

T.C.
ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

**KEMOTERAPİ ALAN MALİGN MEZOTELYOMALI
HASTALARDA PROGNOZ BİYOBELİRTEÇLERİNİN
TESPİT VE DOĞRULAMA ÇALIŞMASI**

Dr. Hakan AKGÜN

Göğüs Hastalıkları Anabilim Dalı

TIPTA UZMANLIK TEZİ

ESKİŞEHİR

2017

T.C.
ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

KEMOTERAPİ ALAN MALİGN MEZOTELYOMALI
HASTALARDA PROGNOZ BİYOBELİRTEÇLERİNİN
TESPİT VE DOĞRULAMA ÇALIŞMASI

Dr. Hakan AKGÜN

Göğüs Hastalıkları Anabilim Dalı
TIPTA UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŐMANI
Prof. Dr. Muzaffer METİNTAŞ

ESKİŞEHİR

2017

TEZ KABUL VE ONAY SAYFASI

T.C.

ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI' NA

Dr. Hakan AKGÜN' e ait "Kemoterapi alan malign mezotelyomalı hastalarda prognoz biyobelirteçlerinin tespit ve doğrulama çalışması" isimli çalışma jürimiz tarafından Göğüs Hastalıkları Anabilim Dalı'nda Tıpta Uzmanlık Tezi olarak oy birliği ile kabul edilmiştir.

Tarih: .. / .. /

Jüri Başkanı Prof. Dr. Muzaffer METİNTAŞ
Göğüs Hastalıkları Anabilim Dalı

Üye Doç. Dr. Güntülü AK
Göğüs Hastalıkları Anabilim Dalı

Üye Prof. Dr. Z. Toros SELÇUK
Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi
Göğüs Hastalıkları Anabilim Dalı

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

Prof.Dr. Alparslan BİRDANE
Rektör Yardımcısı
Dekan Vekili

TEŞEKKÜR

Öncelikle tez konusunu seçerken isteklerimi göz önünde bulundurup tezimin hazırlanmasında çok büyük emeği olan, mesleki bilgi ve deneyimleri ile bana yol gösteren, öğrenmeyi ve öğretmeyi çok seven, dürüst, çalışkan, tanımaktan onur duyduğum saygıdeğer hocalarım Prof. Dr. Muzaffer METİNTAŞ'a ve Doç. Dr. Güntülü AK'a teşekkürlerimi sunarım. Ayrıca istatistik konusunda tezimde çok büyük emeği olan, bilgi ve tecrübeleri ile bana yol gösteren saygıdeğer hocam Prof.Dr. Selma METİNTAŞ'a teşekkürlerimi sunarım.

ÖZET

Akgün,H. Kemoterapi alan malign mezotelyomalı hastalarda prognoz biyobelirteçlerinin tespit ve doğrulama çalışması, Göğüs Hastalıkları Anabilim Dalı Tıpta Uzmanlı Tezi, Eskişehir, 2017. Malign Plevral Mezotelyoma (MPM) 'nin prognozu iyi değildir, ortanca yaşam süresi 12 ay civarında verilmektedir. Bu çalışmada MPM kesin teşhisi konmuş ve kemoterapi tedavisi alan 54 hastanın tümör dokusunda *Real Time Polymerase Chain Reaction* (qPCR) yöntemiyle, *midkine* (MKN), *syndecan-1* (SOC-1) ve *hyaluronan synthase-2* (HAS-2); literatürden seçilen *fibulin-3*; ayrıca *Unsupervised Survival Analysis Tool* (USAT) ile belirlenen *sestrin-1* (SESN-1) ile *laminin subunit alpha-4* (LAMA-4) ve iki *housekeeping* gen; glukoz-6-fosfat dehidrogenaz (G6PD), TATA-box taşıyıcı protein (TBP)'nin gen ifadelerinin incelenmesi ve saptanacak gen ifade profillerinin prognoz biyobelirteci olarak kullanılabilirliklerinin araştırılması amaçlanmıştır. Gen ifadesi ve prognoz arasındaki ilişki *Log Rank multiple cut-off analysis* (LMRC) yöntemiyle tüm olasılıklı kestirim (*cut-off*) değerleri kullanılarak, örnekler iki gruba kategorize edilerek değerlendirildi. p değerleri 0.05'in altında ve kestirim değeri 10-90 percentil arası anlamlı kabul edildi. MPM hastalarında MKN (p=0.002), HAS-2 (p=0.006), SESN-1 (p=0.005) aşırı gen ifadelerinin çoklu değişken analizlerde sağkalım zamanı ile ilişkili olduğu belirlendi. Buna ek olarak, epiteloid tip MPM'li hastalarda HAS-2 (p=0.014) ve SESN-1 (p=0.045) aşırı gen ifadelerinin çoklu değişken analizlerde sağkalım ile ilişkili olduğu belirlendi. Sonuç olarak, MPM'li hastalarda MKN aşırı gen ifadesinin kötü prognozla, HAS-2 ve SESN-1 aşırı gen ifadesinin iyi prognozla ilişkili olduğu tayin edildi. Ayrıca HAS-2 ve SESN-1 aşırı gen ifadelerinin epiteloid hücre tipine sahip MPM'li hastalarda iyi prognoz biyobelirteci olarak yararlı olabileceği kanaati oluştu. Söz konusu belirteçlerin, aynı amaçlarla, daha geniş gruplarda ve diğer biyolojik ortamlarda değerlendirilmesi konu hakkındaki bilgilerimize ve daha doğru kanaatler geliştirmemize katkı sağlayacaktır.

Anahtar Kelimeler: Malign mezotelyoma, prognoz, biyobelirteç.

Destekleyen Kurumlar: Bu çalışma ESOGU BAP (2015-672) ve Sağlık Bakanlığı Sağlık Araştırmaları Genel Müdürlüğü projeleri kapsamında (15960948/934.99) desteklenmiştir.

ABSTRACT

Akgün, H. Identification and validation of prognostic biomarkers in patients with malignant mesothelioma receiving chemotherapy, MD, PhD Medical Dissertation, Department of Pulmonology, Eskişehir, 2017. The prognosis of Malignant Pleural Mesothelioma (MPM) is generally poor, with a median survival time of around 12 months. The purpose of this study is to examine the gene expression profiles and the usability of the gene expression profiles as prognostic biomarkers of *midkine* (MKN), *syndecan-1* (SOC-1), *hyaluronan synthase-2* (HAS-2), *fibulin-3* selected from the literature and *sestrin-1* (SESN-1) and *laminin subunit alpha-4* (LAMA-4) determined with *Unsupervised Survival Analysis Tool* (USAT) and two housekeeping genes, *glucose-6-phosphate dehydrogenase* (G6PD), *TATA-box transporter protein* (TBP), which were determined by means of qPCR method in 54 patients with definite diagnosis and chemotherapy treatment. The relationship between gene expression and prognosis was assessed by categorizing the samples into two groups using all probability cut-off values using the LMRC method. p values were below 0.05 and the predictive value was considered significant between 10th and 90th percentile. It was determined that overexpression of MKN (p=0.002), HAS-2 (p=0.006) and SESN-1 (p=0.005) in MPM patients was associated with survival time in multivariate analysis. In addition, it was determined that HAS-2 (p=0.014) and SESN-1 (p=0.045) overexpression of genes in epithelial type MPM patients were associated with survival in multivariate analysis. In conclusion, in patients with MPM, MKN over-expression was associated with poor prognosis and HAS-2 and SESN-1 over-expression were associated with good prognosis. It has also been suggested that HAS-2 and SESN-1 over-gene expressions may be useful as biomarkers for a good prognosis in patients with MPM with epithelial cell type. It will also contribute to our knowledge about the evaluation of such markers in other biological environments in larger groups, and to develop more accurate convictions for the same purposes.

Key Words: Malignant mesothelioma, prognosis, biomarker

Supporting Institutions: The study was supported ESOGU BAP (2015-672) and within the scope of the projects of General Directorate of Health Researches, Ministry of Health (15960948/934.99)

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
TEZ KABUL VE ONAY SAYFASI	iii
TEŞEKKÜR	iv
ÖZET	v
ABSTRACT	vi
İÇİNDEKİLER	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ	xi
TABLolar DİZİNİ	xii
1.GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Tanım	3
2.2. Etyoloji	3
2.2.1 Asbest Teması	3
2.2.2. Erionite Teması	4
2.2.3. SV-40	5
2.2.4. Diğer Nedenler	5
2.3. Epidemiyoloji	5
2.3.1. Gelecekteki Epidemiyolojik Öngörüler	6
2.4. Patogenez	7
2.4.1. Asbest	7
2.4.2. SV-40	7
2.4.3. Genetik Yatkınlık ve Gen Mutasyonları	8
3. GEREÇ VE YÖNTEM	9

	Sayfa
3.1. Materyal	9
3.2. Metod	10
3.2.1. USAT	11
3.3. Biyolojik Analizler	11
3.4. İstatistiksel Deęerlendirmeye	15
4.BULGULAR	16
5.TARTIŞMA	34
6.SONUÇ VE ÖNERİLER	49
KAYNAKLAR	51

SİMGELER VE KISALTMALAR

ARF	Alternatif Reading Frame
BAP	Benign Asbest Plörezisi
BAP1	BRCA1 İlişkili Protein-1
CDKN2A	Siklin Bağımlı Kinaz İnhibitor 2A
CP	Crossing Point
DSÖ	Dünya Sağlık Örgütü
GA	Güvenlik Aralığı
G6PD	Glukoz-6-Fosfat Dehidrogenaz
HA	Hyaluronan
HAS-2	Hyaluronan Synthase-2
HMGB1	High Mobility Group Protein B1
KIDEM	İzmir Kanser Kayıt Merkezi
KPS	Karnofsky Performans Skoru
MKN	Midkine
LAMA-4	Laminin Subunit Alpha-4
LDH	Laktat Dehidrogenaz
LRMC	Log Rank Multiple Cut-off Analysis
MPM	Malign Plevral Mezotelyoma
OPN	Osteopontin
PET/BT	Pozitron Emisyon Tomografisi/Bilgisayarlı Tomografi
qPCR	Real Time PCR
RQ	Relative Quantification
SD	Standart Deviation

SESN-1	Sestrin-1
SMRP	Soluble Mesothelin Related Peptide
SOC-1	Syndecan-1
SUV	Standard Uptake Value
SV-40	Simian Virus-40
TBP	TATA-Box Taşıyıcı Protein
TNF- α	Tümör Nekrozis Faktör-Alfa
TOR	Target of Rapamycin
USAT	Unsupervised Survival Analysis Tool

ŞEKİLLER

	Sayfa
2.1. Asbest lif tipleri.	3
2.2. Solda tremolite tip, sağda chrysotil tip asbest lifleri.	4
3.1. Isı-Zaman Grafiği.	14
4.1. SESN-1 geni LRMC analizi sonuçları.	18
4.2. SESN-1 gen ifadesinin azalması ve aşırı gen ifadesi durumuna göre sağkalım eğrileri.	19
4.3. LAMA-4 geni LRMC analizi sonuçları.	21
4.4. MDK geni LRMC analizi sonuçları.	22
4.5. MDK gen ifadesinin azalması ve aşırı gen ifadesi durumuna göre sağkalım eğrileri.	23
4.6. Fibulin-3 geni LRMC analizi sonuçları.	24
4.7. Fibulin-3 gen ifadesinin azalması ve aşırı gen ifadesi durumuna göre sağkalım eğrileri.	25
4.8. SOC-1 geni LRMC analizi sonuçları.	27
4.9. SOC-1 gen ifadesinin azalması ve aşırı gen ifadesi durumuna göre sağkalım eğrileri.	28
4.10. HAS-2 geni LRMC analizi sonuçları.	29
4.11. HAS-2 gen ifadesinin azalması ve aşırı gen ifadesi durumuna göre sağkalım eğrileri.	30

TABLolar

	Sayfa
3.1 cDNA sentez protokolü.	11
3.2. cDNA sentez bileşenleri.	12
3.3. Çalışmada kullanılan genlerin dizi bilgileri.	13
3.4. Enzimatik basamakların özellikleri.	14
3.5. Karışım solüsyonları hacimleri.	14
4.1. Hastaların sosyo-demografik özellikleri.	16
4.2. Çalışma grubunda hastaların tanı, tedavi ve sağkalım özellikleri.	17
4.3. MPM'li hastalarda SESN-1 gen ifadesinin azalması ve aşırı gen ifadesi durumuna göre ortanca sağkalım süresi, standard hata ve %95 güven aralık değerleri.	19
4.4. MPM'li hastalarda SESN-1 gen ifadesinin azalması ve aşırı gen ifadesi durumuna göre sağkalım üzerine etkisini gösteren Cox regresyon analizi sonuçları.	20
4.5. MPM'li hastalarda MDK gen ifadesinin azalması ve aşırı gen ifadesi durumuna göre ortanca sağkalım süresi, standard hata ve %95 güven aralık değerleri.	22
4.6. MPM'li hastalarda MDK gen ifadesinin azalması ve aşırı gen ifadesi durumuna göre sağkalım üzerine etkisini gösteren Cox regresyon analizi sonuçları.	24
4.7. MPM'li hastalarda Fibulin-3 gen ifadesinin azalması ve aşırı gen ifadesi durumuna göre ortanca sağkalım süresi, standard hata ve %95 güven aralık değerleri.	25
4.8. MPM'li hastalarda Fibulin-3 gen ifadesinin azalması ve aşırı gen ifadesi durumuna göre sağkalım üzerine etkisini gösteren Cox regresyon	26

analizi sonuçları.	
4.9. MPM'li hastalarda SOC-1 gen ifadesinin azalması ve aşırı gen ifadesi durumuna göre ortanca sağkalım süresi, standard hata ve %95 güven aralık değerleri.	27
4.10. MPM'li hastalarda SOC-1 gen ifadesinin azalması ve aşırı gen ifadesi durumuna göre sağkalım üzerine etkisini gösteren Cox regresyon analizi sonuçları.	29
4.11. MPM'li hastalarda HAS-2 gen ifadesinin azalması ve aşırı gen ifadesi durumuna göre ortanca sağkalım süresi, standard hata ve %95 güven aralık değerleri.	30
4.12. MPM'li hastalarda HAS-2 gen ifadesinin azalması ve aşırı gen ifadesi durumuna göre sağkalım üzerine etkisini gösteren Cox regresyon analizi sonuçları.	31
4.13. MPM'li hastaların çoklu analiz sonuçları.	32
4.14. Epiteloid tip MPM' li hastalarda çoklu analiz sonuçları.	33

1. GİRİŞ

Mezotelyoma, plevra, periton ve perikardı döşeyen mezotel hücre örtüsünün (mezotelyum) primer malign tümördür (1, 2).

Mezotelyoma, toplumda nadir görülmekle birlikte, son zamanlarda gelişmiş ülkelerde oldukça önemli bir kanser nedeni olarak görülmeye başlanmıştır (3). Avustralya ve gelişmiş Batı ülkelerinde erkek cinsiyet için görülme sıklığı karaciğer, safra kesesi, kemik kanserleri sıklığına ulaşmıştır. Önümüzdeki 2-3 dekatta bu sıklığın daha da artması beklenmektedir (4). Bugün için küresel bir mezotelyoma endemisinden bahsetmek mümkündür (5).

Öte yandan etyolojisindeki özgün endüstriyel ilişkinin yol açtığı tıbbi ve hukuksal sorunlar nedeniyle, mezotelyoma görülme sıklığının yol açacağı sorunların üstesinde bir popüler hastalık halinde algılanmaktadır. Gelişmiş ülkelerde önümüzdeki yıllarda görülme sıklığının en üst düzeye çıkması beklenmekte, önümüzdeki 30 yıl boyunca sadece gelişmiş olan ülkelerde 300,000 üstünde ölüme neden olacağı hesaplanmaktadır (6, 7). Endüstrileşmekte olan ülkelerde ise asbestin endüstriyel kullanımı devam ettiği için mezotelyoma sorunun artarak devam etmesi beklenmektedir (8). Artan olgu sayısı ve ekonomik yük, mezotelyoma tedavisi yönündeki çabaların son yıllarda önemli biçimde yoğunlaşmasını sağlamıştır.

Ülkemizde 2008-2012 yılları arasında yapılan Türkiye Asbest Kontrolü Stratejik Planı çalışmalarında mezotelyoma insidensi 1.6/100,000 kişi-yıl olarak hesaplanmıştır (9). Ülkemizde mezotelyoma için etyolojik ilişki azalmış olmasına karşın, bu azalmanın 1980'li yıllardan sonra olması nedeniyle halen yüksek sayıda olgu görmeye devam edilmektedir. Bu seyirin 2030'lu yıllara kadar sürmesi, bu dönemde de 18,000 civarında olgu ile karşılaşılması beklenilmektedir (9).

Mezotelyoma'lı hastaların prognozu genel olarak iyi değildir, yaşam süresi 6-17 ay arasında, ortalama 12 ay civarında veya altında verilmektedir (10-12). Ancak kemoterapiye cevap veren bir grup hastada ve multimodal tedavi ile tedavi edilebilen erken dönem hastalarda ortanca yaşam süresi uzamakta, beş yıllık sağkalım oranları artmaktadır (13-16). Bu noktada prognoz tayini mezotelyoma hastaları için önem

kazanmaktadır. Çünkü mezotelyoma hastalarında prognoz hem hastanın geleceğine ait beklentinin tayin edilmesi, hem de en uygun tedavi seçeneklerinin belirlenerek uygulanması için önemlidir. Prognoz tayini hekimin tedavi stratejileri konusunda en uygun değerlendirmeler yapabilmesine imkan verir, böylece hastaların tedavi kararı hakkındaki tercihlerine yardım eder, hasta ve yakınlarına gelecek için doğru bilgiler verir.

Mezotelyoma'nın genel kabul görmüş tedavi seçenekleri henüz geliştirilememiştir (10-12, 17, 18). Bu noktada bugün için prognoz değerlendirilmesi ile ilgili kesin veriler de yoktur. Halbuki, yukarıda da değinildiği gibi prognoz değerlendirmesi hastalığın yönetimi için çok önemlidir.

Mezotelyoma hastalarında prognoza özgü gen ifade profillerinin tanımlanabilmesi sayesinde, tedavi sonuçlarının önceden kestirilebilmesi hedeflenmektedir. Ancak mevcut bilgilerimize göre mezotelyoma hastalığında prognozu belirleyebilecek belirteçler henüz yoktur. Böyle belirteçlerin geliştirilmesi sadece kesin tanı için değil tedavi protokolünü düzenlemek amacıyla daha az invaziv yöntemlerle elde edilen klinik örneklerin yol göstericiliğinden faydalanmaktadır. Son zamanlarda araştırmalar MPM ayrımı, tanı ve prognozunda daha az invaziv biyobelirteçlerin değerlendirilmesine odaklanılmıştır.

Bu çalışmada mezotelyoma tanılı hastalardan elde edilen tümör dokularında, anabilim dalımız ve araştırma merkezimizde daha önce prognoz ile ilişkisi tespit edilen *midkine* (MKN) (19), *syndecan-1* (SOC-1) (20) ve *hyaluronan synthase-2* (HAS-2) (21); literatürden seçilen *fibulin-3* (22); ayrıca *Unsupervised Survival Analysis Tool* (USAT) (23) ile belirlenen *sestrin-1* (SESN-1) ve *laminin subunit alpha-4* (LAMA-4)'ün gen ifadelerinin incelenmesi ve saptanacak gen ifade profillerinin prognoz biyobelirteci olarak kullanılabilirliklerinin araştırılması amaçlanmaktadır. Gen seçiminin yukarıda belirtildiği şekilde yapılmasının temel gerekçesi yeni biyobelirteç bulma ve etkinliğinin teyid edilmesi amacıyla.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Tanım

Plevranın primer tümörleri; ortaya çıkış, klinik seyir histopatolojik ve prognostik özelliklere göre "mezotelyoma" başlığı altında iki ana gruba ayrılarak sınıflandırılır: "malign mezotelyoma", "fibröz mezotelyoma" (plevranın soliter fibröz tümörü). Fibröz mezotelyoma, tüm mezotelyoma olgularının yaklaşık %10'undan, malign mezotelyoma ise olguların büyük kısmından sorumludur (24-26).

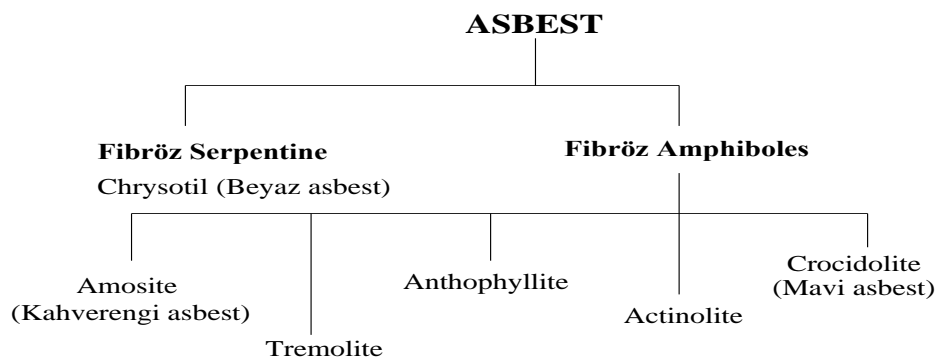
Malign mezotelyoma, mezotelyal örtünün bulunduğu plevra, perikard, periton ve tunika vajinalisten köken alır ve genel olarak plevrada yaygın tutulum yapan bir seyir izler, bu nedenle malign plevral mezotelyoma (MPM) olarak adlandırılır.

2.2 Etyoloji

MPM etyolojisinde iyi bilinen ikisi de mineral lif olan asbest ve erionite ile temastır (27, 28). Simian Virus-40 (SV-40) ve radyoterapinin de etyolojide yer aldığı düşünülmektedir.

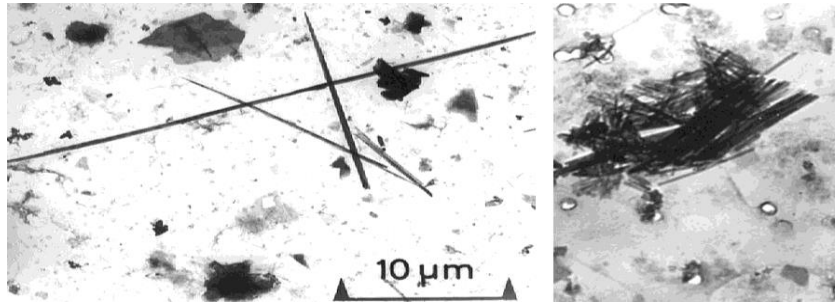
2.2.1. Asbest Teması

MPM'li olguların % 70-90'ında asbest teması olduğu bildirilmektedir (27, 28). Asbest, serpentine ve amfiboles olarak iki gruba ayrılır (Şekil 2.1).



Şekil 2.1. Asbest lif tipleri (29).

Asbest liflerinin fiziksel yapısının karsinojeniteye neden olduğu düşünülmektedir; boy en oranı 3.1 den fazla olan liflerin karsinojenik olduğu gösterilmiştir. Liflerin boy en oranı arttıkça karsinojenitesi artar, ince uzun lifler daha güçlü karsinojendir (30).



Şekil 2.2. Solda tremolite tip, sağda chrysotil tip asbest lifleri (9).

Ülkelerin asbest temas şekli endüstriyel gelişmişlikleri ile ilgilidir. Gelişmiş ülkelerde temasın asıl kaynağı mesleksi maruziyet nedeniyledir. Gemi tamiri, otomotiv sektörü, inşaat yıkımı, izolasyon, kayıt dışı çalışan küçük sanayi alanlarında asbest temasının hala olduğu bilinmektedir.

MPM’de hastalığın cins ve yaş dağılışı, latent süre, temas süresi, temas dozu, eşik değer gibi epidemiyolojik özellikleri temas şekli ile yakından ilişkilidir.

Kırsal alan yaşayanları, asbestli toprağın ısı ve su yalıtımı özellikleri nedeni “ak toprak” gibi özel isimlerle adlandırdıkları bu toprağı, evlerin çatılarında örtü, duvarlarında sıva-badana amacıyla yaygın olarak kullanmışlardır. Bu asbestli toprağın kullanımını yakın yıllarda azalmakla birlikte hala devam etmekte olan köylerimiz vardır (9).

2.2.2. Erionite Teması

MPM’ye neden olduğu bilinen çevresel kaynaklı diğer lifsi mineral olan erionite’dir. Ürgüp civarında bazı köylerin yakınında taş-kaya tabakalarında doğal olarak bulunur. Yöre köylüleri tarafından Akkuşak taşı olarak adlandırılan bu taş,

yalıtım amaçlı evlerin duvarlarının yapımında kullanılmıştır. Erionite'nin yüksek riskte kanserojen olduğu ve yüksek MPM riski yaptığı ülkemizdeki bir çalışmada da saptanmıştır (31).

2.2.3. SV-40

Avrupa ve Amerika Birleşik Devletleri'nde yaygın kullanılan bir polio aşısı olan "Salk Aşısı", bu ülkelerde çok sayıda insanın SV-40 ile kontaminasyonunun en önemli nedenidir. Bu aşının kullanılmadığı ülkemizde yapılan çalışmada SV-40 antijeni gösterilememiştir (32). Doku ve hayvan modellerinde yapılan bir çalışmada, SV-40 plevral yüzeye enjekte edilen hayvanlarda altı ayda MPM gelişmiştir (33).

2.2.4. Diğer Nedenler

Radyoterapi uygulanmış olgularda radyoterapi sahasında ya da komşu alanlarda 7 ile 36 yıl sonra MPM gelişimi bildirilmiştir (34, 35). Geçmişte tüberküloz tedavisi amacıyla uygulanan yapay pnömotoraksa ve kalsifik plevral tüberküloza sekonder bildirilmiş olgular da bulunmaktadır (36). Etyolojide yer aldığı düşünülen bir diğer neden olan genetik yatkınlık patogeneze bölümünde ele alınacaktır.

2.3. Epidemiyoloji

MPM son 20-30 yılda gelişmiş ülkelerde önemli bir kanser türü olarak görülmeye başlanmıştır (3, 37). MPM riskinin, asbest ile teması olmayan bir popülasyon için 2.2-4/1,000 000 kişi-yıl arasında olduğu bildirilmektedir (38). Asbest teması olsun olmasın, tüm dünya için belirlenen ortalama yıllık MPM riski erkekler için 1.3/100,000 kişi-yıl, kadınlar için 0.2/100,000 kişi-yıl olarak bildirilmiştir (6, 38). Erkeklerde insidansın daha yüksek olması mesleki ilişki nedeniyledir.

Endüstrileşmiş ülkelerde MPM riski, yirminci yüzyılın büyük kısmında asbestin yaygın kullanımı nedeniyledir. Ülkenin asbestle ilgili üretim ve kullanım derecesine göre artar. Avustralya'da ortalama yıllık MPM insidans hızı normal popülasyonda erkekler için 6.6/100,000 kişi-yıl, kadınlar için 0.7/100,000 kişi-yıldır (39). Ancak asbest ile doğrudan temas eden işçilerden oluşmuş kohortlarda bu değerler daha yüksektir; 19–122.4/100,000 kişi-yıl (6, 40).

Gelişmekte olan ülkelerde ise asbest teması, sanayinin gelişimine bağlı olarak hızla artmaktadır. Kayıt altına alınmayan olgular gelişmekte olan ülkeler için en önemli sorundur. Kümülatif asbest kullanımı ve hastalık insidans hızı arasında ilişkiye dayanarak yapılan bir çalışmada hastalık yükünü Rusya, Kazakistan, Çin, Hindistan ve Tayland için 2008 yılına kadar 15 yıl içinde 39,000 olgu olarak düşünülmüştür (41).

Ülkemizde 2008-2012 yılları arasında yapılan Türkiye Asbest Kontrolü Stratejik Planı çalışmalarında mezotelyoma insidensi 1.6/100,000 kişi-yıl olarak hesaplanmıştır (9). Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) tarafından kabul gören İzmir Kanser Kayıt Merkezi (KIDEM)'in belirlemelerine göre Ege Bölgemizde ortalama yıllık MPM insidens hızı erkekler için 0.7/100,000 kişi-yıl, kadınlar için 0.3/100,000 kişi-yıldır (42). Çevresel temasın yoğun olduğu Eskişehir çevresindeki köylerde yapılan bir kohort çalışmasında, ortalama yıllık MPM insidens hızı erkekler için 114.8/100,000 kişi-yıl, kadınlar için 159.8/100,000 kişi-yıl olarak belirlenmiştir (43). Konu ile ilgili en popüler bölge olan Karain köyünde, bir çalışmada ortalama yıllık MPM insidens hızı erkeklerde 298.1/100,000 kişi-yıl, kadınlarda 400.9/100,000 kişi-yıl olarak bulunmuştur; bu değerlerin dünyada belirlenen en yüksek MPM insidens değerleridir (44).

2.3.1. Gelecekteki Epidemiyolojik Öngörüler

MPM gelişimi için mesleksel temasta latent sürenin 20-30 yıl olması nedeni, endüstrileşmiş ülkelerde mezotelyoma insidansının 2020–2030 yıllarında en üst değere ulaşır, sonra yavaş yavaş azalması, 2050'den sonra genel insidense yaklaşması beklenmektedir (7, 27, 45).

Endüstrileşmekte olan ülkelerde ise asbest kullanımı devam ettiği için durum farklıdır. Bu ülkelerde, chrysotile tip asbestin kullanımına halen devam edilmektedir. Bu ilişki nedeniyle bu ülkelerde artan bir MPM sorunu gözlenmektedir (8).

Türkiye kırsal alanında asbest teması detaylarını araştıran Türkiye Asbest Kontrolü Stratejik Planı çalışmalarında halen yaşayan ve asbest ile riskli süre temas etmiş olan kişilerde gelecek 20 yılda ortaya çıkacak mezotelyoma olgu sayısı hesaplamaları söz konusu 571,460 kişilik popülasyonda yapılmış, 2013–2033 yılları

boyunca gelişecek mezotelyomalı olgu sayısı 15,450 olarak hesaplanmıştır. Asbest ile temasa devam edecek olan 158,068 kişilik popülasyon içinden önümüzdeki 2013-2033 yılları boyunca ortaya çıkacak mezotelyoma olgu sayısı ise 2,511 olarak hesaplanmıştır (9). Ülkemizde MPM insidansının bu yıllarda en yüksek seviyede olacağı, 2040'lı yıllarda da genel popülasyon düzeyine inmesi beklenebilir. Ancak ülkemizde mesleki asbest teması konusunda veri yetersizdir. 2010 yılı öncesi ithal edilmiş asbest yükünün halen dolaşımında olması nedeniyle önemli oranda bir mesleki sorun olduğu da dikkate alınmalıdır.

2.4. Patogenez

MPM patogenezinde kromozomal değişikliklerin, dna metilasyonu ve histon asetilasyonu gibi epigenetik değişikliklerin varlığı bilinmektedir. Asbest ve erionit mezotel hücresinde oksidatif stresi artırarak, hücre düzeyinde inflamasyon, apoptozis, epigenetik değişikliklere değişikliklere neden olurken diğer yandan hücrede bazı zararlı mutasyonlara yol açarak MPM gelişimine yol açmaktadır.

2.4.1.Asbest

Asbest lifleri pulmoner sisteme girdikten sonra makrofajlar tarafından fagosite edilmeye çalışılırlar, ancak fiziksel yapıları nedeniyle fagositoz tam mümkün olmaz. Ortama enzimler, tümör nekrozis faktör-alfa (TNF- α) ve IL-1 β gibi sitokinler ve superoksid radikalleri çıkar, böylece asbest lifleri hem mutajenik hem de fibrojenik aktiviteyi başlatabilirler (46, 47). Bundan başka, asbest mezotel hücrelerinde nekrotik hücre ölümüne neden olmakta (48), bu da ekstrasellüler alana high-mobility group protein B1 (HMGB1) salınımına yol açarak, kronik inflamatuvar bir cevap oluşturmaktadır. Asbeste bağlı DNA zincir kırıkları ve delesyonları, hem doğrudan fiziksel etkileşimle, hem de kronik inflamasyona sekonder gelişmektedir.

2.4.2. SV-40

SV-40'ın direkt DNA hasarı ve/veya büyük T antijen bağımlı tümör supresor gen aktive etmesiyle MPM gelişimine katkı sağladığı düşünülmektedir. Az sayıdaki olguda da asbestle ilişkisi olmaksızın malign transformasyonla MPM oluşturabileceği bildirilmiştir (49).

2.4.3. Genetik Yatkınlık ve Gen Mutasyonları

Genetik yatkınlık ile en çok ilişkili bulunan gen halen BRCA1 ilişkili protein-1 (BAP1) genidir (50). MPM'da mutasyonlar daha çok tümör baskılayıcı genlerde görülmektedir ve tümör baskılayıcı genlerin sessizleşmesi, kontrol ettikleri büyümeyi, proliferasyonunu uyaran hücre içi sinyal ileti yollarının kontrolsüz şekilde aktive olmasına neden olmaktadır. Mutasyona uğrayan başlıca genler; siklin bağımlı kinaz inhibitör 2A/*Alternatif reading frame* (CDKN2A/ARF), norofibromatozis tip 2, BAP 1 ve yakın zamanda bildirilen telomeraz reverse transkriptaz'dır (50-52).

MPM'lı hastalarda semptomlar, tümör gelişim seyri, toraksın ve plevral alanın yapısı nedeniyle erken dönemde siliktir. Hastalık, ilerledikçe tümörün plevraya yayılması ve sıvı oluşması nedeniyle yakınmalar belirginleşmeye başlar. Yakınmaların başlaması ile tanıya kadar geçen süre ortalama 3-6 aydır (53, 54). Fizik muayene bulguları tümörün toraks içi gelişimi, lokalizasyonu ve/veya sıvının varlığına bağlı olarak ortaya çıkmaktadır (53, 54). MPM'ye bağlı bazı radyolojik bulguları güçlü bir şekilde gösterebilir, ancak hastalığın erken dönemlerinde radyografinin diğer plevral hastalıklara göre MPM için duyarlılığı ve özgüllüğü düşüktür (55). Hastalığın erken tanısındaki güçlükler ve agresif seyri nedenli prognoz tayini oldukça önem taşımaktadır.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1 Materyal

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Göğüs Hastalıkları ve Tüberküloz Anabilim Dalı'nda MPM ön tanısıyla ileri tetkik edilen, tümöral doku örnekleri elde edilebilen, MPM tanısıyla kemoterapi tedavisi ile izlenen 54 hasta çalışmaya dahil edildi.

Çalışmaya dahil edilme kriterleri aşağıdaki şekilde belirlendi;

- 20 yaşından büyük olmak,
- Hastanın MPM patoloji tanısı olması,
- Hastanın sadece kemoterapi tedavisi almış olması,
- Hastanın tedavi izleminin tam yapılmış olması,
- Hastanın onamının alınmış olması.

Tedavi amaçlı cerrahi işlem uygulanan hastalar çalışmaya alınmadı.

Çalışmaya MPM kesin tanıli hastalar alındı. Hastaların kesin tanıları Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'nda plevra biyopsisi örneklerinin immüno/histopatolojik incelemesi ile konuldu. Tanı sürecinde hasta anamnezi, klinik ve radyolojik bulgular da dikkate alındı.

Çalışmada kullanılan doku örnekleri Abrams, kesici iğne (Tru-cut) biyopsi iğneleriyle ya da medikal torakoskopi işlemiyle elde edilmiş ve Patoloji Bölümü tarafından tümör varlığı yönüyle doğrulanmıştı. Doku örnekleri -80 °C'de saklanmıştı.

Çalışmaya alınan 54 olgunun sosyo-epidemiolojik özellikleri belirlendi; yaş, cins, sigara kullanımı, asbest teması ve asbest temas süresi kaydedildi. Olguların asbest temas yerleri bölgesel çalışmalara göre tespit edilen köylerden teyid edildi. Hastaların ağrı, nefes darlığı, kilo kaybı şikayetleri olup olmadığı, tedavi öncesi hemogram, trombosit, lökosit, laktat dehidrogenaz (LDH) düzeyleri ve Karnofsky Performans Skoru (KPS)'si kaydedildi. Hastaların tanı, tedavi ve prognoz takip verilerinden; tanı tarihleri, histopatolojik olarak alt tipleri; epiteloid, sarkomatoid ve

bifazik (mikst), evreleri, hastalık tarafları, plevral sıvısının olup olmaması, tedaviye başlangıç tarihleri, aldıkları kemoterapi rejimlerinin isimleri ve kaç basamak kemoterapi aldıkları, tedaviye yanıtları, rekürrens tarihleri, hasta öldü ise ölüm tarihleri kaydedildi. Evrelerdirme için 8. TNM Sınıflaması kullanıldı (56-59).

Hastaların tedaviye başlangıcında “*Backman counter LH750*” cihazı ile hemogram, “*Roche modular*” cihazı ile biyokimya tetkikleri yapıldı.

Çalışma için Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulundan 29.01.2015 tarih 09 karar sayısı ve 80558721/69 sayı numarası ile onay alındı. Çalışmaya katılan kişilerin kimlikleri gizli tutulmaktadır. Çalışma Helsinki Bildirgesi ilkelerine uygun olarak tamamlanmıştır.

3.2. Metod

Tanı öncesinde elde edilen ve -80 °C’de saklanan 54 plevral doku örneği; anabilim dalımız ve araştırma merkezimizde daha önce prognoz ile ilişkisi tespit edilen MKN (19), SOC-1 (20), HAS-2 (21); literatürden seçilen Fibulin-3 (22); ayrıca USAT (Bkz 3.2.1) ile belirlenen SESN-1, LAMA-4 ve 2 *housekeeping* gen olmak üzere toplam 8 genin ifade profilleri belirlenmek üzere donmuş halde muhafaza edilerek DONE Genetik ve Biyoinformatik A.Ş. laboratuvarına gönderildi. Burada tüm örneklerin *Real Time PCR* (qPCR) sonrası *Crossing point* (Cp) değerleri elde edildi. Gen ifade değerlerinin hesaplanmasında göreceli ölçme yöntemi *Relative Quantification* (RQ) hesaplamaları kullanıldı. RQ değerlerinin hesaplanmasında $2^{(-\Delta\Delta Cp)}$ formülü kullanıldı. Her gen için uygun kestirim değeri (*cut-off*) değerlerinin bulunabilmesi için *Log Rank multiple cut-off analysis* (LRMC) istatistik analizi kullanıldı. Gen ifade profili ve prognoz arasındaki ilişki açısından, öncelikle olası kestirim değeri belirlenebilen her gen ifade profili için hastalar iki gruba ayrıldı ve her değer için p değerleri tespit edildi. 10-90 persantil arasında 0.05’den düşük p değeri üreten anlamlı kabul edildi. Uygun kestirim değerleri baz alınarak her gen için Kaplan-Meier testi yapıldı. Ayrıca evre ve histopatolojiye göre düzeltmeler yapılarak her gen için Cox regresyon analizleri yapıldı.

3.2.1. USAT

USAT: Dr. Güre ve ekibinin geliştirdiği, mikrodizi verisetlerinde CoxPH, Maxstat ve Log-Rank testleri ile sağkalım analizi yapan R tabanlı bir programdır. İstatistiksel test ve gen ifade profillerinin kombinasyonu ile 12 farklı model oluşturularak yeni bağımsız biyobelirteçlerin belirlenmesinde kullanılmaktadır (23).

3.3. Biyolojik Analizler

Örnekler *Zirkonyum beadler* ile *Lysis* tamponu içerisinde parçalandıktan sonra “*Norgen Animal Tissue RNA Isolation Kit [#25700]*” kit protokolüne uygun olarak RNA izolasyonları tamamlanmıştır.

RNA örneklerinden cDNA dönüşümünü tamamlamak amacıyla ilk aşamada örneklerin her birinden 200 ng alınarak cDNA reaksiyonu için kullanılmıştır. cDNA reaksiyonları için “*Genedirex® GScript RTase*” kiti kullanılmıştır. cDNA sentez protokolü Tablo 3.1.’deki gibidir.

- 1) RNA ve tüm karışım solüsyonları buz üzerinde bekletilerek yavaşça çözülür ve kısa süre vorteks cihazı ile karıştırılır.
- 2) Buz üzerinde 200 µl reaksiyon tüplerinde aşağıdaki reaksiyon karışımı hazırlanır.

Tablo 3.1. cDNA sentez protokolü.

İçerik	Miktar
<i>Total RNA</i>	200 ng (10 ul)
<i>Random Primer (10 µM)</i>	1 µl
<i>dNTP mix ((10 µM each)</i>	1 µl
<i>Nuclease-free dH₂O</i>	1 µl

- 3) Karışım 65 °C 5 dakika ve buz üzerinde 1 dakika süre ile bekletilir. Kısa süreli santrifüj sonrasında Tablo 3.2’deki bileşenler eklenir.

Tablo 3.2. cDNA sentez bileşenleri.

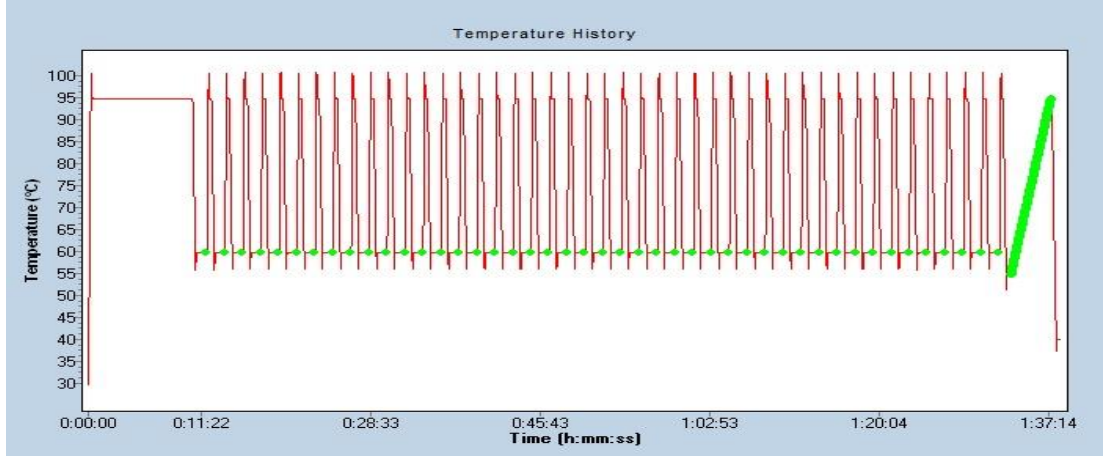
İçerik	Miktar
<i>5X RT Buffer</i>	4 µl
<i>0,1 M DTT</i>	1 ul
<i>RNaseOFF Ribonuclease Inhibitor (40 U/µl)</i>	1 µl
<i>GScript RTase(200 U/µl)</i>	1 µl

4) Tüpler 50 °C'de 50 dakika bekletilerek cDNA sentezlenir. 70 °C'de 15 dakika inkübasyon ile reaksiyon tamamlanır ve örnekler -20 °C'de bekletilir. 54 örneğin belirtilen genlerde ekspresyon seviyelerinin belirlenmesi amacıyla öncelikle primer uygunlukları belirlenerek qPCR reaksiyonuna hazır hale getirilmiştir. *Housekeeping* gen olarak G6PD ve TBP seçilmiştir. Primerler *exon-span* olarak dizayn edilmiştir, böylece genomik DNA kontaminasyonu engellenmiştir. Genlere ait dizi bilgileri Tablo 3.3.'deki gibidir.

Tablo 3.3. Çalışmada kullanılan genlerin dizi bilgileri.

Gen Adı	Primer Adı	Dizi (5'-3')	Ürün Boyu (bp)
SESN-1	QSESN1_F	TGCTTTGGGCCGTTTGGATAA	131
	QSESN1_R	TGTAGTGACGATAATGTAGGGGT	
LAMA-4	QLAMA4_F	CCCACTCGTCCTTCTCTCTC	86
	QLAMA4_R	AGTTTCCGAACTGACCTAGCC	
MDK	QMDK_F	CTTCCTCCTCCTCACCTCC	82
	QMDK_R	GCCGCCCTTCTTCACCTTAT	
Fibulin-3	QEFEMP1_F	GTCACAGGACACCGAAGAAAC	81
	QEFEMP1_R	TTGCATTGCTGTCTCACAGGA	
SOC-1	QSDC1_F	ACGGCTATTCCCACGTCTC	113
	QSDC1_R	TCTGGCAGGACTACAGCCTC	
HAS-2	QHAS2_F	TCCTGGATCTCATTCTCAGC	91
	QHAS2_R	TGCACTGAACACACCCAAAATA	
G6PD	QG6PD_F	AACATCGCCTGCGTTATCCTC	92
	QG6PD_R	ACGTCCCGGATGATCCCAA	
TBP	QTBP_F	GAGTTCTGGGATTGTACCGCA	160
	QTBP_R	CGTGGTTCGTGGCTCTCTT	

Çalışma kapsamında 54 adet örneğin belirtilen 8 farklı primer çiftleri ile ayrı ayrı amplifikasyonu gerçekleştirilmiştir. Çalışmalarda her reaksiyon duplike (çiftli) gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla *Roche LightCycler® 480 Real Time PCR* cihazı kullanılmıştır. 96'lık plate'ler ile yapılan çalışmada kullanılan sıcaklık profili Şekil 3.1.'deki gibidir. Enzimatik basamakların özellikleri Tablo 3.4.'deki gibidir.



Şekil 3.1 Isı-Zaman Grafiği.

Tablo 3.4. Enzimatik basamakların özellikleri.

Basamak	Sıcaklık	Süre	Döngü sayısı
Enzim Aktivasyonu	95°C	10 dakika	1
Denatürasyon	95°C	15 saniye	40
Bağlanma/Uzama	60°C	1 dakika	
<i>Melt Curve</i>	Cihaz Spesifik Protokol		

Real Time PCR aşamalarında “*ABM EvaGreen qPCR Mastermix-S*” kiti kullanılmıştır. Karışım solüsyon hacimleri Tablo 3.5’deki gibi eklenmiştir.

Tablo 3.5. Karışım solüsyonları hacimleri.

İçerik	Miktar
<i>EvaGreen 2X qPCR Mastermix</i>	10 µl
Primerler (10 µM)	0,6 µl <i>each</i>
cDNA	1 µl
<i>Nuclease-free dH₂O</i>	7,8 µl

qPCR sonuçları “*Roche Relative Quantification*” ile ön analize tabi tutulmuştur. Tüm örneklerin qPCR sonrası Cp değerleri elde edildikten sonra “*Excel*”

tablosunda listelenmiştir. Cp değeri, örneğin ilgili primer ile amplifikasyona başladığı ilk döngü sayısıdır. Erken amplifikasyona başlayan örneğin Cp değeri düşük, geç girenin ise yüksek olmaktadır. Karşılaştırmalı analizlerde, erken döngü sayısı olan gruplarda hedef genin daha fazla gen ifadesi olduğu, geç döngü sayısı olanlarda ise daha az gen ifadesi olduğu düşünülmektedir. Bu değerler, konsantrasyon değerleri ile ters orantılıdır. İlgili genlerin ifadesinin artması (*up regulasyon*) ‘aşırı gen ifadesi’, azalması (*down regulasyon*) ‘gen ifadesinin azalması’ olarak tanımlanmıştır.

3.4. İstatistiksel Değerlendirme

Sürekli değişkenler ortalama±standart sapma (SD), median, minimum-maksimum değerleri, kategorik değişkenler yüzde olarak ifade edildi. RQ değerlerinin hesaplanmasında $2^{(-\Delta\Delta Ct)}$ formülü kullanıldı. Delta Cp değeri gen Cp değerinden referans gen Cp değeri çıkarılarak hesaplandı. Referans gen Cp değeri *housekeeping* genlerin Cp geometrik ortalamaları olarak alındı. $\Delta\Delta Ct$ ise bulunan gen Cp değerinden referans Cp değeri çıkarılarak hesaplandı. Her gen için uygun kestirim değerlerinin bulunabilmesi için LRMC istatistik analizi kullanıldı. Öncelikle olası kestirim değeri olarak belirlenebilecek her gen ekspresyon değeri için hastalar iki gruba ayrıldı ve her değer için p değerleri tespit edildi. Her gen için $-\log_{10}(p)$ değerleri (y eksen) ve olası kestirim değerlerini (x eksen) içeren grafikler oluşturuldu. Grafiklerde ilk dikey çizgi 10 persentil değeri ikinci dikey çizgi medyan değeri, üçüncü dikey çizgi ise 90 persentil değerini ifade etmektedir. Ayrıca yatay çizgi ise anlamlılık sınırı olarak kabul edilen $p=0.05$ değerinin negatif logaritmik değerini (1.30) ifade etmektedir. Yatay çizginin üstünde ve 10-90 persentil dikey çizgilerinin arasında kalan değerler anlamlı olarak kabul edilerek optimal kestirim değerleri belirlendi. Uygun kestirim değerleri baz alınarak her gen için Kaplan-Meier testi yapıldı. Ayrıca evre ve histopatolojiye göre düzeltmeler yapılarak her gen için Cox regresyon analizleri yapıldı. Tüm karşılaştırmalarda $p<0.05$ düzeyi anlamlı kabul edildi. İstatistiksel analizler IBM SPSS Statist 20.0 programı kullanılarak yapıldı (IBM Corp., Armonk, NY).

4. BULGULAR

Çalışma grubu kemoterapi tedavisi ile izlenen 54 hastadan oluşmaktaydı. Hastaların sosyodemografik özellikleri Tablo 4.1’de yer almaktadır.

Tablo 4.1. Hastaların sosyo-demografik özellikleri.

Değişkenler	Toplam N=54
Yaş (yıl) x± SD (min-maks)	62.50±9.67 (36.0-82.0)
Cinsiyet Erkek, n (%) Kadın, n (%)	24 (44.4) 30 (55.6)
Aile öyküsü Yok, n (%) Var, n (%)	51 (94.4) 3 (5.6)
Sigara içme öyküsü Yok, n (%) Var, n (%)	34 (63.0) 20 (37.0)
Asbest teması Çevresel, n (%) Mesleksel, n (%)	50 (92.6) 4 (7.4)

SD: standard deviation.

Çalışmaya dahil edilen hastaların yaş ortalaması 62,50± 9,67 yıl idi. Hastaların 24’ü (%44.4) erkek, 30’u (%55.6) kadındı.

Hastaların tanı, tedavi ve sağkalım özellikleri Tablo 4.2’de gösterilmiştir.

Tablo 4.2. Çalışma grubunda hastaların tanı, tedavi ve sağkalım özellikleri.

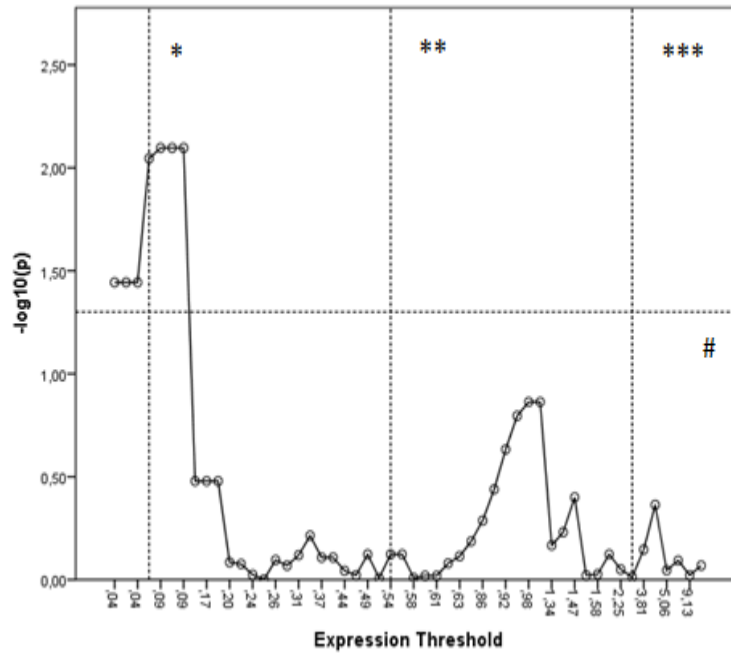
Değişkenler	Toplam N=54
Histopatoloji	
Epiteloid, n (%)	43 (79.6)
Sarkomatoid ve mikst, n (%)	11 (20.4)
Evre	
I-II, n (%)	10 (18.5)
III-IV, n (%)	44(81.5)
KPS	
$\bar{x} \pm SD$ (puan)	84,25 \pm 7,42
(min-maks)	(70,0- 100.0)
II. basamak tedavi	
Yok, n (%)	31 (57.4)
Var, n (%)	23 (42.6)
III. basamak tedavi	
Yok, n (%)	47 (87.0)
Var, n (%)	7 (13.0)
I. basamak kemoterapiye yanıt	
Kısmi veya tam cevap, n (%)	14 (25.9)
Durağan cevap, n (%)	21 (38.9)
İlerleyen cevap, n (%)	19 (35.2)
Sağkalım (ay)	
Ortanca süre (SE)	10,00 (1,18)
%95 GA	(7,69- 12,30)

KPS:Karnofsky performans skoru; SD: standart deviation; GA: Güvenlik aralığı

Hastaların 43'ü (%79.6) epiteloid tip olup, bu hücre tipi en sık alt tipi oluşturmaktaydı. Hastaların 44'ü (%81.5) evre III-IV idi. Hastaların ortalama KPS'si 84,25 \pm 7,42 idi.

Hastalara ilk basamak kemoterapi rejimi sonrası ilerleme olması durumunda hasta genel durumu uygunsa ikinci basamak kemoterapi rejimi verildi. Hastaların ortanca sağkalım süresi 10 ay idi.

Prognozla ilişkisi araştırılan genlerin ifade profilleri incelendiğinde SESN-1'in gen ifade profilinin sağkalım süreleri ile ilişkili olduğu saptandı. Yapılan analizlerde 0.09 (15p)'un en uygun kestirim değeri olduğu belirlendi, bu değer gen ifade profili ve prognoz arasındaki ilişki açısından hastaları iki gruba kategorize edilmesinde kullanıldı. SESN-1'in LRMC analiz sonuçları Şekil 4.1'de gösterilmektedir.

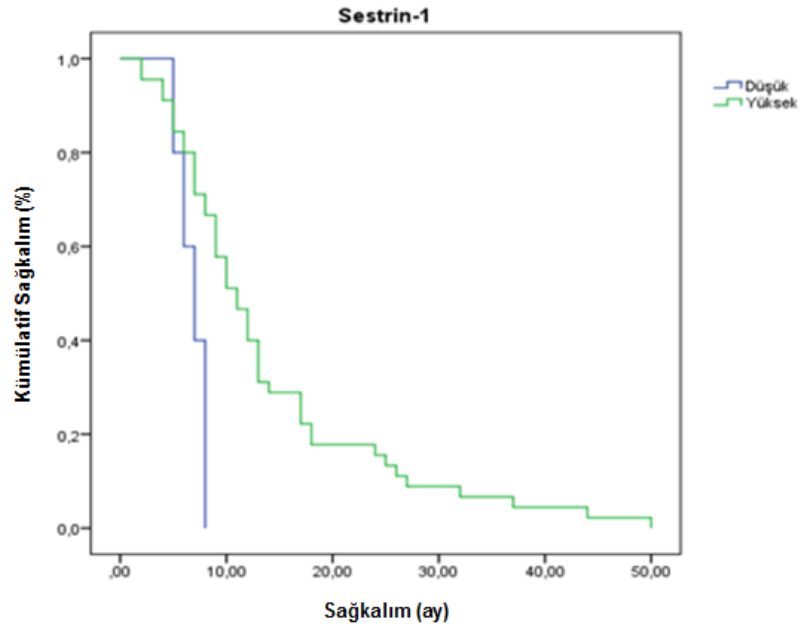


Şekil 4.1. SESN-1 geni LRMC analizi sonuçları.

(Kestirim değerlerinin * 10 persentil, ** medyan, *** 90 persentil, # $p=0.05$: $-\log_{10}p:1.30$ değerlerini ifade etmektedir. *Expression Threshold*: kestrim eşik değeri.)

Tablo 4.3. MPM'li hastalarda SESN-1 gen ifadesinin azalması ve aşırı gen ifadesi durumuna göre ortalama sağkalım süresi, standart hata ve %95 güven aralık değerleri.

SESN-1	Ortalama Sağkalım Süresi (ay)	Standart Hata	%95 GA
Düşük (<0.09)	7.00	1.09	4.85-9.14
Yüksek (\geq 0.09)	11.00	1.25	8.54-13.46
İstatistiksel karşılaştırma: Log rank $\chi^2=7.11$, $p=0.008$			



Şekil 4.2. SESN-1 gen ifadesinin azalması ve aşırı gen ifadesi durumuna göre sağkalım eğrileri.

SESN-1'in gen ifadesinin azalması ve aşırı gen ifadesi durumuna göre sağkalım analiz sonuçları Şekil 4.2'de gösterildi.

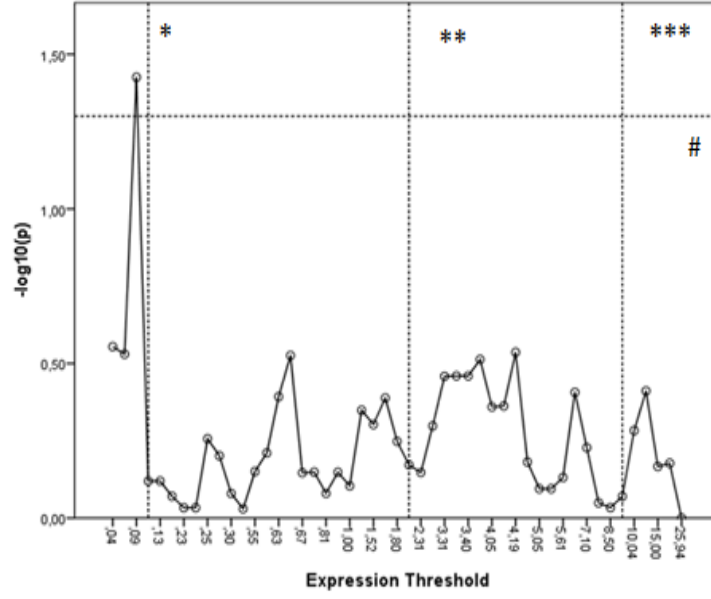
SESN-1 geni kestrim değerlerinin üzerinde olan hastalarda ortalama yaşam süresi 11 ay iken, kestrim değerinden daha düşük olanlarda ortalama yaşam süresi 7 aydı. SESN-1 geninin aşırı ifadesi olan hastalarda prognoz anlamlı olarak daha iyi idi (log rank $\chi^2=7.11$ $p=0.008$) (Tablo 4.3).

Evre, KPS ve histopatolojiye göre düzeltme yapılarak incelendiğinde SESN-1 geninin sağkalım üzerine etkisini gösteren modelde Hazard Ratio (%95 güven aralıkları) değeri 3.16 (1.13-8.85) olarak saptandı (p=0.028) (Tablo 4.4).

Tablo 4.4. MPM'li hastalarda SESN-1 gen ifadesinin azalması ve aşırı gen ifadesi durumuna göre sağkalım üzerine etkisini gösteren Cox regresyon analizi sonuçları.

Değişkenler	Hazard Ratio	%95 güven aralıkları	p değeri
Evre	1.69	1.08-2.64	0.022
Histopatoloji	3.51	1.62-7.60	0.001
KPS	0.24	0.08-0.73	0.012
SESN-1	3.16	1.13-8.85	0.028

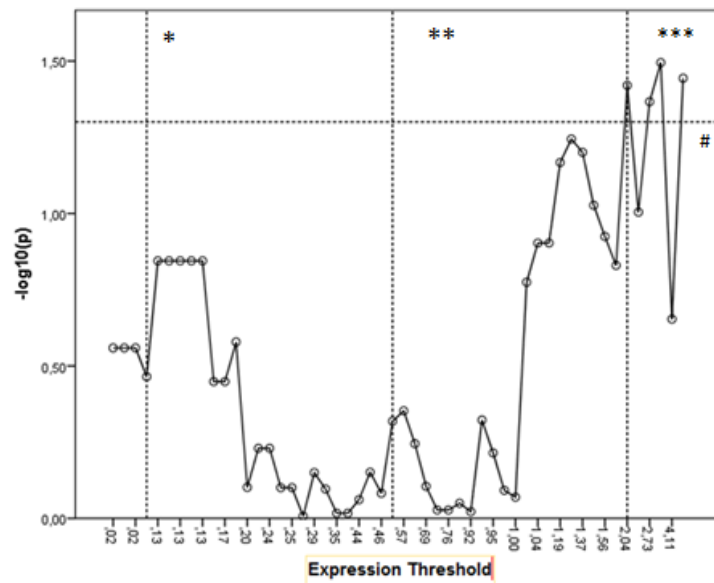
Prognozla ilişkisi araştırılan bir diğer gen olan LAMA-4'ün gen ifade profili incelendiğinde, LAMA-4'ün de sağkalım süreleri ile ilişkili olduğu saptandı. Yapılan analizler ile 0.09 (7.5p)'un en uygun kestirim değeri olduğu belirlendi, bu değer gen ifade profili ve prognoz arasındaki ilişki açısından hastaları iki gruba kategorize edilmesinde kullanıldı. Çalışmada yatay çizginin üstünde ve 10-90 persentil dikey çizgilerinin arasında kalan değerler anlamlı olarak kabul edilmesi ve LAMA-4'ün en uygun kestirim değerinin 0.09 (7.5p) olması nedeni, sağkalım süreleri ile ilişkisinin istatistiksel olarak anlamlı olmadığı belirlendi. LAMA-4'ün LRMC analiz sonuçları Şekil 4.3'de gösterildi.



Şekil 4.3. LAMA-4 geni LRMC analizi sonuçları.

(Kestirim değerlerinin * 10 persentil, ** medyan, *** 90 persentil, # $p=0.05:-\log_{10}p:1.30$ değerlerini ifade etmektedir. *Expression Threshold*: kestirim eşik değeri.)

Prognozla ilişkisi araştırılan bir diğer gen olan MDK'nın gen ifade profili incelendiğinde sağkalım süreleri ile ilişkili olduğu saptandı. Yapılan analizler ile 2.04 (90p)'ün en uygun kestirim değeri olduğu belirlendi, bu değer gen ifade profili ve prognoz arasındaki ilişki açısından hastaları iki gruba kategorize edilmesinde kullanıldı. MDK'nın LRMC analiz sonuçları Şekil 4.4'de gösterilmektedir.



Şekil 4.4. MDK geni LRMC analizi sonuçları.

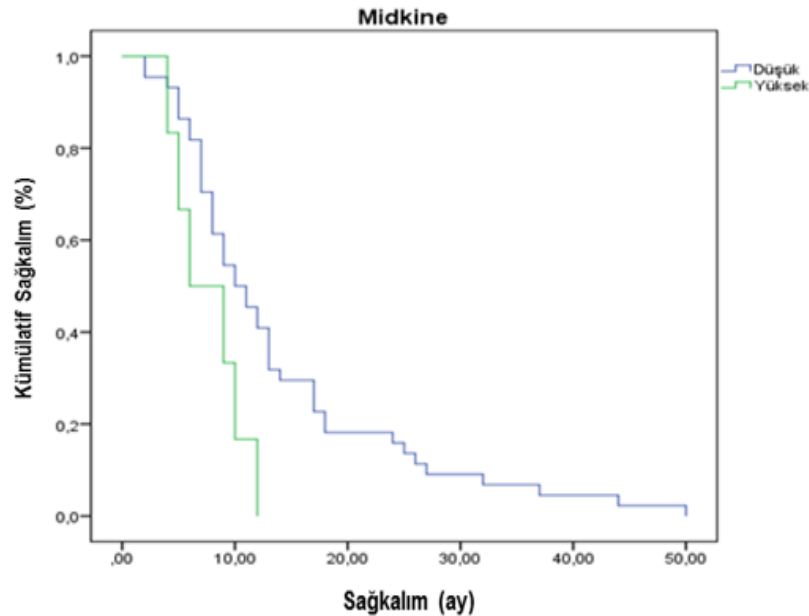
(Kestrim değerlerinin * 10 persentil, ** medyan, *** 90 persentil, # $p=0.05$:-log10p:1.30 değerlerini ifade etmektedir. *Expression Threshold*: kestrim eşik değeri.)

MDK geni kestrim değerlerinin üzerinde olan hastalarda ortalama yaşam süresi 6 ay iken, kestrim değerinden daha düşük olanlarda ortalama yaşam süresi 10 aydır. MDK geninin aşırı ifadesi olan hastalarda prognoz anlamlı olarak daha kötü idi (Log rank $\chi^2=4.32$; $p=0,038$) (Tablo 4.5).

Tablo 4.5. MPM'li hastalarda MDK gen ifadesinin azalması ve aşırı gen ifadesi durumuna göre ortalama sağkalım süresi, standart hata ve %95 güven aralık değerleri.

MDK	Ortalama Sağkalım Süresi (ay)	Standart Hata	%95 GA
Düşük (<2.04)	10.00	1.47	7.11-12.88
Yüksek (≥ 2.04)	6.00	2.44	1.19-10.80
İstatistiksel karşılaştırma: Log rank $\chi^2=4.32$, $p=0.038$			

MDK'nın gen ifadesinin azalması ve aşırı gen ifadesi durumuna göre sağkalım analiz sonuçları Şekil 4.5'de gösterilmektedir.



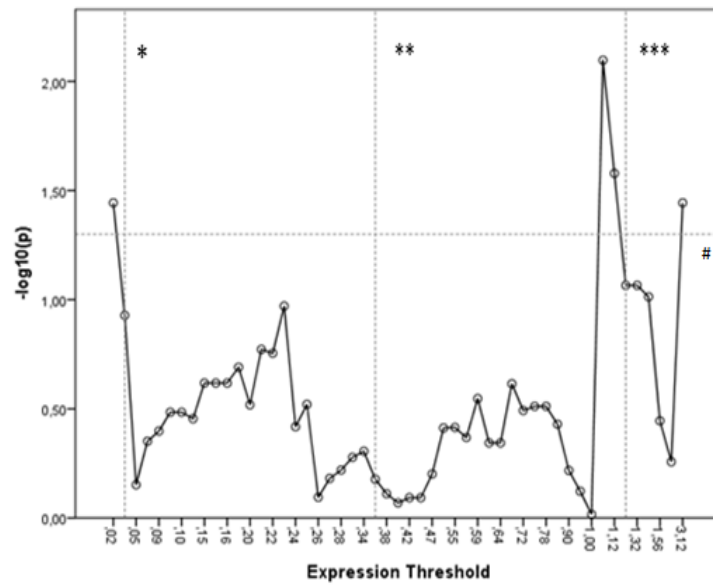
Şekil 4.5. MDK gen ifadesinin azalması ve aşırı gen ifadesi durumuna göre sağkalım eğrileri.

Evre, KPS ve histopatolojiye göre düzeltme yapılarak incelendiğinde MDK geninin sağkalım üzerine etkisini gösteren modelde Hazard Ratio (%95 güven aralıkları) değeri 0.39 (0.16-0.97) olarak saptandı ($p=0.041$) (Tablo 4.6).

Prognozla ilişkisi araştırılan bir diğer gen olan Fibulin-3'ün gen ifade profili incelendiğinde sağkalım süreleri ile ilişkili olduğu saptandı. Yapılan analizler ile 1.04 (87p)'ün en uygun kestirim değeri olduğu belirlendi, bu değer gen ifade profili ve prognoz arasındaki ilişki açısından hastaları iki gruba kategorize edilmesinde kullanıldı. Fibulin-3'ün LRMC analiz sonuçları Şekil 4.6'da gösterilmektedir.

Tablo 4.6. MPM'li hastalarda MDK gen ifadesinin azalması ve aşırı gen ifadesi durumuna göre sağkalım üzerine etkisini gösteren Cox regresyon analizi sonuçları.

Değişkenler	Hazard Ratio	%95 güven aralıkları	p değeri
Evre	1.86	1.17-2.94	0.008
Histopatoloji	3.57	1.62-7.85	0.002
KPS	0.23	0.07-0.72	0.012
MDK	0.39	0.16-0.97	0.041



Şekil 4.6. Fibulin-3 geni LRMC analizi sonuçları.
(Kestrim değerlerinin * 10 persentil, ** medyan, *** 90 persentil,
#p=0.05:-log10p: 1.30 değerlerini ifade etmektedir. *Expression Threshold*:
kestirim eşik değeri.)

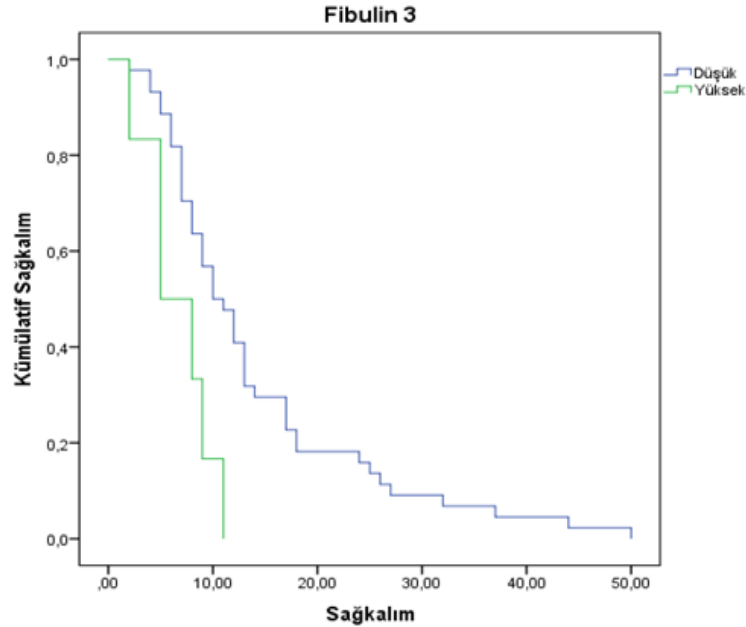
Fibulin-3 geni kestrim değerlerinin üzerinde olan hastalarda ortalama yaşam süresi 5 ay iken, kestrim değerinden daha düşük olanlarda ortalama yaşam süresi 10

aydı. Fibulin-3 geninin aşırı ifadesi olan hastalarda prognoz anlamlı olarak daha kötü idi (Log rank $\chi^2=6.98$; $p=0,008$) (Tablo 4.7).

Tablo 4.7. MPM'li hastalarda Fibulin-3 gen ifadesinin azalması ve aşırı gen ifadesi durumuna göre ortalama sağkalım süresi, standart hata ve %95 güven aralık değerleri.

Fibulin-3	Ortalama Sağkalım Süresi (ay)	Standart Hata	%95 GA
Düşük (<1.04)	10.00	1.41	7.21-12.78
Yüksek (≥ 1.04)	5.00	2.44	0.19-9.80
İstatistiksel karşılaştırma: Log rank $\chi^2=6.98$, $p=0.008$			

Fibulin-3'ün gen ifadesinin azalması ve aşırı gen ifadesi durumuna göre sağkalım analiz sonuçları Şekil 4.7'de gösterilmektedir.



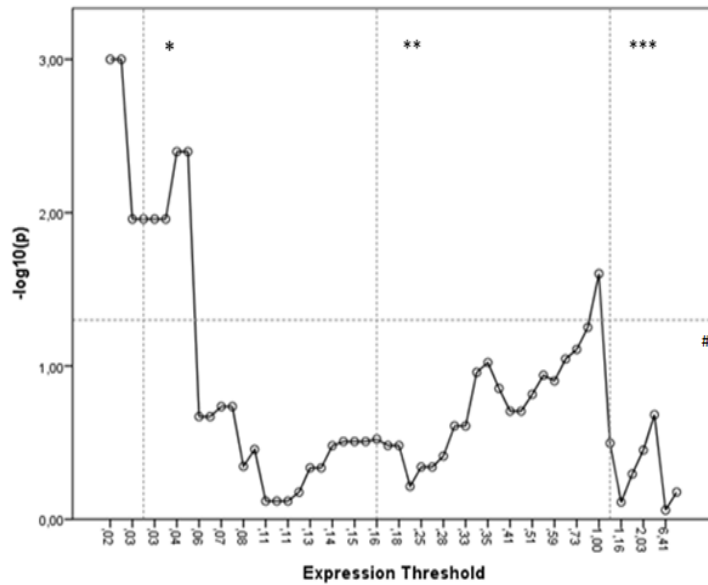
Şekil 4.7. Fibulin-3 gen ifadesinin azalması ve aşırı gen ifadesi durumuna göre sağkalım eğrileri.

Evre, KPS ve histopatolojiye göre düzeltme yapılarak incelendiğinde Fibulin-3 geninin sağkalım üzerine etkisini gösteren modelde Hazard Ratio (%95 güven aralıkları değeri) 0.78 (0.25-2.38) olarak saptandı (p=0.657) ve anlamlı kabul edilmedi (Tablo 4.8).

Tablo 4.8. MPM'li hastalarda Fibulin-3 gen ifadesinin azalması ve aşırı gen ifadesi durumuna göre sağkalım üzerine etkisini gösteren Cox regresyon analizi sonuçları.

Değişkenler	Hazard Ratio	%95 güven aralıkları	p değeri
Evre	1.69	1.07-2.68	0.025
Histopatoloji	3.11	1.21-8.02	0.019
KPS	0.28	0.09-0.85	0.024
Fibulin-3	0.78	0.25-2.38	0.657

Prognozla ilişkisi araştırılan bir diğer gen olan SOC-1'in gen ifade profili incelendiğinde sağkalım süreleri ile ilişkili olduğu saptandı. Yapılan analizler ile 0.04 (16.7p)'ün en uygun kestirim değeri olduğu belirlendi, bu değer gen ifade profili ve prognoz arasındaki ilişki açısından hastaları iki gruba kategorize edilmesinde kullanıldı. SOC-1'in LRMC analiz sonuçları Şekil 4.8'de gösterilmektedir.



Şekil 4.8. SOC-1 geni LRM analiz sonuçları.

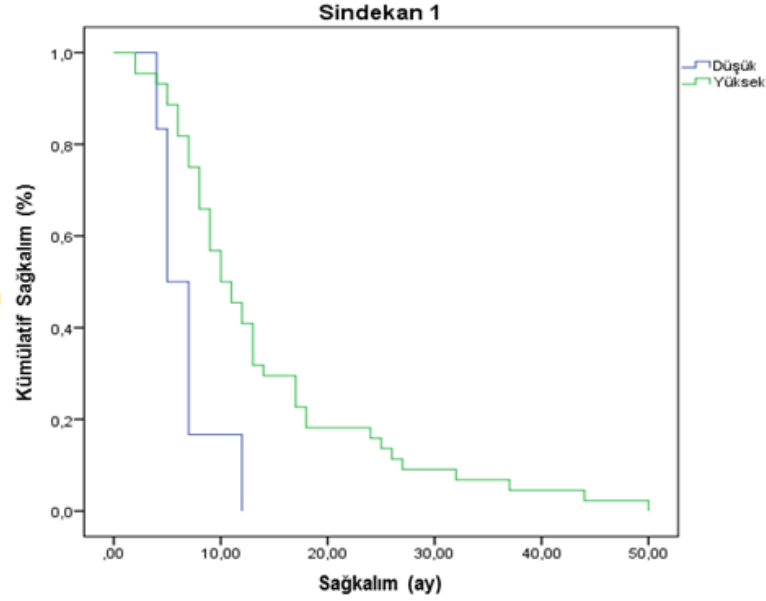
(Kestrim değerlerinin * 10 persentil, ** medyan, *** 90 persentil, # $p=0.05$:- $\log_{10}p:1.30$ değerlerini ifade etmektedir. *Expression Threshold*: kestrim eşik değeri.)

SOC-1 geni kestrim değerlerinin üzerinde olan hastalarda ortalama yaşam süresi 10 ay iken, kestrim değerinden daha düşük olanlarda ortalama yaşam süresi 5 aydır. SOC-1 geninin aşırı ifadesi olan hastalarda prognoz anlamlı olarak daha iyi idi (Log rank $\chi^2=8.30$; $p=0,004$) (Tablo 4.9).

Tablo 4.9. MPM'li hastalarda SOC-1 gen ifadesinin azalması ve aşırı gen ifadesi durumuna göre ortalama sağkalım süresi, standart hata ve %95 güven aralık değerleri.

SOC-1	Ortalama Sağkalım Süresi (ay)	Standart Hata	%95 GA
Düşük (<0.04)	5.00	.91	3.20-6.80
Yüksek (≥ 0.04)	10.00	1.42	7.21-12.78
İstatistiksel karşılaştırma: Log rank $\chi^2=8.30$, $p=0.004$			

SOC-1'in gen ifadesinin azalması ve aşırı gen ifadesi durumuna göre sağkalım analiz sonuçları Şekil 4.9'da gösterildi.



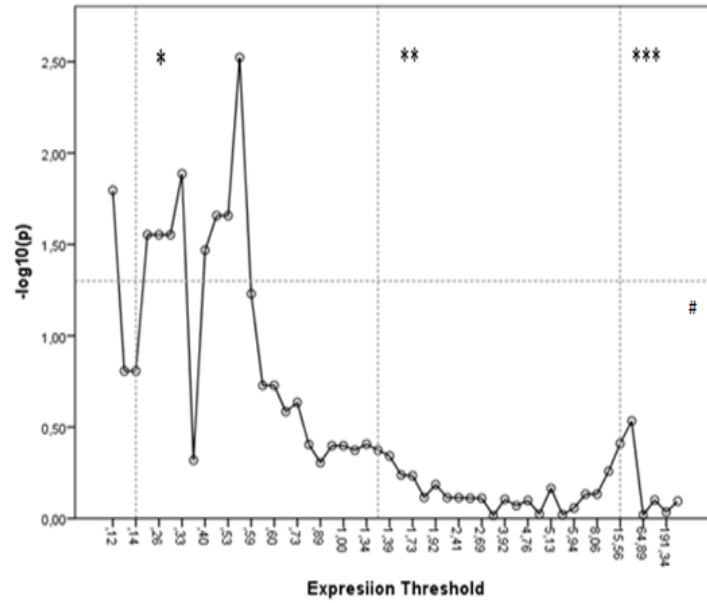
Şekil 4.9. SOC-1 gen ifadesinin azalması ve aşırı gen ifadesi durumuna göre sağkalım eğrileri.

Evre, KPS ve histopatolojiye göre düzeltme yapılarak incelendiğinde SOC-1 geninin sağkalım üzerine etkisini gösteren modelde Hazard Ratio (%95 güven aralıkları değeri) 3.18 (1.25-8.07) olarak saptandı ($p=0.015$) (Tablo 4.10). Ancak çoklu analizde Hazard Ratio (%95 güven aralıkları değeri) 2.72 (0.95-7.75) olarak saptandı ($p=0.062$) ve anlamlı kabul edilmedi.

Prognozla ilişkisi araştırılan bir diğer gen olan HAS-2'nin gen ifade profili incelendiğinde sağkalım süreleri ile ilişkili olduğu saptandı. Yapılan analizler ile 0.55 (25p)'in en uygun kestirim değeri olduğu belirlendi, bu değer gen ifade profili ve prognoz arasındaki ilişki açısından hastaları iki gruba kategorize edilmesinde kullanıldı. HAS-2'nin LRMC analiz sonuçları Şekil 4.10'da gösterilmektedir.

Tablo 4.10. MPM'li hastalarda SOC-1 gen ifadesinin azalması ve aşırı gen ifadesi durumuna göre sağkalım üzerine etkisini gösteren Cox regresyon analizi sonuçları.

Değişkenler	Hazard Ratio	%95 güven aralıkları	p değeri
Evre	1.68	1.07-2.63	0.024
Histopatoloji	3.61	1.66-7.86	0.001
KPS	0.23	0.08-0.70	0.010
SOC-1	3.18	1.25-8.07	0.015



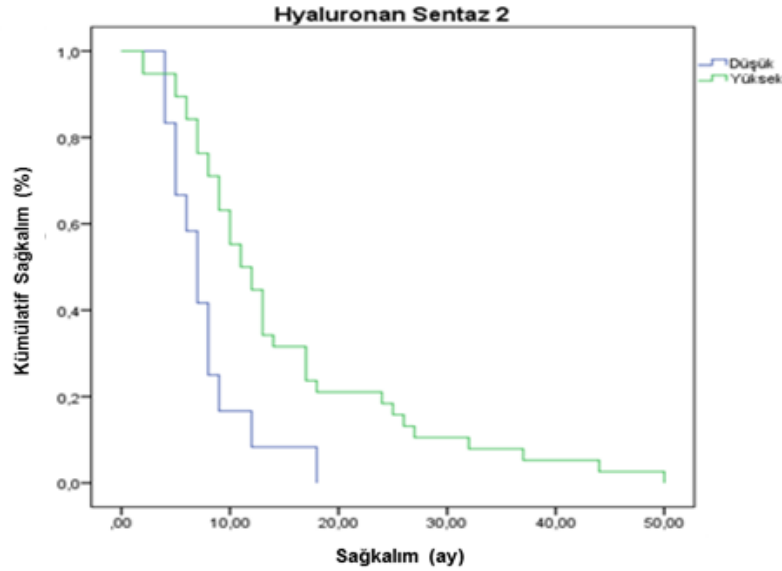
Şekil 4.10. HAS-2 geni LRMC analizi sonuçları.

(Kestrim değerlerinin *10 percentil, ** medyan, *** 90 percentil, #p=0.05:-log10p: 1.30 değerlerini ifade etmektedir. Expression Threshold: kestrim eşik değeri.)

HAS-2 geni kestrim değerlerinin üzerinde olan hastalarda ortalama yaşam süresi 11 ay iken, kestrim değerinden daha düşük olanlarda ortalama yaşam süresi 7 aydı. HAS-2 geninin aşırı ifadesi olan hastalarda prognoz anlamlı olarak daha iyi idi (Log rank $\chi^2=8.97$ $p=0,003$) (Tablo 4.11).

Tablo 4.11. MPM'li hastalarda HAS-2 gen ifadesinin azalması ve aşırı gen ifadesi durumuna göre ortalama sağkalım süresi, standart hata ve %95 güven aralık değerleri.

HAS-2	Ortalama Sağkalım Süresi (ay)	Standart Hata	%95 GA
Düşük (<0.55)	7.00	.85	5.32-8.67
Yüksek (≥ 0.55)	11.00	1.54	7.97-14.02
İstatistiksel karşılaştırma: Log rank $\chi^2=8.97$, $p=0.003$			



Şekil 4.11. HAS-2 gen ifadesinin azalması ve aşırı gen ifadesi durumuna göre sağkalım eğrileri.

HAS-2'nin gen ifadesinin azalması ve aşırı gen ifadesi durumuna göre sağkalım analiz sonuçları Şekil 4.11'de gösterildi.

Evre, KPS ve histopatolojiye göre düzeltme yapılarak incelendiğinde HAS-2 geninin sağkalım üzerine etkisini gösteren modelde Hazard Ratio (%95 güven aralıkları değeri) 2,91(1.43-5,91) olarak saptandı (p=0.003) (Tablo 4.12).

Tablo 4.12. MPM'li hastalarda HAS-2 gen ifadesinin azalması ve aşırı gen ifadesi durumuna göre sağkalım üzerine etkisini gösteren Cox regresyon analizi sonuçları.

Değişkenler	Hazard Ratio	%95 güven aralıkları	p değeri
Evre	1.68	1.68-2.63	0.023
Histopatoloji	4.09	4.09-9.02	<0.001
KPS	0.26	0.09-0.80	0.019
HAS-2	2.91	1.43-5.91	0.003

MPM'li hastaların histopatoloji, evre, KPS dahil olmak üzere sağkalıma etkili olduğu saptanan tüm faktörler bir arada iken yapılan çoklu analiz sonuçları Tablo 4.13'de gösterilmektedir.

Tablo 4.13. MPM'li hastaların çoklu analiz sonuçları.

	Multivariate HR (95% CI)	P
Histopatoloji	2.87 (1.03-7.99)	0.044
Evre	1.54 (0.94-2.50)	0.086
KPS	0.11 (0.03-0.38)	<0.001
SESN-1	5.21 (1.63-16.69)	0.005
MDK	0.20 (0.07-0.56)	0.002
SOC-1	2.72 (0.95-7.75)	0.062
HAS-2	2.96 (1.38-6.37)	0.006

Çoklu analiz sonuçlarına göre histopatoloji, KPS, SESN-1, MDK ve HAS-2 genlerinin aşırı ifadeleri kendi başlarına ayrı ayrı sağkalım ile ilişkili bulundu.

MPM vakalarının büyük kısmını epiteloid hücre tipi oluşturmakta ve kemoterapi tedavileri daha çok bu grupta fayda sağlamaktadır. Bu nedenle çalışma grubunda, epiteloid hücre tipe sahip vakaların oluşturduğu alt grupta analizler tekrar edildi.

Epiteloid tip MPM'de SESN-1 geninin aşırı ifadesi olan hastalarda prognoz daha iyi idi. Epiteloid tip MPM'li olgularda evre ve KPS'ye göre düzeltme yapılarak incelendiğinde SESN-1 geninin sağkalım üzerine etkisini gösteren modelde Hazard Ratio (%95 güven aralıkları değeri) 4.11 (1.26-13.39) olarak saptandı (p=0.019). SESN-1 geninin hem tekli (p=0.006) hem de çoklu analizde (p=0.045) sağkalım üzerine etkisi saptandı (Bkz. Tablo 4.14).

Epiteloid tip MPM'de MDK geninin aşırı ifadesi olan hastalarda prognoz daha kötü idi. Epiteloid tip MPM'li olgularda evre ve KPS'ye göre düzeltme yapılarak incelendiğinde MDK geninin sağkalım üzerine etkisini gösteren modelde Hazard Ratio (%95 güven aralıkları değeri) 0.38 (0.13-1.13) olarak saptandı (p=0.081) ve istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmedi.

Epiteloid tip MPM’de Fibulin-3 geninin aşırı ifadesi olan hastalarda prognoz daha iyi idi. Epiteloid tip MPM’li olgularda evre ve KPS’ye göre düzeltme yapılarak incelendiğinde Fibulin-3 geninin sağkalım üzerine etkisini gösteren modelde Hazard Ratio (%95 güven aralıkları değeri) 3.12 (0.71-13.76) olarak saptandı (p=0.133) ve istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmedi.

Epiteloid tip MPM’de SOC-1 geninin aşırı ifadesi olan hastalarda prognoz daha iyi idi. Epiteloid tip MPM’li olgularda evre ve KPS’ye göre düzeltme yapılarak incelendiğinde SOC-1 geninin sağkalım üzerine etkisini gösteren modelde Hazard Ratio (%95 güven aralıkları değeri) 2.92 (0.97-8.84) olarak saptandı (p=0.058) ve istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmedi.

Epiteloid tip MPM’de HAS-2 geninin aşırı ifadesi olan hastalarda prognoz daha iyi idi. Epiteloid tip MPM’li olgularda evre ve KPS’ye göre düzeltme yapılarak incelendiğinde HAS-2 geninin sağkalım üzerine etkisini gösteren modelde Hazard Ratio (%95 güven aralıkları değeri) 2.53 (1.14-5.64) olarak saptandı (p=0.023). HAS-2 geninin hem tekli (p=0.016) ve hem de çoklu analizde (p=0.014) epiteloid tip MPM’li hastalarda sağkalım üzerine etkisi saptandı (Bkz. Tablo 4.14).

Tablo 4.14. Epiteloid tip MPM’li hastalarda çoklu analiz sonuçları.

	Multivariate HR (95%CI)	P
Evre	1.52 (0.87-2.66)	0.144
KPS	0.19 (0.04-0.95)	0.043
SESN-1	3.74 (1.03-13.61)	0.045
HAS-2	2.90 (1.24-6.80)	0.014

Tablo 4.14’de görüldüğü üzere çoklu analiz sonuçlarına göre incelenen genlerden SESN-1 ve HAS-2 genlerinin aşırı ifadesinin epiteloid tip MPM’de iyi prognozla ilişkili olduğu belirlendi.

5. TARTIŞMA

MPM, malign karakteri güçlü, küresel boyutta görülme sıklığı artmakta olan bir kanserdir (60, 61). MPM'li hastaların % 70-90'ında asbest teması olduğu bildirilmiştir (27, 28). Hastalığın prognozu genel olarak iyi değildir, vakaların tanı sonrası ortalama yaşam süresi 12 ay civarında veya altında verilmektedir (10-12). Tanı aşamasındaki güçlükler, tanıda hastaların ileri dönemde olması ve tedavideki kısıtlılıklar yetersiz prognozun sorumlusu olarak kabul edilmektedir (3, 60).

Hastalığın erken döneminde klinik yakınma ve bulguların hastalığa özgü olmaması nedeniyle hastaların önemli bir kısmı tanı aldıklarında ileri evrededir. Dolayısıyla çoğu olguda kemoterapi anti tümöral tedavi için tek seçenek olmaktadır. Yakın zamanlarda yapılan çalışmalarda kemoterapi, cerrahi ve radyoterapi kombinasyonlarının daha iyi ortalama yaşam süresi ve beş yıllık yaşam oranı verdiği gösterilmiştir (16, 62-64).

Kliniğimizde yapılan bir çalışmada kemoterapi alan gruba iyi destek tedavisi alan grubun yaşam süreleri ve prognozları karşılaştırıldı, kemoterapi alan grubun iyi destek tedavisi alan gruba göre anlamlı olarak daha uzun yaşadığı belirlendi (11,3 aya karşın 8 ay). Epiteyal hücre tipine sahip evre 3 ve 4 olan hastalarda kemoterapinin yaşam süresini anlamlı olarak uzattığı saptandı (12 aya karşın 4 ay). Evre 1 ve 2 olan hastalarda, kemoterapi ile destek tedavi arasında yaşam süre farkı bulunmadı. Farklı kemoterapi rejimleri alan vakalar arasında da yaşam süre farkı olmadığı saptandı (65).

MPM tedavisinde cerrahi ile kombine kemoterapi ve radyoterapi uygulamalarının etkinliğini değerlendiren seriler yayınlanmıştır. Ransomize çalışma niteliğinde olmayan bu serilerden birisinde ekstraplevral pnömonektomi ve yüksek doz radyoterapi yapılan 62 hastada, evre I ve II MPM'de ortalama sağkalım 33,8 ay, evre III ve IV'te 10 ay olarak saptanmıştır (66). Cerrahi tedavi ile kombine kemoterapi ve radyoterapi uygulanabilen hastalarda ortalama sağkalımın uzadığı, bunun tolere edilebilir bir toksisite ile sağlandığı belirtilmiştir (67).

MPM prognozu üzerine etkili olan tedavi dışındaki diğer prognostik faktörleri klinik, biyolojik, genetik faktörler, inflamatuvar belirteçler ve pozitron emisyon

tomografisi/bilgisayarlı tomografi (PET-CT) çalışmaları başlıkları altında toplayabiliriz.

European Organisation for Research and Treatment of Cancer (EORTC) faz 2 prospektif çalışmalarına dahil edilmiş 204 MPM hastasının retrospektif analizine göre performans durumu, cinsiyet, histolojik tip, histolojik tanının kesinliği ve lökosit hücre sayısı önemli prognostik faktörler olarak belirlenmiştir (68). *Cancer and Leukemia Group B* (CALGB) çalışma grubu 337 MPM tanılı hastanın verilerini değerlendirmiş ve kötü performans skoru, 75 yaşından büyük olmak, göğüs ağrısı, plevral tutulumun yaygınlığı, epitelial dışı histoloji, LDH > 500 IU/L, trombosit sayısının >400.000/ μ L olmasını kötü prognozla ilişkili bulmuştur (69). MPM tanısı alan 14.228 hastanın dahil edildiği bir çalışmada çok değişkenli analizde, kadın cinsiyet, daha genç yaş, erken evre ve cerrahi ile tedavi uzun sağkalım için bağımsız belirteçler olduğu saptanmıştır (70). Başka bir çalışmada ileri evre hastalık, N2 lenf nodu tutulumu, uzak metastaz varlığı, sarkomatöz histoloji kötü prognozla ilişkilendirilmiştir (71).

Kanserde prognoz açısından genetik faktörlerin araştırılması, hastalığa özel mutasyonların saptanarak potansiyel hedefe yönelik tedavilerin geliştirilmesinin önünü açmakta, doğru prognoz tahminlerine imkan verme potansiyeli de taşımaktadır (72). Örneğin MPM genetiğinde keşfedilmiş 9p21'de sık P16/CDKN2A homozigot delesyonunun prognostik faktör olduğu bulunmuştur (73).

MPM'de yüksek C-reaktif protein ve nötrofil-lenfosit oranı tarafından yansıtılan sistemik inflamatuvar cevabın kötü prognoz ile ilişkili olduğu düşünülmektedir. MPM'de immün sistem ve inflamatuvar cevabın daha iyi anlaşılması ile yeni tedavi modalitelerinin önü açılabilir (74).

PET-CT tekniğinin MPM'de prognostik bulguların saptanmasında yararlı olduğu düşünülmektedir. Genelde yüksek tümör ve tümöral alanlarda saptanmış yüksek *standard uptake value* (SUV) değerleri ile kısa median sağkalım ile ilişkili bulunmuştur (75). Başlangıçta yüksek toplam glikolitik hacmin kemoterapi tedavisi alacak hastalarda kısa yaşam süresi ile ilişkisi olduğu saptanmıştır (76, 77).

MPM'de tanı, ayırıcı tanı, tedaviye cevabın ve nüksün tayini açısından araştırılan biyolojik belirteçler vardır. Bu konuda en fazla ilgi gören belirteçler

arasında *hyaluronan* (HA), osteopontin (OPN), *mesothelin*; diğer tanımlamayla serum “*soluble mesothelin related peptide*” (SMRP) ve Fibulin-3 yer almaktadır.

HA'nın çoğunlukla ileri evre MPM olgularında yüksek serum seviyelerinin saptandığı bildirilmiştir (78). Yapılan çalışmalarda HA'nın MPM'yi metastatik plevral patolojilerden ayırımında yararlı olabileceği konusunda karşıt görüşler vardır (79, 80).

Son zamanlarda yapılan çalışmalarda serum OPN düzeyinin malign olmayan patolojilerden etkilendiğini ve MPM olmayan asbest ilişkili benign hastalıklarda da düzeyinin artabileceği belirlenmiştir. Bu nedenle, serum OPN düzeyinin MPM'yi diğer plevral malign ve benign patolojilerden ayırımında yeterince etkin olmadığı kanaati vardır (81, 82).

Serum ve plevral sıvı SMRP seviyesinin MPM olgularının tanısındaki yeterliliğini analiz eden çalışmalarda duyarlılık değerleri % 52-80, özgüllük değerleri ise %82-95 arasında saptanmıştır (83, 84). Ancak yapılan çalışmalarda SMRP'nin sarkomatöz tip MPM de bir değer taşımaması tanıda duyarlılığın düşmesinin önemli bir nedeni olduğu düşünülmektedir (83, 85, 86).

Fibulin-3 ile ilgili bir prospektif çalışmada, MPM'nin diğer nedenli plevral sıvılardan ayırımında değerli bir biyobelirteç olarak bulunmuştur (87). Ancak bu konuda farklı görüşler de vardır (88).

MPM'de prognoz tayini yönünden de araştırılan biyobelirteçler vardır. Bu konuda en fazla ilgi gören belirteçler arasında OPN, SMRP ve miRNA çalışmaları yer almaktadır.

Bir çalışmada 69 asbest temaslı MPM tanısı olmayan, 45 asbest teması ve MPM tanısı olmayan, 76 asbest temaslı MPM tanılı vakanın serum OPN düzeyi karşılaştırılmış, yüksek serum OPN düzeyinin kötü prognozla ilişkili olabileceği kanaati öne sürülmüştür (89). SMRP ile ilgili bir çalışmada, 44 MPM tanılı, 68 sağlıklı kontrol grubu, 40 asbest temaslı ve 160 MPM hariç malign akciğer ya da plevra hastalığı olan vakanın serum SMRP düzeyleri ölçülmüştür. Araştırma sonucunda SMRP'nin MPM prognozunda iyi bir belirteç olabileceği savunulmuştur (86). Bir başka çalışmada da MPM'de serum OPN ve SMRP düzeyinin yüksek olmasının kötü prognozla ilişkili olduğu saptanmıştır (81).

Protein tipi biyobelirteçler dışında söz konusu amaca yönelik miRNA çalışmaları da olmuştur. Hsa-miR-29c gen ifadesinin MPM prognozu ile bağlantısının araştırıldığı bir çalışmada 98 cerrahi tedavi alan MPM'li hasta, 44 kontrol grubunda, 9 MPM hücre hattı ve 3 normal mezotelyal hücre hattında özel bir miRNA platformu ile analiz edilmiştir. Hsa-miR-29c'nin aşırı gen ifadesi ile iyi prognoz tahmini yapıldığı öne sürülmüştür (90). Başka bir çalışmada da insan MPM primer hücre hatlarında ve tümör doku örneklerinde qPCR ile gen ifade profilleri çıkarılmış, miRNA gen ifade farklılıkları araştırılmıştır. Çalışmada 24 MPM tümör doku örneği kullanılmış, miR-17-5p ve miR-30c'nin gen ifadelerinin azalması sarkomatoid alt tipte iyi prognozla ilişkili olduğu tespit edildiği bildirilmiştir (91).

MPM prognozunu tayin etmede protein nitelikli biyobelirteçlerin yeri konusunda, bugüne değin yapılan çalışmalarda ortak kanaatler henüz oluşturulamamıştır (92, 93). Nitekim yakın tarihli çalışmalarda ve diğerlerinde konu hakkında kapsamlı ve yeni biyobelirteçlerin incelendiği çalışmalara gereksimi olduğu önemle vurgulanmıştır (20, 22, 94).

Çalışmamızda 54 MPM tanılı hastadan elde edilen plevral tümör dokularında, anabilim dalımız ve araştırma merkezimizde daha önce prognoz ile ilişkisi tespit edilen MKN (19), SOC-1 (20), HAS-2 (21); literatürden seçilen Fibulin-3 (22); ayrıca USAT (Bkz 3.2.1) ile belirlenen SESN-1, LAMA-4 ve 2 *housekeeping* gen olmak üzere 8 genin qPCR yöntemiyle gen ifadelerinin incelendi ve saptanan gen ifade profillerinin hastaların verileri ile prognoz açısından ilişki kurmak üzere analiz edildi.

Gen seçimi ve etkinliğinin teyid edilmesinin yukarıda belirtildiği şekilde yapılmasının temel gerekçesi yeni biyobelirteç bulma amacıdır. Daha önceki çalışmalarımızda prognoz ile ilişkisi tespit edilen MKN ve SOC-1 yeni çalışmalarla teyide ihtiyaç göstermeleri nedeniyle seçildi. Son zamanlardaki deneysel çalışmalar HA sentezinde HAS-2'nin önemi vurgulanmaktadır (95-97). Bir çalışmada hücre hatları ve hücre kültüründe HA, HAS-1, HAS-2 ve HAS-3'ün gen ifade profilleri incelenmiş, sadece HAS-2'nin tüm hücre hatlarında ve hücre kültüründe aşırı gen ifadesi tespit edilmiştir (98). HAS-2, HA'ya göre MPM prognozunda daha etkin olabilir. HAS-2 ile MPM tanılı vakaların prognoz ilişkisini araştıran çalışma yoktur.

Bu nedenlerle HAS-2'nin çalışılmasının daha önemli olacağı kanaatine varılmıştır. Fibulin-3'de prognozla ilgili olduğu düşünülen ve tartışmaların sürdüğü bir belirteç olduğu için çalışmamıza dahil edildi. Yeni biyobelirteç bulma amacıyla, Dr. Güre ve ekibinin geliştirdiği, yeni bağımsız biyobelirteçlerin belirlenmesinde kullanılan, mikrodizi verisetlerinde sağkalım analizi yapan bir program olan USAT (Bkz 3.2.1) tarafından belirlenen 2 gen çalışmaya dahil edildi.

MPM'de prognozla ilişkisi olduğu düşünülen, USAT ile belirlenen bir gen olan SESN-1, sestrin ailesinin bir üyesini kodlar. Sestrinlerin lipid depolanması, metabolik denge, kas ve kalp fonksiyonunda düzenleyici görevleri vardır (99). SESN-1 tarafından kodlanan protein AMP-aktive protein kinazı aktive ederek, *target of rapamycin* (TOR) proteinini inhibe eder, dolayısıyla hücre büyümesinin durmasına neden olur (100).

Bir çalışmada farelerde neonatal kardiyak fibroblastların çoğalmasında SESN-1'in etkisi araştırılmıştır. SESN-1'in gen ifadesinin azalmasının hücre çoğalması ve bazal kollojen düzeyinin artması ile ilişkili olduğu bulunmuştur. SESN-1'in hücre büyümesi ve proliferasyonu için güçlü bir düzenleyici olduğu vurgulanmıştır (101).

Bu genin aşırı ifadesi radyasyon maruziyetinin potansiyel bir belirteçidir (99). SESN-1'in meme (102) ve kolon kanserinde (103) potansiyel tedavi hedefi olabileceği yönünde yayınlar vardır.

Çalışmada SESN-1 gen ifadesi kestrim değerlerinin üzerinde olan hastalarda ortalama yaşam süresi, kestrim değerinden daha düşük olanlara göre daha uzundu (11 aya karşın 7 ay). SESN-1 geninin aşırı ifadesi olan hastalarda prognoz anlamlı olarak daha iyiydi. Aynı şekilde Epiteloid tip MPM'de de SESN-1 geninin aşırı ifadesi olan hastalarda prognoz daha iyiydi. SESN-1 geni aşırı ifadesinin hem MPM'de hem de epiteloid tip MPM'de sağkalımla ilişkisi istatistiksel olarak anlamlı saptandı. Çalışmadaki bulgular SESN-1'in hücre büyümesi ve proliferasyonu için güçlü bir düzenleyici olması ile uyumluydu. SESN-1 aşırı gen ifadesi hem MPM'de hem de epiteloid tip MPM'de iyi prognoz ile ilişkili bir biyobelirteç olabilir.

MPM'de prognozla ilişkisi olduğu düşünülen, USAT (Bkz 3.2.1) ile belirlenen bir diğer gen olan LAMA-4, laminin ailesinin bir üyesini kodlar. Laminin,

hücre dışı matriks glikoproteinlerin bir üyesi ve bazal membranın kollejen olmayan majör bileşenidir. Kan damarları epitelinin etrafında, kasların çevresinde, periferik sinirlerde ve yağ hücrelerinde bulunur. Hücre yapışmasında, farklılaşma, göç, sinyal, akson büyümesinde görev alırlar. LAMA-4'ün yetişkin ve fetal dokulardaki RNA analizinde gelişimsel düzenlemede yer aldığı gösterilse de işlevi tam olarak bilinmemektedir (104). LAMA-4 kalp, akciğer, over, karaciğer ve plasentada gen ifadesi tespit edilmiştir (105).

Son zamanlardaki çalışmalarda tümör progresyonu ve epitel mezenkimal dönüşümünde tümör hücrelerinde LAMA-4'ün aşırı gen ifadesi gösterilmiştir (106, 107). Gliomada LAMA-4'ün aşırı gen ifadesi yüksek tümör derecesi ve kötü hastalık prognozunu işaret ederken (108), gen ifadesinin azalması invazyonu in vitro ve in vivo inhibe ettiği gösterilmiştir (109).

LAMA-4'ün anjiotropik melanomda aşırı gen ifadesi tespit edilmiştir. Bu çalışmada lamininlerin ekstrasvasküler migrasyon ve metastazda rolleri olabileceği öne sürülmüştür (110). Huang X. ve ark. yaptığı bir çalışmada 48 hepatosellüler kanser tanılı hastada tümör dokusu ve tümör çevresindeki normal dokuda LAMA-4 gen ifade profilleri araştırılmış, mRNA ve protein düzeyleri ölçülmüştür. Tümör dokusundan LAMA-4'ün aşırı gen ifadesi saptanmıştır. LAMA-4 aşırı gen ifadesi tümör invazyonu ve metastaz ile ilişkili bulunmuştur. Bu çalışmada LAMA-4 proteininin tümör kan damarının bazal membranında yer aldığı ve tümör anjiogenezi ile potansiyel bir ilişkisi olabileceği öne sürülmüştür (111).

Çalışmada LAMA-4'ün gen ifade profili incelendiğinde yapılan analizler sonucunda, çalışmada yatay çizginin üstünde ve 10-90 persentil dikey çizgilerinin arasında kalan değerler anlamlı olarak kabul edilmesi ve LAMA-4 gen ifadesi en uygun kestrim değerinin 0.09 (7.5p) olması nedeni, sağkalım süreleri ile ilişkisinin istatistiksel olarak anlamlı olmadığı belirlendi. Yukarıda da belirtildiği gibi LAMA-4'ün tümör hücrelerinde aşırı gen ifadesi tespit edilmiş, migrasyon, tümör invazyonu, metastaz ve kötü prognoz ile ilişkili olduğu saptanmıştır. Ancak çalışmada LAMA-4'ün hem MPM'de hem de epiteloid tip MPM'de prognoz ile ilişkisi gösterilemedi.

Anabilim dalımız ve araştırma merkezimizde daha önce MPM'de prognoz ile ilişkisi tespit edilen bir gen olan MDK, hayatta kalma, büyüme ve hücrelerin göçünü

teşvik eden bir heparin-bağlayıcı büyüme faktörünü kodlar. Özellikle embriyojenez esnasında gen ifadesi vardır (112), fakat sağlıklı yetişkinlerde seviyesi önemsiz bir değere kadar düşer (113).

MDK'nın kanser gelişimiyle de ilişkisi vardır; mitojenik etki (114), angiogenezi arttırma (115), anti-apoptozis aktivite (116), fibrinolitik aktivite (117) ile ilişkisi vardır. MDK insan kanserlerinde aşırı gen ifadesi saptanmıştır; gastrointestinal (118), akciğer (119), meme (120).

Jons D. ve ark. yaptığı bir meta analizde serum MDK düzeyinin 1,000 pg/ml üzerinde saptandığında bir hastalıktan şüphelenilmesi gerektiği ve ek tetkiklerin yapılması gerektiği belirtilmiştir (121). Yine bir derlemede, kanser tanılı vakalarda serum ve doku MDK düzeylerinin, sağlıklı vakalara göre anlamlı olarak yüksek olduğu, kanserin nüksünde ya da hastalığın ciddiyetinin artmasıyla serum MDK düzeyinin arttığı, tümör cerrahi rezeksiyonundan hemen sonra da düzeyinin azaldığı belirtilmiştir (122). Son zamanlarda yapılan çalışmalarda MDK aşırı gen ifadesinin, akciğer kanseri (123) ve gliomada (124) kötü prognozla ilişkisi gösterilmiştir.

Kubo S. ve ark. yaptığı bir çalışmada 6 insan MPM hücre hattında q-PCR yöntemiyle MDK aşırı gen ifadesi tespit edilmiştir (125). Yine başka bir çalışmada 117 MPM tanılı ve 142 MPM tanısı olmayan asbest temaslı vakanın serum örneğinde içinde MDK'nın da olduğu bir dizi proteinin düzeyi ölçülmüş, MPM'li vakalarda MPM tanısı olmayan asbest temaslı vakalara göre MDK düzeyinin anlamlı olarak yüksek olduğu saptanmıştır (126).

Kliniğimizde yapılan bir çalışmada 95 MPM tanılı, 56 plevra metastazı olan kanser tanılı ve 20'si benign asbest plörezisi (BAP) 27'si diğer benign plevral hastalık olmak üzere 47 benign tanılı vakanın serumunda MDK ve SMRP düzeyleri ölçüldü. MDK ve SMRP'nin tanı ve prognozdaki yeri araştırıldı. Serum MDK seviyeleri açısından üç grup arasında anlamlı farklılık saptanmadı. MPM grubunda hastalık evresi arttığında MDK düzeyinin de arttığı, yüksek MDK serum düzeyinin hastalık evresi, histolojik tip ve tedavi programları ile düzeltme yapıldığı modelde kötü prognozla ilişkili olduğu saptandı. Serum MDK seviyesi 421 pg/ml altında olan vakaların ortanca yaşam süresi 13.7 ay iken, bu seviyenin üzerinde olan vakalarda 8.4 ay idi (19).

Çalışmada MDK gen ifadesi kestirim değerlerinin üzerinde olan hastalarda ortalama yaşam süresi, kestirim değerinden daha düşük olanlara göre daha kısa idi (6 aya karşın 10 ay). MDK geninin aşırı ifadesi olan hastalarda prognoz anlamlı olarak daha kötü idi. Epiteloid tip MPM'li olgularda evre ve KPS'ye göre düzeltme yapılarak incelendiğinde MDK geninin sağkalım üzerine etkisini gösteren modelde, MDK'nın prognoz üzerine etkisi gösterilemedi.

MPM'de prognozla ilişkisi olduğu düşünülen, literatürden seçilen bir gen olan Fibulin-3: epidermal büyüme faktörü ihtiva eden hücre dışı matriks protein 1'i kodlar. Hücreler arası matriksin oluşturulması, hücrelerin çoğalması ve migrasyonunda görev alır (127), hücreler arası ve hücre matriks arasındaki bağlantılara aracılık eder (128). Fibulin-3 fibroblastik elastik dokular ve vasküler yapılardan salınmakla birlikte mezenkimin yoğunlaşmasında, kemik ve kırık dokuların büyümesinde aşırı gen ifadesi gösterilmiştir (129).

Bir çalışmada Fibulin-3'ün gliomada aşırı gen ifadesi olduğu saptanmıştır. Bu çalışmada Fibulin-3'ün tümör gelişimi ve invazyonunu, epidermal büyüme faktörü reseptörünün fosforillenmesi ve protein kinazın aktivasyonunun bozulması aracılığıyla tetiklediği öne sürülmüştür. (130).

Agha ve ark. yaptığı bir çalışmada MPM tanılı vakaların serum ve plevral sıvı Fibulin-3 düzeylerinin, matastatik karsinom ve benign plevral sıvısı olan vakalara göre anlamlı olarak yüksek olduğu saptanmıştır (131). Ancak bir başka çalışmada serum Fibulin-3 düzeyi, MPM tanılı ve plevral plaklı vakaların ayırımında aynı başarıyı gösterememiştir (132).

Pass H.I. ve ark yaptığı çok merkezli bir çalışmada vakaların serum ve plevral sıvısında Fibulin-3 düzeyleri ölçülmüştür. Fibulin-3 düzeyi yaş, cinsiyet, vücut kitle indeksinden ve tümörün radyolojik boyutundan etkilenmeden MPM'li vakalarda, MPM tanısı olmayan asbeste teması olan ve asbest maruziyeti ve MPM tanısı olmayan plevral sıvılı vakalara göre belirgin olarak yüksek saptanmıştır. Plazma Fibulin-3 düzeyleri sitoredüktif cerrahi sonrası anlamlı olarak azaldığı ve MPM progresyonunda arttığı saptanmıştır. Plevral sıvı Fibulin-3'ün aynı zamanda sitoredüktif cerrahisi uygulanan MPM hastalarında sağkalım için bağımsız bir

prognoz göstergesi olduğu, yüksek plevral sıvı Fibulin-3 düzeyinin kötü prognozla ilişkili olduğu saptanmıştır. (87).

Creaney ve ark yaptığı bir çalışmada vakaların plazma ve plevral sıvılarında Fibulin-3 ve SMRP düzeyleri ölçülmüştür. Çalışmada plazma Fibulin-3 ve hem plazma hem de plevral sıvı SMRP seviyelerinin MPM tanılı vakalarda sağkalım üzerine etkisi olmadıkları saptanmıştır. Plevral sıvı Fibulin-3 seviyelerinin MPM tanılı vakalarda sağkalım için önemli bağımsız bir prognoz faktörü olduğu saptanmıştır. Plevral sıvı Fibulin-3 seviyesinin 467 ng/mL nin altında olan vakaların yaşam süresi 14.1 ay iken, yüksek olan vakalarda 7.9 ay olduğu saptanmıştır (22).

Krischner ve ark. yaptığı bir çalışmada 4 insan MPM hücre hattında ve 1 normal mezotelyal hücre hattında, tümörlü farelerin plazmasında, MPM ve MPM olmayan hastaların oluşturduğu iki bağımsız seride plazmada, plevral sıvısı olan MPM ve MPM olmayan hastalardan oluşan üçüncü bir serinin plevral sıvısında Fibulin-3 düzeyleri ölçülmüştür. Plazma Fibulin-3 seviyelerinin tanısal açıdan anlamlı olmadığı ancak MPM tanılı vakalarda yüksek plevral sıvı Fibulin-3 düzeylerinin kötü prognozla bağımsız ilişkisi olduğu saptanmıştır (88).

Kaya ve ark. yaptığı bir çalışmada 43 MPM tanılı vaka ve 40 sağlıklı kontrol grubunun serumunda Fibulin-3 düzeyleri ölçülmüştür. MPM vakalarının serum Fibulin-3 düzeyi sağlıklı kontrol vakalarından anlamlı olarak yüksek bulunulmuştur. Çalışmada Fibulin-3 düzeyinin eşik değeri 36,6 ng/mL alındığında duyarlılık ve özgüllüğünün %90'nın üzerinde olduğunu fakat prognostik değerlendirmede yetersiz olduğunu öne sürmüşlerdir (133).

Çalışmada Fibulin-3 geni ifadesi kestrim değerlerinin üzerinde olan hastalarda ortanca yaşam süresi, kestrim değerinde daha düşük olanlara göre daha kısaydı (5 aya karşın 10 ay). Fibulin-3 geninin aşırı ifadesi olan hastalarda prognoz anlamlı olarak daha kötü idi. Ancak evre, KPS ve histopatolojiye göre düzeltme yapılarak incelendiğinde Fibulin-3 geninin sağkalım üzerine etkisi gösterilemedi. Benzer şekilde epiteloid tip MPM'de Fibulin-3'ün sağkalım ile ilişkisi istatistiksel olarak gösterilemedi. Fibulin-3, yaş, cinsiyet, vücut kitle indeksinden etkilenmemesi ve özgüllüğünün yüksek olması avantajları arasında sayılırken tümörün radyolojik boyutundan etkilenmemesi prognostik tahminde zayıf yönü olarak ortaya

cıkmaktadır. Ayrıca Creaney ve ark. yaptığı çalışmada her grup için veya tüm denekler için analiz edilen plazma ve plevral sıvı Fibulin-3 seviyeleri arasında bağlantı saptanmamıştır (22). Bifazik ve sarkomatoid tümörlerde Fibulin-3 düzeylerinin daha yüksek olması, epitelyal tip tümörlerde Fibulin-3 gen ifadesinin azalması (134), Fibulin-3'ün prognozla negatif ilişkisini açıklayabilir (22). Yukarıda da belirtildiği gibi daha önce yapılan çalışmalarda Fibulin-3'ün MPM'de prognoz ile ilişkisinde çelişkili sonuçlar vardır. Bu nedenle daha büyük kohortlarda araştırma yapılması ihtiyacı vardır.

Anabilim dalımız ve araştırma merkezimizde daha önce MPM'de prognoz ile ilişkisi tespit edilen bir diğer gen olan SOC-1, bir hücre yüzeyi proteoglikanı kodluyor olup, bu proteoglikan hücre bölünmesi, farklılaşması, invazyon, hücre göçü ve anjiyogenez gibi çeşitli biyolojik işlemleri düzenler. Membrana bağlı ve vücut sıvılarını karışan SOC-1 oranı kanser ve metastaz gibi bazı patolojik durumlarda değişir (135). SOC-1'in hücre dışı kısmı proteolitik olarak metalloproteinazlar tarafından parçalanır böylece vücut sıvılarına dahil olur (136).

SOC-1'in hücrenin bölünerek çoğalması ve hücre göçü gibi temel fonksiyonların düzenlenmesinde yer alması kanserlerde genel patofizyolojik bir rolü olduğunu ortaya koymaktadır (20), kanserin ilerleyişini ve hasta sağkalımını etkiliyor olabilir. Hücrelerde SOC-1 gen ifadesinin epitelyal diferansiyasyon ile arttığı düşünülmekte ve daha az difensiye olmuş malign hücrelerde üretiminin azaldığı tespit edilmiştir (137). SOC-1'in epitelyal tip tümörlerde prognostik bir biyobelirteç olarak kullanılabileceği tezi vardır (138).

Sağı ve ark. yaptıkları bir çalışmada çalışmaya dahil edilen vakaların plevral sıvıların hücre-blok preparatlarında SOC-1 gen ifade profilini incelemiş ve sonuçta SOC-1'in özellikle akciğer, meme ve overlerden kaynaklanan karsinomların tanısında değerli olduğunu göstermişlerdir (139). Yine başka bir çalışmada düşük serum SOC-1 seviyesinin larenks ve hipofarinks kanserinde anti kanser tedavisine hassasiyeti tespit edebileceği, tedavi sonrası yüksek seviyeleri ise nüksün göstergesi olabileceği saptanmıştır (140). Anttonen A. ve ark yaptığı bir çalışmada 88 küçük hücreli akciğer kanseri tanılı vakanın kemoterapi tedavisi öncesinde serum SOC-1 düzeyleri ölçülmüştür. Tedavi öncesi yüksek serum SOC-1 düzeyi, kötü prognozla

ilişkili bulunmuştur (141). SOC-1 seviyesinin serumda yüksek olması meme kanserinde (142) ve multipl miyelomda (143) da kötü prognozla ilişkili olduğu gösterilmiştir.

Kliniğimizin de dahil olduğu bir çalışmada MPM tanısı olan vakaların plevral sıvı SOC-1 düzeyinin, benign patolojisi olan vakalara göre yüksek olduğu saptanmıştır (20).

Kumar-Singh ve ark. yaptığı bir çalışmada, 20 kanser olmayan mezotel dokusunda (normal veya hiperplastik), 57 MPM tanılı ve 20 akciğer adenokarsinom tanılı vakanın tümör dokusunda ve 4 hücre hattında SOC-1'in gen ifade profili değerlendirilmiştir. Normal ve hiperplastik mezotelyal hücrelerde aşırı SOC-1 gen ifadesi saptanmıştır. Tümör hücrelerinde %25'den daha fazla SOC-1 immunreaktivitesi olan vakalarda, %25'den düşük olanlara göre daha iyi prognozlu olduğu saptanmıştır. Ancak SOC-1'in epitelioid MPM tanılı vakalarda sağkalım ile ilişkisi aynı çalışmada gösterilememiştir. Yüksek SOC-1'in membranla ilişkili formunun MPM'de iyi bir prognoz faktörü olduğu tezi savunulmuştur. SOC-1 gen ifadesinin ortadan kalkmasının epitelyal mezenkimal transformasyonda önemli olabileceği belirtilmiştir (144).

Kliniğimizin de dahil olduğu bir çalışmada vakaların serum ve plevral sıvılarında SOC-1 ve OPN düzeyleri analiz edildi. Plevral sıvı ve serumda SOC-1'in teşhis ve prognoz değeri araştırıldı. Plevral metastazı olan vakalarda plevral sıvı SOC-1 kestrim değeri 235.1 ng/ml olarak alındığında, SOC-1 düzeyi kestrim değerinin üstünde olan vakalarda, düşük olan vakalara göre prognoz daha kötü olduğu saptandı. Aynı şekilde MPM vakalarında plevral sıvı SOC-1 kestrim değeri 100.2 ng/ml olarak alındığında, SOC-1 düzeyi kestrim değerinden yüksek olan vakalarda, düşük olan vakalara göre prognoz daha kötü olduğu saptandı (7.8 aya karşın 17 ay). Bununla birlikte SOC-1 serumda ölçüldüğünde prognoz açısından herhangi bir anlamlı fark saptanmadı. SOC-1'in malign plevral sıvıların sitopatolojik teşhisi ve prognozunun belirlenmesinde umut veren bir biyobelirteç adayı olduğu belirtildi (20).

Çalışmada SOC-1 gen ifadesi kestrim değerlerinin üzerinde olan hastalarda ortalama yaşam süresi, kestrim değerinden düşük olanlara göre daha uzundu (10 aya

karşın 5 ay). SOC-1 geninin aşırı ifadesi olan hastalarda prognoz anlamlı olarak daha iyiydi. Evre, KPS ve histopatolojiye göre düzeltme yapılarak incelendiğinde SOC-1 geninin sağkalım üzerine etkisi istatistiksel olarak gösterildi. Ancak çoklu analizde bu ilişki gösterilemedi. MPM’de genel eğilim SOC-1 gen ifadesinin azalması yönündedir. SOC-1’in sarkomatoid hücre dizilerine göre epitelooid hücre dizilerinde daha fazla üretilildiği de saptanmıştır. Bu fenotipik ilişkinin prognoz bulgularının bir kısmını açıklayabilir (144). Ancak yukarıda da bahsedildiği gibi SOC-1gen ifadesinin MPM prognozuna etkisi açısından çelişkili sonuçlar vardır. Bunun nedenlerinden biri SOC-1’in tümör hücresi ya da stromadan mı sentezlendiği ya da membrana bağlı ve vücut sıvılarını karışan SOC-1 oranının değişkenlik gösterebilmesi olabilir. Bir çalışmada hücreye bağlı ve çözünür SOC-1 arasındaki bağlantıyı değerlendirmek için, çözünür SOC-1 seviyeleriyle eşleşen plevral sıvı örneklerindeki hücreler üzerinde immünohistokimya ile çalışılmıştır. SOC-1 reaktif tümör hücrelerinin boyanma yoğunluğu süreci ve plevral sıvı seviyeleri yüzdesi pozitif kolerasyon gösterdiği saptanmıştır (20). Ancak aynı anda proteaz aktivitesinin artışı, salınan SOC-1’in hücreli lizis sonucu olabileceği ya da bu proteoglikanı içeren tümör kaynaklı eksosomlar olabileceği de (145) gözardı etmemek gerekir. Diğer bir neden, SOC-1’in tümör patogenezindeki yerinin net olmaması olabilir. Çalışmalarda tümör tipine bağlı olarak SOC-1’in ya bir tümör baskılayıcı ya da bir tümör tetikleyici olduğu gösterilmiştir (146). Plevral sıvıdaki SOC-1’in seruma göre daha iyi prognoz göstergesi olarak saptanması, plevral sıvıdaki biyogöstergelerin karaciğer metabolizmasına karışmaması ve böbreklerce atılmaması olabilir.

Anabilim dalımız ve araştırma merkezimizde daha önce MPM’de prognoz ile ilişkisi tespit edilen bir diğer gen olan HAS-2: HA sentezleyen enzim ailesinin bir üyesini kodlar. HA hemen hemen bütün dokularda bulunan, dallanmayan, lineer, yüksek moleküler ağırlıklı bir glikozaminoglikandır. Hücreler arası matriksin oluşturulması ve hücrelerin migrasyonunda önemli görev alır. Yara iyileşmesi ve doku onarımı sırasında üretimi artar (147). HA: HAS-1, HAS-2 ve HAS-3 tarafından hücre membranındaki proteinlerden sentezlenir.

Daha önceki çalışmalarda yüksek konsantrasyonlarda HA sentezinin MPM ve sarkomlar dahil çoğu kanserde saptanabildiği gösterilmiştir. HA hem tümör hücresinde hem de stromal hücrelerde üretilmektedir. HA’nın tümör içindeki bağ

dokusununu oluşturmakta predominant olduğu gösterilmiştir (148). Mezotelyal hücrelerde peri-tümör HA üretiminin kültürde over kanseri hücrelerinin mezotelyal hücrelere yapışmasını inhibe ettiği gösterilmiş, HA'nın bir malign davranış antagonisti olarak faaliyet gösterebileceği şeklinde yorumlanmıştır (149). Benzer şekilde fare melanom ve meme kanseri modellerinde, reseptör stabilin-2 azalmasının önüne geçilmesi veya dolaşıma HA enjeksiyonu verilmesiyle sağlanan yüksek serum HA seviyelerinin metastazı azalttığı gösterilmiştir (150). Kan damarları içindeki yüksek HA seviyelerinin, tümörün endotel hücrelerine yapışmasını ve metastaz için gerekli doku nüfuzunu engellediğini ortaya koyulmuştur (150). Farklı bir çalışmada kolon (151) ve meme kanserlerinde (152) artmış hücre proliferasyonu, hücre invazyonu ve hücre hareketliliğinin HA seviyeleriyle ilişkili olduğu saptanmıştır.

Thylen A. ve ark.'nın yaptığı bir çalışmada 19 MPM tanılı vakanın serum ve plevral sıvısında HA düzeyleri ölçülmüştür. Hastalar başlangıçta plevral sıvıda HA düzeyleri 100mg/l üzerinde ve altında olanlar olmak üzere iki farklı gruba ayrılmıştır. Başlangıçta plevral sıvıda yüksek HA düzeyleri olan hastaların klinik takibinde, serum HA düzeyinin yükselmesi ile tümör yükünün artışı arasında pozitif bir ilişki saptanmış ve bu grupta HA'nın klinik izleminde kullanılabileceği önerilmiştir (153). Yine diğer bir çalışmada da yüksek HA serum seviyelerinin çoğunlukla ileri evre MPM hastalarında tespit edildiği bildirilmiştir (78).

Creaney ve ark.'nın yaptığı bir çalışmada 96 MPM tanılı, 26 akciğer kanseri, 42 benign plevral sıvısı olan vakanın serum ve plevral sıvıda HA ve SMRP düzeyleri ölçülüp, karşılaştırılmıştır. Plevral sıvı HA, hem plevral sıvı hem de serum SMRP düzeylerinin bağımsız önemli MPM belirleyicileri olduğunu gösterilmiştir. Plevral sıvı HA düzeyi düşük olan MPM hastalarının, yüksek olan vakalara göre prognozunun daha kötü olduğu saptanmıştır (12.6 aya karşın 18 ay). Yaş ve cinsiyete göre düzeltme yapılarak analiz edilen modelde, yüksek plevral sıvı HA düzeyinin sağkalım açısından önemli bir biyobelirteç olarak saptanmıştır (94).

Fraser ve ark. yaptıkları çalışmada HA'nın, 2-5 dakika yarı ömürle hızlı bir döngüye sahip olduğunu göstermişlerdir. Bu da plevral sıvıdaki seviyelerle serumdaki seviyeler arasındaki uyumsuzluğun nedeni olabilir (154). Plevral sıvı HA'nın romatoid artrit (155) ve parapnömonik sıvılar (156) gibi malign olmayan

bazı enflamatuvar durumlarda da yükseldiği de gösterilmiştir. Bu nedenle özellikle MPM riski olan yaşlı popülasyonda biyobelirteç testlerinin bireysel sonuçları incelenirken yukarıda anlatılan faktörler de gözardı edilmemelidir. MPM ve diğer tümörlerde HA'nın farklı prognoz sonuçlarının olması tümörlerin oluşturduğu HA'da veya plevral sıvıdaki ile stroma içindeki HA'da farklılık olması nedeni olabilir. HA'nın fonksiyonunun moleküler boyutuna (157) bağlı olduğu ve güncel deneylerde kullanılan HA bağlama kitinin farklı boyuttaki molekülleri ayıramadığı bulunmuştur. Kısa zincirli olan HA'nın angiogenez ve inflamasyonu arttırmakta (158) uzun zincirli olan HA'nın makrofaj profilerasyonunu önlediği tespit edilmiştir (159). Bu nedenle detaylı HA moleküler özellik çalışmaları gereklidir.

Çıplak kör fareler, kendi boyutlarındaki ev fareleriyle kıyaslandıklarında oldukça uzun bir yaşam süresine sahiptirler (32 yıla karşın 4 yıl). Bir çalışmada çıplak kör farelerin hayatları boyunca kansere yakalanmadıkları belirtilmiştir (97). Tian ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada bu kanser direncinin nedeni olarak yüksek molekül ağırlıklı HA'nın fazlaca üretilmesi gösterilmiştir (160). Yine farklı bir çalışmada ekstrasellüler HA birikiminin, hücre içi p16^{ink4a} gen ifadesini uyaran bir yolu aktive ettiği, erken kontak inhibisyona neden olduğu ve onkolojik dönüşümü baskıladığı hipotezi öne sürülmüştür (161). Çıplak kör fare hücrelerinde HA sentezinde görevli HAS-2'nin gen ifadesi azaldığında ya da HA'yı parçalayan hyaluronoglukozaminidazın aşırı gen ifadesi durumunda, çıplak kör farede kolayca tümör oluştuğu belirtilmiştir (97).

Liu Z.ve ark.'nın yaptığı bir çalışmada 10 MPM hücre hattında ve 1 MPM hücre kültüründe q-PCR yöntemiyle HA, HAS-1, HAS-2 ve HAS-3'ün gen ifade profilleri incelenmiş, sadece HAS-2'nin tüm hücre hatlarında ve hücre kültüründe aşırı gen ifadesi tespit edilmiştir (98). Bir çalışmada, hücre kültürlerinde mekanik zedelenmelerin iyileştirilmesi sırasında HAS-2'nin indüklendiği ve HA sentezinin arttığı saptanmıştır (95). Yine farklı bir çalışmada HA üretmeyen mezotel hücre hatlarına HAS-2 için cDNA transfer edilmiş ve HA sentezinin başladığı tespit edilmiştir (96).

Çalışmada HAS-2 geni ifadesi kestirim değerlerinin üzerinde olan hastalarda ortalama yaşam süresi, kestirim değerinden daha düşük olanlara göre daha uzundu (11

aya karşın 7 ay). HAS-2 geninin aşırı ifadesi olan hastalarda prognoz anlamlı olarak daha iyiydi. Aynı şekilde Epiteloid tip MPM'de de HAS-2 geninin aşırı ifadesi olan hastalarda prognoz daha iyiydi. HAS-2 geni aşırı ifadesinin hem MPM'de hem de epiteloid tip MPM'de sağkalımla ilişkisi istatistiksel olarak anlamlıydı. HAS-2 aşırı gen ifadesi hem MPM'de hem de epiteloid tip MPM'de iyi prognoz ile ilişkili bir biyobelirteç olabilir.

İyi prognoz biyobelirteçleri yüksek saptanan hastalar tedavi konusunda teşvik edilmelidir. Kötü prognoz biyobelirteçleri yüksek saptanan hastalarda örneğin MDK, tedavi kararının zorlaştığı durumlarda karar vermede katkı sağlayabilir.

Miks ve sarkomatoid tipe sahip MPM'de prognozun kötü olduğu, özellikle sarkomatoid tip MPM'nin tedavi seçeneklerine cevap vermediği bilinmektedir. Bu durumda miks ve sarkomatoid tip MPM'de prognozun tayin edilmesi önemlidir çünkü iyi prognoz biyobelirteçleri bulunabilir ise o hastalar tedavi seçenekleri açısından teşvik edilebilir. Miks tip MPM'de cerrahi, sarkomatoid tip MPM'de kemoterapi tedavileri daha rahat önerilebilir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

MPM'li hastaların prognozu genel olarak iyi değildir, vakaların tanı sonrası ortalama yaşam süresi 12 ay civarında veya altında verilmektedir. Bu noktada prognoz tayini önem kazanmaktadır. Çünkü MPM'li hastalarda prognoz hem hastanın geleceğine ait beklentinin tayin edilmesi, hem de en uygun tedavi seçeneklerinin belirlenerek uygulanması için önemlidir. MPM'li hastalarda prognoza özgü gen ifade profillerinin tanımlanabilmesi sayesinde, prognoz tayini yapılabilir mi hipotezinden yola çıkılarak bu tez konusu belirlenmiştir.

Çalışmamızda, anabilim dalımız pulmoner onkoloji ünitesi'nde takip edilen MPM tanılı ve sadece kemoterapi tedavisi alan 54 hastadan elde edilen tümör dokularında; anabilim dalımız ve araştırma merkezimizde daha önce prognoz ile ilişkisi tespit edilen MKN, SOC-1 ve HAS-2; literatürden seçilen Fibulin-3; ayrıca USAT ile belirlenen SESN-1 ve LAMA-4; iki *housekeeping* gen; G6PD, TBP'nin gen ifadelerinin incelenmesi ve saptanacak gen ifade profillerinin prognoz biyobelirteci olarak kullanılabilirliklerinin araştırılması amaçlandı.

MPM'li hastalarda, MKN aşırı gen ifadesi kötü prognozla, HAS-2, SESN-1 aşırı gen ifadesi iyi prognozla ilişkili, potansiyel olarak kullanımı olabilecek biyobelirteçler olarak belirlendi. HAS-2 ve SESN-1 aşırı gen ifadesinin epiteloid hücre tipine sahip MPM'li hastalarda iyi prognozla ilişkisi belirlendi.

Bizim çalışmamızda diğer MPM'de prognostik biyobelirteç araştırması yapılan çalışmalardan farklı olarak, tümöral dokuda analizler yapılmıştır. Aslında prognoz tayini için incelenecek bir biyobelirtecin hem kanda, hem plevral sıvıda artacağı, böylece analizlerin ilk aşamada bu ürünlerde yapılmasının daha kolay olabileceği düşünülebilir. Ancak son zamanlarda yapılan çalışmalarda, biyobelirteçlerin tümör hücrelerinin kendisi ya da tümöre yanıt olarak değişik vücut yapıları tarafından üretilebilmesi, karaciğer metabolizmasına karışması ve böbreklerce atılması gibi nedenlerle bu uyumun olmadığı belirtilmiş ve prognostik biyobelirteçlerin ilk aşamada tümör dokusundaki analizlerle araştırılması gerekliliği vurgulanmıştır.

Bu aşamadan sonra, bu çalışmanın bir sonraki basamağında prognozla ilişkisi tespit edilen biyobelirteçlerin söz konusu hasta grubunun serum ve plevra sıvılarında çalışılması mümkün olacaktır. Böylece tespit ettiğimiz ilişkinin klinik yararlılığı ortaya konulmuş olacaktır.

Prognoz tayini tüm alt tiplerde önemli olacağını düşünüyoruz. Miks ve sarkamatoid tip MPM'de iyi prognoz biyobelirteçleri bulunabilir ise, o hastalara tedavi seçenekleri daha rahat önerilebilir.

KAYNAKLAR

1. Fennell DA, Gaudino G, O'Byrne KJ, Mutti L, Van Meerbeeck J. Advances in the systemic therapy of malignant pleural mesothelioma. *Nature Clinical Practice Oncology*. 2008;5(3):136-47.
2. Suzuki Y. Pathology of Human Malignant Mesothelioma. Preliminary Analysis of 1,517 Mesothelioma Cases. *Industrial health*. 2001;39(2):183-5.
3. Robinson BW, Musk AW, Lake RA. Malignant mesothelioma. *The Lancet*. 2005;366(9483):397-408.
4. Cancer UK Research. Statistics. www.cancerresearchuk.org/statistics. (accessed Feb 25, 2005).
5. West SD, Lee YC. Management of malignant pleural mesothelioma. *Clin Chest Med*. 2006;27(2):335-54.
6. Hillerdal G. Pleural plaques and risk for bronchial carcinoma and mesothelioma. A prospective study. *CHEST Journal*. 1994;105(1):144-50.
7. Peto J, Matthews F, Hodgson J, Jones JR. Continuing increase in mesothelioma mortality in Britain. *The Lancet*. 1995;345(8949):535-9.
8. Schuhmann M, Brims FJ, O'Reilly KM. Asbestos-related lung disease: an update. *Clinical Pulmonary Medicine*. 2011;18(6):265-73.
9. Metintas M. Turkey asbestos control strategic plan final report. *Turk Thorac J* 2015;16(Suppl 2):S1-S26.
10. Group IMI. A proposed new international TNM staging system for malignant pleural mesothelioma. *Chest*. 1995;108(4):1122-8.
11. Metintas M, Metintas S, Ucgun I, Gibbs A, Harmanci E, Alatas F, et al. Prognostic factors in diffuse malignant pleural mesothelioma: effects of pretreatment clinical and laboratory characteristics. *Respiratory medicine*. 2001;95(10):829-35.
12. Ruffie PA. Pleural mesothelioma. *Current opinion in oncology*. 1991;3(2):328-34.

13. Metintas M, Ozdemir N, Ucgun I, Elbek O, Kolsuz M, Mutlu S, et al. Cisplatin, mitomycin, and interferon- α 2a combination chemoimmunotherapy in the treatment of diffuse malignant pleural mesothelioma. *CHEST Journal*. 1999;116(2):391-8.
14. Sugarbaker DJ, Jaklitsch MT, Liptay MJ. Mesothelioma and radical multimodality therapy: who benefits? *CHEST Journal*. 1995;107(6_Supplement):345S-50S.
15. Sugarbaker D, Heher E, Lee T, Couper G, Mentzer S, Corson J, et al. Extrapleural pneumonectomy, chemotherapy, and radiotherapy in the treatment of diffuse malignant pleural mesothelioma. *The Journal of thoracic and cardiovascular surgery*. 1991;102(1):10-4; discussion 4-5.
16. Van Schil PE, Opitz I, Weder W, De Laet C, Domen A, Lauwers P, et al. Multimodal management of malignant pleural mesothelioma: where are we today? *European Respiratory Journal*. 2014;44(3):754-64.
17. Ettinger DS, Akerley W, Borghaei H, Chang A, Cheney RT, Chirieac LR, et al. Malignant pleural mesothelioma. *Journal of the National Comprehensive Cancer Network*. 2012;10(1):26-41.
18. Haas AR, Sterman DH. Malignant pleural mesothelioma: update on treatment options with a focus on novel therapies. *Clinics in chest medicine*. 2013;34(1):99-111.
19. Ak G., Metintas S., Tada Y., Shimada H., Hiroshima K., Tagawa M., Metintas M. Relationship of serum mesothelin and midkine levels in the diagnosis and prognosis in patients with malignant mesothelioma. *iMig Congress 2014*.
20. Mundt F, Heidari-Hamedani G, Nilsonne G, Metintas M, Hjerpe A, Dobra K. Diagnostic and prognostic value of soluble syndecan-1 in pleural malignancies. *BioMed research international*. 2014;2014.
21. Mundt F, Nilsonne G, Arslan S, Csürös K, Hillerdal G, Yildirim H, et al. Hyaluronan and N-ERC/mesothelin as key biomarkers in a specific two-step

- model to predict pleural malignant mesothelioma. *PLoS One*. 2013;8(8):e72030.
22. Creaney J, Dick IM, Meniawy TM, Leong SL, Leon JS, Demelker Y, et al. Comparison of fibulin-3 and mesothelin as markers in malignant mesothelioma. *Thorax*. 2014;thoraxjnl-2014-205205.
 23. İşbilen M. IDENTIFICATION OF THERANOSTIC GENE MARKERS IN CANCERS AND PROGNOSTIC VALIDATION IN COLORECTAL CANCER: Bilkent University; 2015.
 24. Metintas M, Gibbs A, Harmanci E, Özdemir N, Paşaoğlu Ö, Işıksoy S, et al. Malignant localized fibrous tumor of the pleura occurring in a person environmentally exposed to tremolite asbestos. *Respiration*. 1997;64(3):236-9.
 25. Pawade J, Du Boulay C, Herbert A. Malignant fibrous tumor of the pleura. *Eur Respir Rev*. 1993;3:50-2.
 26. Skinetz C, Clarke R, Jacobs G. Localized fibrous tumors of the pleura. *Pathol Res Pract*. 1990;186:244-357.
 27. Powers A, Carbone M. The Role of Environmental Carcinogens, Viruses, and Genetic. *Cancer biology & therapy*. 2002;1(4):347-52.
 28. Metintas M, Özdemir N, Hillerdal G, Ucgun I, Metintas S, Baykul C, et al. Environmental asbestos exposure and malignant pleural mesothelioma. *Respiratory medicine*. 1999;93(5):349-55.
 29. Metintas M. Malign plevral mezotelyoma türkiye standartlar rehberi, ESOĞÜ Basımevi.2014.
 30. Aisner J. Current approach to malignant mesothelioma of the pleura. *CHEST Journal*. 1995;107(6_Supplement):332S-44S.
 31. Metintas M, Hillerdal G, Metintas S, Dumortier P. Endemic malignant mesothelioma: exposure to erionite is more important than genetic factors. *Archives of environmental & occupational health*. 2010;65(2):86-93.

32. Emri S, Kocagoz T, Olut A, Güngen Y, Mutti L, Baris Y. Simian virus 40 is not a cofactor in the pathogenesis of environmentally induced malignant pleural mesothelioma in Turkey. *Anticancer research*. 1999;20(2A):891-4.
33. Cicala C, Pompetti F, Carbone M. SV40 induces mesotheliomas in hamsters. *The American journal of pathology*. 1993;142(5):1524.
34. Goodman JE, Nascarella MA, Valberg PA. Ionizing radiation: a risk factor for mesothelioma. *Cancer Causes & Control*. 2009;20(8):1237-54.
35. Yang H, Testa JR, Carbone M. Mesothelioma epidemiology, carcinogenesis, and pathogenesis. *Current treatment options in oncology*. 2008;9(2-3):147-57.
36. Light RW: Tumors of the pleura. *Textbook of Respiratory Medicine*. 2. Edition (Ed: Murray JF, Nadel JA)'da. Philadelphia, W.B Saunders Company 1994; 2222-2235.
37. Peto J, Decarli A, La Vecchia C, Levi F, Negri E. The European mesothelioma epidemic. *British journal of cancer*. 1999;79(3-4):666.
38. Light RW. Tumors of the pleura. In: Murray JF, Nadel JA, eds. *Textbook of respiratory medicine*, vol 2. Philadelphia: Saunders, 1994: 2222–30.
39. de Klerk N, Olsen N, Threlfall T, Shilkin K, Lee E, Musk A, editors. *Mesothelioma survival in Western Australia*. Perth: 1st Perth Mesothelioma Centre Symposium; 2004.
40. Boring CC, Squires TS, Tong T. Cancer statistics, 1993. *Cancer* 1993;43,7–26.
41. Camidge D, Stockton D, Bain M. Factors affecting the mesothelioma detection rate within national and international epidemiological studies: insights from Scottish linked cancer registry-mortality data. *British journal of cancer*. 2006;95(5):649-52.
42. Fidaner C, Eser S, Parkin D. Incidence in Izmir in 1993–1994: first results from Izmir Cancer Registry. *European Journal of Cancer*. 2001;37(1):83-92.

43. Metintas S, Metintas M, Ucgun I, Oner U. Malignant mesothelioma due to environmental exposure to asbestos: follow-up of a Turkish cohort living in a rural area. *CHEST Journal*. 2002;122(6):2224-9.
44. Metintas M, Hillerdal G, Metintas S. Malignant mesothelioma due to environmental exposure to erionite: follow-up of a Turkish emigrant cohort. *European Respiratory Journal*. 1999;13(3):523-6.
45. Carbone M, Ly BH, Dodson RF, Pagano I, Morris PT, Dogan UA, et al. Malignant mesothelioma: facts, myths, and hypotheses. *Journal of cellular physiology*. 2012;227(1):44-58.
46. Walker C, Everitt J, Barrett JC. Possible cellular and molecular mechanisms for asbestos carcinogenicity. *American journal of industrial medicine*. 1992;21(2):253-73.
47. BIELEFELDT-OHMANN H, Jarnicki A, Fitzpatrick D. Molecular pathobiology and immunology of malignant mesothelioma. *The Journal of pathology*. 1996;178(4):369-78.
48. Yang H, Rivera Z, Jube S, Nasu M, Bertino P, Goparaju C, et al. Programmed necrosis induced by asbestos in human mesothelial cells causes high-mobility group box 1 protein release and resultant inflammation. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2010;107(28):12611-6.
49. Murthy SS, Testa JR. Asbestos, chromosomal deletions, and tumor suppressor gene alterations in human malignant mesothelioma. *Journal of cellular physiology*. 1999;180(2):150-7.
50. Sekido Y. Molecular pathogenesis of malignant mesothelioma. *Carcinogenesis*. 2013:bgt166.
51. Sekido Y, Pass HI, Bader S, Mew DJ, Christman MF, Gazdar AF, et al. Neurofibromatosis type 2 (NF2) gene is somatically mutated in mesothelioma but not in lung cancer. *Cancer research*. 1995;55(6):1227-31.
52. Tallet A, Nault J, Renier A, Hysi I, Galateau-Salle F, Cazes A, et al. Overexpression and promoter mutation of the TERT gene in malignant pleural mesothelioma. *Oncogene*. 2014;33(28).

53. DEVECİ F. Diffüz malign plevral mezotelyomanın klinik özellikleri ve tanılal yaklaşım. *Turkiye Klinikleri Journal of Thoracic Surgery Special Topics*. 2011;4(1):18-26.
54. Özlü T. In Özlü T, Metintaş M, Karadağ M, Kaya A, eds. *Solunum Sistemi ve Hastalıkları Temel Başvuru Kitabı İstanbul İstanbul Tıp Kitabevi*. 2010:813-7.
55. Eibel R, Tuengerthal S, Schoenberg SO. The role of new imaging techniques in diagnosis and staging of malignant pleural mesothelioma. *Current opinion in oncology*. 2003;15(2):131-8.
56. Pass H, Giroux D, Kennedy C et al. The IASLC Mesothelioma database: improving staging of a rare disease through international participation. *J Thorac Oncol* 2016;in press.
57. Novak AK, Chansky K, Rice DC et al. The IASLC Mesothelioma Staging Project:proposals for revisions of the T descriptors in the forthcoming eighth edition of the TNM classification for mesothelioma. *J Thorac Oncol* 2016; in press.
58. Rice D, Chansky K, Novak A et al. The IASLC Mesothelioma Staging Project: proposals for revision of the N descriptors in the forthcoming eighth edition of the TNM classification for malignant pleural mesothelioma. *J Thorac Oncol* 2016; in press.
59. Rusch VW, Chansky K, Kindler HL et al. The IASLC Malignant Pleural Mesothelioma Staging Project: proposals for the M descriptors and the revision of the TNM stage groupings in the forthcoming (eighth) edition of the TNM classification for mesothelioma. *J Thorac Oncol*,2016; in press.
60. Robinson BW, Lake RA. Advances in malignant mesothelioma. *New England Journal of Medicine*. 2005;353(15):1591-603.
61. Britton M, editor *The epidemiology of mesothelioma*. *Seminars in oncology*; 2002: Elsevier.

62. Campbell NP, Kindler HL, editors. Update on malignant pleural mesothelioma. *Seminars in respiratory and critical care medicine*; 2011: © Thieme Medical Publishers.
63. Bölükbas S, Eberlein M, Fisseler-Eckhoff A, Schirren J. Radical pleurectomy and chemoradiation for malignant pleural mesothelioma: the outcome of incomplete resections. *Lung cancer*. 2013;81(2):241-6.
64. Weder W, Kestenholz P, Taverna C, Bodis S, Lardinois D, Jerman M, et al. Neoadjuvant chemotherapy followed by extrapleural pneumonectomy in malignant pleural mesothelioma. *Journal of Clinical Oncology*. 2004;22(17):3451-7.
65. Metintas M, Ak G, Erginel S, Alatas F, Yildirim H, Kurt E, et al. A retrospective analysis of malignant pleural mesothelioma patients treated either with chemotherapy or best supportive care between 1990 and 2005: a single institution experience. *Lung cancer*. 2007;55(3):379-87.
66. Rusch VW, Rosenzweig K, Venkatraman E, Leon L, Raben A, Harrison L, et al. A phase II trial of surgical resection and adjuvant high-dose hemithoracic radiation for malignant pleural mesothelioma. *The Journal of thoracic and cardiovascular surgery*. 2001;122(4):788-95.
67. Powell CA, Halmos B, Nana-Sinkam SP. Update in lung cancer and mesothelioma 2012. *American journal of respiratory and critical care medicine*. 2013;188(2):157-66.
68. Curran D, Sahmoud T, Therasse P, van Meerbeeck J, Postmus PE, Giaccone G. Prognostic factors in patients with pleural mesothelioma: the European Organization for Research and Treatment of Cancer experience. *Journal of Clinical Oncology*. 1998;16(1):145-52.
69. Herndon JE, Green MR, Chahinian AP, Corson JM, Suzuki Y, Vogelzang NJ. Factors predictive of survival among 337 patients with mesothelioma treated between 1984 and 1994 by the Cancer and Leukemia Group B. *Chest*. 1998;113(3):723-31.

70. Taioli E, Wolf AS, Camacho-Rivera M, Kaufman A, Lee D-S, Nicastrì D, et al. Determinants of survival in malignant pleural mesothelioma: a Surveillance, Epidemiology, and End Results (SEER) study of 14,228 patients. *PloS one*. 2015;10(12):e0145039.
71. Komurcuoglu B, Cirak AK, Kirakli SC, Polat G, Yucel N, Usluer O, et al. Prognostic factors affecting survival in malignant pleural mesothelioma: analysis of 125 subjects. *Tumori*. 2014;100(1):55-9.
72. McMillan R, Zauderer M, Bott M, Ladanyi M. Important recent insights into the genetics and biology of malignant pleural mesothelioma. *Annals of Cardiothoracic Surgery*. 2012;1(4):462-5.
73. López-Ríos F, Chuai S, Flores R, Shimizu S, Ohno T, Wakahara K, et al. Global gene expression profiling of pleural mesotheliomas: overexpression of aurora kinases and P16/CDKN2A deletion as prognostic factors and critical evaluation of microarray-based prognostic prediction. *Cancer research*. 2006;66(6):2970-9.
74. Linton A, van Zandwijk N, Reid G, Clarke S, Cao C, Kao S. Inflammation in malignant mesothelioma - friend or foe? *Ann Cardiothorac Surg*. 2012;1(4):516-22.
75. Basu S, Saboury B, Torigian DA, Alavi A. Current evidence base of FDG-PET/CT imaging in the clinical management of malignant pleural mesothelioma: emerging significance of image segmentation and global disease assessment. *Molecular Imaging and Biology*. 2011;13(5):801-11.
76. Francis RJ, Byrne MJ, Van Der Schaaf AA, Boucek JA, Nowak AK, Phillips M, et al. Early prediction of response to chemotherapy and survival in malignant pleural mesothelioma using a novel semiautomated 3-dimensional volume-based analysis of serial 18F-FDG PET scans. *Journal of Nuclear Medicine*. 2007;48(9):1449-58.
77. Nowak AK, Francis RJ, Phillips MJ, Millward MJ, van der Schaaf AA, Boucek J, et al. A novel prognostic model for malignant mesothelioma

- incorporating quantitative FDG-PET imaging with clinical parameters. *Clinical Cancer Research*. 2010;16(8):2409-17.
78. Hillerdal G, Lindqvist U, Engström-Laurent A. Hyaluronan in pleural effusions and in serum. *Cancer*. 1991;67(9):2410-4.
 79. Törrönen K, Soini Y, Pääkkö P, Parkkinen J, Sironen R, Rilla K. Mesotheliomas show higher hyaluronan positivity around tumor cells than metastatic pulmonary adenocarcinomas. *Histology and histopathology: cellular and molecular biology*. 2016;31(10):1113-22.
 80. Grigoriu B, Chahine B, Zerimech F, Grégoire M, Balduyck M, Copin M-C, et al. Serum mesothelin has a higher diagnostic utility than hyaluronic acid in malignant mesothelioma. *Clinical biochemistry*. 2009;42(10):1046-50.
 81. Grigoriu B-D, Scherpereel A, Devos P, Chahine B, Letourneux M, Lebailly P, et al. Utility of osteopontin and serum mesothelin in malignant pleural mesothelioma diagnosis and prognosis assessment. *Clinical Cancer Research*. 2007;13(10):2928-35.
 82. Moschos C, Porfiridis I, Psallidas I, Kollintza A, Stathopoulos GT, Papiris SA, et al. Osteopontin is upregulated in malignant and inflammatory pleural effusions. *Respirology*. 2009;14(5):716-22.
 83. Scherpereel A, Grigoriu B, Conti M, Gey T, Grégoire M, Copin M-C, et al. Soluble mesothelin-related peptides in the diagnosis of malignant pleural mesothelioma. *American journal of respiratory and critical care medicine*. 2006;173(10):1155-60.
 84. Creaney J, van Bruggen I, Hof M, Segal A, Musk AW, de Klerk N, et al. Combined CA125 and mesothelin levels for the diagnosis of malignant mesothelioma. *CHEST Journal*. 2007;132(4):1239-46.
 85. Park E-K, Sandrini A, Yates DH, Creaney J, Robinson BW, Thomas PS, et al. Soluble mesothelin-related protein in an asbestos-exposed population: the dust diseases board cohort study. *American journal of respiratory and critical care medicine*. 2008;178(8):832-7.

86. Robinson BW, Creaney J, Lake R, Nowak A, Musk AW, de Klerk N, et al. Mesothelin-family proteins and diagnosis of mesothelioma. *The Lancet*. 2003;362(9396):1612-6.
87. Pass HI, Levin SM, Harbut MR, Melamed J, Chiriboga L, Donington J, et al. Fibulin-3 as a blood and effusion biomarker for pleural mesothelioma. *New England Journal of Medicine*. 2012;367(15):1417-27.
88. Kirschner MB, Pulford E, Hoda MA, Rozsas A, Griggs K, Cheng YY, et al. Fibulin-3 levels in malignant pleural mesothelioma are associated with prognosis but not diagnosis. *British journal of cancer*. 2015;113(6):963-9.
89. Pass HI, Lott D, Lonardo F, Harbut M, Liu Z, Tang N, et al. Asbestos exposure, pleural mesothelioma, and serum osteopontin levels. *New England Journal of Medicine*. 2005;353(15):1564-73.
90. Pass HI, Goparaju C, Ivanov S, Donington J, Carbone M, Hoshen M, et al. hsa-miR-29c* is linked to the prognosis of malignant pleural mesothelioma. *Cancer research*. 2010;70(5):1916-24.
91. Busacca S, Germano S, De Cecco L, Rinaldi M, Comoglio F, Favero F, et al. MicroRNA signature of malignant mesothelioma with potential diagnostic and prognostic implications. *American journal of respiratory cell and molecular biology*. 2010;42(3):312-9.
92. Davidson B. Prognostic factors in malignant pleural mesothelioma. *Human pathology*. 2015;46(6):789-804.
93. AKKOYUNLU ME. Malign Mezotelyomada Biyolojik Belirteçler.
94. Creaney J, Dick IM, Segal A, Musk AW, Robinson BW. Pleural effusion hyaluronic acid as a prognostic marker in pleural malignant mesothelioma. *Lung Cancer*. 2013;82(3):491-8.
95. Li Y, Rahmanian M, Widstrom C, Lepperdinger G, Frost GI, Heldin P. Irradiation-induced expression of hyaluronan (HA) synthase 2 and hyaluronidase 2 genes in rat lung tissue accompanies active turnover of HA and induction of types I and III collagen gene expression. *American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology*. 2000;23(3):411-8.

96. Li Y, Heldin P. Hyaluronan production increases the malignant properties of mesothelioma cells. *British journal of cancer*. 2001;85(4):600.
97. Gorbunova V, Seluanov A, Zhang Z, Gladyshev VN, Vijg J. Comparative genetics of longevity and cancer: insights from long-lived rodents. *Nature Reviews Genetics*. 2014;15(8):531-40.
98. LIU Z, DOBRA K, HAUZENBERGER D, KLOMINEK J. Expression of hyaluronan synthases and hyaluronan in malignant mesothelioma cells. *Anticancer research*. 2004;24(2B):599-604.
99. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/27244>.
100. Lee JH, Budanov AV, Park EJ, Birse R, Kim TE, Perkins GA, et al. Sestrin as a feedback inhibitor of TOR that prevents age-related pathologies. *Science*. 2010;327(5970):1223-8.
101. Sun G, Xue R, Yao F, Liu D, Huang H, Chen C, et al. The critical role of Sestrin 1 in regulating the proliferation of cardiac fibroblasts. *Archives of biochemistry and biophysics*. 2014;542:1-6.
102. Budanov AV, Shoshani T, Faerman A, Zelin E, Kamer I, Kalinski H, et al. Identification of a novel stress-responsive gene Hi95 involved in regulation of cell viability. *Oncogene*. 2002;21(39):6017-31.
103. Budanov AV, Sablina AA, Feinstein E, Koonin EV, Chumakov PM. Regeneration of peroxiredoxins by p53-regulated sestrins, homologs of bacterial AhpD. *Science*. 2004;304(5670):596-600.
104. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/3910>.
105. <http://www.novusbio.com/laminin-alpha-4.html>.
106. Takkunen M, Grenman R, Hukkanen M, Korhonen M, De Herreros AG, Virtanen I. Snail-dependent and-independent epithelial-mesenchymal transition in oral squamous carcinoma cells. *Journal of Histochemistry & Cytochemistry*. 2006;54(11):1263-75.
107. Takkunen M, Ainola M, Vainionpää N, Grenman R, Patarroyo M, De Herreros AG, et al. Epithelial-mesenchymal transition downregulates laminin

- α 5 chain and upregulates laminin α 4 chain in oral squamous carcinoma cells. *Histochemistry and cell biology*. 2008;130(3):509-25.
108. Ljubimova JY, Lakhter AJ, Loksh A, Yong WH, Riedinger MS, Miner JH, et al. Overexpression of α 4 chain-containing laminins in human glial tumors identified by gene microarray analysis. *Cancer research*. 2001;61(14):5601-10.
 109. Nagato S, Nakagawa K, Harada H, Kohno S, Fujiwara H, Sekiguchi K, et al. Downregulation of laminin α 4 chain expression inhibits glioma invasion in vitro and in vivo. *International journal of cancer*. 2005;117(1):41-50.
 110. Lugassy C, Torres-Munoz JE, Kleinman HK, Ghanem G, Vernon S, Barnhill RL. Overexpression of malignancy-associated laminins and laminin receptors by angiogenic human melanoma cells in a chick chorioallantoic membrane model. *Journal of cutaneous pathology*. 2009;36(12):1237-43.
 111. Huang X, Ji G, Wu Y, Wan B, Yu L. LAMA4, highly expressed in human hepatocellular carcinoma from Chinese patients, is a novel marker of tumor invasion and metastasis. *J Cancer Res Clin Oncol*. 2008;134(6):705-14.
 112. Kadomatsu K, Muramatsu T. Midkine and pleiotrophin in neural development and cancer. *Cancer letters*. 2004;204(2):127-43.
 113. Kadomatsu K, Tomomura M, Muramatsu T. cDNA cloning and sequencing of a new gene intensely expressed in early differentiation stages of embryonal carcinoma cells and in mid-gestation period of mouse embryogenesis. *Biochemical and biophysical research communications*. 1988;151(3):1312-8.
 114. Muramatsu H, Muramatsu T. Purification of recombinant midkine and examination of its biological activities: functional comparison of new heparin binding factors. *Biochemical and biophysical research communications*. 1991;177(2):652-8.
 115. Mashour GA, Ratner N, Khan GA, Wang H-L, Martuza RL, Kurtz A. The angiogenic factor midkine is aberrantly expressed in NF1-deficient Schwann cells and is a mitogen for neurofibroma-derived cells. *Oncogene*. 2001;20(1):97-105.

116. Owada K, Sanjo N, Kobayashi T, Mizusawa H, Muramatsu H, Muramatsu T, et al. Midkine inhibits caspase-dependent apoptosis via the activation of mitogen-activated protein kinase and phosphatidylinositol 3-kinase in cultured neurons. *Journal of neurochemistry*. 1999;73:2084-92.
117. Kojima S, Inui T, Muramatsu H, Kimura T, Sakakibara S, Muramatsu T. Midkine is a heat and acid stable polypeptide capable of enhancing plasminogen activator activity and neurite outgrowth extension. *Biochemical and biophysical research communications*. 1995;216(2):574-81.
118. Aridome K, Tsutsui Ji, Takao S, Kadomatsu K, Ozawa M, Aikou T, et al. Increased midkine gene expression in human gastrointestinal cancers. *Japanese journal of cancer research*. 1995;86(7):655-61.
119. Garver R, Chan CS, Milner PG. Reciprocal expression of pleiotrophin and midkine in normal versus malignant lung tissues. *American journal of respiratory cell and molecular biology*. 1993;9:463-.
120. Garver RI, Radford DM, Donis-Keller H, Wick MR, Milner PG. Midkine and pleiotrophin expression in normal and malignant breast tissue. *Cancer*. 1994;74(5):1584-90.
121. Jones D. Measuring midkine: the utility of midkine as a biomarker in cancer and other diseases. *British journal of pharmacology*. 2014;171(12):2925-39.
122. Krzystek-Korpacka M, Matusiewicz M. Circulating midkine in malignant, inflammatory, and infectious diseases: a systematic review. *Midkine: From Embryogenesis to Pathogenesis and Therapy*: Springer; 2012. p. 69-85.
123. Lv M, Mou Y, Wang P, Chen Y, Wang T, Hou Y. Diagnostic and predictive role of cell-free midkine in malignant pleural effusions. *Journal of cancer research and clinical oncology*. 2013;139(4):543-9.
124. Ma J, Lang B, Wang X, Wang L, Dong Y, Hu H. Co-expression of midkine and pleiotrophin predicts poor survival in human glioma. *Journal of Clinical Neuroscience*. 2014;21(11):1885-90.
125. Kubo S, Kawasaki Y, Yamaoka N, Tagawa M, Kasahara N, Terada N, et al. Complete regression of human malignant mesothelioma xenografts following

- local injection of midkine promoter-driven oncolytic adenovirus. *The journal of gene medicine*. 2010;12(8):681-92.
126. Ostroff RM, Mehan MR, Stewart A, Ayers D, Brody EN, Williams SA, et al. Early detection of malignant pleural mesothelioma in asbestos-exposed individuals with a noninvasive proteomics-based surveillance tool. *PLoS One*. 2012;7(10):e46091.
 127. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/2202>.
 128. Segade F. Molecular evolution of the fibulins: implications on the functionality of the elastic fibulins. *Gene*. 2010;464(1):17-31.
 129. Moore RM, Redline RW, Kumar D, Mercer BM, Mansour JM, Yohannes E, et al. Differential expression of fibulin family proteins in the para-cervical weak zone and other areas of human fetal membranes. *Placenta*. 2009;30(4):335-41.
 130. Hu B, Thirtamara-Rajamani KK, Sim H, Viapiano MS. Fibulin-3 is uniquely upregulated in malignant gliomas and promotes tumor cell motility and invasion. *Molecular cancer research*. 2009;7(11):1756-70.
 131. Agha MA, El-Habashy MM, El-Shazly RA. Role of fibulin-3 in the diagnosis of malignant mesothelioma. *Egyptian Journal of Chest Diseases and Tuberculosis*. 2014;63(1):99-105.
 132. Akkoyunlu M, Dongel I, Akbas A, Benli I, Kart L, Bayram M. Serum Fibulin-3 Levels In Patients With Mesothelioma And Pleural Plaques And Healthy Subjects Exposed To Naturally Occurring Asbestos. C104 OCCUPATIONAL ASTHMA AND OTHER EFFECTS OF DUST: *Am Thoracic Soc*; 2014. p. A5215-A.
 133. Kaya H, Demir M, Taylan M, Sezgi C, Tanrikulu AC, Yilmaz S, et al. Fibulin-3 as a diagnostic biomarker in patients with malignant mesothelioma. *Asian Pacific journal of cancer prevention: APJCP*. 2014;16(4):1403-7.
 134. Albig AR, Neil JR, Schiemann WP. Fibulins 3 and 5 antagonize tumor angiogenesis in vivo. *Cancer research*. 2006;66(5):2621-9.

135. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/6382>.
136. Su G, Blaine SA, Qiao D, Friedl A. Membrane Type 1 Matrix Metalloproteinase–Mediated Stromal Syndecan-1 Shedding Stimulates Breast Carcinoma Cell Proliferation. *Cancer research*. 2008;68(22):9558-65.
137. Inki P, Larjava H, Haapasalmi K, Miettinen HM, Grenman R, Jalkanen M. Expression of syndecan-1 is induced by differentiation and suppressed by malignant transformation of human keratinocytes. *European journal of cell biology*. 1994;63(1):43-51.
138. Pulkkinen JO, Penttinen M, Jalkanen M, Klemi P, Grenman R. Syndecan-1: a new prognostic marker in laryngeal cancer. *Acta oto-laryngologica*. 1997;117(2):312-5.
139. Saqi A, Yun SS, Yu GH, Alexis D, Taub RN, Powell CA, et al. Utility of CD138 (syndecan-1) in distinguishing carcinomas from mesotheliomas. *Diagnostic cytopathology*. 2005;33(2):65-70.
140. Anttonen A, Leppä S, Heikkilä P, Grenman R, Joensuu H. Effect of treatment of larynx and hypopharynx carcinomas on serum syndecan-1 concentrations. *Journal of cancer research and clinical oncology*. 2006;132(7):451-7.
141. Anttonen A, Leppä S, Ruotsalainen T, Alfthan H, Mattson K, Joensuu H. Pretreatment serum syndecan-1 levels and outcome in small cell lung cancer patients treated with platinum-based chemotherapy. *Lung Cancer*. 2003;41(2):171-7.
142. Nguyen TL, Grizzle WE, Zhang K, Hameed O, Siegal GP, Wei S. Syndecan-1 overexpression is associated with nonluminal subtypes and poor prognosis in advanced breast cancer. *American journal of clinical pathology*. 2013;140(4):468-74.
143. Seidel C, Sundan A, Hjorth M, Turesson I, Dahl IMS, Abildgaard N, et al. Serum syndecan-1: a new independent prognostic marker in multiple myeloma. *Blood*. 2000;95(2):388-92.
144. Kumar-singh S, Jacobs W, Dhaene K, Weyn B, Bogers J, Weyler J, et al. Syndecan-1 expression in malignant mesothelioma: correlation with cell

- differentiation, WT1 expression, and clinical outcome. *The Journal of pathology*. 1998;186(3):300-5.
145. Thompson CA, Purushothaman A, Ramani VC, Vlodaysky I, Sanderson RD. Heparanase regulates secretion, composition, and function of tumor cell-derived exosomes. *Journal of Biological Chemistry*. 2013;288(14):10093-9.
 146. Garusi E, Rossi S, Perris R. Antithetic roles of proteoglycans in cancer. *Cellular and molecular life sciences*. 2012;69(4):553-79.
 147. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/3037>.
 148. Ropponen K, Tammi M, Parkkinen J, Eskelinen M, Tammi R, Lipponen P, et al. Tumor cell-associated hyaluronan as an unfavorable prognostic factor in colorectal cancer. *Cancer research*. 1998;58(2):342-7.
 149. Jones LM, Gardner MJ, Catterall JB, Turner GA. Hyaluronic acid secreted by mesothelial cells: a natural barrier to ovarian cancer cell adhesion. *Clinical & experimental metastasis*. 1995;13(5):373-80.
 150. Hirose Y, Saijou E, Sugano Y, Takeshita F, Nishimura S, Nonaka H, et al. Inhibition of Stabilin-2 elevates circulating hyaluronic acid levels and prevents tumor metastasis. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2012;109(11):4263-8.
 151. Misra S, Hascall VC, Berger FG, Markwald RR, Ghatak S. Hyaluronan, CD44, and cyclooxygenase-2 in colon cancer. *Connective tissue research*. 2008;49(3-4):219-24.
 152. Montgomery N, Hill A, McFarlane S, Neisen J, O'Grady A, Conlon S, et al. CD44 enhances invasion of basal-like breast cancer cells by upregulating serine protease and collagen-degrading enzymatic expression and activity. *Breast Cancer Research*. 2012;14(3):1.
 153. Thylén A, Wallin J, Martensson G. Hyaluronan in serum as an indicator of progressive disease in hyaluronan-producing malignant mesothelioma. *Cancer*. 1999;86(10):2000-5.

154. Fraser J, Laurent T, Engström-Laurent A, Laurent U. Elimination of hyaluronic acid from the blood stream in the human. *Clinical and experimental pharmacology and physiology*. 1984;11(1):17-25.
155. Pettersson T, Fröseth B, Riska H, Klockars M. Concentration of hyaluronic acid in pleural fluid as a diagnostic aid for malignant mesothelioma. *Chest*. 1988;94(5):1037-9.
156. Zaga T, Makris D, Tsilioni I, Kiropoulos T, Oikonomidi S, Damianos A, et al. Hyaluronic acid levels are increased in complicated parapneumonic pleural effusions. *Monaldi Archives for Chest Disease*. 2015;75(3).
157. Stern R, Asari AA, Sugahara KN. Hyaluronan fragments: an information-rich system. *European journal of cell biology*. 2006;85(8):699-715.
158. Slevin M, West D, Kumar P, Rooney P, Kumar S. Hyaluronan, angiogenesis and malignant disease. *International journal of cancer*. 2004;109(5):793-4.
159. Sheehan KM, DeLott LB, West RA, Bonnema JD, DeHeer DH. Hyaluronic acid of high molecular weight inhibits proliferation and induces cell death in U937 macrophage cells. *Life sciences*. 2004;75(26):3087-102.
160. Tian X, Azpurua J, Hine C, Vaidya A, Myakishev-Rempel M, Ablueva J, et al. High-molecular-mass hyaluronan mediates the cancer resistance of the naked mole rat. *Nature*. 2013;499(7458):346-9.
161. Fisher GJ. Cancer resistance, high molecular weight hyaluronic acid, and longevity. *Journal of cell communication and signaling*. 2015;9(1):91-2.

