TÜRKİYE CUMHURİYETİ
KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

MALİGN MEZOTELYOMA OLGULARINDA HÜCRE DÖNGÜ İNHİBİTÖRLERİNDEN MdM2, p53 ve p16 BELİRTEÇLERİNİN PROGNOZ ÜZERİNE ETKİSİ

Dr. Cansu Eda YILMAZ

Patoloji Anabilim Dalı

Uzmanlık Tezi

2017

TÜRKİYE CUMHURİYETİ
KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

MALİGN MEZOTELYOMA OLGULARINDA HÜCRE DÖNGÜ İNHİBİTÖRLERİNDEN MdM2, p53 ve p16 BELİRTEÇLERİNİN PROGNOZ ÜZERİNE ETKİSİ

Dr. Cansu Eda YILMAZ

Patoloji Anabilim Dalı

Uzmanlık Tezi

Tez Danışmanı

Prof. Dr. Demir Kürşat Yıldız

Etik Kurul Onay Tarihi:08.02.2017 Proje No: GOKAEK 2017/2.26

2017

İÇİNDEKİLER DİZELGESİ **1**

TEŞEKKÜR 4

KISALTMALAR DİZELGESİ 5

ÇİZELGELER DİZELGESİ 7

ÇİZİMLER DİZELGESİ 8

1.GİRİŞ ve AMAÇ 9

2.GENEL BİLGİLER 10

2.1.PLEVRANIN ANATOMİSİ, HİSTOLOJİSİ VE FONKSİYONU 10

2.2 MALİGN MEZOTELYOMA TARİHÇESİ 11

2.3. MALİGN MEZOTELYOMA EPİDEMİYOLOJİSİ ve KLİNİĞİ 12

2.4. PLEVRAL MALİGN MEZOTELYOMA ETYOLOJİSİ 13

2.4.1. ASBEST 13

2.4.2 ERİONİT 15

2.4.3. SV-40 15

2.4.4. GENETİK 17

2.4.5. MOLEKÜLER DEĞİŞİKLİKLER 17

2.4.5.1.ASBEST MARUZİYETİNİN SEBEP OLDUĞU MOLEKÜLER DEĞİŞİKLİKLER 17

2.4.5.2.GENLER VE MALİGN MEZOTELYOMA 18

2.4.5.2.1.HÜCRE DÖNGÜSÜ ve İNHİBİTÖRLERİ 18

2.3.5.2.2. $P16^{INK4A}$/$P14^{ARF}$ ve MALİGN MEZOTELYOMA İLİŞKİSİ 22

2.3.5.2.3. NÖROFİBROMATOSİS-2 23

2.3.5.2.4.BAP-1 23

2.3.5.2.5. LATS2 (Large Tumor Suppresor) 23

2.3.5.2.6. DNA METİLASYONU 24

2.3.5.2.7. DİĞER GENLER VE YOLAKLAR 24

2.4.6. RADYASYON 25

2.5 MALİGN MEZOTELYOMA SINIFLAMASI VE TÜRLERİ 25

2.5.1 MALİGN MEZOTELYOMA SINIFLAMASI 25

2.5.2.MALİGN MEZOTELYOMA TÜRLERİ ve HİSTOLOJİK ÖZELLİKLERİ 27

2.5.2.1.EPİTELOİD MEZOTELYOMA 27

2.5.2.2.SARKOMATOİD MALİGN MEZOTELYOMA 29

2.5.2.3.BİFAZİK MALİGN MEZOTELYOMA 30

2.5.3.MALİGN MEZOTELYOMADA İMMUNOHİSTOKİMYANIN ROLÜ 30

2.6.PLEVRAL MALİGN MEZOTELYOMANIN PROGNOZU VE TEDAVİSİ 31

3.GEREÇ VE YÖNTEM 32

3.1.OLGULARIN SEÇİLMESİ 32

3.2. UYGULANAN İMMUNOHİSTOKİMYASAL BELİRTEÇLER ve UYGULAMA YÖNTEMİ 32

4. BULGULAR 34

4.1. OLGULARA AİT GENEL BİLGİLER 34

4.2.SV40 VE ASBEST MARUZİYETİ KORELASYONU 36

4.3. MdM2, p16, p53 BELİRTEÇLERİYLE EPİTELOİD ve NON-EPİTELOİD MALİGN MEZOTELYOMALAR ve SAĞKALIM ARASINDAKİ İLİŞKİ 36

5.TARTIŞMA 43

6.SONUÇLAR 46

7.ÖZET 47

8.İNGİLİZCE ÖZET 50

9.KAYNAKÇA 52

TEŞEKKÜR

İhtisas sürem boyunca benden bilgi ve birikimlerini esirgemeyen, eğitimimde büyük katkıda bulunan tez hocam ve anabilim dalı başkanımız sayın Prof. Dr. Demir Kürşat Yıldız'a ve sayın hocalarım Prof. Dr. Nadir Paksoy, Prof. Dr. Bahar Müezzinoğlu, Prof. Dr. Yeşim Gürbüz, Prof. Dr. Sevgiye Kaçar Özkara, Doç. Dr. Çiğdem Vural ve Doç. Dr. Bora Gürel'e,

Verilerin istatiksel değerlendirme aşamasında benden yardımlarını esirgemeyen biyoistatistik anabilim dalı öğretim üyesi Doç. Dr. Canan Baydemir'e,

Birlikte çalışmaktan zevk aldığım ve ihtisas süremi birlikte geçirdiğim asistan arkadaşlarım ile adından bahsedemediğim tüm çalışma arkadaşlarıma,

Benim bugünlere gelmemdeki emeğinin karşılığı asla ödeyemeyeceğim, ilk öğretmenim, yol göstericim, beni çok seven,gözümden sakındığım, vefakâr biricik annem Ayşe Ünsal'a,

Her ne kadar şu an benim yanımda olamasada beni izlediğine ve benimle gurur duyduğuna inandığım, kalbimde yeri sonsuz olan, her zaman gurur ve saygıyla andığım rahmetli babam Yıldıray Ünsal'a,

İhtisasım boyunca desteğini benden esirgemeyen eşime,

Hayatıma girerek bana dünyanın ne kadar güzel bir yer olduğunu sevgisi, masumluğu ve minicik kalbi ile öğreten, benim için sevginin gerçek anlamı bir tanecik kızım Ela Derin'ime,

TEŞEKKÜR EDERİM.

Canım kızım ve sevgili annem iyi ki varsınız, iyi ki benimlesiniz……

NİSAN-2017

KISALTMALAR DİZELGESİ

MM : Malign Mezotelyoma

TNF-α: Tumor Necrosis Factor alpha

TGF-β: Transforming Growth Factor beta

PDGF : Platelet-derived Growth Factor

MdM2: Mouse Double Minute Two

CDK : Cyclin-Dependent Kinase

LATS : Large Tumor Suppresor

E2F : Elongation Factor 2

ARF : Alternative Reading Frame

EGFR : Epidermal Growth Factor Receptor

VEGF: Vascular Endothelial Growth Factor

MHC : Major histocompatibility complex

SV40 : Simian Viruse 40

IGF-1 : Insuline Growth Factor 1

PP2A : Protein phosphatase 2

NF : Neurofibromatosis

BAP-1 : BRCA1associated protein 1

PTEN : Phosphatase and tensin homolog

CK 5 : Cytokeratin 5

CK5/6 : Cytokeratin 5/6

WT-1 : Wilms Tumor 1

CEA : Carcinoembryonic antigen

TTF-1 : Thyroid transcription factor 1

PSA : Prostate specific antigen

PSMA : Prostate specific membrane antigen

ER : Estrogen receptor

ÇİZELGELER DİZELGESİ

Çizelge 1: DSÖ 2004 Plevral tümörlerin sınıflaması. 25

Çizelge 2: 2015 DSÖ'ye göre plevral lezyonların sınıflandırılması. 26

Çizelge 3: Malign Mezotelyomanın histolojik alt tipleri. 27

Çizelge 4: Olgulara ait genel bilgiler. 35

Çizelge 5: Asbest maruziyeti ve SV40 ekspresyonunun arasındaki ilişki. 36

Çizelge 6: MdM2, p53 ve p16 ile histolojik alt tip ile sağkalım süreleri arasındaki ilişki. 37

Çizelge 7: MdM2 ve sağkalım süreleri arasındaki nonparametrik ilişki. 39

Çizelge 8: p53 ve sağkalım süreleri arasındaki nonparametrik ilişkisi. 39

Çizelge 9: p16 ve sağkalım süreleri arasındaki nonparametrik ilişki. 40

Çizelge 10: Histolojik alttipler ve sağkalım süreleri arasındaki nonparametrik ilişki. 40

ÇİZİMLER DİZELGESİ

Çizim 1: Plevranın histolojik kesitleri. 11

Çizim 2: Hücre döngüsü, kontrol noktaları ve inhibitörleri. 18

Çizim 3: Retinablastom, p53 ve EF2'yi S'den G1 fazına geçişteki kontrol noktasında negatif veya pozitif olarak etkileyen faktörler. 20

Çizim 4: p14 ve p16 CDK inhibitörlerinin hücre siklusundaki yerleşimleri ve diğer proteinlerle olan etkileşimi. 21

Çizim 5: MdM2 ve sağkalım süresi arasındaki ilişkiye ait Kaplan Meier sağkalım eğrisi. 38

Çizim 6: p53 ve sağkalım süreleri arasındaki ilişkiye ait Kaplan Meier sağkalım eğrisi. 38

Çizim 7: p16 ve sağkalım süreleri arasındaki ilişkiye ait Kaplan Meier sağkalım eğrisi. 39

Çizim 8: Epiteloid malign mezotelyoma olgusu. 41

Çizim 9: Sarkomatoid malign mezotelyoma olgusu. 41

Çizim 10: Bifazik malign mezotelyoma olgusu. 41

Çizim 11:Desmoplastik malign mezotelyoma olgusu 41

Çizim 12: Berrak hücreli malign mezotelyoma olgusu. 41

Çizim 13: İyi diferansiye papiller mezotelyoma olgusu. 41

Çizim 14 : MdM2 belirtecinde nükleer zayıf reaksiyonu. 42

Çizim 15: MdM2 belirtecinde nükleer orta kuvvette reaksiyonu . 42

Çizim 16: p16 belirtecinde nükleer orta şiddette reaksiyon. 42

Çizim 17: p16 belirtecinde kuvvetli şiddette reaksiyon. 42

Çizim 18: p53 belirtecinde nükleer orta şiddette reaksiyon. 42

Çizim 19: p53 belirtecinde nükleer orta kuvvetli pozitif reaksiyon. 42

Çizim 20: SV40 belirtecinde nükleer zayıf reaksiyon. 42

Çizim 21: SV40 belirtecinde nükleer kuvvetli pozitif reaksiyon. 42

1. GİRİŞ ve AMAÇ

Malign Mezotelyoma (MM), vücut boşluklarını döşeyen mezotelyal hücrelerden kaynaklanan agresif bir tümördür. Oldukça nadir görülmesine rağmen agresif seyretmesi, cerrahi, kemoterapi, veya radyoterapi gibi tedavi yöntemlerinde dirençli olması nedeni ile yaşamsal önem kazanmaktadır[1]. Plevral mezotelyomalar genellikle 60 yaş civarında görülmekle birlikte her yaş aralığında ortaya çıkabilir [2]. Etyolojisinde özellikle asbestin önemli bir rolü vardır. Bununla beraber erionit ve başka faktörlerde söz konusudur. Moleküler analizlerin gelişmesi ile patogenezinde ortaya çıkan bazı genetik değişiklikler dikkat çekicidir.

Hücre döngüsü üzerindeki kontrol noktalarında gelişen değişiklikler ve kayıplar birçok tümörün patogenezinde rol almaktadır. Bu malignitelerden birisi de mezotelyomadır. Hücre döngüsü siklinler siklin- bağımlı kinazlar (CDK-kinase) ve bunların inhibitörlerindeki fosforilasyon değişiklikleri sonucunda meydana gelen inaktivasyon veya aktivasyonları ile kontrol edilmektedir. Önemli döngü inhibitörlerinin çoğu 9. kromozomun kısa kolunda eksprese edilmektedir(9p21).[3] 9p21 de sık meydana gelen homo-delesyonlar, burada lokalize p16 ve p14 genlerinde delesyona neden olup ekspresyon kaybına yol açarlar. Hücre döngüsü üzerindeki kontrol mekanizmaları ortadan kalkar. Hücre ölümsüz bir hal alması, malign transformasyonun gerçekleşmesine zemin hazırlar[4].

SV-40 bir DNA virüsü olup değişik çok sayıda çalışma ile MM hastalarındaki varlığı gösterilmiştir. Buna karşın farklı çalışmalarda sadece bulaş nedeni ile yalancı pozitifliğinden bahsedilmiştir.

Çalışmamızda hastanemizde 2006 Nisan ve 2016 Aralık ayı arasında malign plevral mezotelyoma tanısı almış olan hastalarda hücre döngü inhibitörleri (p16,p53 ve MdM2) ile SV-40 ekspresyonunun araştırılması, hücre döngü inhibitörlerinin prognoz, SV40 ekspresyonunun ise asbest ile olan ilişkilerinin değerlendirilmesi amaçlanmaktadır.

2.GENEL BİLGİLER

2.1.PLEVRANIN ANATOMİSİ,HİSTOLOJİSİ VE FONKSİYONU

Primer mezodermal üç vücut boşluğu (perikardiyal,plevral ve peritoneal boşluklar) vertebra boyunca oluşmaktadır. Erken embriyogenezde çölomik kaviteden birbirinden ayrı kaviteler biçiminde gelişmektedir. Akciğerler bu boşluğa doğru balon gibi büyümeye başlar. Çölomik boşluğun, büyüyüp gelişen akciğer tomurcuğuna doğrudan temas eden ve onu çevreleyen kısmı daha sonra gelişmekte olan visseral plevra olarak adlandırılır.[5] İlerleyen dönemle her iki plevral yaprağı birbirinden plevra boşluğu ile ayrılır ve tüm intratorasik organlar normal lokalizasyonlarına yerleşir.[6]

Plevra ise kendiliğinden katlanarak iki katmanlı bir membran yapısı oluşturan, mezotel hücre tabakası ile döşeli fibröz dokudan oluşan bir yapıdır.[7,8] Plevra torasik kavitenin alt kısmından başlayarak iki tabakaya ayrılıp (visseral plevra akciğer ve interlobar fissürleri kaplar; paryetal plevra da göğüs kafesi, mediasten ve diyaframın iç yüzünü kaplamaktadır) akciğere doğru devam eder ve hilusta pulmoner ligamana tutunarak sonlanır.[6,8] Her iki plevral kavite birbirinden mediasten ile ayrılmaktadır.

Paryetal plevra interkostal arterlerin dallarından beslenirken visseral plevra broşial arter sisteminden beslenmektedir. Paryetal plevranın lenfatik drenajı interkostal, parastrenal, diyafragmatik ve posterior mediastinal lenf nodu grubuna olmaktadır. Visseral plevra ise komşu akciğer parankimine ait lenfatikleri kullanmaktadır.[8] Hem paryetal hem de visseral plevranın lenfatik drenaj sistemi plevra sıvısının dengesi için oldukça önemlidir. Bu dengenin bozulması genellikle plevral effüzyon ile sonuçlanmaktadır.[5]

Işık mikroskopunda plevra 5 tabakaya ayrılmaktadır. En içten dışa doğru beş tabakadan oluşmaktadır (Resim 1): [5,6]

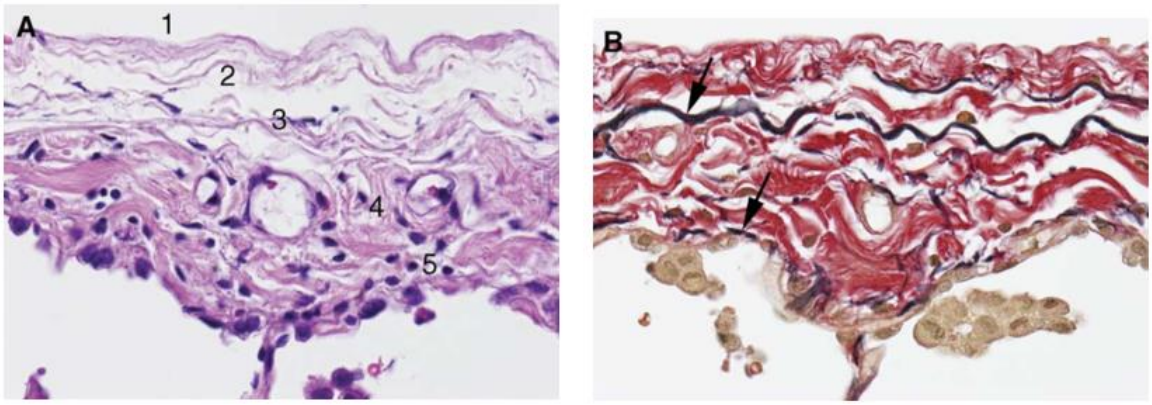
-Tek sıralı mezotel hücreleri,

-Bazal laminayı da kapsayacak şekilde ince bir katman halinde submezotelyal bağ dokusu,

-İnce yüzeyel elastik tabaka,

-Arter, ven, sinir ve lenfatiklerden zengin ikinci gevşek bağ dokusu tabakası,

-Komşu akciğer, mediasten ve göğüs duvarına yapışık fibroelastik tabaka.



Çizim 1. Plevranın histolojik kesitleri. (*A*) Normal bir plevra örneğine ait, görece birbirinden ayrılabilen beş tabakayı görmekteyiz. Elastik laminayı ayırdetmek rutin H-E kesitlerde zor olabilmektedir. Fotoğrafın ortasına yerleşmiş olan dilate yapılar aslında kan damarlarını temsil etmektedir.(*B*) Elastik lamina boyası ile elastik lamina dalgalı şekilde görülür hale gelmiştir (oklar). Kollajen kırmızı ile boyanmış olup alveole ait olan makrofajlar boyanmamıştır.

Plevra boşluğunda erişkin bir insanda vücut ağırlığına göre değişen (0,1-0,2 ml/kg) miktarda plevra sıvısı vardır. Bu sıvı, hem üretilen hem de plevra tarafından emilebilen bir sıvıdır. İçindeki protein konsantrasyonu normal şartlarda yaklaşık 1,5 gr/dl dir.[5] Plevra sıvısı içinde az miktarda makrofaj, mezotel hücresi ve lenfosit olabilir. Normal fizyolojik süreçte paryetal plevra, plevral sıvı homeostazı için önemli bir rol oynamaktadır. Damarlar paryetal kısma visseral kısımdan daha yakın olup filtrasyon hızının daha fazla ve etkin olmasını sağlamaktadır. Ayrıca paryetal plevra stromasında bulunan minik gözenekler sayesinde plevral sıvı hızlıca lenfatik sisteme drene olur. Bu gözenekler özellikle paryetal plevrada daha çok sayıda bulunmaktadır.[8]

2.2 MALİGN MEZOTELYOMA TARİHÇESİ

MM'nın öyküsü 100 yıldan daha öncesine dayanmaktadır. Bu maligniteyi tanıma süreci ilk olarak 1700 lü yılların sonunda Liteutaud tarafından "plevral tümörler" adı altında yayımlanan yaklaşık 3000 otopsiyi kapsayan bir yayınla başlamıştır. Daha sonra farklı isimlerde plevra lezyonlarından bahsedilmiş (plevral endotelyoma…..vs), başka bir odaktan buraya gelen bir tümör olduğu düşünülmüş veya bu bölgenin sarkomu olarak kabul edilmiştir.[9] 1950'lerden önce nadir bir tümör olarak görüldüğü için MM hakkında

net bir bilgi yoktu.[10] Zamanla Sanayi Devrimi, sanayileşme ve asbestin sık kullanılmaya başlanması ile vaka sayısında da artış görüldü. İlk MM vakası 1947 yılında bildirildi. 1960 yılında da Wagner ve arkadaşları maden kazıcılarında epidemik olarak MM görüldüğünü ve asbestin bunun ana nedeni olduğunu kanıtladı[11,12].

2.3. MALİGN MEZOTELYOMA EPİDEMİYOLOJİSİ ve KLİNİĞİ

MM oldukça nadir görülen bir tümördür ve görülme sıklığı coğrafyadan dolayı farklılık göstermektedir.[11] Amerika Birleşik Devletleri'nde yıllık insidans yaklaşık 3200 kişidir. 2013 yılında dünya genelinde hayatını kaybeden sayısı 34.000 olarak bildirilmiştir.[13] MM'nın insidansı gelişmiş ülkelerde, yaşanan ve çalışılan alanlarda asbest maruziyeti azaltıldığı için düşmektedir. Ancak az gelişmiş ve gelişmekte olan ülkeler için çevresel maruziyet nedeni ile bu durumun tam tersi söz konusudur[14]. Dünyanın her yerinde görülebilen bu malignite özellikle ülkemizde görülme sıklığı yoğun olan yerlerdendir. Türkiye coğrafik olarak yaygın asbest alanlarına sahiptir.[15] Bu yüzden bu malignitenin görülme sıklığı da diğer ülkelere göre Türkiye de daha fazladır. Özellikle Orta Anadolu da Kapadokya Bölgesinde "beyaz toprak" olarak tariflenen erionit bunun en önemli sebeplerindendir.[15,16]

MM özellikle yetişkinlerde görülmektedir. Genellikle 6. ve 7. dekatta klinik belirti vermeye başlar.[10,14] Ancak yaklaşık 20-40 yıl süren uzun latent periyodundan dolayı maruziyetin daha erken yaşlarda olduğu varsayılmaktadır.[10] Erken yaşlarda ortaya çıkışının nedeni çevresel maruziyetin doğuştan itibaren başlamasıdır. Asbestle ilişkili işlerde daha fazla çalıştıkları için erkeklerde görülme sıklığı daha fazladır. Tipik klinik belirtileri dispne veya plevral effüzyondur. Her ikisi birden de görülebilir. Bazen plevral effüzyon nedeni ile göğüs ağrısı olmadan nefes almak imkânsız hale gelebilir. Mediastinel yapıların tutulması ile horlama, disfaji ve superior vena kava sendromu gelişebilir. Disfaji, özellikle son dönem belirtisidir. Lenfadenopati, hemoptizi ve metastatik lezyonlar, akciğer karsinomlarından farklı olarak daha az sıklıkta görülmektedir.[17]

2.4. MALİGN MEZOTELYOMA EPİDEMİYOLOJİSİ ve KLİNİĞİ

2.4.1. ASBEST

Asbest 1940 ve 1970 yılları arasında Amerika ve Avrupa da, yangına dayanıklılık özelliğinden dolayı gemi yapımı ve inşaat sektöründe sıklıkla kullanılmıştır. Asbest terimi altında yaklaşık 6 mineral ifade edilmektedir. Serpentin grubu olarak adlandırılanlar krizolit minerali için kullanılmaktadır. Krizolit için beyaz asbest de denilmektedir. Fibröz amfiboller olarak isimlendirilen ikinci grup içerisinde amosit (kahverengi asbest), aktinolit, antifolit, krokidolit (mavi asbest) ve tremolit mineralleri bulunmaktadır.[13,18] Amfibol asbest maruziyeti ile MM gelişimi arasındaki ilişki iyi kabul görmüştür.[11] Bazı araştırmacılara göre sadece amfibol asbest, özellikle amosit ve krokidolit (Genellikle Güney Afrika'da maden yataklarında sıklıkla bulunmaktadır) mezotelyomaya neden olmaktadır. Diğer araştırmacılara göre ise krizolit nerdeyse amfiboller kadar tehlikelidir. Bunun nedeni ise krizolitin dünya genelinde üretilen tüm asbestin %90'ını oluşturmasından dolayı maruziyetin fazla olması ve ayrıca krizolit fibrillerinin neden olduğu DNA hasarı ve kromozom anomalileri olduğu belirtilmektedir.[11,12] Krizolit ayrıca akciğer kanseri ve diğer solunum yolu hastalıklarına da neden olabilmektedir.[19]

Asbeste çalışılan iş kolları nedeniyle maruziyet olduğu gibi ayrıca yaşanan coğrafyaya bağlı olarak (kırsal bölge, çöl vb.) o bölgede bulunan mineral liflerine maruziyet etyolojide önemlidir.[13] Özellikle Türkiye gibi gelişmekte olan ülkelerde etyolojide asbeste çevresel maruziyet önem kazanmaktadır. Türkiye başta Eskişehir, Tokat, Yozgat, Sivas ve Gaziantep olmak üzere Orta ve Güneydoğu Anadolu bölgelerinde zengin asbest kaynaklarına sahiptir.[16,20,21] Bu bölgelerin kırsal alanlarında, krizotil ve tremolit gibi çeşitli asbest mineralleri içeren beyaz toprak, köylüler tarafından evlerin iç duvarlarını beyazlatmak ve çatılar ile duvarlarda su geçirmez özelliğinden faydalanmak için kullanılmaktadır.[20,21] Beyaz toprak ayrıca bebek pudrası ve seramik yapımında da kullanılmaktadır. Bu ve benzeri coğrafyada karşılaşılan vakalarda, olgular beyaz toprağa sıklıkla doğumdan itibaren maruz kalmaktadır. Çalışma yaşamındakinden farklı olarak daha az miktarda asbeste, ancak daha uzun süre maruz kalıyorlar. Bu biriken etki sonucunda hastalık gelişebilmektedir.[21]

Uzun ve ince asbest lifleri solunumla akciğerin derinliklerine ulaştıktan ve plevra boşluğuna girdikten sonra, asbest liflerinin mezotel hücreleri ve inflamatuar hücreleri ile etkileşiminin, doku hasarı, onarımı ve lokal inflamasyonun uzun süreli döngüleri başlattığı ve nihayetinde karsinogenezise yol açtığı düşünülmektedir. Bu sürecin ilerlemesinde fibrilin boyutu, kimyasal yapısı, maruziyet yolu, maruz kalınan doz ve fibrilin biyopersistansı önem kazanmaktadır.[22] Asbest fibrillerinin indüklediği hücrelerde meydana gelen genetik ve hücresel değişiklikler ile inflamasyona bağlı karsinogenezi açıklamaya çalışan 4 temsili basamak aşağıdaki gibidir.

a-) Asbest fibrilleri demir nedeniyle oluşan oksidatif stresin neden olduğu serbest oksijen radikalleri hücrede DNA hasarına ve DNA iplikçiklerinin kopmasına neden olur. Ayrıca asbest fibrillerini fagosite eden ancak sindiremeyen makrofajlar fazla miktarda serbest oksijen radikali üretimine neden olarak bu etkiyi artırmaktadır. Ratlarda krokidolit tipi liflerin selüler glutatyonun antioksidan etkisini azalttığı da gösterilmiştir[18,23,24].

b-)Asbest fibrilleri mezotel hücreleri tarafından yutulabilir. Böylece hücrelere alındıklarında mitotik iğleri keserek hücre döngüsünün mitotik sürecine fiziksel olarak müdahale edebilir. Kromozomlara ve hücre döngüsüne etkisiyle mezotel hücrelerinde yapısal anomaliler ve anöploidi meydana gelir.

c-)Asbest fibrilleri çok sayıda değişik karsinojeni absorbe edip yüzeyinde taşıyabilir. Ayrıca bu fibriller önemli selüler proteinleri bağlayarak bunlarda yapısal hasara neden olarak zararlı maddeler haline getirmektedir.

d-)Asbest fagosite etmiş mezotelyal hücreler ile makrofajlar çok sayıda büyüme faktörü ve sitokin salgılayarak karsinogenezin temelini oluşturan inflamasyonu indüklerler. Bu maddelerin başlıcaları TGF-β,TNF-α, Interleukin-1β ve PDGF'dir. Asbest mezotelyal hücrelerde TNF-α reseptörünün artmasına da neden olur. Hem artan TNF-α hem de TNF-α reseptörü parakrin ve otokrin etki ile birbirinin salınımını stimüle etmektedir. Salınan TNF-α reseptörüne bağlanıp nükleer faktör-κB'yı aktive ederek asbeste maruz kalmış mezotel hücrelerinin yaşam süresini arttırmaktadır.[11,25] Asbeste maruz kalmış ve nekroza gitmiş mezotel hücrelerinen salınan Hmgb-1 proteini, ekstraselüler mesafede makrofajların sayısının artmasına neden olarak inflamatuar yanıtı güçlendirmektedir.

Sayıca artan makrofajlardan salınan diğer sitokinler üzerine de böylece pozitif etki yapmaktadır.[26,27]

Tüm bu bahsi geçen olaylar sonucunda mezotel hücreleri, inflamatuar hücreler, fibroblastlar ve diğer stromal hücreler aşırı derecede aktive olur. Bunlar arasındaki bağ, potansiyel olarak kanser hücresi geliştirmeye yatkın mezotel hücreleri için DNA hasarı ve anöploidi oluşumuna zemin hazırlamaktadır.[25]

2.4.2 ERİONİT

Yapılan hayvan çalışmaları ve Türkiye'de ortaya çıkarılan MM vakalarından sonra erionitin plevra ve peritoneal mezotel hücreleri için en kuvvetli karsinojen ajan olduğu kanıtlanmıştır.[11,28] Erionit enjekte edilmiş 40 ratın 40'ında da MM gelişirken, asbest enjekte edilen 40 ratın sadece 19'unda tümör geliştiği görülmüştür.[11]

Erionit, zeolitlerin mineralojik grubuna aittir. Zeolitler tipik olarak volkanik kayaların alt kısımlarında bulunan kavitelerde veya geç dönem hidrotermal çevreye sahip alanlarda bulunmaktadır. Özellikle Orta Anadolu'da Kapadokya bölgesi çevresi ve Nevşehir'de kayalarda ve toprakta erionit fibrilleri bol miktarda mevcuttur.[29] Özellikle Karain ve çevresindeki Sarihi ve Tuzköy, MM'nın oldukça yüksek oranda görüldüğü yerlerden birisidir. Karain'deki ölüm oranlarının yaklaşık yarısı MM'ya aittir. 100.000 kişide 639 erkek ve 1266 kadın olan görülme sıklığı ile dünyadaki en yüksek oran bu köye aittir. Özellikle Karain'deki ölüm oranlarının %50 den fazlası MM'a bağlıdır.[12] Oranlardan da anlaşılacağı üzere asbestten farklı olarak kadınlarda görülme sıklığının fazla olması dikkat çekicidir. Kadınlar evde daha fazla zaman geçirdikleri için maruziyetin yoğun olduğu ve görülme oranının da yüksek olduğu düşünülmektedir.[30] Meksika'da yapılan bir çalışmada da erionitin çevresel maruziyet sebebi ile MM'ya sebep olduğu bildirilmiştir.[28]

2.4.3. SV-40

Simian virüsü 40 (SV40) Polyomaviridae ailesine ait, MM ile ilişkilendirilmiş bir DNA maymunu virüsüdür. Bunlar küçük zarfsız, ikozahedral DNA virüsleridir. Genomları çift sarmallı, sirküler, tek kopyalıdır.[31]

Özellikle dikkat çekici hale gelmesi polio aşılarındaki kontaminasyonun gösterilmesi ile olmuştur. Polio aşısının sabin ve salk formları hazırlanırken Rhesus maymunlarının

böbreği kullanılmıştır. Bu maymun türünün özelliği ise SV-40 ile doğal olarak infekte olmasıdır. Polio aşılarındaki bu viral kontaminasyon bu sebepten olmaktadır. 1955 ve 1963 yılları arasında sadece Amerika Birlaşik Devletleri'nde 30 milyon kişi kontamine aşılar ile aşılanmıştır. Aynı şekilde dünyanın dört bir yanında milyonlarca kişinin bu aşılar kullanıldığı için SV-40 ile karşılaştığı düşünülmektedir.[31]

SV40 varlığı dünya üzerinde 50'den fazla laboratuar tarafından kanıtlanmış olup, bunların arasında görülme sıklığı açısından farklar olduğu dikkati çekmektedir. Bu farkların özellikle kullanılan yönteme göre değişmekle birlikte kontaminasyon nedeni ile olduğu bildirilmiştir.[32] Bununla birlikte birçok ülkede yapılan çeşitli yöntemlerle (PCR, immunohistokimya vb.) MM ve SV40 arasında kesin bir ilişki saptanamamıştır.[33–38] SV40 varlığı farklı yöntemlerle gösterilmiş olup bu çalışmaları doğrulayabilmek açısından en sonunda bir standardizasyon getirilmesi önerilmiştir.[32]

SV-40 yapılan hayvan modellerinde çok sayıda ve farklı malignitenin patogenezinde yer aldığı gösterilmiştir. Bunlar arasında primer beyin tümörleri, kemik tümörleri, MM ve sistemik lenfomalar yer almaktadır.[31]

SV40 ve diğer DNA virüsleri doğal konakçılarında nadiren onkojendir. Ancak türler arası geçiş yaparken daha onkojenik hale gelebilirler. SV40'ın malignite geliştirme olasılığı türlere ve hücre tipine göre değişmektedir.[39] Maymun hücreleri SV40 replikasyonunu desteklerken, izin vermeyen rodent hücrelerinde replikasyon gerçekleşmez. Replikasyon oluşan maymun hücrelerinde sonunda lizis gerçekleşip hücre parçalanır. Ancak SV40'ın girişine izin verilen bazı hücrelerde (örneğin insan mezotelyoma hücrelerinde) SV40 genoma integre olup malign transformasyona neden olabilmektedir.[32]

MHC-Class I SV40 için en önemli yüzey reseptördür. Hücrenin infekte olmasından sonra SV40 hücre siklusuna entegre olur. Burada küçük ve büyük T antijeni ile 3 viral kapsid antijenini kodlamaktadır.[31,39] Büyük T antijeni(Tag) tümor supresör genlerinden p53, Rb ve Rb ailesinin ilgili proteinlerinden p107 ve Rb2-130 ile RASSF1'a bağlanarak aktivitelerini inhibe etmektedir.[32] Yakın tarihli bir başka araştırmada, Tag-p53 kompleksinin malign hücre çoğalması için gerekli olan büyüme uyarıcı aktiviteleri olduğunu göstermiştir.[40] Ayrıca hücre membranında met, Notch-1 ve IGF-1 reseptörünün de aktivasyonunu artırmaktadır.[41] Bahsi geçen onkogen ve büyüme faktörleri ERK-kinaz

yolağının aktif hale gelmesini sağlar. AP-1 aktivasyonu hücre bölünmesini tetikler.[32] Küçük T antijeni (tag) ise selüler fosfataz 2A'yı (PP2A) inhibe ederek Map kinaz yolağındaki proteinlerin defosforilasyonuna neden olur. PP2A'nın inhibisyonu sayesinde tag MAPK sinyalizasyonunu ve AP-1 indüklemesini sağlayabilir.[11]Aynı zamanda tag PP2A yı inhibe ederek Tag ve asbestin karsinojen etkisini arttırabilir. Başka bir kaynakta ise insan mezotel hücrelerinde SV40 ile infekte olduğunda daha önce de bahsedildiği gibi ölümsüzlük kazanıp, erken dönemde hTERT aktivasyonuna ve metilasyona, ilerleyen dönemde de azalmış RASSF1A gen ekspresyonuna sebep olmaktadır. Her iki durumun da MM ile ilişkili olduğu düşünülmektedir.[4] Başka bir çalışmada da SV40'ın krokidolit tarafından uyarılan Nitrik oksit ve diğer serbest oksijen radikallerinin üretimini azaltarak sitotoksik etkiyi önlemekte ve neoplastik hücrelerin yaşam sürelerini artırmaktadır.[24] Yine bir çalışma da SV-40 ile infekte hücrelerde belirgin telomeraz aktivitesi saptanmıştır.[42]

2.4.4. GENETİK

MM'nın özellikle Orta Anadolu'da Kapadokya bölgesindeki Eski Sarihi, Tuzköy ve Karain köylerinde epidemik hale gelmesi, etyolojide genetik etki şüphesini ortaya çıkarmıştır. Bu bölgelerde evlerde erionit sık kullanılmaktadır. Ancak tüm bölgelerde aynı tür ve miktarda erionit olmasına rağmen, MM özellikle belirli ailelerde daha sık görülmüştür. Yapılan soyağacı çalışmalarında da eğer MM görülmeyen ailenin bir ferdi kanserin görüldüğü aileden birisi ile evlendiğinde devam eden soylarda MM görüldüğü dikkat çekmiştir. Bunun nedeni tam olarak belirlenemese de varılan nokta, bu bölgede yaşayan ailelerde MM için açıklanamayan genetik bir yatkınlık olduğu ve erionit maruziyeti ile hastalık insidansının yükseldiğidir.[11,12,27]

2.4.5. MOLEKÜLER DEĞİŞİKLİKLER

2.4.5.1.ASBEST MARUZİYETİNİN SEBEP OLDUĞU MOLEKÜLER DEĞİŞİKLİKLER

Asbest maruziyeti intranükleer yerleşimli c-jun ve c-fos isimli protoonkogenlerin ekspresyonunu arttırmaktadır. Bahsi geçen protoonkogenler, hücrelerin proliferasyonu ve transkripsiyonundan sorumludur.[4]

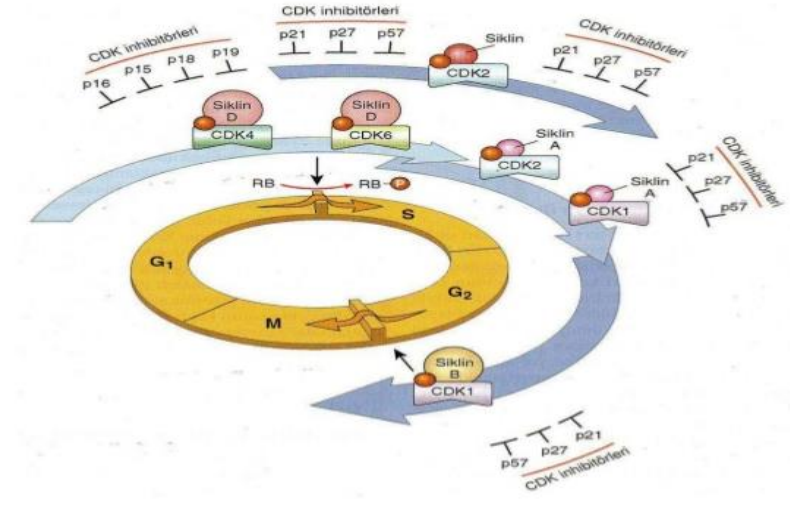
2.4.5.2.GENLER ve MALİGN MEZOTELYOMA

MM kromozomal kayıp ve değişiklikler sıklıkla görülmektedir. Bunlar arasında en iyi bilinenleri 1, 3, 6, 9, 13, 14 ve 22'dir.[43] En sık görülen değişiklik, 9p21'e ait homo-delesyonlardır. Burada p14 ve p16 genleri kodlanmakta olup MM'da bu proteinlerin ekspresyon kaybı görülmektedir.[4] Bu oran tüm MM'ların yaklaşık %72'sini oluşturmaktadır. MM'ın %75'inde tek başına p16'nın homozigot delesyonu mevcut olduğu bildirilmiştir. Bu durumun daha kötü sağkalım ve prognozla ilişkili olduğu belirtilmiştir.[44]

2.4.5.2.1.HÜCRE DÖNGÜSÜ VE İNHİBİTÖRLERİ

Hücre çoğalması, çok sayıda molekül ve karşılıklı bağlantıları olan moleküler yollar tarafından sıkıca denetlenen bir süreçtir. Hücre replikasyonu, hücre-dışı matriks bileşenleri tarafından büyüme faktörleri veya integrinler aracılığıyla uyarılır. Hücre siklusunda G1, S, G2 ve M fazları yer alır. Hücre siklusuna girmemiş olan, dinlenme fazındaki hücreler, G0 durumundadır. Hücre siklusundaki her faz, kendisinden önceki fazların gereken şekilde aktive olmasını ve tamamlanmasını gerektirir. Siklus, temel bir gen fonksiyonu eksikse ilerlemez ve durur.

Doku homeostazının korunmasındaki, ayrıca rejenerasyon ve onarım gibi fizyolojik büyüme süreçlerinin düzenlenmesindeki merkezi rolü nedeniyle hücre siklusu; özellikle G0 fazından G1 fazına ve G1 fazından S fazına geçiş sırasında yer alan, çok sayıda denetim noktasından geçer (Çizim 2).



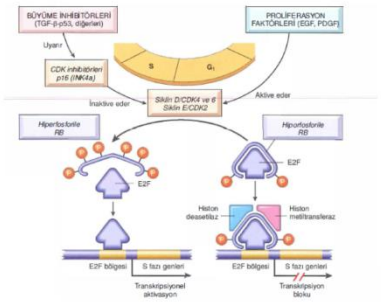
Çizim 2. Hücre döngüsü, kontrol noktaları ve inhibitörleri yukarıda şematize edilmiştir.

Dinlenme durumundaki hücreler çoğalmadan önce; hücre siklusunun "giriş kapısı" kabul edilen ve ilk karar verme basamağı olan G0 fazından G1 fazına geçmek durumundadır. G1 fazındaki hücreler siklusta ilerleyerek, sınırlanma noktası olarak bilinen ve replikasyon hızını sınırlayan, G1 fazından S fazına geçiş şeklindeki kritik evreye ulaşır. Bu sınırlama noktasından da geçen normal hücreler geri dönüşsüz bir şekilde DNA proliferasyonuna hazır durumdadır. Hücre siklusunda, DNA ve kromozom hasarını algılamak üzere ayarlanmış gözetim mekanizmaları yer alır. Kalite denetimi yapılan bu noktalara "denetim noktası" adı verilir. Söz konusu denetim noktaları DNA bütünlüğünü, replikasyon öncesi denetleyerek DNA veya kromozom hasarı olan hücrelerin replikasyon sürecinin tamamlanmamasını garantiler.

Gl-S denetim noktası DNA bütünlüğünü replikasyon öncesinde denetlerken G2-M denetim noktası replikasyon sonrası DNA'yı, denetler ve hücrenin mitoza güvenli bir şekilde girip giremeyeceğini izler. DNA hasarı fark edildiğinde denetim noktası aktivasyonu hücre siklusunu geciktirir ve DNA onarım mekanizmalarını tetikler. DNA hasarı onarılamayacak derece şiddetli olan hücreler ya apoptoz yoluyla yok edilir, ya da öncelikle, p53' e-bağımlı mekanizmalarla, yaşlanma adı verilen, replikasyonun söz konusu olmadığı bir konuma girer. Söz konusu denetim noktalarını düzenleyen genlerdeki mutasyonlar, DNA hasarı olan hücrelerin bölünüp bu mutasyonları taşıyan yavru hücreler üretmesine neden olur.

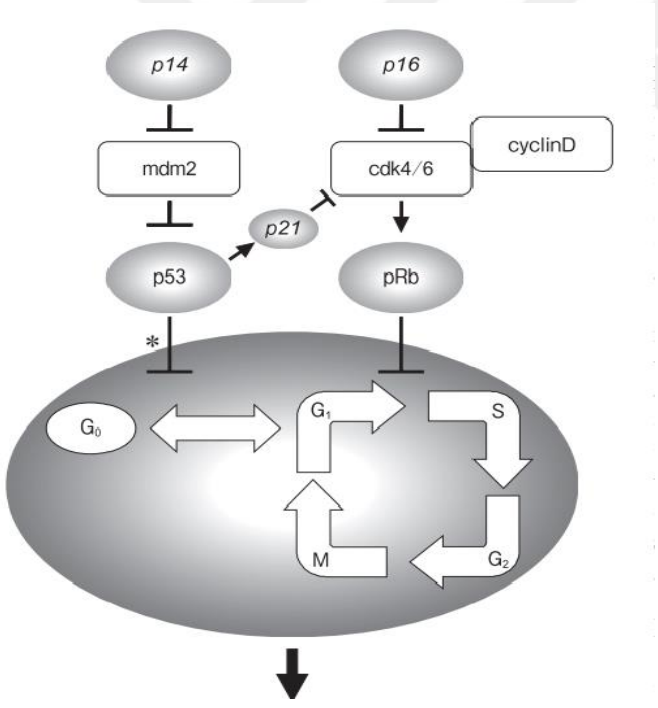
Hücre siklusu; aktivatörler ve inhibitörler tarafından sıkı bir şekilde denetlenir. Hücre siklusundaki ilerleme, özellikle de G1 -S geçişi, üretimlerinin ve parçalanmalarının siklik tabiatı nedeniyle siklinler adı verilen proteinler ve bunlara eşlik eden enzimler (siklin bağımlı kinazlar) tarafından düzenlenir. Söz konusu enzimler siklinlere bağlanıp bunlarla kompleksler oluşturarak katalitik aktivite kazanır. Hücre siklusunun çeşitli fazlardan gere-ken sırayla geçmesi, siklinlere bağlanarak aktive olan CDK enzimleri tarafından yönetilir. CDK-siklin kompleksleri hücreyi, hücre siklusu boyunca yönlendiren, son derece önemli hedef proteinleri fosforilleştirir. Bu fosforilasyonun tamamlanmasının ardından siklin düzeyleri, hızla azalır. Tanımlanan siklin sayısı 15'ten fazladır. Bunlardan siklin D, E, A ve B; hücre siklusu sırasında ardı ardına ortaya çıkarak bir veya daha fazla sayıda siklin bağımlı kinaza bağlanır. Siklin bağımlı aktive kinazlar, siklustaki faz geçişlerini düzenle-yen proteinleri fosforilleştirerek yönlendirir. CDK-siklin komplekslerinin aktivitesi, hücre siklusundaki denetim noktalarını güçlendiren CDK inhibitörleri tarafından düzenlenir.

DNA replikasyonu (S fazı) siklin/CDK2 komplekslerinin aktivitesini gerektirir ve siklin E ekspresyonu, E2F transkripsiyon faktörleri ailesine ihtiyaç gösterir. Gl'in başlarında Rb aktif olan hipofosforile durumdadır. E2F transkripsiyon faktörleri ailesine bağlanarak bu faktörleri inhibe ettiğinden, siklik E transkripsiyonuna engel olur. Hipofosforile Rb, E2F-aracılığıyla gerçekleşen transkripsiyonu en azından iki yoldan bloke eder. Bu yollardan birincisinde E2F'i, diğer transkripsiyon aktivatörleriyle etkileşime girmesini önlemek üzere izole eder. İkincisinde ise histon deasetilazlar ve histon metiltransferazlar gibi, siklin E gibi E2F' e yanıt veren genlerin promoterlerine bağlanır. Bu enzimlerin etkisi promoterlerdeki kromatini, DNA'nın transkripsiyon faktörlerine duyarsız duruma gelecek şekilde değişikliğe uğratır. Bu durum, mitojenik sinyaller geldiğinde değişir. Proliferasyon faktörlerinin sinyalleri, siklin D ekspresyonuna ve siklin D-CDK4/6 komplekslerinin aktivasyonuna neden olur. Söz konusu kompleksler Rb'yi fosforilleştirerek inaktive eder ve siklin E gibi hedef genlerin indüksiyonuna neden olmak üzere serbest bırakır. Siklin E ekspresyonu, DNA replikasyonunu ve hücre siklusunun progresyonunu uyarır. Hücreler S fazına girdiklerinde büyüme faktörlerinin ek uyarılarına ihtiyaç duymaksızın bölünmelerini sürdürür. Sonraki M fazında fosfat gruplarının hücrelerdeki fosfatazlar tarafından uzaklaştırılması, Rb'nin tekrar hipofosforile olmasıyla sonuçlanır. Rb proteininin tek hedefi E2F değildir. Çok yönlü bir protein olan Rb, hücre diferansiasyonunu düzenleyen diğer transkripsiyon faktörlerine bağlanır. Örneğin miyosit-, adiposit-, melanosit- ve makrofaj-spesifik transkripsiyon faktörlerini uyarma özelliğine sahiptir. Böylece Rb yolağı G0-G1' deki hücre siklusu progresyonu kontrolü ile diferansiasyonu bir araya getirir. Bu da, diferansiasyonun hücre siklusundan çıkış ile nasıl ilişkili olduğunu göstermektedir.[45]



Çizim 3. Retinablastom, p53 ve EF2'yi S'den G1 fazına geçişteki kontrol noktasında negatif veya pozitif olarak etkileyen faktörler temsil edilmektedir.

Memelilerin 9. Kromozomun kısa kolunda lokalize INK4α/ARF lokusunda kodlanan $p16^{INK4\infty}$ ve $p19^{ARF}$ proteinleri retinablastom ve p53 tümör supresör proteinleri ile fonksiyon olarak birlikte hareket etmektedir.[4,46,47](şekil 2) Ayrıca spesifik siklin D bağımlı kinazların inhibitörüdür. p53 monomer formu labil homotetramerik transkripsiyon faktörü olup DNA hasarı veya uygunsuz mitojenik sinyal ile indüklenip, aktivasyonu ve ortamda birikmesi sonucunda hücre döngüsünü duraklatmakta veya hücreyi apoptoza yönlendir-mektedir. G1 fazında retinablastom siklin bağımlı kinazlar tarafından fosforile edilerek histon deasetilaz ve E2F transkripsiyon faktörünün birlikteliğini bozup DNA sentezine müsaade etmektedir (Çizim 3). p16 tarafından Siklin D bağımlı kinaz aktivitesinin inhibisyonu sonucunda E2F aktive olur ve hücrenin G1 fazından S fazına geçişi engellenir. $p16^{INK4\infty}$ ve $p19^{ARF}$ E2F-1 tarafından aktive edilebilmektedir ki zaten biyokimyasal olarak retinablastom ve p53 yolaklarına bağımlıdır. Ayrıca bazı onkoproteinler tarafından da indüksiyon meydana gelebilmektedir (Myc, adenovirüs E1A, Ras ve v-abl…..vb).[48]



Çizim 4. p14 ve p16 CDK inhibitörlerinin hücre siklusundaki yerleşimleri ve diğer proteinlerle olan etkileşimi görülmektedir.

p53 çok sayıda faktör tarafından kontrol edilmektedir. Bunlar arasında $p21^{Cip}$, siklin bağımlı kinazlar ve MdM2 bulunmaktadır. MdM2 negatif feed-back yaparak p53 ün görevinin sona ermesine yardımcı olmaktadır. Uygunsuz mitojenik sinyal ile karşı karşıya

kalınca hücre MdM2 ile $p19^{arf}$ (19 kDA ağırlığında bir polipeptid olup farelerde bulunmaktadır) ve $p14^{arf}$ (insanlarda bulunan polipeptid) tarafından stabilize edilmekte böylece p53 aktivasyonu gerçekleşmekte olup hücre döngüsünü durdurulmaktadır.[46,48]

MdM2 p53'ü çeşitli yollardan inhibe eden multifonksiyonel bir proteindir. İlk olarak p53'ün önemli genlerini bağlayarak transkripsiyonunu engeller. İkinci yol sahip olduğu intrinsik ubiqitin ligaz fonksiyonu ile p53 degradasyonunu sağlar. Üçüncü olarak ise MdM2 p53 ü nükleolden sitoplazmaya doğru yer değiştirmesini sağlayarak proteozomal degradasyonunu hızlandırmaktadır. Prensip olarak ARF tüm bu fonksiyonları antagonize etmektedir. ARF proteinleri MdM2'yi kuvvetlice bağlayarak nükleolusta stabilize etmektedir. Bunun sonucunda MdM2 p53 üzerindeki inhibe edici etkiyi gösteremeyip hücre döngüsü inhibe edilecek ve hücre apoptoza duyarlı hale gelecektir. Aynı zamanda ARF proteinleri MdM2'ninde ubiquitin etkisini inhibe etmektedir.[46–48]

2.3.5.2.2. $P16^{INK4A}$/$P14^{ARF}$ ve MALİGN MEZOTELYOMA İLİŞKİSİ

$p16^{INK4\alpha}$/$p14^{arf}$ 9p21. Kromozomda lokalize en önemli tümör supresör genlerden olup p16 ve p14 proteinlerini eksprese etmektedir.[49] Bu kromozomun aynı lokusunda başka bir tümör supresör gen daha mevcut olup p15 $^{INK4\beta}$ isimli proteini kodlamaktadır. Bu protein de bir siklin bağımlı kinaz inhibitörü olup TGF tarafından indüklendiği bilinmektedir.[50]

$p16^{INK4\alpha}$ retinablastomun siklin-bağımlı kinazlar tarafından hiperfosforile olmasını inhibe etmekte ve retinablastom proteininin inaktivasyonuna neden olmaktadır. Aynı zamanda $p14^{arf}$ de MdM2 ye bağlanarak p53 ün degredasyonuna engel olmaktadır. Hem p16 hem de p14 p53 ve Retinablastom yolakları üzerinden etkilerini göstermektedir. $p16^{INK4\alpha}$/$p14^{arf}$ 'deki defektler bu yolakları inhibe etmekte bilinen birçok malign neoplazinin temelini oluşturmaktadır. Bilindiği üzere bu durum MM içinde geçerli olmaktadır ve sıklıkla bu genler inaktif durumdadır. Histolojik alt tiplere göre bakıldığı zaman epiteloid tipe ait örneklerde %70 oranında $p16^{INK4\alpha}$/$p14^{arf}$ homozigot delesyonu; sarkomatoid ve bifazik örneklerde ise yaklaşık %100 oranında homozigot delesyon görülmüştür.[51] Ayrıca $p16^{INK4\alpha}$ kaybının bu gendeki hipermetilasyona bağlı sessizleşmeden daha fazla görüldüğünü gösterilmiştir. Bu durumun uzamış yaşam beklentisi ile ilgili olduğu düşünülmektedir. Bu yüzden p16 ekspresyonunun MM'lerde prognostik faktör olarak kullanılabileceği ifade edilmektedir.[3,52]

Gen terapisi son yıllarda klasik kemoterapi tedavisine yanıt vermeyen hastalarda daha sıklıkla gündeme gelmeye başladı. Mezotelyoma hücrelerinde $p16^{INK4\alpha}$ eksprese eden adenovirüsün transdüksiyonunun, hücre döngüsünü durdurması, pRb fosforilasyonunun inhibisyonu, hücre büyümesinin azalması ve transdükte edilen hücrelerin ölümüne neden olduğu gösterilmiştir. Aynı şekilde insan mezotelyoma ksenograft çalışmasında $p16^{INK4\alpha}$ nın ekpresyonunun artışının artmış sağkalım ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. [51]

2.3.5.2.3. NÖROFİBROMATOSİS-2

Nörofibromatosis Tip 2 dominant olarak ailesel geçişli tümöre yatkınlık sendromudur. Tümör süpresor geni NF-2'nin ekspresyon kaybı ana mekanizmayı oluşturmaktadır. Bu gen 22q12'de lokalize olup Merlin ismi verilen bir proteini kodlamaktadır. MM'larda bu gendeki mutasyon 1995 yılında ilk defa tanımlanmış olup görülme sıklığı yaklaşık %40-50 olarak bildirilmiştir. Takip eden çalışmalar ile bu genin varlığının önemi doğrulanmıştır.[4,51]

2.3.5.2.4.BAP-1

BAP1, 3p21'de lokalize ve BAP1 proteinini kodlayan tümör supresör gendir. BAP1 proteini ise deubiqinizasyon enzimidir. Hücre döngüsü boyunca DNA hasarına yanıt olarak deubiqinizasyonu regüle etmektedir. Son yapılan çalışmalarda Bap-1 de bulunan germline mutasyonların sebep olduğu ve Bap-1 ile ilişkili kanserlerin görüldüğü MM, uveal melanom ve belki diğer kanserler ile ilişkili bir sendrom varlığından söz edilmiştir.[53,54] Aynı zamanda sporadik MM olgularının %23'ünde somatik mutasyon saptanmıştır. Başka bir çalışmada Bap-1 mutasyonunun epiteloid alt tiplerde non-epiteloidlere göre daha fazla olduğu tespit edilmiş.[55] Ayrıca Bap-1 mutasyonunun varlığının prognoz ve beklenen yaşam süresi için bir fark oluşturmadığı belirlenmiştir.[56]

2.3.5.2.5. LATS2(LARGE TUMOR SUPPRESOR)

İlk olarak *Drosophila*da bulunmuş tümör supresor gendir. İnsanda LATS1 ve LATS2 tanımlanmış olup sonuncusu insanlarda heterozigosite kaybı olarak görülmektedir. İnsan LATS2 proteini sentrozomal bir protein olup mitotik bölünmede önemli bir role sahiptir. Yapılan son çalışmalar ile bu gendeki mutasyon kaybı gösterilmiştir. Ancak daha da aydınlatılmaya ihtiyaç duyulmaktadır.[57,58]

2.3.5.2.6. DNA METİLASYONU

DNA metilasyonu varlığının, normal plevra ve mezotelyomanın ayrımında kullanılabileceği gösterilmiştir. Başka bir çalışmada sadece metilasyon varlığının gösterilmesi ile tanı konabileceğinden bahsedilmektedir.[59,60]

2.3.5.2.7. DİĞER GENLER VE YOLAKLAR

-Salvador Gen; Hippo kaskadının bir parçası olup ilk olarak Drosophilada tanımlanmıştır. Bazı kanserlerde tümör süpresor gen olarak rol oynadığı düşünülmektedir. Son zamanlarda hücre kültüründe %5 mezotelyoma hücresinde kromozom 14q22'de homozigot delesyon olarak gösterilmiştir.[61,62]

-β-catenin; homozigot delesyonu tanımlanmıştır. Rolü tam olarak netleştirilememiştir.[51]

-EGFR; MM'lerde EGFR %40 oranında overekspresyon göstermektedir. Bunun uzun yaşam beklentisi ile ilişkisi belirlenmiştir.[51]

-VEGF; spesifik bir transmembran reseptör olup anjiogenezin önemli bir uyaranıdır. MM'larde eksprese edilmektedir.[63] Yapılan bir çalışmada SV-40'ın MM hücrelerinde VEGF ekspresyonunu indüklediği ve hücre proliferasyonunu artırdığı gösterilmiştir.[64]

-Insulin Growth Faktör(IGF) ve reseptörü; hem normal mezotel hücreleri hem de mezotelyoma hücrelerinde ekspresyonu gösterilmiştir. IGF yolağındaki bozukluk hücrede proliferasyona sebep olarak neoplazi gelişimine yol açmaktadır. [65,66]

-PTEN; tirozin kinaz reseptörleri üzerinden PI3K/AKT/mTOR yolağında AKT inhibisyonu yaparak malign transformasyona neden olmaktadır. PTEN, aynı zamanda kemotaksi ve hücre mobilitesini de düzenleyerek tümör invazyonunu artırabilmektedir. Az sayıdaki çalışma MM'da PTEN'in homozigot delesyonu veya alterasyonunun varlığını göstermiştir. Bu ilişkinin daha çok AKT blokajı üzerinden olduğunu öne sürülmektedir.[51,67]

-BCL ailesi; Bcl-2 ailesi apoptozda önemli rol oynamaktadır. Bu aile iki gruba ayrılmaktadır: İlki "anti-apoptotik grup"tur. Bu grubun üyeleri olan Bcl-2, bcl-xl, bcl-w ve mcl-1 hücrenin programlı ölüme gitmesini engeller. Diğeri "pro-apoptotik grup" olarak nitelendirilmiş olup üyeleri BAD, BID ve BIM'dir. Bunlarda mitokondri geçirgenliğini

artırarak kaspaz aktivasyonunu sağlamaktadır. MM hücreleri nadiren bcl-2 ekspresyonu gösterirken bcl-xl ekspresyonu daha sık görülmektedir.[51,68]

-Wnt yolağı; hücrenin proliferasyonu, polaritesi ve hücre ölümü üzerinde önemli etkileri olan bir yolaktır. MM'lerin yaklaşık %85'inde bu yolak ve burada rol oynayan önemli üyelerine ait değişiklikler tanımlanmıştır.[51]

2.4.6. RADYASYON

Radyoterapi çok sayıda kanserin tedavisinde ve görüntüleme yöntemlerinde kullanılmaktadır. Daha önce yapılan birçok çalışmada hastada var olan başka bir malignite nedeni ile uygulanan radyoterapi ve throast kullanımına bağlı olarak genellikle daha erken yaşta olmak üzere MM vakası bildirilmiştir. Bu da etyolojide radyoterapinin de önemli bir yer tuttuğunu göstermektedir.[69–75]

2.5 MALİGN MEZOTELYOMA SINIFLAMASI VE TÜRLERİ

2.5.1 MALİGN MEZOTELYOMA SINIFLAMASI

Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ)'nün 2004 plevral tümörler sınıflaması Tablo 1'de gösterilmektedir. 2015 sınıflamasında bazı değişiklikler mevcuttur (Tablo 2).

Mezotelyal Tümörler	**Mezenkimal Tümörler**
-Diffüz MM	-Epiteloid Hemanjioendotelyoma
-Epiteloid Mezotelyoma	-Anjiosarkom
-Sarkomatoid Mezotelyoma	-Snoviyal Sarkom
-Bifazik Mezotelyoma	-Monofazik
-Lokalize MM	-Bifazik
-Meoztelyal Kaynaklı Diğer Tümörler	-Soliter Fibröz Tümör
-İyi Diferansiye Papiller Mezotelyoma	-Plevranın Kalsifiye Tümörü
-Adenomatoid Tümör	-Desmoplastik Yuvarlak Hücreli Tümör
Lenfoproliferatif Hastalıklar	
-Primer Effüzyon Lenfoması	
-Piyotoraks İlişkili Lenfoma	

Çizelge 1. DSÖ 2004 Plevral tümörlerin sınıflaması[2]

Mezotelyal Tümörler	**Mezenkimal Tümörler**
-Diffüz MM	-Epiteloid Hemanjioendotelyoma
-Epiteloid Mezotelyoma	-Anjiosarkom
-Sarkomatoid Mezotelyoma	-Snoviyal Sarkom
-Desmoplastik Mezotelyoma	-Soliter Fibröz Tümör
-Bifazik Mezotelyoma	-Malign Soliter Fibröz Tümör
-Lokalize MM	-Desmoid Tip Fibromatozis
-Epiteloid Mezotelyoma	-Kalsifiye Fibröz Tümör
-Sarkomatoid Mezotelyoma	-Desmoplastik Yuvarlak Hücreli Tümör
-Bifazik Mezotelyoma	
-İyi Diferansiye Papiller Mezotelyoma	
-Adenomatoid Tümör	
Lenfoproliferatif Hastalıklar	
-Primer Effüzyon Lenfoması	
-Diffüz Büyük B Hücreli Lenfoma ile birliktelik gösteren Kronik İnflamasyon	

Çizelge 2. 2015 DSÖ'ye göre plevral lezyonların sınıflandırılması.

Tablolarda görüldüğü üzere yapılan çalışmalarda diffüz MM 'nın lokalize formdan ve iyi diferansiye MM'dan ayrılması gerektiğini göstermiştir. Bu durum 2015 yılında yapılan sınıflamada belirtilmiştir. MM epiteloid, sarkomatoid ve bifazik olmak üzere ana üç gruba ayrılmıştır. Sarkomatoid ve bifazik tümörlerin daha kötü prognoza sahip olduğu bilinmektedir. Bu sınıflama dışında mezotelyomaların çok sayıda morfolojik subtipinden de bahsedilmektedir. Bunların belirtilmesi önemlidir. Çünkü bazılarının kötü veya iyi prognozla olan ilişkisi iyi tanımlanmıştır (Tablo 3) .[76,77]

MM larda Histolojik Alt tip ve Paternler

-**Epiteloid Mezotelyoma**

-Tübülopapiller

-Mikropapiller

-Trabeküler

-Asiner

-Adenomatoid

-Solid

-Şeffaf Hücreli

-Desiduoid

-Adenoid Kistik

-Taşlı Yüzük Hücreli

-Küçük Hücreli

-Rabdoid

-Pleomorfik

-**Sarkomatoid Mezotelyoma**

-Klasik iğsi hücreli

-Desmoplastik

-Heterolog Diferansiasyon (Osteosarkomatöz, Kondrosarkomatöz….vb)

-Lenfohistiositoid

-**Bifazik/mikst**

Çizelge 3. MM'nın histolojik alt tipleri.

2.5.2.MALİGN MEZOTELYOMA TÜRLERİ VE HİSTOLOJİK ÖZELLİKLERİ

2.5.2.1.EPİTELOİD MEZOTELYOMA

Epiteloid MM en sık görülen mikroskopik alt tiptir. Vakaların çoğu polihedral hücre tabakaları ve yuvalarından oluşmaktadır. Bu hücrelerde belirgin atipik nükleer bulgular bulunmaktadır. Çevredeki komşu dokulara (yağlı doku, akciğer…vb) belirgin infiltrasyon vardır**.** Epiteloid MM'lerin diğer görülen büyüme paternleri sırasıyla tubülopapiller, asiner (glandüler),adenomatoid (mikroglandüler olarakta isimlendirilmektedir) ve soliddir. Daha

az sıklıkta şeffaf, desiduoid, taşlı yüzük, küçük hücreli, rhabdoid veya adenoid kistik patern görülmektedir.

Tubülopapiller patern; gland benzeri yapılar ile fibrovasküler korların karışık bir arada bulunması ve bunları koyu, küboidal veya poligonal hücrelerin döşemesi ile oluşmaktadır.

Mikropapiller patern; tübülopapiller tipten farklı olarak belirgin fibrovasküler koru bulunmaz. Farklı bir mikroskopik tip olarak belirtilmelidir, çünkü daha fazla lenfatik damar ve lenf nodu invazyonu yapma oranına sahiptir**.**

Asiner patern**;** uzun veya dallanan gland benzeri lümenler ve görece daha koyu kuboidal hücrelerden oluşmaktadır.

Adenomatoid patern; küçük gland benzeri yapıları döşeyen yassı ve küboidal arası değişen şekiller sahip hiperkromatik hücrelerden oluşmaktadır.

Solid MM; yuvarlak,oval veya poligonal şekilli, geniş eozinofilik sitoplazmalı, veziküler kromatinli ve belirgin nükleollü hücrelerin oluşturduğu yuva, kord veya tabakalar ile karakterizedir. Bu hücreler büyük oranda non-neoplastik reaktif mezotel hücrelerine benzemektedir. Bu yüzden ayırıcı tanıda zorluk yaratmaktadır. Ayırıcı tanıya, reaktif mezotel hücreleri, solid akciğer adenokarsinomu hatta az diferansiye tümörlerde skuamöz hücreli karsinom ve lenfomalar mutlaka alınmalıdır. Bazen nükleer pleomorfizm lezyon içinde belirgin olup %10 gibi bir oranı aştığında bu lezyonu "pleormorfik varyant" olarak tanımlamak gerekmektedir.

Şeffaf Hücreli MM; mezotelyal hücreler şeffaf sitoplazmalı olup çok nadir görülmektedir. Mutlaka böbreğin ve akciğerin şeffaf hücreli karsinomu ile şeffaf hücreli malign melanomun plevraya metastazından ayrılmalıdır.

Desiduoid MM; keskin sınırlı, büyük yuvarlak veya poligonal şekilli, abondan camsı eozinofilik sitoplazmalı, yuvarlak veziküler nukleuslu ve belirgin nukleollü hücrelerin oluşturduğu tabakalar ile karakterizedir. Hücreler bu hali ile desidua hücrelerine benzemektedir.

Adenoid kistik patern; birbirinden fibröz stroma ile ayrılan kribriform ve tübüler yapılardan oluşmaktadır. Özellikle adenoid kistik karsinom metastazı ve adenokarsinomdan ayrılması önemlidir.

Taşlı yüzük ve lipidden zengin MM; sitoplazmik vakuoller içeren hücre tabakalrından meydana gelmektedir. Oldukça nadir görülmekte olup ayırıcı tanıda başta mide olmak üzere vücudun diğer bölgelerine ait olan taşlı yüzük hücreli karsinom metastazları mutlaka dışlanmalıdır.

Küçük hücreli MM;oldukça nadir görülmektedir. Unifrom,küçük yuvarlak-oval nukleus ve yüksek nukleus-sitoplazma oranına sahiptir. Bu morfolojiye sahip çok sayıda lezyon ile karışması muhtemeledir. Bunlar içerisinde bazaloid karsinom,yüksek dereceli nöroendokrin karsinom, küçük hücreli melanom, küçük yuvarlak hücreli sarkomlar ve non-Hodgkin lenfomalar sayılabilir.

Rhabdoid MM; ekzentrik yerleşimli nukleusa sahip, abondan eozinofilik sitoplazmalı, belirgin nükleollü ve diskoheziv hücrelerden oluşmaktadır.

2.5.2.2.SARKOMATOİD MALİGN MEZOTELYOMA

Klasik,iğsi hücreli MM;değişen derecelerde atipi ve pleomorfizm barındıran fuziform hücrelerden oluşurlar. Bu hücreler fasikül veya storiform paternde karakterize olabilirler. Tümöral kollajen sentezi heterojenöz olabilir. Nekroz ve mitotik aktivite oranı lezyonun diferasniasyonuna göre değişmektedir. Miksoid stroma da sıklıkla görülebilmektedir.

Desmoplastik MM; iğsi şekilli veya stellat hücrelerden oluşmaktadır. Bu hücreler nispeten sakin görünümde olup hücrelerin sayıca yoğunluğu azdır. Oldukça kollajenize ve hyalinize bir stroma yapısına sahip olup basket sepeti görünümü mevcuttur.Mitoz az, nekroz ise varsa bile sınırlıdır. Özellikle ayırıcı tanıda fibrohyalinöz plroit ile karışmakta olup Verhoeff-Van Gieson elastik boyası tanıda yardımcı olmaktadır.Mezotelyoma da internal elasik fibril sayıdı azdır ve düzgün bir oryantasyona sahip değildir.ancak fibröz plöritte elastik fibriller laminasyon gösterip visseral plevraya paralel olarak uzanırlar.

Lenfohistioistoid patern; dizkoheziv, atipik histosit görünümüne sahip hücrelerden meydana gelir. Bu hücrelere yoğun lenfoplazmositik infiltrasyon eşlik etmektedir. Ayırıcı

tanıda mutlaka non-neoplastik inflamatuar süreçler, non-Hodgkin lenfoma ve Hodgkin lenfoma akla gelmelidir.

Heterolog diferansiasyon; nadiren ve daha çok sarkomatoid MM'lerde görülmektedir. Ama bifazik ve epiteloid tiplerde de görülebilmektedir. Sıklıkla osteosarkomatöz veya kondrosarkomatöz nadiren de rhabdomyosarkomatöz elementler görülebilir. Ayrıca bir vakada anjiosarkomatöz farklılaşma da bildirilmiştir.

2.5.2.3.BİFAZİK MALİGN MEZOTELYOMA

Adından da anlaşılabileceği gibi epiteloid ve sarkomatoid varyantların bir arada görülmesi ile karakterizedir. Bu iki komponenet değişken miktarlarda olabilir[77].

2.5.3.MALİGN MEZOTELYOMA DA İMMUNOHİSTOKİMYANIN ROLÜ

Tümörün tanısını koyarken immunohistokimyasal boyanmanın rolü, tümörün tipi, yerleşimi ve ayırıcı tanıda nelerin alındığına bağlı olarak değişmektedir. Temel yaklaşımla kullanılması önerilen ayırıcı tanıya alınan lezyonlara göre değişebilen iki mezotel belirteci ve iki karsinom belirteci kullanılması önerilmektedir. Eğer sonuçlar birbiri ile uyumlu ise tanı bu yönde netleşebilir.

Epiteloid plevral mezotelyoma ve akciğer adenokarsinomu ile skuamöz hücreli adenokarsinom ayırcı tanısı için çok sayıda immunohistokimyasal belirteç belirlenmiştir. Ancak bunların hiçbirisi %100 spesifik değildir. Bunlar için laboratuara ve çalışma koşullarına uygun olan bir panel oluşturulması gerekmektedir. Sensitivite ve spesifitelerine göre kalretinin,CK5 veya CK5/6, WT-1ve D2-40 mezotelyoma için; MOC-31, Ber-Ep4, CEA, B72.3, Bg8 nın da karsinom tanısı için uygun belirteçler olduğu düşünülmektedir. Ayrıca organ spesifik belirteçler uzak organ metastazlarını ayırmak için kullanılabilir. Bunlar arasında TTF-1 ve Napsin A akciğer adenokarsinomları, PAX-8 renal hücreli ve tiroid karsinomu, prostat-spesifik antijen(PSA) ve prostat-spesifik membran antijen (PSMA) prostat adenokarsinomu, CDX2 ve CD20 gastrointestinal sistem karsinomları, PAX-2,PAX-8 ve östrojen reseptör(ER) overin seröz papiller karsinomu için yapılacak panele eklenebilir.

Sarkomatoid MM ile diğer sarkomların plevra tutulumunu ayırt etmede immunohistokimyanın yeri daha sınırlıdır. Bu noktada pansitokeratin tanı koymada

oldukça yardımcı olan ve epiteloid tümörlerin hemen hepsinde ve sarkomatoid tümörlerin ise çoğunda pozitif reaksiyon veren bir belirteçtir. Ancak sarkomatoid lezyonların %5 inde ve heterolog elementlerde negatif reaksiyon verdiğini de unutmamak gerekmektedir. Özellikle çevre dokulara invazyonu göstermek için yardımcı olarak kullanılabilmektedir.[76–78]

2.6.PLEVRAL MALİGN MEZOTELYOMANIN PROGNOZU VE TEDAVİSİ

Malign plevral mezotelyoma tedavisi multidisipliner bir sistemdir. Ancak olgularının tedavisinde günümüzde sıkıntılar devam etmektedir. Klasik yaklaşımları hastadan hastaya değişmekle birlikte kemoterapi ile kombine rezeksiyon, kemoterapi ve/veya rezeksiyon, fotodinamik terapi ve plevral rezeksiyonu takiben hipertermik perfüzyon tedavisi oluşturmaktadır. Ayrıca MM hastalarında sıklıkla görülen plevral effüzyon için ise kimyasal maddeler veya talk ile plörodez ve plöroperitoneal şant tedavi seçenekleri arasında yer almaktadır.

Ekstraplevral pnömonektomi makroskopik tümör bırakmayacak şekilde temiz cerrahi sınırlar ile çıkarmayı amaçlamaktadır. Bu operasyonda paryetal ve visseral plevra, döşediği akciğer, diyafram ve perikard çıkarılmaktadır. İntraoperatif mortalite %4-9 arasında iken bu oran operasyon sonrası %60 a kadar çıkmaktadır. Bu nedenle plörektomi ekstraplevral sebep olduğu morbidite nedeni ile pnömonektomiye göre daha fazla tercih edilmektedir.

MM radyoterapiye sensitif bir tümör olmasına rağmen, uygulanan alanın genişliği ve yüksek doz nedeni ile yaşanan komplikasyonlar hasta için ciddi sorun teşkil etmektedir. Radyoterapi sonrası sonrası görülen yan etkiler arasında pnömoni, myokardit ve spinal kord toksititesine bağlı myelopati sayılabilir. Bu nedenlerden dolayı radyoterapi genellikle sadece palyatif amaçlı kullanılmaktadır.

Genç ve başka morbiditesi olmayan hastalarda operasyon kemoterapi radyoterapi ile kombine edilmektedir. Ama çoğu hastada tanı anında operasyon şansı olmadığı için palyatif kemoterapi seçeneği kullanılmaktadır. İleri evre ve inoperable hastalar için ilk basamakta sisplatin ve pemetrexed kombinasyonu kullanılmaktadır. Çoğu olgunun bu tedaviye yanıt vermeyip zamanla direnç geliştirdiği bilinmektedir. Beklenen yaşam süresinin kısıtlılığı ve yaşam kalitesindeki düşüş nedeni ile ikinci basamak tedavi seçenekleri pek gündeme gelmemektedir. Ancak yapılan çalışmalar ve geliştirilen yeni

tedavi modaliteleri (immunoterapi ve hedef tedaviler) ile daha spesifik tedavi seçenekleri ortaya atılmıştır.

Yapılan çalışmalar MM olgularında ortalama sağkalım süresinin tanı aldıktan sonra 14 ay gibi kısa bir süre ile kısıtlı olduğunu göstermektedir. Özellikle sarkomatoid komponenti olanlarda kötü gidiş bilinmektedir. Ayrıca erkek cinsiyet, ileri evre, kötü performans durumu, lökositoz ve trombositoz kötü prognostik faktörler arasında sayılmaktadır.[17,18]

3.GEREÇ VE YÖNTEM

3.1.OLGULARIN SEÇİLMESİ

Çalışmamıza Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi Uygulama ve Araştırma Hastanesi Patoloji Anabilim Dalı'nda 2006-2016 yılları arasında değerlendirilen dekortikasyon, VATS, plevral biyopsi ve kitle eksizyon materyallerinde malign plevral mezotelyoma tanısı almış 49 olgu dahil edildi. Olguların yaş, cinsiyet, tümör tipi ve diğer bilgileri patoloji raporlarından elde edilmiştir. Olgulara ait asbest hikayeleri, nüks ve sağ kalımları ile ilgili bilgilere ulaşmak için başhekimlik onayı alınarak Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi Uygulama ve Araştırma Hastanesi'nde izlemi olanların hastane otomasyon sistemindeki dosyaları taranmıştır. Hastanemizde takipte olan olgulara ait bilgiler dosyalarından elde edilmiş olup, izlemden çıkan olgular için ise telefonla ulaşılarak doğum ve yaşadıkları yerleri, asbest maruziyeti ve sağ kalımları sorgulanmıştır. Olguların 9'unun hayatta olup olmadığı bilgisine ulaşılamamıştır. Bu hastaların son izlem tarihleri sağkalım süresini belirlemek için sınır olarak kabul edilmiştir.

3.2. UYGULANAN İMMUNOHİSTOKİMYASAL BELİRTEÇLER ve YÖNTEM

Tüm olgulardan tekrar değerlendirilerek immunohistokimyasal inceleme için birer adet parafin blok seçildi ve 1µm'luk kesitler alındı. Kesitler etüvde 56ºC de 12 saat bekletildi ve daha sonra sırasıyla ksilol, absolü alkol ve %96 lık alkolden geçirilerek deparafinize edildi. Distile su banyosundan sonra EDTA buffer içine konan kesitler 20 dakika süreyle düdüklü tencerede kaynatıldı, 20 dakika soğumaya bırakıldı, daha sonra distile sudan geçirildi ve hidrojen peroksit ile endojen peroksidaz blokajı için 15 dakika muamele edildi. Tekrar distile suda yıkanan kesitler PBS buffer içinde 5 dakika bekletildi, ultra V blok ve

ardından primer antikor damlatıldı. Primer antikor olarak p53 (Santa Cruz Biotechnology DO-1:sc-126,1:100 dilusyon), p15/p16 (Santa Cruz Biotechnology (C-7):sc-377412,1:50 dilusyon), SV40 T Ag (Santa Cruz Biotechnology (Pab 101):sc-147,1:100 dilusyon) ve MDM2 (Santa Cruz Biotechnology (SMP14):sc-965,1:200 dilusyon) kullanıldı. İnkübasyon süresi tüm antikorlar için bir buçuk saatti. PBS buffer içinden geçirilen kesitler sekonder antikor olan biotin ile 25 dakika muamele edildi. Tekrar PBS buffer banyosundan sonra streptavidin ile 25 dakika inkübe edildi. Son olarak PBS buffer içine alınan kesitler kromojen ile 10 dakika inkübe edildi ve musluk suyuna çıkarıldı. Daha sonra distile sudan geçirilerek Mayer hematoksilen ile 1 dakika boyandı. Amonyaklı su ile morartıldı ve Large Volume Vision Mount kapama solüsyonu ile kapatıldı.

Hazırlanan preparatlar Olympus BX51 mikroskopta 40 büyütme altında değerlendirildi. SV40, MdM2, p16 ve p53 belirteçleri ile elde edilen reaksiyonlar ayrı ayrı kaydedildi. Tüm belirteçlerde nükleer boyanma esas alındı. Değerlendirmeyi standardize edebilmek için skorlama yöntemi kullanıldı. Her bir preparattaki tümör hücrelerinin tümü dikkate alınarak; reaksiyon şiddeti ve reaksiyon veren hücrelerin oranı kaydedildi. Zayıf reaksiyon veren hücrelerin oranı ½ ile, kuvvetli reaksiyon veren hücrelerin oranı 2 ile çarpılarak standardize edildi. Sonuçlar aşağıdaki şekilde skorlandı.

0 puan: % 5 ve altında izlenen reaksiyon

1 puan: %5 ile 50 arasında izlenen reaksiyon

2 puan: %50 ve üzerinde izlenen reaksiyon

İstatistiksel değerlendirme, IBM SPSS 20.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) paket programı ile yapıldı. Normal dağılıma uygunluk testi Kolmogorov-Smirnov Testi ile değerlendirildi. Nümerik değişkenler Ortalama ± standart sapma ve medyan (25. - 75. persentil) ve frekans (yüzdelikler) olarak verildi.

SV40 ile asbest maruziyeti arasındaki ve MdM2, p53, p16 ve sağkalım süreleri arasındaki farklılıkları değerlendirmek amacı ile kategorik değişkenlerde Fisher's Exact kikare testi, Yates' kikare testi ve Monte Carlo kikare testi kullanıldı.

MdM2, p16 ve p53 ile sağ kalım süreleri arasındaki farklılık normal dağılıma sahip olmayan nümerik değişkenler için Mann Whitney U Testi ile karşılaştırıldı.

MdM2 belirteci değerlendirilirken reaksiyon gösterenler (1) ve reaksiyon göstermeyen (0) ile, p53 belirteci değerlendirilirken şiddetli reaksiyon gösteren (2) ve hafif reaksiyon gösteren (1) ile, p16 değerlendirilirken tüm hafif ve şiddetli reaksiyon paternleri var ya da yok şeklinde ifade edebilmek için sadece reaksiyon gösteren (1) ve reaksiyon göstermeyen (0) şeklinde sınıflandırıldı. Sağkalım süreleri ve bunlara ek olarak epiteloid ve non epiteloid MM gruplarına göre yaşam analizi Kaplan-Meier ile gerçekleştirildi. İki yönlü testlerde istatistiksel önemlilik için $p<0,05$ yeterli kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1. OLGULARA AİT GENEL BİLGİLER

Çalışmaya dahil edilen 49 olgunun 29'u (%59,1) erkek, 20'si (%40,9) kadındı. Olguların ortalama yaşı 62,2 olup en genç olgu 28, en yaşlısı ise 83 yaşındaydı.

32 Olgu epiteloid (%65,5), 10 olgu bifazik (%20,4), 3 olgu sarkomatoid (%6,1), 2 olgu desmoplastik (%4), 1 olgu berrak hücreli (%2), 1 olgu iyi diferansiye papiller mezotelyoma (%2) alt tipinde idi.

17 olgunun tedavi bilgisine ulaşılamadı. Bilgi alınabilenler içinde 25 olgu (%80) sadece kemoterapi, 3 olgu (%10) hem radyoterapi hem kemoterapi almış olup 3 (%10) olgu hiç tedavi görmemişti.

Sağkalım analizinde hiç kontrole gelmemiş olan ve iki aydan kısa izlemi olan 20 olgu değerlendirmeye alınmamıştır. Geri kalan 29 olgunun ortalama izlem süresi 15,6 aydır. Genel sağkalım bilgileri saptanabilen 41 olgunun yaşam süreleri en kısa 2 ay, en uzun 65 aydır. Vakaların ortalama yaşam süresi 14,2 aydır.

Olguların 10'unda (%21,6) asbest maruziyeti mevcut iken 31'inde (%79,4) asbest maruziyeti tesbit edilmedi. Geriye kalan 8 olgu hakkında bu açıdan bilgi sahibi olunamadı.

Olguların 12'sinde (%30,76) sigara içme öyküsü mevcuttu. 26 Olgu (%66,6) sigara kullanmaz iken 1 olgu (%2,5) pasif içici olup geriye kalan 10 olgunun sigara kullanımı hakkında bilgi sahibi olunamadı (Tablo 4).

HİSTOLOJİK TİP	SAĞKALIM SÜRESİ (AY)	DOĞUM YERİ	YAŞ	CİNS	SİGARA	TEDAVİ	İZLEM SÜRESİ(AY)
Bifazik	24 ay	Fethiye	71	erkek	2-3 paket/yıl	KT	18 ay
Epiteloid	7 ay	İznik	55	erkek	25 paket/yıl	KT	9 ay
Epiteloid	2 ay	Bingöl	46	kadın	?	KT	kontrol yok
Epiteloid	51 ay	Kocaeli	74	kadın	Yok	KT	51 ay
Epiteloid	44 ay	Erzurum	62	kadın	?	?	kontrol yok
Bifazik	6 ay	Bingöl	60	kadın	Yok	KT	5 ay
Epiteloid	48 ay	Sakarya	56	erkek	80 paket / yıl	KT, RT	48 ay
Epiteloid	12 ay	Sakarya	46	erkek	?	KT	1 ay
Epiteloid	63 ay	Arnavutluk	56	kadın	Yok	Yok	3 ay
Epiteloid	4 ay	Sakarya	67	erkek	Yok	KT	4 ay
Epiteloid	13 ay	İzmir	61	kadın	yok	KT, RT	1 ay
Epiteloid	4 ay	Karamürsel	37	kadın	yok	KT, RT	4 ay
Bifazik	7 ay	Kocaeli	64	erkek	3 paket / yıl	KT	7 ay
Desmoplastik	65 ay	Sakarya	63	erkek	?	?	65 ay
Epiteloid	27 ay	Erzurum	63	erkek	25 paket / yıl	KT	22 ay
Epiteloid	24 ay	Yozgat	60	kadın	?	KT	22 ay
Bifazik	8 ay	Kocaeli	74	erkek	Yok	KT	7 ay
Sarkomatoid	2 AY	Kocaeli	79	erkek	Yok	YOK	2 ay
Epiteloid	11 AY	Yozgat	67	erkek	Yok	KT	11 ay
Bifazik	6 AY	Kocaeli	52	kadın	70 paket / yıl	KT	6 ay
Berrak Hücreli	11 AY	Karamürsel	52	kadın	35 paket / yıl	KT	11 ay
Epiteloid	10 AY	Kocaeli	77	erkek	?	?	7 ay
Sarkomatoid	3 AY	Karamürsel	83	erkek	15 paket / yıl	?	kontrol yok
Bifazik	10 AY	Bilecik	72	kadın	Pasif içici	?	1 ay
Bifazik	12 AY	Sakarya	28	kadın	Yok	?	10 ay
Desmoplastik	48 AY	Kocaeli	63	erkek	Yok	?	1 ay
Epiteloid	11 ay	Sinop	77	erkek	Yok	?	10 ay
Bifazik	19 ay	Kocaeli	64	erkek	Yok	KT	19 ay
Sarkomatoid	3 ay	Erzurum	68	erkek	Yok	?	kontrol yok
Bifazik	5 ay	Trabzon	78	kadın	Yok	?	5 ay
Epiteloid	37 ay	Kocaeli	52	kadın	Yok	?	36 ay
Epiteloid	1 ay	Bolu	65	erkek	50 paket / yıl	?	kontrol yok
Epiteloid	7 ay	Sakarya	65	erkek	20 paket / yıl	KT	6 ay
Epiteloid	1 ay	?	62	kadın	Yok	KT	kontrol yok
Epiteloid	9 ay	Bayburt	76	kadın	?	KT	8 ay
Epiteloid	19 ay	Kocaeli	68	erkek	Yok	KT	2 ay
Epiteloid		Artvin	63	kadın	?	?	kontrol yok
Bifazik	5 ay	Kocaeli	75	erkek	45 paket / yıl	KT	4 ay
Epiteloid		Erzurum	69	kadın	?	?	kontrol yok
Epiteloid	2 ay	Sakarya	68	erkek	7 paket / yıl	KT	kontrol yok
Epiteloid	7 ay	Gölcük	79	erkek	Yok	KT	7 ay

HİSTOLOJİK TİP	SAĞKALIM SÜRESİ(AY)	DOĞUM YERİ	YAŞI	CİNSİYET	SİGARA	TEDAVİ	İZLEM SÜRESİ(AY)
Epiteloid	20 ay	Kocaeli	40	erkek	Yok	KT	20 ay
Epiteloid		?	61	erkek	Yok	?	kontrol yok
Epiteloid	13 ay	Eskişehir	72	kadın	Yok	Yok	kontrol yok
Epiteloid	17 ay	Karamürsel	65	erkek	Yok	KT	15 ay
Epiteloid	14 ay	Erzurum	59	erkek	Yok	?	kontrol yok
İyi Dif. Papiller	20 ay	Kocaeli	64	erkek	Yok	KT	20 ay
Epiteloid	1 ay	Sakarya	63	kadın	Yok	?	1 ay
Epiteloid		Karamürsel	74	erkek	?	?	kontrol yok

Çizelge 4. Olgulara ait genel bilgiler. (KT: Kemoterapi, RT: Radyoterapi)

4.2.SV40 VE ASBEST MARUZİYETİ KORELASYONU

			ASBEST MARUZİYETİ		
			yok	var	Toplam
SV40	0	Sayı	24	7	31
		Asbest maruziyeti Oranı	%77,4	%70,0	%75,6
	1	Sayı	3	2	5
		Asbest maruziyeti Oranı	%9,7	%20,0	%12,2
	2	Sayı	4	1	5
		Asbest maruziyeti Oranı	%12,9	%10,0	%12,2
Toplam		Sayı	31	10	41
		Asbest maruziyeti Oranı	%100	%100	%100
p değeri		**0,822**			

Çizelge 5. Asbest maruziyeti ve SV40 ekspresyonunun arasındaki ilişki.

Asbest maruziyeti bilgisine ulaşılabilen toplam 41 olguda asbest varlığı ve SV40 ekspresyonu arasında anlamlı fark bulunmadı (Çizelge 5).

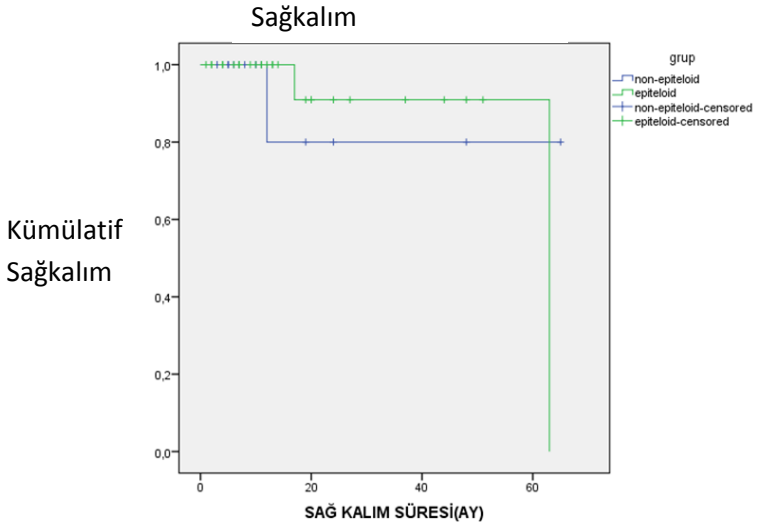
4.3. MdM2, p16, p53 BELİRTEÇLERİNİN EPİTELOİD VE NON-EPİTELOİD MM'LER ARASINDAKİ VE SAĞKALIM SÜRELERİ ARASINDAKİ İLİŞKİ

MdM2, p53 ve p16 ile histolojik alt tip ile sağkalım süreleri arasında ki-kare testine göre anlamlı bir fark bulunmadı (Çizelge 6).

			Grup		
			Non-epiteloid	Epiteloid	Toplam
p53	0	Sayı	0	1	1
		Yüzde	%0,0	%3,6	%2,4
	1	Sayı	9	19	28
		Yüzde	%64,3	%67,9	%66,7
	2	Sayı	5	8	13
		Yüzde	%35,7	%28,6	%31,0
Toplam		Sayı	14	28	42
		Yüzde	%100,0	%100,0	%100,0
p değeri 0,823					
MdM2	0	Sayı	13	26	39
		Yüzde	%92,9	%92,9	%92,9
	1	Sayı	1	2	3
		Yüzde	%7,1	%7,1	%7,1
Toplam		Sayı	14	28	42
		Yüzde	%100,0	%100,0	%100,0
p değeri 1,00					
p16	0	Sayı	6	15	21
		Yüzde	%42,9	%53,6	%50,0
	1	Sayı	4	12	16
		Yüzde	%28,6	%42,9	%38,1
	2	Sayı	4	1	5
		Yüzde	%28,6	%3,6	%11,9
Toplam		Sayı	14	28	42
		Yüzde	%100,0	%100,0	%100,0
p değeri 0,66					

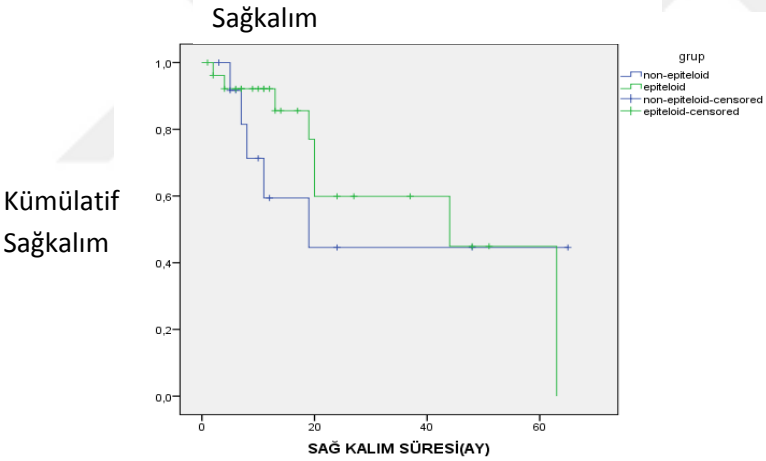
Çizelge 6. MdM2, p53 ve p16 ile histolojik alt tip ile sağkalım süreleri arasındaki ilişki.

Kaplan-Meier yöntemine göre yapılan yaşam analizinde histolojik subtiplere göre uygulanan belirteçlerin ekspresyonu ile sağkalım arasında herhangi anlamlı bir ilişki tespit edilmedi (Çizim 5, Çizim 6 ve Çizim 7).



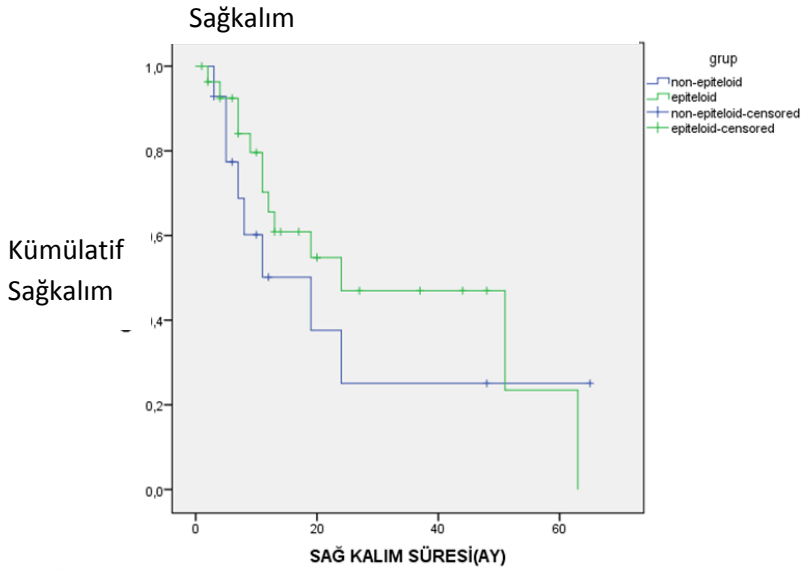
Çizim 5. MdM2 ve sağkalım süreleri arasındaki ilişkiye ait Kaplan Meier sağkalım eğrisi.

MdM2 ile epiteloid ve non-epiteloid histolojik subtiplerinin arasında sağkalım süreleri açısından Log Rank Analizine göre anlamlı fark görülmedi (p=0.893).



Çizim 6. p53 ve sağkalım süreleri arasındaki ilişkiye ait Kaplan Meier sağkalım eğrisi.

p53 ile epiteloid ve non-epiteloid histolojik subtipleri arasında sağkalım süreleri açısından Log Rank Analizine göre anlamlı fark görülmedi (p=0,548).



Çizim 7. p16 ve sağkalım süreleri arasındaki ilişkiye ait Kaplan Meier sağkalım eğrisi.

p16 ile epiteloid ve non-epiteloid histolojik subtipleri arasında sağkalım süreleri açısından Log Rank Analizine göre anlamlı fark görülmedi (p=0,437).

Uygulanan belirteçler ve histolojik altipler arasında nonparametrik Mann Whitney U Testi sonuçlarına göre anlamlı bir fark saptanmadı (Çizelge 7-10).

	Sayı	Median sağkalım(ay)
0	39	11
1	3	17
p değeri: 0,181		

Çizelge 7. MdM2 ve sağkalım süreleri arasındaki nonparametrik ilişki.

	Sayı	Median Sağkalım(ay)
0	1	7
1	28	11
2	13	13
p değeri:0,772		

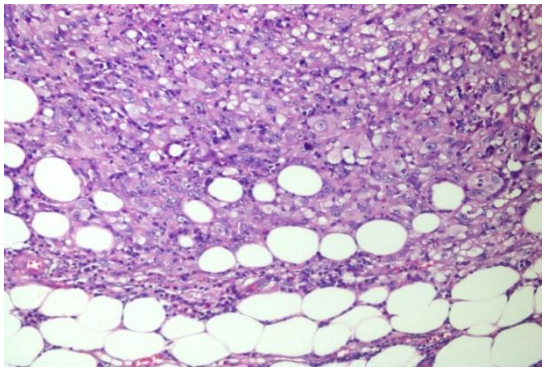
Çizelge 8. p53 ve sağkalım süreleri arasındaki nonparametrik ilişki.

	Sayı	Median Sağkalım
0	21	13
1	21	11
P değeri: 0,473		

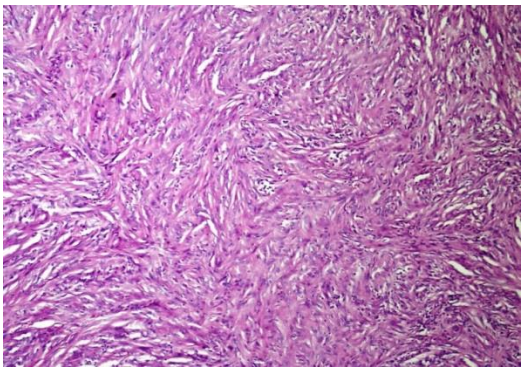
Çizelge 9. p16 ve sağkalım süreleri arasındaki nonparametrik ilişki.

	Sayı	Median sağkalım (ay)
Epiteloid	28	14,5
Non-epiteloid	14	9
p değeri: 0,452		

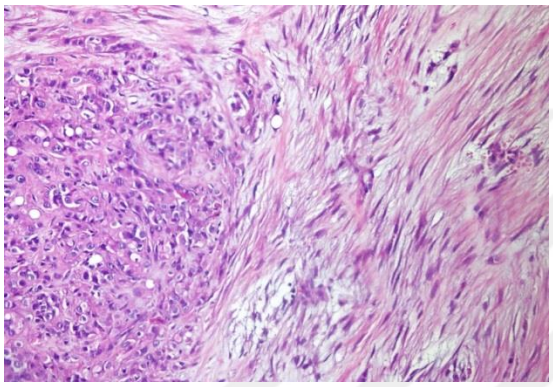
Çizelge 10. Histolojik alt tipler ve sağkalım süreleri arasındaki nonparametrik ilişki



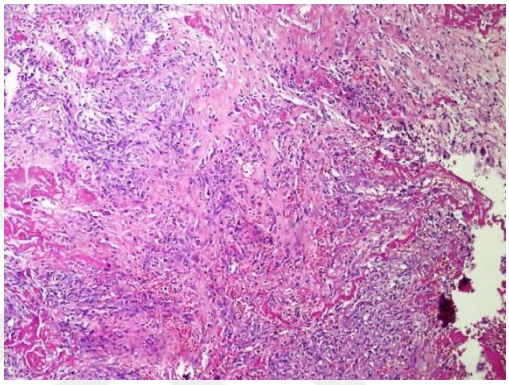
Çizim 8. Epiteloid MM olgusunda çevre yağlı dokuya invazyon görülmektedir (H-E x200).



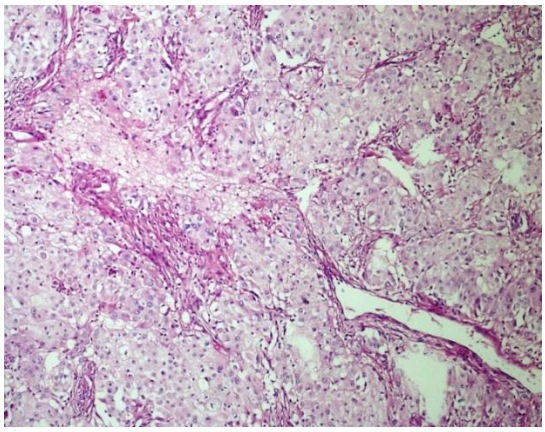
Çizim 9. Sarkomatoid MM olgusunda iğsi fusiform pleomorfik hücreler izlenmektedir (H-E x100).



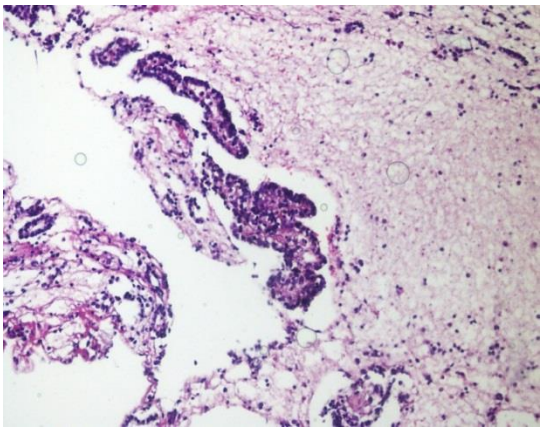
Çizim 10. Bifazik MM olgusunda epiteloid ve sarkomatoid komponent bir arada izlenmektedir (H-E x200).



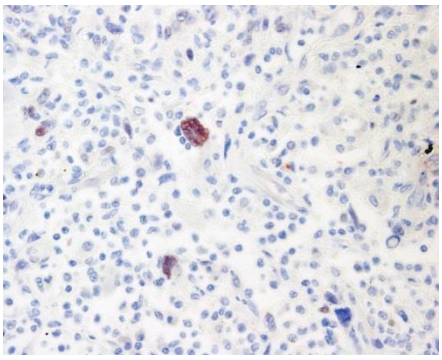
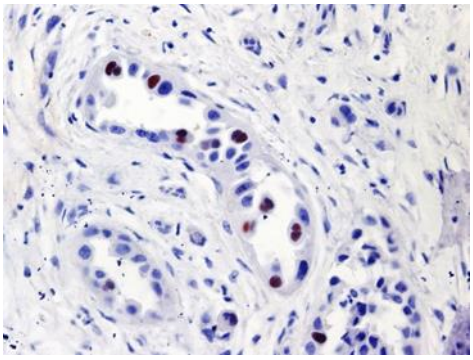
Çizim 11.Desmoplastik MM'a ait mikrofotoğrafta yoğun fibrozis görülmektedir (H-E x100).



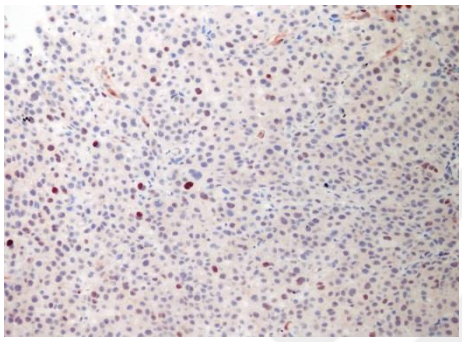
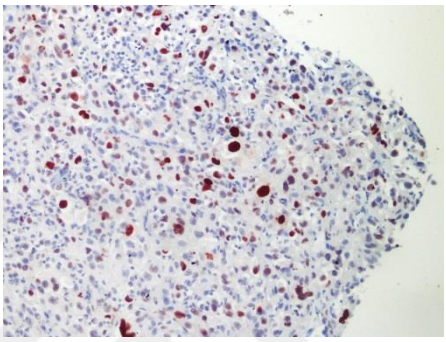
Çizim 12. Berrak hücreli MM şeffaf soluk sitoplazmalı hücreler ile karakterizedir (H-E x100).



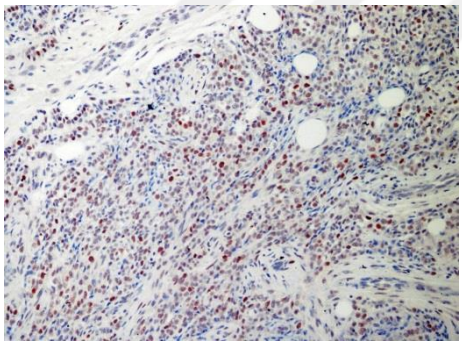
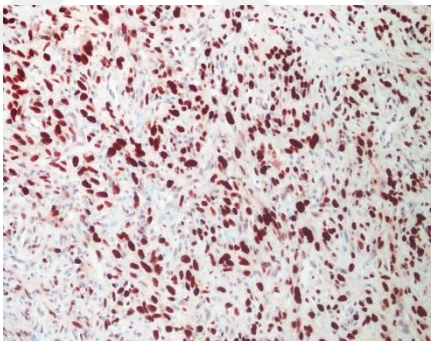
Çizim 13. İyi diferansiye papiller mezotelyoma olgusunda hiperkromatik nükleuslu hücrelerin döşediği papiller yapılar dikkati çekmektedir (H-E x200).

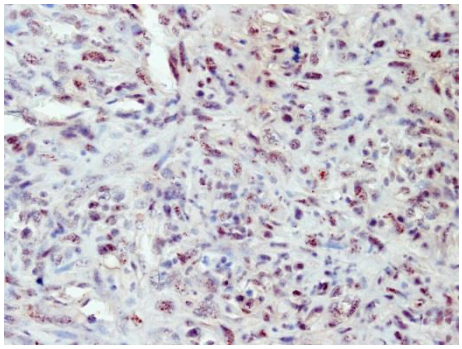
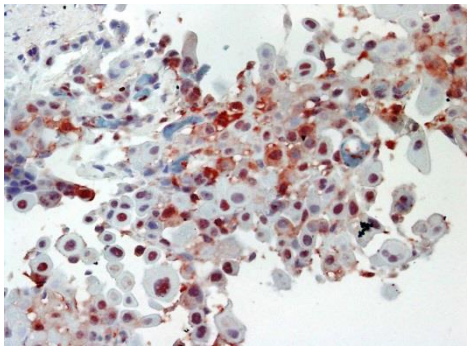
Çizim 14 ve 15. MdM2 belirtecinde solda zayıf, sağda orta kuvvette nükleer reaksiyon dikkati çekmektedir (H-Ex200).

Çizim 16 ve 17. p16 belirtecinde solda zayıf, sağda kuvvetli nükleer reaksiyon görülmektedir (H-Ex200).

Çizim 18 ve 19. p53 belirtecinde solda orta kuvvette, sağda kuvvetli nükleer reaksiyon reaksiyon izlenmektedir (H-Ex200).

Çizim 20 ve 21 . SV40 belirtecinde solda zayıf, sağda kuvvetli nükleer reaksiyon izlenmektedir (H-Ex400).

5. TARTIŞMA

Literatürde MM prognozu ve patogenezini anlayabilmek için yapılan çok sayıda çalışma mevcuttur. Bunların birçoğu hücre döngü inhibitörleri ve etyolojide suçlanan SV40'a aittir.

Marc Ladanyi ve ark.[44]'nın 80 olguluk çalışmasında 59 hastada p16 homozigot delesyonu tespit etmiştir. Yapılan sağ kalım analizinde ise delesyon varlığı olan hastaların belirgin olarak daha kötü prognoza sahip olduğunu göstermiştir.

Kobayashi ve ark.[79] yaptıkları çalışmada Japon hastalarda p16 delesyonunun sık olduğu göstermiştir. Ama hastalıktan sadece delesyonun varlığının sorumlu olmadığını, p16 daki metilasyonun da p16 inaktivasyonuna sebep olabileceğinden bahsetmiştir. Hem immunohistokimyasal yöntemle hem de FISH ve PCR ile p16 ekspresyonunu sorgulamışlardır. Hem p16 metilasyonu hem de p16 delesyonu saptanan olguların hepsinde immunohistokimyasal olarak p16 kaybı izlenmiştir. Ayrıca vaka sayıları az olmasına rağmen p16 ekspresyon kaybının negatif prognostik faktör olduğu gösterilmiştir.

Sanja Dacic ve ark.[80] ise FISH ve immunohistokimyasal incelemede p16 delesyonu ve ekspresyon kaybının negatif prognostik faktör olduğunu ve belirledikleri yaşam süresinin kısa olduğunu göstermiştir..

Hamasaki ve ark.[81] 'nın yapmış olduğu çalışmada da FISH ile bakılan p16 homo-delesyonu bulunan MM'li hastaların, delesyonu olmayanlara göre beş kat daha fazla süre yaşadığını göstermiştir.

Bu yayınlar da göstermektedir ki p16 delesyonu, metilasyonu veya nokta mutasyonun bulunması ile inaktive olmaktadır. Sonuç olarak hücre döngüsündeki görevini yerine getirememekte ve hasarlı genoma sahip hücreler bölünerek neoplastik sürece doğru ilerlemektedir .

Bizim çalışmamıza dahil edilen toplam 42 olgunun 21'inde p16 ekspresyonu saptanmış olup geriye kalan 21 olgunun ise hiç reaksiyon göstermediği izlenmiştir. Yaptığımız istatiksel analize göre ise bu ekpresyon varlığının ne prognoz açısından ne de histolojik alt tiplere göre belirgin bir anlam taşımadığı sonucuna vardık.

Bilindiği gibi p53 17. kromozomun kısa kolunda bulunmakta, "genomun gardiyanı" olarak nitelendirilmektedir. DNA'nın stabilizasyonunda retinablastom ile birlikte önemli rol oynamaktadır. Bunun dışında metabolizma, hücre döngüsü, apoptoz, DNA tamiri ve yaşlanmada rol almaktadır. Çok sayıda kanserin temelini bu gen ve proteinine ait değişiklikler oluşturmaktadır.[82] p53 mutasyonu MM'lerde oldukça nadir görülmektedir. Ancak p53 proteininin inaktivasyonu farklı yolaklarda olabilmektedir.

Bunlardan en iyi bilineni MdM2 olup p53'ün $p14^{arf}$ ile birlikte negatif regülasyonunu denetlemektedir.[83] İnsan kanserlerinin yaklaşık %50'sinde p53 mutasyonu saptanmışken, p53 wild tip tümörlerde p53'ün negatif inhibitörü MdM2'nin overekspresyonu sonucu fonksiyon kaybı yaşanabilmektedir.[84] MdM2'nin yapısal değişiklikleri de çok sayıda kanserin temelinde tanımlanmıştır.

Bahnassy ve ark.[3]'nın yaptığı olduğu 55 olguluk çalışmada immunohistokimyasal ve Real Time PCR ile hücre döngü inhibitörlerinin ekspresyonunu incelenmiştir. Tümör hücrelerinin %50,8'inde MdM2 ekspresyonu saptanmıştır. Bu sonucun herhangi bir prognostik öneme sahip olmaksızın asbest maruziyeti ile korele olduğu belirtilmiştir.

Mairinger ve ark[85]'nın yaptığı çalışmada ise 61 vakada immunohistokimyasal olarak MdM2'nin nükleer ekspresyonu incelenmiştir. Olgularının %21,3'ünde ekspresyon saptanmış ve bunun anlamlı bir biçimde kötü prognoz ile ilişkisi olduğu gösterilmiştir. Ayrıca bir yıl sonraki Walter ve ark.[86] yaptığı çalışmada platin bazlı pemexered kemoterapik ajanının prognoza etkisinden bahsetmişler.

Bizim çalışmamızda non-epiteloid alt tipteki MM'de sadece 1 olguda, epiteloid alt tipte ise 2 olguda MdM2 ekspresyonu izlendi. Bunu sağkalım süreleri ile karşılaştırdığımızda anlamlı bir fark olmadığını gördük. Yukarıda bahsi geçen çalışmalarda negatif prognostik faktör olduğuna değinilse de bizim bulgularımız bu düşünceyi destekler nitelikte değildir.

p53 daha önce de bahsedildiği gibi retinablastom ile birlikte hücre döngüsünün önemli düzenleyicilerindendir. Hasarında veya başka inhibitörler ile inhibe edildiğinde hücre döngüsü var olan hasara rağmen devam eder. Çok sayıda kanserin temelinde p53 değişikliği mevcutken MM'de daha nadir olarak tanımlanmıştır.[87] Bu sebeple sadece prognoz ile ilişkisi gösterilen çok az sayıda yayın mevcut olup bunlar da eski yılllara aittir. Bunun sebebi olarak akla ilk gelen p53'ün tek başına tüm kanser patogenezine liderlik etmemesi ve birçok faktörden etkilenebilmesidir. Ayrıca p53 immunohistokimyasal olarak

reaktif mezotel hücreleri ve neoplastik hücrelerin ayırıcı tanısında kullanılabileceğinden söz edilmektedir.[88]

Creaney ve ark[89] MM'li hastalarından aldıkları kan örneklerinde p53 antikoruna baktıklarında antikor varlığının yaşam süresi ile belirgin ilişkisi olmadığını görmüşlerdir.

R. Işık [90] ve arkadaşlarının 67 MM hastasında yaptığı çalışmada immunohistokimyasal olarak %33 oranında p53 ekspresyonu saptamıştır. Reaksiyon veren olguların sağkalımları incelendiğinde de bu oranın ekspresyon göstermeyen hastalardan çok daha düşük olduğu dikkat çekmiştir.

Bizim çalışmamızda ise epiteloid grupta 27, non-epiteloid grupta toplam 41 vakada değişken şiddetlerde p53 ekspresyonu saptanmıştır. Sağkalımları arasındaki ilişki incelendiğinde ise anlamlı bir farkın olmadığı görülmüştür. Bunun birçok sebebi olduğu gibi p53'ün başka faktörlerin etkisi altında kalabileceği de unutulmamalıdır.

SV40 ilk defa Rhesus maymunlarında tanımlanmış bir DNA virüsüdür. Çok sayıda kendine özgü antijen üreterek enfekte ettiği hücrelerin türüne göre genoma integre olup çeşitli yolakları inhibe veya aktive ederek hücrede neoplastik süreci başlatmaktadır. Ayrıca asbest içinde ko-karsinojen etki göstermektedir. Çeşitli karsinomlarla ilişkisi tanımlanmıştır. MM'lerin patogenezinde de rol oynadıkları gösterilmiştir. Bu konu ile ilgili ilk çalışmalar SV40 ile infekte edilmiş hamsterlarda mezotelyoma gelişmesi ile başlamıştır.[91] Zekri ve ark[3] Mısır'da yaptıkları çalışmada MM hastalarının %54'ünde SV40 varlığını gösterildiği halde başka çalışmalarda SV40 ve MM arasında herhangi bir ilişki saptanmamıştır [92]. SV40'ın bu kadar farklılık göstermesinin sebebinin coğrafik dağılım ve uygulanan polio aşıları olduğu düşünülmektedir[93].

Thanh ve ark.[94] vietnamlı MM hastalarında yaptıkları çalışmada PCR yöntemi ile sadece %5 hastada SV40 TAg ile asbest varlığının birlikte olduğunu göstermiştir. Bunun yanısıra sağkalım ve SV40 arasında da anlamlı bir ilişki bulamamışlardır.

Çok sayıda çalışma SV40 Tag/tag eksprese eden insan mezotel hücrelerinin asbestin indüklediği apoptoza dirençli olduğunu göstermiştir.

Cristaudo ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada, asbest ve SV40 maruziyeti olan olgularda MM gelişme oranının, SV40 ve/veya asbest maruziyeti olmayanlara göre 12,6 kat daha fazla arttığını göstermişlerdir[95].

Kroczynska ve ark.[96] fareler üzerinde yaptığı çalışmada krokidolit ve SV40 maruziyeti olanlarda MM gelişme olasılığının daha fazla olduğunu öne sürülmektedir.

Bizim çalışmamızda hastalarımızın sadece 10'unda asbest maruziyeti varlığı tespit edebildik. Histolojik alt tip ve sağkalım süresinden bağımsız olarak SV40 eksresyonunu değerlendirdiğimizde asbest ve SV40 arasında anlamlı bir fark bulamadık.

Çalışmamızda bazı açılardan sınırlılıklar oldu. Her ne kadar 49 vaka çalışmamıza dahil edilmiş olsa da sağkalım süresi öğrenilemeyen 7, asbest maruziyeti bilinmeyen 8 olgu yaptığımız istatistiksel analize dahil edilmedi. Bu durum istatistik analize alınan sayının az olmasına neden olmuş ve çalışmanın duyarlılığını sınırlamıştır.

Geriye dönük olarak hasta dosyalarına eriştiğimiz zaman epikrizlerin eksik doldurulmuş olması, hastaların epidemiyolojik bilgilerine ulaşmada zorlayıcı olmuştur.

Hastaların bazılarının izlemden çıkmış olması nedeniyle bilgiler telefonla aranarak tamamlanmaya çalışılmıştır. Bazı hastaların telefon numaralarının da güncel olmaması bizi kısıtlayan diğer bir faktördü. Her hastanın tek tek aranarak sağkalım ve asbest hikayesi sorgulanırken çoğu hasta ile iletişim kurmakta zorlandık. Bazılarına ulaşılamamış, bazıları da telefonla bilgi vermeyi reddetmiştir.

Sonuç olarak çalışmaya dahil ettiğimiz olgularda hücre döngüsünün kontrolünde kilit rol oynayan MdM2, p53 ve p16 belirteçlerini immünohistokimyasal olarak inceledik. Yapılan değerlendirme sonuçlarının sağkalım ile ilişkisi incelendiğinde literatürde belirtildiğinden farklı olarak anlamlı bir bulgu elde edilememiştir. Bu sonuçlar bize bu belirteçlerin prognoz ile ilgili öngörüde bulunmak için yeterli olmayabileceğini düşündürmektedir.

SV40 ve asbest ile MM ilişkisi incelendiğinde literatürde belirtildiği gibi SV40'ın asbest ile ilişkisi olduğunu gösteren ve asbestin mutajen etkisini arttırdığını gösteren herhangi bir sonuca ulaşılamamıştır. Asbest maruziyeti bilinen olgu sayımız sınırlı olduğu için bu sonuç ortaya çıkmış olabilir.

6. SONUÇLAR

Bu çalışmada MM olgularında hücre döngüsünün kontrolünde kilit rol oynayan MdM2, p53 ve p16 belirteçlerinin ekspresyonu arasında histolojik alt tip ve sağkalım yönünden anlamlı bir ilişki saptanmamıştır.

MM olgularında asbest maruziyeti öyküsü ile SV40 ekspresyonu arasında anlamlı bir ilişki saptanmamıştır.

7.ÖZET

MM mezotel hücreleri ile döşeli plevra, periton ve testisin tunika vajinalisinden kaynaklanmaktadır. Agresif ve prognozu kötü seyreden, sağkalım süresi kısa bir kanser türüdür. Etyolojisinde asbest başta olmak üzere çok sayıda faktör bulunmaktadır. Bunların başında asbest dışında hücre döngü inhibitörleri ve SV40 gelmektedir.

Çalışmamızda 2006-2016 yılları arasında hastanemizde MM tanısı alan 49 vaka incelenmiştir. Hasta dosyaları incelenerek hastaların epidemiyolojik bilgileri ve asbest maruziyetleri sorgulanmıştır. Bu olgulara hücre döngü inhibitörlerinden p16, p53 ve MdM2'i immünohistokimyasal olarak uygulanmıştır. Sağkalımlarına ulaşamadığımız 7 olgu istatistiksel analize dahil edilmemiştir. İmmünohistokimyasal değerlendirmeyi standardize edebilmek amacıyla reaksiyon paternlerine göre skorlama sistemi kullanılmıştır. Bu sonuçlara göre p53 için 0 puan alan 1 olgu(%2,4),1 puan alan 28 olgu(%66,7),2 puan alan 13 olgu (%31) izlenmiştir. MdM2 için 0 puan alan 3 olgu (%7,1), 1 puan alan 39 olgu (%92,9) dikkati çekmiştir. p16 için ise 0 puan alan 21 olgu (%50),1 puan alan 16 olgu (%38,1) ve 2 puan alan 5 olgu (%11,9) izlenmiştir. Bu bulgular ve olguların sağkalımları arasındaki ilişki istatiksel açıdan anlamlı bir fark bulunamamıştır.

Çalışmamızda asbest maruziyeti öğrenilemeyen 8 vaka istatisiksel analize dahil edilmemiştir. 41 olgunun 10'unda (%21,6) asbest maruziyeti saptanmışken 31'inde (%79,4) asbest maruziyeti yoktur. Bu vakalara uygulanan SV40 belirteci sonuçlarına göre 0 puan alan 31 olgu (%75,6), 1 puan alan 5 olgu (%12,2) ve 2 puan alan 5 olgu (%12,2) izlenmiştir. Bu sonuçlarla SV40 ile asbest maruziyeti arasındaki istatiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmamıştır.

Literatürde belirgin biçimde hücre döngü inhibitörlerinin kaybının kötü prognoz ile ilişkisi bildirilmiştir. Yapılan çalışmalar genellikle genetik temelli olduğu için daha özgün çalışmalardır. Çalışmamızın sonuçları ise hücre döngü inhibitörleri ve sağkalım arasında bir ilişkinin olmadığını göstermektedir. Hem olgu sayımızın azlığı hem de immunohistokimyasal yöntemlerin kısıtlılığı bu sonuçlar sebep olmuş olabilir. Aynı şekilde SV40 ve asbest ilişkisi literatürde belirtilmiş olup SV40'ın ko-karsinojen olduğu düşünülmektedir. Bizim çalışmamızda ise bunu kanıtlayan bir sonuç elde edilememiştir.

8. ABSTRACT

Malignant mesothelioma is an aggressive tumor arising from the mesothelial cells that line the body cavities. Although it is not uncommon, it is of vital importance that tumors are resistant to treatment methods such as surgery, chemotherapy, or radiotherapy. There are many factors in etiology, especially asbestos. Several cell cycle inhibitors are also explored for prognostic and therapeutic approach.

The study has included 49 cases of malignant mesothelioma diagnosed in our hospital between 2006-2016. Patient files were reviewed for epidemiological information and asbestos exposures of the patients were examined. In these cases p16, p53 and MdM2 from cell cycle inhibitors were immunohistochemically applied. Seven cases where we could not reach the information about their survival were not included in the statistical analysis. In order to standardize the immunohistochemical evaluation, scoring system was used according to reaction patterns. According to these results, p16 expression was determined as 0 point in 1 case (2,4%), 1 point in 28 cases (66,7%) and 2 points in 13 cases (31%). For p16, 21 cases (50%) were scored 0, 16 cases (1%) were scored 1, and 5 cases (11,9%) were scored 2 points. Three cases (7,1%) who scored 0 for MdM2, and 39 cases (92,9%) who scored 1 point attracted attention. When the relationship between p16, MdM2, p 53 and their survival was examined statistically, no significant difference was found.

8 cases of asbestos exposure in our study were not included in the statistical analysis. Asbestos exposure was detected in 10 of 41 (21,6%) cases and 31 (79,4%) were not exposed to asbestos. According to the results of the evaluation of patients who received SV40 markers 31 cases (75,6%) were scored 0 points, 5 cases (12,2%) were scored 1 point, and 5 cases (12,2%) were scored 2 points. The relationship between these results and asbestos exposure was statistically analyzed and no significant difference was found.

Significant loss of cell cycle inhibitors in the literature has been reported to be associated with poor prognosis. The results of our study didn’t revealed any correlation between cell cycle inhibitors and survival. These results may be due to both the low number of cases and the limitations of immunohistochemical methods. Likewise SV40 and asbestos relation are mentioned in the literature and SV40 is thought to be co-carcinogenic. In our study, the results were not suggestive.

9. KAYNAKÇA

1. Kumar P, Kratzke RA. Molecular prognostic markers in malignant mesothelioma. *Lung Cancer*. 2005;49(SUPPL. 1). doi:10.1016/j.lungcan.2005.03.012.
2. Travis WD, Brambilla E, Müller-hermelink HK, Harris CC. World Health Organization Classification of Tumours WHO Classification. Pathology & Genetics Tumours of the Lung , Pleura , Thymus and Heart. In: *IARC/Press*. ; 2004:9-122.
3. Bahnassy AA, Zekri AN, Abou-bakr AA, et al. Aberrant expression of cell cycle regulatory genes predicts overall and disease free survival in malignant pleural mesothelioma patients. *Exp Mol Pathol*. 2012;93(1):154-161. doi:10.1016/j.yexmp.2012.04.001.
4. Toyooka S, Kishimoto T, Date H. Advances in the molecular biology of malignant mesothelioma. *Acta Med Okayama*. 2008;62(1):1-7.
5. English JC, Leslie KO. Pathology of the Pleura. *Clin Chest Med*. 2006;27(2):157-180. doi:10.1016/j.ccm.2006.01.006.
6. Wang NS. Anatomy of the pleura. *Clin Chest Med*. 1998;19(2):229-240. doi:10.1016/S0272-5231(05)70074-5.
7. Charalampidis C, Youroukou A, Lazaridis G, et al. Pleura space anatomy. *J Thorac Dis*. 2015;7(Suppl 1):S27-32. doi:10.3978/j.issn.2072-1439.2015.01.48.
8. Yalcin NG, Choong CKC, Eizenberg N. Anatomy and Pathophysiology of the Pleura and Pleural Space. *Thorac Surg Clin*. 2013;23(1):1-10. doi:10.1016/j.thorsurg.2012.10.008.
9. Pass HI, Carbone M, Vogelzang NJ. *Malignant Mesothelioma: Advances in Pathogenesis, Diagnosis, and Translational Therapies*.; 2005. doi:10.1007/0-387-28274-2.
10. Moore AJ, Parker RJ, Wiggins J. Malignant mesothelioma. *Orphanet J Rare Dis*. 2008;3(1):34. doi:10.1186/1750-1172-3-34.
11. Manuscript A, Epidemiology M. NIH Public Access. 2009;9:147-157. doi:10.1007/s11864-008-0067-z.Mesothelioma.
12. Carbone M, Emri S, Dogan a U, et al. A mesothelioma epidemic in Cappadocia: scientific developments and unexpected social outcomes. *Nat Rev Cancer*. 2007;7(2):147-154. doi:10.1038/nrc2068.
13. Carbone M, Kanodia S, Chao A, et al. Consensus report of the 2015 Weinman

international conference on mesothelioma. *J Thorac Oncol*. 2016;11(8):1246-1262. doi:10.1016/j.jtho.2016.04.028.

14. Özyılkan Ö. Malignant pleural mesothelioma: A single-center experience in Turkey. *Med Sci Monit*. 2014;20:825-832. doi:10.12659/MSM.890020.
15. Emri S, Demir AU. Malignant pleural mesothelioma in Turkey, 2000-2002. *Lung Cancer*. 2004;45(SUPPL.):2000-2002. doi:10.1016/j.lungcan.2004.04.009.
16. Berk S, Dogan OT, Kilickap S, Epozturk K, Akkurt I, Seyfikli Z. Clinical characteristics, treatment and survival outcomes in malignant mesothelioma: eighteen years' experience in Turkey. *Asian Pac J Cancer Prev*. 2012;13(11):5735-5739. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23317248.
17. Committee BTSS of C. BTS statement on malignant mesothelioma in the UK, 2007. *Thorax*. 2007;62 Suppl 2:ii1-ii19. doi:10.1136/thx.2007.087619.
18. Bononi A, Napolitano A, Pass HI, Yang H, Carbone M. Latest developments in our understanding of the pathogenesis of mesothelioma and the design of targeted therapies. *Expert Rev Respir Med*. 2015;9(5):1-22. doi:10.1586/17476348.2015.1081066.
19. Baumann F, Ambrosi JP, Carbone M. Asbestos is not just asbestos: An unrecognised health hazard. *Lancet Oncol*. 2013;14(7):576-578. doi:10.1016/S1470-2045(13)70257-2.
20. Osman E, Hasan B, Meral U, et al. Recent discovery of an old disease: Malignant pleural mesothelioma in a village in south-east Turkey. *Respirology*. 2007;12(3):448-451. doi:10.1111/j.1440-1843.2006.01027.x.
21. Metintas M, Metintas S, Ak G, et al. Epidemiology of pleural mesothelioma in a population with non-occupational asbestos exposure. *Respirology*. 2008;13(1):117-121. doi:10.1111/j.1440-1843.2007.01187.x.
22. Huang SXL, Jaurand M, Kamp DW, Whysner J, Hei TK. Role of mutagenicity in asbestos fiber-induced carcinogenicity and other diseases. *J Toxicol Environ Health B Crit Rev*. 2011;14(1-4):179-245. doi:10.1080/10937404.2011.556051.
23. Choe N, Tanaka S, Kagan E. Asbestos Fibers and Interleukin-1 Upregulate the Formation of Reactive Nitrogen Species in Rat Pleural Mesothelial Cells. (5).
24. Aldieri E, Orecchia S, Ghigo D, et al. Simian virus 40 infection down-regulates the expression of nitric oxide synthase in human mesothelial cells. *Cancer Res*.

2004;64(12):4082-4084. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=15205315.

25. Sekido Y. Molecular pathogenesis of malignant mesothelioma. *Carcinogenesis*. 2013;34(7):1413-1419. doi:10.1093/carcin/bgt166.
26. Qi F, Okimoto G, Jube S, et al. Continuous exposure to chrysotile asbestos can cause transformation of human mesothelial cells via HMGB1 and TNF-α signaling. *Am J Pathol*. 2013;183(5):1654-1666. doi:10.1016/j.ajpath.2013.07.029.
27. Dogan AU, Baris YI, Dogan M, et al. Genetic predisposition to fiber carcinogenesis causes a mesothelioma epidemic in Turkey. *Cancer Res*. 2006;66(10):5063-5068. doi:10.1158/0008-5472.CAN-05-4642.
28. Ortega-Guerrero MA, Carrasco-Núñez G, Barragán-Campos H, Ortega MR. High incidence of lung cancer and malignant mesothelioma linked to erionite fibre exposure in a rural community in Central Mexico. *Occup Environ Med*. 2015;72(3):216-218. doi:10.1136/oemed-2013-101957.
29. Dumortier P, Coplü L, Broucke I, et al. Erionite bodies and fibres in bronchoalveolar lavage fluid (BALF) of residents from Tuzköy, Cappadocia, Turkey. *Occup Environ Med*. 2001;58(4):261-266. doi:10.1136/oem.58.4.261.
30. Metintas M, Hillerdal G, Metintas S, Dumortier P. Endemic Malignant Mesothelioma : Exposure to Erionite Is More Important. *Arch Env Occup Heal*. 2010;65(2):86-93. doi:10.1080/19338240903390305.
31. Vilchez RA, Butel JS. Emergent Human Pathogen Simian Virus 40 and Its Role in Cancer. *Society*. 2004;17(3):495-508. doi:10.1128/CMR.17.3.495.
32. Carbone M, Pass HI, Miele L, Bocchetta M. New developments about the association of SV40 with human mesothelioma. *Oncogene*. 2003;22(33):5173-5180. doi:10.1038/sj.onc.1206552.
33. Jin M, Sawa H, Suzuki T, et al. Investigation of Simian virus 40 large T antigen in 18 autopsied malignant mesothelioma patients in Japan. *J Med Virol*. 2004;74(4):668-676. doi:10.1002/jmv.20219.
34. Lundstig A, Dejmek A, Eklund C, Filinic I, Dillner J. No detection of SV40 DNA in mesothelioma tissues from a high incidence area in Sweden. *Anticancer Res*. 2007;27(6 B):4159-4161.

35. Eom M, Abdul-Ghafar J, Park SM, et al. No detection of simian virus 40 in malignant mesothelioma in korea. *Korean J Pathol*. 2013;47(2):124-129. doi:10.4132/KoreanJPathol.2013.47.2.124.
36. Gee G V, Stanifer ML, Christensen BC, et al. SV40 associated miRNAs are not detectable in mesotheliomas. *Br J Cancer*. 2010;103(6):885-888. doi:10.1038/sj.bjc.6605848.
37. Hmeljak J, Kern I, Cör A. No implication of Simian virus 40 in pathogenesis of malignant pleural mesothelioma in Slovenia. *Tumori*. 2010;96(5):667-673.
38. Mohammad-Taheri Z, Nadji SA, Raisi F, Mohammadi F, Bahadori M, Mark EJ. No association between simian virus 40 and diffuse malignant mesothelioma of the pleura in Iranian patients: A molecular and epidemiologic case-control study of 60 patients. *Am J Ind Med*. 2013;56(10):1221-1225. doi:10.1002/ajim.22160.
39. Bocchetta M, Di Resta I, Powers A, et al. Human mesothelial cells are unusually susceptible to simian virus 40-mediated transformation and asbestos cocarcinogenicity. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2000;97(18):10214-10219. doi:10.1073/pnas.170207097.
40. Bocchetta M, Eliasz S, De Marco MA, Rudzinski J, Zhang L, Carbone M. The SV40 large T antigen-p53 complexes bind and activate the insulin-like growth factor-I promoter stimulating cell growth. *Cancer Res*. 2008;68(4):1022-1029. doi:10.1158/0008-5472.CAN-07-5203.
41. Bocchetta M, Miele L, Pass HI, Carbone M. Notch-1 induction, a novel activity of SV40 required for growth of SV40-transformed human mesothelial cells. *Oncogene*. 2003;22(1):81-89. doi:10.1038/sj.onc.1206097.
42. Foddis R, Rienzo A De, Broccoli D, et al. SV40 infection induces telomerase activity in human mesothelial cells. 2002;(September 2001):1434-1442. doi:10.1038/sj/onc/1205203.
43. Yang C, You L, Yeh C, et al. Adenovirus-Mediated p14 ARF Gene Transfer in Human Mesothelioma Cells. *J Natl Cancer Inst*. 2000;92(8):636-641.
44. Ladanyi M. Implications of P16/CDKN2A deletion in pleural mesotheliomas. *Lung Cancer*. 2005;49(SUPPL. 1):95-98. doi:10.1016/j.lungcan.2005.03.017.
45. Vinay Kumar, MBBS, MD Frcp, Abul K. Abbas M, Jon C. Aster, MD P. Robbins Surgical Pathology. In: 9th ed. Philadelphia: Elsevier Ltd; 2014:161-215.

46. Weber JD, Jeffers JR, Rehg JE, et al. p53-independent functions of the p19 ARF tumor suppressor. *Genes Dev*. 2000:2358-2365. doi:10.1101/gad.827300.ero.
47. Sherr CJ, Bertwistle D, Besten WDEN. p53-Dependent and -Independent Functions of the Arf Tumor Suppressor p53-Dependent and -Independent Functions of the Arf Tumor Suppressor. 2005;LXX:129-137. doi:10.1101/sqb.2005.70.004.
48. Sherr CJ, Weber JD. The ARF/p53 pathway. *Curr Opin Genet Dev*. 2000;10(1):94-99. doi:10.1016/S0959-437X(99)00038-6.
49. Ruas M, Peters G. The p16INK4a/CDKN2A tumor suppressor and its relatives. *Biochim Biophys Acta*. 1998;1378(2):F115-77. doi:10.1016/S0304-419X(98)00017-1.
50. Thillainadesan G, Chitilian JM, Isovic M, et al. TGF-??-Dependent Active Demethylation and Expression of the p15 ink4b Tumor Suppressor Are Impaired by the ZNF217/CoREST Complex. *Mol Cell*. 2012;46(5):636-649. doi:10.1016/j.molcel.2012.03.027.
51. De Assis LVM, Locatelli J, Isoldi MC. The role of key genes and pathways involved in the tumorigenesis of Malignant Mesothelioma. *Biochim Biophys Acta - Rev Cancer*. 2014;1845(2):232-247. doi:10.1016/j.bbcan.2014.01.008.
52. Wong L, Zhou J, Anderson D, Kratzke RA. Inactivation of p16 INK4a expression in malignant mesothelioma by methylation. 2002;38:131-136.
53. Carbone M, Ferris LK, Baumann F, et al. BAP1 cancer syndrome: malignant mesothelioma, uveal and cutaneous melanoma, and MBAITs. *J Transl Med*. 2012;10:179. doi:10.1186/1479-5876-10-179.
54. Cheung M, Talarchek J, Schindeler K, et al. Further evidence for germline BAP1 mutations predisposing to melanoma and malignant mesothelioma. *Cancer Genet*. 2013;206(5):206-210. doi:10.1016/j.cancergen.2013.05.018.
55. Yoshikawa Y, Sato A, Tsujimura T, et al. Frequent inactivation of the BAP1 gene in epithelioid-type malignant mesothelioma. *Cancer Sci*. 2012;103(5):868-874. doi:10.1111/j.1349-7006.2012.02223.x.
56. Zauderer MG, Bott M, McMillan R, et al. Clinical characteristics of patients with malignant pleural mesothelioma harboring somatic BAP1 mutations. *J Thorac Oncol*. 2013;8(11):1430-1433. doi:10.1097/JTO.0b013e31829e7ef9.
57. Yabuta N, Fujii T, Copeland NG, et al. Structure, expression, and chromosome

mapping of LATS2, a mammalian homologue of the Drosophila tumor suppressor gene lats/warts. *Genomics*. 2000;63(2):263-270. doi:10.1006/geno.1999.6065.

58. Aylon Y, Ofir-Rosenfeld Y, Yabuta N, et al. The Lats2 tumor suppressor augments p53-mediated apoptosis by promoting the nuclear proapoptotic function of ASPP1. *Genes Dev*. 2010;24(21):2420-2429. doi:10.1101/gad.1954410.
59. Christensen BC, Houseman EA, Godleski JJ, et al. Epigenetic profiles distinguish pleural mesothelioma from normal pleura and predict lung asbestos burden and clinical outcome. *Cancer Res*. 2009;69(1):227-234. doi:10.1158/0008-5472.CAN-08-2586.
60. Fischer JR, Ohnmacht U, Rieger N, et al. Promoter methylation of RASSF1A, RARbeta and DAPK predict poor prognosis of patients with malignant mesothelioma. *Lung Cancer*. 2006;54(1):109-116. doi:10.1016/j.lungcan.2006.06.017.
61. Tapon N, Harvey KF, Bell DW, et al. salvador promotes both cell cycle exit and apoptosis in Drosophila and is mutated in human cancer cell lines. *Cell*. 2002;110(4):467-478. doi:10.1016/S0092-8674(02)00824-3.
62. Lu L, Li Y, Kim SM, et al. Hippo signaling is a potent in vivo growth and tumor suppressor pathway in the mammalian liver. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2010;107(4):1437-1442. doi:10.1073/pnas.0911427107.
63. Strizzi L, Catalano A, Vianale G, et al. Vascular endothelial growth factor is an autocrine growth factor in human malignant mesothelioma. *J Pathol*. 2001;193(4):468-475. doi:10.1002/path.824.
64. Favoni RE, Daga A, Malatesta P, Florio T. Preclinical studies identify novel targeted pharmacological strategies for treatment of human malignant pleural mesothelioma. *Br J Pharmacol*. 2012;166(2):532-553. doi:10.1111/j.1476-5381.2012.01873.x.
65. Whitson BA, Kratzke RA. Molecular pathways in malignant pleural mesothelioma. *Cancer Lett*. 2006;239(2):183-189. doi:10.1016/j.canlet.2005.08.010.
66. Lee AY, Ras DJ, He B, Jablons DM. Update on the molecular biology of malignant mesothelioma. *Cancer*. 2007;109(8):1454-1461. doi:10.1002/cncr.22552.
67. Mohiuddin I, Cao X, Ozvaran MK, Zumstein L, Chada S, Smythe WR. Phosphatase and tensin analog gene overexpression engenders cellular death in human malignant

mesothelioma cells via inhibition of AKT phosphorylation. *Ann Surg Oncol*. 2002;9(3):310-316. doi:10.1245/aso.2002.9.3.310.

68. O'Kane SL, Pound RJ, Campbell A, Chaudhuri N, Lind MJ, Cawkwell L. Expression of bcl-2 family members in malignant pleural mesothelioma. *Acta Oncol*. 2006;45(4):449-453. doi:10.1080/02841860500468927.
69. Teta MJ, Lau E, Sceurman BK, Wagner ME. Therapeutic radiation for lymphoma: Risk of malignant mesothelioma. *Cancer*. 2007;109(7):1432-1438. doi:10.1002/cncr.22526.
70. Amin AMH, Mason C, Rowe P. Diffuse malignant mesothelioma of the peritoneum following abdominal radiotherapy. *Eur J Surg Oncol*. 2001;27(2):214-222. doi:10.1053/ejso.2000.1024.
71. Gilks B, Hegedus C, Freeman H, Fratkin L, Churg A. Malignant peritoneal mesothelioma after remote abdominal radiation. *Cancer*. 1988;61(10):2019-2021. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=3282640.
72. Crew KD, Neugut… AI. Malignant Mesothelioma Following Radiation. *Malig Mesothelioma*. 2005:350-363. http://www.springerlink.com/index/jh15016p07m10761.pdf%5Cnpapers://5aecfcca-9729-4def-92fe-c46e5cd7cc81/Paper/p42041.
73. Anderson KA, Hurley WC, Hurley BT, Ohrt DW. Malignant pleural mesothelioma following radiotherapy in a 16-year-old boy. *Cancer*. 1985;56(2):273-276. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=2988741.
74. Demirer E, Ghattas CF, Radwan MO, Elamin EM. Clinical and prognostic features of erionite-induced malignant mesothelioma. *Yonsei Med J*. 2015;56(2):311-322. doi:10.3349/ymj.2015.56.2.311.
75. Vivo C, Lecomte C, Levy F, et al. Cell cycle checkpoint status in human malignant mesothelioma cell lines: response to gamma radiation. *Br J Cancer*. 2003;88(3):388-395. doi:10.1038/sj.bjc.6600736.
76. Galateau-Salle F, Churg A, Roggli V, Travis WD. The 2015 world health organization classification of tumors of the pleura: Advances since the 2004 Classification. *J Thorac Oncol*. 2016;11(2):142-154.

doi:10.1016/j.jtho.2015.11.005.

77. Husain AN, Colby T, Ordonez N, et al. Guidelines for pathologic diagnosis of malignant mesothelioma: 2012 update of the consensus statement from the International Mesothelioma Interest Group. *Arch Pathol Lab Med*. 2013;137(5):647-667. doi:10.5858/arpa.2012-0214-OA.
78. Leslie KO, Wick M. Malignant and Borderline Mesothelial Tumors of the Pleura. In: Wick M, Tazelaar HD, Ritter JH, eds. *Practical Pulmonary Pathology*. 2nd ed. Elsevier Ltd; 2011:721-759.
79. Kobayashi N, Toyooka S, Yanai H, et al. Frequent p16 inactivation by homozygous deletion or methylation is associated with a poor prognosis in Japanese patients with pleural mesothelioma. *Lung Cancer*. 2008;62(1):120-125. doi:10.1016/j.lungcan.2008.02.013.
80. Chiosea S, Krasinskas A, Cagle PT, Mitchell KA, Zander DS, Dacic S. Diagnostic importance of 9p21 homozygous deletion in malignant mesotheliomas. 2008:742-747. doi:10.1038/modpathol.2008.45.
81. Hamasaki M, Matsumoto S, Abe S, et al. Low homozygous/high heterozygous deletion status by p16 FISH correlates with a better prognostic group than high homozygous deletion status in malignant pleural mesothelioma. *Lung Cancer*. 2016;99:155-161. doi:10.1016/j.lungcan.2016.07.011.
82. Frezza C, Martins CP. From tumor prevention to therapy: Empowering p53 to fight back. *Drug Resist Updat*. 2012;15(5-6):258-267. doi:10.1016/j.drup.2012.10.001.
83. Pasello G, Urso L, Mencoboni M, et al. MDM2 and HIF1alpha expression levels in different histologic subtypes of malignant pleural mesothelioma: correlation with pathological and clinical data. *Oncotarget*. 2015;6(39). doi:10.18632/oncotarget.5974.
84. Urso L, Calabrese F, Favaretto A, Conte P, Pasello G. Critical review about MDM2 in cancer: Possible role in malignant mesothelioma and implications for treatment. *Crit Rev Oncol Hematol*. 2015;97:220-230. doi:10.1016/j.critrevonc.2015.08.019.
85. Mairinger FD, Walter RFH, Ting S, et al. Mdm2 protein expression is strongly associated with survival in malignant pleural mesothelioma. *Futur Oncol*. 2014;10(6):995-1005. doi:10.2217/fon.13.261.
86. Walter RFH, Mairinger FD, Ting S, et al. MDM2 is an important prognostic and

predictive factor for platin-pemetrexed therapy in malignant pleural mesotheliomas and deregulation of P14/ARF (encoded by CDKN2A) seems to contribute to an MDM2-driven inactivation of P53. *Br J Cancer*. 2015;112(5):883-890. doi:10.1038/bjc.2015.27.

87. Chalovich JM, Eisenberg E. NIH Public Access. *Biophys Chem*. 2005;257(5):2432-2437. doi:10.1016/j.immuni.2010.12.017.Two-stage.
88. Koo SM, Uh ST, Kim DW, Kim KU, Kim YK. P53 expression in a malignant mesothelioma patient during seven-year follow-up. *Tuberc Respir Dis (Seoul)*. 2014;76(6):284-288. doi:10.4046/trd.2014.76.6.284.
89. Creaney J, McLaren BM, Stevenson S, et al. P53 Autoantibodies in Patients With Malignant Mesothelioma: Stability Through Disease Progression. *Br J Cancer*. 2001;84(1):52-56. doi:10.1054/bjoc.2000.1529.
90. Isik R, Metintas M, Gibbs AR, et al. p53, p21 and metallothionein immunoreactivities in patients with malignant pleural mesothelioma: Correlations with the epidemiological features and prognosis of mesotheliomas with environmental asbestos exposure. *Respir Med*. 2001;95(7):588-593. doi:10.1053/rmed.2001.1108.
91. Cicala C, Pompetti F, Carbone M. SV40 induces mesotheliomas in hamsters. *Am J Pathol*. 1993;142(5):1524-1533. http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=1886912&tool=pmcentrez&rendertype=abstract.
92. Zekri ARN, Bahnassy AA, Mohamed WS, et al. Evaluation of simian virus-40 as a biological prognostic factor in Egyptian patients with malignant pleural mesothelioma. *Pathol Int*. 2007;57(8):493-501. doi:10.1111/j.1440-1827.2007.02130.x.
93. Cleaver AL, Bhamidipaty K, Wylie B, et al. Long-term exposure of mesothelial cells to SV40 and asbestos leads to malignant transformation and chemotherapy resistance. *Carcinogenesis*. 2014;35(2):407-414. doi:10.1093/carcin/bgt322.
94. Thanh TD, Van Tho N, Lam NS, Dung NH, Tabata C, Nakano Y. Simian virus 40 may be associated with developing malignant pleural mesothelioma. *Oncol Lett*. 2016;11(3):2051-2056. doi:10.3892/ol.2016.4174.
95. Cristaudo A, Foddis R, Vivaldi A, et al. SV40 enhances the risk of malignant

mesothelioma among people exposed to asbestos: A molecular epidemiologic case-control study. *Cancer Res*. 2005;65(8):3049-3052. doi:10.1158/0008-5472.CAN-04-2219.

96. Kroczynska B, Cutrone R, Bocchetta M, et al. Crocidolite asbestos and SV40 are cocarcinogens in human mesothelial cells and in causing mesothelioma in hamsters. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2006;103(38):14128-14133. doi:10.1073/pnas.0604544103.