

**T.C.
ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ**

**BENİGN VE MALİGN PLEVRAL MEZOTELYAL
PROLİFERASYONLARIN AYIRICI TANISINDA
OSTEOPONTİN VE P53'ÜN TANISAL DEĞERİ**

Dr. Buket ALTUNKARA HACIOĞLU

**Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı
TIPTA UZMANLIK TEZİ**

ESKİŞEHİR

2012

**T.C.
ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ**

**BENİGN VE MALİGN PLEVRAL MEZOTELYAL
PROLİFERASYONLARIN AYIRICI TANISINDA
OSTEOPONTİN VE P53'ÜN TANISAL DEĞERİ**

Dr. Buket ALTUNKARA HACIOĞLU

Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı

TIPTA UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANI

Prof. Dr. Emine KASAPOĞLU DÜNDAR

ESKİŞEHİR

2012

TEZ KABUL VE ONAY SAYFASI

T. C.

ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞINA;

Dr. Buket ALTUNKARA HACIOĞLU'na ait "Benign ve malign plevral mezotelyal proliferasyonların ayırıcı tanısında osteopontin ve p53'ün tanısal değeri" adlı çalışma jürimiz tarafından Tıbbi Patoloji Anabilim Dalında Tıpta Uzmanlık Tezi olarak oy birliği ile kabul edilmiştir.

Tarih:

Jüri Başkanı Prof. Dr. Emine KASAPOĞLU DÜNDAR

Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı

Üye Prof. Dr. Özgül PAŞAOĞLU

Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı

Üye Prof. Dr. Serap IŞIKSOY

Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Fakülte Kurulu'nun
.....Tarih ve Sayılı Kararıyla onaylanmıştır.

Prof. Dr. Bekir YAŞAR

Dekan

TEŞEKKÜR

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıbbi Patoloji Anabilim Dalında yapmış olduğum uzmanlık eğitimim suresince bilgi ve deneyimleri ile yol gosteren sayın hocalarım Prof. Dr. Özgöl PAŞAOĞLU, Prof. Dr. Serap IŞIKSOY, Prof. Dr. Sare KABUKÇUOĞLU, Prof. Dr. Mustafa Fuat AÇIKALIN, Yrd. Doç. Dr. Evrim ÇİFTÇİ, Öğretim Görevlisi Dr. Funda CANAZ ve tezimin hazırlanmasında büyük emeği olan Prof. Dr. Emine KASAPOĞLU DÜNDAR'a ayrıca istatistiksel değerlendirmeyi yapan Biyoistatistik Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Yrd. Doç. Dr. Ertuğrul ÇOLAK'a teşekkür ederim.

ÖZET

Altunkara Hacıoğlu, B. Benign ve malign plevral mezotelyal proliferasyonların ayırıcı tanısında osteopontin ve p53'ün tanısai değeri. Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakóltesi Patoloji Anabilim Dalı Tıpta Uzmanlık Tezi, Eskişehir, 2012. Malign mezotelyoma, başta plevra olmak üzere serozal yüzeylei döşeyen mezotel hücrelerinden köken alan oldukça agresif bir tümördür. Reaktif mezotelyal hiperplazi, hücresel artış ve hücrelerin reaktif sitolojik atipi içermesi nedeniyle malign mezotelyoma ile karışabilmektedir. Son yıllarda ayırıcı tanıda çeşitli immünohistokimyasal belirteçler kullanılmakla birlikte, bu iki lezyonu kesin olarak ayırabilen bir belirteç henüz tanımlanmamıştır. p53, 17. kromozomda yerleşen tümör supressör bir gendir. Osteopontin, kemik metabolizmasında rol oynayan fosforile bir glikoproteindir. Bu iki belirtecin bir çok tümör yanı sıra malign mezotelyoma ve akciğer kanserinde de eksprese edildiği gösterilmiştir. Çalışmamızda 20 reaktif mezotelyal hiperplazi ve 80 malign mezotelyoma olgusunda (%66.3 epitelyal, %18.7 mikst ve %15 sarkomatoid tip) immünohistokimyasal olarak p53 ve osteopontinin ekspresyonları araştırılmıştır. Reaktif mezotelyal hiperplazi olgularının %20'sinde p53, %90'ında osteopontin ekspresyonu gözlenirken; malign mezotelyoma olgularında bu oranlar sırasıyla %71 ve %80 idi. Her iki belirteçteki bu fark istatistiksel olarak ileri derecede anlamlıdır ($p < 0.001$). Malign mezotelyoma alt tipleri arasında p53 ve osteopontin ekspresyonu açısından istatistiksel anlamlı fark saptanmamıştır (sırasıyla $p=0.719$, $p=0.560$). Reaktif mezotelyal hiperplazi, malign mezotelyoma ve alt tiplerinde p53 ile osteopontin ekspresyonları arasında korelasyon saptanmamıştır. Bu sonuçlar; bu iki lezyonun ayırımında p53'ün kullanılabileceğini, ancak osteopontinin uygun bir belirteç olmadığını düşündürmektedir. Osteopontinin rolünün anlaşılması için daha kapsamlı çalışmalara ihtiyaç vardır.

Anahtar Kelimeler: Malign mezotelyoma, Benign mezotelyal proliferasyon, p53, Osteopontin

ABSTRACT

Altunkara Hacıoğlu, B. Diagnostic Role of The Osteopontin and p53 in Benign and Malignant Pleural Mesothelial Proliferations. Eskisehir Osmangazi University Faculty of Medicine, Department of Pathology, Thesis, Eskisehir, 2012. Malignant mesothelioma is a highly aggressive tumor arising from the mesothelial cells of serosal surfaces, particularly the pleura. Due to hypercellularity and reactive cytologic atypia of the cells, the reactive mesothelial hyperplasia may be mistaken for malignant mesothelioma. Although various immunohistochemical markers were described in recent years, until recently there is not a specific marker able to distinguish these two lesions. p53 is a tumor suppressor gene located in the chromosome 17. Osteopontin is a phosphorylated glycoprotein involving in the bone metabolism. In addition to many malignant neoplasms both of the markers were determined to be expressed in the malignant mesothelioma and in lung cancer also. In this study we investigated the immunohistochemical expression of the p53 and osteopontin in 20 cases of reactive mesothelial proliferation and 80 cases of malignant pleural mesothelioma (including 66.3% epithelial, 18.7 % mixed and 15% sarcomatoid types). Whereas immunohistochemical p53 expression was identified in 20% and osteopontin in 90% of the reactive mesothelial hyperplasia cases; in the malignant mesothelioma cases these ratios were 71% and 80%, respectively. The difference was significant statistically ($p < 0.001$). There was no statistically significant difference between malignant mesothelioma subtypes in terms of p53 and osteopontin expression ($p = 0.719$ and $p = 0.560$, respectively). There was no correlation between p53 and osteopontin expression in the reactive mesothelial hyperplasia cases, malignant mesothelioma cases and its subtypes. These results showed that, p53 may be used in the differential diagnosis of these lesions but osteopontin is not a useful marker for this purpose. To understand the role of osteopontin, further studies is need to be performed.

Key Words: Malignant mesothelioma, Benign mesothelial proliferations, p53, Osteopontin

İÇİNDEKİLER

| | Sayfa |
|--|-------|
| TEZ KABUL VE ONAY SAYFASI | iii |
| TEŞEKKÜR | iv |
| ÖZET | v |
| ABSTRACT | vi |
| İÇİNDEKİLER | vii |
| SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ | viii |
| ŞEKİLLER DİZİNİ | ix |
| TABLolar DİZİNİ | xi |
| 1. GİRİŞ | 1 |
| 2. GENEL BİLGİLER | 3 |
| 2.1. Plevranın Anatomisi ve Histolojisi | 3 |
| 2.2. Mezotelyal Hücre Hiperplazisi | 7 |
| 2.3. Plevranın Tümörleri | 10 |
| 2.3.1. Mezotelyal Tümörler | 12 |
| 2.3.2. Ayırıcı Tanı | 26 |
| 3. GEREÇ VE YÖNTEM | 34 |
| 3.1. Boyama Yöntemi | 34 |
| 3.2. İstatistiksel Değerlendirme | 36 |
| 4. BULGULAR | 37 |
| 4.1. Tüm Olgulardaki p53 ve Osteopontin Ekspresyonlarının Dağılımı | 44 |
| 4.2. Gruplardaki p53 Ekspresyonları | 45 |
| 4.3. Gruplardaki Osteopontin Ekspresyonları | 48 |
| 4.4. p53 ve Osteopontin Ekspresyonlarının Korelasyon Sonuçları | 51 |
| 5. TARTIŞMA | 65 |
| 6. SONUÇ VE ÖNERİLER | 77 |
| KAYNAKLAR | 79 |

SİMGELER VE KISALTMALAR

| | |
|--------|---|
| AgNOR | Gümüşle boyalı nükleer organize bölgeler |
| BT | Bilgisayarlı tomografi |
| CEA | Karsinoembriyonik Antijen |
| EMA | Epitelyal membran antijeni |
| EMM | Epitelyal malign mezotelyoma |
| FISH | <i>Fluorescence</i> in situ hibridizasyon |
| GLUT-1 | Glukoz taşıyıcısı-1 |
| IMIG | Uluslararası Mezotelyoma Araştırma Grubu |
| KIDEM | İzmir Kanser Kayıt Merkezi |
| MDM2 | Mouse double minute 2 |
| MM | Malign mezotelyoma |
| MMM | Bifazik-mikst malign mezotelyoma |
| RMH | Reaktif mezotelyal hiperplazi |
| SMM | Sarkomatoid malign mezotelyoma |
| SMRP | Serum Mezotelin İlişkili Protein |
| SV 40 | Simian virüs 40 |
| TTF- 1 | Tiroid traskripsiyon faktör 1 |
| XIAP | X- bağımlı apoptoz inhibitör proteini |
| WHO | Dünya Sağlık Örgütü |
| WT-1 | Wilms tümör gen-1 |

ŞEKİLLER

| | Sayfa |
|---|-------|
| 2.1. Plevranın anatomisi | 4 |
| 2.2. Plevranın şematik görünümü | 5 |
| 4.1. Olguların gruplara göre dağılımı | 37 |
| 4.2. MM olgularının alt tiplerine göre dağılımı | 37 |
| 4.3. RMH ve MM alt tiplerinde olguların yaş dağılımı | 38 |
| 4.4. RMH ve MM alt tiplerinde olguların cinsiyet dağılımı | 39 |
| 4.5. Tüm olgularda p53 ve osteopontin ekspresyon dağılımı | 45 |
| 4.6. RMH ve MM olgularında p53 ekspresyonu | 46 |
| 4.7. p53'ün MM alt tiplerindeki ekspresyon dağılımı | 48 |
| 4.8. RMH ve MM olgularında osteopontin ekspresyonu | 49 |
| 4.9. Osteopontinin MM alt tiplerindeki ekspresyon dağılımı | 51 |
| 4.10. Kontrol olarak kullanılan kolon kanserinde nükleer p53 ekspresyonu | 55 |
| 4.11. RMH'de 1 düzeyinde nükleer p53 ekspresyonu | 55 |
| 4.12. EMM'da 2 düzeyinde nükleer p53 ekspresyonu | 56 |
| 4.13. EMM'da 3 düzeyinde nükleer p53 ekspresyonu | 56 |
| 4.14. MMM'da 2 düzeyinde nükleer p53 ekspresyonu | 57 |
| 4.15. MMM'da 3 düzeyinde nükleer p53 ekspresyonu | 57 |
| 4.16. SMM'da 2 düzeyinde nükleer p53 ekspresyonu | 58 |
| 4.17. SMM'da 3 düzeyinde nükleer p53 ekspresyonu | 58 |
| 4.18. Kontrol olarak kullanılan safra kesesi epitelinde 3 düzeyinde sitoplazmik osteopontin ekspresyonu | 59 |
| 4.19. RMH'de mezotelyal hücrelerin sitoplazmalarında 2 düzeyinde osteopontin ekspresyonu | 59 |
| 4.20. RMH'de mezotelyal hücrelerin sitoplazmalarında 3 düzeyinde osteopontin ekspresyonu | 60 |
| 4.21. EMM'da 2 düzeyinde sitoplazmik osteopontin ekspresyonu | 60 |

| | Sayfa |
|---|-------|
| 4.22. EMM'da 3 düzeyinde sitoplazmik osteopontin ekspresyonu | 61 |
| 4.23. EMM'da 3 düzeyinde sitoplazmik osteopontin ekspresyonu | 61 |
| 4.24. MMM'da 2 düzeyinde sitoplazmik osteopontin ekspresyonu | 62 |
| 4.25. MMM'da 3 düzeyinde sitoplazmik osteopontin ekspresyonu | 62 |
| 4.26. Aynı olguda sarkomatoid komponentin izlendiği bir alanda 3 düzeyinde sitoplazmik osteopontin ekspresyonu | 63 |
| 4.27. Aynı olguda epiteloid komponentin izlendiği bir alanda 3 düzeyinde sitoplazmik osteopontin ekspresyonu | 63 |
| 4.28. SMM'da 2 düzeyinde sitoplazmik osteopontin ekspresyonu | 64 |
| 4.29. SMM'da 3 düzeyinde sitoplazmik osteopontin ekspresyonu | 64 |

TABLULAR

| | Sayfa |
|--|-------|
| 2.1. Plevra tümörlerinin histolojik sınıflandırılması (WHO 2004) | 11 |
| 2.2. Uluslararası Mezotelyoma Araştırma Grubu (IMIG) TNM Evreleme Sistemi | 25 |
| 2.3. MM ve akciğer adenokarsinomu tanısında en fazla kullanılan immünohistokimyasal belirteçler | 26 |
| 2.4. Normal mezotel hücrelerinin immün profili | 27 |
| 2.5. RMH ve MM ayırıcı tanısında histopatolojik özellikler | 29 |
| 2.6. RMH ile MM'lerin ayırıcı tanısında kullanılan immünohistokimyasal belirteçler | 30 |
| 4.1. Olguların özellikleri | 40 |
| 4.2. Tüm olgularda p53 ve osteopontin ekspresyon dağılımı | 45 |
| 4.3. RMH ve MM olgularında p53 ekspresyonu | 46 |
| 4.4. p53'ün MM alt tiplerindeki ekspresyon dağılımı | 47 |
| 4.5. RMH ve MM olgularında osteopontin ekspresyonu | 49 |
| 4.6. Osteopontinin MM alt tiplerindeki ekspresyon dağılımı | 50 |
| 4.7. RMH olgularında p53 ile osteopontin ekspresyonları arasındaki korelasyon | 51 |
| 4.8. MM olgularında p53 ile osteopontin ekspresyonları arasındaki korelasyon | 52 |
| 4.9. EMM olgularında p53 ile osteopontin ekspresyonları arasındaki korelasyon | 53 |
| 4.10. MMM olgularında p53 ile osteopontin ekspresyonları arasındaki korelasyon | 53 |
| 4.11. SMM olgularında p53 ile osteopontin ekspresyonları arasındaki korelasyon | 54 |

1. GİRİŞ

Seröz bir zar niteliğinde olan mezotel tabakası, göğüs ve karın boşluklarında yer alan organları örten ve bu boşlukları döşeyen tek katlı yassı mezotel hücrelerinin oluşturduğu bir yapıdır. Mezotel hücreleri herhangi bir irritasyon ile hiperplaziye uğrayabilir. Reaktif mezotelyal hiperplazide (RMH); hem epitelyal hem de içsi hücrelerde proliferasyon yanı sıra epitelyal ve içsi mezotelyal hücreler, fibroblastlar ile endotelyal hücrelerde reaktif sitolojik atipi gözlenebilir. RMH, aşırı hücresele proliferasyon ve sitolojik atipi varlığı yanı sıra diğer mikroskobik özellikleri nedeniyle maligniteyi taklit edebilir. Tersine, bazı malign mezotelyomalar (MM) hücresele olarak masum görünümlü olup invazyonun olmadığı alanlardan örneklendiklerinde malign yapıları kolaylıkla gizlenebilir (1).

MM, başta plevra olmak üzere serozal yüzeylerdeki mezotelyal hücrelerden gelişen primer bir tümördür. İlk kez 1924 yılında tanımlanan MM'nin asbestle ilişkisi 1960 yılında Wagner ve ark. (2) tarafından bildirilmiştir. Görülme sıklığı, endüstride asbest kullanımının 20. yüzyılın ilk yarısında yaygınlaşması ile artış göstermiştir. MM'nin çeşitli sitomorfolojik ve histolojik alt tipleri bulunmaktadır. RMH ile MM'ların makroskobik ve mikroskobik olarak benzer yapıya sahip olmaları ayırıcı tanıda zaman zaman zorluklara neden olmaktadır. Bu nedenle histomorfolojik değerlendirme sırasında klinik ve radyolojik bulgular yanı sıra, histokimya, immünohistokimya ve elektron mikroskobik yöntemlere başvurulmaktadır (1).

MM'nin immünohistokimyasal tanısı, yaygın olarak MM'da saptanan belirteçler (pozitif mezotelyoma belirteçleri) ile büyük oranda karsinomlarda saptanan belirteçlerin (negatif mezotelyoma belirteçleri) bir arada kullanıldığı paneller ile yapılmaktadır. Uzun zamandır devam eden çalışmalara rağmen MM'yı RMH'lerden ve plevraya metastaz yapan diğer malignitelerden ayırt edebilen özgül bir belirteç tanımlanamamıştır (3). RMH ve MM ayrımını yüksek duyarlılık ve özgüllükle yapabilecek yeni immünohistokimyasal belirteçlerin tanımlanabilmesi için çalışmalar devam etmektedir.

Nükleer bir fosfoprotein olarak tanımlanan p53, tümör supresör bir gen olup 17. kromozomun kısa kolunun 13.1 kodonunda yerleşir. p53 genindeki değişiklikler insan tümörlerinde en sık rastlanılan genetik değişiklik olma özelliğini taşımaktadır. Yapılan araştırmalarda p53 geninin sadece mutant formunun anormal hücre

büyümesinde rol oynadığı, normal p53 geninin ise tümör oluşumunu baskıladığı anlaşılmıştır. Kolon, meme, akciğer, mesane, endometrium gibi birçok organın epitelyal tümörleri yanı sıra mezenkimal, nöronal ve lenfoid kökenli çeşitli tümörlerde p53 geninin homozigot kaybı saptanmıştır (4). p53 immünohistokimyasal olarak birçok tümör yanı sıra MM'larda da saptanabilmektedir. Yapılan bazı çalışmalarda p53'ün RMH ve MM'ların ayırımında yarar sağlayabildiği bildirilmektedir (5, 6).

Osteopontin, kemik metabolizmasında yer alan; kan, gastrointestinal traktus, pankreas, akciğer gibi birçok dokuda geniş dağılım gösteren, kalsiyum bağlayan fosforile bir sekretuar glikoproteindir. Bu glikoprotein moleküler düzeyde hücrel adezyon ve migrasyon, doku onarımı ve sinyal iletimi ile birlikte birçok kanserin invazyon ve metastazında önemli rol oynar (7). Çeşitli malignitelere osteopontin salınımının arttığı gösterilmiştir. Kontroller ile karşılaştırıldığında meme, akciğer ve prostat kanseri ile osteosarkom, glioblastom ve melanomu olan hastalarda serum osteopontin düzeylerinin yüksek olduğu bulunmuştur (8). MM ve akciğer kanserinde de serum osteopontin miktarının arttığı bildirilmektedir. Literatürde osteopontinin MM'daki özellikle doku düzeyindeki önemini araştıran az sayıda çalışma mevcuttur.

Çalışmamızda, RMH ve MM ayırıcı tanısında umut verici bir belirteç olduğu ifade edilen osteopontinin tanısal değerinin araştırılması yanı sıra bu ayırmadaki güvenilirliği nispeten ortaya konmuş olan p53 ekspresyonu ile karşılaştırılması ve bu iki immünohistokimyasal belirteç arasında ekspresyon açısından korelasyon olup olmadığının değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

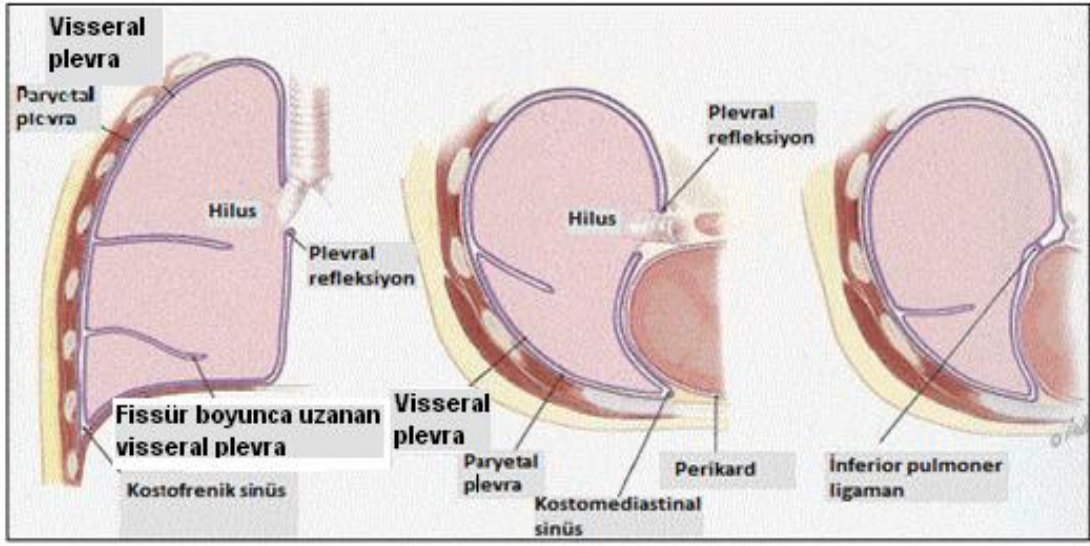
2.1. Plevranın Anatomisi ve Histolojisi

Göğüs kafesi, diafragma, mediasten ve akciğer parankimini örten ince seröz bir zar olan plevra, mezoderm orijinli olup embriyolojik olarak çöломik epitelden gelişir. Bu yapı paryetal ve visseral plevra olarak ikiye ayrılır. Visseral yaprak akciğerlerin dış yüzü ve loblar arasındaki fissürleri sararken, paryetal yaprak da toraks boşluğunun iç yüzünü döşer. Döşediğı intratorasik yüzeylere göre kostal, mediastinal ve diafragmatik plevra olarak alt gruplara ayrılmaktadır. Her iki yaprak akciğer hiluslarında birleşir (9) (Şekil 2.1).

Normalde paryetal ve visseral plevra arasında az miktarda (0.1–0.2 ml/kg) plevra sıvısı bulunur. Sıvının bulunduğu paryetal ve visseral plevra arasındaki bu alana plevra boşluğu veya pleval kavite denir. Berrak, renksiz görünümde olan bu sıvıda 1.5 g/dL'den az protein, monosit, lenfosit, makrofaj, mezotel hücresi ve polimorfonükleer lökosit olmak üzere yaklaşık 1500 hücre/ μ L mevcut olup eritrosit bulunmaz (9). Her iki pleval yüzey alanı, visseral plevranın interlober fissürleri ve paryetal plevranın kostofrenik köşeleri de dahil edilirse yaklaşık olarak eşit olup 70 kg bir erkekte 2000 cm³ civarındadır (9). Plevranın ana görevi solunum sırasında toraks içinde sürtünmesiz yüzey oluşturmaktır (9, 10).

Kaburga ve interkostal alanlar üzerindeki paryetal plevra, düzensiz yumuşak bir bağ dokusu ve üzerindeki mezotelden ibarettir. Bağ dokusunda kan damarları, özellikle kapillerler ve lenfatik lakünler görülür. Paryetal plevranın kalınlığı canlı türlerine göre farklılıklar göstermekle birlikte 20–25 μ m arasındadır (11).

Visseral plevra, anatomik olarak paryetal plevradan belirgin olarak farklı olup türlere göre de farklılıklar gösterir. Kedi, köpek ve maymun ince; insan, koyun, domuz ve at ise kalın bir plevraya sahiptir. Visseral plevranın ince ve kalın olması ile akciğerler arasındaki fizyolojik ilişki önemlidir. Zira kan akımı ihtiyacı plevra kalınlığı ile doğrudan bağlantılıdır. Kalın plevalarda kanın başlıca kaynağı sistemik dolaşım iken, ince plevalarda kaynak pulmoner dolaşımdır (11).

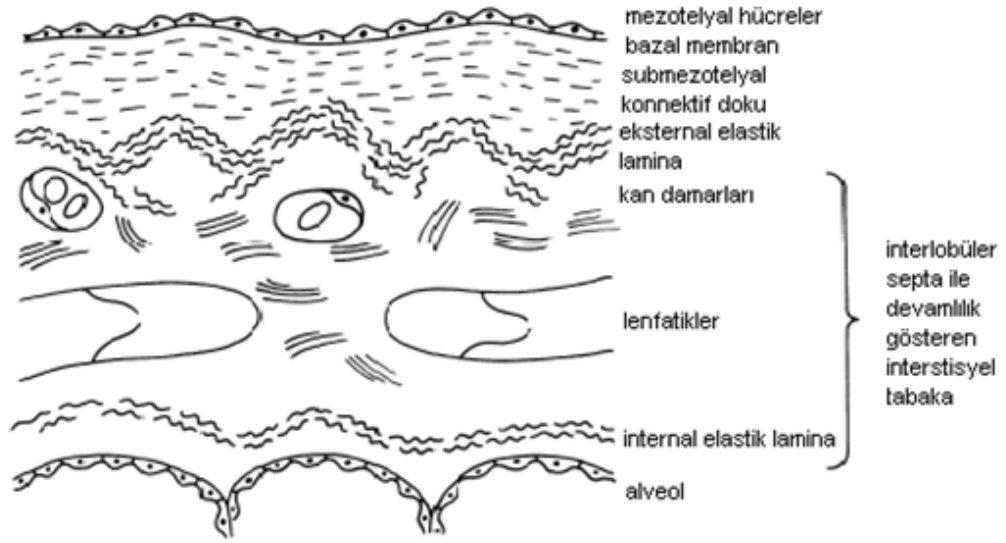


Şekil 2.1. Plevranın anatomisi.

Visseral plevra bronşial arterlerden, paryetal plevra sistemik dolaşımdan (interkostal, internal mammarian, frenik arter) kanlanır. Venöz dönüş de buna paralel seyrederek. Her iki plevranın da yoğun lenfatik pleksusları vardır. Visseral plevranın lenf akımı hilus ve anterior lenf nodlarına, paryetal plevranın interkostal lenf nodlarına, diafragmatik plevranın alt mediastinal lenf nodlarına, alt paryetal plevranın ise adrenal ve böbrek bölgesindeki retroperitoneal lenf nodlarına olur. Akciğer parankiminden visseral plevraya doğru, lenfatiklerdeki valvler aracılığı ile oluşan bir lenf akımı vardır. Bu akciğerdeki tümörlerin visseral plevraya yayılımını açıklar (12).

Visseral plevrayı ağrı liflerinden yoksun olan N.vagus ve sempatik kökler innerve eder. Paryetal plevraya ise interkostal sinirlerden duyuşal lifler gelir. Diafragmanın santral bölgesini frenik sinir, alt interkostal ve karın duvarı sinirleri innerve eder. MM'nin sık izlenen bir bulgusu olan göğüs ağrısı, paryetal plevranın irritasyonu ve inflamasyonu sonucu ortaya çıkar (12).

Histolojik olarak visseral plevra, mezotel ve bağ dokusu olarak iki bölümden oluşur. Bağ dokusu içinde kan ve lenf damarları ile sinirler bulunur. Visseral plevrada elastik ve kollajen lifleri içeren iyi gelişmiş bir bağ dokusu görülür. Bu bağ dokusu iki önemli fonksiyona sahiptir. İlki hava ile şişen akciğerlerin sönmeye ve diğeri de aşırı şişmesine engel olmaktır (Şekil 2.2) (10).



Şekil 2.2. Plevranın şematik görünümü.

Mezotelyal hücreler

Hem paryetal hem de visseral plevranın yüzeyi tek sıralı mezotel hücreleri ile örtülüdür. Mezotel hücreleri değişik şekillerde olabilir ve alttaki submezotelyal dokunun gerilme derecesine göre yassıdan, küboid veya kolumnar şekle kadar değişiklikler gösterebilir. Mezotel hücrelerinin kalınlıkları 1–4 μm ve yüzey çapları ise 16–40 μm 'dur (10).

Elektron mikroskopunda plevra yüzeyi düz veya bombeli görülür. Bombeli kısımlar, visseral plevranın çoğu bölgesinde ve paryetal plevranın ise kosta altına rastlayan bölgeleri ile baskıya maruz kalarak yapısının zayıfladığı bölgelerinde görülürler. Bu hücrelerde bol mikrovilli vardır. Her hücre yaklaşık 300 mikrovilli içerir. Mikrovilliler paryetal plevranın inferior kısmında daha fazladır, boyları 0,5–3 μm , çapları 0,1 μm civarındadır. Mikrovillilerin fonksiyonları tam olarak bilinmemekle birlikte, plevra sıvısını emerek visseral plevranın kapasitesini arttırdıkları veya özellikle toraks alt alanlarında sürtünmeyi azaltmak için göğüs duvarı ve akciğer arasında hyaluronik asitten zengin glikoprotein ağını oluşturdukları sanılmaktadır (10).

Mezotel hücre tabakasının plevral boşluğa bakan tarafındaki yüzey, mezotel mikrovillileri tarafından salgılanan hyaluronik asitten zengin sialomüsin adı verilen glikoprotein nitelikte yarı akışkan bir sıvı tabakası ile kaplıdır. Sialomüsin, mezotel hücre yüzeyine anyonik yani negatif elektrik yüklü bir karakter kazandırır. Yine bu katman lizozim, başta IgG ve IgA olmak üzere immunglobulinler ve kompleman içerir. Bu yapısal özellik plevraya şu işlevsel özellikleri kazandırır:

- 1- Plevral yüzeyler karşı karşıya gelince mezotelyal örtüler birbirine değmez ve akciğer açılır kapanırken, glikoprotein örtü sayesinde her iki yüzey birbirleri üzerinde kolayca kayar.
- 2- Mezotelyal yüzeyi örten anyonik nitelikteki katman, bakteri, diğer organizmalar ve anormal hücrelerin mezotelyuma yapışma şansını azaltır, onları iter.
- 3- Mezotel hücrelerinin yüzeyindeki çok sayıda çıkıntı sayesinde normal yüzeye göre çok daha geniş bir aktif sıvı emilim yüzeyi oluşmuş olur. Bu yüzeyde mezotel hücreleri aktif olarak sıvı geçirilmesini sağlarlar.
- 4- Lokal immün korunma sağlanır.

Mezotelyal hücreler aralarında tight veya gap-junctionlar, bazı yerlerde de desmozomlarla bağlantı kurarak, bazal laminaları ile destekleyici bağ dokusu üzerine otururlar.

Mezotel hücreleri çok fonksiyonlu hücrelerdir:

- İmmünmodülatör hücrelere antijen sunusu yaparlar. Bu konuda oldukça iyi gelişmiş bir reseptör yapıları vardır.

- Sitokin ve fibronektin salgılayarak makrofaj akımı oluşturabilirler.

- Fagositoz yapabilirler.

- Uyarılara cevap olarak reaktif oksijen ve nitrojen radikalleri salgırlar.

- Plevral aralıktaki inflamasyon ve tamirde başlatıcı rol oynarlar (13).

Mezotel hücreleri aktif hücrelerdir. Çeşitli uyarılara cevap verirler ve hassastırlar (4). Kültürde; tip I, II ve IV kollajen, elastin, fibronektin ve laminin ürettikleri gösterilmiştir (11). Ayrıca tipik olarak hem fibroblast hem epitelyal hücrelerin intermedier filamentlerini içerirler. Mezotel hücreleri hücre yüzeyinde faktör VII bağlayan bir doku faktöründen dolayı prokoagülan aktivite taşımaları yani

sıra nitrik oksit ve farklılaştırıcı büyüme faktörü beta-1 (TGF β -1) de üretirler (14, 15).

Mezotel tabakası çok kırılğan bir yapıya sahiptir. Plevral hastalığı olmadan torakotomi uygulanan hastalarda bile mezotel hücrelerinin dökülüp soyulduğu görülür. Bu alanlar mezotel hücrelerinin migrasyon ve mitozu ile tamir edilir. Yüzeyden ayrıldıklarında plevra sıvısı içinde serbest kalan mezotel hücrelerinin şekilleri oval veya yuvarlak hal alır. Sitoplazmaları organelden yana zengindir, fagositoz yeteneği kazanarak makrofajlara dönüşebilirler. Bu durumda sitoplazmalarında vakuoller görülür. Plevra sıvısındaki tüm makrofajlar mezotel hücresi kaynaklı olmayıp bir kısmı periferik kan mononükleer hücrelerinden, bir kısmı da alveoler makrofajlardan köken alır. Mezotel hücrelerinden köken alan makrofajların immünolojik role sahip oldukları da belirtilmiştir (14, 15).

Mezotel hücreleri bazal kısımlarda birbirleri üzerinde yer alır ancak yapışmazlar. İnspiryum sırasında birbirlerinin üzerinde olan hücreler ayrılarak gerilme özelliği gösterirler. Paryetal mezotel hücreleri arasındaki intersellüler membran organizasyonu, venlerin endoteline benzer biçimde gevşektir. Bu paryetal hücre tabakasının venlerde olduğu gibi sızdırma özelliği olduğunu düşündürmektedir. Buna karşın visseral mezotel hücreleri arasındaki intersellüler matriks daha sıkıdır. Bu nedenle visseral mezotelyal tabaka gerilmeye ve sızdırmaya karşı daha dirençlidir (13).

Normal mezotelyal hücreler histolojik kesitlerde zorlukla görülebilir. Ancak sıvılardan elde edilen sitoloji preparatlarında daha belirgin olabilirler. Bu hücreler, bol sitoplazmalı, belirgin keskin hücre sınırları olan küçük ve santrale yakın homojen kromatinli nükleusu bulunan ve nükleolus içermeyen hücrelerdir (16).

2.2. Mezotelyal Hücre Hiperplazisi

Çok çeşitli patolojik koşullarda, plevral boşlukta sıvı artışı ile birlikte, seröz yüzeyleri örten dölşeyici mezotelyal hücrelerde vücuttaki birçok dokuya nazaran aşırı bir yanıt görülür (1).

Mezotelyal hücrelerde atipik değişime ve proliferasyona neden olan durumlar arasında; konjestif kalp yetmezliği, siroz ya da diğer karaciğer yetmezlik tabloları, akciğer infarktı, kollajen-vasküler hastalıklar, renal yetmezlik-üremi, pankreatit,

radyoterapi ve kemoterapi uygulaması, cerrahi girişimler ve toraks travması bulunmaktadır (1).

Birçok reaktif olayda mezotelyal hücreler belirgin proliferatif ve hiperplastik değişiklikler gösterirler. Bu durumda göreceli olarak sitoplazma aynı kalırken hücre sınırları keskinliğini kaybeder. Nükleuslar hem mutlak hem göreceli olarak daha büyük, kromatin daha hiperkromatik hal alırken sıklıkla belirgin nükleolus görülür. Reaktif mezotelyal hücrelerde hiperplastik değişiklikler ilerlediğinde hücre grupları küçülüp tek tek hücreler ön plana geçer. Bu durumda kümelenmiş reaktif mezotelyal hücreler irregüler bir dış sınır gösterirler. Ancak nükleuslar boyut, şekil ve yapı olarak benzerdir. Mitotik figürler bulunabilir. Sitoplazma hücre dejenerasyonu ve sıvı emilmesine bağlı olarak multivakuoler hale gelebilir (16).

Plevral yüzeyin irritasyonu mezotelin basit hiperplazisine yol açar. Basit hiperplazi, plevral yüzey boyunca düzenli olarak sıralanmış masum görünüşlü küboidal mezotel hücrelerinin belirgin tabakalanması ile oluşur (17). Bir plevral biyopside proliferasyon sadece yüzey boyunca yer alan mezotelyal hücrelerde görülüp altta yatan dokularda mezotelyal hücreler izlenmiyorsa görünüm basit mezotelyal hücre hiperplazisi veya atipik mezotel hücre hiperplazisine ait olabilir. Herhangi bir kronik irritasyon yüzeyel mezotelyal hücreler yanı sıra sitokeratin eksprese eden submezotelyal işsi hücrelerde de hiperplaziye neden olabilir. RMH'lerin epitelyal komponentinin iyi diferansiye epitelyal MM'dan (EMM) ayrımı çok zor olabildiğinden bu gibi olgularda tanının klinik ve radyolojik bulgularla desteklenmesi son derece önemlidir (1).

Torakoskopi veya torakotomi sırasında plevral yüzeyin makroskobik görünüşü de ayırıcı tanıda önemli bir rol oynar. Geniş plevral yüzey alanları boyunca yer alan birbirleriyle birleşme eğiliminde olan nodüllerinin varlığı maligniteyi desteklerken, nodül yapısının olmayışı reaktif bir olayı düşündürür (1).

Bir MM az veya orta dereceli atipi gösteren monoton tümör hücrelerinden oluşabileceği gibi, RMH'de hücrelerde belirgin atipi bulguları da görülebilir. Bu nedenle sitolojik atipi şiddetli olmadığı sürece malignite varlığı açısından çok da kullanışlı bir kriter değildir. Reaktif süreçlerde epitelyal ve işsi hücre proliferasyonu genellikle birbirine paraleldir (1, 17, 18) .

Mezotelyal hücreler tümör dışı koşullarda da atipik özellikler kazanarak çoğalabilir, MM'yi taklit eden kümeler, papiller proliferasyonlar, topuza benzer yumaklar meydana getirebilirler. Atipik mezotelyal hiperplazi, plevral yüzey boyunca gelişen basit hiperplaziden daha şiddetli bir mezotelyal proliferasyondur. Basit hiperplaziden noninvaziv, malignite endişesi uyandıran atipik mezotelyal hiperplaziye doğru gidişte artan bir sitolojik atipi ve sellülerite görülür. Atipik mezotelyal hiperplazi yüzey boyunca değişken derecelerde sitolojik atipi gösteren tek bir hücre tabakasından oluşabildiği gibi yüzeyde üst üste hücre birikimlerinden oluşabilir. Atipik mezotelyal hücre hiperplazilerinde hücreler küboidal veya geniş, büyük nükleuslu ve hücreden hücreye önemli ölçüde değişmekle birlikte sıklıkla belirgin nükleolusludur. Mezotelyal hiperplazilerde nadiren görüldüğünden, tübüler ve papiller büyüme paternlerinin varlığı da maligniteyi destekleyen bir bulgudur (18, 19).

Basit mezotelyal hiperplazi, genellikle tanısız bir zorluk oluşturmaz ve benign reaktif bir süreci yansıtır. Atipik mezotelyal hiperplazi örneklerinin ise bir kısmı benign reaktif süreçlerin nispeten sellüler ve sitolojik olarak atipili bir bölümünü yansıtırken, diğer bazı örnekler muhtemelen noninvaziv malignite ya da invaziv bir tümörün kenarını temsil etmektedir (20). İnflamatuar değişikliklerin varlığı, destekleyen klinik hikaye ve bulgular benign bir reaksiyonu düşündürse de, inflammatuar değişikliklerin yokluğu veya altta yatan dens bir fibrozis malignite şüphesini arttırabilir fakat malignite varlığını kesinleştirmez. Diğer taraftan aynı koşullarda makroskopik olarak plevral yüzeyde nodüller veya kitlelerin varlığı malignite yönünde kuvvetli bir destek olarak değerlendirilmelidir (21). Mezotelyal proliferasyonlarda özellikle yağ dokusu ve paryetal plevra kasları gibi altta yatan dokuların invazyonu malignitenin en kesin kriteri olmaya devam etmektedir (22). Bu noktada sıkışıp arada kalmış mezotel hücrelerinin invazyonla karıştırılmaması önemlidir. Sıkışmış mezotel hücreleri genellikle plevral yüzeye çok yakın yer alıp alttaki yağ dokusundan iyi sınırlanmışlardır. Bu tip hataların önlenmesinde biyopsi materyallerinin olabildiğince büyük ve bütünlüklü olması önem taşır (1).

Normal epitelden değişen derecede displazi yoluyla karsinoma in situ ve minimal invaziv maligniteye doğru giden ilerleyici morfolojik bulgular serviks, akciğer ve diğer bazı organlarda ortaya konmuştur. Benzer biçimde diffüz MM

gelişiminde preneoplastik ve in situ fazların olması olasıdır. Bazı atipik mezotelyal hiperplazi örnekleri MM'nın bu preneoplastik ve preinvaziv fazlarını temsil ediyor olabilir (18). Whitaker ve ark. (20) mezotelyoma in situ'nun morfolojik tanısı için potansiyel bazı kriterler önermekle birlikte bu tanının sadece komşuluğunda invaziv bir tümör bulunan veya takiben invaziv bir tümör gelişen olgularda doğrulanabileceğini ifade etmişlerdir. Günümüzde, invaziv tümör saptanmamışken mezotelyoma in situ tanısını verebilecek uygun morfolojik kriterler henüz tam olarak ortaya konmamıştır. Bu nedenle mezotelyoma in situ teriminin tek başına tanı olarak kullanılması önerilmemektedir. Bu gibi olgular atipi gösteren yüzeysel mezotel hücre proliferasyonu, atipik mezotelyal hücre hiperplazisi veya atipik mezotelyal proliferasyon olarak tanı almalı, bu tanıdan da olguların bazılarının benign bazılarının da malign olabileceği anlaşılmalıdır (21).

İmmünohistokimyasal yöntemler proliferen hücrelerin mezotelyal yapısını saptamada yardımcı olmakla birlikte mezotelyal hiperplazi ile MM ayırımında sınırlı bir değere sahiptir (1).

Sonuç olarak, çelişkili durumlarda kesin bir tanı vermektan kaçınılması, gerekli görüldüğünde klinik olarak da uygunsa biyopsi tekrarı istenmesi en doğrusudur (21).

2.3. Plevranın Tümörleri

Plevranın primer tümörü MM'dır. MM; plevra, perikard ve peritonu döşeyen mezotelyumdan köken alır (23).

Dünya Sağlık Örgütü'nün (WHO) 2004 sınıflamasında plevra tümörleri histopatolojik olarak;

- Mezotelyal tümörler
- Lenfoproliferatif hastalıklar
- Mezenkimal tümörler olmak üzere 3 ana başlık altında incelenmektedir (19)

(Tablo 2.1).

Tablo 2.1. Plevra tümörlerinin histolojik sınıflandırılması (WHO 2004).

| Plevra tümörleri | Alt tipler |
|--------------------------------------|--|
| Mezotelyal tümörler | 1- Diffüz malign mezotelyoma a- Epiteloid mezotelyoma b- Sarkomatoid mezotelyoma c- Desmoplastik mezotelyoma d- Bifazik mezotelyoma 2- Lokalize malign mezotelyoma 3- Mezotel kökenli diğer tümörler a- İyi differansiye papiller tümör b- Adenomatoid tümör |
| Lenfoproliferatif hastalıklar | 1- Primer effüzyon lenfoması 2- Piyotoraksla ilişkili lenfoma |
| Mezenkimal tümörler | 1-Epiteloid hemanjiyoendotelyoma Anjiyosarkom 2-Sinovyal sarkom a- Monofazik b- Bifazik 3- Soliter fibröz tümör 4- Plevranın kalsifiye tümörü 5- Desmoplastik yuvarlak hücreli tümör |

2.3.1. Mezotelyal Tümörler

Diffüz malign mezotelyoma

WHO 2004 sınıflamasında MM; EMM, sarkomatoid (SMM), desmoplastik ve bifazik-mikst (MMM) subtipleri içermekte olup bir önceki sınıflamada SMM'nin subtipi olan desmoplastik mezotelyoma burada ayrı bir histolojik tip olarak sınıflandırılmıştır (19).

Epidemiyoloji

Plevral MM, sık görülmeyen, günümüzde standart bir tedavisi bulunmayan ve prognozu iyi olmayan bir tümördür. Plevranın primer tümörü olarak ilk kez 1924 yılında 33 yaşında bir tekstil işçisinde tanımlanmıştır. Klemperer ve Rabin (24) 1937'de, mezotelyomaları lokal ve diffüz olmak üzere sınıflandırmıştır.

Stout ve Murray (25) 1942'de bu tümörleri histolojik olarak tanımlamıştır. Wagner ve ark. (2) 1960 yılında bu tümörün Güney Afrika'da, asbest ile yoğun temasın olduğu yerlerdeki kişilerde oluştuğunu belirtmiştir. Bu tarihten sonra, asbestle temas ile MM oluşması arasındaki ilişki çok sayıdaki çalışma ile kanıtlanmıştır (25, 26).

MM; normal popülasyonda oldukça ender olup görülme sıklığı, genel nüfus için, bir yılda bir milyonda 1-2.2 arasında bildirilmektedir (23). Plevral MM, gelişmiş batı ülkelerinde asbest madenleri çevresinde yaşayan veya meslekleri nedeni ile asbest ile uzun süre temas eden kişilerde görülmesine karşın, Türkiye, Yunanistan, Bulgaristan, Afganistan gibi ülkelerde, asbest ile karışmış toprağın (beyaz toprak) badana, sıva, çatı toprağı yapmak gibi amaçlarla kullanılması ile gelişen uzun süreli temas sonucu oluşmaktadır (25, 27, 28).

Plevral MM, genellikle 60 yaş üstü kişilerde görülmekle birlikte yaş dağılımı geniştir. Nadiren çocuklarda da görülür. Epidemiyolojik çalışmalar, insidansın son 20 yıldır artmakta olduğunu göstermektedir. Erkeklerde daha fazla görülmekte olup genel olarak bu oran 3/1' dir (erkek/kadın). Kuzey Amerika'da erkek/kadın oranı 9/1 iken, diğer ülkelerde bu oran düşmektedir (19).

Amerika'da yıllık beklenen MM olgu sayısı 3000 olarak bildirilmektedir. Bu sayı yıllık 1.170.000 tüm yeni kanser olgusu içinde % 0.2'lik bir oranı temsil etmektedir (23). Endüstrileşmiş ülkelerde yirminci yüzyılın büyük kısmında (70-80

yıl) asbestin yaygın endüstriyel kullanımı nedeniyle MM insidansı göreceli olarak daha yüksektir. Asbest ile doğrudan temas eden üretim-işleme işlerinde çalışan işçilerden oluşan kohortlarda insidans 19-122.4/100.000 kişi-yıldır (29).

Ülkemizde temasın en yoğun olduğu bilinen iller Eskişehir, Kütahya, Bilecik, Yozgat, Sivas ve Diyarbakır'dır (28). İnsidans ülkemiz için bilinmemekle birlikte WHO tarafından kabul gören İzmir Kanser Kayıt Merkezi'nin (KIDEM) belirlemelerine göre Ege bölgemizde ortalama yıllık insidans erkekler için 0.7/100.000 kişi-yıl, kadınlar için ise 0.3/100.000 kişi-yıldır. KIDEM rakamları Türkiye'nin diğer bölgelerine göre endüstrileşmiş bir bölgeyi temsil etmektedir (23). Metintaş ve ark.'nın (30) Eskişehir'de çevresel teması kesin olan bir grupta yaptığı çalışmada ortalama MM yıllık insidansı erkekler için 114.8/100.000 kişi-yıl, kadınlar için 159.8/100.000 kişi-yıl olarak saptanmıştır.

Asbestin 1980'lere kadar yaygın kullanımı dikkate alındığında endüstrileşmiş ülkelerde MM insidansının 2020 yılında en üst değere ulaşp, sonra yavaş yavaş azalması, gelişmiş ülkeler için görülme sıklığının 2050'den sonra genel insidansa yaklaşılarak önemli bir sorun olmaktan çıkması beklenmektedir (24, 31).

Etyoloji

Günümüzde plevral MM'nin patogenezinde yer aldığı ortaya konabilmiş faktörler arasında;

1. Asbest
2. Erionit
3. Radyasyon
4. Plevral skarlar
5. Spontan tümör gelişimi
6. Simian virüs 40 (SV 40) enfeksiyonu bulunmaktadır (32-34).

Asbest lifleri ile temas

Asbest, tek bir mineralden ibaret olmayıp, fibröz hidroksi silikat ailesine verilen genel bir isimdir. Esas olarak iki grupta incelenir;

- 1. Serpentin grubu** (krizolit - beyaz asbest).
- 2. Amfibol grubu** (krokodolit, mavi asbest, amozit).

Beyaz asbest, endüstride kullanılan asbesttir. Diğer asbest türlerinin çıkarılması ve kullanımı yasaklanmıştır. Plevral MM ile en çok ilişkili asbest türü amfibol grubu yani krokodolit asbesttir. Rölatif risk için fibrile maruz kalma oranı 500:100:1 (krokodolit: amfibol:krizolit) olarak rapor edilmiştir (19, 35-38).

Serilere göre değişkenlik göstermekle birlikte MM tanısı almış olguların %70-90'ında asbest teması olduğu bildirilmektedir (39). MM genellikle inhalasyon yoluyla asbeste maruz kalma sonucunda oluşmakta, ortalama 30-40 yıllık latent dönemden sonra ortaya çıkmaktadır. Asbestle ilk temas ile kişinin ölümü arasında geçen süre yaklaşık 41 yıldır (15 -67 yıl). Bu sürenin 15 yılın altında olması nadirdir (25, 36, 38).

Eriyonit ile temas

Ülkemizdeki maruziyet, asıl olarak çevresel olup özellikle, Orta ve Güneydoğu Anadolu bölgemizde önemli bir halk sağlığı sorunu olarak karşımıza çıkmaktadır. Kapadokya bölgesinde 3 köyde, Tuzköy, Karain ve Sarıhıdır'da asbest olmayan bir mineralin plevral MM epidemisine yol açtığı saptanmıştır. Bu mineral **fibröz "zeolite" (erionit)** olarak isimlendirilmektedir. Bu madde köylerde, evlerin yapıldığı tuf kayaları ile evlerin dayandığı ve kiler olarak kullanılan mağaraların duvarlarında bulunmuştur ve asbest liflerine göre daha güçlü bir karsinojendir (25, 40).

Simian Virüs 40

Etiyolojide bir ko-faktör olarak kabul edilen SV 40 DNA dizileri, batı ülkelerinde MM'lı dokuların % 60'ında gösterilmesine karşın, ülkemizde bu virüsün ekspresyonu saptanamamıştır. Neden olarak, bu virüs ile kontamine polio aşılarının Türkiye'de kullanılmaması gösterilmiştir (33, 41, 42).

Patogenez

Plevral MM patogenezini halen tam olarak anlayamamıştır. Asbest lifleri inhale edildikten sonra aerodinamik yapıları nedeniyle bronşial alanda kolaylıkla ilerleyerek akciğerin periferik bölgelerine ulaşabilir, buralarda distal endotelyumdan interstisyel alana girerek visseral plevraya erişebilirler. Asbestin bronşial sisteme girdikten sonraki lifsel ayrışımı bu seyri kolaylaştırır (39).

Lifler buldukları yerlerde makrofaj nitelikli hücrelerce fagosite edilmeye çalışılırlar, ancak fiziksel yapıları nedeniyle fagositoz tam olarak mümkün olmadığı gibi, fagositoz sonrası seyir makrofaj aleyhine döner. Asbest nedeniyle ortama enzimler, sitokinler ve süperoksit radikalleri çıkar. Oksijen ve nitrojen radikalleri nedeniyle asbest lifleri, DNA hasarı yaparak ve bağları kırarak hem mutajenik hem de fibrojenik aktiviteyi başlatabilirler. Ayrıca lifler temas ettikleri hücrelerdeki genetik elemanlara yaptıkları fiziksel travma ile özellikle mitoz sırasında kromozom anomalilerine de neden olabilirler. Yine lifler fiziksel temasları ile hücresel hasar, artmış tamir aktivitesi veya karsinogeneze neden olabilirler (39).

Asbest, sitokinler ve aktive makrofajlar tarafından yönlendirilen kronik inflamatuvar ve fibrotik bir reaksiyona neden olur (43). Bu süreçte platelet kökenli büyüme faktörünün beta zinciri (c-cis) gibi protoonkogenlerin fibrotik akciğer içindeki alveoler makrofajlarda yoğun olarak eksprese edildiği izlenir. Bu da mezotel hücrelerinin aşırı proliferasyonuna neden olur. Ayrıca asbestin kendisinin de hücre DNA'larını direkt olarak değişime uğrattığı gösterilmiştir (43). Asbest liflerinin, doku kültüründe hücrelerde c-fos ve c-jun gibi onkogenlerin oluşmasını sağladığı saptanmıştır (44). İnflamatuvar dokuda başta interlökin 6 olmak üzere sitokin salgılanmasının arttığı, bunun tümörün büyümesi ve progresyonuna katkıda bulunduğu saptanmıştır (45).

Ayrıca, Dhaene ve ark. (46) diğer birçok tümör tipinde olduğu gibi, MM'da da, telomeraz aktivitesinin artmış olduğunu, bunun da karsinogeneze bir rolü olabileceğini bildirmiştir.

Bu bulgular özetlenecek olursa; asbest liflerinin neden olduğu serbest oksijen radikallerinin aşırı oluşumu ile gelişen oksidatif stresin, meydana gelen sitotoksiste, DNA hasarı, mutasyon, gen ekspresyonu ve karsinogeneze en önemli rolü oynadığı belirtilebilir (46).

Genetik

Asbest hem kromozomal bozukluklara hem de morfolojik değişikliklere neden olur. Plevral MM'da kromozom 1, 3, 6, 9 ve 22'de kayıp ve/veya delesyonlar vardır (47, 48).

Ayrıca NF2 geninde mutasyon görülebilir. p53 overekspresyonu asbest maruziyetinden bağımsız olarak plevral MM'ların yaklaşık olarak yarısında görülür

fakat TP53 geninde mutasyonlar nadirdir. Plevral MM'da geniş skalalı transkripsiyon profileme yöntemi ile üç aday onkogen (NME2, CRI1 ve PDGFC) ve bir tümör supressör geni (GSN) saptanmıştır (22).

Hücre siklus kontrolü ile ilişkili genler p14^{ARF} ve p16^{INK4a} barındıran loküs olan 9p21'in moleküler delesyonu pleval MM'da tekrarlayan sitogenetik bir değişikliktir (49). Bu delesyon özellikle SMM ve MMM'da görülmektedir (50, 51).

Seröz efüzyonlu olgularda sitolojik materyallerde pleval MM tanısını elde etmek için immünohistokimya, DNA image cytometry ve gümüşle boyalı nükleer organizler bölgeler (AgNOR) gibi yöntemlere ilaveten *fluorescence in situ* hibridizasyon (FISH) ile 9p21 delesyonunun incelenmesinin kullanılması önerilmektedir (52). FISH ile homozigot 9p21 delesyonunun saptanması aynı zamanda parafine gömülü doku spesmenlerinde de pleval MM ile RMH arasında ayırıcı tanıda yardımcı bir yöntem olarak bildirilmektedir.

Chiosea ve ark. (53) 52 pleval MM olgusunun 35'inde (%67) ve 20 peritoneal MM olgusunun 5'inde (%25) p16 delesyonu saptamışlardır. Bu delesyon 40 RMH örneğinin hiçbirisinde görülmemiştir. Bu bulgular 9p21 delesyonunun 40 pleval MM olgusunun 35'inde (%88) görüldüğünü ve bu delesyonun adenomatoid tümör, benign mezotelyal multikistik tümör, RMH veya plöritiste görülmediğini gösteren FISH analizi ile yapılan bir araştırma ile doğrulanmıştır (54). Bununla birlikte 9p21 delesyonunun çeşitli insan kanserlerinin gelişiminde önemli bir rol oynadığı bu nedenle pleval MM'yı serozal membranları tutan nonmezotelyal tümörlerden ayırt etmede yardımcı olamayacağını belirtmek önemlidir (55).

4p, 4q ve 9p'de kayıplar ve 5p'de fazlalık SMM'yı, pleval kökenli sarkomlar ve sarkomatoid akciğer karsinomlarından ayırt eden en iyi kromozomal değişikliklerdir. Karşılaştırmalı genomik hibridizasyon analizi SMM'yı sarkomatoid karsinomdan ayırt etmede yardımcıdır. Benzer şekilde keratin ekspresyonu göstermeyen pleval bir tümör olgusunda karşılaştırmalı genomik hibridizasyon analizi ile MM için özel olan kromozomal değişiklikler ortaya konarak pleval sarkom dışlanabilir (56).

Klinik

Tümörün davranış biçimine bağlı olarak hareketsiz ya da hareketleri kısıtlanmış bir hemitoraks ve aynı tarafta pleval sıvı/pleval kalınlaşmaya ait

muayene bulguları (vibrasyon kaybı, matite, seslerin alınamaması gibi) hemen her olguda saptanan temel fizik muayene özellikleridir. Tümörün yerleşimi olguların %95-97'sinde tek taraflıdır, çoğu olguda da (%65) sağ taraftadır (39).

Genellikle plevral sıvının varlığı ve alttaki yapıları örtmesi nedeniyle, standart akciğer grafilerinde yalnızca plevral sıvı veya plevral sıvı ile birlikte plevral kalınlaşma bulguları tanımlanır (9).

Bilgisayarlı tomografi (BT), MM kuşkulu her olguda kullanılan bir yöntemdir. Üç boyutta görüntü verebilmesi, kontrast madde kullanılabilmesi bulgularını değerli kılar. BT'de en sık saptanan bulgular arasında nodüler plevral kalınlaşma veya düzensiz yüzeyle plevral kalınlaşma bulunmaktadır. Olguların çoğunda serbest veya ankiste halde halde plevral sıvı da vardır. Manyetik rezonans görüntüleme, MM için BT kadar etkin bir yöntemdir. Diafram tutulumu, endotorasik fasya tutulumu ve perikard tutulumunu BT'ye göre daha iyi gösterebilir (39).

MM'lı hastaların büyük çoğunluğunda hastalığın doğal seyri sırasında plevral sıvı gelişir. Plevral sıvı örneği eksuda niteliğinde olup, yaklaşık %50 olguda sıvı hemorajik görünümündedir (23, 39).

Plevral sıvı örneğinin tanı ve ayırıcı tanıda iyi bir örnek olması beklenir ancak plevral sıvıda MM için özgün ve/veya duyarlılığı yüksek parametreler henüz tanımlanamamıştır. Sıvı yaymasının Wright boyasıyla mikroskopik değerlendirmesi yararlı ve yönlendirici bilgiler verebilir. Sıvıda lenfositler oran olarak yüksektir (%50 üstü). Ayrıca çok önemli bir özellik, sıvıda yer yer kümeler halinde toplanmış mitoz ve atipi kriterleri gösteren mezotelyal hücrelerin görülebilmesidir (23, 39).

MM'nın adenokarsinomdan ayırıcı tanısında serum ve plevral sıvıdaki karsinoembriyonik antijen (CEA) düzeyi orta derecede duyarlılık ve özgüllüğe sahiptir. Son yıllarda MM'lı hastalarda serum düzeyi yüksek saptanan belirteçlerden biri de serum mezotelin ilişkili proteindir (SMRP). SMRP, mezotelyumun kanda dolaşan ürünüdür. SMRP düzeyi MM olgularında, diğer plevral hastalıklara ve benign asbest nedenli plevral patolojilere göre yüksek olarak bildirilmektedir. Ancak halen SMRP'nin rutin kullanımı hakkında yaygın kabul gören görüşler oluşmamıştır (39).

Klinik, laboratuvar ve radyolojik olarak tüm bu bulguların hiçbirisi tek başına tanı koydurucu nitelikte değildir. MM tanısı için doku histopatolojik incelemelerinin

yanı sıra anamnez, fizik muayene, radyoloji ve diğerk laboratuvar bulguları da önemli olup bütün bunların bir bütünlük içerisinde değerkendirilmesi gereklidir (23, 39).

Doku örneklemesinde kullanılan yöntemler

MM'da tanı sitolojik veya histopatolojik incelemeyle konulur. Tümör dokusu çok geniş bir pleomorfizme sahip olabilir, bu da alınan örneğın küçük olması veya lezyon üzerinden tam olarak alınamaması halinde histopatolojik tanı güçlüğüne neden olur (23). Örnek 4 farklı yöntemle elde edilebilir:

- 1- Sitoloji
- 2- Kapalı plevra iğne biyopsisi
- 3- Torakoskopi
- 4- Torakotomi

Tedavi

MM'nın halen standart bir tedavisi yoktur. Bugüne dek cerrahi, kemoterapi, radyoterapi, kombine tedavi seçenekleri denenmiştir (39).

- Cerrahi tedavi

Cerrahi olarak iki teknik uygulanabilir:

- 1- Plörektomi/dekortikasyon
- 2- Ekstraplevral pnömonektomi

Dekortikasyonda sadece plevradaki tümör mümkün olduğunca geniş bir şekilde çıkarılır. Ekstraplevral pnömonektomide ise plevral tümör, komşu göğüs duvarı, o taraf akciğerk, o taraf diafragma ve perikard çıkarılır, ayrıca mediastinal küretaj yapılır. Uygulaması zor bir teknik olup mortalite ve morbiditesi de yüksektir (23). Ayrıca ekstraplevral pnömonektomi için genellikle istenen epitelyal hücre tipi, evre I hasta, yüksek performans indeksi ve <60 yaş olma gibi özellikler de yöntemin kullanımını sınırlamaktadır (23, 39, 57).

- Kemoterapi

MM'lı olgularda hemen tüm ajanları kapsayan tek veya kombine kemoterapi rejimleri uygulanmıştır. Tek ajanlara cevap oranı %5-37, kombine ajanlara ise %20-

30 arasında bulunmuştur. Antrasiklinler, alkilleyici ajanlar, platinler diğerlerine göre daha etkin ajanlar olarak bildirilmektedir (39).

- Radyoterapi

Eksternal radyoterapi, MM'da yalnızca ağrı kontrolü amacıyla ya da invaziv işlem bölgelerine tümörün lokal yayılımını engellemek amacıyla kullanılır. Tedavi amaçlı eksternal radyoterapinin geniş bir alana uygulama gereği olması nedeniyle doz oldukça yüksek olmalıdır. Bu nedenle yan etki oranı yüksek, toleransı zor, antitümöral duyarlılığın da iyi olmadığı bir yöntemdir (39).

- Kombine tedavi

Son yıllarda yapılan çalışmalarda cerrahi tedavi ile kombine kemoterapi ve radyoterapinin yaşam süresini uzattığı öne sürülmüştür. Kombine tedavi cerrahiye uygun hastalarda uygulanabilmekte olup epitelyal hücre tipine sahip olanlarla erken evre hastalarda iyi sonuçlar alınabilmektedir (39, 57).

- Destek tedavisi

Birçok merkezde MM'da yalnızca iyi bir destek tedavisi uygulanmaktadır. Destek tedavisi 3 ana başlık içerir:

- 1- Ağrının kontrolü
- 2- Plevral sıvının kontrolü
- 3- Beslenme

Hastalık epitelyal tipte 17 aya kadar uzayan bir yaşam süresi gösterdiğinden hemen her hasta için iyi bir destek tedavisi gerekli olmaktadır (23, 39).

- Yeni tedavi uygulamaları

MM'nın tedavi uygulamalarına yeterince cevap vermemesi, yerleşim ve gelişim yeri itibarı ile özgün yapısı hastalığı yeni tedavi uygulamalarına aday yapmıştır. Gen tedavisi, fotodinamik tedavi ve immünoterapi tedavileri halen çalışma aşamasındadır (39).

Prognoz

MM'nın prognozu genel olarak iyi değildir. Yaşam süresi 6-17 ay arasında, ortalama 12 ay civarındadır. Erken dönem hastalığı olanlarda, genç hastalarda,

Karnofsky performans indeksi yüksek olanlarda prognoz diğerlerine göre nispeten daha iyidir. Serum LDH seviyesi >500 IU/L, serum trombosit sayısı >400.000, göğüs ağrısı, erkek cinsiyet ve yüksek kan beyaz küre sayısı kötü prognostik faktörlerdir (23, 39).

Tüm hastalarda beklenen yaşam oranları 2 yıl için %36; 5 yıl için %14'tür. EMM'da 2 yıllık yaşam beklentisi %52; 5 yıllık %21'dir. SMM veya MMM'larda 2 yıllık yaşam beklentisi %16, 5 yıllık %0'dır. Sugarbaker (57) çalışmasında cerrahi sınırları negatif, ektranodal tutulumu olmayan, epitelyal tipteki 31 hastada ortalama yaşam süresini 51 ay olarak saptamış olup, 2 yıllık yaşam süresini %68, 5 yıllık yaşam süresini ise %46 olarak bildirmektedir.

Patoloji

Makroskopik bulgular

Plevral MM'lar sağda daha sık görülür (sağ/sol:3/2). Bu durum sağ plevral kavitenin daha geniş bir yüzeyi olmasıyla açıklanmaktadır. Lezyon sıklıkla unilateral olmasına rağmen kontrateral plevral yüzeyde de histolojik olarak MM'nin bulunması nadir değildir. Plevra kalınlaşmıştır, kesit yüzeyi sert gri-beyaz renktedir ve mukoid materyal içeren kistik alanlar gösterebilir (19, 58).

Erken evrelerde MM paryetal ve bazen visseral plevrada çok sayıda küçük nodüller şeklinde bulunur. Daha geç dönemde nodüllerin birleşmesi ile akciğerleri saran ve komprese eden kabuk benzeri kitle meydana gelir. Tümörün en kalın olduğu yer genellikle akciğerlerin alt bölgeleri ve diafragma'dır. Özellikle desmoplastik varyantında tümör sert, sarımsı ve deri kumaş benzeri olabilir. Kötü diferansiye epitelyal tiplerde yumuşak veya jelatinöz olabilir, bu tiplerde bol miktarda dejenerasyon ve nekroz odakları görülür. Asbestozla ilişkili fibröz plaklarla tümörün iç içe geçmesinden dolayı makroskopik görünüm bazen oldukça karmaşık hal alabilir (1).

Yayılma sıklıkla göğüs duvarı içerisine diafragma'ya doğru akciğer alt kısmına, interlober fissürler arasına olur. Plevral effüzyon olabilir. Perikard, mediasten, myokard ve göğüs duvarı invazyonu görülebilir. MM, pulmoner parankim ile hiler ve mediastinal lenf nodlarına metastaz yapabilir. Tümör aort, özofagus ve diğer büyük damarları kuşatabilir (1, 19, 58).

Mikroskopik bulgular

MM'lar için histolojik derecelendirme kullanılmaz. Baskın malign elementin mikroskopik görünümüne göre dört alt tipe ayrılır; EMM, SMM, desmoplastik ve MMM. MM'larda büyüme şekli ve hücre kompozisyonu oldukça fazla çeşitlilik göstermektedir (19) .

Epiteloid mezotelyoma

En sık görülen tiptir. EMM, epiteloid sitomorfoloji gösterir. Çoğunlukla tekdüzedir ama nadiren anaplastik şekilleri görülür. EMM morfolojik açıdan çok çeşitlidir. Çoğu tümörde hücreler soluk nükleuslu, eozinofilik sitoplazmalıdır. Mitoz seyrek görülür. Kötü diferansiye formlarında nükleus belirgin bir nükleolusa sahiptir, mitoz sıktır ve multinükleer tümör dev hücreleri görülür (19, 58).

EMM'nın çeşitli histolojik tipleri vardır. En yaygın olanları, mezotelyal hücreleri andıran iyi diferansiye hücrelerden oluşan tübülopapiller, adenomatoid (mikroglandüler) ve solid tipleridir. Daha az görülen epiteloid formlar arasında şeffaf, desidüoid ve küçük hücre tipleri bulunur. Birkaç farklı morfolojik tip aynı tümör içinde görülebilir veya tek tip baskındır (59).

- Tübülopapiller tip

Tübülopapiller tip, en yaygın histolojik tiplerden biridir. Plevraya metastaz yapmış primer akciğer adenokarsinomundan ayırt edilmesi gerekir. Genellikle uniform, yassı, küboidal veya poligonal hücreler ile dōşeli trabekül, yarık, fibrovasküler merkezlere sahip papiller yapılar ve tübüllerin karışımından oluşur. Nadiren psammom cisimcikleri gözlenebilir (59).

- Adenomatoid (mikroglandüler) tip

İnce yassı-küboid hücreler, salgı bezi benzeri küçük yapılar oluştururlar. Diğer tiplerle birlikte görülür (59).

- Solid iyi-diferansiye tip

Neoplastik hücreler, kümeler, şeritler veya tabakalar halinde yer alır ve reaktif mezotel hücrelerini andırır. Belirgin nükleolusu bulunan yuvarlak, veziküler nüveli yoğun sitoplazmalı hücrelerdir. Mitoz genelde belirgin değildir (59).

- Solid az-diferansiye tip

Uniform nükleuslara sahip ve çoğunlukla tekdüze tabakalar halinde dizilmiş poligonal-yuvarlak hücrelerden oluşur. Lenfoma ve büyük hücreli karsinoma ile ayırıcı tanısının yapılması gerekir (59).

- Asiner (glandüler) tip

Asiner ya da salgı bezi benzeri yapılarla karakterizedir. Lümenler uzayabilir veya dallanabilir ve genelde tek tip olan kümeleşmiş küboidal hücrelerle çevrelenir (59).

- Şeffaf hücreli tip

Şeffaf sitoplazmaya sahip tümör hücreleriyle karakterizedir. Renal hücreli karsinom, akciğerin şeffaf hücreli karsinomları, şeffaf hücreli melanom gibi diğer şeffaf hücreli tümörlerden ayırt edilmesi gerekir (59).

- Desiduoid tip

İlk önceleri, kız çocukları ve genç kadınlarda iyi prognozlu peritoneal bir tümör olarak bildirilen desiduoid mezotelyoma, erkek ve daha yaşlı kadınlarda plevrada da tanımlanmıştır. Günümüzde desiduoid görünümünün prognostik bir öneme sahip olmadığı düşünülmektedir. Keskin sınırları, yoğun camsı eozinofilik sitoplazması ve belirgin nükleoluslu yuvarlak veziküler çekirdekleri olan desidual reaksiyonu anımsatan büyük yuvarlak-poligonal hücreler ile karakterizedir (59).

- Adenoid kistik tip

Fibröz bir stromayla ayrılan kribriiform ve tübüler yapılar ve değişen miktarda kronik inflamatuvar hücre varlığı ile karakterizedir (59).

- Taşlı yüzük tip

Sitoplazmik vakuoller içeren, taşlı yüzük hücrelerini andıran tümör hücreleri kümeler ya da tabakalar halinde bulunur (59).

- Küçük hücreli tip

Tümör hücreleri; yuvarlak nükleusları olan, nükleus-sitoplazma oranı yüksek, uniform, küçük ve yuvarlak hücrelerdir. Bu tip plevraya metastaz yapmış diğer küçük hücreli karsinomlardan ayırt edilmelidir (59).

Sarkomatoid mezotelyoma

SMM, gelişigüzel dağılıma sahip ya da fasiküller yapmış iğsi hücrelerden oluşur. Bu patern sıklıkla fibrosarkoma benzemekle birlikte belirgin anaplazi ve bizar multinükleuslu tümör hücrelerini içerdiğinde malign fibröz histiyositomaya çok benzeyen bir görünüme de yol açabilir. Olguların küçük bir kısmında osteosarkom, kondrosarkom ya da diğer sarkomlara benzer görünümmler olabilir. SMM'da tipik olarak görülen sitokeratin pozitifliği tanıda yararlıdır. Ender olgularda boyanma görülmeyebilir. Kondrosarkomatöz ya da osteosarkomatöz diferansiyasyonlu alanlar sitokeratinler açısından sıklıkla negatiftir. SMM'lar vimentin, aktin, desmin ya da S-100 için pozitiflik gösterebilirler. Bazı olgular kalretinin ile boyanabilir (19, 58, 59).

Desmoplastik mezotelyoma

Desmoplastik mezotelyomada tümörün en az %50'sini oluşturan yoğun kollajen dokusuyla ayrılmış, girdapsı veya gelişigüzel yerleşen atipik hücreler bulunur. Bu tümörler küçük biyopsi örneklerinde kolaylıkla plöritisle karışabilir. Malignite açısından şüphelendiren tanı kriterleri arasında sarkomatoid alanlar, nekroz, adipöz doku, iskelet kası veya akciğer dokusuna invazyon görülmesi ve uzak metastaz bulunur (21). Sitokeratin ile adipöz doku, iskelet kası veya akciğer içinde pozitiflik gösteren iğsi hücre invazyonunun varlığı tanıda büyük yarar sağlayabilir (19, 22).

Bifazik (mikst) mezotelyoma

MM %30 oranında hem epiteloid, hem de sarkomatoid tipleri birlikte içerir. Tümörü mikst olarak adlandırmak için her bir tipin tümörün en az %10'unu oluşturması gerekir. Mikst olarak sınıflandırılan tümörlerin görülme yüzdesi tümörün iyi örneklenmesi ile artar (19, 59).

Tümör yayılımı ve evreleme

MM, tipik olarak göğüs duvarının yağ ve kas dokusunu invaze eder. Diyafragmaya doğru yayılım asite ve tümörün peritona ekilmesine yol açabilir. Alveolar yüzeye infiltrasyon; organize pnömoni, deskuamatif interstisyel pnömoni ya da bronkioloalveolar karsinoma benzer histolojik paternlere neden olabilir. Bazen miliyer yayılım biçiminde peribronşial lenfovasküler yayılım ortaya çıkabilir. Tümör hematojen yol ile akciğer, karaciğer, böbrek üstü bezleri, kemik, beyin ya da böbreğe

metastaz yapabilir. Evreleme TNM sınıflandırmasına göre yapılır (Tablo 2.2) (1, 19, 22, 39, 58).

Tablo 2.2. Uluslararası Mezotelyoma Araştırma Grubu (IMIG) TNM Evreleme Sistemi.

| TNM | Açıklama |
|-----------------|--|
| T | Primer Tümör Yayılımı |
| T1a | Tümör visseral plevra tutulumu olmaksızın mediastinal ve diafragmatik plevra dahil olmak üzere aynı tarafın paryetal plevrasına sınırlıdır. |
| T1b | Tümör mediastinal ve diafragmatik plevra dahil olmak üzere aynı tarafın paryetal plevrasını, ayrıca visseral plevrayı da dağınık odaklar halinde tutmuştur. |
| T2 | Aşağıdaki özelliklerden en az biri ile birlikte tümör aynı taraf pleval yüzeylerin her birini tutmuştur (paryetal, mediastinal, diafragmatik ve visseral plevra): *Diafragmatik kas tutulumu *Visseral plevrada birleşik tümör (fissürler dahil) *Tümör visseral plevradan alttaki akciğer parankimi içerisine uzanmıştır. |
| T3 | Lokal ilerlemiş fakat potansiyel olarak rezektabl tümör, aşağıdaki özelliklerden en az biri ile birlikte tümör aynı taraf pleval yüzeylerin her birini tutmuştur (paryetal, mediastinal, diafragmatik ve visseral plevra): *Endotorasik fasya tutulumu *Mediastinal yağ tabakası içerisine uzanım *Soliter, göğüs duvarının yumuşak dokusu içerisine uzanan tamamen rezekte edilebilen tümör odağı *Nontransmural perikard tutulumu |
| T4 | Lokal ilerlemiş teknik olarak unrezekektabl tümör, aşağıdaki özelliklerden en az biri ile birlikte tümör aynı taraf pleval yüzeylerin her birini tutmuştur (paryetal, mediastinal, diafragmatik ve visseral plevra): *Kosta yıkımı olsun ya da olmasın göğüs duvarında multifokal kitleler ya da diffüz uzanım *Tümörün peritona direkt transdiafragmatik uzanımı *Tümörün karşı taraf plevraya direkt uzanımı *Tümörün bir ya da daha fazla mediastinal organa direkt uzanımı *Tümörün omurgaya direkt uzanımı: tümörün perikardiyal efüzyon olsun ya da olmasın perikardın internal yüzeyi boyunca uzanımı *Tümörün myokardı tutması |
| N | Lenf Nodu Tutulumu |
| Nx | Bölgesel lenf nodları değerlendirilemiyor |
| N0 | Bölgesel lenf nodu metastazı yok |
| N1 | Aynı taraf bronkopulmoner ya da hiler lenf nodu metastazı |
| N2 | Subkarinal ya da aynı taraf mediastinal lenf nodu metastazı, aynı taraf internal mammarian lenf nodu tutulumu |
| N3 | Karşı taraf mediastinal, karşı taraf internal mammarian, aynı taraf ya da karşı taraf supraklavikuler lenf nodu metastazı |
| M | Uzak Metastaz Durumu |
| Mx | Uzak metastaz varlığı değerlendirilemiyor |
| M0 | Uzak metastaz yok |
| M1 | Uzak metastaz var |
| Evreleme | Tümörün Nihai Yayılımı |
| Evre I | Ia: T1N0M0 Ib: T1bN0M0 |
| Evre II | T2N0M0 |
| Evre III | T3N0-2M0 T1-3N1M0 T1-3N2M0 |
| Evre IV | T4N0-3M0-1 T1-4N3M0-1 |

2.3.2. Ayırıcı Tanı

MM- Adenokarsinom histopatolojik ayrımı

MM'nin tanısında ve özellikle pulmoner adenokarsinomdan ayırımında immünohistokimya çok önemlidir. Tanıda iki ya da daha fazla pozitif ve iki ya da daha fazla negatif mezotelyal belirtecin kombinasyonunun kullanılması önerilmektedir. En yararlı pozitif mezotelyal belirteçler sitokeratin 5/6, mezotelin, kalretinin, trombomodulin ve Wilms tümör gen-1'dir (WT-1) (19, 60-63). En yararlı negatif mezotelyal belirteçler CEA (monoklonal), CD15, Ber EP4, B72-3, MOC-31 ve tiroid transkripsiyon faktör 1'dir (TTF- 1) (Tablo 2.3) (64). Gereken hallerde büyük hücreli lenfoma, metastatik malign melanom ve epitelooid hemanjiyoendotelyoma olgularını dışlamak için uygun diğer antikorlar panele eklenebilir.

Tablo 2.3. MM ve akciğer adenokarsinomu tanısında en fazla kullanılan immünohistokimyasal belirteçler.

| Malign Mezotelyoma | Pulmoner Adenokarsinom |
|---------------------------|-------------------------------|
| Sitokeratin 5/6 | Monoklonal CEA |
| Mezotelin | CD-15 |
| Kalretinin | Ber EP4 |
| Trombomodulin | B72-3 |
| WT-1 | MOC-31 |
| | TTF-1 |

Son yıllarda literatürde yer alan araştırmaların taranması ve yeniden değerlendirilmesiyle yapılan metaanaliz niteliğindeki çalışmalarda en az sayıda ve aynı zamanda en ucuz antikor panelinin saptanmasına yönelinmiştir (65). Bir çalışmada kalretinin, BG8 ve MOC31'den oluşan 3'lü antikor panelinin %96'dan daha yüksek bir duyarlılık ve özgüllük ile EMM'yı adenokarsinomdan ayırt edebildiği ifade edilmektedir (66). Daha önceki çalışmalarda elde edilen bulguların yeniden değerlendirilmesi ile 2 antikorlu bir panelin de MM adenokarsinom

ayrımında yeterli olabileceği sonucuna varılmıştır. Bu çalışmalarda kalretinin ve BerEp4'ten oluşan 2'li antikor paneli ile %93 duyarlılık ve %97 özgüllükte ayırıcı tanı yapılabildiği gösterilmiştir (67, 68).

Günümüzde MM tanısında yüksek düzeyde özgüllük ve duyarlılığı olan tek bir immünohistokimyasal mezotelyal belirteç yoktur (40). Bu nedenle malign bir plevral oluşumu RMH'den ayırt etmek öncelik kazanmaktadır (63). Normal mezotel hücreleri aşağıdaki immün profile sahiptir (Tablo 2.4)(69):

Tablo 2.4. Normal mezotel hücrelerinin immün profili.

| Pozitif Belirleyiciler | Negatif belirleyiciler | |
|----------------------------|------------------------|--------------|
| Kalretinin +++ | p53 | CD34 |
| D2-40 +++ | CD68 | Kromogranin |
| Pansitokeratin AE1/AE3 +++ | CD45 | Sinaptofizin |
| Pansitokeratin CAM5.2 +++ | CD45 RO | NSE |
| CK34Be12 +++ | Ber-EP 4 | CDX2 |
| CK5/6 ++ | CK20 | CD56 |
| CK7 ++ | EMA | HER 2 |
| CK8+++ | Desmin | MUC1 |
| CK18 +++ | CEA | MUC2 |
| CK19 ++ | CA19.9 | MUC5AC |
| Vimentin + | TTF-1 | MUC6 |
| Mezotelin | S-100 Proteini | CK14 |
| Mezotelyoma | Alfa düz kas aktin | |

RMH ile MM'nın histopatolojik ayrımı

İmmünohistokimyasal yöntemler proliferen olan hücrelerin mezotelyal yapısını saptamada yardımcı olmakla birlikte RMH ile MM ayrımında sınırlı bir değere

sahiptir. Pansitokeratin immünohistokimyasal belirteci invazyonun net bir biçimde ortaya konmasını sağlayarak tanıda faydalı olabilir. Bazı araştırmacılar p53 proteininin MM'da sıklıkla eksprese edilip RMH'de ekspresyonunun olmadığını bildirirse de, tersini ortaya koyan araştırmalar da mevcuttur (1). Dahası moleküler biyolojik yöntemler kullanılarak yapılan çalışmalar MM'da düşük bir p53 mutasyon oranı olduğunu ortaya çıkarmıştır. Bununla birlikte günümüz koşullarında proliferatif mezotel hücrelerinde p53 immün boyanmasının varlığı RMH'den ziyade MM'yı destekleyen bir bulgu olarak kabul görmektedir (1).

EMM'yı sitolojik atipiye sahip RMH'den ayırt etmek çok zor olabilir. Organize plörit (organize plörezi, fibröz plörezi) öncelikle desmoplastik MM olmak üzere SMM ile karıştırılabilir (3, 70). Bu gibi durumlarda yağ, kas veya akciğer dokusunun invazyonu kesin bir biçimde malignitenin en iyi göstergesidir (22). Aşağıdaki histopatolojik özellikler RMH'yi MM'dan ayırt etmede yardımcıdır (Tablo 2.5)(71):

- 1- Gerçek stromal invazyonun olmaması,
- 2- Göğüs duvarı boyunca fibrotik bir süreçle sonuçlanan zonal etkinin varlığı,
- 3- Sitolojik atipinin organize fibrinöz efüzyon alanlarına sınırlı olması,
- 4- Mezotelyal yüzeye dik kapillerlerin varlığı,
- 5- Nekrozun ve stromaya nodüler ekspansiyonun yokluğu,
- 6- Belirgin storiform paternin olmaması.

Tablo 2.5. RMH ve MM ayırıcı tanısında histopatolojik özellikler.

| RMH | MM |
|--|--|
| Stromal invazyonun olmaması | Belirgin stromal invazyon |
| Hücresellik belirgin olabilir fakat bu stromada değil de mezotelyal aralık içindedir | Stroma ile çevrili hücreleri de içeren dens hücresellik |
| Basit papillalar, tek hücre tabakaları | Kompleks papillalar, tübüller, hücresel sıralanma artışı |
| Stroması olmayan gevşek hücre grupları | Stromayla çevrili hücreler |
| Nekroz nadirdir | Nekroz vardır |
| İnflamasyon varlığı | Minimal inflamasyon |
| Uniform büyüme paterni | Ekspansif nodüller; organize olmayan büyüme paterni |
| Mitotik aktivite ve sitolojik atipi değişen oranlarda her iki durumda da bulunabileceğinden şiddetli olmadığı takdirde ayırıcı yardımcı değildir | |

RMH ile MM ayrımı için keratin, p53, epitelyal membran antijeni (EMA) ve desmin immünohistokimyasal belirleyicilerinin kullanılması önerilmiştir. MM'lar sıklıkla keratin, EMA ve p53 açısından immünreaktivite gösterirken, reaktif mezotelyal proliferasyonlar genellikle desmin immünreaktivitesi gösterirler ve keratin, p53 ve EMA ile fokal olarak boyanırlar (Tablo 2.6) (3, 70, 72).

Tablo 2.6. RMH ile MM'ların ayırıcı tanısında kullanılan immünohistokimyasal belirteçler.

| Antikor | RMH | MM |
|-----------------|-----|-----|
| Keratin AE1/AE3 | +/- | +++ |
| EMA | +/- | +++ |
| p53 | +/- | +++ |
| Desmin | +++ | +/- |

Bunun dışında RMH ve MM ayırımında yardımcı diğer teknikler arasında morfolometri, AgNOR, proliferen olan hücre antijen ekspresyonunun saptanması, hücre siklusu durumunun incelenmesi, P170 glikoproteini, p53 ve bcl-2 gen ürünlerinin gösterilmesi ve telomeraz reverse transkriptaz boyanması gibi yöntemler bulunmaktadır (22).

p53

İlk kez Lane ve Crowford tarafından nükleer bir fosfoprotein olarak tanımlanmıştır. p53 tümör supresör bir gen olup 17. kromozomun kısa kolunun 13.1 kodonunda yerleşir. p53 geninde mutasyonlar ise ilk kez 1989 yılında Baker ve ark. (73) tarafından rapor edilmiştir.

p53 geninin iki tipi vardır. Wild tip p53 normal fonksiyonel tiptir. Kısa ömürlü olup, ömrü 6-20 dakika kadardır. Dokularda saptanması zordur. Diğer tip ise mutant tip olup ömrü 3-6 saat kadardır. İmmünohistokimyasal olarak dokularda kolayca saptanır (4).

p53 genindeki değişiklikler insan tümörlerinde en sık rastlanılan genetik değişiklik olma özelliğini taşır. İlk tanımlandığı yıllarda sadece bir onkogen olarak görev yaptığı düşünülen p53 geninin daha sonraları sadece mutant formunun anormal hücre büyümesinde rol oynadığı, normal p53 geninin ise tümör oluşumunu baskıladığı anlaşılmıştır. Kolon, meme, akciğer, mesane, endometrium gibi birçok organın epitelyal tümörleri yanı sıra mezenkimal, nöronal ve lenfoid kökenli çeşitli tümörlerde p53 geninin homozigot kaybı saptanmıştır (4, 74).

p53 geninin mutasyona uğradığı ilk kez Vogelstein ve ark. tarafından kolorektal kanserlerde gösterilmiştir. Çeşitli mutasyonlar sonucu normal hücrelerde eksprese edilen p53 geninin iki allelinden biri kaybolmaktadır. p53 gen kaybı nokta mutasyon, delesyon, rearajman (yeniden düzenleme), insersio (ekleme) ile olmaktadır. p53 geninde görülen en önemli mutasyon şekli nokta mutasyondur. Gen mutasyonları özellikle DNA'ya spesifik bağlanma bölgeleri olan 100-300 aminoasit bölgeleri arasında gelişir (73).

p53 genini diğer tümör baskılayıcı genlerden ayıran en önemli özellik, tümör baskılayıcı fonksiyonunun kaybı için hücrede tek bir allelin inaktivasyonunun yeterli olmasıdır. Bunun nedeni bazı mutant p53 proteinlerinin hücresel ısı şok proteini ile bağlanması, bunlara normal p53 proteinin de bağlanıp uzun yarı ömürlü fonksiyon görmeyen kompleksler oluşturmasıdır. Sonuçta mutant p53 proteini normal p53 proteinini inaktive etmiş olur. Bir mutant ve bir normal allel taşıyan hücre hiç fonksiyonel p53 proteini yokmuş gibi davranır ve normal allelin fonksiyonunu engeller. Nokta mutasyon sonucu konformasyon değişikliği olan p53 proteininin yarı ömrü 3-6 saate kadar uzar ve bu nedenle normal p53'ten farklı olarak immünohistokimyasal olarak saptanabilir (73, 75).

p53 hücrede normal koşullarda bazal seviyede ve inaktif halde bulunur. Fizyolojik şartlar altında yaşam süresi 20 dakika gibi oldukça kısadır ve ubiquitin aracılığıyla proteolize uğrar, hücre bölünmesine ya da hücrenin hayatını sürdürmesine müdahale etmez. Normal bölünen hücrede p53'ün seviyesinin bu şekilde düşük fakat sabit bir seviyede tutulması p53'ün Mouse Double Minute 2 (MDM2) adlı proteinle olan döngü halindeki ilişkisi sayesinde sağlanır yani p53'ü bazal seviyede MDM2 proteini tutar. Stres koşullarında p53 miktarı hızla artar ve p53 aktif hale gelir. p53 aktivitesinin iki temel etkisi vardır:

- Hücre siklusunu bloke ederek büyümenin durdurulması
- Apoptozis

p53, oluşan DNA hasarına verilen yanıtta hücre siklusunda kontrol noktasında görevlidir. Tümör supresör gen olmasının yanı sıra farklı genlerde transkripsiyonu aktive eden multifonksiyonel proteinleri kodlar. Bu genler hücre siklus arresti veya DNA tamir genleri ve apoptozisi düzenleyen genlerdir. p53, siklin bağımlı kinaz inhibitörü olan DNA sentezini durduran, DNA hasarına hücre

siklusunun duraklatılması yanıtını verdiren p21 transkripsiyonunu indükler. Ek olarak p53'ün transkripsiyondan bağımsız fonksiyonları da vardır (76).

Aktive p53'ün kaybı veya fonksiyonunu kaybetmesi hücrede genetik hasar ile birlikte kontrolsüz replikasyona neden olabilir. Bu durum diğer protoonkogen veya tümör supresör genlere zarar vermiş ise tümör gelişimi söz konusu olabilir (77).

Birçok tümörün yanı sıra p53 MM'larda da immünohistokimyasal olarak saptanabilmektedir. Yapılan çalışmaların çoğunda RMH' ye nazaran MM'da belirgin p53 immünreaktivitesi varlığı ve p53'ün benign ve malign mezotelyal proliferasyonların ayırımında kullanılabileceği bildirilmektedir (6).

Osteopontin

Kemik metabolizmasında önemli rolü olan, kalsiyum bağlayan bir ekstrasellüler matriks molekülü olan osteopontin, multifonksiyonel, kollajenöz olmayan, sialik asitten zengin, glikolize olmuş kemokin benzeri bir fosfoproteindir. İdrar, kan, gastrointestinal traktüs, pankreas, akciğerler ve birçok yerde geniş dağılım göstermektedir (7).

Ekstrasellüler matriksteki hücre göçü ve yıkımı tümör gelişimi için en önemli adımlardır. Bu durum matriks metalloproteinazları da dahil olmak üzere çeşitli matriks yıkım proteazları, büyüme faktörleri, sitokinler ve ekstrasellüler matriks proteinleri tarafından regüle edilir. Moleküler düzeyde hücresel adezyon ve migrasyon, doku onarımı ve sinyal iletimindeki etkisiyle birçok kanserin invazyon ve metastazında fonksiyonu olduğundan metastaz potansiyelini ölçmede çok önemli rol oynar. Kemikte ilk kez tanımlanmasından beri osteopontinin çok farklı fonksiyonlarına yönelik yoğun araştırmalar bulunmaktadır. Osteopontinin bazı patofizyolojik rolleri arasında onkogenез ve tümör progresyonu, inflamasyon ve immünite, kemiğin yeniden yapılanması, anjiyogenez, apoptozisin inhibisyonu bulunmaktadır. Bazal membran da dahil olmak üzere proteolitik enzimler ile ekstrasellüler matriksin yıkımı ve yeniden yapılanması kanser invazyonu ve metastaz gelişiminde gerekli basamaklar olduğu için osteopontin hücre proliferasyonundan hücre göçü ve invazyonuna kadar değişen bir çok metastaz basamağında yer almaktadır (8, 78-80).

Çeşitli malignitelerde osteopontinin yüksek oranda salındığı gösterilmiştir. Yüksek osteopontin salınımı, meme, prostat kanseri, osteosarkom, glioblastom, yassı

hücreli karsinom ve melanomda belirleyici rol alır. Meme, akciğer ve prostat kanserli hastalarda serum osteopontin düzeyleri kontroller ile karşılaştırıldığında yüksek bulunmuştur. Dolaşan kanda osteopontin molekülleri kanser hücreleri ile endotelial hücreler arasında karşılıklı etkileşimde bulunabilir. Öyle ki; osteopontinin artmış salınımı uzak dokularda kanser invazyonu, ekstrasvazasyon ve kolonizasyonu regüle edebilir. Osteopontinin tümör gelişiminde anjiyogenez için de gerekli olduğu yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (8, 79-81).

Osteopontin aynı zamanda immün sistemi stimule ederek önemli bir tümör baskılayıcı fonksiyon üstlenebilmektedir (82).

Osteopontinin MM ve akciğer kanserinde de aşırı olarak üretildiğini gösteren çalışmalar bulunmaktadır (83, 84).

Osteopontinin çeşitli biyolojik etkilerinin olması bu sitokinin aktivitesinin farklı mekanizmalar ile düzenlendiğini düşündürmektedir. Osteopontin regülasyonunun olası mekanizmalarından biri, pre mRNA'sının farklı şekillerde uç birleşmeleriyle farklı protein izoformlarının oluşumudur. Osteopontin geninin 3 farklı protein örneği kodlayan 3 major RNA izoformu ürettiği bilinmektedir. Bu proteinler arasında osteopontin A tam uzunlukta olandır. B ve C proteinleri ise bazı ekzonları atlayarak daha kısa varyantları oluştururlar. Osteopontin A proteini mRNA'nın A (1-6 ekzonlar), osteopontin B mRNA'nın B (1-3,5,6 ekzonları) ve osteopontin C mRNA'nın C izoformları tarafından kodlanır (1,2,4-6 ekzonları) (84).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışmaya Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Etik Kurulu'nun 31 Ocak 2011 tarih ve 9 no'lu sayı kararı ile onay alındıktan sonra 2004-2011 yılları arasında Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim dalında tanı alan 20 (%20) RMH ve 80 (%80) MM [53 (%66.3)EMM, 15 (%18.7) MMM ve 12 (%15) SMM] olgusu dahil edildi. RMH olguları, takiplerinde 2012 yılına kadar malignite gelişmemiş olgular arasından seçildi. Olgulara ait bilgiler hasta dosyalarından ve patoloji raporlarından elde edildi. Olgulara ait arşivdeki HXE kesitleri tekrar incelenerek histopatolojik özellikleri gözden geçirildi.

Yirmi adet (%20) RMH ve 80 adet (%80) MM olgusundan lezyonu en iyi gösteren kesitler seçildi. Uygun parafin bloklardan hazırlanan ortalama 4µ kalınlığındaki kesitler, osteopontin (Novocastra, Clone OP3N) ve p53 (Thermo) monoklonal antikoları kullanılarak labelled streptavidin-biotin peroksidaz immünohistokimyasal boyama yöntemi ile boyandı. Pozitif kontrol olarak osteopontin için safra kesesi, p53 için kolon karsinomu kullanıldı.

3.1. Boyama Yöntemi

- 1- Poly-L-Lysin'li lamlara parafin bloklardan ortalama 4 µ' luk kesitler alındı.
- 2- Deparafinizasyon işlemi için kesitler etüvde 60°C de 1 saat bekletildikten sonra sırasıyla 5'er dakika süre ile 3 kez taze ksilolden, 3'er dakika süre ile 2'şer kez absölü ve %96'lık alkoller ile distile sudan geçirildi.
- 3- EDTA buffer (pH:8.0) 1/10 dilüe solüsyonu içinde yüksek basınçlı bir ortamda maskelenmiş antijenleri açığı çıkartma işlemi uygulandı.
- 4- Hidrojen peroksit (%3) ile endojen peroksidaz aktivitesini inhibe etmek için oda sıcaklığında 10 dakika inkübe edildi.
- 5- Distile su ile 10 saniye iki kez yıkandı.
- 6- Fosfat buffer salin (pH: 7.4) ile 5 dakika 2 kez yıkandı.
- 7- Kesitler protein bloke edici ajan ile 5 dakika oda sıcaklığında inkübe edildi.
- 8- Kesitlere primer antikor osteopontin ve p53 damlatılıp 60 dakika oda sıcaklığında inkübe edildi.

- 9- Fosfat buffer salin (pH:7.4) ile 5 dakika süre ile 2 kez yıkandı.
- 10- Sekonder antikör (Biotinylated second antibody) ile oda sıcaklığında 10 dakika inkübe edildi.
- 11- Fosfat buffer salin (pH:7.4) ile 5 dakika süre ile 2 kez yıkandı.
- 12- Kesitlere streptavidin damlatıldı ve 10 dakika inkübe edildi.
- 13- Fosfat buffer salin (pH:7.4) ile 5 dakika süre ile 2 kez yıkandı.
- 14- AEC (Thermo) kromojen solüsyonu kullanımdan yarım saat önce taze olarak hazırlandı. Karıştırma kabı içerisine sırasıyla AEC substrattan 1ml, AEC kromojenden 50µl ilave edilip karıştırıldı ve kullanıldı. Kesitler üzerine hazırlanan kromojen solüsyonu damlatılıp oda sıcaklığında 5 dakika bekletildi.
- 15- Distile su ile 3 dakika süreyle 2 kez yıkandı.
- 16- Doku kesitleri üzerine Hematoksilen solüsyonu dökülüp 1 dakika bekletilerek zıt boyama yapıldı.
- 17- Kesitler 3 dakika süre ile 2 kez distile suda yıkandı.
- 18- Preparatlar havada kurutuldu.
- 19- Kesitler üzerine aqueous mounting medium damlatılıp lamel ile kapatıldı (Thermo).

p53 ve osteopontin ekspresyonunun semikantitatif yöntemle değerlendirilmesi

p53 antikoru ile spesifik boyanma nükleer boyanma şeklinde idi. p53 ekspresyonu aşağıdaki gibi değerlendirildi: negatif, hücre boyanması yok; 1, hücrelerin %25'inden azında boyanma; 2, %25-50 hücrede boyanma ve 3, %50'den fazla hücrede boyanma (6).

Osteopontin ile spesifik boyanma sitoplazmik boyanma şeklinde idi. Osteopontin boyanması aşağıdaki gibi değerlendirildi: negatif, hücre boyanması yok;1, hücrelerin %25'inden azında boyanma; 2, %25-50 hücrede boyanma ve 3, %50'den fazla hücrede boyanma (85).

Boya değerlendirmeleri ilgili tez danışmanı ile birlikte çift başlı mikroskop (Nikon Eclipse E600) kullanılarak yapıldı.

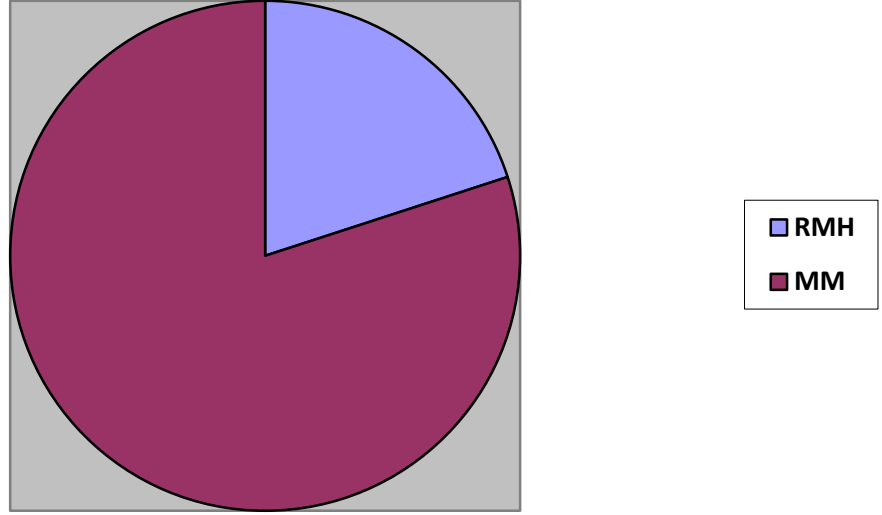
3.2. İstatistiksel Değerlendirme

RMH ve MM grupları ile MM'nın alt tipleri arasındaki p53 ve osteopontin antikor ekspresyonunun karşılaştırılması ile p53 ve osteopontin ekspresyonu arasındaki korelasyonun değerlendirilmesi IBM SPSS 20.0 paket programıyla ki-kare analizleri (Pearson ki-kare, Yates' ki-kare ve Exact ki-kare testleri) kullanılarak yapıldı. $p < 0.05$ istatistiksel olarak anlamlı olarak kabul edildi.

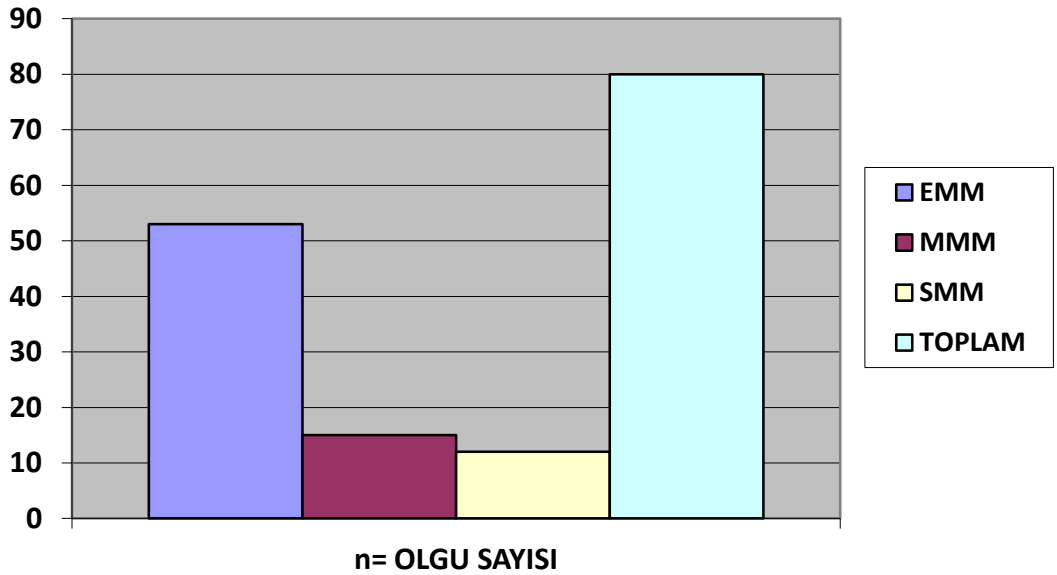
4. BULGULAR

Olguların Yaş ve Cinsiyet Dağılımı

Çalışmaya, 20 (%20) RMH ile çeşitli histopatolojik alt tiplere ait 80 (%80) MM olgusu dahil edildi (Şekil 4.1). MM'lı hastaların; 53'ü (%66.3) EMM, 15'i (%18.7) MMM ve 12'si (%15) SMM idi (Şekil 4.2).

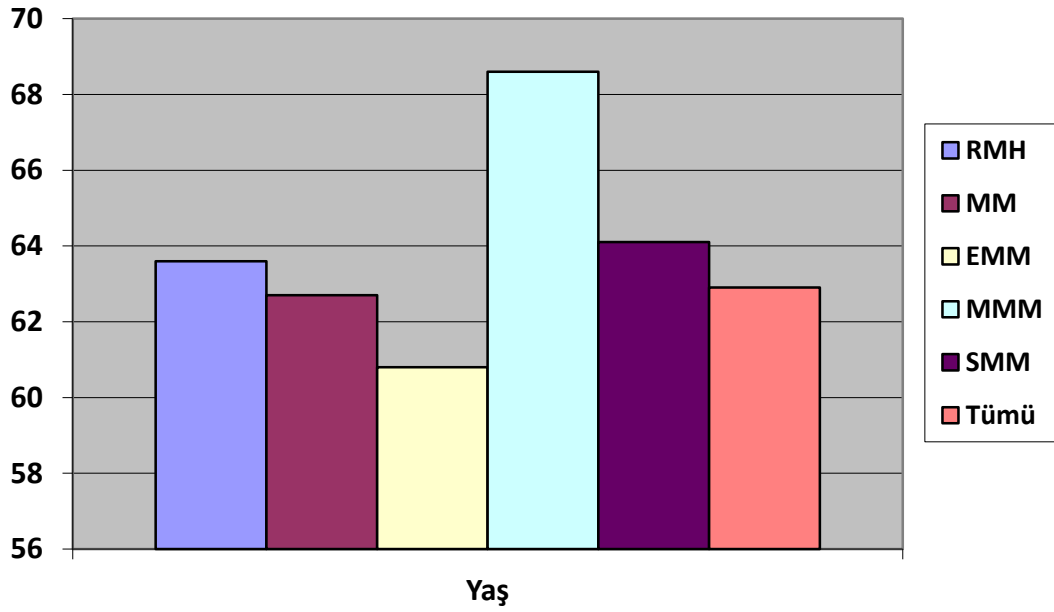


Şekil 4.1. Olguların gruplara göre dağılımı.



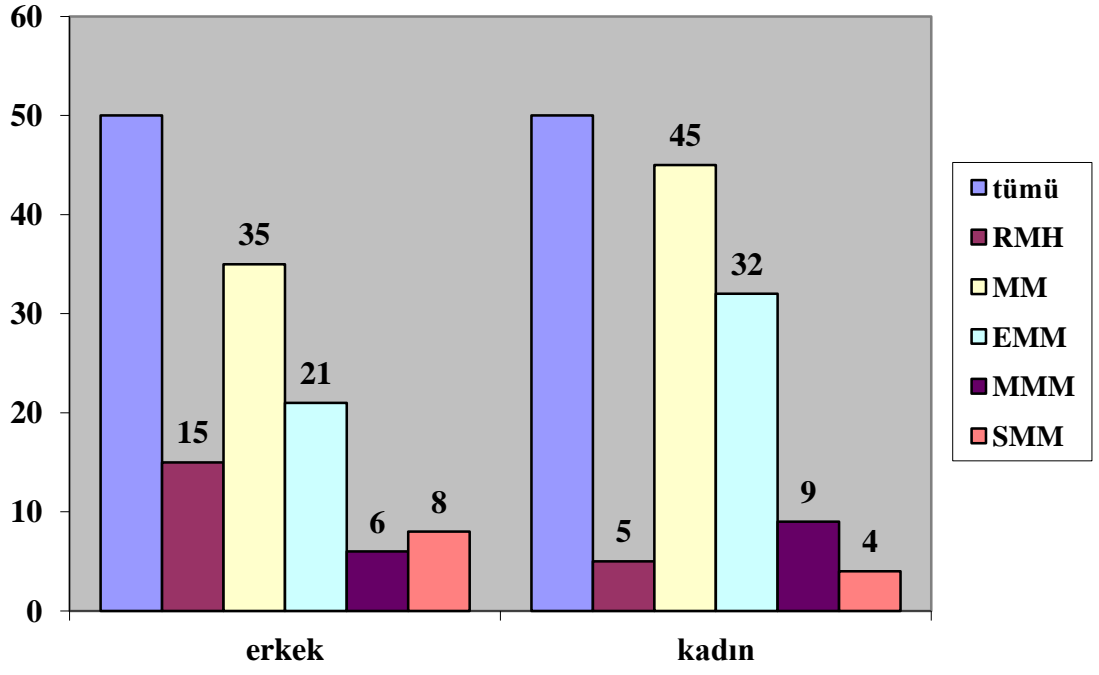
Şekil 4.2. MM olgularının alt tiplere göre dağılımı.

Çalışmaya alınan hastaların yaşları 29 ile 85 arasında değişmekte idi. Yaş ortalaması 62.9, standart sapması 12.3'tü (62.9+/-12.3). RMH grubunun yaş ortalaması 63.6 iken, MM'ların yaş ortalaması 62.7 idi. MM'ların histopatolojik alt tiplerinin yaş ortalamaları değerlendirildiğinde EMM'ların yaş ortalaması 60.8, MMM'ların yaş ortalaması 68.5, SMM'ların yaş ortalaması ise 64.1 idi. Bu bulgular Şekil 4.3'te özetlenmiştir.



Şekil 4.3. RMH ve MM alt tiplerinde olguların yaş dağılımı.

Hastaların 50'si (%50) erkek, 50'si (%50) kadındı. RMH'lerin cinsiyet dağılımı 15 (%75) erkek, 5 (%25) kadın, MM'lardaki cinsiyet dağılımı ise 35 (%43.75) erkek, 45 (56.25) kadın şeklinde idi. EMM'larda; 21 (%39.62) erkek, 32 (%60.38) kadın, MMM'larda; 6 (%40) erkek, 9 (%60) kadın, SMM'larda; 8 (%66.7) erkek, 4 (%33.3) kadın mevcut idi. Olgu grubunun cinsiyet dağılımı Şekil 4.4'te görülmektedir.



Şekil 4.4. RMH ve MM alt tiplerinde olguların cinsiyet dağılımı.

Tablo 4.1. Olguların özellikleri.

| Sıra No | Dosya No | Biyopsi No | Yaş | Cins | Tanı | p53 Boyanma Düzeyi | Osteopontin Boyanma Düzeyi |
|---------|----------|------------|-----|------|------|--------------------|----------------------------|
| 1 | 319488 | 1262/08 | 74 | E | RMH | Negatif | 2 |
| 2 | 727603 | 17385/09 | 73 | E | RMH | 1 | 3 |
| 3 | 875104 | 8824/09 | 62 | K | RMH | Negatif | 3 |
| 4 | 837300 | 8495/09 | 71 | K | RMH | Negatif | 2 |
| 5 | 875148 | 9949/09 | 55 | E | RMH | Negatif | 3 |
| 6 | 688596 | 4586/08 | 76 | E | RMH | Negatif | 3 |
| 7 | 51592 | 9735/08 | 82 | E | RMH | Negatif | 3 |
| 8 | 835124 | 10435/08 | 49 | K | RMH | 1 | 3 |
| 9 | 285114 | 17805/08 | 54 | E | RMH | Negatif | 3 |
| 10 | 882098 | 9990/09 | 79 | E | RMH | Negatif | 3 |
| 11 | 880280 | 11914/09 | 61 | E | RMH | Negatif | 3 |
| 12 | 858958 | 405/09 | 51 | K | RMH | Negatif | Negatif |
| 13 | 863837 | 1888/09 | 61 | E | RMH | Negatif | 2 |
| 14 | 865653 | 5246/09 | 61 | E | RMH | Negatif | 2 |
| 15 | 672364 | 13300/06 | 46 | E | RMH | Negatif | Negatif |
| 16 | 778554 | 2855/07 | 59 | E | RMH | Negatif | 3 |
| 17 | 787068 | 6485/07 | 64 | E | RMH | Negatif | 3 |
| 18 | 334207 | 1919/10 | 63 | K | RMH | 1 | 3 |
| 19 | 135549 | 394/10 | 62 | E | RMH | 2 | 3 |

Tablo 4.1. Olguların özellikleri (devamı)

| | | | | | | | |
|----|--------|------------|----|---|-----|---------|---------|
| 20 | 931143 | 11082/10 | 69 | E | RMH | Negatif | 3 |
| 21 | 776659 | 3860/08 | 64 | K | EMM | 1 | Negatif |
| 22 | 830562 | 6065/08 | 67 | K | EMM | 2 | Negatif |
| 23 | 456432 | 3241/07 | 62 | K | EMM | 3 | 2 |
| 24 | 764801 | 13746/06 | 49 | K | EMM | 2 | 2 |
| 25 | 759488 | 9738/06 | 51 | K | EMM | 2 | 3 |
| 26 | 723434 | 12677/06 | 73 | K | EMM | 3 | Negatif |
| 27 | 768837 | 13184/06 | 44 | K | EMM | 3 | 3 |
| 28 | 597432 | 995/07 | 59 | K | EMM | 3 | 1 |
| 29 | 415488 | 4865/07 | 73 | E | EMM | 2 | 3 |
| 30 | 787001 | 5375/07 | 35 | E | EMM | 2 | 3 |
| 31 | 214942 | 12336/07 | 70 | K | EMM | Negatif | 1 |
| 32 | 637946 | 14232/07 | 60 | E | EMM | Negatif | 1 |
| 33 | 756255 | 1622-8/07 | 35 | K | EMM | 2 | 2 |
| 34 | 776620 | 2143/07 | 74 | K | EMM | 2 | 2 |
| 35 | 692994 | 11310/04 | 67 | K | EMM | Negatif | Negatif |
| 36 | 756277 | 7332/06 | 47 | K | EMM | Negatif | Negatif |
| 37 | 768847 | 13244-5/06 | 81 | K | EMM | Negatif | Negatif |
| 38 | 771383 | 13643/06 | 72 | K | EMM | Negatif | Negatif |
| 39 | 790580 | 8086/07 | 65 | E | EMM | Negatif | 1 |
| 40 | 795846 | 10086/07 | 66 | E | EMM | 2 | 2 |
| 41 | 818140 | 17549/07 | 68 | E | EMM | Negatif | 1 |
| 42 | 824848 | 3355/08 | 55 | E | EMM | Negatif | Negatif |

Tablo 4.1. Olguların özellikleri (devamı)

| | | | | | | | |
|----|--------|------------|----|---|-----|---------|---------|
| 43 | 785600 | 5605/07 | 81 | E | EMM | Negatif | 1 |
| 44 | 814524 | 16465/07 | 58 | K | EMM | Negatif | 2 |
| 45 | 830599 | 6274/08 | 61 | E | EMM | Negatif | 1 |
| 46 | 382152 | 6816/08 | 70 | K | EMM | 2 | Negatif |
| 47 | 756215 | 9169-70/06 | 76 | E | EMM | 1 | 1 |
| 48 | 815399 | 745-6/08 | 33 | K | EMM | 1 | Negatif |
| 49 | 722892 | 3483/10 | 68 | K | EMM | Negatif | 3 |
| 50 | 841818 | 11475/08 | 29 | K | EMM | Negatif | 2 |
| 51 | 420091 | 19355/09 | 63 | E | EMM | 2 | 3 |
| 52 | 764814 | 4305/08 | 76 | K | EMM | 1 | 2 |
| 53 | 776569 | 5250-1/08 | 57 | K | EMM | 2 | 2 |
| 54 | 875001 | 7082/09 | 66 | E | EMM | 1 | 1 |
| 55 | 890984 | 17269/09 | 73 | K | EMM | 3 | 2 |
| 56 | 227435 | 1698-01/09 | 47 | K | EMM | 1 | 1 |
| 57 | 903037 | 20176/09 | 37 | K | EMM | 2 | 3 |
| 58 | 867192 | 4231/09 | 54 | E | EMM | 2 | 1 |
| 59 | 764811 | 7231/09 | 69 | E | EMM | 1 | Negatif |
| 60 | 875195 | 6870/09 | 66 | K | EMM | 3 | 2 |
| 61 | 914217 | 4392/10 | 66 | K | EMM | Negatif | Negatif |
| 62 | 875180 | 10891/09 | 55 | E | EMM | 3 | Negatif |
| 63 | 135867 | 11298/09 | 53 | E | EMM | 2 | 1 |
| 64 | 837295 | 3910/09 | 71 | K | EMM | 3 | 2 |

Tablo 4.1. Olguların özellikleri (devamı)

| | | | | | | | |
|----|--------|------------|----|---|-----|---------|---------|
| 65 | 624143 | 14104/09 | 42 | K | EMM | Negatif | 2 |
| 66 | 37144 | 17326/08 | 81 | K | EMM | 1 | 2 |
| 67 | 568375 | 9102/08 | 68 | K | EMM | 2 | 3 |
| 68 | 882188 | 13406/09 | 46 | E | EMM | 1 | 2 |
| 69 | 816453 | 7905/08 | 70 | E | EMM | 2 | 2 |
| 70 | 903123 | 18752/09 | 43 | E | EMM | 2 | 1 |
| 71 | 890993 | 17065/09 | 75 | E | EMM | 3 | 3 |
| 72 | 513870 | 15023/08 | 72 | K | EMM | 1 | 2 |
| 73 | 100390 | 14306/11 | 56 | E | EMM | 3 | 2 |
| 74 | 616299 | 3402/07 | 61 | K | MMM | 2 | 2 |
| 75 | 808096 | 15085-6/07 | 73 | E | MMM | Negatif | 2 |
| 76 | 756281 | 8311/06 | 73 | E | MMM | 2 | 3 |
| 77 | 768844 | 13296/06 | 60 | K | MMM | Negatif | 1 |
| 78 | 475905 | 10575/07 | 59 | K | MMM | 3 | 1 |
| 79 | 177268 | 11953-8/07 | 67 | K | MMM | Negatif | 3 |
| 80 | 157497 | 14465/08 | 58 | E | MMM | 2 | Negatif |
| 81 | 906450 | 1742/10 | 61 | K | MMM | 1 | 3 |
| 82 | 920899 | 6786/10 | 69 | K | MMM | 2 | 3 |
| 83 | 834764 | 9359/08 | 73 | K | MMM | 3 | 1 |
| 84 | 131937 | 12169/08 | 85 | E | MMM | 2 | 2 |
| 85 | 727603 | 18574-5/09 | 73 | E | MMM | Negatif | 2 |
| 86 | 882216 | 9519/09 | 75 | K | MMM | 2 | 3 |

Tablo 4.1. Olguların özellikleri (devamı)

| | | | | | | | |
|-----|--------|------------|----|---|-----|---------|---------|
| 87 | 912067 | 9183/10 | 65 | E | MMM | 1 | 1 |
| 88 | 995672 | 18081/11 | 76 | K | MMM | 3 | 2 |
| 89 | 815639 | 6135/08 | 39 | E | SMM | Negatif | Negatif |
| 90 | 787004 | 6450/07 | 60 | K | SMM | 2 | 2 |
| 91 | 369872 | 7646/07 | 68 | K | SMM | 3 | 3 |
| 92 | 764896 | 11369/06 | 67 | E | SMM | 3 | Negatif |
| 93 | 763551 | 13435/08 | 51 | K | SMM | 2 | 1 |
| 94 | 866582 | 17201/09 | 46 | K | SMM | Negatif | 1 |
| 95 | 671786 | 12468/09 | 80 | E | SMM | 2 | 3 |
| 96 | 771836 | 5107/10 | 80 | E | SMM | Negatif | 2 |
| 97 | 107622 | 10639-0/10 | 55 | E | SMM | 3 | 3 |
| 98 | 979243 | 9391/11 | 72 | E | SMM | 2 | 2 |
| 99 | 502925 | 2789/11 | 71 | E | SMM | 3 | 3 |
| 100 | 718683 | 4972/10 | 80 | E | SMM | 2 | 3 |

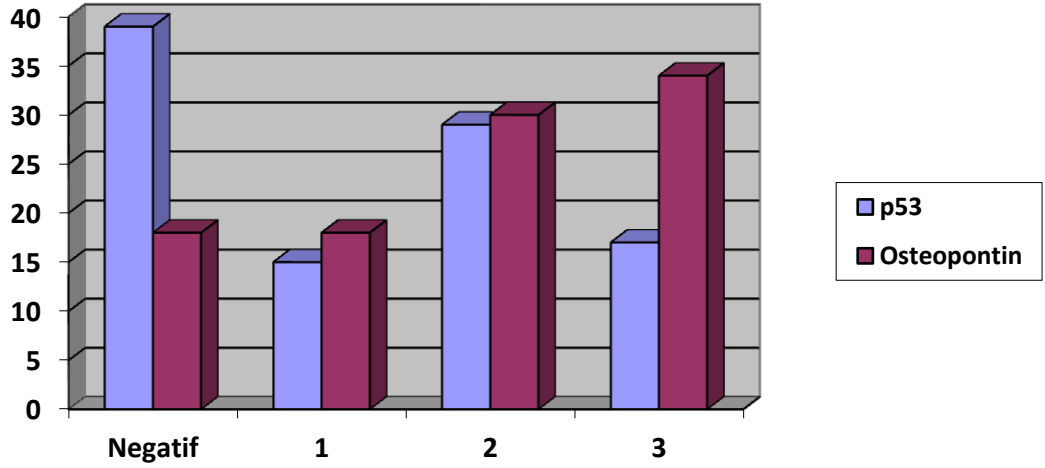
4.1. Tüm Olgulardaki p53 ve Osteopontin Ekspresyonlarının Dağılımı

Semikantitatif olarak p53 açısından grup ayrımı olmaksızın tüm olgular değerlendirildiğinde; 39'unda (%39) ekspresyon olmadığı, 15'inin (%15)1, 29'unun (%29) 2 ve 17'sinin (%17) 3 düzeyinde ekspresyon gösterdiği izlenmiştir.

Semikantitatif olarak osteopontin açısından grup ayrımı olmaksızın tüm olgular değerlendirildiğinde; 18'inde (%18) ekspresyon olmadığı, 18'inin (%18) 1 düzeyinde, 30'unun (%30) 2 düzeyinde ve 34'ünün (%34) 3 düzeyinde ekspresyon gösterdiği saptanmıştır. Bu bulgular Tablo 4.2 ve Şekil 4.5'de görülmektedir.

Tablo 4.2. Tüm olgularda p53 ve osteopontin ekspresyon dağılımı.

| | p53 | | Osteopontin | |
|---------|-----|-----|-------------|-----|
| | n | % | n | % |
| Negatif | 39 | 39 | 18 | 18 |
| 1 | 15 | 15 | 18 | 18 |
| 2 | 29 | 29 | 30 | 30 |
| 3 | 17 | 17 | 34 | 34 |
| Toplam | 100 | 100 | 100 | 100 |



Şekil 4.5. Tüm olgularda p53 ve osteopontin ekspresyon dağılımı.

4.2. Gruplardaki p53 Ekspresyonları

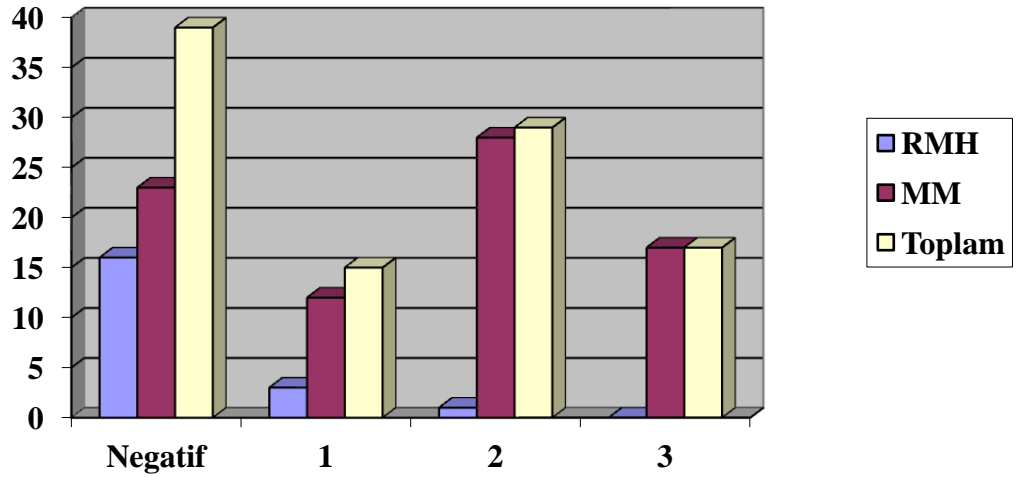
p53'ün RMH ve MM olgularındaki semikantitatif ekspresyon yüzdelerine bakıldığında, uygulanan Pearson ki-kare testi sonucunda iki grup arasında anlamlı farklılık olduğu saptanmıştır ($p < 0.001$). p53'ün RMH olgularının 16'sında (%80) ve MM olgularının 23'ünde (%28.8) ekspresyon gösterdiği saptanmıştır. RMH olgularının 3'ünde (%15) ve MM olgularının 12'sinde (%15) 1 düzeyinde ekspresyon izlenmiştir. RMH olgularının 1'inde (%5) ve MM olgularının 28'inde (%35) 2 düzeyinde ekspresyon saptanmıştır. 3 düzeyinde p53 boyanması RMH

olgularının hiçbirinde (%0) görülmezken, MM olgularının 17'sinde (%21.2) görülmüştür. Bu bulgular Tablo 4.3 ve şematik olarak Şekil 4.6'da görülmektedir.

Tablo 4.3. RMH ve MM olgularında p53 ekspresyonu.

| p53 | RMH | | MM | | Toplam N |
|---------|-----|-----|----|------|-------------|
| | N | % | n | % | |
| Negatif | 16 | 80 | 23 | 28.8 | 39 |
| 1 | 3 | 15 | 12 | 15 | 15 |
| 2 | 1 | 5 | 28 | 35 | 29 |
| 3 | 0 | 0 | 17 | 21.2 | 17 |
| Toplam | 20 | 100 | 80 | 100 | 100 |

Exact ki-kare testi: $df=3$, $p<0.001$



Şekil 4.6. RMH ve MM olgularında p53 ekspresyonu.

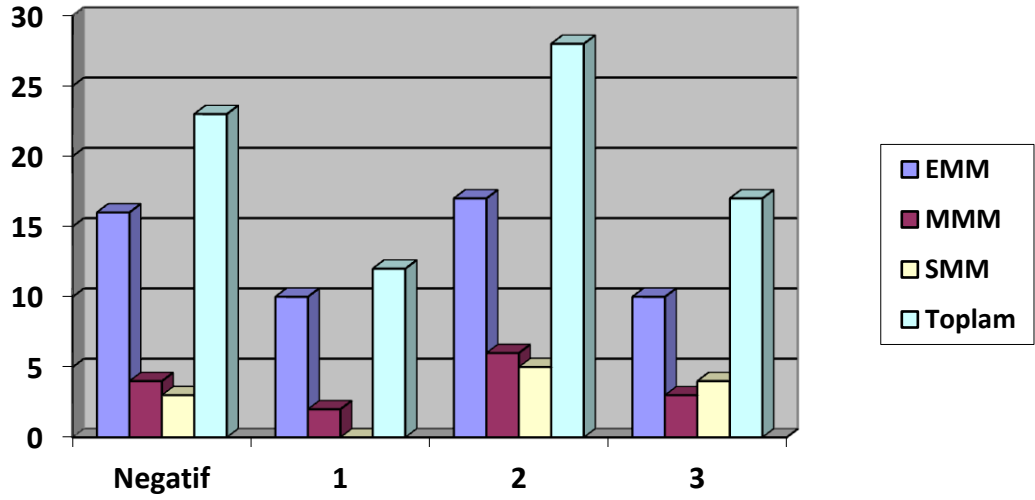
p53'ün MM'nin histopatolojik alt tipleri arasındaki ekspresyon dağılımına bakıldığında; EMM'lerin 10'unda (%18.9) ve MMM'lerin 2'sinde (%13.3) 1 düzeyinde ekspresyon izlenmiştir. p53, EMM'lerin 17'sinde (%32.1), MMM'lerin 6'sında (%40) ve SMM'lerin 5'inde (%41.7) 2 düzeyinde ekspresyon göstermiştir. 3 düzeyinde p53 ekspresyonu, EMM'larda 10 (%18.9), MMM'larda 3 (%20) ve SMM'larda 4 (%33.3) olguda saptanmıştır.

Bu dağılıma uygulanan Pearson ki-kare testinde MM alt tipleri arasında p53 ekspresyonu açısından anlamlı bir fark görülmemiştir ($p=0.719$) (Tablo 4.4, Şekil 4.7).

Tablo 4.4. p53'ün MM alt tiplerindeki ekspresyon dağılımı.

| p53 | Negatif | | 1 | | 2 | | 3 | |
|--------|---------|------|----|------|----|------|----|------|
| | n | % | n | % | n | % | n | % |
| EMM | 16 | 30.2 | 10 | 18.9 | 17 | 32.1 | 10 | 18.9 |
| MMM | 4 | 26.7 | 2 | 13.3 | 6 | 40 | 3 | 20 |
| SMM | 3 | 25 | 0 | 0 | 5 | 41.7 | 4 | 33.3 |
| Toplam | 23 | 28.8 | 12 | 15 | 28 | 35 | 17 | 21.2 |

Exact ki-kare testi: $df=6$, $p=0.719$



Şekil 4.7. p53'ün MM alt tiplerindeki ekspresyon dağılımı.

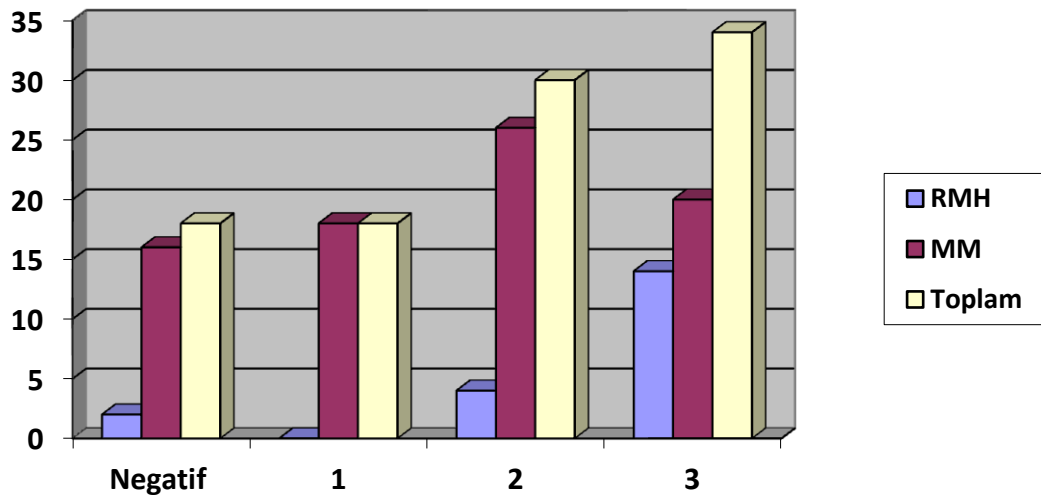
4.3. Gruplardaki Osteopontin Ekspresyonları

Osteopontinin RMH ve MM olgularındaki semikantitatif ekspresyon yüzdelerine bakıldığında, uygulanan Pearson ki-kare testi sonucunda iki grup arasında anlamlı farklılık olduğu görülmüştür ($p < 0.001$). Osteopontinin RMH olgularının 2'sinde (%10) ve MM olgularının 16'sında (%20) ekspresyon göstermediği saptanmıştır. RMH olgularının hiçbirinde (%) 1 düzeyinde ekspresyon görülmezken MM olgularının 18'inde (%22.5) 1 düzeyinde ekspresyon izlenmiştir. RMH olgularının 4'ünde (%20) ve MM olgularının 26'sında (%32.5) 2 düzeyinde ekspresyon görülmüştür. Osteopontin ile 3 düzeyinde ekspresyon, RMH olgularının 14'ünde (%70), MM olgularının 20'sinde (%25) saptanmıştır. Bu bulgular Tablo 4.5 ve Şekil 4.8'de görülmektedir.

Tablo 4.5. RMH ve MM olgularında osteopontin ekspresyonu.

| Osteopontin | RMH | | MM | | Toplam N |
|-------------|-----|-----|----|------|-------------|
| | n | % | n | % | |
| Negatif | 2 | 10 | 16 | 20 | 18 |
| 1 | 0 | 0 | 18 | 22.5 | 18 |
| 2 | 4 | 20 | 26 | 32.5 | 30 |
| 3 | 14 | 70 | 20 | 25 | 34 |
| Toplam | 20 | 100 | 80 | 100 | 100 |

Exact ki-kare testi: $df=3$, $p<0.001$



Şekil 4.8. RMH ve MM olgularında osteopontin ekspresyonu.

Osteopontinin MM'nın histopatolojik alt tipleri arasındaki ekspresyon dağılımına bakıldığında; EMM'ların 13'ünde (%24.5), MMM'ların 1'inde (%6.7) ve SMM'ların 2'sinde (%16.7) ekspresyon olmadığı görülmüştür. Osteopontin, EMM'ların 12'sinde (%22.6), MMM'ların 4'ünde (%26.7) ve SMM'ların 2'sinde (%16.7) 1 düzeyinde ekspresyon göstermiştir. Osteopontin ile EMM'ların 18'inde

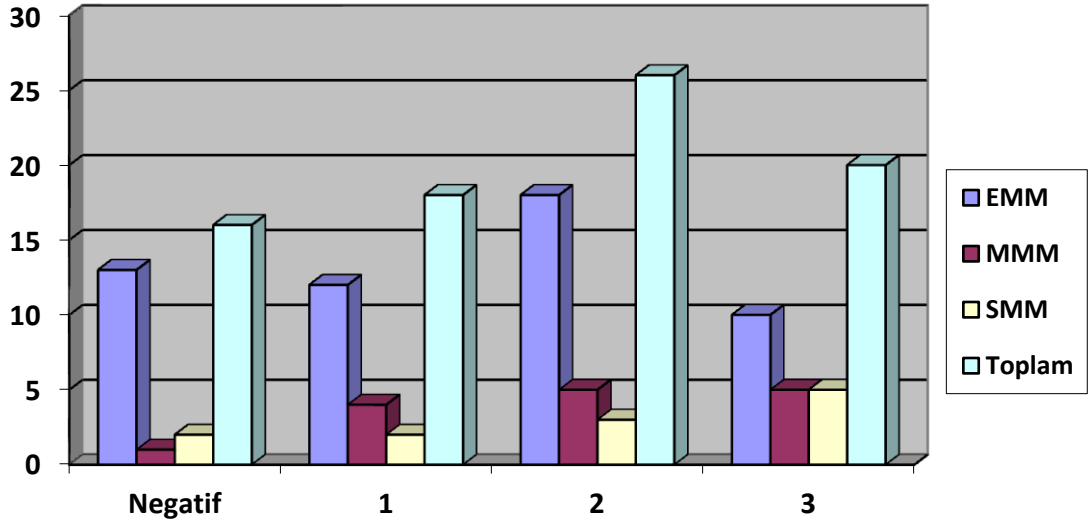
(%34), MMM'ların 5'inde (%33.3) ve SMM'ların 3'ünde (%25) 2 düzeyinde ekspresyon görülmüştür. 3 düzeyinde osteopontin ekspresyonu; EMM'larda 10 (%18.9), MMM'larda 5 (%33.3) ve SMM'larda 5 (%41.7) olguda saptanmıştır.

Bu dağılıma uygulanan Exact ki-kare testinde MM alt tipleri arasında anlamlı bir osteopontin ekspresyon farkı görülmemiştir ($p=0.560$). Bu bulgular Tablo 4.6 ve Şekil 4.9'da görülmektedir.

Tablo 4.6. Osteopontinin MM alt tiplerindeki ekspresyon dağılımı.

| Osteopontin | Negatif | | 1 | | 2 | | 3 | |
|-------------|---------|------|----|------|----|------|----|------|
| | n | % | n | % | n | % | n | % |
| EMM | 13 | 24.5 | 12 | 22.6 | 18 | 34 | 10 | 18.9 |
| MMM | 1 | 6.7 | 4 | 26.7 | 5 | 33.3 | 5 | 33.3 |
| SMM | 2 | 16.7 | 2 | 16.7 | 3 | 25 | 5 | 41.7 |
| Toplam | 16 | 20 | 18 | 22.5 | 26 | 32.5 | 20 | 25 |

Exact ki-kare testi: df_6 , $p=0.560$



Şekil 4.9. Osteopontinin MM alt tiplerindeki ekspresyon dağılımı.

4.4. p53 ve Osteopontin Ekspresyonlarının Korelasyon Sonuçları

RMH olgularında p53 ile osteopontin ekspresyonları arasında korelasyon olup olmadığı Exact ki-kare testi ile değerlendirildi. Arada anlamlı bir korelasyon olmadığı görüldü ($p=0.775$). Bu bulgular Tablo 4.7’de görülmektedir.

Tablo 4.7. RMH olgularında p53 ile osteopontin ekspresyonları arasındaki korelasyon.

| Osteopontin | p53 | | | | Toplam |
|-------------|---------|---|---|---|--------|
| | Negatif | 1 | 2 | 3 | N |
| Negatif | 2 | 0 | 0 | 0 | 2 |
| 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 2 | 4 | 0 | 0 | 0 | 4 |
| 3 | 10 | 3 | 1 | 0 | 14 |
| Toplam | 16 | 3 | 1 | 0 | 20 |

Exact ki-kare testi: $df=4$, $p=0.775$

MM olgularında p53 ile osteopontin ekspresyonları arasında korelasyon olup olmadığı Exact ki-kare testi ile değerlendirildi. Arada anlamlı bir korelasyon olmadığı görüldü ($p=0.327$). Bu bulgular Tablo 4.8’de görülmektedir.

Tablo 4.8. MM olgularında p53 ile osteopontin ekspresyonları arasındaki korelasyon.

| Osteopontin | p53 | | | | Toplam N |
|-------------|---------|----|----|----|-------------|
| | Negatif | 1 | 2 | 3 | |
| Negatif | 7 | 3 | 3 | 3 | 16 |
| 1 | 7 | 4 | 4 | 3 | 18 |
| 2 | 6 | 4 | 10 | 6 | 26 |
| 3 | 3 | 1 | 11 | 5 | 20 |
| Toplam | 23 | 12 | 28 | 17 | 80 |

Exact ki-kare testi: $df=4$, $p=0.775$

EMM olgularında p53 ile osteopontin ekspresyonları arasında korelasyon olup olmadığı Exact ki-kare testi ile değerlendirildi. Arada anlamlı bir korelasyon olmadığı görüldü ($p=0.309$). Bu bulgular Tablo 4.9’da görülmektedir.

Tablo 4.9. EMM olgularında p53 ile osteopontin ekspresyonları arasındaki korelasyon.

| Osteopontin | p53 | | | | Toplam n |
|-------------|---------|----|----|----|-------------|
| | Negatif | 1 | 2 | 3 | |
| Negatif | 6 | 3 | 2 | 2 | 13 |
| 1 | 5 | 3 | 3 | 1 | 12 |
| 2 | 3 | 4 | 6 | 5 | 18 |
| 3 | 2 | 0 | 6 | 2 | 10 |
| Toplam | 16 | 10 | 17 | 10 | 53 |

Exact ki-kare testi: $df=4$, $p=0.775$

MMM olgularında p53 ile osteopontin ekspresyonları arasında korelasyon olup olmadığı Exact ki-kare testi ile değerlendirildi. Arada anlamlı bir korelasyon olmadığı görüldü ($p=0.654$). Bu bulgular Tablo 4.10'da görülmektedir.

Tablo 4.10. MMM olgularında p53 ile osteopontin ekspresyonları arasındaki korelasyon.

| Osteopontin | p53 | | | | Toplam N |
|-------------|---------|---|---|---|-------------|
| | Negatif | 1 | 2 | 3 | |
| Negatif | 0 | 0 | 1 | 0 | 1 |
| 1 | 1 | 1 | 0 | 2 | 4 |
| 2 | 2 | 0 | 2 | 1 | 5 |
| 3 | 1 | 1 | 3 | 0 | 5 |
| Toplam | 4 | 2 | 6 | 3 | 15 |

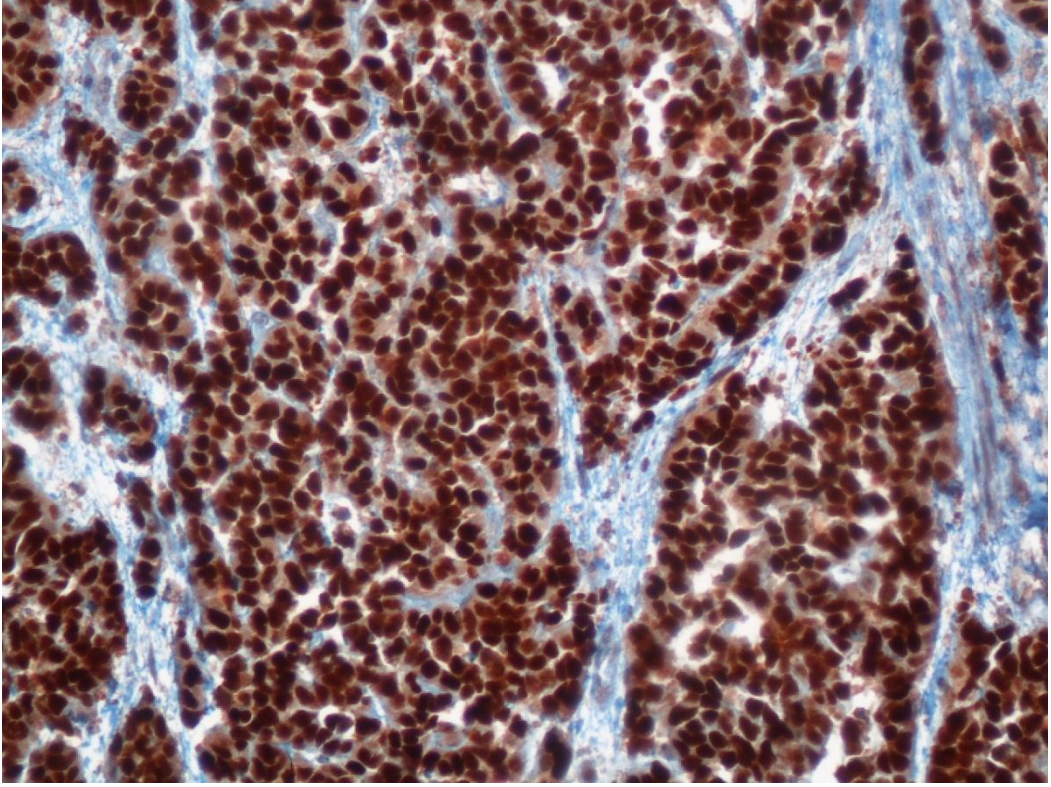
Exact ki-kare testi: $df=4$, $p=0.775$

SMM olgularında p53 ile osteopontin ekspresyonları arasında korelasyon olup olmadığı Exact ki-kare testi ile değerlendirildi. Arada anlamlı bir korelasyon olmadığı görüldü ($p=0.481$). Bu bulgular Tablo 4.11’de görülmektedir.

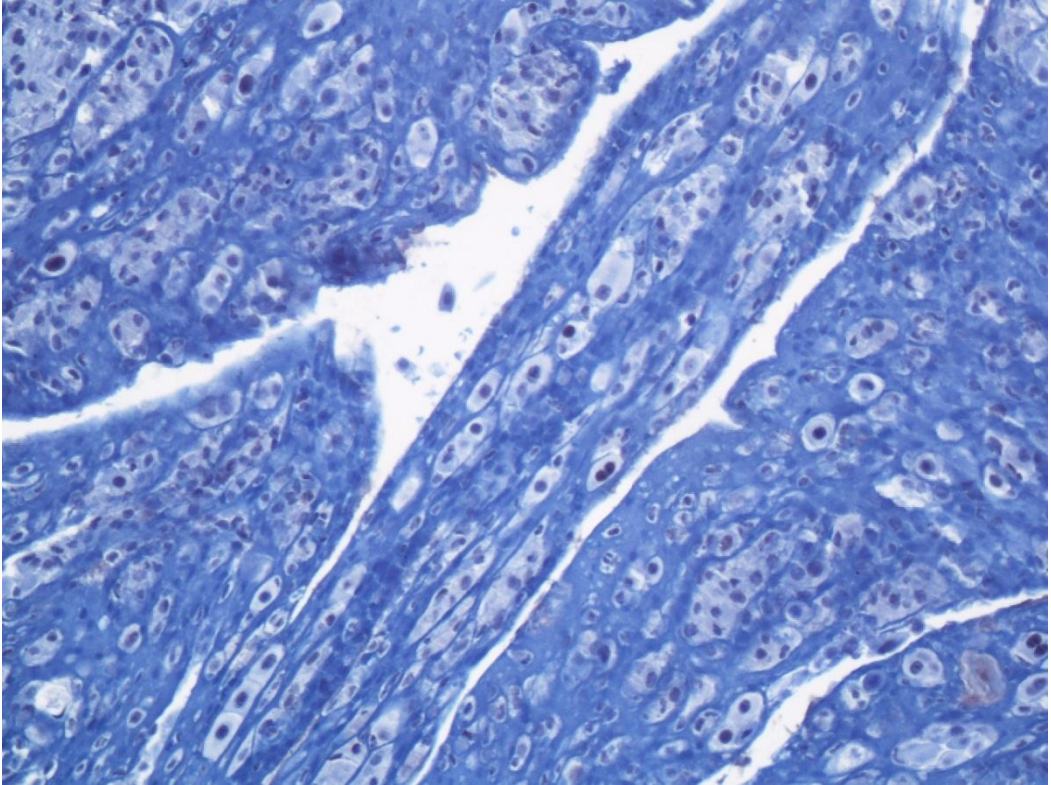
Tablo 4.11. SMM olgularında p53 ile osteopontin ekspresyonları arasındaki korelasyon.

| Osteopontin | p53 | | | | Toplam |
|-------------|---------|---|---|---|--------|
| | Negatif | 1 | 2 | 3 | N |
| Negatif | 1 | 0 | 0 | 1 | 2 |
| 1 | 1 | 0 | 1 | 0 | 2 |
| 2 | 1 | 0 | 2 | 0 | 3 |
| 3 | 0 | 0 | 2 | 3 | 5 |
| Toplam | 3 | 0 | 5 | 4 | 12 |

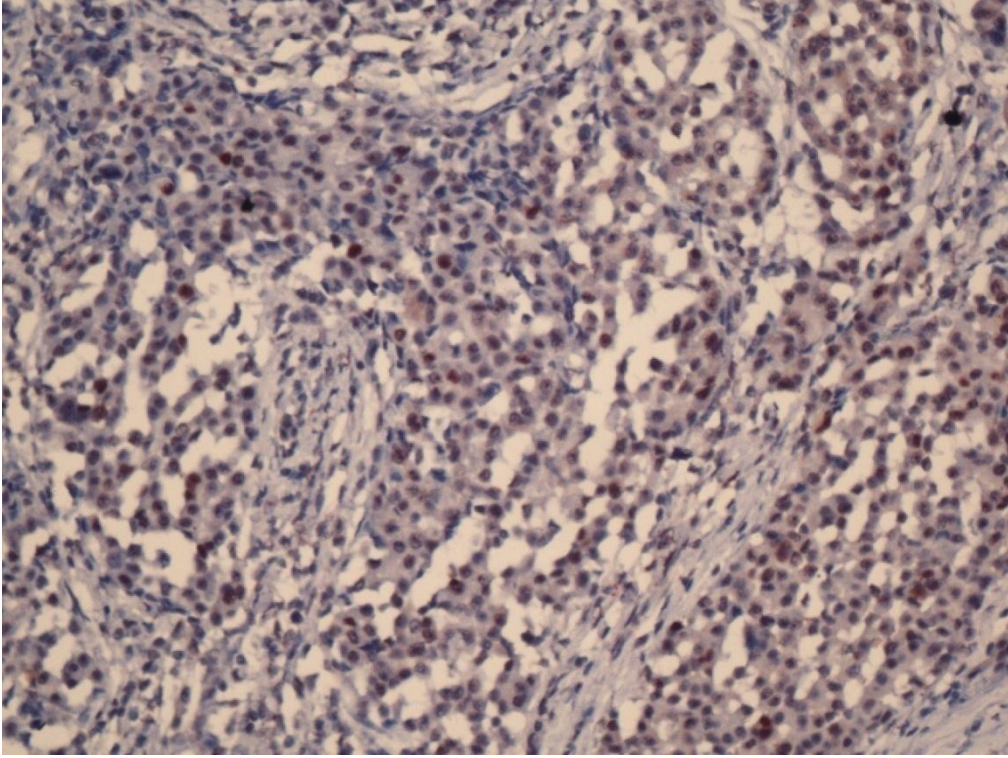
Exact ki-kare testi: $df=4$, $p=0.775$



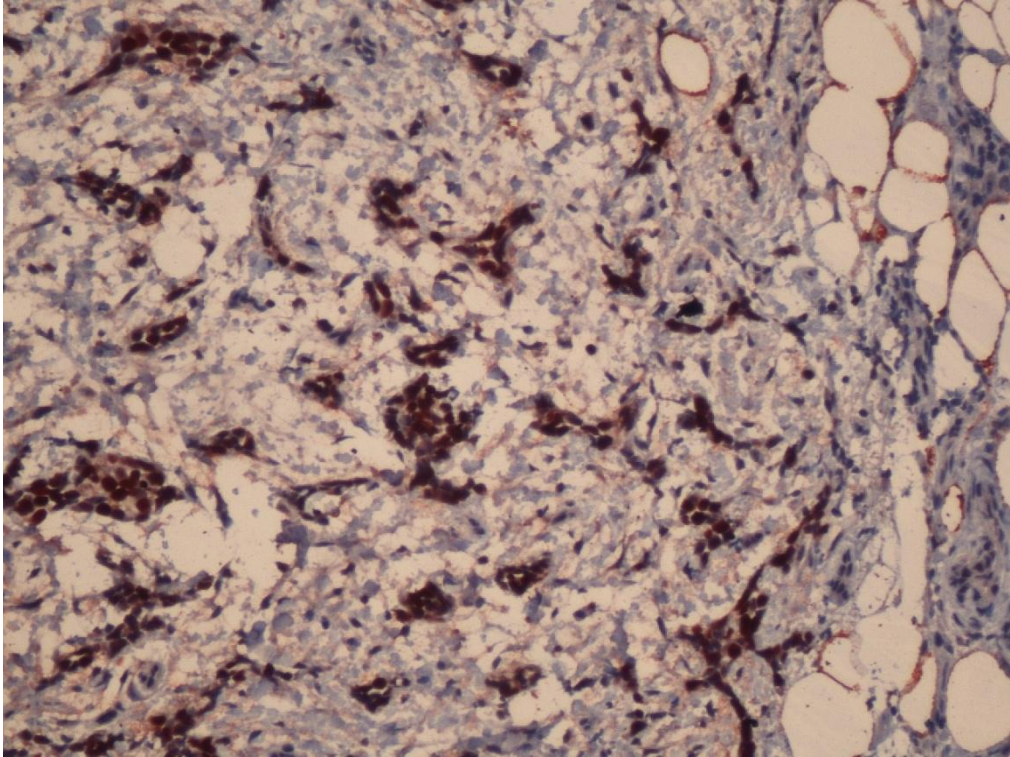
Şekil 4.10. Kontrol olarak kullanılan kolon kanserinde nükleer p53 ekspresyonu (x200).



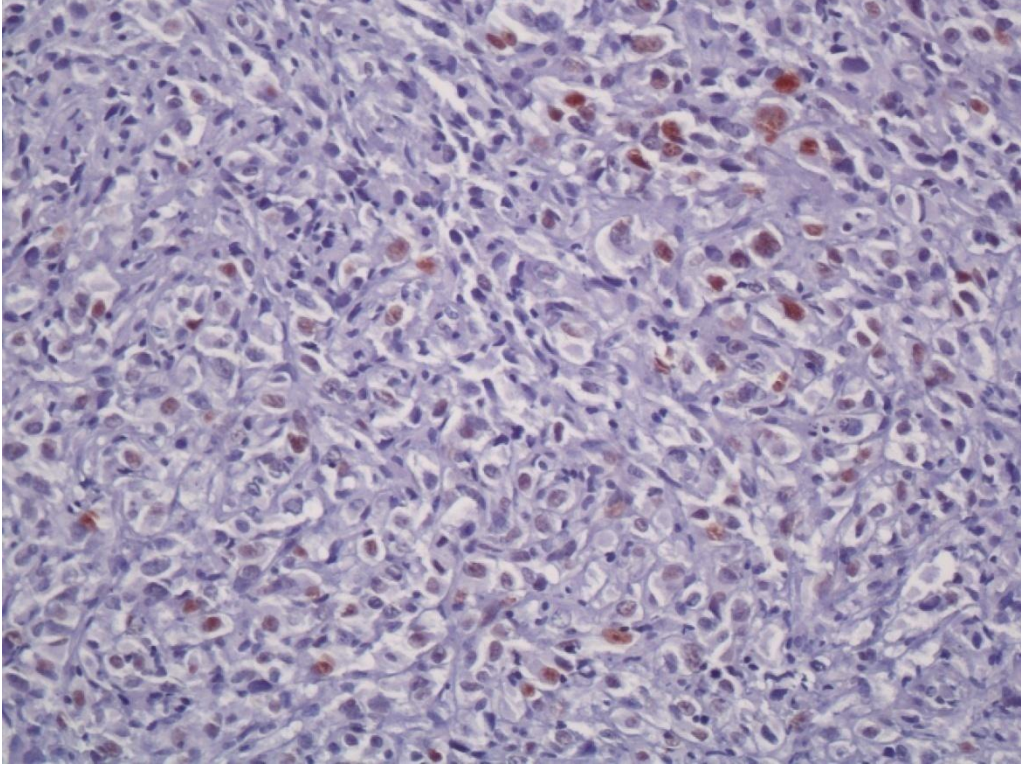
Şekil 4.11.RMH'de 1 düzeyinde nükleer p53 ekspresyonu (x200).



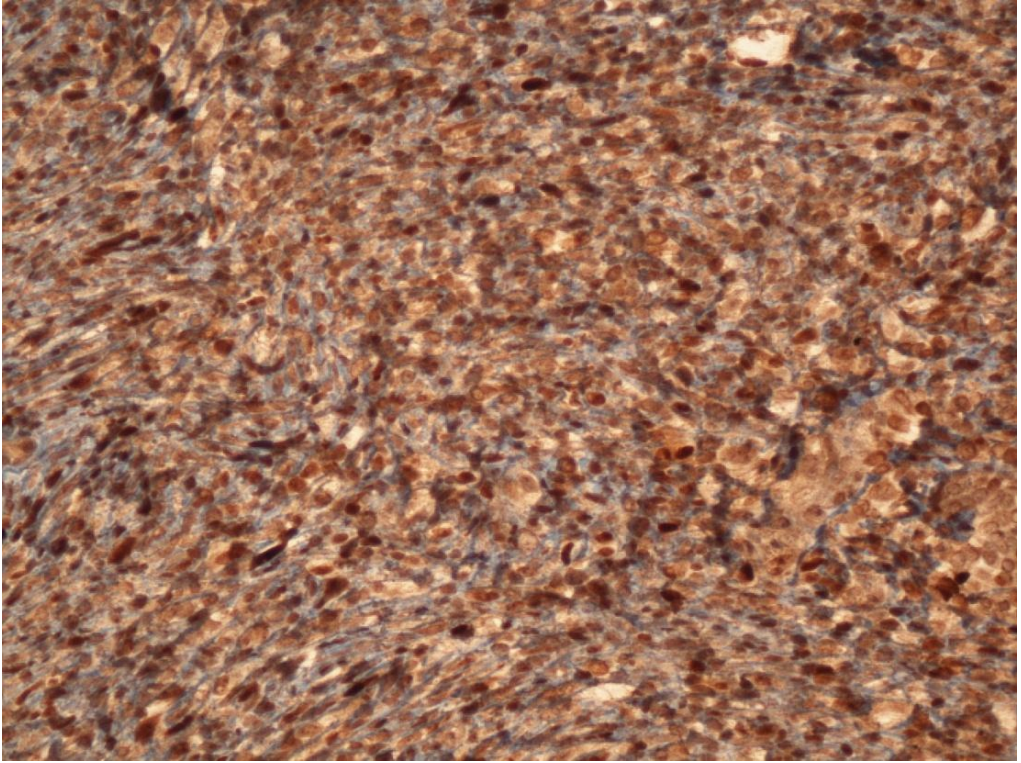
Şekil 4.12. EMM'da 2 düzeyinde nükleer p53 ekspresyonu (x200).



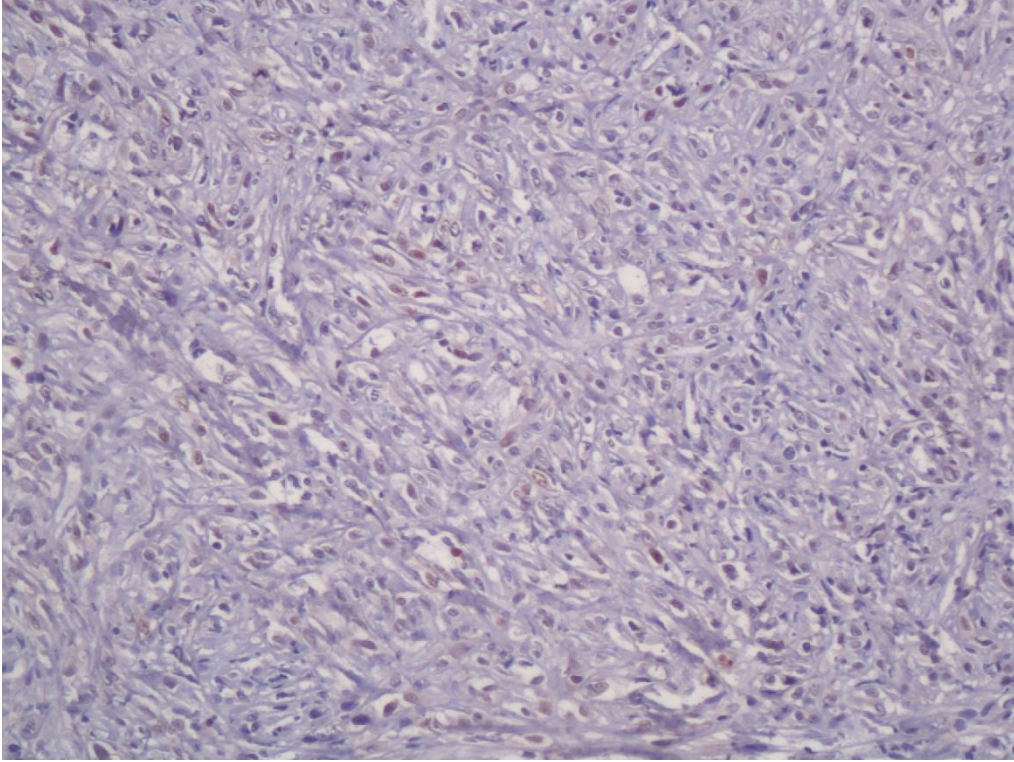
Şekil 4.13. EMM'da 3 düzeyinde nükleer p53 ekspresyonu (x200).



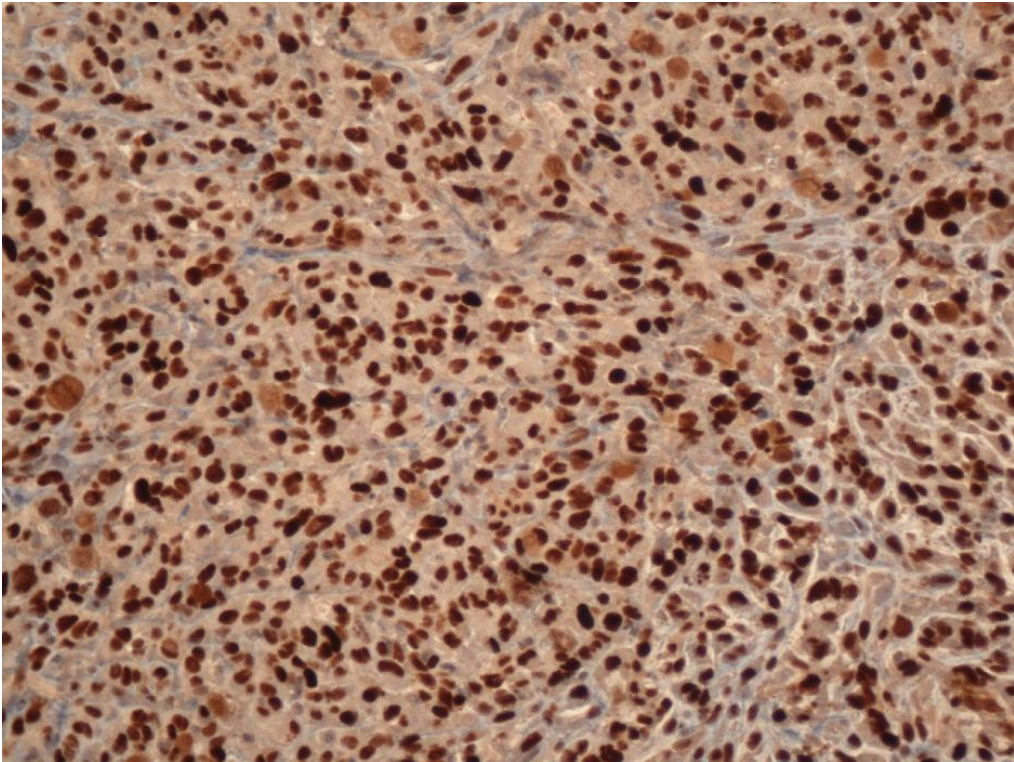
Şekil 4.14. MMM'da 2 düzeyinde nükleer p53 ekspresyonu (x200).



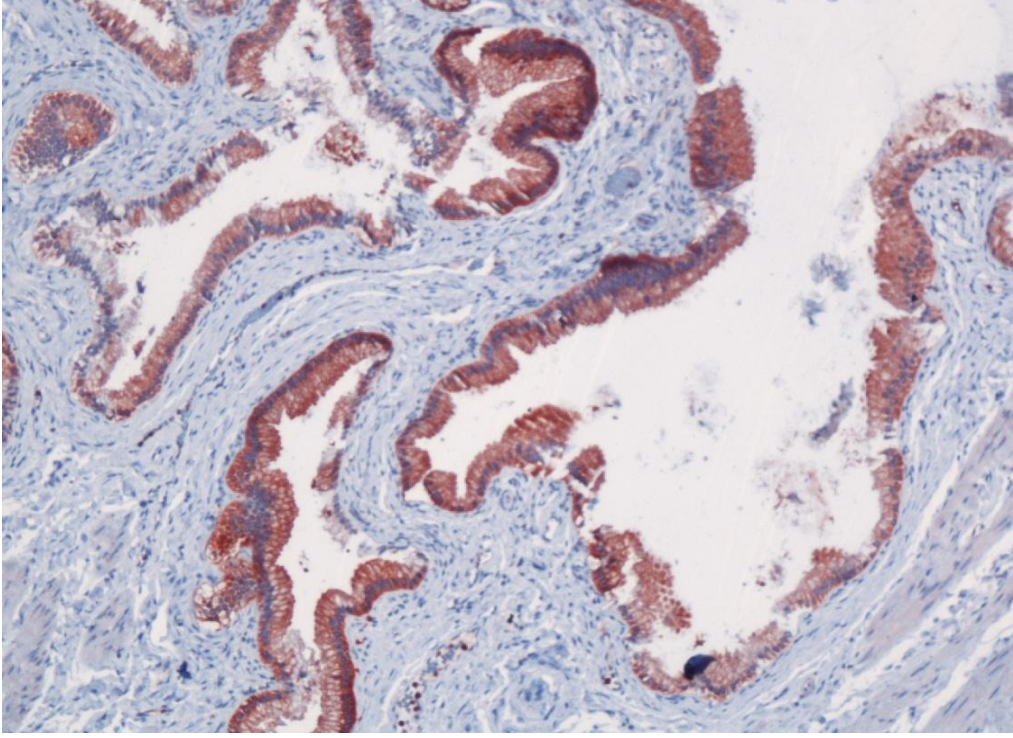
Şekil 4.15. MMM'da 3 düzeyinde nükleer p53 ekspresyonu (x200).



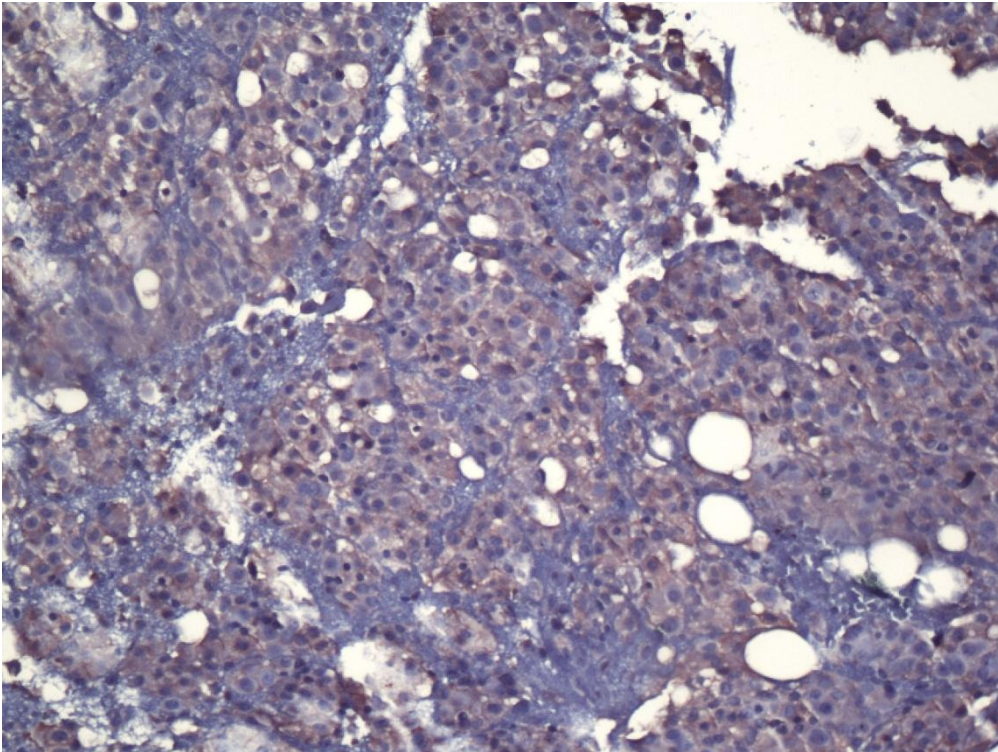
Şekil 4.16. SMM'da 2 düzeyinde nükleer p53 ekspresyonu (x200).



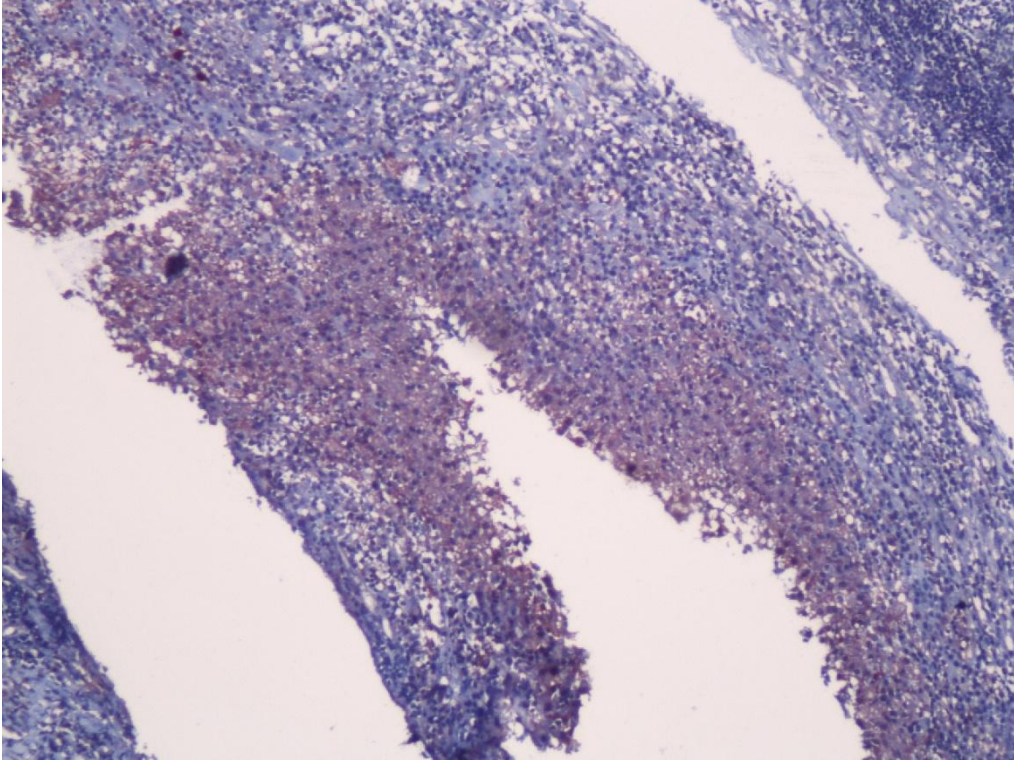
Şekil 4.17. SMM'da 3 düzeyinde nükleer p53 ekspresyonu (x200).



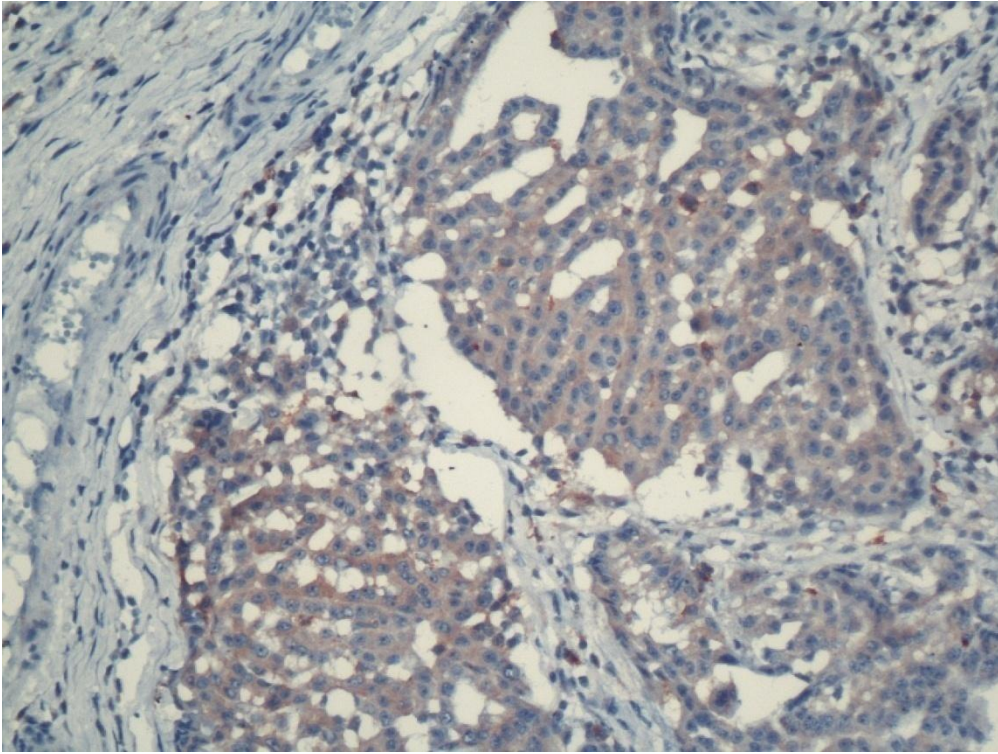
Şekil 4.18. Kontrol olarak kullanılan safra kesesi epitelinde 3 düzeyinde sitoplazmik osteopontin ekspresyonu (x100).



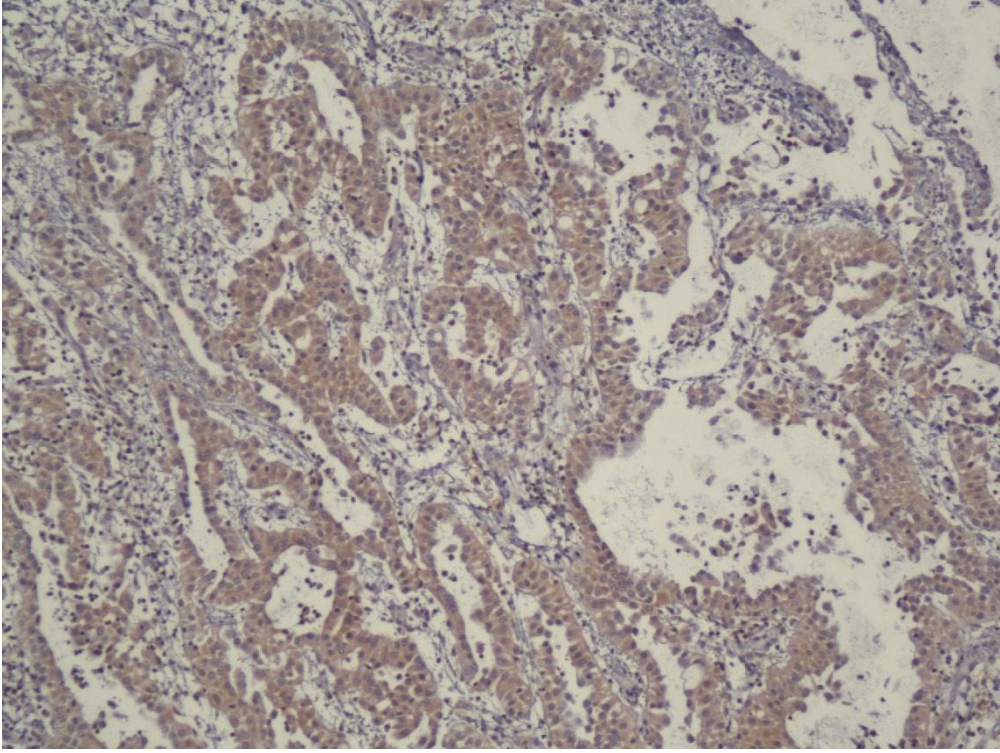
Şekil 4.19. RMH'de mezotelyal hücrelerin sitoplazmalarında 2 düzeyinde osteopontin ekspresyonu (x200).



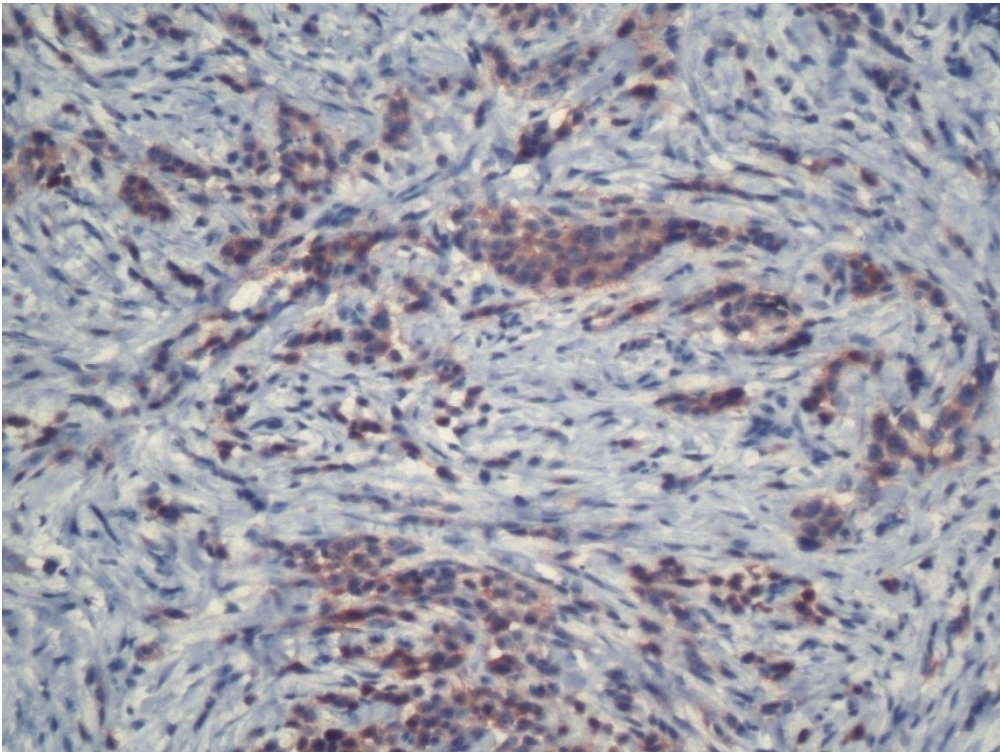
Şekil 4.20. RMH'de mezotelyal hücrelerin sitoplazmalarında 3 düzeyinde osteopontin ekspresyonu (x100).



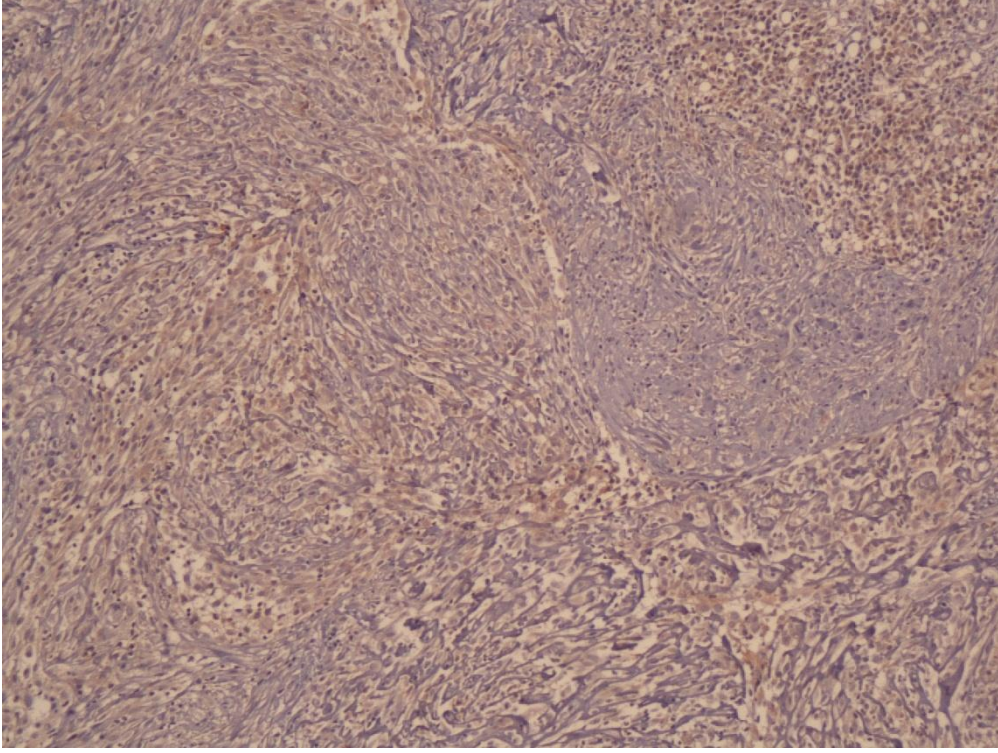
Şekil 4.21. EMM'da 2 düzeyinde sitoplazmik osteopontin ekspresyonu (x200).



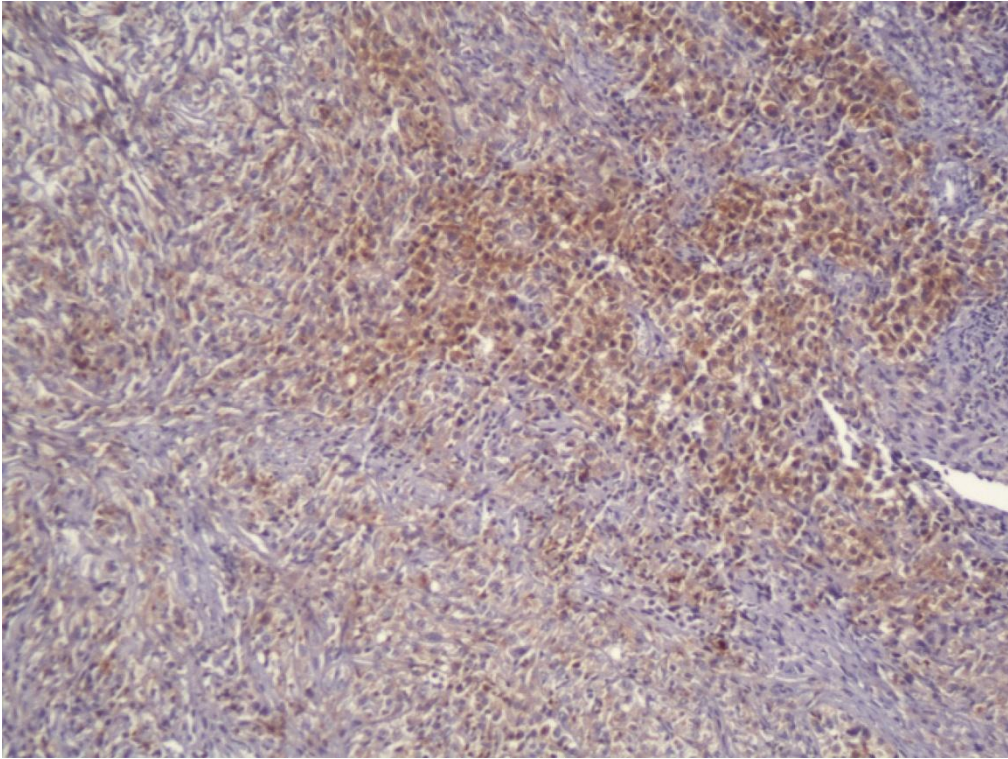
Şekil 4.22.EMM'da 3 düzeyinde sitoplazmik osteopontin ekspresyonu (x100).



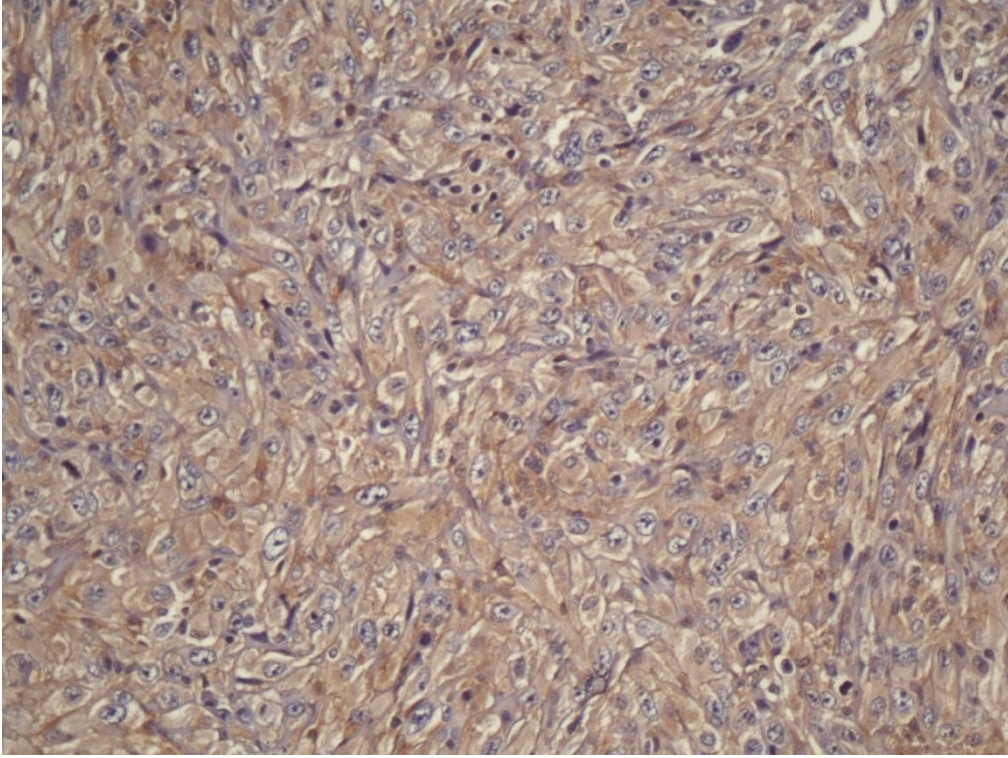
Şekil 4.23. EMM'da 3 düzeyinde sitoplazmik osteopontin ekspresyonu (x200).



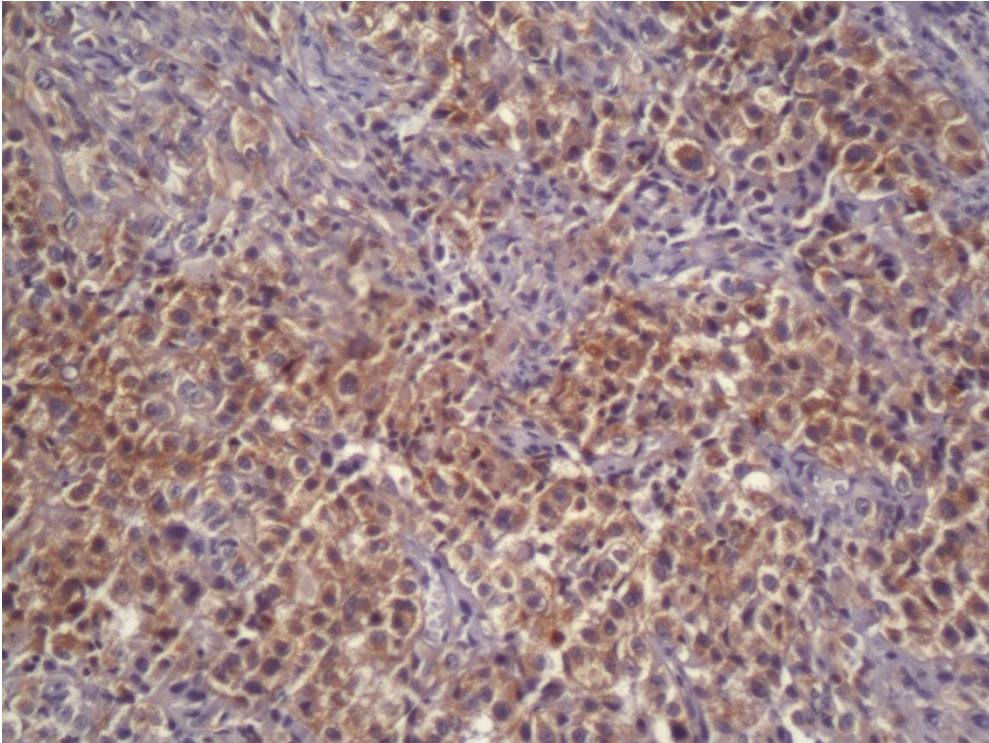
Şekil 4.24. MMM’da tümöral hücrelerde 2 düzeyinde sitoplazmik osteopontin ekspresyonu (x100).



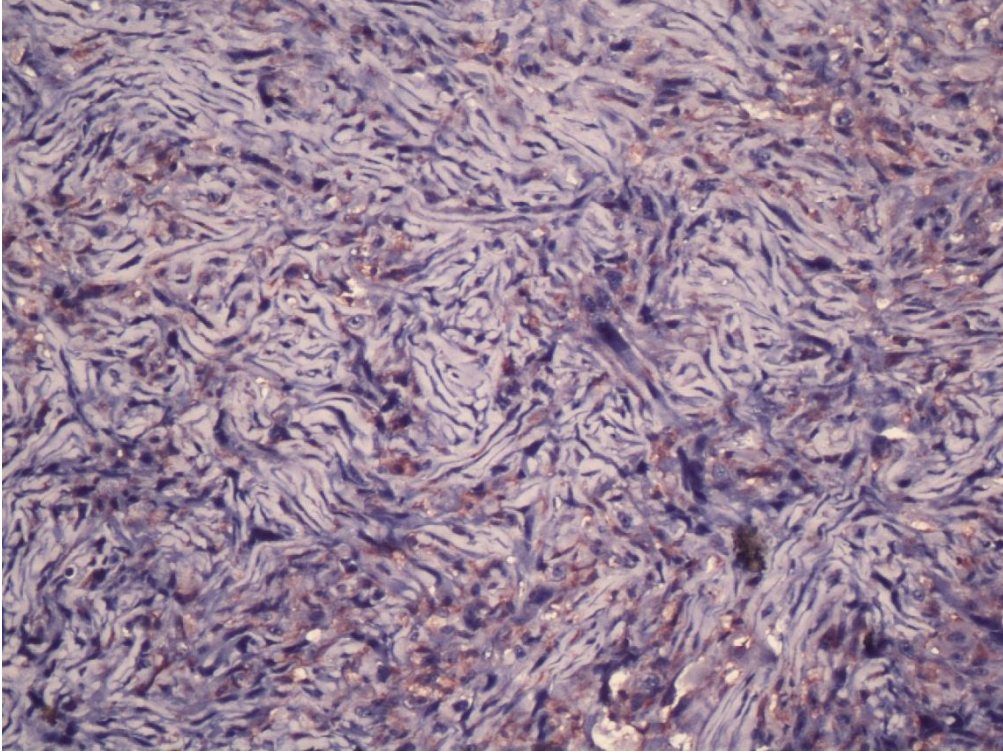
Şekil 4.25. MMM’da 3 düzeyinde sitoplazmik osteopontin ekspresyonu (x100).



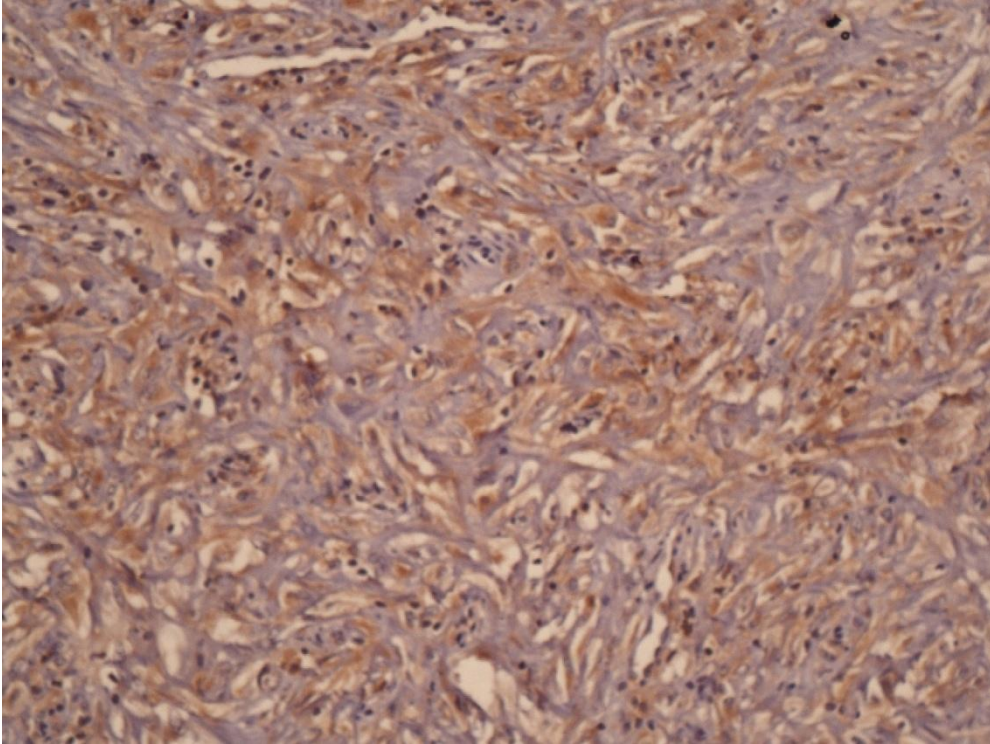
Şekil 4.26. Aynı olguda sarkomatoid componentin izlendiği bir alanda 3 düzeyinde sitoplazmik osteopontin ekspresyonu (x200).



Şekil 4.27. Aynı olguda epitelooid componentin izlendiği bir alanda 3 düzeyinde sitoplazmik osteopontin ekspresyonu (x200).



Şekil 4.28. SMM’da 2 düzeyinde sitoplazmik osteopontin ekspresyonu (x200).



Şekil 4.29. SMM’da 3 düzeyinde sitoplazmik osteopontin ekspresyonu (x100).

5. TARTIŞMA

MM, RMH ve serozal membranları tutan nonmezotelyal tümörlerle sıklıkla karışabilen, heterojen morfolojik fenotiple karakterize bir tümördür. Özellikle küçük doku örnekleri ile çalışıldığında rutin ışık mikroskopik inceleme ile MM tanısının konulması çoğu zaman mümkün değildir. Bu nedenle, mezotelyal kökeni ve lezyonun doğasını ortaya koyarak patoloğlara daha objektif ve kesin bir destek sağlamak için histokimya, elektron mikroskopi ve immünohistokimya gibi ek tanısal teknikler uzun zamandan beri kullanılmaktadır (86).

Son 30 yılda kesin tanı amacı ile en fazla başvuru alan ek tanısal teknik immünohistokimyasal incelemedir. Tüm dünyada MM insidansı artmaya devam ettiğinden tanıda yardımcı olabilecek yeni yöntem ve belirteçlerin araştırılması güncelliğini korumakta ve giderek önem kazanmaktadır (86). İlk kez Singh ve ark.'nın (87) MM tanısını doğrulamak üzere antimezotelyal hücre serumunu ortaya koymasından bu yana 1979-2009 yılları arasında konuyla ilgili 1200 civarında makale yayınlanmıştır. Devam eden araştırmalara rağmen günümüzde MM tanısını tek başına ve kesin olarak sağlayabilecek bir belirteç halen bulunamamıştır. Bu nedenle var olan antikorların paneller halinde kullanılması önerilmekle birlikte antikor seçimi ve değerlendirme biçimi konusunda bir fikir birliği yoktur. Çeşitli araştırmalarda MM tanısında kullanılacak farklı immünohistokimyasal paneller önerilmekle birlikte bu önerilerin hiçbiri kanıta dayalı pratik kılavuzlar değildir. Bu nedenle kullanılacak olan uygun panelin seçimi halen kişisel bilgi, deneyim ve bu belirteçlerin elde edilebilirliğine göre değişmektedir (71, 88).

Bu konuda literatürde bulunan farklı çalışmalarda tartışmalı sonuçların nedenleri arasında; immünohistokimyasal boyama yönteminde tek, standart bir uygulama şeklinin olmaması (fiksasyon, işleme ve antijen elde etme gibi), kullanılan primer antikorların değişken duyarlılık ve özgüllükte olması, immünohistokimyasal boyama için farklı tipteki doku örneklerinin kullanılıyor olması (efüzyon sıvıları, küçük biyopsi materyalleri, cerrahi rezeksiyon materyalleri ve otopsi spesmenleri) ve immünohistokimyasal boyama sonuçlarının değerlendirilmesindeki farklılıklar bulunmaktadır. Bu konudaki çalışmaların çoğu az sayıda olguya dayanmakta olup güven aralıkları göreceli olarak geniş olduğundan bir antikorun ya da antikor

panelinin diğerine üstünlüğü konusunda kesin bir sonuca varmak güçtür. Buna ek olarak MM'nın fenotipik değişkenliği de sabit ve kesin bir immünohistokimyasal panel tanımlanmasını zorlaştırmaktadır (68).

Ancak genel olarak MM ve bu tümörün ayırıcı tanısında ilk sırada yer alan adenokarsinom ayrımı için iki ya da daha fazla pozitif ve negatif mezotelyal belirteç kombinasyonunun kullanılması önerilmektedir. Bildirilen en yararlı pozitif mezotelyal belirteçler arasında sitokeratin 5/6, mezotelin, kalretinin, trombomodulin ve WT-1 bulunmaktadır (60-63). En yararlı negatif mezotelyal belirteçler ise CEA (monoklonal), CD15, Ber EP4, B72-3, MOC-31 ve TTF- 1 olarak bildirilmektedir (64).

MM'nın adenokarsinomlardan ayırt edilmesinde göreceli olarak yol alınmış olunmasına rağmen özellikle EMM'yi sitolojik atipiye sahip RMH'den ayırt etmek çok zor ya da imkansız olabilmektedir (3, 70). Öyle ki; Amerika Birleşik Devletleri-Kanada Mezotelyoma Referans Paneli'nde 1994 ile 1999 yılları arasında tanı alıp bu konuda uzman olan kişilerce yeniden değerlendirilen 217 olgunun %22'sinde mezotel proliferasyonunun malign mi yoksa benign mi olduğu konusunda bir fikir birliği oluşturulamamıştır (17). Halen bilinen kriterler arasında yağ, kas veya akciğer dokusu invazyonu malignitenin en iyi göstergesi olmaya devam etmektedir (22).

İmmünohistokimyasal yöntemler proliferere olan hücrelerin mezotelyal yapısını saptamada yardımcı olmakla birlikte RMH ile MM ayırımında sınırlı bir değere sahiptir (1).

Roberts ve ark.'nın (89) yaptığı çalışmada MM, adenokarsinom ve RMH'de pozitiflik yüzdesi sırasıyla EMA için 76, 17 ve 6; p53 için 78, 16 ve 9; p170 glikoproteini için 37, 4 ve 2; trombosit kökenli büyüme faktörü -beta için 31, 1 ve 2 olarak tespit edilmiştir. Özetlenecek olursa MM'lar sıklıkla EMA ve p53 açısından immünreaktivite gösterirken, RMH genellikle desmin immünreaktivitesi göstermekte, keratin, p53 ve EMA ile fokal olarak boyanmaktadır. Bu konuda invazyon varlığını ortaya koyması açısından keratin belirteci zaman zaman oldukça yararlı olabilmektedir (6, 75, 90, 91).

Son yıllarda RMH'yi MM'dan ayırt etmeye yardımcı yeni belirteçleri tanıtan bazı çalışmalar yayımlanmıştır.

Wu ve ark. (91) benign ve malign mezotel proliferasyonların ayırımında X-bağımlı apoptoz inhibitör proteininin (XIAP) güçlü ekspresyonunun MM tanısını desteklediğini bildirmişlerdir.

Sato ve ark. (92) sitolojik materyallerle yaptıkları çalışmada, bir hücre adezyon molekülü olan CD146'nın RMH'yi MM' dan ayırmada %94 duyarlılık ve %100 özgüllüğe sahip olduğunu rapor etmişlerdir.

Taheri ve ark.'nın (93) RMH ile MM ayırımında hücre proliferasyon belirleyicileri olan Ki-67 ve repp86'nın rolünü araştırdıkları çalışmada, her iki belirleyicinin de yüksek duyarlılık ve özgüllükte malign olguları benignlerden ayırabildiği gösterilmiştir.

Kato ve ark. (94) yaptıkları araştırmada, glukoz transport izoformları ailesinin bir üyesi olan glukoz transporter-1'in (GLUT-1) benign reaktif mezoteli malign mezotelden ayırt etmede yeni bir potansiyel belirteç olduğunu bildirmektedir. Bu çalışmada 40 MM'nin %100'ünde pozitiflik saptanırken, 40 RMH olgusunun hiçbirinde GLUT-1 ekspresyonu görülmediği bildirilmiştir.

Chiosea ve ark. (53) parafin blok kesitlerine uygulanan FISH analizi ile 52 plevral MM'nin 35'inde (%67) 9p21 loküsünde homozigot delesyon olduğunu ve 40 RMH'nin hiçbirisinde bu değişikliğin bulunmadığını rapor etmişlerdir.

Sonuç olarak, bu çalışmalardan özellikle FISH analizi ile GLUT-1 ve XIAP immünohistokimyasal belirteçlerinin, yapılacak yeni çalışmalarla da doğrulanması halinde, ayırıcı tanıda yardımcı olabilecek nitelik taşıyabilecekleri görülmektedir.

Son yıllarda yapılan çalışmalarda osteopontinin küçük hücreli olmayan akciğer kanseri, larengeal ve hipofarengeal karsinomlar, hepatosellüler karsinom, kolorektal karsinomlar, ürotelyal karsinom, akut myeloid lösemi, oral skuamöz hücreli karsinomlar ve endometrium kanserlerinde aşırı ekspresyon gösterdiği ve bu tümörlerin birçoğunun potansiyel prognostik belirteci olduğu gösterilmiştir (95). Osteopontinin; hücre tutunması, yayılımı ve migrasyonu, lenfosit ve diğer hematopoetik hücrelerin hedefe yöneltilmesi ve vasküler yeniden yapılanma gibi birçok hücresel olayda hücre yüzey reseptörlerine bağlanarak etki ettiği düşünülmektedir (96).

Sandhu ve ark.'nın (97) ratlar üzerinde asbest maruziyeti ve asbestoz karsinogenezi modeli oluşturarak yaptıkları çalışmada asbestozla ilişkili tümörlerde osteopontinin ekspresyon düzeyinin yükseldiği gösterilmiştir.

Rai ve ark. (98) çalışmalarında osteopontinin RMH'yi MM' dan ayırmada potansiyel bir belirteç olabileceğini saptamışlardır.

Diğer taraftan Paleari ve ark.'nın (99) yaptıkları çalışmada, sağlıklı kontroller, benign akciğer hastalıkları ve MM olguları arasında osteopontinin plazma düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır. Aynı zamanda osteopontinin doku düzeyinde de immünohistokimyasal olarak değerlendirildiği bu çalışmada, 24 MM olgusunun 21'inde tümör hücrelerinin pozitiflik gösterdiği görülmüştür.

Avustralya ve Fransa'da yapılan çalışmalarda da serum osteopontin düzeylerindeki yüksekliğin MM'larla sınırlı olmadığı, asbeste maruz kalmış sağlıklı kişilerde ve asbest ile ilişkili benign hastalıklarda da osteopontin düzeyinde yükselmenin görülebildiği rapor edilmiştir (100, 101).

Bu çalışmalardan da anlaşıldığı gibi immünohistokimyasal olarak osteopontin ekspresyonu çeşitli tümörlerde saptanabilen bir durumdur. Yapılacak ek çalışmalarla osteopontinin hücre salınımında malign ve benign mezotelyal proliferasyonlar arasında anlamlı farklar saptanırsa, bu belirteç rutin uygulamada malign olguları benign olgulardan ayırt etmede kullanılabilir tanısız potansiyel bir araç olarak görünmektedir. Bu nedenle çalışmamızda nispeten geniş bir olgu serisi kullanılarak osteopontin ekspresyonunun malign ve benign mezotelyal proliferasyonların ayırımıdaki etkinliğinin araştırılması amaçlanmıştır.

Yukarıda ifade edildiği gibi MM'nin histopatolojik tanısı çeşitli zorluklar içermektedir. MM'yi adenokarsinom metastazlarından ayırt etmek, yeterli duyarlılık ve özgüllüğe sahip birçok immünohistokimyasal belirteç bulunduğu için göreceli olarak kolaylaşmış olmakla birlikte, bu tümörü RMH'den ayırmak güçtür. Bu ayrımı yeterli ve kesin bir şekilde yapabilecek bir immünohistokimyasal belirteç henüz tanımlanmamıştır.

Osteopontin ekspresyonunun RMH ve diğer tümörlerde önemini araştıran çalışmaların çoğunluğu bu proteinin serum düzeylerinin ölçülmesine dayanmaktadır. Literatürde RMH'ler ve MM'larda osteopontinin doku düzeyindeki ekspresyonunu

immünohistokimyasal olarak değerlendiren toplam 2 çalışma mevcuttur (85, 102). Ancak bu 2 çalışmada olgu sayısı oldukça kısıtlı olup her iki çalışmada da malign olgular EMM'lerden oluşmaktadır. Çalışmamızda olgu sayısı göreceli olarak fazla olup malign olgular MM'nin epiteloid, mikst ve sarkomatoid olmak üzere her üç tipini de içerecek şekilde seçilerek osteopontin ve p53'ün doku düzeyinde immünohistokimyasal olarak ekspresyonu araştırılmıştır. Ulaşabildiğimiz kadarı ile literatürde bu özellikleri taşıyan benzer bir çalışma bulunmamaktadır.

Çalışmamıza 2004-2011 yılları arasında Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim dalında tanı alan 20 RMH ve 80 MM olgusu dahil edildi. RMH olguları 2012 yılına kadar malignite gelişimi saptanmamış olgular arasından seçildi. Olgulara ait arşivdeki HXE kesitleri tekrar incelenerek histopatolojik özellikleri gözden geçirildi. Kesitler standart immünohistokimyasal yöntemler kullanılarak p53 ve osteopontin antikorları ile boyandı.

Çalışmaya alınan hastaların yaşları 29 ile 85 arasında değişmekteydi ve yaş ortalaması 62.9'du. RMH ile MM ve MM'ların histopatolojik alt tipleri arasında yaş açısından anlamlı bir farklılık saptanmadı ($p>0.05$).

Mezotelyal proliferasyonlarda p53 ekspresyonunu araştıran çalışmalardan elde edilen sonuçlar tartışmalıdır.

Kafiri ve ark. (6) p53'ün MM'daki yeri ile ilgili yaptıkları bir çalışmada p53 ekspresyon paternini semikantitatif bir yöntemle değerlendirilerek aşağıdaki gibi derecelendirilmiştir: Negatif, ekspresyon yok;1, hücrelerin %25'inden azında ekspresyon; 2, %25-50 hücrede ekspresyon ve 3, %50'den fazla hücrede ekspresyon. p53'ün immünreaktivitesinin insan p53 proteinine karşı poliklonal bir antikor olan CM-1 kullanılarak değerlendirildiği bu çalışmada 20 RMH olgusunun hiçbirinde (%0) ekspresyonun olmadığı ve 20 MM olgusunun 14'ünde (%70) ekspresyonun bulunduğu bildirilmiştir.

Ramael ve ark. (103) 40 RMH ve 36 MM olgusunda p53 proteinine karşı D0-7, CM-1 ve PAb-240 adlı 3 farklı antikor kullanarak yaptıkları çalışmada, MM'ların %25'inin D0-7 ve CM-1 ile ekspresyon gösterip PAb240 ile ekspresyon göstermediği bu nedenle de MM'larda mutant tip p53 proteininin bulunmadığını bildirmişlerdir. RMH olgularında p53 immünreaktivitesinin saptanmadığı bu

çalışmada 36 MM'nin çeşitli alt tipleri arasında p53 ekspresyonu açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadığı bildirilmiştir.

Hopkins-Donaldson ve ark.'nın (104) MM'larda yaptığı çalışmada p53'ün p14^{ARF}'nin yokluğunda fonksiyon gösterdiğini ve apoptoza neden olduğunu göstermektedir.

Baldi ve ark.'nın (105) bir p53 regülatörü olan p21 ile yaptıkları çalışmada p21 ekspresyonu ile MM alt tipleri arasında bir korelasyonun bulunmadığı görülmüştür.

Szczepulska-Wojcik ve ark.'nın (106) RMH, plevrayı infiltre eden küçük hücreli olmayan akciğer kanseri ve MM'larda çeşitli immünohistokimyasal belirteçlerin ayırıcı tanıdaki yerini araştırdıkları çalışmalarında, p53'ün RMH olgularının %9.3'ünde, MM olgularının ise %51'inde ekspresyon gösterdiğini saptamışlardır.

Hasteh ve ark.'nın (107) plevral ve peritoneal sıvılardan elde edilen sitolojik preparatlarda çeşitli immünohistokimyasal belirteçlerin etkinliğini inceledikleri çalışmalarında, p53'ün benign olguların %2'sinde ve malign olguların %47'sinde güçlü nükleer ekspresyon gösterdiği bildirilmiştir.

Attanoos ve ark.'nın (3) reaktif mezoteli neoplastik olandan ayırmada çeşitli immünohistokimyasal belirteçlerin önemini araştırdıkları çalışmalarında, kendi sonuçları yanı sıra literatürde yer alan diğer çalışmaların sonuçlarını da kapsayan bir metaanaliz oluşturulmuştur. Bu metanalizde, farklı çalışmalarda MM'larda bildirilen p53 pozitiflik oranının %25-97 arasında değişmekte olduğu, RMH'lerde ise bu oranın %0-82 arasında yer aldığı bildirilmiştir. Elde edilen oranların ortalamalarının alındığı bu metaanalizde p53'ün neoplastik mezotelde %59, reaktif mezotelde ise %12 oranında bulunduğu sonucuna ulaşılmıştır. Sonuçlardaki bu değişkenliğin; farklı olgu seçimleri, immünreaktivitenin değerlendirilmesindeki kişisel farklılıklar, farklı ticari kaynaklardan elde edilen antikör klonlarının kullanımı gibi laboratuarlara özgü teknik faktörler ve farklı antijen elde etme yöntemlerinden kaynaklanabileceği bildirilmektedir.

Çalışmamızda da p53 reaktivitesi Kafiri ve ark.'larının (6) kullandığı yöntemle benzer biçimde derecelendirildi. p53, RMH olgularının %80'inde negatifti. Pozitiflik gösteren %20 olguda 1 ya da 2 düzeyinde ekspresyon izlenmiş olup RMH

olgularının hiçbirinde 3 düzeyinde ekspresyon gözlenmedi. MM olgularının %71'i p53 ile ekspresyon gösterirken, %29 olguda ekspresyon görülmedi. p53 ile pozitiflik gösteren MM olgularının % 49'u 2, %30'u 3 ve %21'i 1 düzeyinde ekspresyon içermekte idi. RMH ve MM olguları arasındaki ekspresyon farkı istatistiksel olarak ileri derecede anlamlı düzeyde bulundu ($p<0.001$).

Çalışmamızda MM'nin alt tipleri arasında p53 ekspresyon farklılığı olup olmadığı değerlendirildiğinde; EMM'nin %70'inin, MMM'nin %73'ünün ve SMM'nin %75'inin p53 ile ekspresyon gösterdiği saptandı. Gruplar arasında ekspresyon açısından istatistiksel bir farklılık bulunmadı ($p=0.719$). Ekspresyon düzeyi göz önüne alındığında tüm MM alt tiplerinde en sık 2 düzeyinde ekspresyonun olduğu gözlemlendi. 3 düzeyinde ekspresyon her 3 SMM olgusunun 1'inde izlenirken, bu oran MMM ve EMM'da 1/5 idi. Hiçbir SMM olgusu 2 düzeyinde ekspresyon göstermedi. Ekspresyon varlığı ve derecesi açısından MM alt tipleri arasında anlamlı istatistiksel bir fark saptanmamış olmakla birlikte SMM en yüksek sıklık ve düzeyde, EMM ise en az sıklık ve düzeyde ekspresyon gösteren tipti.

Çalışmamızda MM'da %71 oranında saptanan p53 pozitifliği; Kafiri ve ark.'nın (6) elde ettiği %70'lik ekspresyon oranı ile uyumlu iken Ramael ve ark. (103) Szczepulska-Wojcik ve ark. (106), Hasteh ve ark. (107) ile Attanoos ve ark.larının (3) yaptığı çalışmalardaki sırasıyla %25, %51, %47 ve %59'luk ekspresyon oranlarından ise yüksektir. IMIG'in 2009 yılında yayınladığı raporda, MM tanısı veya dışlanmasında kullanılacak olan belirteçlerin duyarlılığının %80'den yüksek olması, belirtecin pozitifliğinin değerlendirilmesinde ekspresyonun lokalizasyonu (nükleer veya sitoplazmik gibi) ve hücrelerin ekspresyon yüzdesinin dikkate alınmasının gerektiği bildirilmektedir (71). Bu açıdan çalışmamızda MM'da elde edilen %71 oranındaki p53 pozitifliği IMIG'in bir mezotelyoma belirtecinin ayırıcı tanıda kullanılabilirliğini belirleyen %80'lik duyarlılığa erişememiş olmakla birlikte bu değere oldukça yakındır.

p53 ekspresyonu açısından MM alt tipleri ele alındığında çalışmamızda elde edilen bulgular Ramael ve ark. (103) ile Baldi ve ark.'nın (105) elde ettiği korelasyon sonuçlarıyla benzerlik göstermektedir.

RMH olgularındaki p53 pozitifliği değerlendirildiğinde, çalışmamızda elde edilen %20'lik ekspresyon oranı, Kafiri ve ark. (6), Ramael ve ark. (103), Szczepulska-Wojcik ve ark. (106), Hasteh ve ark.'nın (107) yaptığı çalışmalarda sırasıyla %0, %0, %9.3 ve %2 olarak saptanan oranlardan yüksek olmakla birlikte Attanoos ve ark.'nın (3) metaanaliz niteliğindeki çalışmalarında bildirilen %12' lik ortalama (%0-82) oranına nispeten yakındır.

Osteopontin türlere ve hücre tiplerine göre ağırlığı 44-66 kilo dalton arasında olan asidik, kalsiyum bağlayan bir glikofosfoproteindir. Bu molekül tüm vücut sıvılarında bulunur ve osteoklastlar, makrofajlar, kardiyak fibroblastlar ve aktive T hücreleri tarafından salgılanır. Osteopontin birçok integrine bağlanır, aynı zamanda özellikle altıncı ve yedinci varyantları olmak üzere bazı CD44 tipleri için ligand olabilir (108).

Frey ve ark. (109) akciğer adenokarsinomu ve MM'da yaptıkları çalışmada osteopontinin adenokarsinom olgularında p65 ve matriks metalloproteinaz-9 (MMP-9) ekspresyonu ile birlikte olduğunu ve epitelyal büyüme faktörü reseptörü yollarını kullandığını göstermektedir. Diğer taraftan MM'da osteopontinin bu yollarla bağlantılı olmadığı görülmüştür. Bu çalışma osteopontinin farklı tümörlerde farklı yollar kullanarak etkisini gösterdiğini düşündürmektedir.

Tigrani ve ark.'nın (85) MM ve RMH'lerde osteopontin ekspresyonunu değerlendirdikleri çalışmalarında, osteopontinin ekspresyon paterni semikantitatif olarak derecelendirilmiştir: Negatif, ekspresyon yok; 1, hücrelerin %25'inden azında ekspresyon; 2, %25-50 hücrede ekspresyon ve 3, %50'den fazla hücrede ekspresyon. Bu çalışmada, RMH'lerde ve EMM'larda tümör dokusunda immünohistokimyasal yöntemle osteopontin ekspresyon derecesi araştırılmış, 7 MM olgusunun tamamında (%100) 2 ve 3 düzeyinde, 20 RMH olgusunun da 13'ünde 2 ve 3 düzeyinde olmak üzere 19'unda (%95) osteopontinle ekspresyon saptandığı bildirilmiştir. Aynı çalışmada göreceli olarak osteopontinin EMM'larda RMH'lere göre daha güçlü bir ekspresyon gösterdiği saptanmıştır.

Cappia ve ark.'nın (102) 24 aydan uzun süre hayatta kalan 32 MM olgusu, 24 aydan kısa süre hayatta kalan 69 MM olgusunda immünohistokimyasal olarak osteopontin ekspresyonunun prognostik rolünü karşılaştırdıkları çalışmalarında,

düşük osteopontin ekspresyonunun daha uzun yaşam süresi ile ilişkili olduğu ve bağımsız bir prognostik faktör olduğu bildirilmiştir.

Pass ve ark.'nın (110) asbest maruziyeti ve MM'ya etkileri ile osteopontin serum düzeylerini ve osteopontinin immünohistokimyasal ekspresyonunu 45 asbeste maruz kalmayan, 69 asbeste maruz kalan ve 76 MM'lı hasta üzerinde inceledikleri çalışmalarında, serum osteopontin düzeylerinin asbeste maruz kalmamış ve maruz kalmış ancak plevral plak veya fibrozis bulguları olmayan hastalarda yükselmediğini, asbeste maruz kalmış, plevral plak ve fibrozis bulguları olan hastalarda kısmen yükseldiğini ve MM'lı hastalarda ise anlamlı derecede yüksek olduğunu saptamışlardır. Aynı çalışmada immünohistokimyasal olarak osteopontinin normal mezotelyal hücrelerde bulunmadığını, RMH'lerde zayıf ve 38 MM olgusunun 36'sında ise kuvvetli olarak ekspresyonunu göstermişlerdir. Bu çalışmada osteopontinin MM'daki duyarlılık ve özgüllüğü sırasıyla %77 ve 85 olarak bildirilmiştir.

Wheatley-Price ve ark. (111) MM'lı hastaların hastalık sürecinde serumda SMRP ve osteopontin düzeyinin yükseldiğini, tedavi sonrası SMRP düzeyinin düştüğünü ancak osteopontin düzeyinin ise aynı kaldığını rapor etmişlerdir. Bu çalışmada sonuç olarak SMRP'nin hastalık seyri sırasında kullanışlı bir belirteç olabileceği, osteopontinin ise prognostik bir belirteç olarak kullanılamayacağı bildirilmiştir.

Rai ve ark. (98) da serum SMRP ve osteopontin düzeylerini sağlıklı kişilerde, MM hastalarında ve MM dışı kanserlerde inceledikleri çalışmalarında, her iki belirtecin de MM'lı hastalarda kontrollere göre yüksek olduğu fakat tedavi sonrası sadece SMRP düzeylerinin normale döndüğünü rapor etmişlerdir.

Ivanov ve ark. (84) osteopontinin farklı izoformlarıyla yaptıkları bir çalışmada osteopontin A ve daha az oranda osteopontin B'nin sağlıklı plevra kontrollerine oranla birçok MM olgusunda dramatik olarak yüksek olduğunu bununla birlikte C izoformunun sabit kaldığını göstermişlerdir. Aynı zamanda primer tümörle kıyaslandığında osteopontinin A ve B izoformlarının rekürren kanserlerde daha yüksek bulunduğunu, C izoformunun sabit kalmaya devam ettiğini bildirmişlerdir. Bu sonuçlara dayanarak A ve B izoformlarının MM'da tanısal belirteç olarak kullanılabilceğini ve ileri araştırmalarla bunların tümör progresyonundaki olası

rollerinin ortaya çıkarılabileceği sonucuna varılmıştır. Aynı çalışmada iki farklı MM hücre dizisi kullanılarak A ve B izoformlarının hücre proliferasyon, migrasyon, invazyon ve koloni oluşumunda etkili olduğu gösterilmiştir. İzofrom C ile ise bu tür etkiler görülmemiştir.

Over kanseri üzerinde yapılan çalışmalarda MM'dakine benzer osteopontin izoformlarının varlığı ve biyolojik aktivitesi görülmüştür. Meme kanseri ile yapılan ayrı bir çalışmada ise osteopontinin C izoformunun ağırlıklı olarak eksprese edildiği ve bu kanserde bu izoformun bulunmasının kötü prognoz belirteci olduğu saptanmıştır (112, 113).

Grigoriu ve ark.'nın (101) 112 asbeste maruz kalmış sağlıklı kişi, 33 RMH, 43 plevral metastazlı kanser ve 96 MM olgusunda serum ve plevral sıvıda osteopontin ve mezotelin düzeylerini inceledikleri çalışmalarında; osteopontinin asbeste maruz kalmış sağlıklı kişilerle MM'yi ayırmada başarılı ancak MM'yi plevral metastatik karsinom veya RMH olgularından ayırmada yetersiz kaldığı bildirilmiştir. Mezotelinin, MM'yi RMH'den ayırt etmede yararlı olduğu ancak epitelooid olmayan MM alt tiplerinde yetersiz kaldığı bildirilmiştir. Yine bu çalışmada osteopontinin yüksek duyarlılığa sahip olmakla birlikte özgüllüğünün düşük olması nedeniyle pratikte MM tanısında bir belirteç olarak henüz kullanılamayacağı belirtilmiştir.

Tajima ve ark. (114) yaptıkları çalışmada hyaluronan bağlanmasının osteopontin aracılığıyla arttırılmasının mezotelyoma hücrelerinde çoklu ilaç direncine neden olduğunu bulmuşlardır. Bu çalışma osteopontinin MM tedavisinde potansiyel bir hedef molekül olabileceğini göstermektedir.

Osteopontinin artan düzeyleri tümör progresyonu, invazyonu ve metastazlarla koreledir. Her ne kadar artan düzeyler diğer maligniteleri dışlamasa da güncel bulgular osteopontinin MM'da bir belirteç olarak önemli bir potansiyele sahip olduğunu ve pozitif prediktif gücünün CA125'in over kanserindeki gücüne eşdeğer olduğunu göstermektedir (101).

Çalışmamızda osteopontin boyanması Tigrani ve ark.'larının yöntemine benzer şekilde değerlendirilerek derecelendirildi. Serimizdeki RMH ve MM'yi içeren tüm olgular göz önüne alındığında, olguların %82'sinde osteopontin ile boyanma

saptandı. Osteopontin pozitif olan olguların çoğunluğunun 2 ve 3 düzeyinde ekspresyon gösterdiği görüldü (%78).

Çalışmamızın osteopontin açısından sonuçları değerlendirildiğinde; RMH olgularının %90'ında ekspresyonunun varlığı ve bu olguların %70'inde ekspresyonun 3 düzeyinde olduğu görülmüştür. RMH olgularının hiçbirinde 1 düzeyinde ekspresyon gözlenmezken, %20'sinde 2 düzeyinde ekspresyon saptanmıştır. MM olgularının ise %80'i osteopontin ile ekspresyon göstermiştir. Bu grupta en sık 2 düzeyinde ekspresyon izlenmiştir (%33). Geri kalanların %22'sinde 1 ve %25'inde de 3 düzeyinde ekspresyon mevcuttur. Ekspresyon düzeyi ve sıklığı açısından RMH ile MM olguları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark mevcuttur ($p<0.001$). Serimizde osteopontinin RMH olgularında daha yüksek oranda ve derecede ekspresyon gösterdiği saptanmıştır.

Daha önce RMH ve MM'da osteopontinin önemini araştıran çalışmalarda, bu belirtecin RMH'ye nazaran ağırlıklı olarak MM olgularında eksprese edildiği bildirilmektedir. Çalışmamızda ise osteopontinin RMH olgularında daha belirgin olmak üzere her iki grupta da ekspresyon gösterdiği saptanmıştır. Çalışmamız, literatürde yer alan çalışmalardan Tigrani ve ark.'nın (85) yaptıkları çalışmada RMH ve MM olgularında elde ettikleri sırasıyla % 100 ve %95 ekspresyon oranları ile uyumluluk göstermektedir.

Osteopontin açısından MM'nin alt tipleri arasında ekspresyon farkı olup olmadığı değerlendirildiğinde; EMM'ların %75'inin, MMM'ların %93'ünün ve SMM'ların %83'ünün osteopontin ile ekspresyon gösterdiği saptanmıştır. Gruplar arasında ekspresyon açısından istatistiksel bir farklılık bulunmamakla ($p=0.560$) birlikte en yüksek ekspresyon oranı MMM'da, en düşük ekspresyon oranı ise EMM'da saptanmıştır.

Ekspresyon düzeyi göz önüne alındığında; tüm MM alt tiplerinde en sık 2 düzeyinde ekspresyon gözlenmiş olup 3 düzeyinde ekspresyon en fazla SMM olgularında saptanmıştır (%42). MMM'ların büyük bir çoğunluğu 2 ve 3 düzeyinde ekspresyon göstermektedir. EMM'larda ise en sık 2 düzeyinde ekspresyon gözlenmiştir.

Ivanov ve ark.'nın (84) çalışmasında bildirildiği gibi osteopontinin farklı izoformlarının farklı etkileri bulunmaktadır. Literatürde yer alan ve yukarıda bahsi

geçen diğer çalışmalar ve bizim çalışmamızda kullanılan antikörlerin osteopontinin hangi izoformuyla etkileşime girdiği açık ve kesin değildir. Bu nedenle çalışmalar arasında saptanan farklılıkların kullanılan antikörlerin osteopontinin farklı izoformlarıyla etkileşime girmesiyle geliyor olabileceği düşüncesi akla gelmektedir. Gelecekte osteopontin izoformlarına spesifik immünohistokimyasal belirteçlerin kullanılmasının osteopontin ekspresyonunun MM'larda ve diğer tümörlerde daha doğru ve kesin sonuçlar vermesi olasıdır. Çalışmalar arasındaki farklı sonuçlar aynı zamanda osteopontinin ekspresyon ve değerlendirilme farklılığından ve/veya olgu sayımızın nispeten fazla oluşundan kaynaklanıyor olabilir.

Çalışmamızda RMH olgularında osteopontin ile p53 ekspresyonu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon olmadığı görüldü ($p=0.775$).

Tüm MM olguları bir arada değerlendirildiğinde osteopontin ile p53 arasında istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon saptanmamış ($p=0.327$) olmakla birlikte MM olgularında RMH'ye nazaran daha yüksek bir korelasyon değeri bulundu. Benzer olarak MM'nin alt tipleri arasında da osteopontin ile p53 arasında bir korelasyon olmadığı görüldü ($p=0.775$).

Frey ve ark. (109) ile Hopkins-Donaldson ve ark.'larının (104) yaptıkları çalışmalardan da anlaşıldığı gibi mezotelyal proliferasyonlarda osteopontin ve p53 farklı yollar kullanarak etkilerini göstermektedir. Çalışmamızda benign ve malign olgularda osteopontin ve p53 ekspresyonu arasında bir korelasyonun bulunmaması bu iki immünohistokimyasal belirtecin farklı yollar kullanarak etkilerini gösterdikleri savını destekleyebilir.

MM'da, osteopontin ve p53'ün tanısız ve/veya prognostik bir belirteç olarak değeri halen tartışmalıdır. Çalışmamızda saptadığımız değerler göz önüne alındığında, osteopontinin duyarlılığının her iki grupta da oldukça yüksek olması bu antikörün RMH ve MM ayırımında kullanılacak uygun bir belirteç olmadığını düşündürmektedir. Buna karşın p53'ün duyarlılığının MM'da yüksek olup RMH'de düşük kalması, bu antikörün iki durumun ayırıcı tanısında rutin uygulamada öncelikle tercih edilebileceği sonucunu desteklemektedir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmada Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalında 2004 ile 2011 yılları arasında RMH tanısı alan hastalar arasından 20 olgu ve plevral MM tanısı alan hastalar arasından 80 olgu seçilerek histopatolojik özellikleri gözden geçirildi. RMH ve MM'lı olgularda, ayrıca MM olgularının alt tipleri arasında p53 ve osteopontin ekspresyon durumu yanı sıra p53 ile osteopontin ekspresyonu arasında korelasyon olup-olmadığı değerlendirildi. Elde edilen sonuçlar şöyledir:

1. Çalışmaya 20 adet RMH olgusu ve 80 adet MM olgusu dahil edilmiştir. Malign olgular 53 (%66.3) EMM, 15 (%18.7) MMM ve 12 (%15) SMM'dan oluşmaktaydı.

2. Çalışmaya dahil edilen hastaların yaşları 29 ile 85 arasında değişmekteydi ve yaş ortalaması 62.9'du. RMH ve MM'lı olgularda, ayrıca MM olgularının alt tipleri arasında yaş dağılımı açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktu.

3. Olguların 50'si (%50) erkek, 50'si (%50) kadındı.

4. Grup ayrımı olmaksızın tüm olgular değerlendirildiğinde immünohistokimyasal p53 ekspresyon düzeyi %61, osteopontin ekspresyon düzeyi ise %82 idi.

5. RMH olgularında p53 ekspresyon düzeyi %20, MM olgularında ise %71 idi. Bu iki grup arasında istatistiksel olarak ileri derecede anlamlı fark saptandı ($p<0.001$).

6. MM olgularının alt tipleri arasında immünohistokimyasal p53 ekspresyon düzeyleri ise EMM'da %70, MMM'da %73, SMM'da ise %75 idi. MM alt tipleri arasında p53 ekspresyon düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı ($p=0.719$).

7. RMH olgularındaki osteopontin ekspresyon düzeyi %90, MM olgularında ise %80 idi. Bu iki grup arasında istatistiksel olarak ileri derecede anlamlı fark saptandı ($p<0.001$).

8. MM alt tipleri arasında immünohistokimyasal osteopontin ekspresyon düzeyleri ise EMM'da %76, MMM'da %93, SMM'da ise %83 idi. MM alt tipleri

arasında osteopontin ekspresyon düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı ($p=0.560$).

9. RMH olgularında immünohistokimyasal p53 ve osteopontin ekspresyon düzeyleri arasında korelasyon olmadığı saptandı ($p=0.775$).

10. MM olgularında immünohistokimyasal p53 ve osteopontin ekspresyon düzeyleri arasında korelasyon olmadığı saptandı ($p=0.775$).

11. EMM'da immünohistokimyasal p53 ve osteopontin ekspresyon düzeyleri arasında korelasyon olmadığı saptandı ($p=0.775$).

12. MMM'da immünohistokimyasal p53 ve osteopontin ekspresyon düzeyleri arasında korelasyon olmadığı saptandı ($p=0.775$).

13. SMM'da immünohistokimyasal p53 ve osteopontin ekspresyon düzeyleri arasında korelasyon olmadığı saptandı ($p=0.775$).

KAYNAKLAR

1. Battifora H. The Pleura. In: Mills, editor. Sternberg's diagnostic surgical pathology. 5th ed. Philadelphia:Wolters Kluwer Health/Lippincott Williams & Wilkins; 2010.p.1096-1112.
2. Wagner JC, Sleggs CA, Marchand P. Diffuse pleural mesothelioma and asbestos exposure in the North Western Cape Province. Br J Ind Med. 1960; 17:260-71.
3. Attanoos RL, Griffin A, Gibbs AR. The use of immunohistochemistry in distinguishing reactive from neoplastic mesothelium. A novel use for desmin and comparative evaluation with epithelial membrane antigen, p53, platelet-derived growth factor-receptor, P-glycoprotein and Bcl-2. Histopathology. 2003; 43(3):231-8.
4. Harris CC. Structure and function of the p53 tumor suppressor gene: clues for rational cancer therapeutic strategies. J Natl Cancer Inst. 1996; 88(20):1442-55.
5. Mayall FG, Goddard H, Gibbs AR. p53 immunostaining in the distinction between benign and malignant mesothelial proliferations using formalin-fixed paraffin sections. J Pathol. 1992; 168(4):377-81.
6. Kafiri G, Thomas DM, Shepherd NA, Krausz T, Lane DP, Hall PA. p53 expression is common in malignant mesothelioma. Histopathology. 1992; 21(4):331-4.
7. Goparaju CM, Pass HI, Blasberg JD, Hirsch N, Donington JS. Functional heterogeneity of osteopontin isoforms in non-small cell lung cancer. J Thorac Oncol. 2010; 5(10):1516-23.
8. Rangaswami H, Bulbule A, Kundu GC. Osteopontin: role in cell signaling and cancer progression. Trends Cell Biol. 2006; 16(2):79-87.
9. Light RW. Anatomy of the Pleura. In: Light RW, editor. Pleural Diseases. 4th ed. Philadelphia:Lipincott, Williams and Wilkins; 2001. p. 1-8.
10. Sahn SA. State of the art. The pleura. Am Rev Respir Dis. 1988; 138(1):184-234.

11. Albertine KH, Wiener-Kronish JP, Roos PJ, Staub NC. Structure, blood supply, and lymphatic vessels of the sheep's visceral pleura. *Am J Anat.* 1982; 165(3):277-94.
12. Battifora H, Elliott WT. Tumors of the serosal membranes. in: Battifora H, Elliot WT. *Atlas of tumor pathology.* Fas:15. Washington DC: Armed Forces Institute of Pathology; 1994.p.476-79.
13. Dikensoy Ö. Plevranın yapı ve işlevi. İç: Tevfik Özlü MM, Mehmet Karadağ, Akın Kaya, editörler. *Solunum Sistemi ve Hastalıkları.* 1 ed. İstanbul: İstanbul Tıp Kitabevi; 2010. s.1922-23.
14. Antony VB, Sahn SA, Mossman B, Gail DB, Kalica A. NHLBI workshop summaries. Pleural cell biology in health and disease. *Am Rev Respir Dis.* 1992; 145(5):1236-9.
15. Gaudio E, Rendina EA, Pannarale L, Ricci C, Marinozzi G. Surface morphology of the human pleura. A scanning electron microscopic study. *Chest.* 1988; 93(1):149-53.
16. Carter D, True L, Otis CN. Serous membranes. In: Mills SE, editor. *Histology for pathologists.* 3rd ed. Philadelphia:Lipincott Williams & Wilkins; 2007.p. 550-2.
17. Churg A, Chairman TV, Colby MD. The separation of benign and malignant mesothelial proliferations. *Am J Surg Pathol.* 2000; 24(9):1183-200.
18. Henderson DW, Shilkin KB, Whitaker D. Reactive mesothelial hyperplasia vs mesothelioma, including mesothelioma in situ: a brief review. *Am J Clin Pathol.* 1998; 110(3):397-404.
19. Churg A, Roggli V, Galateau-Salle F, Cagle PT, Gibbs AR, Hasleton PS et, al. Tumours of the Pleura. In: Travis WD, Brambilla E, Müller-Hermelink KH, Harris CC, editors. *The WHO Classification of Tumours. Tumours of the Lung, Pleura, Thymus and Heart.* Lyon:IARC Press; 2004:p127-137.
20. Whitaker D, Henderson DW, Shilkin KB. The concept of mesothelioma in situ: implications for diagnosis and histogenesis. *Semin Diagn Pathol.* 1992; 9(2):151-61.

21. Cagle PT, Churg A. Differential diagnosis of benign and malignant mesothelial proliferations on pleural biopsies. *Arch Pathol Lab Med.* 2005; 129(11):1421-7.
22. Corrin B, Nicholson AG. Pleura and Chest Wall. In: Corrin B, Nicholson AG, editors. *Pathology of the Lungs.* 2nd ed. Philadelphia:Elsevier; 2006.p.699-719.
23. Metintaş M. Primer Plevra Maligniteleri. *Solunum.* 2002; 4:149-164.
24. Boutin C, Schlessler M, Frenay C, Astoul P. Malignant pleural mesothelioma. *Eur Respir J.* 1998; 12(4):972-81.
25. Arman B, Kayı-Cangır A, Doğusoy I, Elbeyli L. Malign Plevral Mezotelyoma. İç: Aydın A, Ece T, Topuz E, editörler. *Akciğer Kanseri: Tanı-Tedavi-Takip. Antakya Konsensusu.* İstanbul:Nobel Tıp Kitabevleri;2010.s.195-225.
26. Yates DH, Corrin B, Stidolph PN, Browne K. Malignant mesothelioma in south east England: clinicopathological experience of 272 cases. *Thorax.* 1997; 52(6):507-12.
27. Hillerdal G. Mesothelioma: cases associated with non-occupational and low dose exposures. *Occup Environ Med.* 1999; 56(8):505-13.
28. Metintas M, Hillerdal G, Metintas S. Malignant mesothelioma due to environmental exposure to erionite: follow-up of a Turkish emigrant cohort. *Eur Respir J.* 1999; 13(3):523-6.
29. Metintas S, Metintas M, Ucgun I, Oner U. Malignant mesothelioma due to environmental exposure to asbestos: follow-up of a Turkish cohort living in a rural area. *Chest.* 2002; 122(6):2224-9.
30. Metintas M, Metintas S, Ucgun I, Gibbs AR, Harmanci E, Alatas F, et al. Prognostic factors in diffuse malignant pleural mesothelioma: effects of pretreatment clinical and laboratory characteristics. *Respir Med.* 2001; 95(10):829-35.
31. McDonald JC, McDonald AD. The epidemiology of mesothelioma in historical context. *Eur Respir J.* 1996; 9(9):1932-42.

32. Carbone M, Rizzo P, Pass HI. Simian virus 40, poliovaccines and human tumors: a review of recent developments. *Oncogene*. 1997; 15(16):1877-88.
33. Emri S, Kocagoz T, Olut A, Gungen Y, Mutti L, Baris YI. Simian virus 40 is not a cofactor in the pathogenesis of environmentally induced malignant pleural mesothelioma in Turkey. *Anticancer Res*. 2000; 20(2A):891-4.
34. Mayall FG, Jacobson G, Wilkins R. Mutations of p53 gene and SV40 sequences in asbestos associated and non-asbestos-associated mesotheliomas. *J Clin Pathol*. 1999; 52(4):291-3.
35. Hodgson JT, Darnton A. The quantitative risks of mesothelioma and lung cancer in relation to asbestos exposure. *Ann Occup Hyg*. 2000; 44(8):565-601.
36. Carbone M, Pass HI, Miele L, Bocchetta M. New developments about the association of SV40 with human mesothelioma. *Oncogene*. 2003; 22(33):5173-80.
37. Thylen A, Levin-Jacobsen AM, Hjerpe A, Martensson G. Immunohistochemical differences between hyaluronan- and non-hyaluronan-producing malignant mesothelioma. *Eur Respir J*. 1997; 10(2):404-8.
38. Jaurand MC, Fleury-Feith J. Pathogenesis of malignant pleural mesothelioma. *Respirology*. 2005; 10(1):2-8.
39. Metintaş M. Mezotelyoma. İç: Özlü T, Metintaş M, Karadağ M, Kaya A, editörler. *Solunum Sistemi ve Hastalıkları*. İstanbul:İstanbul Tıp Kitabevi; 2010.s.1979-1985.
40. Baris YI, Artvinli M, Sahin AA, Sebastien P, Gaudichet A. Diffuse lung fibrosis due to fibrous zeolite (erionite) exposure. *Eur J Respir Dis*. 1987; 70(2):122-5.
41. Hirvonen A, Mattson K, Karjalainen A, Ollikainen T, Tammilehto L, Hovi T, et al. Simian virus 40 (SV40)-like DNA sequences not detectable in finnish mesothelioma patients not exposed to SV40-contaminated polio vaccines. *Mol Carcinog*. 1999; 26(2):93-9.

42. Manfredi JJ, Dong J, Liu WJ, Resnick-Silverman L, Qiao R, Chahinian P, et al. Evidence against a role for SV40 in human mesothelioma. *Cancer Res.* 2005; 65(7):2602-9.
43. Rom WN, Travis WD, Brody AR. Cellular and molecular basis of the asbestos-related diseases. *Am Rev Respir Dis.* 1991; 143(2):408-22.
44. Heintz NH, Janssen YM, Mossman BT. Persistent induction of c-fos and c-jun expression by asbestos. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1993; 90(8):3299-303.
45. Monti G, Jaurand MC, Monnet I, Chretien P, Saint-Etienne L, Zeng L, et al. Intrapleural production of interleukin 6 during mesothelioma and its modulation by gamma-interferon treatment. *Cancer Res.* 1994; 54(16):4419-23.
46. Dhaene K, Hubner R, Kumar-Singh S, Weyn B, Van Marck E. Telomerase activity in human pleural mesothelioma. *Thorax.* 1998; 53(11):915-8.
47. Huncharek M. Genetic factors in the aetiology of malignant mesothelioma. *Eur J Cancer.* 1995; 31A(11):1741-7.
48. Xio S, Li D, Vijg J, Sugarbaker DJ, Corson JM, Fletcher JA. Codeletion of p15 and p16 in primary malignant mesothelioma. *Oncogene.* 1995; 11(3):511-5.
49. Center R, Lukeis R, Dietzsch E, Gillespie M, Garson OM. Molecular deletion of 9p sequences in non-small cell lung cancer and malignant mesothelioma. *Genes Chromosomes Cancer.* 1993; 7(1):47-53.
50. Ivanov SV, Miller J, Lucito R, Tang C, Ivanova AV, Pei J, et al. Genomic events associated with progression of pleural malignant mesothelioma. *Int J Cancer.* 2009; 124(3):589-99.
51. Taguchi T, Jhanwar SC, Siegfried JM, Keller SM, Testa JR. Recurrent deletions of specific chromosomal sites in 1p, 3p, 6q, and 9p in human malignant mesothelioma. *Cancer Res.* 1993; 53(18):4349-55.
52. Onofre FB, Onofre AS, Pomjanski N, Buckstegge B, Grote HJ, Bocking A. 9p21 Deletion in the diagnosis of malignant mesothelioma in serous effusions

- additional to immunocytochemistry, DNA-ICM, and AgNOR analysis. *Cancer*. 2008; 114(3):204-15.
53. Chiosea S, Krasinskas A, Cagle PT, Mitchell KA, Zander DS, Dacic S. Diagnostic importance of 9p21 homozygous deletion in malignant mesotheliomas. *Mod Pathol*. 2008 ;21(6):742-7.
 54. Takeda M, Kasai T, Enomoto Y, Takano M, Morita K, Kadota E, et al. 9p21 deletion in the diagnosis of malignant mesothelioma, using fluorescence in situ hybridization analysis. *Pathol Int*. 2010; 60(5):395-9.
 55. Kohno T, Yokota J. Molecular processes of chromosome 9p21 deletions causing inactivation of the p16 tumor suppressor gene in human cancer: deduction from structural analysis of breakpoints for deletions. *DNA Repair (Amst)*. 2006; 5(9-10):1273-81.
 56. Knuutila A, Jee KJ, Taskinen E, Wolff H, Knuutila S, Anttila S. Spindle cell tumours of the pleura: a clinical, histological and comparative genomic hybridization analysis of 14 cases. *Virchows Arch*. 2006; 448(2):135-41.
 57. Sugarbaker DJ, Flores RM, Jaklitsch MT, Richards WG, Strauss GM, Corson JM, et al. Resection margins, extrapleural nodal status, and cell type determine postoperative long-term survival in trimodality therapy of malignant pleural mesothelioma: results in 183 patients. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 1999; 117(1):54-63; discussion 63-5.
 58. Rosai J. Respiratory tract. In: Rosai J, editor. *Rosai and Ackerman's Surgical Pathology*. 10th ed. Edinburg: Mosby; 2010.p.342-345.
 59. Allen TC. Recognition of histopathologic patterns of diffuse malignant mesothelioma in differential diagnosis of pleural biopsies. *Arch Pathol Lab Med*. 2005; 129(11):1415-20.
 60. Tot T. The value of cytokeratins 20 and 7 in discriminating metastatic adenocarcinomas from pleural mesotheliomas. *Cancer*. 2001; 92(10):2727-32.
 61. Lucas DR, Pass HI, Madan SK, Adsay NV, Wali A, Tabaczka P, et al. Sarcomatoid mesothelioma and its histological mimics: a comparative immunohistochemical study. *Histopathology*. 2003; 42(3):270-9.

62. Ordonez NG. The diagnostic utility of immunohistochemistry in distinguishing between mesothelioma and renal cell carcinoma: a comparative study. *Hum Pathol.* 2004; 35(6):697-710.
63. Moore AJ, Parker RJ, Wiggins J. Malignant mesothelioma. *Orphanet J Rare Dis.* 2008; 3:34.
64. Ordonez NG. Value of the MOC-31 monoclonal antibody in differentiating epithelial pleural mesothelioma from lung adenocarcinoma. *Hum Pathol.* 1998; 29(2):166-9.
65. King JE, Thatcher N, Pickering CA, Hasleton PS. Sensitivity and specificity of immunohistochemical markers used in the diagnosis of epithelioid mesothelioma: a detailed systematic analysis using published data. *Histopathology.* 2006; 48(3):223-32.
66. Yaziji H, Battifora H, Barry TS, Hwang HC, Bacchi CE, McIntosh MW, et al. Evaluation of 12 antibodies for distinguishing epithelioid mesothelioma from adenocarcinoma: identification of a three-antibody immunohistochemical panel with maximal sensitivity and specificity. *Mod Pathol.* 2006; 19(4):514-23.
67. Klebe S, Nurminen M, Leigh J, Henderson DW. Diagnosis of epithelial mesothelioma using tree-based regression analysis and a minimal panel of antibodies. *Pathology.* 2009; 41(2):140-8.
68. Betta PG, Magnani C, Bensi T, Trincerri NF, Orecchia S. Immunohistochemistry and molecular diagnostics of pleural malignant mesothelioma. *Arch Pathol Lab Med.* 2012; 136(3):253-61.
69. Terada T. Immunohistochemical profile of normal mesothelium and histiocytic/mesothelial hyperplasia: a case report. *Int J Clin Exp Pathol.* 2011; 4(6):631-6.
70. Politi E, Kandaraki C, Apostolopoulou C, Kyritsi T, Koutselini H. Immunocytochemical panel for distinguishing between carcinoma and reactive mesothelial cells in body cavity fluids. *Diagn Cytopathol.* 2005; 32(3):151-5.
71. Husain AN, Colby TV, Ordonez NG, Krausz T, Borczuk A, Cagle PT, et al. Guidelines for pathologic diagnosis of malignant mesothelioma: a consensus

- statement from the International Mesothelioma Interest Group. *Arch Pathol Lab Med.* 2009; 133(8):1317-31.
72. Ueda J, Iwata T, Ono M, Takahashi M. Comparison of three cytologic preparation methods and immunocytochemistries to distinguish adenocarcinoma cells from reactive mesothelial cells in serous effusion. *Diagn Cytopathol.* 2006; 34(1):6-10.
 73. Baker SJ, Fearon ER, Nigro JM, Hamilton SR, Preisinger AC, Jessup JM, et al. Chromosome 17 deletions and p53 gene mutations in colorectal carcinomas. *Science.* 1989; 244(4901):217-21.
 74. Diez M, Medrano MJ, Gutierrez A, Lopez A, Muguerza JM, Hernandez P, et al. P53 protein expression in gastric adenocarcinoma. Negative predictor of survival after postoperative adjuvant chemotherapy. *Anticancer Res.* 2000 ;20(5C):3929-33.
 75. Oren M. Regulation of the p53 tumor suppressor protein. *J Biol Chem.* 1999; 274(51):36031-4.
 76. Ryan KM, Phillips AC, Vousden KH. Regulation and function of the p53 tumor suppressor protein. *Curr Opin Cell Biol.* 2001; 13(3):332-7.
 77. Steele RJ, Thompson AM, Hall PA, Lane DP. The p53 tumour suppressor gene. *Br J Surg.* 1998; 85(11):1460-7.
 78. O'Regan A. The role of osteopontin in lung disease. *Cytokine Growth Factor Rev.* 2003; 14(6):479-88.
 79. Wai PY, Kuo PC. The role of Osteopontin in tumor metastasis. *J Surg Res.* 2004; 121(2):228-41.
 80. Zhang J, Takahashi K, Takahashi F, Shimizu K, Ohshita F, Kameda Y, et al. Differential osteopontin expression in lung cancer. *Cancer Lett.* 2001; 171(2):215-22.
 81. Hirama M, Takahashi F, Takahashi K, Akutagawa S, Shimizu K, Soma S, et al. Osteopontin overproduced by tumor cells acts as a potent angiogenic factor contributing to tumor growth. *Cancer Lett.* 2003; 198(1):107-17.

82. Ramaiah SK, Rittling S. Pathophysiological role of osteopontin in hepatic inflammation, toxicity, and cancer. *Toxicol Sci.* 2008; 103(1):4-13.
83. Blasberg JD, Pass HI, Goparaju CM, Flores RM, Lee S, Donington JS. Reduction of elevated plasma osteopontin levels with resection of non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol.* 2010; 28(6):936-41.
84. Ivanov SV, Ivanova AV, Goparaju CM, Chen Y, Beck A, Pass HI. Tumorigenic properties of alternative osteopontin isoforms in mesothelioma. *Biochem Biophys Res Commun.* 2009; 382(3):514-8.
85. Tigrani DY, Weydert JA. Immunohistochemical expression of osteopontin in epithelioid mesotheliomas and reactive mesothelial proliferations. *Am J Clin Pathol.* 2007; 127(4):580-4.
86. Nishikawa K, Takahashi K, Karjalainen A, Wen CP, Furuya S, Hoshuyama T, et al. Recent mortality from pleural mesothelioma, historical patterns of asbestos use, and adoption of bans: a global assessment. *Environ Health Perspect.* 2008; 116(12):1675-80.
87. Singh G, Whiteside TL, Dekker A. Immunodiagnosis of mesothelioma: use of antimesothelial cell serum in an indirect immunofluorescence assay. *Cancer.* 1979; 43(6):2288-96.
88. Scherpereel A, Astoul P, Baas P, Berghmans T, Clayson H, de Vuyst P, et al. Guidelines of the European Respiratory Society and the European Society of Thoracic Surgeons for the management of malignant pleural mesothelioma. *Eur Respir J.* 2010; 35(3):479-95.
89. Roberts F, Harper CM, Downie I, Burnett RA. Immunohistochemical analysis still has a limited role in the diagnosis of malignant mesothelioma. A study of thirteen antibodies. *Am J Clin Pathol.* 2001; 116(2):253-62.
90. Haupt Y, Maya R, Kazaz A, Oren M. Mdm2 promotes the rapid degradation of p53. *Nature.* 1997; 387(6630):296-9.
91. Wu M, Sun Y, Li G, Desman G, Wang B, Gil J, et al. Immunohistochemical detection of XIAP in mesothelium and mesothelial lesions. *Am J Clin Pathol.* 2007; 128(5):783-7.

92. Sato A, Torii I, Okamura Y, Yamamoto T, Nishigami T, Kataoka TR, et al. Immunocytochemistry of CD146 is useful to discriminate between malignant pleural mesothelioma and reactive mesothelium. *Mod Pathol.* 2010; 23(11):1458-66.
93. Taheri ZM, Mehrafza M, Mohammadi F, Khoddami M, Bahadori M, Masjedi MR. The diagnostic value of Ki-67 and repp86 in distinguishing between benign and malignant mesothelial proliferations. *Arch Pathol Lab Med.* 2008; 132(4):694-7.
94. Kato Y, Tsuta K, Seki K, Maeshima AM, Watanabe S, Suzuki K, et al. Immunohistochemical detection of GLUT-1 can discriminate between reactive mesothelium and malignant mesothelioma. *Mod Pathol.* 2007; 20(2):215-20.
95. Zhao XQ, Dong JH, Zhang WZ, Liu Z. Prognosis of ampullary cancer based on immunohistochemical type and expression of osteopontin. *Diagn Pathol.* 2011; 6:98.
96. Senger DR, Perruzzi CA, Ali IU. T24 human bladder carcinoma cells with activated Ha-ras protooncogene: nontumorigenic cells susceptible to malignant transformation with carcinogen. *Proc Natl Acad Sci USA* 1988; 85(14):5107-11.
97. Sandhu H, Dehnen W, Roller M, Abel J, Unfried K. mRNA expression patterns in different stages of asbestos-induced carcinogenesis in rats. *Carcinogenesis.* 2000; 21(5):1023-9.
98. Rai AJ, Flores RM, Mathew A, Gonzalez-Espinoza R, Bott M, Ladanyi M, et al. Soluble mesothelin related peptides (SMRP) and osteopontin as protein biomarkers for malignant mesothelioma: analytical validation of ELISA based assays and characterization at mRNA and protein levels. *Clin Chem Lab Med.* 2010; 48(2):271-8.
99. Paleari L, Rotolo N, Imperatori A, Puzone R, Sessa F, Franzi F, et al. Osteopontin is not a specific marker in malignant pleural mesothelioma. *Int J Biol Markers.* 2009; 24(2):112-7.

100. Park EK, Thomas PS, Johnson AR, Yates DH. Osteopontin levels in an asbestos-exposed population. *Clin Cancer Res.* 2009; 15(4):1362-6.
101. Grigoriu BD, Scherpereel A, Devos P, Chahine B, Letourneux M, Lebailly P, et al. Utility of osteopontin and serum mesothelin in malignant pleural mesothelioma diagnosis and prognosis assessment. *Clin Cancer Res.* 2007; 13(10):2928-35.
102. Cappia S, Righi L, Mirabelli D, Ceppi P, Bacillo E, Ardisson F, et al. Prognostic role of osteopontin expression in malignant pleural mesothelioma. *Am J Clin Pathol.* 2008; 130(1):58-64.
103. Ramael M, Lemmens G, Eerdeken C, Buysse C, Deblier I, Jacobs W, et al. Immunoreactivity for p53 protein in malignant mesothelioma and non-neoplastic mesothelium. *J Pathol.* 1992; 168(4):371-5.
104. Hopkins-Donaldson S, Belyanskaya LL, Simoes-Wust AP, Sigrist B, Kurtz S, Zangemeister-Wittke U, et al. p53-induced apoptosis occurs in the absence of p14(ARF) in malignant pleural mesothelioma. *Neoplasia.* 2006; 8(7):551-9.
105. Baldi A, Groeger AM, Esposito V, Cassandro R, Tonini G, Battista T, et al. Expression of p21 in SV40 large T antigen positive human pleural mesothelioma: relationship with survival. *Thorax.* 2002; 57(4):353-6.
106. Szczepulska-Wojcik E, Langfort R, Roszkowski-Sliz K. A comparative evaluation of immunohistochemical markers for the differential diagnosis between malignant mesothelioma, non-small cell carcinoma involving the pleura, and benign reactive mesothelial cell proliferation. *Pneumonol Alergol Pol.* 2007; 75(1):57-69.
107. Hasteh F, Lin GY, Weidner N, Michael CW. The use of immunohistochemistry to distinguish reactive mesothelial cells from malignant mesothelioma in cytologic effusions. *Cancer Cytopathol.* 2010; 118(2):90-6.
108. Weber GF, Ashkar S, Glimcher MJ, Cantor H. Receptor-ligand interaction between CD44 and osteopontin (Eta-1). *Science.* 1996; 271(5248):509-12.

109. Frey AB, Wali A, Pass H, Lonardo F. Osteopontin is linked to p65 and MMP-9 expression in pulmonary adenocarcinoma but not in malignant pleural mesothelioma. *Histopathology*. 2007; 50(6):720-6.
110. Pass HI, Lott D, Lonardo F, Harbut M, Liu Z, Tang N, et al. Asbestos exposure, pleural mesothelioma, and serum osteopontin levels. *N Engl J Med*. 2005; 353(15):1564-73.
111. Wheatley-Price P, Yang B, Patsios D, Patel D, Ma C, Xu W, et al. Soluble mesothelin-related peptide and osteopontin as markers of response in malignant mesothelioma. *J Clin Oncol*. 2010; 28(20):3316-22.
112. He B, Mirza M, Weber GF. An osteopontin splice variant induces anchorage independence in human breast cancer cells. *Oncogene*. 2006; 25(15):2192-202.
113. Mirza M, Shaughnessy E, Hurley JK, Vanpatten KA, Pestano GA, He B, et al. Osteopontin-c is a selective marker of breast cancer. *Int J Cancer*. 2008; 122(4):889-97.
114. Tajima K, Ohashi R, Sekido Y, Hida T, Nara T, Hashimoto M, et al. Osteopontin-mediated enhanced hyaluronan binding induces multidrug resistance in mesothelioma cells. *Oncogene*. 2010; 29(13):1941-51.

