

T.C.
EGE ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
GÖĞÜS HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

İLERİ EVRE KÜÇÜK HÜCRELİ DIŞI AKCİĞER KARSİNOMU
OLGULARINDA ERCC - 1 EKSPRESYONU VE PLATİN
BAZLI KEMOTERAPİ İLİŞKİSİ

UZMANLIK TEZİ
Dr. Özer ÖZDEMİR

TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Mustafa Hikmet ÖZHAN

Bornova - İZMİR

2010

ÖNSÖZ

Uzmanlık eğitimim boyunca bilgi ve deneyimlerini benimle paylaşan bütün hocalarıma, tezimin her aşamasında yardımlarını esirgemeyen Prof. Dr. Mustafa H. Özhan'a, patolojik incelemelerde katkısı bulunan Prof. Dr. Ali Veral'a, istatistik incelemeleri için Dr. Hatice Uluer'e teşekkür ederim.

Her an desteğini yanımda hissettiğim sevgili eşim Pelin'e ve beni bugünlere getiren aileme teşekkürü borç bilirim.

Dr. Özer ÖZDEMİR

Bornova - Eylül 2010

İÇİNDEKİLER

Giriş.....	1
Küçük Hücreli Dışı Akciğer Kanserinde Prognostik ve Prediktif Faktörler	2
ERCC1 (Eksizyon Onarım Çapraz Tamamlayıcı Grup-1)	5
Nükleotid Eksizyon Onarım Mekanizması	5
ERCC1 ve Akciğer Kanseri : Günümüzdeki Durum	5
Amaç	12
Yöntem.....	12
İmmünohistokimyasal İnceleme.....	13
Yanıt Değerlendirmesi.....	16
İstatistiksel Analiz.....	16
Bulgular.....	17
Tartışma.....	24
Özet.....	32
Kaynaklar.....	35

GİRİŞ

Akciğer kanseri sigara içme alışkanlığındaki artışa paralel olarak 1985'ten itibaren dünya genelinde en sık görülen kanser türü haline gelmiştir. Tüm dünyada kanser olgularının %12,4'ünden sorumludur. Kansere bağlı ölümlerde de dünya genelinde %17,6 oranla birinci sırada bulunmaktadır.¹

Küçük hücreli dışı akciğer karsinomu (KHDAK) akciğer kanseri olgularının yaklaşık %85'ini oluşturmaktadır. Tüm evreler için genel beş yıllık sağkalım oranı 1960'larda %8 civarında iken, 1990'lara gelindiğinde ancak %15'e çıkarılabilmiş ve bir platoya ulaşılmıştır. Patolojik evreye göre 5 yıllık sağkalım, Evre 1A'da %67 civarında; evre 2B'de ise %39 civarındadır. 5 yıllık sağkalım oranı, tümör aynı taraftaki lenf noduna yayılım gösterdiğinde (N₂ hastalık) %13'e; karşı taraf mediastinal lenf bezi tutulduğunda ise (N₃ hastalık) %5'e gerilemektedir. Tıbbi durum ve evreye göre hastaların ancak %20 ila 30'u küratif cerrahiye uygun bulunmaktadır. Agresif cerrahi uygulanan hastaların bir kısmında, birçoğu hastalığın sistemik özelliğini gösterir şekilde uzak metastazlar halinde olmak üzere nüksler izlenmektedir. Bu durum tam rezeke edilebilmiş olgularda dahi sistemik tedavinin cerrahi tedaviye eklenmesini gerekliliğini doğurmaktadır.

1995'ten itibaren yoğunlaşan adjuvan kemoterapi çalışmalarında kemoterapi lehine 5 yıllık sağkalıma yaklaşık % 5'lik bir katkı gibi oldukça sınırlı bir yarar saptanmıştır.² İleri evre akciğer kanseri olgularında da ikili kemoterapi esas tedavi şeklini oluşturmaktadır.

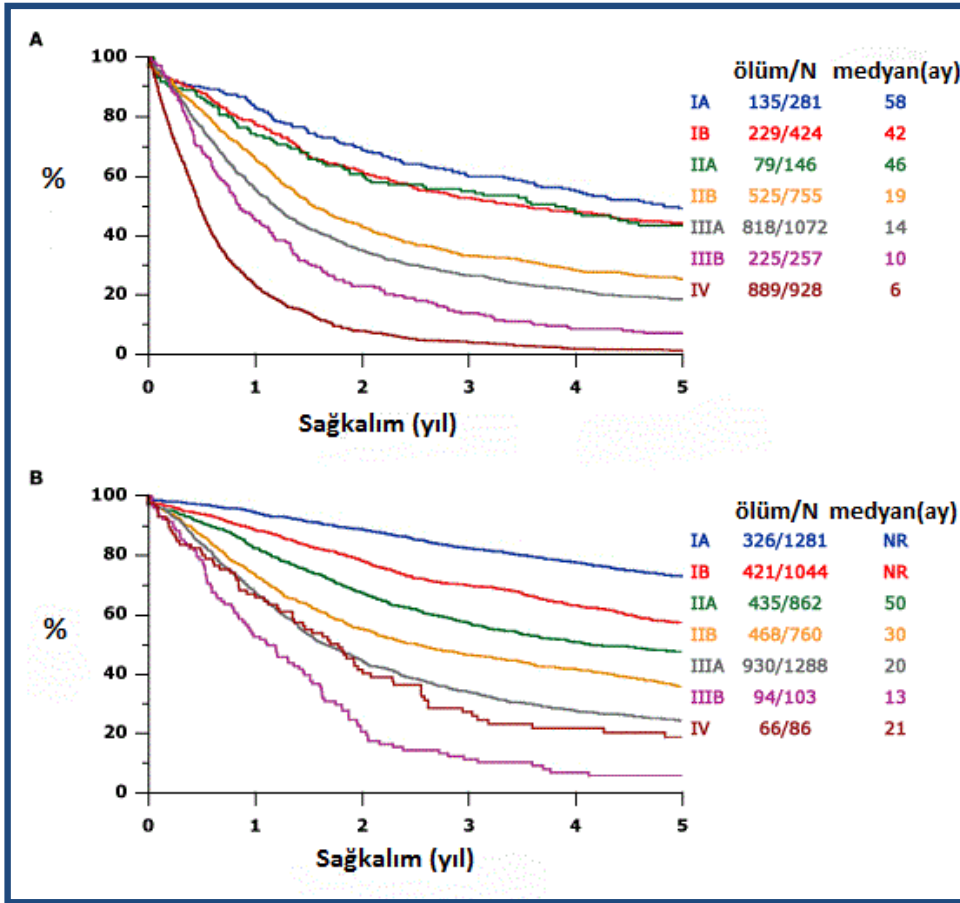
Her hastanın kemoterapiden aynı yararı görmeyeceği göz önüne alınırsa; hangi hastaların hangi kemoterapi rejiminden daha çok yarar göreceğini veya hangi hastaların prognozlarının daha kötü bir seyir gösterebileceğini öngörebilmek önem taşımaktadır. Böylece kemoterapiye ait gereksiz toksisite riskinden kaçınılabileceği gibi, bireysel tedavi seçimi ile hastalara daha uygun tedavi verebilmek mümkün olacaktır.

Bu amaçla son yıllarda akciğer kanseri prognozunun ve tedavi yanıtının öngörülebilmesinde moleküler belirteçlerin kullanım etkinliği, üzerinde çok çalışılan konulardan biri haline gelmiştir.

KÜÇÜK HÜCRELİ DIŞI AKCİĞER KANSERİNDE PROGNOSTİK ve PREDİKTİF FAKTÖRLER

"Prognostik" ve "prediktif" terimleri bazen birbirleri yerine kullanılmaktadır. Aslında *prognostik faktörler*, uygulanan tedaviden bağımsız olarak hastanın sonlanımı hakkında fikir verebilecek belirteç veya parametreleri içermektedir. *Prediktif faktörler* ise tedavi kararlarının verilmesi konusunda faydalı olabilecek belirteç veya parametrelerdir.

Küçük hücreli dışı akciğer kanserinde prognostik faktörlerin en önemlisi şüphesiz ki, hastaların tanı anındaki TNM sistemine göre evresidir. Hastalığın yaygınlığı arttıkça sağkalım oranları azalmaktadır. Metastatik hastalıkta ortalama sağkalım %4'e kadar düşmektedir. Evrenin sağkalıma etkisine dair veriler 7. TNM evreleme sisteminin oluşturulmasında 31.000'in üzerinde hastayı içeren veritabanından gelmektedir. Şekil 1'de klinik ve patolojik değerlendirmeye göre evrelerdeki sağkalım oranları görülmektedir.



Şekil 1 (7.) TNM akciğer kanseri evreleme sistemine göre sağkalım oranları
(A) Klinik evre (B) Patolojik evre³

Hastalık evresinden bağımsız olarak, olguların başlangıçtaki bazı klinik özellikleri prognoz hakkında fikir verebilmektedir. Çalışmalarda performans durumu kötü olan ve kilo kaybı bulunan olguların prognozlarının daha kötü olduğu görülmüştür. ⁴⁻⁵

Etnik özelliklerin prognozla ilişkili olduğuna dair çalışmalar bulunsa da, çok değişkenli analizlerde ırk ve prognoz ilişkisi ortaya konamamıştır. ⁶

Yine çalışmalarda küçük hücreli dışı akciğer karsinomu histolojik alt tiplerinin prognostik farklılığı bildirilse de, genel kanı hücre tipinin prognoz belirleyicisi olmadığıdır. ⁷⁻⁸ Diğer üzerinde durulan patolojik faktörler tümörün farklılaşma derecesi ve lenfatik invazyondur. Kötü farklılaşma derecesinin daha kötü prognoza sahip olduğunu bildiren çalışmalar mevcuttur. ⁹ Yine lenf sistemi invazyonunun kötü prognoza işaret ettiği bildirilmiştir. ¹⁰ Ancak tümörün histopatolojik özelliklerinin prognoz belirleyicisi olduğuna dair sağlam veriler elde yoktur. Tablo 1'de KHDAK'da prognostik faktörler özetlenmiştir.

Tablo 1: Küçük hücreli dışı akciğer karsinomunda prognostik faktörler

KHDAK'DA PROGNOTİK FAKTÖRLER	
Kanıt düzeyi yüksek	Olası
Evre	Etnik özellikler
Performans durumu	Farklılaşma derecesi
Kilo kaybı	Lenfatik invazyon
	Histolojik alt tip
	Moleküler belirteçler

Son yıllarda moleküler belirteçler ile prognoz ilişkisi üzerine birçok makale yayınlanmıştır. Umut vaat eden yaklaşımlardan biri gen ekspresyon profillerinin belirlenmesidir. İlk ortaya konduğunda, gen ekspresyon profilleme ile klinik özelliklere kıyasla daha doğru nüks ve düşük sağkalım tahminleri yapılabildiği görülmüştür. Yine adjuvan tedavi almayan Evre 1A olgularda nüks riski düşük tahmin edilen 47 olguda %90 sağkalım izlenirken, nüks riski yüksek bulunan grupta 5 yıllık sağkalım %10'un altında bulunmuştur. ¹¹

KHDAK patogenezinde yeri olan k-ras onkogeni ve p53 tümör süpresör geni, DNA metilasyon belirteçleri, epitelyal büyüme faktörü reseptörü (EGFR) gibi belirteçler de prognostik ve prediktif değerleri açısından araştırılmıştır. Ancak çoğu durumda bu belirteçlerle ilgili çelişkili veriler mevcuttur.¹²

Benzer şekilde DNA onarım genleri de KHDAK'daki prediktif rolleri açısından araştırılmaktadır. Bir dizi çalışma rekombinasyon onarımında rol alan BRCA1'in kemoterapi yanıtının öngörülmesinde faydalı olabileceğini göstermiştir. Sonuçlara göre düşük BRCA1 varlığı cisplatin kemosensitivitesi ile ilişkili bulunurken, paklitaksel ve vinorelbine direncine neden olmaktadır. Yine artmış ribonükleotid redüktaz M₁ altbirimi gemitabine direncini yansıtmaktadır. Tioredoksin 1 ve YB-1 proteinlerinin de kemoterapi direncini yansıtabileceği düşünülmektedir. Tablo 2'de KHDAK tedavisinde kullanılan bazı kemoterapötik ajanlar ve ilişkilendirilen prediktif faktörler görülmektedir.

Tablo 2: Kemoterapi kararında kullanılan prediktif testler (Kanıt düzeyleri klinik deneyimde genetik testlerin duyarlılığına işaret etmektedir. Düzey 1 belirtecin yüksek derecede yanıt öngörüsü sağladığını, düzey 2 belirtecin olası prediktif rolü konusunda önce verilerin olduğunu, düzey 3 az miktarda kanıt olduğunu veya hiç kanıtın olmadığını işaret etmektedir)¹³

İLAÇ	BELİRTEÇ	KANIT DÜZEYİ
Cisplatin	ERCC1 mRNA	2
Vinorelbine	β -tubulin III mRNA	2/3
	Stathmin mRNA	2/3
Paklitaksel	β -tubulin III mRNA	3
Gemitabine	RRM1 mRNA	2/3

Bu moleküler belirteçlerden biri de ERCC1'dir (*Excision repair cross-complementing group 1*). ERCC1 geni alkilleyici ajanlarla gelişen DNA hasarının tamirinde esas görevi üstlenen proteini kodlamaktadır. Yapılan araştırmalarda bu gen ekspresyonu bulunan tümörlerin kemoterapi yanıtlarının daha az olduğu görülürken, tedavisiz izlemde prognozlarının daha iyi olduğu görülmüştür.

ERCC1

(Eksizyon Onarım Çapraz-Tamamlayıcı Grup 1)

ERCC1 kromozom 19q'da bulunan 15-kb bir gendir. 33kDa'lık bir nükleaz olan proteini kodlamaktadır. Tüm fonksiyonları tamamen ortaya konamamış olsa da kodladığı protein yaşam için kaçınılmazdır. ERCC1 fonksiyonu ortadan kaldırılan deney farelerinde beyin hasarı ve karaciğer yetmezliği ile birlikte hızlı yaşlanmanın olduğu, kısa sürede ölümün gerçekleştiği görülmüştür.¹⁴ Nükleotid eksizyon onarımında ERCC1, XP-F proteini ile kompleks oluşturmaktadır ve onarım basamaklarında hız kısıtlayıcı enzimlerden biridir. Onarım basamağının sonlarında görevi olsa da, DNA onarımının gerçekleşebilmesi için esastır. Onarım yolağının diğer proteinlerinin aksine yaşamın sürdürülebilmesi için gerekli olmasının sebebi bilinmemektedir. Son yıllarda ortaya konan veriler, ERCC1'in DNA onarımı yanı sıra DNA rekombinasyonu, immünglobulin gen değişimi, telomer kararsızlığında da fonksiyonu olabileceğini göstermektedir.¹⁵

NÜKLEOTİD EKSiZYON ONARIM MEKANİZMASI

Genetik bilgi DNA'nın kimyasal yapısı içinde saklanmaktadır. DNA yapısal bütünlüğünü korunması bu sebeple oldukça önemlidir. DNA'nın çift sarmal yapısı ilk ortaya konduğunda, yaşam için esas olan bu yapının oldukça stabil ve değişmez bir yapısı olduğu düşünülmüştür. Sonraki yıllarda bu yapının dış ve iç etmenlerle birçok değişikliğe maruz kaldığı ve sürekli onarım mekanizmalarının işlediği görülmüştür. Hemen her gün, her hücrede insan genomu başına 25.000 bazda hasarın geliştiği tahmin edilmektedir. Yeterli onarım mekanizmaları olmasaydı bu derecede baz hasarı yaşam ile bağdaşmazdı. Bir nedenle DNA lezyonları ortadan kaldırılamazsa, apoptozis ile hücre ölümü gerçekleşmektedir ya da mutasyonların birikimi ile hücre potansiyel kanseröz bir hücre haline gelebilmektedir.

Bilinen beş DNA onarım mekanizması mevcuttur.

1. Nükleotid eksizyon onarımı
2. Uygunsuz eşleşme (*mismatch*) onarımı
3. Çift sarmal kırılma onarımı

4. Baz eksizyon onarımı

5. Direkt onarım

Bu mekanizmalar içinde nükleotid eksizyon onarımı (NEO), güneş ışığına bağlı ultraviyole radyasyon maruziyeti ile gelişen DNA hasarı, mutajenik kimyasallar veya cisplatin gibi sitotoksik ilaçlara bağlı gelişen büyük DNA eklentileri gibi birbiri ile ilgisiz görünen hasarların onarımında görev alır. Tablo 3'te NEO sistemi ile hedeflenen DNA hasarları görülmektedir. Nükleotid eksizyon onarımı bir "kes - yapıştır" mekanizmasıdır. Hasarlı bazları içeren 24-32 nükleotidlik DNA dizisinin kesilmesi ve sağlam dizinin kalıp olarak kullanılarak onarımın gerçekleştirilmesini içerir. NEO yolunda kullanılan enzimlerde eksiklikler, ışık duyarlılığı ve cilt kanserlerine eğilimin olduğu Xeroderma Pigmentozum ve kanser eğilimi olmaksızın ışık duyarlılığına ek olarak kısa vücut yapısı, dismyelinizasyona bağlı nörolojik bozukluklar, katarakt gibi bulguların görüldüğü Cockayne sendromu ve trikotiyodistrofiye neden olmaktadır.

Tablo 3 : Nükleotid eksizyon onarımının rol aldığı DNA hasarları

NEO sistemi ile hedeflenen DNA hasarları
➤ Ultraviyole radyasyona bağlı siklobütan pirimidin dimerleri
➤ Platin bazlı kemoterapiye bağlı eklentiler
➤ Polisiklik aromatik hidrokarbonlar (sigara ilişkili DNA eklentileri)
➤ Aromatik aminler
➤ Kolesterol eklentileri
➤ Psoralen eklentileri

Nükleotid eksizyon onarım yoluna ait ilk bilgiler bu yolun işlemez olduğu Xeroderma Pigmentozum (XP) hastalarının hücrelerinin incelenmesi ile elde edilmiştir. Bozuk olan temel yol aynı olsa da, DNA sentezi düzeylerinin farklı hastaların hücreleri arasında farklı olması ile genetik heterojenitenin varlığını gösterilmiştir. Onarım yolunda farklı enzimlerin eksikliği ile farklı genotipler ortaya çıkmaktadır. Genotip olarak farklı XP hücrelerinin çekirdeklerinin birleştirilmesi ile ışık duyarlılığının ortadan kalktığı görülmüş, böylece "tamamlayıcı gruplar" tanımlanmıştır. Yedi tamamlayıcı grubun varlığı saptanmıştır (XP-A,XP-B... XP-G şeklinde sınıflanmıştır). İnsan hücrelerindeki benzer şekilde ışık duyarlılığı yaratılan Çin hamsteri

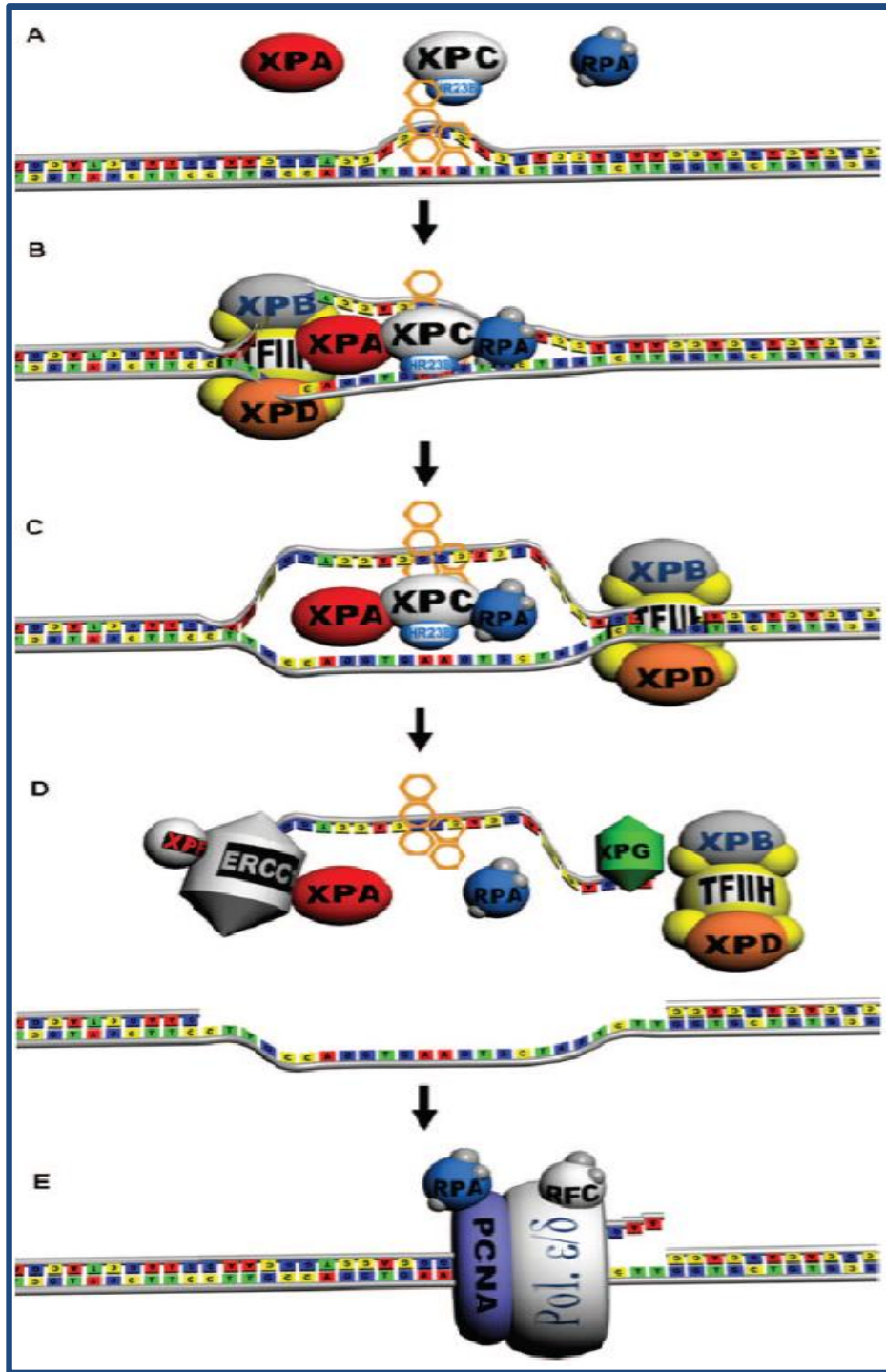
over hücrelerinde yapılan çalışmalarla değişik XP hücrelerindeki inaktif genler ortaya konabilmiştir. Bu hücrelerdeki eksikliği tamamlayabilecek insan DNA parçalarının araştırılması ile ilk eksizyon onarımı çapraz-tamamlayıcı (*excision repair cross-complementing*) insan genleri klonlanabilmiştir : ERCC1, ERCC2, ERCC3, ERCC4 ve ERCC6. ERCC2, ERCC3, ERCC4 ve ERCC6 genlerinin sırasıyla XP-D, XP-B, XP-F ve CS-B'yi tamamladığı görülmüştür, bu genlerin isimleri bu yönde değiştirilmiştir. İlk klonlanan DNA onarım geni ERCC1'in herhangi bir XP grubu tamamlamadığı görülmüştür, dolayısıyla ismi kemiricilerde kullanıldığı gibi kalmıştır.

Nükleotid eksizyon onarım yolu karmaşık bir enzim dizisinden oluşmaktadır. NEO reaksiyonlarının tüm genomu kapsayan hasar veya lezyonların onarımı (global genom - NEO) ve genomun transkripsiyona uğrayan aktif kısmında oluşan hasarların daha hızlı onarımına olanak sağlayan transkripsiyon ilişkili - NEO olmak üzere iki alt tipi belirlenmiştir. İki alt tipinde kullanılan enzim setleri aynı olmakla birlikte temel farklılık hasarın tanınma şeklidir.

Onarım mekanizması hasarın tanınması ve onarım faktörlerinin toplanması ile başlamaktadır. Global genom NEO yolunda XP-C, hHR23B ile kompleks oluşturur ve hasarın tanınmasında rol oynar. DNA sarmalının lokal olarak açılması başlar. Protein - protein etkileşimi ile hasarlı bölgeye XP-B ve XP-D helikazlarını içeren genel transkripsiyon faktör kompleksi TFIIH toplanır. ATP'e bağlı bir reaksiyonla DNA sarmalı diğer NEO faktörlerinin bağlanmasını kolaylaştıracak biraz daha açılır. Bu NEO reaksiyonlarının ilk katalitik ve geri dönüşümsüz adımıdır. Hasarlı bölgenin ve akabinde genomdan kesilecek olan bölgenin belirlenmesinden sonra 3 protein daha komplekse katılır: XP-A, XP-G ve Replikasyon Proteini A (RPA). XP-A açık DNA dizisinde hasarı belirler. Replikasyon proteini A açık DNA kompleksini sabitler ve DNA segmentini 3' sonundan kesen bir endonükleaz olan XP-G'yi yerleştirir. Daha sonra ERCC1, XP-F ile bir kompleks oluşturarak DNA'yı 5' sonundan kesecek olan endonükleazı oluşturur. İki uçtan gerçekleşen kesim ile 24-32 nükleotidden oluşan hasarı içeren oligonükleotid DNA dizisinden ayrılır. Replikasyon faktörlerinin aktivasyonu ile boşluk doldurulur ve onarım mekanizması tamamlanır.¹⁶ Şekil 2'de bu mekanizma özetlenmiştir.

Transkripsiyon ilişkili DNA onarımında ise hasar transkripsiyona uğrayan aktif genlerdedir, bazı kanıtlara göre reaksiyonun başlaması için RNA polimerazın elongasyon

formunda olması gereklidir. Hasar elonge olan RNA polimeraz II tarafından başlatılır, global genom NEO'da olduğu gibi aynı enzim dizisi aktive olur.¹⁷



Şekil 2: Platin bazlı kemoterapi eklentilerinin NEO yolu ile onarımı. (A) DNA hasarının tanınması XPC/hHR23B heterodimeri ile tanınması (B) TFIIH ve içerdiği iki helikaz ile hasar civarında yaklaşık 30 bazlık segmentin açılması (C) RPA ve XPA ile segmentin açık tutulması (D) Hasarlı segmentin XPG ile 3' uçtan; ERCC1/XPF heterodimeri ile 5' uçtan kesilmesi (E) Replikasyon faktörleri varlığında oluşan boşluğun DNA polimeraz δ veya ϵ ile tamamlanması¹⁸

ERCC1 VE AKCİĞER KANSERİ: GÜNÜMÜZDEKİ DURUM

İleri evre KHDAK standart tedavisini ikili kemoterapi rejimleri oluşturmaktadır. Diğer evrelerde de kemoterapi lokal tedavi yaklaşımlarına ek olarak uygulanmaktadır. Kemoterapi ilaçlarının seçimi ise yan etki profili, hastanın durumu, klinisyenin deneyimi ve tercihine dayanmaktadır. Tedaviye yanıt oranı % 17-37 arasında değişmektedir ve ileri evrede ortalama sağkalım 6,7-11,3 aydır. İkinci basamak tedavide ise yanıt oranları % 10'a düşmektedir.¹⁹ Akciğer kanseri hücre dizileri ile in vitro yapılan çalışmalarda kemosenitiviteyi yansıtabilecek olası belirteç olarak 100'den fazla aday gen belirlenmiştir. Bunlar arasında en fazla umut vaat edenlerden biri ERCC1'dir.²⁰

Nükleotid eksizyon onarım yolağının fonksiyonel durumu klinik örneklerde ERCC1 ölçümü ile değerlendirilmektedir. Tümör biyopsilerinin genellikle küçük ebatta olması NEO mekanizmasındaki diğer proteinlerin değerlendirilmesine olanak tanımamaktadır. Tümör örneklerinde ERCC1 düzeyi, ters transkriptaz polimeraz zincir reaksiyonu ile mRNA ekspresyonunun ölçülmesi veya immünohistokimyasal olarak kantitatif ERCC1 protein düzeyinin ölçülmesi ile ortaya konmaktadır. ERCC1 mRNA ekspresyon düzeyinin değerlendirilmesi genellikle 18SrRNA veya β -aktin düzeyi referans kabul edilerek yapılmaktadır.

ERCC1'in küçük hücreli dışı akciğer karsinomu için prediktif ve prognostik değerini araştıran en büyük çalışma Olaussen ve arkadaşları tarafından yürütülmüş olan IALT-biyoloji çalışmasıdır. KHDAK için adjuvan kemoterapiyi değerlendiren IALT çalışmasında 1800'ü aşkın olguda adjuvan kemoterapi ile 5 yıllık sağkalımda %4,1'lik fayda izlenmiştir. Bu hastaların 761'inin tümör örneklerinde immünohistokimyasal olarak ERCC1 düzeyi değerlendirilmiştir. Olgular kemoterapi alan ve tedavisiz izlenen iki kolda incelenmiştir. Tedavisiz izlenen grupta ERCC1 (+) olan olguların prognozlarının ERCC1 negatif olanlara göre anlamlı olarak daha iyi olduğu görülürken, kemoterapi alan olgularda ERCC1 negatifliğinin daha uzun sağkalımla ilişkili olduğu görülmüştür (56 aya karşılık 46 ay; p=0.002). Bu çalışmadan çıkan sonuç küratif cerrahi sonrası adjuvan tedavi kararında ERCC1 (-) tümörlerin daha güçlü aday olduğudur.²¹ Küratif cerrahi uygulanan olguların dahil edildiği daha küçük çalışmalarda da benzer şekilde ERCC1'in prognostik değeri olabileceği sonucuna varılmıştır.²²⁻²³⁻²⁴

ERCC1'in ileri evre KHDAK olgularında ve küratif cerrahi sonrası nüks gelişen olgularda prediktif ve prognostik değeri değerlendirildiğinde tüm çalışmalarda istatistiksel anlamlılık düzeyine ulaşmamakla birlikte, ERCC1 (-) olgularda tedavi yanıtının, progresyonsuz sağkalım ve genel sağkalımın daha yüksek olduğu görülmektedir. Bu haliyle ERCC1 iki tarafı keskin kılıca benzetilmektedir. DNA onarım kapasitesi ne kadar düşükse, genom tutarlılığı o kadar azalmakta ve hücrelerin malignite potansiyeli artmaktadır fakat aynı zamanda platin bazlı kemoterapiden alınacak fayda da artmaktadır.²⁵

ERCC1 düzeyine göre yönlendirilmiş kemoterapi uygulanması konusunda ilk prospektif randomize çalışma Cobo ve arkadaşları tarafından yayınlanmıştır.²⁶ 444 ileri evre KHDAK olgusunun dahil edildiği çalışmada, standart kemoterapinin uygulandığı bir kontrol kolu, ve ERCC1 düzeyine göre platin bazlı kemoterapinin uygulandığı bir genotipik kol oluşturulmuştur. Genotipik kolda ERCC1 (+) olan gruba docetaksel/gemcitabine; ERCC1 (-) olan gruba ise docetaksel/cisplatin ikilisi uygulanmıştır. Anlamlı sağkalım ve progresyonsuz sağkalım farkı elde edilemese de yanıt oranlarının genotipik kolda daha iyi olduğu görülmüştür.

Bir diğer araştırılan noktalardan biri ERCC1 geni polimorfizmlerinin bazal ekspresyonunun platin bazlı kemoterapi alan olgulardaki prediktif rolüdür. Polimorfizm, mutasyonlardan farklı olarak nüfusun %1'inden fazla görülmekle birlikte, en az sıklıkta rastlanan allel olarak tanımlanır. Tek nükleotid polimorfizmlerinin değerlendirilmesi ilgi çekici bir yöntemdir, çünkü hastalardan alınacak olan venöz kan örneği çalışma için yeterlidir. Kan hücrelerindeki ERCC1 ekspresyonunun tümör dokusundaki ERCC1 aktivitesini yansıtır yansıtmadığı ise henüz aydınlık kazanmamıştır. ERCC1 gen polimorfizmleri ile platin bazlı kemoterapi yanıtı ve sağkalım ilişkisini araştıran ileri evre KHDAK olgularının dahil edildiği iki çalışmada kodon 118'de C/C genotipi ile sağkalımın daha yüksek olduğu görülmüştür (p=0,0058 ve p=0,04).²⁷⁻²⁸ Bir başka çalışmada ise yine kodon 118'de C/T polimorfizmi ve C8092A polimorfizmi değerlendirilmiş, A alleli kopyalarının bulunması ile sonlanımın daha kötü olduğu sonucuna varılmıştır.²⁹ Bu polimorfizme sahip kişilerde mRNA stabilitesinin daha zayıf olduğu düşünülmektedir.

Sonuç olarak kemoterapi direncinin bir belirteci olarak ERCC1'in rolü şu ana kadar hiç bir çalışmada sağlam kanıtlarla ortaya konamamıştır. Benzer şekilde Tablo 4'de görüldüğü

gibi ERCC1 platin bazlı kemoterapi direncinin değerlendirilmesinde tek etkili faktör değildir. Çalışmaların çoğunda ERCC1 incelemeleri küçük tümör örnekleri üzerinde yapılmakta ve bunun tüm tümörün genetik özelliklerini yansıttığı kabul edilmektedir. Aynı şekilde, primer tümör ve metastazlarının ERCC1 ekspresyonlarının benzer olup olmadığı henüz bilinmemektedir. ERCC1'in immünohistokimyasal incelemesi her laboratuvarında kolaylıkla uygulanabilecek bir yöntem olsa da prospektif çalışmalar için optimal eşik değerin belirlenmesi güçtür. Yine de KHDAK olgularında prediktif ve prognostik bir belirteç olarak umut vaat etmektedir.

Tablo 4: Platin bazlı kemoterapi direnç mekanizmaları

PLATİN BAZLI KEMOTERAPİ DİRENÇ MEKANİZMALARI
➤ Nükleotid eksizyon onarım yolu
➤ Yanlış eşleşme (<i>mismatch</i>) onarımı genlerinde mutasyon veya metilasyon
➤ Cisplatin DNA eklentilerine bağlanan nükleer proteinler (H1, HMG1 içeren proteinler)
➤ Cisplatin hücre içi birikiminde azalma (ATP bağımlı mekanizmalar)
➤ Glutatyon/glutatyon asetil-S-transferaz yolu ile detoksifikasyon
➤ Metallothioneinler
➤ BRCA1

AMAÇ

Çalışmamızın esas primer amacı platin bazlı kemoterapi verilen ileri evre küçük hücreli dışı akciğer karsinomu olgularında tümör dokusunda ERCC1 ekspresyonu ile genel sağkalım ve progresyonsuz sağkalım ilişkisinin değerlendirilmesi ve kemoterapi direncinin ortaya konması için tedavi yanıtlarının karşılaştırılmasıdır. Bunun yanı sıra günlük pratikte bireysel kemoterapi seçiminin yapılabilmesi için bronkoskopik olarak elde edilen küçük tümör örneklerinde immünohistokimyasal olarak ERCC1 düzeyinin belirlenmesinin uygulanabilirliğini değerlendirmek amaçlanmıştır.

YÖNTEM

Çalışmada Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi göğüs hastalıkları kliniğinde 2004-2009 yılları arasında izlenen, doku biyopsisi ile küçük hücreli dışı akciğer karsinomu tanısı alan ve platin bazlı kemoterapi uygulanan olgular retrospektif olarak incelenmiştir. ERCC1 immünokimyasal incelemesi için doku örneği yeterli olan 83 evre 3B ve evre 4 KHDAK olgusu çalışmaya dahil edilmiştir. Prognostik değerlendirmenin daha doğru yapılabilmesi için primer tümörüne yönelik küratif cerrahi veya radyoterapi uygulanan olgular çalışma dışı bırakılmıştır.

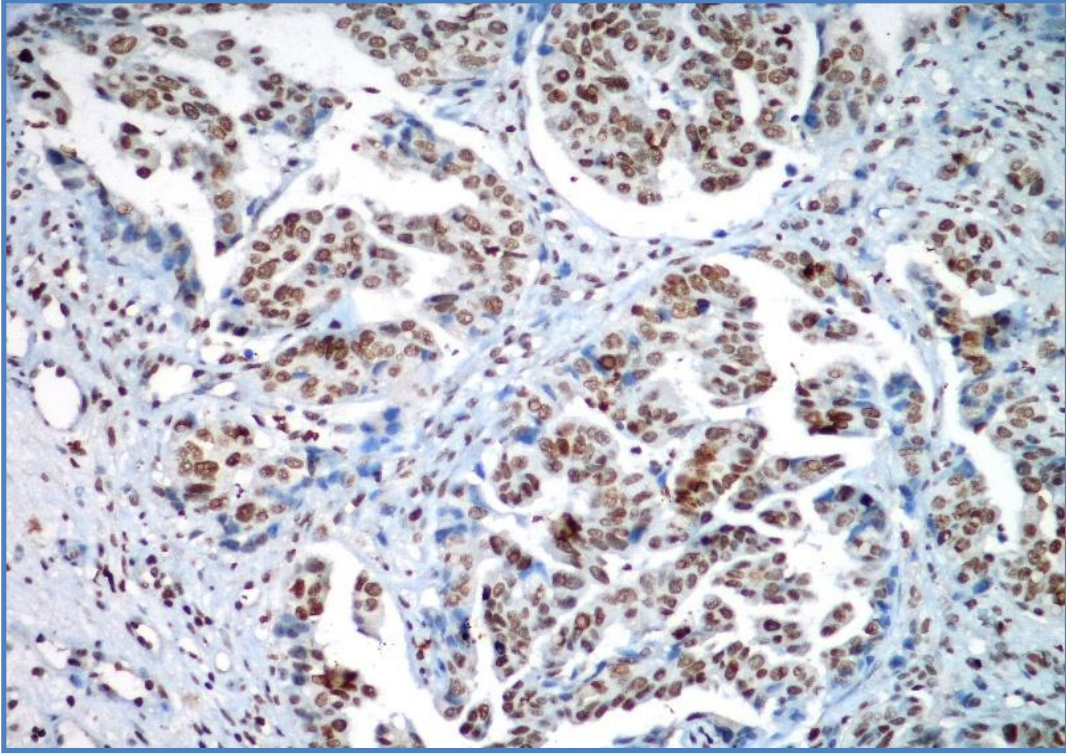
Tüm olgulara fiberoptik bronkoskop (Olympus CLE-10) ile lokal anestezi sonrası (Lidocaine HCl %2 topikal- maksimum 10ml) transnazal veya transoral yolla bronkoskopi uygulanmıştır. Tedavi öncesi alınan biyopsi örnekleri histopatolojik inceleme için değerlendirilmiştir. 77 olguya bronkoskopik biyopsi ile tanı konulurken, 2 olguda torakotomi, bir olguda anterior mediastinotomi ile, bir olguda aksiller lenf bezi eksizyonu, bir olguda metastazektomi, bir olguda ise plevra biyopsisi ile tanı elde edilmiştir.

İMMÜNOHİSTOKİMYASAL İNCELEME

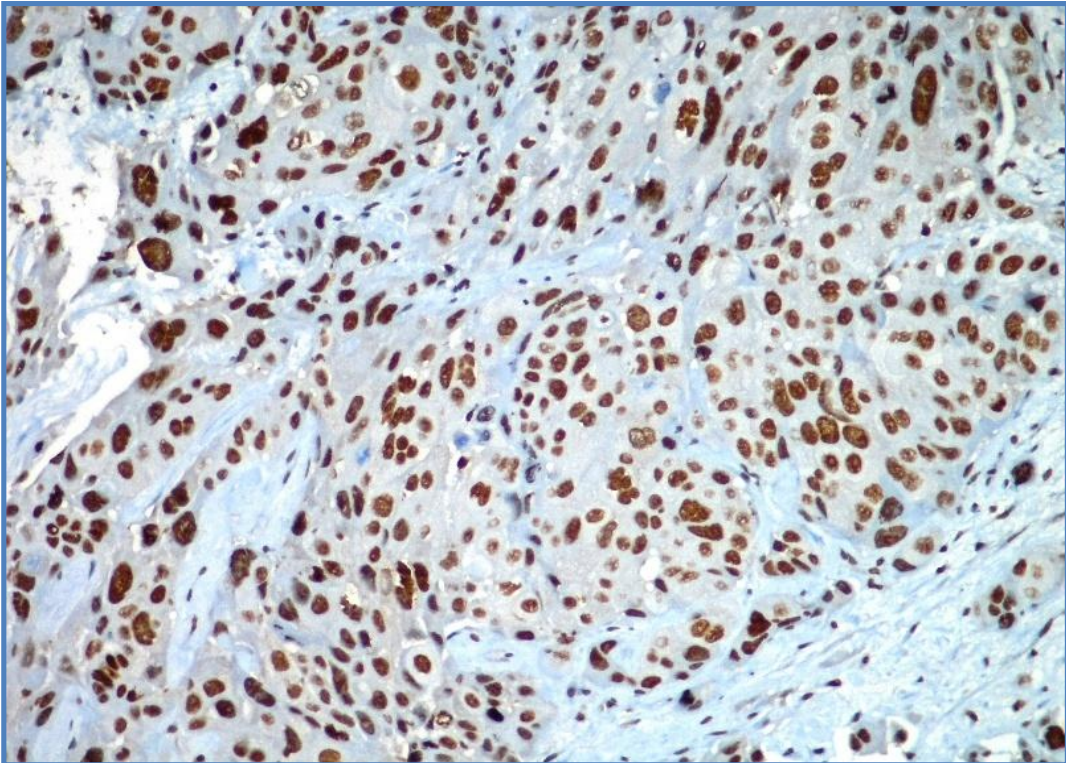
Çalışmada olgulara ait yeterli tümör dokusu içeren parafin bloklardan elde edilen beş mikron kalınlıkta kesitler elektrostatik yüklü lamlara (X-traTM, Surgipath Medical Industries, Richmond, Illinois, USA) alınmış ve 60°C'de en az iki saat kurutulmuştur. Deparafinizasyon ve antijen açığa çıkarma işlemleri de dahil olmak üzere tüm immünohistokimyasal boyama süreci BenchMark XT tam otomatik immünohistokimya boyama cihazında gerçekleştirilmiştir. İmmünohistokimyasal boyama sistemi olarak biyotinsiz, HRP multimer bazlı, hidrojen peroksit substrat ve 3-3' – diaminobenzidin tetrahidroklorit (DAB) kromojeni içeren (*ultraView™* Universal DAB Detection Kit, Catalog number 760–500, Ventana Medical Systems, Tucson, AZ) antikor saptama kiti ile tam otomatik immünohistokimya boyama cihazı (Ventana BenchMark XT, Ventana Medical Systems, Tucson, AZ) kullanılmıştır. Yalnızca primer antikor Anti-ERCC1 (klon SPM243, Spring Bioscience, 1:50 dilüsyon, katalog no: E5674) manuel olarak damlatılmış ve 37°C'de 32 dakika inkübe edilmiştir. Cihazda zıt boyaması hematoksilin ve mavileştirici solüsyon ile tamamlanan kesitlerin dehidratasyonu, ksilen ile şeffaflandırılması ve lamel kapatılması aşamaları elde yapılarak işlem sonlandırılmıştır.

Pozitif kontrol olarak tonsil epitelini kullanılmıştır. Pozitif kontrol için hazırlanan ancak primer antikorun damlatılmadığı kesitler ise negatif kontrol olarak kabul edilmiştir.

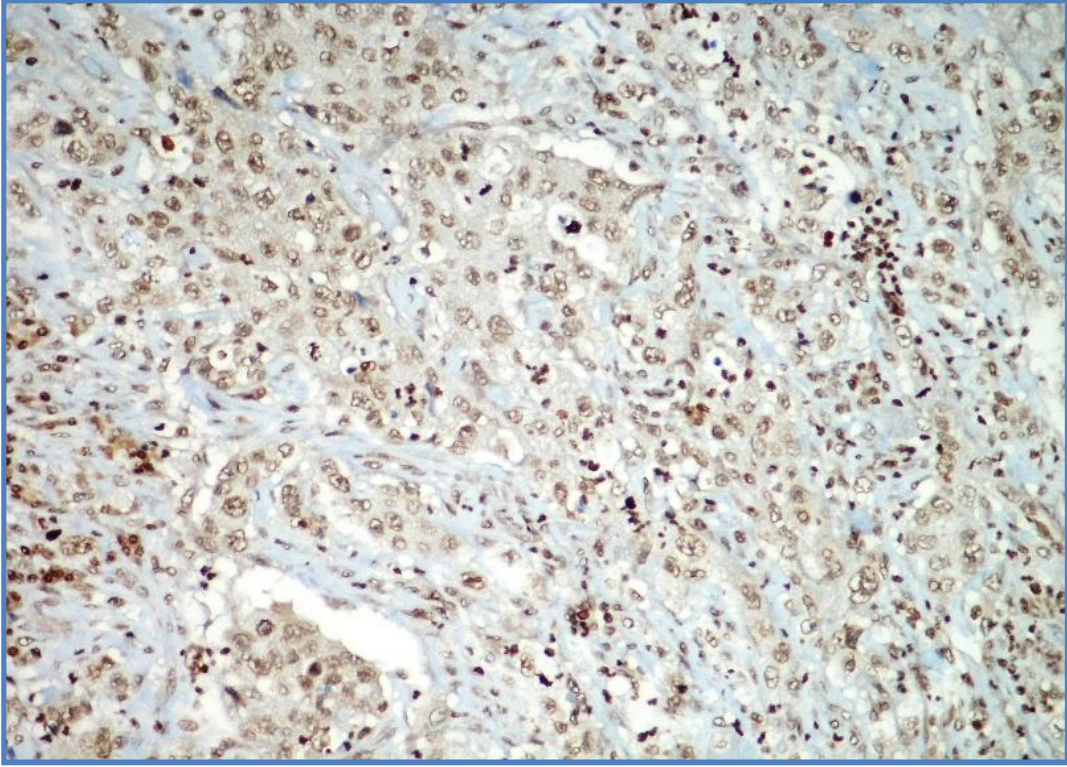
ERCC1 immunreaktivitesi Lee ve ark. larının değerlendirme yöntemi ile skorlanmıştır.³⁰ Buna göre nükleer boyanma gösteren hücre oranı ve boyanma şiddeti değerlendirilmiştir; boyanma dağılımı belirlenmesinde boyanma olmaması 0, %1-9 boyanma 1, %10-49 boyanma 2, %50 den fazla boyanma 3 olarak skorlanırken, boyanma şiddeti için boyanma olmaması 0, zayıf boyanma 1, orta derecede boyanma 2, şiddetli boyanma 3 olarak skorlanmıştır. Şiddet ve dağılımın çarpımı ile bir semikantitatif H skoru elde edilmiştir. ERCC1 ekspresyonunun yüksek veya düşük olarak sınıflanabilmesi için H skorlarının medyan değeri eşik değeri olarak kabul edilmiştir. Şekil 3,4 ve 5'te ERCC1 (-) ve ERCC1 (+) saptanan tümör örneklerinin immünohistokimyasal boyanmasına örnekler verilmektedir.



Şekil 3: Adenokarsinomda (3+) ERCC1 pozitifliği (Anti-ERCC1x200)



Şekil 4: Skuamöz hücreli karsinomda (3+) ERCC1 pozitifliği (Anti-ERCC1x200)



Şekil 5: KHDAK'da (1+) ERCC1 pozitifliği (Anti-ERCC1x100)

YANIT DEĞERLENDİRMESİ

Olguların hepsi tedavi öncesinde toraks bilgisayarlı tomografisi (BT), kemik sintigrafisi ve batin ultrasonografisi (USG) veya izleyen hekim tarafından gerekli görüldüğü durumlarda pozitron emisyon tomografisi (PET) ve kraniyal manyetik rezonans görüntüleme (MRG) ile değerlendirilmiş ve 6. TNM evreleme sistemine göre evrelemeleri yapılmıştır. Tedavi yanıtı değerlendirilmesi toraks bilgisayarlı tomografisi veya pozitron emisyon tomografisi ile hastayı takip eden hekimin inisiyatifinde 2,3,4 veya 6. kürlerden sonra yapılmıştır. Gereğinde tedavi yanıtının değerlendirilmesi amacıyla olgulara kraniyal manyetik rezonans inceleme, kemik sintigrafisi veya batin ultrasonu ile ek değerlendirmeler uygulanmıştır.

İSTATİSTİKSEL ANALİZ

Klinik ve patolojik özelliklerin karşılaştırması *Fisher exact test* ve X^2 testi kullanılarak yapılmıştır. Genel sağkalım ve hastalısız sağkalım oranları *Kaplan Meier metodu* kullanılarak belirlenmiştir. Genel sağkalım kemoterapi başlangıç gününden ölüme kadar geçen süre olarak tanımlanmıştır. Benzer şekilde progresyonsuz sağkalım kemoterapi başlangıcından progresyonun ilk gösterildiği güne kadar geçen süredir. Sağkalan hastaların analizleri çalışma takip süresinin son günü baz alınarak yapılmıştır.

BULGULAR

Çalışmaya dahil edilen olguların yaş ortalaması $57,9\pm 9,1$ 'tür. Olguların %84,3'ü (70 olgu) erkek, %15,7'si (13 olgu) kadındır.

Altmış dokuz (%83) olgunun sigara öyküsü mevcuttur. Bunlardan 42'si (%51) tanı anında aktif içicidir. ECOG performans durumlarına bakıldığında 70 olgunun (%84,3) ECOG 0-1 olduğu görülmektedir. Olguların %45'inde (37 olgu) en az bir yandaş hastalık bulunmaktadır. En sık görülen yandaş hastalıklar hipertansiyon (13 olgu, %16), KOAH (11 olgu, %13) ve diyabetes mellitusdur (11 olgu, %13). Sadece iki olguda yandaş malign hastalık tanısı olduğu görülmüştür. Bir olgu 11 yıl önce larinks karsinomu nedeniyle, diğer olgu 18 yıl önce endometriyum karsinomu nedeni ile opere olmuş ve her iki olgunun da kür oldukları kabul edilmiştir.

Tanı dağılımına bakıldığında 32 olguda (%38,6) adenokarsinom, 26 olguda (%31,3) skuamöz hücreli karsinom saptanmıştır. Tüm olgular evre 3B ve evre 4 küçük hücreli dışı akciğer karsinomu olgularından oluşmaktadır. Olguların yedisinde uzak metastaz saptanmamıştır. Bunlardan 2'si malign plevral effüzyon, 5'i mediasten ve büyük damar invazyonu, 1'i karşı taraf lenf bezi metastazı nedeniyle evre 3B kabul edilmiştir. En fazla saptanan uzak metastaz bölgesi 35 olguda (%42,1) akciğerlerdir, bunu sırasıyla kemik ve sürrenal metastazları izlemektedir. 15 (%18) olguda tanı anında evrelemede PET-BT kullanılmıştır.

Olguların temel klinik ve histopatolojik özellikleri Tablo 5'te özetlenmiştir.

Tablo 5: Olguların temel klinik ve patolojik özellikleri

Karakteristikler	Sayı
Yaş ortalaması (yıl)	57,93 (32-79)
Cinsiyet (Erkek/Kadın)	70 (%84,3) / 13 (%15,6)
Sigara öyküsü	
Aktif içici	42 (%50,6)
Terk	27 (%32,5)
Hiç içmemiş	13 (%15,6)
Histoloji	
KHDAK	25 (%30,1)
Adenokarsinom	32 (%38,6)
Skuamöz Hücreli Karsinom	26 (%31,3)
Performans Durumu (ECOG)	
0	13 (%15,6)
1	57 (%68,7)
2	12 (%14,4)
3	1 (%1,2)
Klinik Evre	
IIIB	7 (%8,4)
IV	76 (%91,6)
Metastatik Bölge	
Beyin	13 (%15,6)
Akciğer	35 (%42,1)
Kemik	22 (%26,5)
Sürrrenal	15 (%18,1)
Karaciğer	7 (%8,4)
Diğer	6 (%7,2)
Nüks şekli	
Lokal nüks	61 (%73,5)
Uzak nüks	23 (%27,7)
Tedavi yanıtı	
Kısmi yanıt	43 (%51,8)
Stabil yanıt	11 (%13,3)
Progresif yanıt	23 (%27,7)

Olguların tümüne platin bazlı kemoterapi uygulanmıştır. Altmış bir (%73,5) olguda 4 kür veya üzeri kemoterapi uygulanabilmiştir. Enfeksiyöz komplikasyonlar ve kemoterapi toksisitesine bağlı şiddetli yan etkiler nedeniyle 13 (%15,6) olguda doz azaltımına gidilmiştir. Uygulanan kemoterapi rejimleri ve dozları Tablo 6'da görülmektedir. En fazla tercih edilen birinci hat kemoterapötik rejim cisplatin/carboplatin + gemsitabine (30 olguda; %36,1) kombinasyonudur. Olguların 46'sında (%55) nüks sonrasında ikinci hat kemoterapi rejimlerine geçilmiştir. En çok tercih edilen ikinci hat rejim 27 olguda (%32,5) tek ajan docetaksel olmuştur. Elli bir olguda (%61,4) izlemlerinin herhangi bir döneminde palyatif radyoterapinin tedaviye eklenmesi gerekli görülmüştür. 24 (%27) olguda beyine, 16 (%19,3) olguda kemiğe, 16 (%19,3) olguda obstrüksiyon nedeniyle toraksa palyatif radyoterapi uygulanmıştır. Çalışmaya alınan olguların tedavi şemaları Tablo 6'da gösterilmiştir.

Tablo 6: Olgulara uygulanan kemoterapi rejimleri ve dozları

Kemoterapi Rejimi	N	%
Cisplatin/Carboplatin + Gemsitabine	30	36,1
Cisplatin/Carboplatin + Etoposide	18	21,7
Cisplatin/Carboplatin + Vinorelbine	15	18,1
Cisplatin/Carboplatin + Docetaksel/Paklitaksel	16	19,3
Cisplatin + Pemetreksed	3	3,6
Mitomycin + İfosfamid + Cisplatin	1	1,2

Tedavi yanıtının değerlendirilmesi 36 olguda (%43) iki, 34 olguda (%41) olguda dört kür kemoterapi verildikten sonra yapılmıştır. Hiç bir olguda tam tedavi yanıtı izlenmezken, 43 olguda (%51,8) kısmi regresyon görülmüştür. 11 olguda (%13,3) stabil yanıt, 23 olguda (%27,7) progresif tedavi yanıtı izlenmiştir. Nüks gözlenen olguların %27,7'sinde uzak metastazla nüks görülmüştür.

ERCC1 ekspresyonu değerlendirildiğinde 50 olgu (%60,2) immünohistokimyasal olarak ERCC1 (+) bulunmuştur. Geriye kalan 33 olgu (%39,8) ERCC1 (-)'tir. ERCC1 (+) ve (-) olan olgular değerlendirildiğinde iki grup arasında yaş dağılımı, cinsiyet, sigara öyküsü, yandaş hastalık, kilo kaybı, ECOG performans skalası, histopatolojik tanı, evre dağılımı, uygulanan

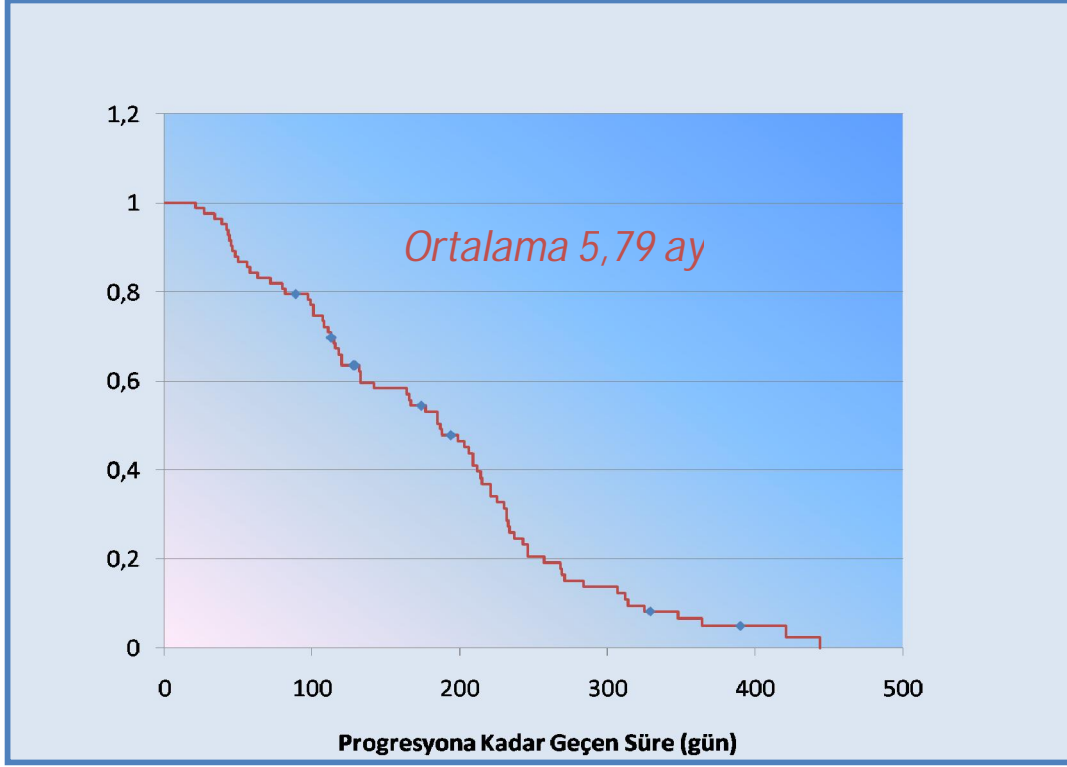
kemoterapi kür sayısı açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmamıştır. ERCC1 ekspresyonu (+) ve (-) olan grupların klinik özellikleri Tablo 7’de görülmektedir.

Tablo 7: ERCC1 ekspresyonuna göre olguların karakteristik özellikleri

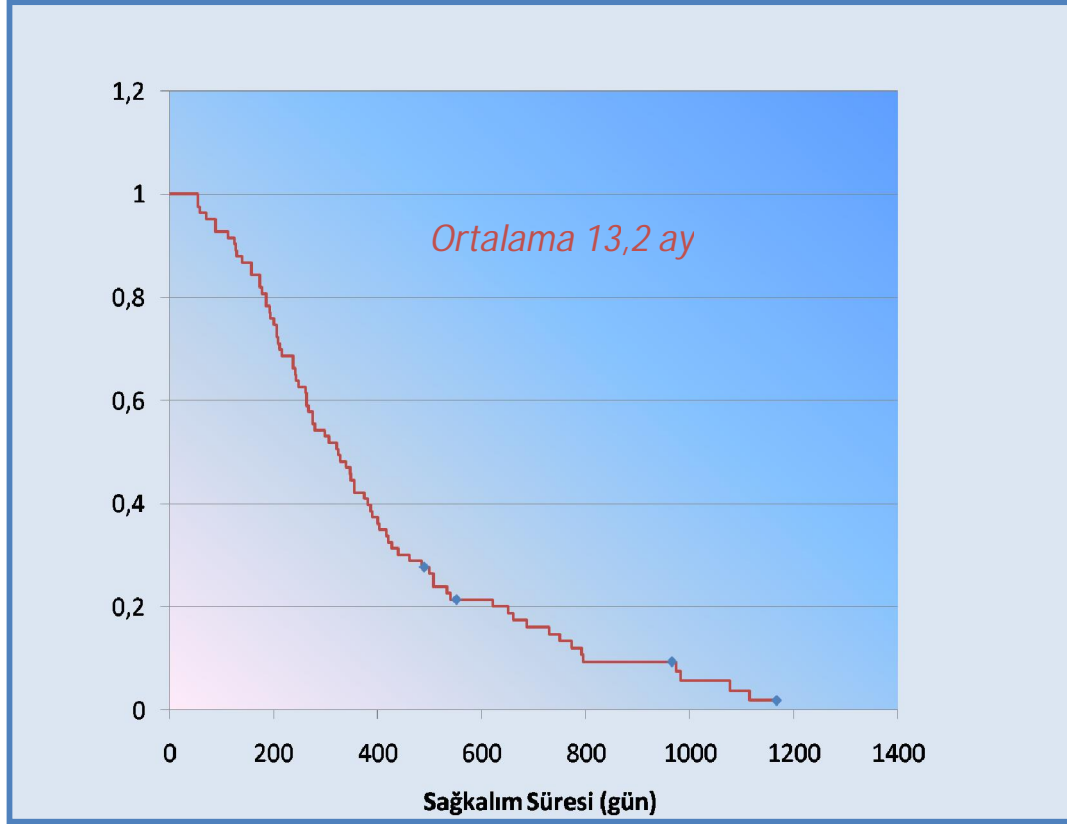
Özellik	ERCC1 (+) (n=50)	ERCC1 (-) (n= 33)	P değeri
Yaş (ort)	58,72	56,73	0,382
Erkek	43 (%86)	27 (%81,8)	0,759
Sigara	43 (%87,8)	26 (%78,7)	0,304
Yandaş hastalık	25 (%50)	12 (%36,4)	0,263
Kilo kaybı	11 (%23,9)	12 (%38,7)	0,207
ECOG 0-1	43 (%86)	27 (%81,8)	0,657
Kısmi yanıt	29 (%63)	14 (%40,3)	0,161
Adenokarsinom	16 (%32)	16 (%48,5)	0,100
Skvamöz hücreli	14 (%28)	11 (%33,3)	
KHDAK	20 (%40)	6 (%18,2)	

Olguların tedavi yanıtı değerlendirildiğinde ERCC1 (+) ve (-) olgular arasında kısmi yanıt, stabil yanıt veya progresif yanıt açısından istatistiksel olarak anlamlı fark gözlenmemiştir. Stabil ve progresif yanıt gösteren olgular ile kısmi tedavi yanıtı gözlenen olgular arasındaki fark değerlendirildiğinde de istatistiksel olarak anlamlı sonuç görülmemiştir ($p= 0,161$).

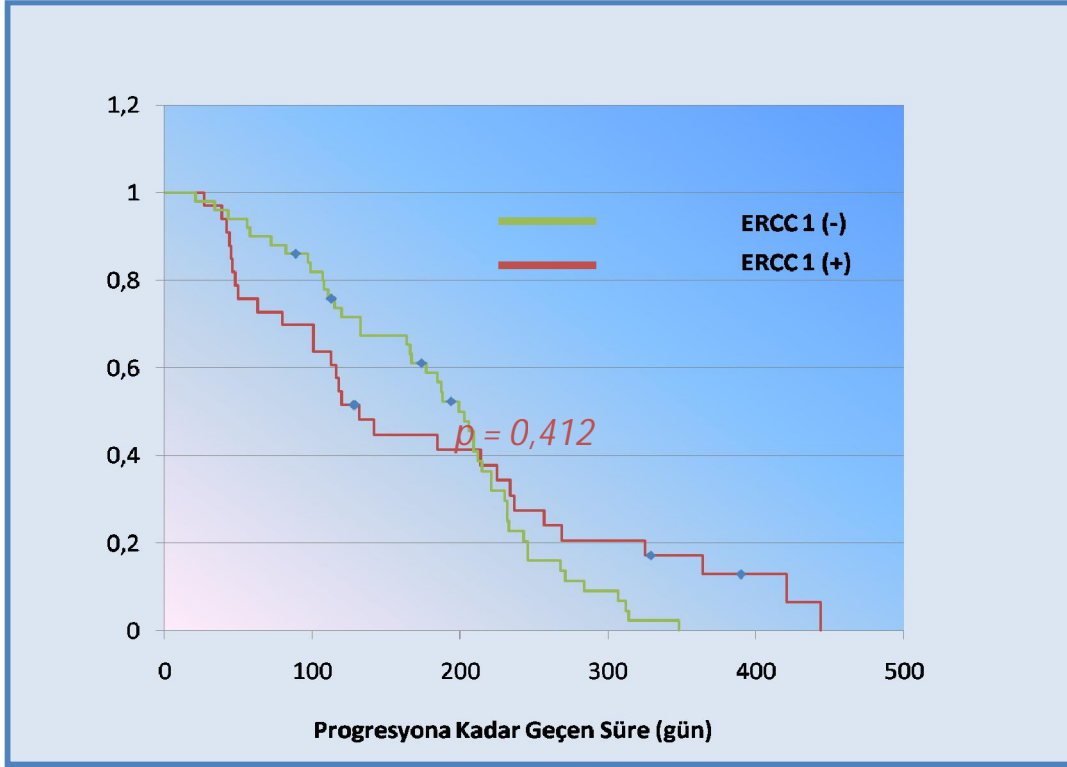
Olguların progresyona kadar geçen ortalama süresi 5,79 aydır. Çalışmanın analizlerinin yapıldığı dönemde olguların sadece 5 tanesinin hayatta kaldığı görülmüştür. Ortalama sağkalım süresi ise 13,12 ay olarak bulunmuştur. Şekil 6 ve 7’de olguların genel sağkalım ve progresyonsuz sağkalım eğrileri görülmektedir. Şekil 8 ve 9’da görüldüğü gibi Kaplan Meier metodu ile olguların progresyonsuz sağkalım ve genel sağkalım oranları değerlendirildiğinde ERCC1 (+) ve ERCC1 (-) olgular arasında anlamlı fark gözlenmemiştir (sırasıyla $p= 0,412$ ve $0,823$).



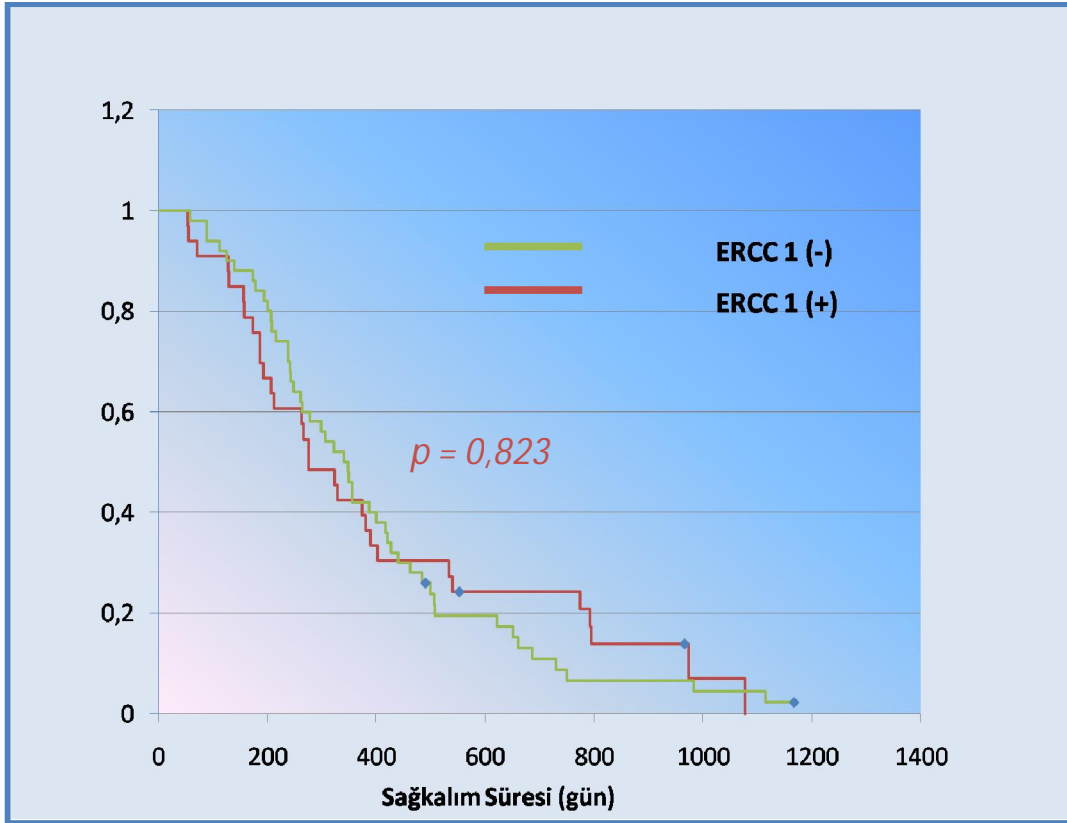
Şekil 6: Olguların progresyonsuz sağkalım eğrisi



Şekil 7: Olguların genel sağkalım eğrisi

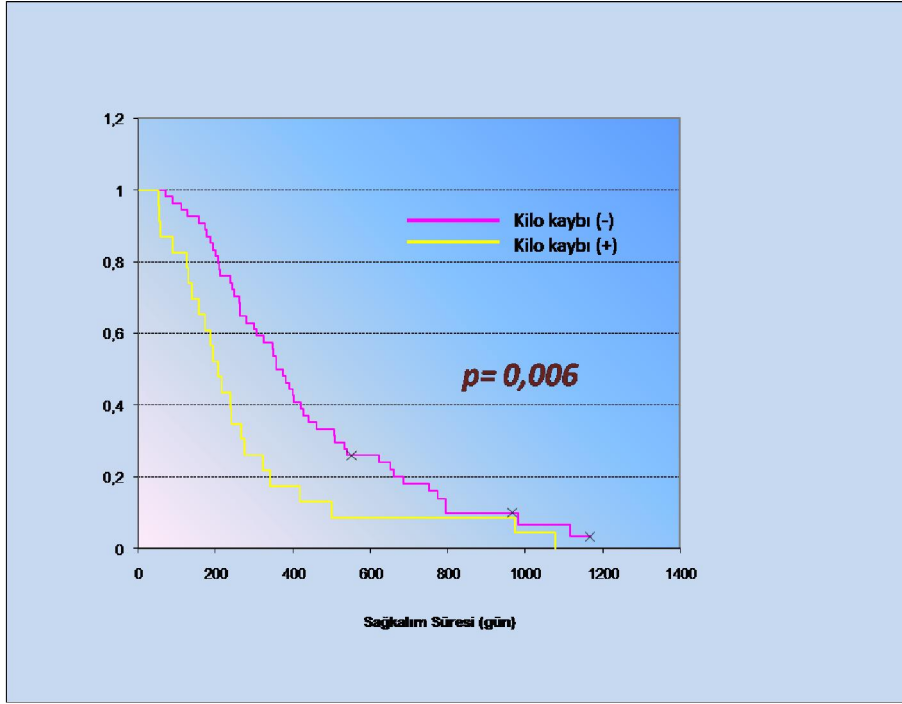


Şekil 8: ERCC1 ekspresyonu ve progresyonsuz sağkalım ilişkisi

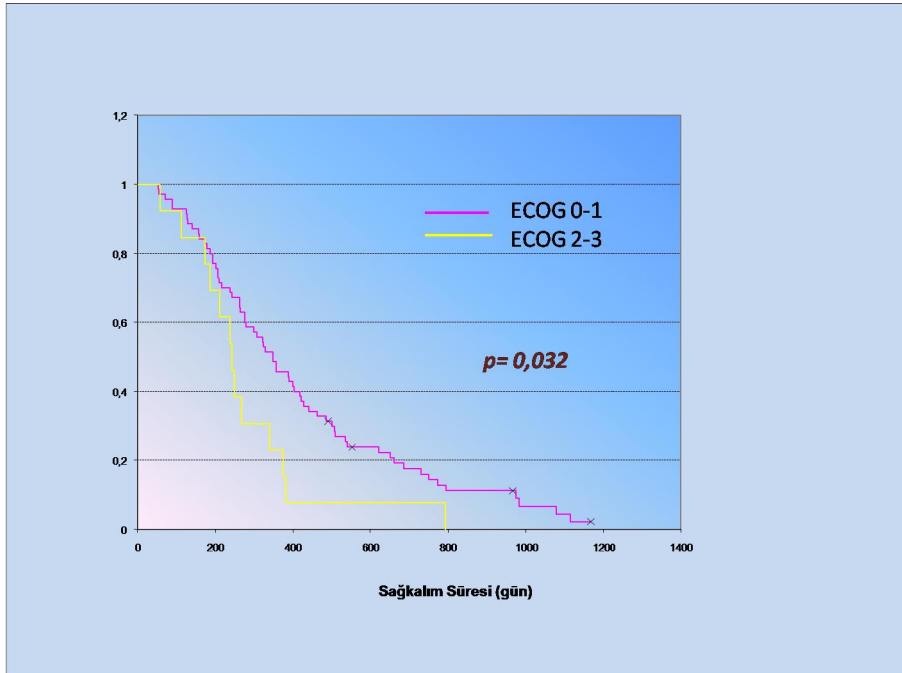


Şekil 9: ERCC1 ekspresyonu ve genel sağkalım ilişkisi

Proгноza etkili olan diğеr faktörler değеrlendirildiğinde kilo kaybı olan olguların ve ECOG performans durumu 2-3 olan olguların sağkalımlarının anlamlı olarak daha kötü olduğu görülmüştür (sırasıyla $p= 0,006$ ve $p=0,032$). Kilo kaybı ve performans durumuna göre gruplanmış Kaplan Meier eğrileri şekil 10 ve şekil 11'de görülmektedir.



Şekil 10: Olguların kilo kaybı varlığına göre genel sağkalm eğrileri



Şekil 11: Olguların performans durumlarına göre genel sağkalm eğrileri

TARTIŞMA

Çalışmamızda ileri evre küçük hücreli dışı akciğer karsinomu olgularında tümör dokusunda ERCC1 ekspresyonu ve platin bazlı kemoterapi ilişkisi değerlendirilmiş, hem genel sağkalım hem de progresyonsuz sağkalım ile ERCC1 ekspresyonu arasında anlamlı ilişki gösterilememiştir. Yine benzer şekilde tedavi yanıtı ile ERCC1 ekspresyonu arasında da herhangi bir anlamlı ilişki gözlenmezken, literatürle uyumlu şekilde kilo kaybı varlığının ve zayıf performans durumunun kötü prognoz ile ilişkili olduğu görülmüştür.

Literatüre bakıldığında ERCC1 ekspresyonu ile kemoterapi yanıtı ilişkisine değin bilgilerin çoğunlukla retrospektif çalışmalardan elde edildiği görülmektedir. İlk olarak prelinik çalışmalarda teratom hücrelerinin cisplatine aşırı duyarlılığından yola çıkılarak NEO mekanizmasının rolü ortaya konmuştur. Daha sonra klinik çalışmalarda over, mide, kolon ve özefagus tümörleri gibi solid tümörlerde ERCC1 ekspresyonunun prognostik ve prediktif rolü araştırılmış ve genel olarak ERCC1 mRNA ekspresyonu düşük olan olgularda platin bazlı kemoterapi ile daha iyi sağkalım sonuçları görülmüştür.³¹⁻³²⁻³³

Bu çalışmalar temel alınarak farklı evrelerdeki küçük hücreli dışı akciğer karsinomu olgularında ERCC1 ekspresyonunun prognostik ve prediktif değerini araştırmaya yönelik bir dizi çalışma yapılmıştır.

Düşük evreli KHDAK olgularında yapılan çalışmalara bakıldığında en büyük çalışmanın Evre 1A-3B olguları kapsayan bir adjuvan kemoterapi çalışması olan IALT'ın alt kolu olan IALT biyoloji çalışması olduğu görülmektedir.²¹ Bu çalışmada küratif cerrahi sonrası adjuvan tedavi uygulanmayan olgularda ERCC1 pozitifliği ile daha yüksek sağkalım elde edildiği, buna karşın adjuvan platin bazlı kemoterapi uygulanan KHDAK olgularında ise ERCC1 negatifliğinin daha iyi sağkalımla ilişkili olduğu görülmüştür. Küratif cerrahi uygulanan olgularda yapılan daha küçük çaplı çalışmalara bakıldığında ERCC1 pozitif tümörü olan olguların daha iyi sağkalımları olduğu görülmektedir. Bazı çalışmalarda bu, sınırda anlamlılık düzeyindedir. Rosell ve arkadaşlarının yaptığı 67 olguluk çalışmada ise neoadjuvan kemoterapi sonrası cerrahi uygulanan evre 2B - 3B olgularda RRM1 düzeyi ile sağkalım ilişkisi saptanırken, ERCC1 ile anlamlı ilişki görülmemiştir.³⁵ Bu çalışmalarda ERCC1 düzeyi genellikle mRNA düzeyleri belirlenerek yapılmıştır. Çalışmaların özeti Tablo 8'de görülmektedir.

Tablo 8: Küratif cerrahi uygulanan olgularda ERCC1'in prognostik değerini değerlendiren çalışmalar (IHK : immünohistokimyasal yöntem) # olgulara cerrahi öncesi cisplatin + gemsitabine neoadjuvan tedavisi verilmiştir; * skuamöz hücreli olguların ERCC1 d düzeyi daha düşük bulunmuştur; † adenokarsinom olgularında ERCC1 düzeyi daha düşük bulunmuştur

Yazar	Yıl	N	Evre	Yöntem	Progresyonsuz sağkalım	Genel sağkalım
Bepler ³⁴	2003	51	1A-3B	mRNA	-	p=0.01
Rosell ^{35#}	2004	67	2B-3B	mRNA	-	Anlamli fark yok
Simon ^{22*}	2005	51	1A-3B	mRNA	-	p=0.01
Olaussen ^{21†}	2006	372	1A-3B	IHK	-	p=0.009
Kondo ³⁶	2007	86	1A-4	mRNA	-	p=0.05
Zheng ²⁴	2007	187	1A-1B	mRNA	p=0.11	p=0.01
Lee ³⁰	2008	130	1A-3B	IHK	-	p=0.046

ERCC1 ekspresyonunun prediktif rolüne dair en büyük kanıt yine IALT biyoloji çalışmasından gelmektedir. Bu çalışmanın yanı sıra Okuda ve arkadaşları küratif cerrahi ve adjuvan cisplatin bazlı kemoterapi uygulanmış 90 KHDAK olgusunda ERCC1 negatifliği ile sağkalımın daha yüksek olduğunu görmüşlerdir.³⁷ Azuma ve arkadaşları ise iki çalışmada küratif cerrahi uygulanan ve sonrasında nüks gelişen olgularda ERCC1 düzeyi ile sağkalım ve tedavi yanıtlarını değerlendirmişlerdir. Her iki çalışmada da ERCC1 ile tedavi yanıtı ilişkisi gösterilememiştir, ancak anlamlı olarak ERCC1 negatif olguların daha uzun sağkalımlarının olduğu görülmüştür. İlk çalışmada tioredoksin ve p53 düzeyleri de değerlendirilmiş, ancak bu proteinlerle sağkalım ilişkisi gösterilememiştir.³⁸ İkinci çalışmada tedavi olarak carboplatin ve paklitaksel rejimi seçilmiş; en iyi sağkalımın hem ERCC1 hem β -tubulin negatif olan hasta grubunda olduğu görülmüştür.³⁹ Tablo 9'da bu iki çalışma özetlenmiştir.

Tablo 9: Küratif cerrahi sonrası nüks gelişen ve platin bazlı kemoterapi uygulanan olgularda ERCC1 ile sağkalım ilişkisini değerlendiren çalışmalar. ERCC1 negatif olgu lehine sağkalım faydası görülmüştür.

Yazar	Yıl	N	Evre	Tedavi yanıtı	Progresyonsuz sağkalım	Genel sağkalım
Azuma ²⁵	2007	67	1-3B	Fark yok (%29 ve %28)	p=0.0075 (44'e 26 hafta)	p=0.0006 (73'e 44 hafta)
Azuma ²⁶	2009	45	1-3B	p=0.729	p=0.046	p=0.010

Mediastinal lenf bezi metastazı olan olgularda neoadjuvan kemoterapi veya kemoradyoterapi sonrası sağkalım oranları değerlendirildiğinde Hwang ve arkadaşlarının yaptığı 83 olguluk seride genel sağkalımın yine ERCC1 negatif olgular lehine daha uzun olduğu görülmüştür (89,2 aya karşılık 26 ay; p= 0,014).⁴⁰ 35 olguluk bir başka çalışmada ise radyolojik yanıt oranı neoadjuvan kemoterapi alan grupta ERCC1 negatif olgularda daha yüksek bulunsa da progresyonsuz sağkalım veya genel sağkalım oranları arasında herhangi bir farklılık gözlenmemiştir.⁴¹ Eş zamanlı kemoradyoterapi uygulanan 34 olguluk bir başka çalışmada da ERCC1 negatifliğinin tedavi yanıtı ve progresyonsuz sağkalımla anlamlı ilişkisi olduğu ancak genel sağkalım oranları değerlendirildiğinde anlamlı fark olmadığı görülmüştür.⁴²

Çalışmamızda olduğu gibi ileri evre akciğer karsinomu olgularında ise bu konu üzerine çalışmalar daha kısıtlıdır. Lee ve arkadaşlarının yakın zamanda yayınladığı çalışmada platin bazlı kemoterapi uygulanan 50 evre 3B ve evre 4 KHDAK olgusu ERCC1, bcl-2, p53 ve Bax ekspresyonu açısından immünohistokimyasal olarak değerlendirilmiştir.³⁰ %56 olguda ERCC1 pozitif bulunmuştur, genel sağkalım oranları açısından ERCC1 negatifliği lehine sınırdan anlamlılık gözlenmiştir (p=0.055). Çok değişkenli analizde ise ERCC1 ekspresyonunun düşük performans durumu ve hastalık kontrolünün sağlanamaması ile birlikte bağımsız prognostik faktör olduğu görülmüştür. İleri evre KHDAK olgularının değerlendirildiği bir başka çalışmada, cisplatin + gemitabine kemoterapisi uygulanan 56 olguda ERCC1 ekspresyonu ile tedavi yanıtı ilişkisi saptanamazken, genel sağkalımın ERCC1 negatif olgularda daha iyi olduğu görülmüştür.⁴³ Watchers ve arkadaşları ise daha farklı bir yol izleyerek, cisplatin ve gemitabine kemoterapisi uygulanan ileri evre KHDAK olgularından genel sağkalımı en düşük

ve en yüksek olan hasta gruplarını ERCC1, BRCA1 ve hRad51 pozitifliği açısından değerlendirmiştir, ancak bu DNA onarım proteinlerinin hiç biri ile sağkalım veya tedavi yanıtı ilişkisi gösterememişlerdir.⁴⁴ Yine yakın zamanda yayınlanan Reynolds ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ise ileri evre, performans skoru 2 olan 170 olguya tek ajan gempitabine veya carboplatin ve gempitabine kombinasyonu uygulanmış, ERCC1 ve RRM1 düzeyleri değerlendirilmiştir. Her iki protein düzeyinin tedavi yanıtı ile ters korelasyon gösterdiği ancak progresyonsuz sağkalım veya sağkalım düzeyleri açısından anlamlı fark görülmediği saptanmıştır.⁴⁵ Booton ve arkadaşlarının mRNA analizi kullandıkları çalışmalarında ise çalışmamıza benzer şekilde tedavi yanıtı ve genel sağkalım üzerine ERCC1 düzeyi etkisi gözlenmemiştir.⁴⁶ İleri evre KHDAK olgularında ERCC1'in prediktif ve prognostik değerini araştıran çalışmalar Tablo 10'da özetlenmiştir.

Tablo 10: İleri evre KHDAK olgularında ERCC1 prognostik ve prediktif değerini değerlendiren çalışmalar

Yazar	Yıl	N	Yöntem	Tedavi yanıtı	Genel sağkalım
Lee ³⁰	2009	50	IHC	-	p=0,055
Booton ⁴⁶	2007	66	mRNA	p=0,794	p=0,801
Lord ⁴³	2002	56	mRNA	p=0,310	p=0,046
Ceppi ⁴⁷	2006	61	mRNA	-	p=0,003
Reynolds ⁴⁵	2009	170	IF	P=0,003	p>0,05

Görüldüğü gibi KHDAK olgularında ERCC1 - sağkalım ilişkisine dair veriler çoğunlukla düşük evrelerdeki olgularda yapılan prognostik çalışmalardan gelmektedir. Hedef lezyonların olmadığı adjuvan tedavi çalışmalarında ERCC1 düzeyi ile sağkalım negatif ilişki gösterse de, bu bulgunun ileri evre olgularda palyatif kemoterapi kararında kullanılabileceği meçhuldür. Çalışmamızda ileri evre KHDAK olgularının dahil edilmesi ile lokal küratif tedavi uygulanmayan, sadece kemoterapi uygulanan olgularda ERCC1 düzeyinin sağkalım etkisini ortaya koyabilmek amaçlanmıştır. Ancak ERCC1 düzeyinin tedavi yanıtı veya sağkalım süreleri ile ilişkili olmadığı görülmüştür. Yukarıda bahsedildiği gibi ileri evre olguları ele alan çalışmalarda bulgular değişkendir.

Bu bulgunun çeşitli sebepleri olabilir. Bunlardan biri ERCC1 düzeyinin mortalite ile ilişkili olduğu düşünülen tek moleküler faktör olmamasıdır. RRM1, BRCA1, tioredoksin, p53

ve β -tubulin gibi bir çok faktör çalışmalarda ele alınmış, bireysel kemoterapi kararında umut vaat eden belirteçlerdir.⁴⁸ Ribonükleotid redüktaz enzimi deoksiribonükleotidlerin karşılık gelen ribonükleotidlerden sentezini sağlar.⁴⁹ RRM1 ise bu enzimin düzenleyici alt birimi olup, muhtemelen tümör süpresyon geni PTEN yolu ile tümör hücrelerinin göçünü ve metastaz oluşumunu baskılamaktadır.⁵⁰ Bir kaç çalışmada gemsitabine uygulanan olgularda RRM1'in prediktif rol oynayabileceği belirtilmiştir.⁵¹ β -tubulin ise taksan duyarlılığının bir belirteci olarak değerlendirilmektedir.³⁹ İlk olarak meme ve over kanserlerinde tanımlanan BRCA1 de DNA tamir mekanizmalarında görev almaktadır.⁵² Platin bazlı kemoterapi ve taksan yanıtı ile ilişkili olduğu düşünülmektedir.⁵³

Başka bir husus platin direnci mekanizmaları arasında nükleotid onarım mekanizması dışında yolların da bulunmasıdır.⁵⁴ Uygunsuz eşleşme (*mismatch*) onarımında bozukluk bu yollarında başında gelmektedir. Bu onarım yolundaki bozukluk kalıtsal olabileceği gibi epigenetik sessizleşme de söz konusu olabilir. Epigenetik sessizleşme en sık Mut L homolog 1 (hMLH1) promotör hipermetilasyonu yolu ile olmaktadır.⁵⁵ Bir diğer mekanizma BRCA1 ve BRCA2 tümör süpresör genleridir. BRCA1 ilişkili genom gözetim kompleksi uygunsuz eşleşme onarımında rol alan bir dizi DNA onarım proteinini içermektedir. Bunların dışında ATP bağımlı pompa sistemi ile hücre içi cisplatin birikiminin azalması, glutatyon/glutatyon asetil-S-transferazlar ile cisplatin detoksifikasyonu gibi mekanizmalar sayılabilir.⁵⁶

Bir diğer dikkate alınması gereken faktör primer tümör ile metastazların genetik profillerinin birbirinden farklı olabileceğidir. Çalışmamızda üç olgu hariç immünohistokimyasal çalışma yapılan tümör örnekleri primer tümörden elde edilmiştir. Daha önce epitelyal büyüme faktörü reseptörü (EGFR) düzeylerinin KHDAK olgularında primer tümör ve metastazlarında farklı düzeylerde olabileceği gösterilmiştir.⁵⁷⁻⁵⁸ Gomez-Roca ve arkadaşları, yaptıkları çalışmada 49 KHDAK olgusunun primer tümör ve metastazlarında EGFR, ERCC1, vasküler endotelyal büyüme faktörü reseptörü (VEGF) ve Ki67 düzeyleri uyumluluğunu değerlendirmişlerdir.⁵⁹ Olguların %39'unda primer tümörle senkron metastaz gözlenirken, %61 olguda metakron metastaz saptanmıştır ve bu olguların yaklaşık üçte birine metastaz tespit edilmeden önce adjuvan kemoterapi uygulanmıştır. Sonuçlara bakıldığında özellikle beyin ve sürrenal metastazlarında olmak üzere, ERCC1 ekspresyonunun primer tümöre göre metastazlarda daha çok ekspresyonunun olduğu görülmüştür. %41 olguda ERCC1 düzeylerinde uyumsuzluk saptanmıştır. 14 olguda primer tümörde ERCC1 (-)

iken, metastazda ERCC1 (+) olduğu saptanmıştır. Evre 4 olgularda sağkalım belirleyicisinin özellikle metastazların seyri olduğu düşünülürse, primer tümörün incelenmesi ile elde edilen bilgiler ile yanlış sınıflamaların yapılması muhtemeldir. Primer ve metastazlar arasında böyle bir farkın olması akla iki olasılığı getirmektedir: Tümörün kendisinin belirteçlerin ekspresyonu açısından heterojen olması ya da metastatik hastalık sürecinde biyolojik değişimin gerçekleşmesi.

Çalışmamızda olduğu gibi tümörün tiplendirilmesinde tanı çoğunlukla bronkoskopi yoluyla alınan az miktarda doku içeren örneklerin incelenmesi ile elde edilmektedir. Taillade ve arkadaşlarının preoperatif doku biyopsileri ile cerrahi örneklerin immünohistokimyasal incelemesinin karşılaştırdığı bir çalışmada ERCC1 pozitifliği açısından % 9 olguda uyumsuzluğun olduğu görülmüştür.⁶⁰ Bu oran EGFR ve pAkt düzeyleri için daha da yüksektir. Dolayısıyla tümörün heterojen yapıda olabileceği ve biyopsi örneklerinin yanlış yönlendirebileceği akılda tutulması gereken bir konudur. Adjuvan tedavi çalışmalarında küratif cerrahi ile tüm tümör dokusunun çıkarılması, ERCC1 düzeyinin daha sağlıklı değerlendirilmesine olanak tanımaktadır. Bu bulgular moleküler analiz ile yönlendirilmiş tedavi uygulamalarında metastatik doku örneklemezinin gerekliliğini düşündürmektedir.

Bir başka nokta intratümoral ve metastatik heterojenitenin yanı sıra etnik kökeni farklı olan kişilerde ERCC1 ekspresyonunun farklı olup olmadığıdır. Bildiğimiz kadarıyla daha önceden Türkiye'de bu konuda çalışma yapılmamıştır. Etnik özelliklere ait farklılıkların araştırılması için daha çok gen polimorfizmleri üzerinde durulmaktadır. Afrikalı Amerikalı nüfusta akciğer kanserinin 5 yıllık sağkalım oranları daha düşük olduğunu öne süren çalışmalar mevcuttur. Afrikalı Amerikalı nüfus ile Avrupalı Amerikalı nüfus arasında ERCC1 N118N polimorfik türevi açısından anlamlı fark gözlenmiş, bunun DNA onarım yolu fonksiyonunda farklılığa yol açacağı düşünülmüştür.⁶¹ Yine akciğer kanseri riski açısından Latin Amerikalı ve Afrikalı Amerikalı nüfusun nükleotid eksizyon onarım genleri değerlendirildiğinde farklı proteinlerin farklı etnik kökenlilerde daha önemli olabileceği belirtilmiştir.⁶² Ancak kodon 118 C/T ve C8092A gibi onarım işlevini bozacak olan bu polimorfizmlerin translasyonu azaltarak nükleus içinde daha düşük protein düzeyine yol açacağı bu sebeple bu olguların ERCC1 (-) olarak saptanacağı belirtilmektedir. Yine de bu konudaki veriler kısıtlıdır, daha ileri çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

Çalışmamızda farklı histolojik alt tiplerde ERCC1 ekspresyonu açısından herhangi bir farklılık gözlenmemiştir. IALT biyoloji çalışmasında skuamöz hücreli akciğer karsinomunda adenokarsinoma göre daha fazla ekspresyon gözlenmiştir.²¹ Simon ve arkadaşlarının çalışmasında ise durum bunun tersidir.²²

Tümör dokusunda ERCC1'in saptanabilmesi ilk olarak mRNA analizlerinin yapılması ve bunun β -aktin veya 18SrRNA gibi referans genleri baz alınarak düzeyinin sayıya dökülmesi ile mümkün olmuştur. Ancak mRNA analizleri her merkezde yapılabilen testler değildir. İmmünohistokimyasal olarak protein düzeylerinin belirlenebilmesi ile daha geniş hasta popülasyonlarında daha kolay çalışmanın, aynı zamanda hemen her patoloji laboratuvarında analiz yapılabilmesinin yolu açılmıştır. Bizim çalışmamızda da ERCC1 düzeyleri immünohistokimyasal olarak belirlenmiştir. Peki, immünokimyasal olarak protein miktarının belirlenmesi gerçekten nükleotid eksizyon onarım mekanizmasının işlevini yansıtmakta mıdır? Zheng ve arkadaşlarının yaptığı ERCC1 ve RRM1'in prognostik değerini değerlendirdikleri çalışmada 187 olgunun ERCC1 ve RRM1 protein ekspresyonu otomatik kantitatif analiz (AQUA) yöntemiyle belirlenmiştir. Aynı zamanda 44 olguda RNA izolasyonu yapılmış ve ters transkriptaz polimeraz zincir reaksiyonu kullanılarak 18SsRNA düzeyi baz alınarak mRNA düzeyleri saptanmıştır. RRM1 için iki yöntemle belirlenen ekspresyon düzeyi birbiri ile uyumlu izlenirken ($\rho=0.41$, $p=0.004$), ERCC1 için aynı uyum gözlenmemiştir ($\rho=0.1$, $p>0.30$).²⁴ Fakat, bu noktanın aydınlatılabilmesi için de daha büyük çalışmalara ihtiyaç vardır.

İmmünohistokimyasal olarak ERCC1 düzeyinin derecelendirmesi görsel verilere dayanmaktadır. ERCC1 proteininin boyanma şiddeti ve dağılımı birlikte değerlendirilmektedir. Ancak ERCC1 pozitifliğini belirleyecek evrensel bir eşik değer mevcut değildir. Eşik değer çalışılan popülasyonun medyan değeri belirlenerek yapılabilmektedir. İnsan gözü ile yapılan değerlendirmelerin subjektif yönü de dikkate alınırsa, bu durum merkezler arasında sonuçların karşılaştırılmasını olanaksız kılmaktadır.

Çalışmamızın bazı kısıtlılıkları mevcuttur. Öncelikle tek merkezli retrospektif bir analizdir ve olgu sayısı kısıtlıdır. Olguların hepsinde platin bazlı kemoterapi ajanları kullanılmış olsa da uygulanan rejimler çeşitlidir. Daha önce bahsedildiği gibi, biyopsi örneklerinin immünohistokimyasal boyanması tüm primer tümör veya metastatik doku ile uyumlu olmayabilir.

Literatürün geneline bakıldığında prognostik değerin yanı sıra, ERCC1 negatifliği ile kemosenitivite ilişkisi üzerinde durulmaktadır. Adjuvan kemoterapi çalışmalarında hedef lezyonlar olmasa da dolaylı olarak bu ilişki gösterilmektedir. İlk prospektif çalışmalarda moleküler analiz destekli kemoterapi seçiminin uygulanabilir ve etkin olduğu vurgulanmaktadır. Bu çalışmaların ilkinde Simon ve arkadaşları faz II çalışmalarında ERCC1 ve RRM1 düzeylerine göre 53 ileri evre KHDAK olgusunu farklı kemoterapi kollarına katmanlamışlardır.⁶³ Sonuç olarak %44'lük yanıt oranı, %59'luk 1 yıllık sağkalım elde etmişler ve ortalama genel sağkalımı 13,3 ay olarak saptamışlardır. Benzer şekilde Cobo ve arkadaşları 444 ileri evre KHDAK olgusu içeren çalışmalarında hastaları genotipik ve kontrol kolu olmak üzere iki kola ayırmışlardır.²⁶ Kontrol koluna cisplatin - docetaksel ikilisi kullanılmış, genotipik kolda da ERCC1 düzeyine göre docetaksel - gemitabine veya cisplatin - docetaksel ikilisi seçilmiştir. Yanıt oranları genotipik kolda anlamlı olarak daha yüksek bulunmuş ancak kollar arasında progresyonsuz sağkalım ve genel sağkalım açısından fark izlenmemiştir.

Sonuç olarak, etkin moleküler analize dayalı bireyselleştirilmiş kemoterapi uygulamalarına geçilebilmesi için çok merkezli prospektif çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır. Adjuvan tedavi yaklaşımlarından farklı olarak metastatik hastalığı olan bireylerde kemoterapi yanıtı ve sağkalımın değerlendirilmesinde intratümoral ve metastatik heterojenitenin değerlendirilmesi gereklidir.

ÖZET

Akciğer kanseri sigara içme alışkanlığındaki artışa paralel olarak 1985'ten itibaren dünya genelinde en sık görülen kanser türü haline gelmiştir. Tüm dünyada kanser olgularının %12,4'ünden sorumludur. Kansere bağlı ölümlerde de dünya genelinde %17,6 oranla birinci sırada bulunmaktadır. Küçük hücreli dışı akciğer karsinomu (KHDAK) akciğer kanseri olgularının yaklaşık %85'ini oluşturmaktadır.

Küçük hücreli akciğer dışı karsinomu olgularının tedavisinde ikili kemoterapi rejimleri yaygın olarak kullanılmaktadır. Hangi hastaların hangi kemoterapi rejimlerinden daha fazla fayda göreceğini bilmek hem etkin tedavi protokollerinin oluşturulması, hem de kemoterapiye bağlı gereksiz toksisitelerden kaçınılması için önemlidir. Son yıllarda moleküler belirteçlerin tedavi yanıtının öngörülmesinde veya prognoz tayinindeki rolleri üzerine bir çok araştırma yayımlanmıştır. Bu belirteçlerden umut vaat edenlerden biri nükleotid eksizyon onarım mekanizmasında hız kısıtlayıcı basamakta görev alan ERCC1'dir.

Nükleotid eksizyon onarım mekanizması UV radyasyona veya platin bazlı kemoterapiye bağlı gelişen DNA hasarlarının giderilmesinde rol oynar. ERCC1 düzeyinin bu onarım mekanizmasının işlevini yansıttığı düşünülmektedir. Yapılan çalışmalardan genel çıkarılan sonuç ERCC1 düzeyinde düşüklüğün malignite gelişimi için bir predispozan olduğu, buna karşın küratif tedavi uygulanan KHDAK olgularında ERCC1 düzeyi arttıkça sağkalımın uzadığı görülmüştür. ERCC1 negatif olguların daha agresif tümörleri olsa da, bu grup platin bazlı kemoterapiden en fazla fayda görecektir. Bu sebeple ERCC1 düzeyinin tedavi öncesi tespiti bireysel kemoterapi kararında yol gösterici olabilir.

Çalışmamızda platin bazlı kemoterapi uygulanan ileri evre küçük hücreli dışı akciğer karsinomu olgularında ERCC1 düzeyi ile tedavi yanıtı, progresyonsuz sağkalım ve genel sağkalım ilişkisinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Bu amaçla 2004 - 2009 yılları arasında kliniğimizde takip edilmiş 83 evre 3B ve evre 4 KHDAK olgusu retrospektif olarak taranmıştır. Olguların biyopsi örneklerinde immünohistokimyasal olarak ERCC1 düzeyi belirlenmiştir. ERCC1 dağılımı ve şiddeti değerlendirilmiş, buna göre olgular ERCC1 negatif ve ERCC1 pozitif iki gruba ayrılmıştır.

Çalışmaya dahil edilen olguların yaş ortalaması 57,93'tür. Olguların %84,3'ü erkek, %15,7'si kadındır. Tanı dağılımına bakıldığında %38,6 olguda adenokarsinom, %31,3 olguda skuamöz hücreli karsinom saptanmıştır. Olguların yedisinde uzak metastaz saptanmamıştır. Bunlardan 2'si malign plevral effüzyon, 5'i mediasten ve büyük damar invazyonu, 1'i karşı taraf lenf bezi metastazı nedeniyle evre 3B kabul edilmiştir. En fazla saptanan uzak metastaz bölgesi akciğerlerdir (%42,1), bunu sırasıyla kemik ve sürrenal metastazları izlemektedir.

Olguların hepsine platin bazlı kemoterapi uygulanmıştır. %72,5 olguda 4 kür veya üzeri kemoterapi uygulanabilmiştir. Enfeksiyöz komplikasyonlar ve kemoterapi toksisitesine bağlı şiddetli yan etkiler nedeniyle %15 olguda doz azaltımına gidilmiştir. En fazla tercih edilen birinci hat kemoterapötik rejim cisplatin/carboplatin + gempitabine kombinasyonudur.

Tedavi yanıtının değerlendirilmesi 36 olguda (%43) iki, 34 olguda (%41) olguda dört kür kemoterapi verildikten sonra yapılmıştır. Hiç bir olguda tam tedavi yanıtı izlenmezken, 43 olguda (%51,8) kısmi regresyon görülmüştür. 11 olguda (%13,3) stabil yanıt, 23 olguda (%27,7) progresif tedavi yanıtı izlenmiştir. Nüks gözlenen olguların %27,7'sinde uzak metastazla nüks görülmüştür.

ERCC1 ekspresyonu değerlendirildiğinde 50 olgu (%60,2) immünohistokimyasal olarak ERCC1 (+) bulunmuştur. Geriye kalan 33 olgu (%39,8) ERCC1 (-)'tir. ERCC1 (+) ve (-) olan olgular değerlendirildiğinde iki grup arasında yaş dağılımı, cinsiyet, sigara öyküsü, yandaş hastalık, kilo kaybı, ECOG performans skalası, histopatolojik tanı, evre dağılımı, uygulanan kemoterapi kür sayısı açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmamıştır. Olguların tedavi yanıtı değerlendirildiğinde ERCC1 (+) ve (-) olgular arasında kısmi yanıt, stabil yanıt veya progresif yanıt açısından istatistiksel olarak anlamlı fark gözlenmemiştir. Olguların progresyona kadar geçen ortalama süresi 5,79 aydır. Çalışmanın analizlerinin yapıldığı dönemde olguların sadece 5 tanesinin hayatta kaldığı görülmüştür. Ortalama sağkalım süresi ise 13,12 ay olarak bulunmuştur. Kaplan Meier metodu ile olguların progresyonsuz sağkalım ve genel sağkalım oranları değerlendirildiğinde ERCC1 (+) ve ERCC1 (-) olgular arasında anlamlı fark gözlenmemiştir (sırasıyla $p=0,412$ ve $0,823$).

Literatüre bakıldığında KHDAK olgularında ERCC1 ile ilgili çalışmaların çoğunluğunun düşük evreli, küratif cerrahi uygulanan veya adjuvan tedavi adayı olan olgulardan geldiği

görülmektedir. İleri evre KHDAK olgularında bulgular çelişkilidir. Kim çalışmalarda ERCC1 (-) olgularda platin bazlı kemoterapi ile genel sağkalımda artış gözlenirken, bazı çalışmalarda bizim çalışmamızda olduğu gibi istatistiksel olarak anlamlı ilişki gösterilememiştir. Bunun olası sebepleri arasında küçük tümör biyopsilerinde belirlenen ERCC1 düzeyinin tümörün tamamını yansıtmaması bulunmaktadır. Aynı şekilde ileri evre KHDAK olgularında metastazlar ile primer tümör arasında da ERCC1 ekspresyonu açısından farklılık olabilir.

Ayrıca platin bazlı kemoterapi direncinin belirlenmesinde sadece ERCC1 düzeyi, ya da sadece nükleotid eksizyon onarım mekanizması sorumlu değildir. Platin direncinin farklı mekanizmaları olabileceği gibi, ERCC1 dışında başka moleküler faktörler de direncin gösterilmesinde rol oynayabilir.

ERCC1 ve platin bazlı kemoterapi ilişkisini değerlendirmede karşılaşılan güçlüklerden biri ERCC1 düzeyi belirlenmesinde evrensel bir eşik değer olmamasıdır. İmmünohistokimyasal yöntem hemen he patoloji laboratuvarında uygulanabilir olsa da düzey görsel olarak belirlenir, dolayısıyla subjektivite içerir. mRNA düzeylerinin belirlenmesi ile daha külfetli bir yoldur. Bu konuda gerçekleştirilen çalışmaların çoğu retrospektiftir ve olgu sayısı kısıtlıdır.

Sonuç olarak moleküler analize dayalı etkin bireyselleştirilmiş kemoterapi uygulamalarına geçilebilmesi için çok merkezli prospektif çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır. Metastatik hastalığı olan bireylerde kemoterapi yanıtı ve sağkalımın değerlendirilmesinde intratümoral ve metastatik heterojenitenin değerlendirilmesi gereklidir.

KAYNAKLAR

- ¹ Parkin DM, Bray F, Ferlay J, Pisani P. Global cancer statistics, 2002. *CA Cancer J Clin* 2005 Mar-Apr;55(2):74-108.
- ² Besse B, Le Chevalier T. Adjuvant or induction cisplatin-based chemotherapy for operable lung cancer. *Oncology (Williston Park)*. 2009 May;23(6):520-7.
- ³ Groome PA, Bolejack V, Crowley JJ, et al. The IASLC Lung Cancer Staging Project: Validation of the Proposals for Revision of the T, N, and M Descriptors and Consequent Stage Groupings in the Forthcoming (Seventh) Edition of the TNM Classification of Malignant Tumors. *J Thorac Oncol* 2007;2:694
- ⁴ Hoang T, Xu R, Schiller JH, Bonomi P, Johnson DH. Clinical model to predict survival in chemonaive patients with advanced non-small-cell lung cancer treated with third-generation chemotherapy regimens based on eastern cooperative oncology group data. *J Clin Oncol* 2005 Jan 1; 23(1): 175-83.
- ⁵ Stanley KE. Prognostic factors for survival in patients with inoperable lung cancer. *J Natl Cancer Inst* 1980 Jul;65(1):25-32.
- ⁶ Blackstock AW, Herndon JE 2nd, Paskett ED, Perry MC, Graziano SL, Muscato JJ, Kosty MP, Akerley WL, Holland J, Fleishman S, Green MR. Outcomes among African-American/non-African-American patients with advanced non-small-cell lung carcinoma: report from the Cancer and Leukemia Group B. *J Natl Cancer Inst* 2002 Feb 20;94(4):284-90.
- ⁷ Pairolero PC, Williams DE, Bergstralh EJ, Piehler JM, Bernatz PE, Payne WS. Postsurgical stage I bronchogenic carcinoma: morbid implications of recurrent disease. *Ann Thorac Surg* 1984 Oct;38(4):331-8.
- ⁸ The Lung Cancer Study Group. Postoperative T1 N0 non-small cell lung cancer. Squamous versus nonsquamous recurrences. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1987 Sep;94(3):349-54.
- ⁹ Takise A, Kodama T, Shimosato Y, Watanabe S, Suemasu K. Histopathologic prognostic factors in adenocarcinomas of the peripheral lung less than 2 cm in diameter. *Cancer* 1988 May 15;61(10):2083-8.
- ¹⁰ Kwiatkowski DJ, Harpole DH Jr, Godleski J, Herndon JE 2nd, Shieh DB, Richards W, Blanco R, Xu HJ, Strauss GM, Sugarbaker DJ. Molecular pathologic substaging in 244 stage I non-small-cell lung cancer patients: clinical implications. *J Clin Oncol* 1998 Jul;16(7):2468-77.
- ¹¹ Chen HY, Yu SL, Chen CH, Chang GC, Chen CY, Yuan A, Cheng CL, Wang CH, Terng HJ, Kao SF, Chan WK, Li HN, Liu CC, Singh S, Chen WJ, Chen JJ, Yang PC. A five-gene signature and clinical outcome in non-small-cell lung cancer. *N Engl J Med* 2007 Jan 4;356(1):11-20.
- ¹² Azzoli CG, Park BJ, Pao W, Zakowski M, Kris MG. Molecularly tailored adjuvant chemotherapy for resected non-small cell lung cancer: a time for excitement and equipoise. *J Thorac Oncol* 2008 Jan;3(1):84-93.
- ¹³ Rosell R, Fossella F, Milas L. Molecular markers and targeted therapy with novel agents: prospects in the treatment of non-small cell lung cancer. *Lung Cancer* 2002;(38): 43-49
- ¹⁴ Nunez F, Chipchase MD, Clarke AR, Melton DW. Nucleotide excision repair gene (ERCC1) deficiency causes G(2) arrest in hepatocytes and a reduction in liver binucleation: the role of p53 and p21. *Faseb J* 2000; 14:1073-1082.
- ¹⁵ Olausson KA, Mountzios G, Soria JC. ERCC1 as a risk stratifier in platinum-based chemotherapy for nonsmall-cell lung cancer. *Curr Opin Pulm Med* 13:284-289
- ¹⁶ Ludovic C, Gillet J and Scharer OD. Molecular mechanisms of mammalian global genome nucleotide excision repair. *Chem Rev* 2006; 106: 253-276
- ¹⁷ Torneletti S. Transcription coupled DNA repair: directing your effort where it's most needed. *Cell Mol Life Sci* 2009; 66:1010-1020
- ¹⁸ Rosell R, Mendez P, Isla D, Taron M. Platinum resistance related to a functional NER pathway. *J Thorac Oncol* 2007;2:1063-1066

-
- ¹⁹ Simon GR, Ismail-Khan R, Bepler G. Nuclear excision repair-based personalized therapy for non-small cell lung cancer: From hypothesis to reality. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology* 2007;39: 1318-1328
- ²⁰ Sekine I, Minna JD, Nishio K, Tamura T, Saijo N. A literature review of molecular markers predictive of clinical response to cytotoxic chemotherapy in patients with lung cancer. *J Thorac Oncol* 2006;1: 31-37
- ²¹ Olausson KA, Dunant A, Fouret P, Brambilla E, Andre F, Haddad V, Taranchon E, Filipits M, Pirker R, Popper HH, Stahel R, Sabatier L, Pignon JP, Tursz T, Le Chevalier T, Soria JC. DNA repair by ERCC1 in non-small cell lung cancer and cisplatin-based adjuvant chemotherapy. *N Engl J Med* 2006;355:983-91
- ²² Simon GR, Sharma S, Cantor A, Smith P, Bepler G. ERCC1 expression is a predictor of survival in resected patients with non-small cell lung cancer. *Chest* 2005;127:978-83.
- ²³ Lee KH, Min HS, Lee SH, Kim DW, Chung DH, Kim YT, Heo DS, Kim JH, Sung SW. ERCC1 expression by immunohistochemistry and EGFR mutations in resected non-small cell lung cancer. *Lung Cancer* 2008; 60: 401-407
- ²⁴ Zheng Z, Chen T, Li X, Haura E, Sharma A, Bepler G. DNA synthesis and repair genes RRM1 and ERCC1 in lung cancer. *N Engl J Med* 2007;356:800-8.
- ²⁵ Wei Q, Frazier ML, Levin B. DNA repair: a double-edged sword. *J Natl Cancer Inst* 2000; 92:440-441.
- ²⁶ Cobo M, Isla D, Massuti B, Montes A, Sanchez JM, Provencio M, Viñolas N, Paz-Ares L, Lopez-Vivanco G, Muñoz MA, Felip E, Alberola V, Camps C, Domine M, Sanchez JJ, Sanchez-Ronco M, Danenberg K, Taron M, Gandara D, Rosell R. Customizing cisplatin based on quantitative excision repair cross-complementing 1 mRNA expression: A phase III trial in non-small cell lung cancer. *J Clin Oncol* 2007 Jul 1;25(19):2747-54
- ²⁷ Ryu JS, Hong YC, Han HS, Lee JE, Kim S, Park YM. Association between polymorphisms of ERCC1 and XPD and survival in non-small-cell lung cancer patients treated with cisplatin combination chemotherapy. *Lung Cancer* 2004;44:311-6.
- ²⁸ Isla D, Sarries C, Rosell R, Alonso G, Domine M, Taron M, Lopez-Vivanco G, Camps C, Botia M, Nuñez L, Sanchez-Ronco M, Sanchez JJ, Lopez-Brea M, Barneto I, Paredes A, Medina B, Artal A, Lianes P. Single nucleotide polymorphisms and outcome in docetaxel-cisplatin-treated advanced non-small-cell lung cancer. *Ann Oncol* 2004 Aug;15(8):1194-203.
- ²⁹ Zhou W, Gurubhagavatula S, Liu G, Park S, Neuberg DS, Wain JC, et al. Excision repair cross-complementation group 1 polymorphism predicts overall survival in advanced non-small cell lung cancer patients treated with platinum-based chemotherapy. *Clin Cancer Res* 2004;10:4939-43.
- ³⁰ Lee HW, Choi YW, Han JH, Kim JH, Jug JH, Jeong SH, Kang SY et al. Expression of excision repair cross-complementation group 1 protein predicts poor outcome in advanced non-small cell lung cancer patients treated with platinum based doublet chemotherapy. *Lung Cancer* 2009 Sep;65(3):377-82
- ³¹ Li Q, Yu JJ, Mu C, Yunmbam MK, Slavsky D, Cross CL, Bostick-Bruton F, Reed E. Association between the level of ERCC-1 expression and the repair of cisplatin-induced DNA damage in human ovarian cancer cells. *Anticancer Res* 2000;20:645-52
- ³² Metzger R, Leichman CG, Danenberg KD, Danenberg PV, Lenz HJ, Hayashi K, Groshen S, Salonga D, Cohen H, Laine L, Crookes P, Silberman H, Baranda J, Konda B, Leichman L. ERCC1 mRNA levels complement thymidylate synthase mRNA levels in predicting response and survival for gastric cancer patients receiving combination cisplatin and fluorouracil chemotherapy. *J Clin Oncol* 1998;16:309-16
- ³³ Shirota Y, Stoehlmacher J, Brabender J, Xiong YP, Uetake H, Danenberg KD, Groshen S, Tsao-Wei DD, Danenberg PV, Lenz HJ. ERCC1 and thymidylate synthase mRNA levels predict survival for colorectal cancer patients receiving combination oxaliplatin and fluorouracil chemotherapy. *J Clin Oncol* 2001;19:4298-304.

-
- ³⁴ Bepler G, Gautam A, Simon G, Sharma S, Smith P, Cantor A. PTEN, RRM1, and ERCC1 are coexpressed in non-small cell lung cancer (NSCLC) and are predictive of survival. *Lung Cancer* 2003;41(Suppl. 2):76
- ³⁵ Rosell R, Felip E, Taron M, Majo J, Mendez P, Sanchez-Ronco M, Queralt C, Sanchez JJ, Maestre J. Gene expression as a predictive marker of outcome in stage IIB-IIIA-IIIB non-small cell lung cancer after induction gemcitabine-based chemotherapy followed by resectional surgery. *ClinCancer Res* 2004;10:4215-9.
- ³⁶ Kondo K, Fujino H, Takizawa H, Miyoshi T, Hirose Y, Nagao T, Nakagawa Y, Toba H, Yoshida M, Kenzaki K, Sakiyama S, Tangoku A. ERCC1 expression is one of prognostic factors in completely resected non-small cell lung cancer patients with an adjuvant platinum-based chemotherapy. *J Thorac Oncol*. 12th World conference on lung cancer, Seoul, Korea, September 2-6, 2007. 2(8) Supplement 4: S646, August 2007.
- ³⁷ Okuda K, Sasaki H, Dumontet C, Kawano O, Yukiue H, Yokoyama T, Yano M, Fujii Y. Expression of excision repair cross-complementation group 1 and class III beta-tubulin predict survival after chemotherapy for completely resected non-small cell lung cancer. *Lung Cancer* 2008 Oct;62(1):105-12.
- ³⁸ Azuma K, Komohara Y, Sasada T, Terazaki Y, Ikeda J, Hoshino T, Itoh K, Yamada A, Aizawa H. Excision repair cross-complementation group 1 predicts progression-free and overall survival in non-small cell lung cancer patients treated with platinum-based chemotherapy. *Cancer Sci* 2007;98:1336-43.
- ³⁹ Azuma K, Sasada T, Kawahara A, Takamori S et al. Expression of ERCC1 and class III β -tubulin in non small cell lung cancer patients treated with carboplatin and paclitaxel. *Lung Cancer* 2009;64 (3), 326-333
- ⁴⁰ Hwang IG, Ahn MJ, Park BB, Ahn YC, Han J, Lee S, Kim J, Shim YM, Ahn JS, Park K. ERCC1 expression as a prognostic marker in N₂(+) nonsmall-cell lung cancer patients treated with platinum-based neoadjuvant concurrent chemoradiotherapy. *Cancer* 2008; (113),Number 6: 1379-86
- ⁴¹ Fujii T, Toyooka S, Ichimura K, Fujiwara Y, Hota K, Soh J, Kobayashi N, Aoe M, Yoshino T, Kiura K, Date H. ERCC1 protein expression predicts the response of cisplatin-based neoadjuvant chemotherapy in non small cell lung cancer. *Lung Cancer* 2008;59:377-84
- ⁴² Azuma K, Sasada T, Kawahara A, Hattori S, Kinoshita T, Takamori S, Ichiki M, Imamura Y, Ikeda J, Kage M, Kuwano M, Aizawa H. Expression of ERCC1 and class III -tubulin in non-small cell lung cancer patients treated with a combination of cisplatin/docetaxel and concurrent thoracic irradiation. *Cancer Chemother Pharmacol* 2009;64:565-573
- ⁴³ Lord RVN, Brabender J, Gandara D, Alberola V, Camps C. Low ERCC1 expression correlates with prolonged survival after cisplatin plus gemcitabine chemotherapy in non small cell lung cancer. *Clin Can Res* 2002; Vol 8: 2286-2291
- ⁴⁴ Watchers FM, Wong LSM, Timens W, Kampinga HH, Groen HJM. ERCC1, hRad51 and BRCA1 protein expression in relation to tumour response and survival of stage III/IV NSCLC patients treated with chemotherapy. *Lung Cancer* 2005;50: 211-219
- ⁴⁵ Reynolds C, Obasaju C, Schell MJ, Li X, Zheng Z, Boulware D, Caton JR, Demarco LC, O'Rourke MA, Shaw Wright G, Boehm KA, Asmar L, Bromund J, Peng G, Monberg MJ, Bepler G. Randomized phase III trial of gemcitabine-based chemotherapy with in situ RRM1 and ERCC1 protein levels for response prediction in non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol* 2009 Dec 1;27(34):5808-15
- ⁴⁶ Booton R, Ward T, Ashcroft L, Morris J, Heighway J, Thatcher N. ERCC1 mRNA expression is not associated with response and survival after platinum-based chemotherapy regimens in advanced non-small cell lung cancer. *J Thorac Oncol* 2007 Oct;2(10):902-6
- ⁴⁷ Ceppi P, Volante M, Novello S, Rapa I, Danenberg KD, Danenberg PV, Cambieri A, Selvaggi G, Saviozzi S, Calogero R, Papotti M, Scagliotti GV. ERCC1 and RRM1 gene expressions but not EGFR

-
- are predictive of shorter survival in advanced non-small-cell lung cancer treated with cisplatin and gemcitabine. *Ann Oncol* 2006 Dec;17(12):1818-25
- ⁴⁸ Bepler G, Begum M, Simon GR. Molecular analysis-based treatment strategies for non-small cell lung cancer. *Cancer Control* 2008 Apr;15(2):130-9
- ⁴⁹ Elledge SJ, Zhou Z, Allen JB. Ribonucleotide reductase: regulation, regulation, regulation. *Trends Biochem Sci.* 1992;17:119-123
- ⁵⁰ Gautam A, Li ZR, Bepler G. RRM1-induced metastasis suppression through PTEN-regulated pathways. *Oncogene* 2003;22:2135-2142
- ⁵¹ Bepler G, Kusmartseva I, Sharma S, et al. RRM1 modulated in vitro and in vivo efficacy of gemcitabine and platinum in non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol* 2006;24:4731-4737
- ⁵² Futreal PA, Liu Q, Shattuck-Eidens D. BRCA1 mutations in primary breast and ovarian carcinomas. *Science* 1994;266:120-122
- ⁵³ Taron M, Rosell R, Felip E. BRCA1 mRNA expression levels as an indicator of chemoresistance in lung cancer. *Hum Mol Genet* 2004;13:2443-2449
- ⁵⁴ Martin LP, Hamilton TC, Schilder RJ. Platinum resistance: The role of DNA repair pathways. *Clin Cancer Res* 2008;14(5):1291-95
- ⁵⁵ Fink D, Zheng H, Nebel S. In vitro and in vivo resistance to cisplatin in cells that have lost DNA mismatch repair. *Cancer Res* 1997;57:1841-1845
- ⁵⁶ Rosell R, Taron M, Barnadas A, Scagliotti G, Sarries C, Roig B. Nucleotide excision repair pathways involved in cisplatin resistance in non-small-cell lung cancer. *Cancer Control* 2003 Jul-Aug;10(4):297-305.
- ⁵⁷ Italiano A, Burel-Vandenbos F, Otto J. Comparison of the epidermal growth factor receptor gene and protein in primary nonsmall-cell lung cancer and metastatic sites: implications for treatment with EGFR inhibitors. *Ann Oncol* 2006;17:981-985
- ⁵⁸ Gow CH, Chang YL, Hsu YC. Comparison of epidermal growth factor receptor mutations between primary and corresponding metastatic tumors in tyrosine kinase inhibitor-naive non-small-cell lung cancer. *Ann Oncol* 2009;20:696-702
- ⁵⁹ Gomez-Roca C, Raynaud CM, Penault-Llorca F, Mercier O, Commo F, Morat L, Sabatier L, Dartevelle P, Taranchon E, Besse B, Validire P, Italiano A, Soria JC. Differential expression of biomarkers in primary non-small cell lung cancer and metastatic sites. *J Thorac Oncol* 2009 Oct;4(10):1212-20.
- ⁶⁰ Taillade L, Penault-Llorca F, Boulet T, Fouret P, Michiels S, Taranchon E, Mountzios G, Validire P, Domont J, Girard P, Grunenwald D, Le Chevalier T, Soria JC. Immunohistochemical expression of biomarkers: a comparative study between diagnostic bronchial biopsies and surgical specimens of non-small-cell lung cancer. *Ann Oncol* 2007 Jun;18(6):1043-50
- ⁶¹ Gao R, Price DK, Sissung T, Reed E, Figg WD. Ethnic disparities in Americans of European descent versus Americans of African descent related to polymorphic ERCC1, ERCC2, XRCC1, and PARP1. *Mol Cancer Ther* 2008;7(5):1246-50
- ⁶² Chang JS, Wrensch MR, Hansen HM, Sison JD, Aldrich MC, Quesenberry CP Jr, Seldin MF, Kelsey KT, Kittles RA, Silva G, Wiencke JK. Nucleotide excision repair genes and risk of lung cancer among San Francisco Bay Area Latinos and African Americans *Int J Cancer* 2008 Nov 1;123(9):2095-2104
- ⁶³ Simon G, Sharma A, Li X, Hazelton T, Walsh F, Williams C, Chiappori A, Haura E, Tanvetyanon T, Antonia S, Cantor A, Bepler G. Feasibility and efficacy of molecular analysis directed individualized therapy in advanced non small cell lung cancer. *J Clin Oncol* 25:2741-2746