *Eastern Cooperative Oncology Group*; TNM: Tümör-Nod-Metastaz
SH: Standart hata; AD: Anlamlı değil.

4.3. Tümör Dokularında MMP-2, MMP-9 ve TIMP-1 Ekspresyonlarının İmmünohistokimyasal İncelemesi

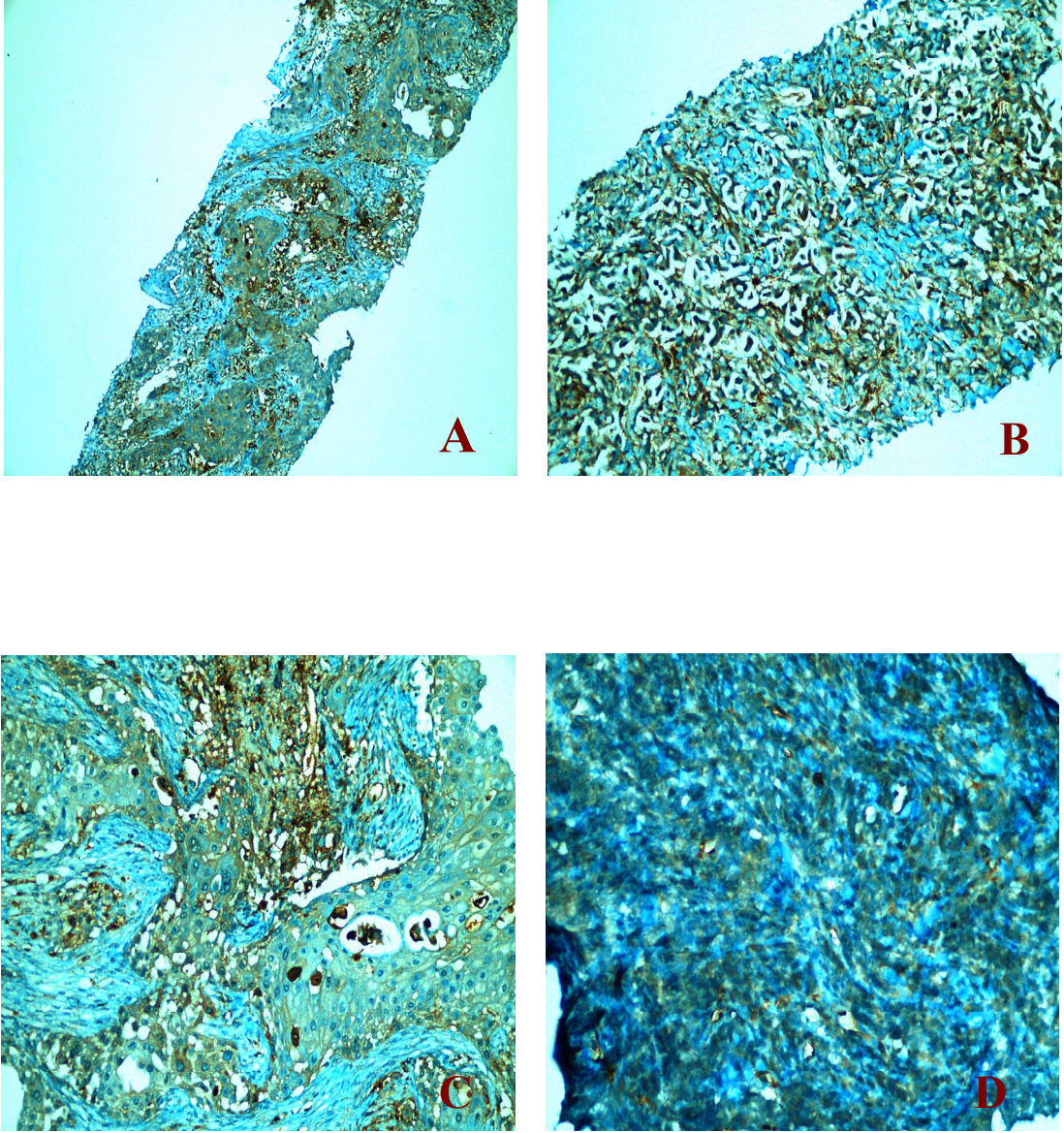
MMP-2, MMP-9 ve TIMP-1 ile boyanmanın şiddeti ve yaygınlığı Tablo 16'da verilmiştir. 36 olguda tümör hücreleri TBS'na göre değerlendirildiğinde 22 (% 69)'si MMP-2 ile 35 (%97)'i MMP-9 ile ve 21 (%58)'i TIMP-1 ile pozitif

boyanmıştı. Histopatolojik alt gruplara göre ise; KHDAK'li hastaların 18 (% 62)'i MMP-2, 27 (%97)'si MMP-9 ile ve 17 (% 61,7)'si ise TIMP-1 ile immün pozitif olarak boyanmıştır. KHAK'li olguların ise; 4 (%50)'ü MMP-2 ile tamamı MMP-9 ile ve 4 (%50)'ü TIMP-1 ile immün pozitif boyanmıştır (Şekil 4, 5, 6). MMP-9, MMP-2 ve TIMP-1 ile boyanmanın şiddetine ve yaygınlığına göre de her iki grup arasında istatistiksel olarak önemli bir fark yoktu (sırasıyla; $p= 0,465$, $p= 0,251$ ve $p= 0,35$). KHDAK'de adenokanser (N=5) subtipinde vakaların %60'ı MMP-2 ile ve hastaların tamamı MMP-9 ile %40'ı ise TIMP-1 ile pozitif boyanmıştı. Epidermoid tipte (N=9) ise hastaların %67'si MMP-2, %89'u MMP-9 ve %56'sı TIMP-1 ile immün pozitif boyanmıştır. KHDAK'li olgularda adenokarsinom ve epidermoid karsinom alt gruplarının sayısal olarak yetersizliği istatistiksel yorumun güvenilirliğini azalttığından değerlendirmeye alınmamıştır.



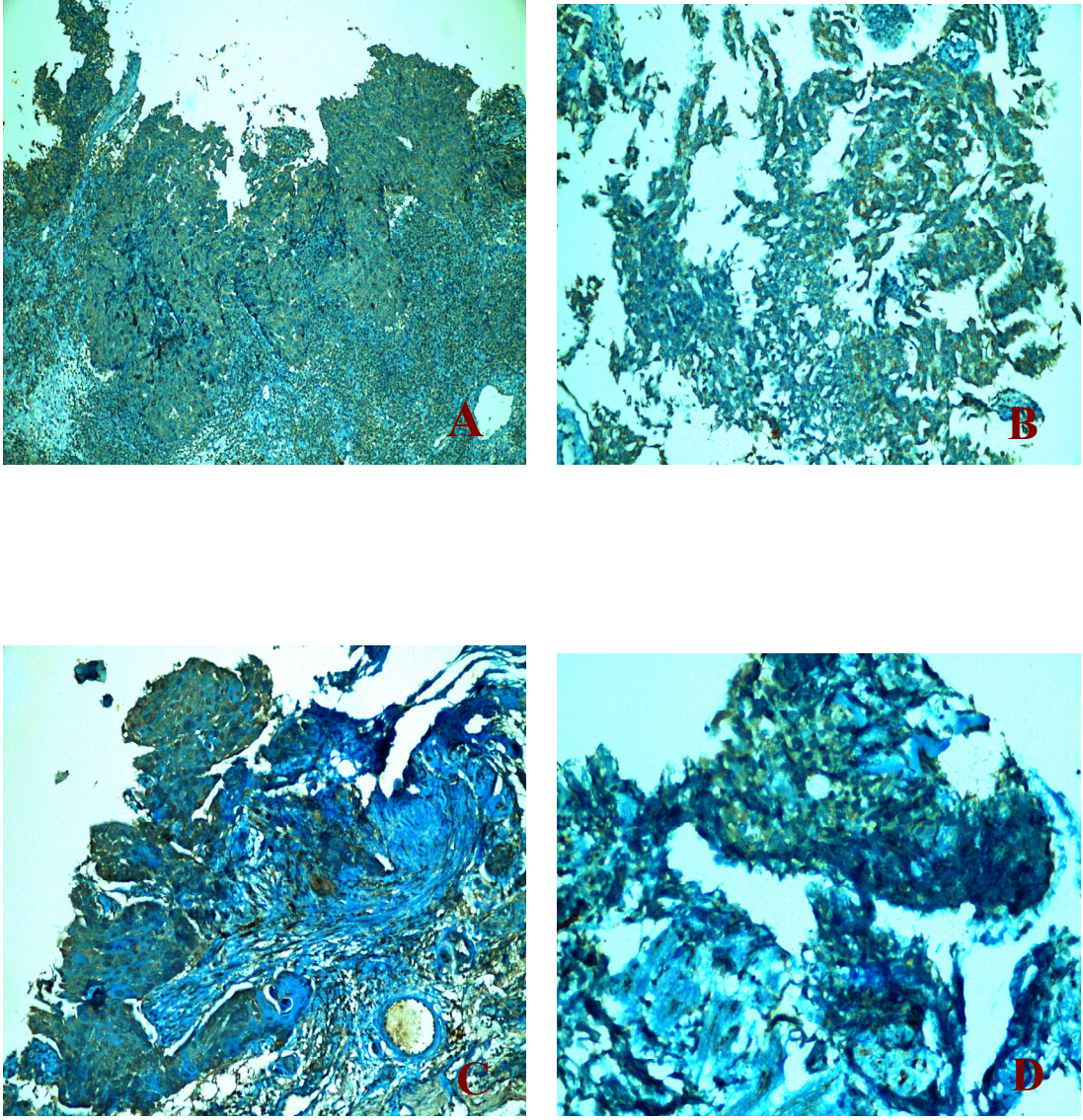
Şekil 4. Tümör hücrelerinde MMP-2 ile immunohistokimyasal boyanma

(A); Küçük hücreli dışı akciğer kanseri (DAB×200) (B); Adenokarsinom (DAB×100) (C); Epidermoid karsinom (DAB×100) (D); Küçük hücreli akciğer kanseri (DAB×400)



Şekil 5. Tümör hücrelerinde MMP-9 ile immunohistokimyasal boyanma

(A); Küçük hücreli dışı akciğer kanseri (DAB×100) (B); Adenokarsinom (DAB×200) (C); Epidermoid karsinom (DAB×200) (D); Küçük hücreli akciğer kanseri (DAB×400)



Şekil 6. Tümör hücrelerinde TIMP-1 ile immunohistokimyasal boyanma

(A); Küçük hücreli dışı akciğer kanseri (DAB×100) (B); Adenokarsinom(DAB×200)
(C); Epidermoid karsinom(DAB×200) (D);Küçük hücreli akciğerkanseri (DAB×200)

Tablo 16. Tümör dokularında MMP-2, MMP-9 ve TIMP-1 ile boyanma şiddeti ve yaygınlığı

| İmmünreaktivite | | MMP-2 | | MMP-9 | | TIMP-1 | |
|---|-----|----------|------------|----------|------------|----------|------------|
| | | Boyanma | | Boyanma | | Boyanma | |
| | | Şiddeti | Yaygınlığı | Şiddeti | Yaygınlığı | Şiddeti | Yaygınlığı |
| | | N (%) | | | | | |
| Tüm hastalar (N=36) | - | 14(38,9) | 14(38,9) | 1(2,8) | 1(2,8) | 15(41,7) | 15 (41,7) |
| | + | 12(33,3) | 7(19,4) | 13(36,1) | 8(22,2) | 13(36,1) | 9 (25) |
| | ++ | 6(16,7) | 6(16,7) | 16(44,4) | 6(16,7) | 6(16,7) | 4(11,1) |
| | +++ | 4(11,1) | 9(25) | 6(16,7) | 21(58,3) | 2(5,6) | 8(22,2) |
| KHDAK (N=28) | - | 10(37,5) | 10(37,5) | 1(3,6) | 1(3,6) | 11(39,3) | 11(39,3) |
| | + | 9(32,1) | 6(21,4) | 8(28,6) | 5(17,9) | 9(32,1) | 7(25) |
| | ++ | 5(17,9) | 3(10,7) | 13(46,4) | 5(17,9) | 6(21,4) | 2(7,1) |
| | +++ | 4(14,3) | 9(32,1) | 6(21,4) | 17(60,7) | 2(7,1) | 8(28,6) |
| KHAK (N=8) | - | 4(50) | 4(50) | 0(0) | 0(0) | 4(50) | 4(50) |
| | + | 3(37,5) | 1(12,5) | 5(62,5) | 3(37,5) | 4(50) | 2(25) |
| | ++ | 1(12,5) | 3(37,5) | 3(37,5) | 1(12,5) | 0(0) | 2(25) |
| | +++ | 0(0) | 0(0) | 0(0) | 4(50) | 0(0) | 0(0) |
| KHAK: Küçük hücreli akciğer kanseri; KHDAK: Küçük hücreli dışı akciğer kanseri; MMP: Matris metalloproteinaz; TIMP: Doku inhibitör matris metalloproteinaz. | | | | | | | |

4.3.1. Tümör Dokularında MMP-2, MMP-9 ve TIMP-1 Ekspresyonlarının Klinikopatolojik Faktörler İle İlişkisi

Tümör dokularında MMP-2, MMP-9 ve TIMP-1 ile immün pozitif ve immün negatif boyanan olgularda klinikopatolojik özellikler Tablo 17'de verilmiştir. İleri evre akciğer kanserli olguların biyopsi materyallerinde MMP-2 ve MMP-9 ile boyanmanın şiddeti ve yaygınlığına göre TBS dikkate alındığında MMP-2 ve MMP-9 ekspresyonu ile LDH arasında pozitif (sırasıyla; $r = 0,37$ $p = 0,02$, $r = 0,45$ $p = 0,005$), MMP-9 ekspresyonu ile yaş arasında pozitif ($r = 0,43$, $p = 0,009$) ve yine MMP-2 ekspresyonu ile serum albumin düzeyi arasında negatif bir korelasyon bulundu ($r = -0,38$ $p = 0,02$). MMP-2 ve MMP-9 ekspresyonu ile diğer klinikopatolojik faktörler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon bulunmadı. Benzer şekilde doku TIMP-1 ekspresyonu ile klinikopatolojik faktörler arasında anlamlı bir ilişki yoktu.

Tablo 17. Tümör dokularında MMP-2, MMP-9 ve TIMP-1 ile immün pozitif ve immün negatif boyanan olgularda klinikopatolojik özellikler

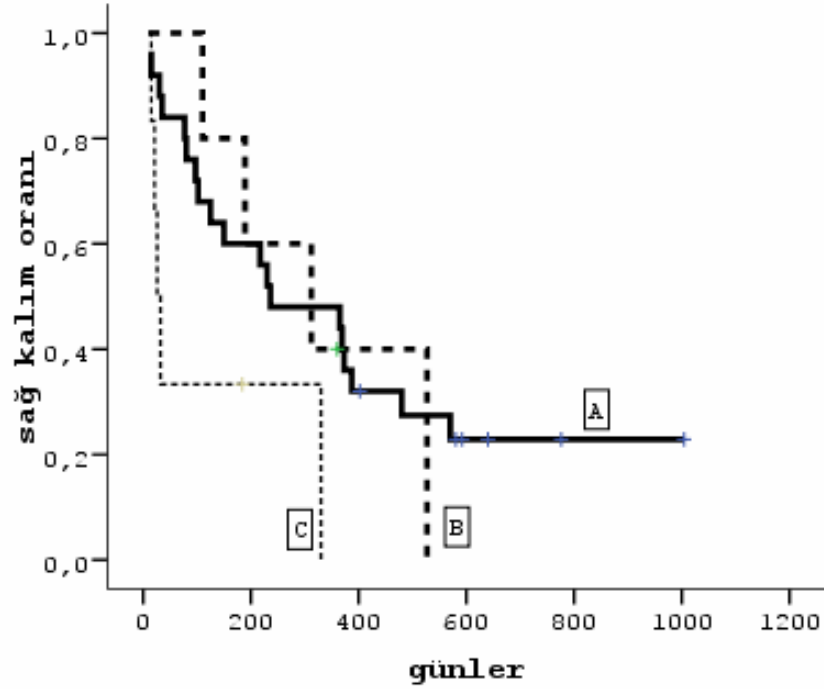
| Değişkenler | | MMP-2 | | MMP-9 | | TIMP-1 | |
|------------------------------------|----------|-------|-----|-------|-----|--------|-----|
| | | (-) | (+) | (-) | (+) | (-) | (+) |
| | | N | | N | | N | |
| Yaş (yıl) | <60 | 7 | 8 | 0 | 15 | 7 | 8 |
| | >60 | 7 | 14 | 1 | 20 | 8 | 13 |
| ECOG | 0-2 | 10 | 19 | 1 | 28 | 10 | 19 |
| | 3-4 | 4 | 3 | 0 | 7 | 5 | 2 |
| EVRE (IIIB/IV) | IIIB | 1 | 3 | 0 | 4 | 1 | 3 |
| | IV | 13 | 19 | 1 | 31 | 14 | 18 |
| VKİ (ağırlık/boy ²) | < 22 | 4 | 5 | 0 | 9 | 3 | 6 |
| | ≥ 22 | 10 | 17 | 1 | 26 | 12 | 15 |
| Kilo kaybı | Yok | 9 | 8 | 1 | 16 | 7 | 10 |
| | Var | 5 | 14 | 0 | 19 | 8 | 11 |
| Albümin (gr/dl) | < 3,5 | 0 | 9 | 0 | 9 | 3 | 6 |
| | ≥ 3,5 | 14 | 13 | 1 | 26 | 12 | 15 |
| Hemoglobin (gr/dl) | < 12 | 3 | 3 | 0 | 6 | 3 | 3 |
| | ≥ 12 | 11 | 19 | 1 | 29 | 12 | 18 |
| Lökosit (mm ³) | < 12 000 | 12 | 15 | 1 | 26 | 12 | 15 |
| | ≥ 12 000 | 2 | 7 | 0 | 9 | 3 | 6 |
| Lenfosit (mm ³) | < 1500 | 5 | 12 | 1 | 16 | 6 | 11 |
| | ≥ 1500 | 9 | 10 | 0 | 19 | 9 | 10 |
| LDH (U/L) | < 200 | 7 | 5 | 0 | 12 | 7 | 5 |
| | ≥ 200 | 7 | 17 | 1 | 23 | 8 | 16 |
| ALP (U/L) | < 120 | 12 | 14 | 1 | 25 | 10 | 16 |
| | ≥ 120 | 2 | 8 | 0 | 10 | 5 | 5 |

MMP: Matriks metalloproteinaz; TIMP: Doku inhibitör matriks metalloproteinaz;
VKİ: Vücut kitle indeksi; LDH: Laktik dehidrogenaz; ALP: Alkalin fosfataz;
ECOG: *Eastern Cooperative Oncology Group*

4.4. Sağ Kalım Analizi

36 hastada gerçekleştirilen klinik takip sonrası tüm seride ortalama sağ kalım 196,79±32,3 gündü. 2 yıllık takip sonrası hastaların yalnızca 8 (% 22)'i yaşamakta idi. Histopatolojik tiplere göre ise; KHDAK (N=28)'li hastalar için 393±74 gün, KHAK (N=8)'li hastalar için ise 223±50 gün, epidermoid tip KHDAK (N=9)'li hastalarda 438±76 gün ve adenokanser (N=5) tipinde ise 614±206 gün idi. Tedavinin sağ kalım üzerine etkisi incelendiğinde destek tedavisi alan hastalarda (N=6) tahmini sağ kalım ortalama 126±66 gün, yalnızca KT (N=25) alan hastalarda ise 393±73 gün

ve KT ile birlikte palyatif RT alan hastalarda ise 333 ± 88 gün idi. Destek tedavisi alan grup ile yalnızca KT alan grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardı ($p=0,05$) (Şekil 7).



Şekil 7. Tedavi modalitelerine göre sağ kalım eğrileri

(A: KT alan grup; B: KT ve palyatif RT alan grup; C: Destek tedavisi alan grup)

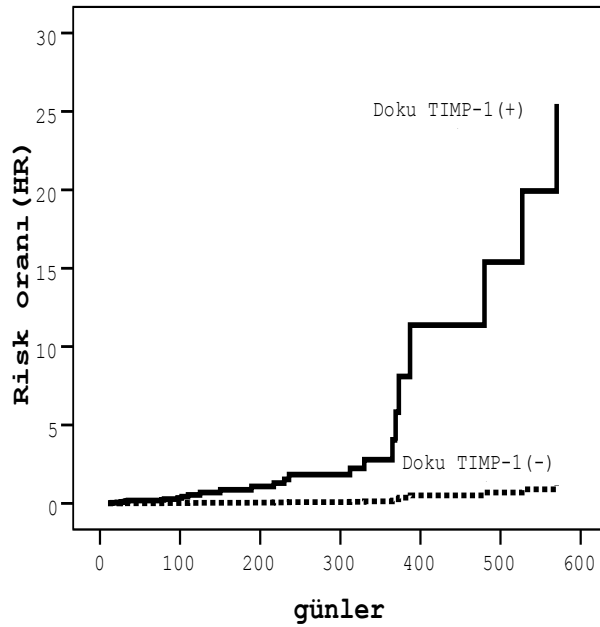
Yüksek serum MMP-9, -2 ve TIMP-1 düzeylerine sahip hastalarda ortalama sağ kalım süreleri sırasıyla 198 ± 61 , 569 ± 140 ve 196 ± 59 gün idi. MMP-2 ve TIMP-1 ile immün pozitif boyanan hastalarda ise ortalama sağ kalım sırasıyla 320 ± 63 ve 251 ± 48 gün idi. MMP-9 açısından tek olguda boyanma negatif olduğu için sağ kalım analizi yapılmadı.

Serum MMP-2, MMP-9, doku MMP-9, MMP-2 ve TIMP-1 ile birlikte prognoza etkili olabileceğini düşündüğümüz, kilo kaybı, VKİ, ECOG, evre (IIIB/IV), yaş, hemoglobin, lökosit, lenfosit, serum albumin, LDH ve ALP gibi klinikopatolojik özellikler ve seçilen tedavi modaliteleri Cox regresyon (*backward stepwise*) analizi ile değerlendirildiğinde serum MMP-2 düzeyi, doku MMP-9 ve TIMP-1 ile immün pozitif boyanma, % 10 ve üzerinde kilo kaybı, ileri yaş, artmış serum LDH düzeyi ve yalnızca destek tedavisi verilmesi sağ kalımı olumsuz olarak etkileyen bağımsız prognostik faktörler olarak saptandı (Tablo 18, Şekil 8, 9, 10).

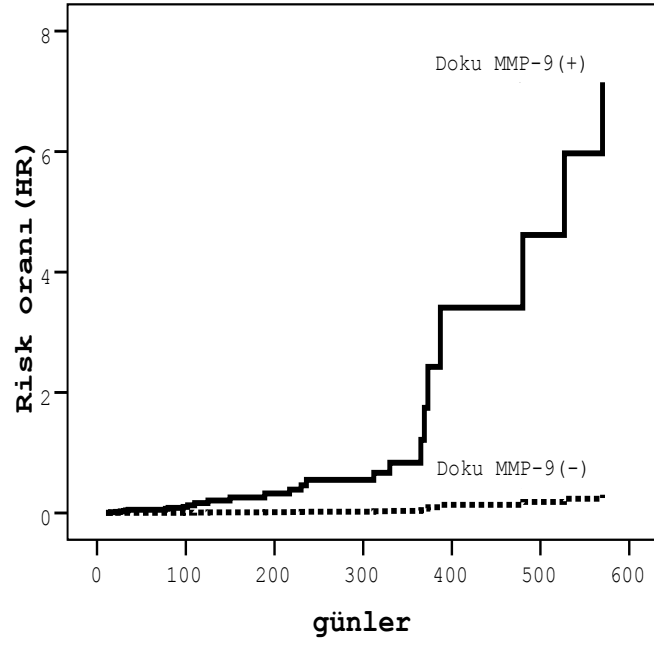
Tablo 18. Çok değişkenli analizde bağımsız prognostik faktörler

| | Risk oranı | P | %95 GA | |
|----------------------|-------------|-------|--------|-------|
| | | | Alt | Üst |
| Yaş (yıl), <60 / ≥60 | 1* 1.07 | 0.01 | 1.035 | 1.185 |
| Kilo kaybı (+/-) | 1* 3.487 | 0.04 | 1.209 | 58.21 |
| LDH <200 / ≥200 | 1* 1.007 | 0.003 | 1.005 | 1.018 |
| Tedavi (+/-) | 1* 0.027 | 0.022 | 0.001 | 0.345 |
| Serum MMP-2 | 1* 1.021 | 0.002 | 1,011 | 1.047 |
| MMP-9 (+/-) | 1* 25,31 | 0.026 | 0.016 | 0.758 |
| TIMP-1 (+/-) | 1* 22,35 | 0.000 | 9.03 | 12.92 |

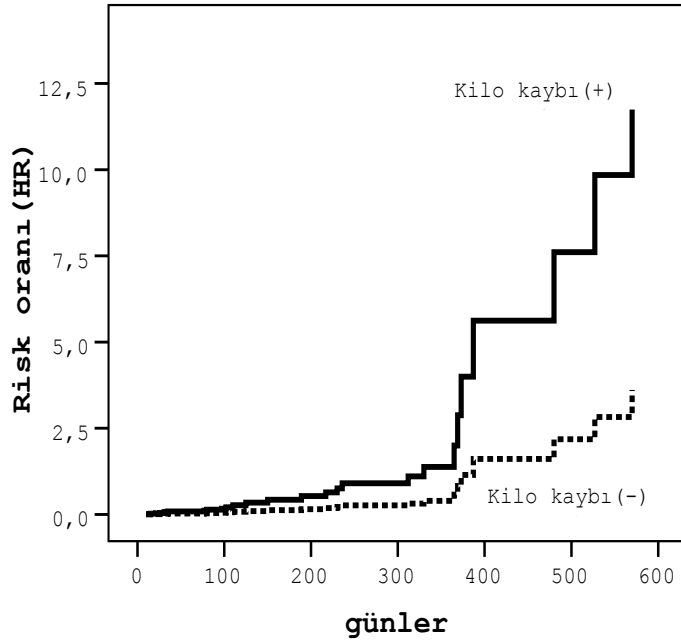
MMP: Matriks metalloproteinaz; TIMP: Doku inhibitör matrix metalloproteinaz; LDH: Laktik dehidrogenaz; GA: Güven aralığı; * referans



Şekil 8. Çok değişkenli analizde 36 hastada TIMP-1 ile immün pozitif ve negatif boyanma durumlarına göre risk oranı.



Şekil 9. Çok değişkenli analizde 36 hastada MMP-9 ile immün pozitif ve negatif boyanma durumlarına göre risk oranı.



Şekil 10. Çok değişkenli analizde 36 hastada kilo kaybı olup olmama durumuna göre risk oranı.

5. TARTIŞMA

Çalışmamız, ileri evre akciğer kanserli olgularda tedavi öncesi biyopsi materyallerinde MMP-2, MMP-9 ve TIMP-1 ekspresyonunun klinikopatolojik faktörlerle ilişkisini ve prognoza etkisini araştıran ilk çalışmadır. Çalışmanın sonucunda küçük biyopsi materyallerinde MMP-9 ve TIMP-1 ekspresyonunun ileri evre akciğer kanserli hastalarda sağ kalım için bağımsız prognostik faktörler olduğu gösterilmiştir. Ayrıca, olgularımızda doku MMP-9 ekspresyonunun artmış serum LDH ve ileri yaş ile doku MMP-2 ekspresyonunun ise artmış serum LDH ve azalmış serum albümin düzeyleri ile ilişkili olduğu da gösterilmiştir.

Literatürle uyumlu olarak çalışmamızda serum MMP-9 düzeyleri sağlıklı kontrol grubunda ölçülen serum MMP-9 düzeylerine göre anlamlı olarak artmıştı ($p=0,025$). Olguların histopatolojik tiplerinin subgrup analizinde ise özellikle epidermoid tip KHKDAK'li olgulardaki serum MMP-9 düzeyindeki artış istatistiksel olarak önemli idi ($p=0,013$). Serum MMP-9 düzeylerindeki artış, azalmış VKİ ve serum albümin düzeyleri ile ilişkiliydi, fakat sağ kalım için bağımsız bir prognostik faktör değildi. Olgularımızda ölçülen serum MMP-2 ve TIMP-1 düzeyleri ile sağlıklı kontrol grubunda ölçülen serum MMP-2 ve TIMP-1 düzeyleri arasında istatistiksel olarak önemli bir fark yoktu. Serum MMP-2 ve TIMP-1'in klinikopatolojik faktörler ile ilişkisi gösterilemedi. Bununla birlikte, serum MMP-2 sağ kalım için bağımsız prognostik faktördü.

Tümör hücrelerinin lokal invazyonu ve metastazları öncelikle bazal membran (BM) tabakasının yıkılmasını gerektirir. Bu amaçla kanser hücreleri proteolitik enzimler üretir. MMP'lar, BM'ı yıkabilen enzimlerdir (121) ve organizmada doku inhibitör matriks metalloproteinazlar (TIMP-1,-2,-3,-4) tarafından inhibe edilerek dengede tutulurlar (121). Son yıllarda yapılan çalışmalar ile çeşitli solid tümörlerde tümör hücrelerinin invitro olarak MMP-2, -9 ve TIMP-1 ürettiği ve bu enzimlerin tümör invazyonu, kötü prognoz ve diferansiasyonla ilişkili olduğu gösterilmiştir (5).

Literatürde, akciğer kanserli olgularda dolaşımdaki MMP-9 düzeylerini araştıran çalışmaların birçoğunda serum MMP-9 düzeylerinde anlamlı artış olduğu gösterilmiştir (122, 123). Çalışmamızda da mevcut çalışmalarla uyumlu olarak serum MMP-9 düzeylerindeki artış sağlıklı kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı idi.

Bununla birlikte Zucker ve arkadaşları akciğer kanseri, gastrointestinal kanserler, meme ve genitouriner kanserler ile lenfoma, lösemi ve diğer myeloproliferatif hastalıkları içeren toplam 179 kanser olgusunda serum MMP-9 düzeylerini araştırmış ve çalışmaya alınan 24 akciğer kanserli olguda serum MMP-9 düzeylerinin sağlıklı kontrol grubundan farklı olmadığını bildirmişlerdir. İlaveten aynı çalışmada serum MMP-9 düzeylerinin metastatik hastalık ve nonmetastatik hastalıkta farklı olmadığı da gösterilmiştir (124). Çalışmalar arasındaki bu tutarsızlık çalışmaların farklı klinik gruplarda ve farklı analiz yöntemleri ile gerçekleştirilmiş olması ile açıklanabilir. Bazı çalışmalarda benzer MMP-9 monoklonal antikolar ve *sandwich* ELISA metodu kullanılmış olmakla birlikte, bazı araştırmacılar *gelatin zymography* yöntemini kullanmıştır. Çalışmamızda serum MMP-9 konsantrasyonları *antihuman* MMP-9 monoklonal antikoların kullanıldığı ELISA yöntemi ile değerlendirilmiştir. Diğer taraftan çalışmaların hasta profilleri incelendiğinde Zucker ve ark.(124) tarafından gerçekleştirilen çalışmada 24 akciğer kanserli olgunun evresi ile ilgili bir açıklama bulunmaz iken, diğer çalışmalarda akciğer kanserli olgular içerisinde evre IV akciğer kanserli olguların sayıca azlığı dikkati çekmekte olup, olguların büyük bir bölümünü evre I, II ve IIIA hastalar oluşturmaktaydı. Çalışmamızda ise diğer çalışmalardan farklı olarak hasta grubunu evre IIIB ve IV KHDAK'li olgular ile yaygın evre KHAK'li olgular oluşturmaktaydı. Bu sonuçlara göre, ileri evre akciğer kanserli hastalarda serum MMP-9 düzeylerinin arttığı ve bununla tümör invazyonu ve/veya metastazı ile ilişkili olabileceği düşünüldü.

MMP'lar kanser subtiplerinde farklı fonksiyonlarda olabilir. MMP-11, -13 ve -14 ile TIMP-2, -3, MMP-1 ve MMP-9'a göre daha sık sekrete edilir. Bu enzimlerden bazılarının oynadığı rol KHAK ve KHDAK'de farklı olabilmektedir (115). MMP-2'nin stromal fibroblastlardan güçlü salınımı skuamöz hücreli karsinomda adenokarsinoma göre daha sıktır. Çalışmamızda histopatolojik alt gruplara göre serum MMP-2 ve MMP-9 düzeyleri karşılaştırıldığında, KHDAK'li olgular ile KHAK'li olgular arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmadı. Bununla birlikte KHAK'li olgular ile sağlıklı kontrol grubunda ölçülen serum MMP-9 seviyeleri arasındaki fark istatistiksel olarak önemli idi. Iizasa ve ark. tarafından gerçekleştirilen çalışmanın sonuçları ile uyumlu olarak, epidermoid kanser tanısı alan olgularımızda serum MMP-9 seviyelerindeki artış adenokanser tanısı alan

olgularımız ile karşılaştırıldığında anlamlı olarak daha yüksek bulunmuştur (125). Ylisirniö ve arkadaşları ise KHAK'li hastalarda diğer histolojik gruba göre serum MMP-9 seviyelerini anlamlı olarak daha düşük bulmuşlardır (126).

Literatürdeki mevcut çalışmalar, akciğer kanserli olgularda artan serum MMP-9 seviyelerinin hastalığın evresi, tümör diferansiasyonu ve performans durumu ile ilişkili olduğunu, fakat histoloji, histolojik grade, tümör hacmi, lenf nodu (N0,1, 2, 3) ve tümör rekürrensi ile ilişkisi olmadığını göstermiştir (123, 125, 127-129). Diğer taraftan Kopczyńska ve ark. ise serum MMP-9 ve MMP-2 düzeylerinin T ve N faktörü ile ilişkili olmadığını saptamışlardır (122). Iizasa ve ark. nın sonuçları ile benzer olarak çalışmamızda da serum MMP-9 düzeyinin hastalığın evresi (IIIB/IV) ile bir ilişkisi bulunmadı (125). Bununla birlikte literatürde gerçekleştirilmiş çalışmalardan farklı olarak çalışmamızda, ileri evre akciğer kanserli hastalarda histopatolojik parametrelere ilaveten, serum MMP-9 ve MMP-2 düzeylerinin yaş, VKİ, hemoglobin, lenfosit, serum albümin, ALP ve LDH düzeyleri ile ilişkisi de araştırılmıştır.

Akciğer kanserli hastaların ileri evrelerinde malnütrisyon %90 oranında görülmektedir. Bu durum tedaviye direnci ve toleransı artırmakta, yaşam kalitesini düşürmekte ve sağ kalımı olumsuz yönde etkilemektedir. Çalışmamızda serum MMP-9 düzeylerinin VKİ ($p= 0,017$) ve serum albümin ($p= 0,05$) düzeyleri ile ilişkisi gösterilmiştir. Benzer şekilde artan doku MMP-2 ekspresyonunun azalmış serum albümin ($p= 0,02$) düzeyleri ile de ilişkili olduğu gösterilmiştir. Bununla birlikte hastaların nütrisyonel durumunun tek başına VKİ ve/veya kilo kaybı ile değerlendirilmesi yeterli olmayabilir. Subjektif ve/veya objektif yöntemlerin kullanılmasının nütrisyonel durum değerlendirilmesinde daha sağlıklı olacağını düşünmekteyiz (130). Hormonal faktörlerin ve sitokinlerin akciğer kanserli hastaların nütrisyonel durumu üzerinde önemli rol oynayabileceği gösterilmiş olmakla birlikte (131), literatürde MMP'ların akciğer kanserli olguların nutrisyonel durumlarına etkisi ile ilgili bir bilgiye rastlamadık. Bu konuda yeni çalışmalara ihtiyaç bulunmaktadır.

KHDAK'de MMP-9 ile birlikte MMP-2'nin de evre II akciğer kanserli olgularda tümör invazyonuna ve metastazına katkıda bulunduğu ve güvenilir

prognostik faktör olduğu kabul edilir. MMP-2 salınımı invaziv akciğer adenokarsinom prognozu ile koreledir (114). Bununla birlikte Hrabec ve ark. ları tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada, 12 KHDAK'li (2 hasta evre II, 5 hasta evre IIIA ve 5 hasta evre IIIB) ve 7 KHAK'li (2 sınırlı evre, 5 yaygın evre) hastada ve kontrol grubunda ölçülen serum MMP-2 düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gösterilememiştir. Benzer şekilde, Kopczyriska ve ark. ları, KHDAK'li olgularda farklı T ve N faktörleri arasında serumda ölçülen MMP-2 düzeylerinin istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık göstermediğini bildirmişlerdir (122). Çalışmamızda da benzer olarak serumda ölçülen MMP-2 düzeylerinin klinikopatolojik faktörler ile ilişkisi gösterilemedi.

Literatürde bildirilen bazı raporlarda kanserli hastalarda MMP'ların serum seviyelerini yükselten hücresel kaynaklardan bahsedilmektedir. Akciğer kanserinde normal akciğer dokusu ile kanserli doku arasındaki en büyük farklılığın tip IV kollajenazların aşırı salınımı ve aktivasyonu olduğu, ilaveten nötrofil, eozinofil, lenfosit ve monositlerin MMP-9 sentezleyebildiği fakat bu hücrelerin MMP-2 sentezleme yeteneklerinin olmadığı, bu nedenle serumda artan tip IV kollajenazların MMP-2 ile ilgili olmadığı, yalnızca MMP-9 ile ilgili olduğu da ileri sürülmektedir (128).

Akciğer kanserli hastalarda serum TIMP-1 düzeyinin araştırıldığı az sayıda çalışmada TIMP-1'in kanserli hastalarda kontrol grubuna göre arttığı ve kötü prognostik faktör olduğu bildirilmiştir. Bununla birlikte literatürde akciğer kanserli hastalarda serum TIMP-1 düzeyinin çeşitli klinikopatolojik faktörlerle ilişkisinin araştırıldığı az sayıda çalışma vardır. Suemitsu ve ark. 54 KHDAK (yalnızca 2 olgu evre IV) hastada serum TIMP-1 seviyesini sağlıklı gruba göre ve epidermoid kanser tipinde adenokanser tipine göre anlamlı olarak yüksek saptamışlardır. İleri evre olgularda özellikle adenokanser grubunda erken evrelere göre TIMP-1 anlamlı olarak yüksek bulunmuş, artmış TIMP-1 düzeyinin hastalıksız yaşam süresi üzerine anlamlı etkisi olduğu saptanmıştır (104). Diğer bir çalışmada serum TIMP-1 düzeyi akciğer kanseri hastalarında kontrol grubuna göre daha yüksek bulunmuş olup artmış serum TIMP-1 düzeyleri kötü prognostik faktör olarak saptanmıştır (120). Jumper ve ark. 48 ileri evre KHAK ve KHDAK tanısı olan hastalardan tedavi öncesi alınan serum örneklerinde TIMP-1 düzeylerinin kontrol grubuna göre

anlamli olarak yuiksek olduğunu fakat KHAK ve KHDAK subtipleri arasında TIMP-1 duzeylerinin farkli olmadığını gostermislerdir (111). Ylisirmiö ve ark. 17 hasta ileri evre olmak uzere toplam 141 KHDAK ve KHAK hastalarından oluşan çalışma grubunda tedavi oncesi serum orneklerinde ELISA yontemiyle TIMP-1 değerlendirmislerdir. KHAK hastalarında diğer histolojik grublara gore serum TIMP-1 duzeyleri açısından fark gorulmemiştir. Ayrıca serum TIMP-1 duzeyleri, tumör evresi ile farklılık gostermemiştir. Serum TIMP-1 olumsuz kötü prognostik faktör olarak bulunmuş fakat histolojik subgrup analizinde sağ kalım açısından anlamlı fark sadece adenokanser grubunda gorulmuştur (126). Mevcut çalışmalardan farklı olarak çalışmamızda ileri evre akciğer kanserli hastalarda ve kontrol grubunda tedavi oncesi ölçülen serum TIMP-1 duzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık yoktu. Ayrıca, hasta grubumuzda ölçülen TIMP-1 duzeyinin klinikopatolojik parametrelerle ilişkisi gosterilemedi ve sağ kalım için prognostik bir faktör değildi. Bu durum çalışma grubumuzun ve histolojik subgruplarının sayıca az olması ve olgularımızın ileri evre akciğer kanserli hastalardan oluşması ile açıklanabilir. Diğer taraftan literatürde yapılan ilk deneysel çalışmalarda bu fikri destekler şekilde TIMP-1 ile metastatik potansiyel arasında ters ilişki saptanmıştır. Fakat daha sonra yapılan birçok çalışmada TIMP'ların multifonksiyonel oldukları ve tumör progresyonunda paradoks etkileri olduğu gorulmuştur (77). Bu nedenle TIMP-1'in tumör progresyonu üzerindeki etkileri için yeni çalışmalara ihtiyaç vardır.

Çalışmamız, ileri evre akciğer kanserli olgularda küçük biyopsi materyallerinde MMP-2, MMP-9 ve TIMP-1 ekspresyonunun, klinikopatolojik faktörlerle ilişkisini araştıran ilk çalışmadır. Literatür incelendiğinde Iizasa ve ark. taraftan operabl akciğer kanserli hastalarda (Evre I, II, IIIA ve IIIB) gerçekleştirilen bir çalışmada, adenokarsinom tipinde %28 ve KHDAK hastalarının %21'inde, zimografi yontemi kullanıldığında ise KHDAK'li olguların %36'sında MMP-9 ekspresyonu bildirilmiştir. MMP-2 ekspresyonu ise KHDAK'li olguların %45,8'inde gosterilmiştir (125). Operabl KHDAK'li olguları içeren bir diğer çalışmada ise olguların %78'inde MMP-9 ekspresyonu bildirilmiştir. Aynı çalışmada evre I/II olguların %60'ı, evre IIIA/B olguların ise %61'inde MMP-2 ekspresyonu gosterilmiş iken, TIMP-1 ile boyanma MMP-2 ve MMP-9'a oranla daha az sıklıkta

görülmüş ve vakaların hiçbirinde kuvvetli pozitiflik (+++) görülmemiştir (132). Çalışmamızda ise literatürdeki mevcut çalışmalardan farklı olarak KHDAK'li olgularımızın %97'sinde MMP-9, %61'inde MMP-2 ve %58'inde ise TIMP-1 ekspresyonu gösterilmiştir. Olguların yalnızca %22'sinde TIMP-1 ile kuvvetli pozitiflik saptanmıştır. MMP-9 ekspresyonu adenokanser tanılı olgularımızın tamamında, epidermoid akciğer kanserli olgularımızın ise %89'unda gösterilmiştir.

Literatürdeki mevcut çalışmalardan farklı olarak olgularımızda gösterilen MMP-9, MMP-2 ve TIMP-1 ekspresyonlarının diğer çalışmalardan daha yüksek olması hasta grubumuzun evre IIIB ve IV KHDAK ve yaygın evre KHAK'li hastalardan oluşması ile açıklanabilir. Bununla birlikte, Iizasa ve ark. larının sonuçları ile uyumlu olarak akciğer kanserli olgularımızın serumlarında ölçülen MMP-2 ve MMP-9 düzeyleri ile olguların biyopsi materyallerindeki MMP-9 ve MMP-2 ekspresyonları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki gösterilemedi (125). Leinonen ve ark. 212 operabl evre I-III KHDAK hastada yaptıkları bir çalışmada MMP-9 ekspresyonunun kötü tümör diferansiyasyonu ile ilişkili olduğunu (133), Jae Ho Byun ve ark. ise evre I-III KHDAK'li hastalarda MMP- 9, MMP-2 ekspresyonunun lenf nodu metastazı, tümör evresi, histolojik tip ile ilişkili olduğunu göstermişlerdir (134). Literatürü incelediğimizde erken evre KHDAK'li hastalarda MMP-2 ekspresyonunun patolojik parametrelerle ilişkisini gösteremeyen çalışmalarda dikkati çekmektedir (135). Çalışmamızda diğer çalışmalardan farklı olarak ilk kez ileri evre akciğer kanserli hastaların biyopsi materyallerindeki MMP-2, MMP-9 ve TIMP-1 ekspresyonlarının patolojik faktörlere ilaveten çeşitli klinik faktörler ile ilişkisi araştırılmıştır. MMP-2 ve MMP-9 ekspresyonu ile hastalığın evresi ve histolojik tipi ile bir korelasyon gösterilemedi. Doku MMP-9 ekspresyonu ile serum LDH ve yaş arasında pozitif, doku MMP-2 ekspresyonu ile serum albumin düzeyi ile negatif ve serum LDH düzeyi ile pozitif bir korelasyon gösterilmiştir.

Serum LDH düzeyi akciğer hastalıklarında artmakla birlikte, akciğer kanserinde önemli bir prognostik faktör olarak kullanılmaktadır. Birçok hastalıkta da, hücrel ölümün nonspesifik bir indikatörüdür ve hastalığın yaygınlığını gösterebilir. Ayrıca serum LDH düzeyi ile kilo kaybı, performans durumu ve albümin düzeyleri arasında korelasyon gösterilmiştir (136). Literatürde akciğer kanserli olgularda MMP'lar ile serum LDH arasındaki ilişkiyi açıklayabilecek bir çalışma mevcut

olmamakla birlikte, olgularımızda hastalığın yaygınlığı artan serum LDH düzeyini açıklayabilir.

Akciğer kanserli hastalarda dolaşımında MMP-2 ve MMP-9'un sağlıklı kişiler ile karşılaştırıldığında ekspresyonunun arttığı ve özellikle dolaşımında artan MMP-9'un kötü prognozla ilişkili olduğu çeşitli çalışmalar ile gösterilmiş (113, 125, 135, 137) ve bu çalışmaların çoğunluğu opere edilen erken evre akciğer kanserli olgularda gerçekleştirilmiştir. Bununla birlikte, ileri evre akciğer kanserli olgularda MMP-2, MMP-9 ve özellikle doku inhibitör metalloproteinaz-1'in prognostik önemini araştıran sınırlı sayıda çalışma oldukça küçük olgu gruplarını içermektedir. Laack ve ark. nın çalışmasında 118 KHDAK'li hastada tedavi öncesi ve sonrası MMP-9 ve VEGF düzeyleri belirlenmiş ve artan MMP-9 düzeylerine sahip hastalarda sağ kalımın daha kısa olduğu belirlenmiştir (137). Bu sonuçlara göre tedavi öncesi MMP-9 düzeylerinin KHDAK için yeni bir prognostik faktör olabileceği, evre I, II hastaların yüksek ve düşük risk gruplarına göre ayrılmasında kullanılabileceği görüşü ortaya çıkmaktadır. Buna karşılık, 212 KHDAK hastasında cerrahi sonrası MMP-9 ekspresyonuna bakılan bir diğer çalışmada hastaların %57'sinde (113 hasta) yaygın MMP-9 ekspresyonu gözlenmiş, bunun agresif hastalık göstergesi olduğu ancak prognostik değeri olmadığı ifade edilmiştir (133). Olguların tamamının ileri evre akciğer kanserli hastaların oluşturduğu çalışmamızda, tedavi öncesi serum MMP-9 düzeyi ileri evre hastalığın bir göstergesi olarak artmış olmakla birlikte, sağ kalım üzerinde prognostik bir önemi yoktu. Bununla birlikte literatürle uyumlu olarak çalışmamızda serum MMP-2 sağ kalım için güçlü bir bağımsız prognostik faktördü ve kanserin yaygınlığı ve/veya kötü diferansiasyonunun sonucu ile ilişkili olabileceği düşünüldü.

Aljada ve ark. ları evre I-III A KHDAK tanısı olan hastaların rezeksiyon materyallerinde TIMP-1 ekspresyonunu immunohistokimyasal olarak değerlendirdikleri çalışmalarında, TIMP-1 ekspresyonunun yaş, cinsiyet, sigara öyküsü, performans durumu, tümör histopatolojisi ve evresi gibi klinikopatolojik faktörlerle ilişkisini incelemişler ve sadece performans durumu ile TIMP-1 ekspresyonu arasında pozitif bir ilişki olduğunu göstermişlerdir. Yine bu çalışmada tümör evresi, yaş, performans durumuna ilaveten TIMP-1 ekspresyonu sağ kalımı etkileyen en önemli bağımsız prognostik faktörler olarak bulunmuştur. Çalışmamızda

doku TIMP-1 ekspresyonu ile klinikopatolojik faktörler arasında bir ilişki gösterilememiş olmakla birlikte mevcut çalışmalar ile uyumlu olarak sağ kalım için önemli bir prognostik faktördü.

Thomas ve ark. ları 5 hasta ileri evre olmak üzere 115 rezekte KHDAK tümör dokusunda immunohistokimyasal yöntemle MMP-1,-3,-7,-11,-13,-14 ve TIMP'ları değerlendirdikleri çalışmalarında, tüm MMP'ların ve TIMP'ların tümörden eksprese edildiğini ve MMP'ların adenokarsinomda, epidermoid karsinoma göre daha fazla eksprese edildiğini bulmuşlardır. Ayrıca aynı çalışmada, tümör dokusunda TIMP-1 ekspresyonu ileri evrelerde erken evrelere göre anlamlı yüksek bulunmuştur. Benzer olarak Gouyer ve ark. da rezekte KHDAK materyallerinde TIMP-1 mRNA ekspresyonunun bağımsız bir prognostik faktör olduğunu göstermişlerdir. Çalışmamız, ileri evre akciğer kanserli olgularda biyopsi materyallerinde eksprese edilen MMP-2, MMP-9 ve TIMP-1'in hastalığın prognozundaki önemini araştıran ilk çalışmadır. Çalışmamızda da, çok değişkenli analizde, doku MMP-9 ve TIMP-1 ekspresyonunun sağ kalım için bağımsız prognostik faktörler olduğu gösterilmiştir.

Akciğer kanserlerinde prognostik faktörler ile ilgili olarak yayınlanan görüş birliği raporlarında hastalığın evresinin ve performans durumunun sağ kalımı etkileyen en önemli prognostik faktörler olduğu gösterilmiş, cinsiyet, kilo kaybı, LDH, albümin, hemoglobin, trombosit ve lökosit sayımı ile sisplatin içeren tedavi modeli gibi diğer faktörlerinde hastalarda sağ kalımı etkileyebilecek önemli prognostik faktörler olabileceği vurgulanmıştır (3, 138). Stanley ve arkadaşlarının inoperabl KHDAK'li 5000 hasta üzerinde yaptıkları bir çalışmada hastalarda performans durumunun, hastalığın yaygınlığının ve kilo kaybının, Pater ve arkadaşları tarafından 651 hasta üzerinde yapılan bir diğer çalışmada ise semptom varlığı, performans durumu, kilo kaybı ve yaş gibi anatomik olmayan faktörlerin en önemli prognostik faktörler olduğu gösterilmiştir (139, 140). Bu çalışmaların çok değişkenli analizlerinde ise performans durumu ve kilo kaybının sağ kalımı etkileyen en önemli prognostik faktörler olduğu bildirilmiştir. Çalışmamızda diğer çalışmalar ile uyumlu olarak ileri yaş, kilo kaybı mevcudiyeti, artmış serum LDH düzeyi ve tedavi modalitesi, sağ kalımı olumsuz olarak etkileyen bağımsız prognostik faktörlerdi.

6. SONUÇ

Sonuç olarak, ileri evre akciğer kanserli hastalarda yaygın tümör invazyonu ve/veya metastazlarına bağlı olarak, serum MMP-2, doku MMP-9 ve TIMP-1 ekspresyonları hastaların takibinde kullanılabilir. Bununla birlikte MMP'lerin yaygın evre akciğer kanserli hastalardaki prognostik önemi daha fazla sayıda hasta içeren çalışmalar ile desteklenmesi gerekir. Serum MMP-9 düzeylerinin ve doku MMP-2 ekspresyonunun azalmış serum albümin düzeyleri ile gösterilmiş olan anlamlı ilişkisi MMP'lerin hastaların nütrisyonel durumu üzerinde önemli bir rol oynayabileceğini düşündürülebilir. Akciğer kanserlerinde önemli bir prognostik faktör olan ve serum albümin düzeyleri ile ilişkisi çeşitli çalışmalar ile gösterilmiş olan serum LDH'nin, çalışmamızda gerek doku MMP-9 ve gerekse de doku MMP-2 ekspresyonları ile gösterilmiş olan pozitif ilişkisi hastaların nütrisyonel durumu üzerinde rol oynayan mekanizmalardan biri olarak kabul edilebilir. Sonuçlarımız, akciğer kanserli hastalarda ortaya çıkan malnütrisyonun araştırılması ile ilgili çalışmalar için, araştırmacılara yeni bir yaklaşım sağlayabilir.

7. ÖZET

İLERİ EVRE AKCİĞER KANSERİNDE TEDAVİ ÖNCESİ DOKU VE SERUM MMP-2, MMP-9 VE TIMP-1 DÜZEYLERİNİN KLİNİKOPATOLOJİK FAKTÖRLER İLE İLİŞKİSİ VE PROGNOSTİK ÖNEMİ

MMP-2 ve MMP-9, matriks metalloproteinaz ailesinden olup, tümör gelişimi, invazyonu ve metastazında önemli rol oynarlar. Doku inhibitör metalloproteinaz (TIMP)-1, matriks metalloproteinazların çinko bağlayan aktif bölgesine bağlanır ve tüm MMP'ları inhibe eder. Çalışmamızda ileri evre akciğer kanserli olgularda, tedavi öncesi serum MMP-2,-9, TIMP-1 düzeylerinin ve biyopsi örneklerinde MMP-2, -9 ve TIMP-1 ekspresyonlarının çeşitli klinikopatolojik faktörlerle ilişkisi ve sağ kalıma etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır.

İleri evre akciğer kanser (28 KHDAK ve 8 KHAK) tanısı almış 36 hastanın biopsi materyalleri ve serumları ile 16 sağlıklı kontrol grubunun serum örnekleri çalışmaya alındı. Dolaşımdaki antijenler ELISA yöntemi ve tümör dokularındaki protein ekspresyonları ise *streptavidin-biotin* immünohistokimyasal boyama yöntemi ile analiz edildi. Hastaların klinikopatolojik faktörleri değerlendirildi.

Akciğer kanserli hastaların serum MMP-9 düzeylerindeki artış sağlıklı kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı idi ($p=0,025$). Serum MMP-9 düzeyleri açısından epidermoid tip akciğer kanserleri ile adenokanserler arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık vardı ($p=0,013$). Serum MMP-9 düzeylerindeki artış, serum albümin ($r=-0,317$ $p=0,05$) ve VKİ ($r=-0,394$ $p=0,017$) ile korele idi. Akciğer kanserli olguların 22 (%69)'si MMP-2, 35 (%97) 'i MMP-9 ve 21(%58)'i TIMP-1 ile immün pozitif olarak boyandı. Doku MMP-2 ekspresyonu ile serum LDH ($r=0,37$, $p=0,02$) ve albümin düzeyleri ($r=-0,38$, $p=0,02$) arasında ve doku MMP-9 ekspresyonu ile serum LDH ($r=0,45$, $p=0,005$) ve yaş ($r=0,43$, $p=0,009$) arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki vardı. *Cox regression* analizinde, tedavi öncesi serum MMP-2, doku MMP-9 ve TIMP-1 ekspresyonu ileri evre akciğer kanserli hastalarda sağ kalımı etkileyen bağımsız prognostik faktörlerdi.

Tedavi öncesi serum MMP-2 düzeyi, doku MMP-9 ve TIMP-1 ekspresyonu ileri evre akciğer kanserli hastalarda sağ kalım için prognostik önemi olan faktörlerdir. Serum MMP-9 düzeyi ve doku MMP-2 ekspresyonu ileri evre akciğer kanserli hastalarda görülen malnütrisyondan patofizyolojisinde önemli bir rol oynayabilir.

Anahtar kelimeler: Matriks metalloproteinaz, doku inhibitör matriks metalloproteinaz, akciğer kanseri, sağ kalım.

8. SUMMARY

PRETREATMENT SERUM LEVELS OF MMP- 2, MMP-9, TIMP-1 AND TISSUE MMP-2, -9, AND TIMP-1 EXPRESSIONS IN PATIENTS WITH ADVANCED LUNG CANCER: RELATION TO CLINICOPATHOLOGIC FACTORS AND PROGNOSIS

Matrix metalloproteinase (MMPs) -2, -9 are the members of the MMP family, and it has been reported that they had important roles in tumorigenesis, invasion and metastasis. Tissue inhibitors of metalloproteinases (TIMP-1) bind to active zinc-binding site of the MMPs and therefore inhibit the activation of all MMPs. We performed a prospective study to investigate serum levels of MMP-9,-2, TIMP-1 and tissue expressions of MMP-2, -9 and TIMP-1; and their relations to clinicopathologic factors and prognosis in patients with advanced lung cancer.

Thirty-six newly diagnosed advanced lung cancer patients' (28 non-small cell lung cancer and 8 small-cell lung cancer) biopsy materials and serum samples were enrolled in this study also including 16 serum samples of healthy control subjects. Circulating antigens were measured by ELISA assay and the protein expression in the tumors was analyzed by streptavidin-biotin immunohistochemical staining using specific monoclonal antibodies. Clinicopathological factors of the patients were reviewed.

The serum concentration of MMP-9 in lung cancer patients was significantly elevated compared to that of healthy control subjects ($p= 0,025$). This elevation correlated with body mass index ($r= -0,394$, $p= 0,017$) and serum albumin ($r= -0,317$, $p=0,05$). There were statistically significant differences between the mean of MMP-9 concentration of the squamous cell carcinoma and that of the adenocarcinoma ($p= 0,013$). The positive MMP-2, -9 and TIMP-1 staining in tumour cells were observed in 22 (69%), 35 (97%) and 21 (58%) cases respectively. The MMP-2 expression was significantly correlated with serum LDH ($r= 0,37$, $p= 0,02$) and albumin levels ($r= -0,38$, $p= 0,02$), in addition to that, the MMP-9 expression was significantly correlated with serum LDH level ($r= 0,45$, $p= 0,005$) and age ($r= 0,43$, $p= 0,009$). Pretreatment serum level of MMP-2, and tissue expressions of MMP-9 and TIMP-1 were independent prognostic factors in patients with advanced lung cancer in a multivariate Cox regression analysis.

We concluded that pretreatment serum level of MMP-2, and tissue expressions of MMP-9 and TIMP-1 had prognostic values in advanced lung cancer. MMP-9 level of serum and tissue MMP-2 expression may play roles in the pathophysiology of malnutrition in advanced lung cancer patients.

Key words: Matrix metalloproteinase, tissue inhibitors of metalloproteinase, lung cancer, survival.

9. KAYNAKLAR

1. Parkin DM, Pisani P, Ferlay J. Global cancer statistics. *CA Cancer J Clin* 1999; 49(1):33-64, 1.
2. Fu XL, Zhu XZ, Shi DR, Xiu LZ, Wang LJ, Zhao S, et al. Study of prognostic predictors for non-small cell lung cancer. *Lung Cancer* 1999; 23(2):143-52.
3. Feld R, Abratt R, Graziano S, Jassem J, Lacquet L, Ninane V, et al. Pretreatment minimal staging and prognostic factors for non-small cell lung cancer. *Lung Cancer* 1997; 17 Suppl 1:S3-10.
4. Matrisian LM. Metalloproteinases and their inhibitors in matrix remodeling. *Trends Genet* 1990; 6(4):121-5.
5. Iniesta P, Moran A, De Juan C, Gomez A, Hernando F, Garcia-Aranda C, et al. Biological and clinical significance of MMP-2, MMP-9, TIMP-1 and TIMP-2 in non-small cell lung cancer. *Oncol Rep* 2007; 17(1):217-23.
6. 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(9):1166-96.
7. Jemal A, Thomas A, Murray T, Thun M. Cancer statistics, 2002. *CA Cancer J Clin* 2002; 52(1):23-47.
8. Kanser bildirimlerinin değerlendirilmesi 1993-1994. T.C. Sağlık Bakanlığı Kanser Daire Başkanlığı. Yayın no:582, Ankara 1997.
9. Turkish Thoracic Society, Lung and Pleural Malignancies Study Group. Pattern of lung cancer in Turkey 1994-1998. *Respiration* 2002;69:207-10.
10. Halilçolar H, Tatar D, Ertuğrul G, Çakan A, Gayafoglu M, Kömürcüoğlu B. Epidemiyoloji. In: Akkoçlu A, Öztürk C, eds., Akciğer kanserinde multidisipliner yaklaşım. Toraks Kitapları, Ankara: Bilimsel Tıp Yayınevi;1999:17-22.
11. İtil O. Akciğer kanserlerinin epidemiyolojisi ve etyolojisi. In: Haydaroglu A; ed. Akciğer kanserleri: Tanı ve tedavi. İzmir: Ege üniversitesi basımevi: 2000:15-34.
12. Radzikowska E, Roszkowski K, Glaz P. Lung cancer in patients under 50 years old. *Lung Cancer* 2001; 33(2-3):203-11.
13. 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.
14. Tatar D, Kılınç O, Yorgancıoğlu A ve ark. Akciğer tümörü ve akciğer tüberkülozu birlikteliği. *Solunum* 2000; 2: 56-60.
15. Nishikawa A, Furukawa F, Imazawa T, Ikezaki S, Ootoshi T, Fukushima S, et al. Cell proliferation in lung fibrosis-associated hyperplastic lesions. *Hum Exp Toxicol* 1995; 14(9):701-5.
16. Khalil N, O'Connor RN, Flanders KC, Unruh H. TGF-beta 1, but not TGF-beta 2 or TGF-beta 3, is differentially present in epithelial cells of advanced pulmonary fibrosis: an immunohistochemical study. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1996; 14(2):131-8.
17. Osann KE. Lung cancer in women: the importance of smoking, family history of cancer, and medical history of respiratory disease. *Cancer Res* 1991; 51(18):4893-7.
18. European Respiratory Monograph 2001;17:86-98.

19. Türk Toraks Derneği, Akciğer Kanseri Tanı ve Tedavi Rehberi, 2006;7.
20. Beadsmoore CJ, Sreaton NJ. Classification, staging and prognosis of lung cancer. *Eur J Radiol* 2003; 45(1):8-17.
21. Mountain CF. Revisions in the International System for Staging Lung Cancer. *Chest* 111:1710-17,1997.
22. Antkowiak JG, Regal AM, Takita H. Bronchogenic carcinoma in patients under age 40. *Ann Thorac Surg* 1989; 47(3):391-3.
23. Lee-Chiong TL, Jr., Matthay RA. Lung cancer in the elderly patient. *Clin Chest Med* 1993; 14(3):453-78.
24. Rossing TH, Rossing RG. Survival in lung cancer. An analysis of the effects of age, sex, resectability, and histopathologic type. *Am Rev Respir Dis* 1982; 126(5):771-7.
25. Çıkrıkçıoğlu S, Kıyık M, Altın S, Gürses A, Karadeniz AN, Aydın A. Prognostik faktörler ve tedavi öncesi değerlendirme. In: Akkoçlu A, Öztürk C, eds., Akciğer kanserinde multidisipliner yaklaşım. Toraks Kitapları, Ankara: Bilimsel Tıp Yayınevi; 1999: 80-96.
26. Johnson DH, Blanke CD. Small cell lung cancer: Diagnosis, treatment and natural history. In: Fishman AP, Elias JS, Fishman JA, Grippi MA, Kaiser LR, Senior RM. *Fishman's Pulmonary Diseases and Disorders*. Newyork, 1998: 1819-33.
27. Ferguson MK, Skosey C, Hoffman PC, Golomb HM. Sex-associated differences in presentation and survival in patients with lung cancer. *J Clin Oncol* 1990; 8(8):1402-7.
28. Fraire AE, Roggli VL, Vollmer RT, Greenberg SD, McGavran MH, Spjut HJ, et al. Lung cancer heterogeneity. Prognostic implications. *Cancer* 1987; 60(3):370-5.
29. Cangemi V, Volpino P, D'Andrea N, Chiarotti F, Tomassini R, Piat G. Results of surgical treatment of stage IIIA non-small cell lung cancer. *Eur J Cardiothorac Surg* 1995; 9(7):352-9.
30. Liu YY, Chen YM, Huang MH, Perng RP. Prognosis and recurrent patterns in bronchioloalveolar carcinoma. *Chest* 2000; 118(4):940-7.
31. Martini N, Melamed MR. Occult carcinomas of the lung. *Ann Thorac Surg* 1980; 30(3):215-23.
32. Herndon JE, 2nd, Fleishman S, Kornblith AB, Kosty M, Green MR, Holland J. Is quality of life predictive of the survival of patients with advanced nonsmall cell lung carcinoma? *Cancer* 1999; 85(2):333-40.
33. Horio Y, Takahashi T, Kuroishi T, Hibi K, Suyama M, Niimi T, et al. Prognostic significance of p53 mutations and 3p deletions in primary resected non-small cell lung cancer. *Cancer Res* 1993; 53(1):1-4.
34. Graziano SL. Non-small cell lung cancer: clinical value of new biological predictors. *Lung Cancer* 1997; 17 Suppl 1:S37-58.
35. Patz EF, Jr., Rossi S, Harpole DH, Jr., Herndon JE, Goodman PC. Correlation of tumor size and survival in patients with stage IA non-small cell lung cancer. *Chest* 2000; 117(6):1568-71.
36. Riquet M, Manac'h D, Saab M, Le Pimpec-Barthes F, Dujon A, Debesse B. Factors determining survival in resected N2 lung cancer. *Eur J Cardiothorac Surg* 1995; 9(6):300-4.

37. Mathur PN, Edell E, Sutedja T, Vergnon JM. Treatment of early stage non-small cell lung cancer. *Chest* 2003; 123(1 Suppl):176S-180S.
38. Ginsberg RJ, Port JL. Surgical therapy of stage I and II nonsmall cell lung cancer. In: Pass HI, Mitchell JB, Johnson DH et al; eds. *Lung cancer principles and practice*. Philadelphia: Lippicott Williams & Wilkins; 2000:682-93.
39. Johnson D, Arriagada R, Barthelemy N, Bonner J, Bonomi P, Enami B, et al. Post-operative adjuvant therapy for non-small-cell lung cancer. *Lung Cancer* 1997; 17 Suppl 1:S23-5.
40. Rowell NP, Williams CJ. Radical radiotherapy for stage I/II non-small cell lung cancer in patients not sufficiently fit for or declining surgery (medically inoperable): a systematic review. *Thorax* 2001; 56(8):628-38.
41. Rusch VW, Giroux DJ, Kraut MJ, Crowley J, Hazuka M, Johnson D, et al. Induction chemoradiation and surgical resection for non-small cell lung carcinomas of the superior sulcus: Initial results of Southwest Oncology Group Trial 9416 (Intergroup Trial 0160). *J Thorac Cardiovasc Surg* 2001; 121(3):472-83.
42. Depierre A, Milleron B, Moro-Sibilot D, Chevret S, Quoix E, Lebeau B, et al. Preoperative chemotherapy followed by surgery compared with primary surgery in resectable stage I (except T1N0), II, and IIIa non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol* 2002; 20(1):247-53.
43. Gandara DR, Leigh B, Vallieres E, Albain KS. Preoperative chemotherapy in stage III non-small cell lung cancer: long-term outcome. *Lung Cancer* 1999; 26(1):3-6.
44. Postoperative radiotherapy in non-small-cell lung cancer: systematic review and meta-analysis of individual patient data from nine randomised controlled trials. PORT Meta-analysis Trialists Group. *Lancet* 1998; 352(9124):257-63.
45. Non-small Cell Lung Cancer Collaborative Group. Chemotherapy in non-small cell lung cancer: a meta-analysis using updated data on individual patients from 52 randomised clinical trials. *BMJ* 1995; 311:899-909.
46. Sause W, Kolesar P, Taylor SI, Johnson D, Livingston R, Komaki R, et al. Final results of phase III trial in regionally advanced unresectable non-small cell lung cancer: Radiation Therapy Oncology Group, Eastern Cooperative Oncology Group, and Southwest Oncology Group. *Chest* 2000; 117(2):358-64.
47. Jeremic B, Shibamoto Y, Acimovic L, Milisavljevic S. Initial versus delayed accelerated hyperfractionated radiation therapy and concurrent chemotherapy in limited small-cell lung cancer: a randomized study. *J Clin Oncol* 1997; 15(3):893-900.
48. Osterlind K. Chemotherapy in small cell lung cancer. *Eur Respir J* 2001; 18(6):1026-43.
49. Elias A, Ibrahim J, Skarin AT, Wheeler C, McCauley M, Ayash L, et al. Dose-intensive therapy for limited-stage small-cell lung cancer: long-term outcome. *J Clin Oncol* 1999; 17(4):1175.
50. Galis ZS, Khatri JJ. Matrix metalloproteinases in vascular remodeling and atherogenesis: the good, the bad, and the ugly. *Circ Res* 2002; 90(3):251-62.
51. Libby P, Lee RT. Matrix matters. *Circulation* 2000; 102(16):1874-6.
52. Lodish H BA, Zipursky SL, Matsudaira P, Baltimore D, Darnell J. *Molecular Cell Biology*. 4th ed. New York: W.H. Freeman and Company; 1999. p.968-93.

53. Massova I, Kotra LP, Fridman R, Mobashery S. Matrix metalloproteinases: structures, evolution, and diversification. *FASEB J* 1998; 12(12):1075-95.
54. Garcia-Touchard A, Henry TD, Sangiorgi G, Spagnoli LG, Mauriello A, Conover C, et al. Extracellular proteases in atherosclerosis and restenosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2005; 25(6):1119-27.
55. Egeblad M, Werb Z. New functions for the matrix metalloproteinases in cancer progression. *Nat Rev Cancer* 2002; 2(3):161-74.
56. Nagase H, Woessner JF, Jr. Matrix metalloproteinases. *J Biol Chem* 1999; 274(31):21491-4.
57. Lambert E, Dasse E, Haye B, Petitfrere E. TIMPs as multifacial proteins. *Crit Rev Oncol Hematol* 2004; 49(3):187-98.
58. Vihinen P, Kahari VM. Matrix metalloproteinases in cancer: prognostic markers and therapeutic targets. *Int J Cancer* 2002; 99(2):157-66.
59. Kuzuya M, Iguchi A. Role of matrix metalloproteinases in vascular remodeling. *J Atheroscler Thromb* 2003; 10(5):275-82.
60. Sethi CS, Bailey TA, Luthert PJ, Chong NH. Matrix metalloproteinase biology applied to vitreoretinal disorders. *Br J Ophthalmol* 2000; 84(6):654-66.
61. Murphy G, Nagase H. Progress in matrix metalloproteinase research. *Mol Aspects Med* 2008; 29(5):290-308.
62. Murphy G, Willenbrock F, Crabbe T, O'Shea M, Ward R, Atkinson S, et al. Regulation of matrix metalloproteinase activity. *Ann N Y Acad Sci* 1994; 732:31-41.
63. Sternlicht MD, Werb Z. How matrix metalloproteinases regulate cell behavior. *Annu Rev Cell Dev Biol* 2001; 17:463-516.
64. Nagase H. Activation mechanisms of matrix metalloproteinases. *Biol Chem* 1997; 378(3-4):151-60.
65. Visse R, Nagase H. Matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases: structure, function, and biochemistry. *Circ Res* 2003; 92(8):827-39.
66. Dollery CM, McEwan JR, Henney AM. Matrix metalloproteinases and cardiovascular disease. *Circ Res* 1995; 77(5):863-8.
67. Woessner JF, Jr. Matrix metalloproteinases and their inhibitors in connective tissue remodeling. *FASEB J* 1991; 5(8):2145-54.
68. Opdenakker G, Van den Steen PE, Dubois B, Nelissen I, Van Coillie E, Masure S, et al. Gelatinase B functions as regulator and effector in leukocyte biology. *J Leukoc Biol* 2001; 69(6):851-9.
69. Chakrabarti S, Patel KD. Matrix metalloproteinase-2 (MMP-2) and MMP-9 in pulmonary pathology. *Exp Lung Res* 2005; 31(6):599-621.
70. Mohan MJ, Seaton T, Mitchell J, Howe A, Blackburn K, Burkhart W, et al. The tumor necrosis factor-alpha converting enzyme (TACE): a unique metalloproteinase with highly defined substrate selectivity. *Biochemistry* 2002; 41(30):9462-9.
71. Yu Q, Stamenkovic I. Cell surface-localized matrix metalloproteinase-9 proteolytically activates TGF-beta and promotes tumor invasion and angiogenesis. *Genes Dev* 2000; 14(2):163-76.

72. Schonbeck U, Mach F, Libby P. Generation of biologically active IL-1 beta by matrix metalloproteinases: a novel caspase-1-independent pathway of IL-1 beta processing. *J Immunol* 1998; 161(7):3340-6.
73. Xu J, Benyon RC, Leir SH, Zhang S, Holgate ST, Lackie PM. Matrix metalloproteinase-2 from bronchial epithelial cells induces the proliferation of subepithelial fibroblasts. *Clin Exp Allergy* 2002; 32(6):881-8.
74. Johnson S, Knox A. Autocrine production of matrix metalloproteinase-2 is required for human airway smooth muscle proliferation. *Am J Physiol* 1999; 277(6 Pt 1):L1109-17.
75. Nagase H, Fields GB. Human matrix metalloproteinase specificity studies using collagen sequence-based synthetic peptides. *Biopolymers* 1996; 40(4):399-416.
76. Murphy G, McAlpine CG, Poll CT, Reynolds JJ. Purification and characterization of a bone metalloproteinase that degrades gelatin and types IV and V collagen. *Biochim Biophys Acta* 1985; 831(1):49-58.
77. Curran S, Murray GI. Matrix metalloproteinases in tumour invasion and metastasis. *J Pathol* 1999; 189(3):300-8.
78. Gomez DE, Alonso DF, Yoshiji H, Thorgeirsson UP. Tissue inhibitors of metalloproteinases: structure, regulation and biological functions. *Eur J Cell Biol* 1997; 74(2):111-22.
79. Sundov Z, Tomic S, Vilovic K, Kunac N, Kalebic M, Bezic J. Immunohistochemically detected high expression of matrix metalloproteinase-2 as predictor of poor prognosis in Duke's B colon cancer. *Croat Med J* 2008; 49(5):636-42.
80. Evans JD, Ghaneh P, Kawesha A, Neoptolemos JP. Role of matrix metalloproteinases and their inhibitors in pancreatic cancer. *Digestion* 1997; 58(6):520-8.
81. Talvensaaari-Mattila A, Paakko P, Hoyhtya M, Blanco-Sequeiros G, Turpeenniemi-Hujanen T. Matrix metalloproteinase-2 immunoreactive protein: a marker of aggressiveness in breast carcinoma. *Cancer* 1998; 83(6):1153-62.
82. Perigny M, Bairati I, Harvey I, Beauchemin M, Harel F, Plante M, et al. Role of immunohistochemical overexpression of matrix metalloproteinases MMP-2 and MMP-11 in the prognosis of death by ovarian cancer. *Am J Clin Pathol* 2008; 129(2):226-31.
83. Trudel D, Fradet Y, Meyer F, Harel F, Tetu B. Membrane-type-1 matrix metalloproteinase, matrix metalloproteinase 2, and tissue inhibitor of matrix proteinase 2 in prostate cancer: identification of patients with poor prognosis by immunohistochemistry. *Hum Pathol* 2008; 39(5):731-9.
84. Leinonen T, Pirinen R, Bohm J, Johansson R, Kosma VM. Increased expression of matrix metalloproteinase-2 (MMP-2) predicts tumour recurrence and unfavourable outcome in non-small cell lung cancer. *Histol Histopathol* 2008; 23(6):693-700.
85. Atkinson JJ, Senior RM. Matrix metalloproteinase-9 in lung remodeling. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2003; 28(1):12-24.
86. Baram D, Vaday GG, Salamon P, Drucker I, Hershkovich R, Mekori YA. Human mast cells release metalloproteinase-9 on contact with activated T cells: juxtacrine regulation by TNF-alpha. *J Immunol* 2001; 167(7):4008-16.
87. Hrabec E, Streck M, Nowak D, Greger J, Suwalski M, Hrabec Z. Activity of type IV collagenases (MMP-2 and MMP-9) in primary pulmonary carcinomas: a quantitative analysis. *J Cancer Res Clin Oncol* 2002; 128(4):197-204.

88. Ennis BW, Matrisian LM. Matrix degrading metalloproteinases. *J Neurooncol* 1994; 18(2):105-9.
89. Hewitt R, Dano K. Stromal cell expression of components of matrix-degrading protease systems in human cancer. *Enzyme Protein* 1996; 49(1-3):163-73.
90. Johansson N, Ahonen M, Kahari VM. Matrix metalloproteinases in tumor invasion. *Cell Mol Life Sci* 2000; 57(1):5-15.
91. Birkedal-Hansen H, Moore WG, Bodden MK, Windsor LJ, Birkedal-Hansen B, DeCarlo A, et al. Matrix metalloproteinases: a review. *Crit Rev Oral Biol Med* 1993; 4(2):197-250.
92. Vu TH, Werb Z. Matrix metalloproteinases: effectors of development and normal physiology. *Genes Dev* 2000; 14(17):2123-33.
93. Lijnen HR. Matrix metalloproteinases and cellular fibrinolytic activity. *Biochemistry (Mosc)* 2002; 67(1):92-8.
94. Overall CM, Lopez-Otin C. Strategies for MMP inhibition in cancer: innovations for the post-trial era. *Nat Rev Cancer* 2002; 2(9):657-72.
95. Murphy G. The regulation of connective tissue metalloproteinases by natural inhibitors. *Agents Actions Suppl* 1991; 35:69-76.
96. Jacob MP, Badier-Commander C, Fontaine V, Benazzoug Y, Feldman L, Michel JB. Extracellular matrix remodeling in the vascular wall. *Pathol Biol (Paris)* 2001; 49(4):326-32.
97. Loftus IM, Thompson MM. The role of matrix metalloproteinases in vascular disease. *Vasc Med* 2002; 7(2):117-33.
98. Peterson JT. Matrix metalloproteinase inhibitor development and the remodeling of drug discovery. *Heart Fail Rev* 2004; 9(1):63-79.
99. Tanaka H, Miyazaki N, Oashi K, Tanaka S, Ohmichi M, Abe S. Sputum matrix metalloproteinase-9: tissue inhibitor of metalloproteinase-1 ratio in acute asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2000; 105(5):900-5.
100. Cataldo D, Munaut C, Noel A, Frankenne F, Bartsch P, Foidart JM, et al. Matrix metalloproteinases and TIMP-1 production by peripheral blood granulocytes from COPD patients and asthmatics. *Allergy* 2001; 56(2):145-51.
101. Elshaw SR, Henderson N, Knox AJ, Watson SA, Buttle DJ, Johnson SR. Matrix metalloproteinase expression and activity in human airway smooth muscle cells. *Br J Pharmacol* 2004; 142(8):1318-24.
102. Will H, Atkinson SJ, Butler GS, Smith B, Murphy G. The soluble catalytic domain of membrane type 1 matrix metalloproteinase cleaves the propeptide of progelatinase A and initiates autoproteolytic activation. Regulation by TIMP-2 and TIMP-3. *J Biol Chem* 1996; 271(29):17119-23.
103. Nelson AR, Fingleton B, Rothenberg ML, Matrisian LM. Matrix metalloproteinases: biologic activity and clinical implications. *J Clin Oncol* 2000; 18(5):1135-49.
104. Suemitsu R, Yoshino I, Tomiyasu M, Fukuyama S, Okamoto T, Maehara Y. Serum tissue inhibitors of metalloproteinase-1 and -2 in patients with non-small cell lung cancer. *Surg Today* 2004; 34(11):896-901.
105. Thorgeirsson UP, Lindsay CK, Cottam DW, Gomez DE. Tumor invasion, proteolysis, and angiogenesis. *J Neurooncol* 1994; 18(2):89-103.

106. Wang M, Liu YE, Greene J, Sheng S, Fuchs A, Rosen EM, et al. Inhibition of tumor growth and metastasis of human breast cancer cells transfected with tissue inhibitor of metalloproteinase 4. *Oncogene* 1997; 14(23):2767-74.
107. Folgueras AR, Pendas AM, Sanchez LM, Lopez-Otin C. Matrix metalloproteinases in cancer: from new functions to improved inhibition strategies. *Int J Dev Biol* 2004; 48(5-6):411-24.
108. Handsley MM, Edwards DR. Metalloproteinases and their inhibitors in tumor angiogenesis. *Int J Cancer* 2005; 115(6):849-60.
109. Soumni NE, Noel A. Membrane type-matrix metalloproteinases and tumor progression. *Biochimie* 2005; 87(3-4):329-42.
110. Gueders MM, Foidart JM, Noel A, Cataldo DD. Matrix metalloproteinases (MMPs) and tissue inhibitors of MMPs in the respiratory tract: potential implications in asthma and other lung diseases. *Eur J Pharmacol* 2006; 533(1-3):133-44.
111. Jumper C, Cobos E, Lox C. Determination of the serum matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) and tissue inhibitor of matrix metalloproteinase-1 (TIMP-1) in patients with either advanced small-cell lung cancer or non-small-cell lung cancer prior to treatment. *Respir Med* 2004; 98(2):173-7.
112. Reichenberger F, Eickelberg O, Wyser C, Perruchoud AP, Roth M, Tamm M. Distinct endobronchial expression of matrix-metalloproteinases (MMP) and their endogenous inhibitors in lung cancer. *Swiss Med Wkly* 2001; 131(19-20):273-9.
113. Kodate M, Kasai T, Hashimoto H, Yasumoto K, Iwata Y, Manabe H. Expression of matrix metalloproteinase (gelatinase) in T1 adenocarcinoma of the lung. *Pathol Int* 1997; 47(7):461-9.
114. Pritchard SC, Nicolson MC, Lloret C, McKay JA, Ross VG, Kerr KM, et al. Expression of matrix metalloproteinases 1, 2, 9 and their tissue inhibitors in stage II non-small cell lung cancer: implications for MMP inhibition therapy. *Oncol Rep* 2001; 8(2):421-4.
115. Michael M, Babic B, Khokha R, Tsao M, Ho J, Pintilie M, et al. Expression and prognostic significance of metalloproteinases and their tissue inhibitors in patients with small-cell lung cancer. *J Clin Oncol* 1999; 17(6):1802-8.
116. Shou Y, Hirano T, Gong Y, Kato Y, Yoshida K, Ohira T, et al. Influence of angiogenic factors and matrix metalloproteinases upon tumour progression in non-small-cell lung cancer. *Br J Cancer* 2001; 85(11):1706-12.
117. Ishikawa S, Takenaka K, Yanagihara K, Miyahara R, Kawano Y, Otake Y, et al. Matrix metalloproteinase-2 status in stromal fibroblasts, not in tumor cells, is a significant prognostic factor in non-small-cell lung cancer. *Clin Cancer Res* 2004; 10(19):6579-85.
118. Itoh T, Tanioka M, Matsuda H, Nishimoto H, Yoshioka T, Suzuki R, et al. Experimental metastasis is suppressed in MMP-9-deficient mice. *Clin Exp Metastasis* 1999; 17(2):177-81.
119. Thomas P, Khokha R, Shepherd FA, Feld R, Tsao MS. Differential expression of matrix metalloproteinases and their inhibitors in non-small cell lung cancer. *J Pathol* 2000; 190(2):150-6.
120. Ylisirnio S, Hoyhtya M, Turpeenniemi-Hujanen T. Serum matrix metalloproteinases -2, -9 and tissue inhibitors of metalloproteinases -1, -2 in lung cancer--TIMP-1 as a prognostic marker. *Anticancer Res* 2000; 20(2B):1311-6.

121. Garbisa S, Scagliotti G, Masiero L, Di Francesco C, Caenazzo C, Onisto M, et al. Correlation of serum metalloproteinase levels with lung cancer metastasis and response to therapy. *Cancer Res* 1992; 52(16):4548-9.
122. Kopczynska E, Danczewicz M, Kowalewski J, Kardymowicz H, Tyrakowski T. [The serum concentration of metalloproteinase 9 and 2 in non-small cell lung cancer patients]. *Pol Merkur Lekarski* 2007; 22(132):539-41.
123. Guo CB, Wang S, Deng C, Zhang DL, Wang FL, Jin XQ. Relationship between matrix metalloproteinase 2 and lung cancer progression. *Mol Diagn Ther* 2007; 11(3):183-92.
124. Zucker S, Lysik RM, Zarrabi MH, Moll U. M(r) 92,000 type IV collagenase is increased in plasma of patients with colon cancer and breast cancer. *Cancer Res* 1993; 53(1):140-6.
125. Iizasa T, Fujisawa T, Suzuki M, Motohashi S, Yasufuku K, Yasukawa T, et al. Elevated levels of circulating plasma matrix metalloproteinase 9 in non-small cell lung cancer patients. *Clin Cancer Res* 1999; 5(1):149-53.
126. Ylisirnio S, Hoyhtya M, Makitaro R, Paaakko P, Risteli J, Kinnula VL, et al. Elevated serum levels of type I collagen degradation marker ICTP and tissue inhibitor of metalloproteinase (TIMP) 1 are associated with poor prognosis in lung cancer. *Clin Cancer Res* 2001; 7(6):1633-7.
127. Koc M, Ediger D, Budak F, Karadag M, Oral HB, Uzaslan E, et al. Matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) elevated in serum but not in bronchial lavage fluid in patients with lung cancer. *Tumori* 2006; 92(2):149-54.
128. Hrabec E, Strek M, Nowak D, Hrabec Z. Elevated level of circulating matrix metalloproteinase-9 in patients with lung cancer. *Respir Med* 2001; 95(1):1-4.
129. Bugdayci G, Kaplan T, Sezer S, Turhan T, Koca Y, Kocer B, et al. Matrix metalloproteinase-9 in broncho-alveolar lavage fluid of patients with non-small cell lung cancer. *Exp Oncol* 2006; 28(2):169-71.
130. Detsky AS, McLaughlin JR, Baker JP, Johnston N, Whittaker S, Mendelson RA, et al. What is subjective global assessment of nutritional status? *JPEN J Parenter Enteral Nutr* 1987; 11(1):8-13.
131. Songur N, Kuru B, Kalkan F, Ozdilekcan C, Cakmak H, Hizel N. Serum interleukin-6 levels correlate with malnutrition and survival in patients with advanced non-small cell lung cancer. *Tumori* 2004; 90(2):196-200.
132. Hoikkala S, Paakko P, Soini Y, Makitaro R, Kinnula V, Turpeenniemi-Hujanen T. Tissue MMP-2 and MMP-9 [corrected] are better prognostic factors than serum MMP-2/TIMP-2-complex or TIMP-1 [corrected] in stage [corrected] I-III lung carcinoma. *Cancer Lett* 2006; 236(1):125-32.
133. Leinonen T, Pirinen R, Bohm J, Johansson R, Ropponen K, Kosma VM. Expression of matrix metalloproteinases 7 and 9 in non-small cell lung cancer. Relation to clinicopathological factors, beta-catenin and prognosis. *Lung Cancer* 2006; 51(3):313-21.
134. Byun JH, Lee MA, Roh SY, Shim BY, Hong SH, Ko YH, et al. Association between cyclooxygenase-2 and matrix metalloproteinase-2 expression in non-small cell lung cancer. *Jpn J Clin Oncol* 2006; 36(5):263-8.
135. Passlick B, Siemel W, Seen-Hibler R, Wockel W, Thetter O, Mutschler W, et al. Overexpression of matrix metalloproteinase 2 predicts unfavorable outcome in early-stage non-small cell lung cancer. *Clin Cancer Res* 2000; 6(10):3944-8.

136. Tas F, Aydiner A, Demir C, Topuz E. Serum lactate dehydrogenase levels at presentation predict outcome of patients with limited-stage small-cell lung cancer. *Am J Clin Oncol* 2001; 24(4):376-8.
137. Laack E, Kohler A, Kugler C, Dierlamm T, Knuffmann C, Vohwinkel G, et al. Pretreatment serum levels of matrix metalloproteinase-9 and vascular endothelial growth factor in non-small-cell lung cancer. *Ann Oncol* 2002; 13(10):1550-7.
138. Feld R, Borges M, Giner V, Ginsberg R, Harper P, Klastersky J, et al. Prognostic factors in non-small cell lung cancer. *Lung Cancer* 1994; 11 Suppl 3:S19-23.
139. Stanley KE. Prognostic factors for survival in patients with inoperable lung cancer. *J Natl Cancer Inst* 1980; 65(1):25-32.
140. Pater JL, Loeb M. Nonanatomic prognostic factors in carcinoma of the lung: a multivariate analysis. *Cancer* 1982; 50(2):326-31.