

# Akciğer Kanserinde Proteomik ve Genomik Yaklaşım

## *Proteomic and Genomic Approach to Lung Cancer*

Ferah Ece<sup>1</sup>, Berna Kömürcüoğlu<sup>2</sup>

<sup>1</sup>İstanbul Bilim Üniversitesi, Göğüs Hastalıkları AD, İstanbul

<sup>2</sup>Sağlık Bakanlığı Dr. Suat Seren Göğüs Hastalıkları ve Cerrahisi Eğitim ve Araştırma Hastanesi, İzmir

### ÖZET

Akciğer kanseri dünyada, erkeklerde en sık rastlanılan, kadınlarda ise görülme oranı hızla artan ve en sık ölüme neden olan kanser türüdür. Sıklıkla ileri evrede tanı konulması nedeniyle hastaların yaşam oranları düşüktür. Evre I'de bile küratif tedavilere rağmen yaşam süresinin kısa olması, araştırmacıları daha farklı belirleyiciler araştırmaya yöneltmiştir. Bu derlemede gen ekspresyonunu saptama yöntemleri ve bu konuda yapılan çalışmalar irdelenmektedir.

**Anahtar sözcükler:** akciğer kanseri, gen ekspresyonu, genomik analiz, proteomik analiz

### ABSTRACT

Worldwide lung cancer is the most common cause of death, it is seen frequently in men but also rapidly increasing in women. Survival rate of the patients is low due to usual diagnosis of disease in the late stages. These low survival rates even in stage I disease, after curative treatments has guided investigators to search different biomarkers in lung cancer. In this review, methods of gene expression profiling and studies done in this field are discussed.

**Keywords:** lung cancer, gene expression, genomics, proteomics

Akciğer kanserinin prognozunun kötü olması nedeniyle bu kanser tipinde, moleküler düzeyde değişimlerin saptanarak, erken tanı oranlarını artırmak, tedaviyi iyileştirmek ve prognozu belirleyen yeni belirteçler ortaya koymak büyük önem kazanmıştır.<sup>1</sup> Tümör hücrelerini normal hücrelerden ayırabilen yeni belirleyicilerin bulunması ve akciğer kanseri geliştirebilecek bireylerin saptanması günümüzdeki en önemli amaçtır. Gerçekten de birçok çalışmada, serolojik belirleyicilerin kanser tarama, tanı, tedaviye yanıt, progresyon ve rekürrens belirlenmesinde rolü olduğu gösterilmiştir.<sup>1</sup> Akciğer kanserinin moleküler yapısının belirlenmesinde dokularda ve biyolojik sıvılarda, protein düzeyinden itibaren tümörün biyolojik özellikleri derinlemesine araştırılmaktadır.<sup>1-3</sup>

Proteinler organizmada, biyolojik sistemlerin fonksiyonları ve hücre fenotiplerinden sorumludur. Kanser hücreleri, normal hücrelerden sekrete ettikleri proteinlerle ayrılabilirler. Kanserli hücre proliferasyonu ve aşırı protein sekresyonu

nu sıklıkla birbiriyle ilişkilidir ve diğer yöntemlerin yetersiz kaldığı erken dönemde kanda saptanabilir. Proteomik yaklaşım proteinlerin hücreden nasıl salgılandığı, hücrede hangi fonksiyonu yerine getirdiği ve karşılıklı iletişimleri, hücre zedelenmesinden sonra nasıl değişim gösterdiği ve hastalıkların spesifik belirteçleri olarak oynayabilecekleri rolü araştırır.<sup>2</sup> Bu amaçla binlerce proteinin hızlı ve sistemik analizini yapan iki boyutlu jel elektroforezi, doku spektrometrisi, protein array gibi birçok yeni teknik geliştirilmiştir ve araştırmalarda kullanılmaktadır.<sup>1,2</sup> Kanser erken tanısında proteomik doku örnekleri arasında serum, plazma, cerrahi ve/veya bronkoskopik veya transtorasik iğne aspirasyonu ile elde edilen tümör dokusu örnekleri, plevral sıvı, idrar, balgam ve ekspiryum havası analizi bulunmaktadır.<sup>2-5</sup>

Genomik yaklaşım, hücre genomunun moleküler düzeyde genetik/epigenetik özelliklerinin, cDNA ve oligonükleotidlerin mikroarray yöntemiyle incelenmesine dayanır.<sup>4,6</sup> Kanser histolojik alt tipleri arasındaki heterojenitenin

**Alındığı tarih:** 6 Eylül 2007; **Revizyon sonrası alınma:** 28 Şubat 2008; **Kabul tarihi:** 03 Temmuz 2010

**Yazışma adresi (Address for correspondence):** Doç. Dr. Ferah Ece, Avrupa Florence Nightingale Hastanesi Mehmetçik Caddesi No: 1 Mecidiyeköy İstanbul, Tel: 0 (542) 473 66 33; *E-posta:* fkorap@hotmail.com

© 2010 Türkiye Solunum Araştırmaları Derneği (TÜSAD)

Solunum 2010;12(2): 59–65

Solunum Dergisi'ne [www.solunum.org.tr](http://www.solunum.org.tr) adresinden ulaşabilirsiniz.

belirlenmesi, karsinogenez / DNA tamir mekanizmalarındaki genetik değişimleri ve mutasyonların kanser predispozisyonu ile hastalığın prognozundaki rolünü araştırmak için kullanılır.<sup>3,4</sup>

Genomik ve proteomik inceleme hızlı, birbirini tamamlayan ve paralel analizlerle hücre ya da dokuların salgıladıkları gen ile proteinleri değerlendirir. Kanser dokusunda genomik ya da proteomik incelemelerle, normal doku veya hücreler, kanser hücrelerinin farklı profili belirlenerek tanınmaya çalışılır. Gen ve protein profili ile yeni moleküler hedefler saptanarak, hasta takibinde tedavi yanıtınlığına veya prognozun belirlenmesine katkıları sağlanabilir.<sup>4,7</sup>

## METODOLOJİK YAKLAŞIM

### 2-boyutlu (2-D) jel elektroforez yöntemi

Kompleks dokulardaki yüzlerce proteinin ayrımı ve saptanması için geliştirilen ve sık yararlanan bir yöntemdir. Hücre parçalanması sonucunda oldukça geniş bir yelpazedeki proteinlerin ayrımını sağladığı için çoğu zaman tercih edilmiştir.<sup>1-3</sup>

Bu yöntemde proteinler, elektriksel yüklerine göre izoelektrik odakta (1.ölçüt) ve daha sonra poliakrilamid jel üzerinde, moleküler ağırlıklarına göre ayrışır (2.ölçüt).<sup>2</sup> Fluorimetri veya gümüş boyama yöntemleri ile boyanır ve sabitlenirler. Gümüşleme tekniğiyle binden fazla protein tek bir jelde gözlemlenebilir. Boyanmış jeller lazer dansitometri ile taranır ve oluşan noktalar uygun bir yazılım programıyla kaydedilir.

Aynı jelde iki farklı dokunun doğrudan karşılaştırılmasındaki ve farklı jellerde oluşan yüzlerce noktayı sıraya koymadaki güçlükler gibi problemlerden kaçınmak için, normal ve tümöral hücrelerden oluşan total protein dokusu farklı boylara ayrılaştırılarak, karıştırılıp aynı jelde analiz edilebilir.<sup>1</sup> Farklı floresan boyalarla sınıflanan iki protein havuzu yöntemi "2-D jel elektroforezde farklılık yöntemidir (DIGE)". Floresan boyalarla etiketlenen proteinler bir arada karıştırılarak aynı 2-D jelde analiz edilirler. Bu yöntemle 2-D jel analizinin çoğaltma özelliği, duyarlılığı ve kalitesi artmaktadır.<sup>2</sup>

2-D jel elektroforez yöntemleriyle patolojik dokulardaki çok sayıda proteini ortaya çıkardıktan sonra, doku spektrometrisinin (MS) çeşitli teknikleri kullanılarak farklılaşmış protein noktalarının ayırt edilmesi sağlanmaktadır.

Bu yöntemle akciğer kanserinde birçok moleküler belirteç ortaya konulmuştur. İlk çalışmalarda normal fibroblastlar, periferik kan lenfositleri ve rezeke akciğer kanserli doku karşılaştırıldığında PCNA ve laminin B gibi kanserle ilişkili belirteçler ortaya çıkarılmıştır. MS nokta analiz 2-D jel yöntemi ile sitokeratin 6D ve 8, katepsin tümör proliferasyonunun belirteçleri olarak belirlenmiştir. Bu çalışmalarla sitokeratinin 21'den 14 izoformunun 7, 8, 18, 19 tümör dokusunda aşırı derecede salgılandığı ve CK7 ile CK8 ve CK19

izoformlarından en az birinin yaşam süresi ile ilişkili olduğu gösterilmiştir.<sup>1</sup>

### Doku spektrometrisi

Doku spektrometrisi ile iyonizasyon oluşturularak, doku/elektriksel yük oranlarına göre doku ayrıştırılır. Bu işlem pek çok yöntemle yapılabilir ancak en çok kullanılanı MALDİ-TOF ve MS/MS yöntemleridir.<sup>1-3</sup>

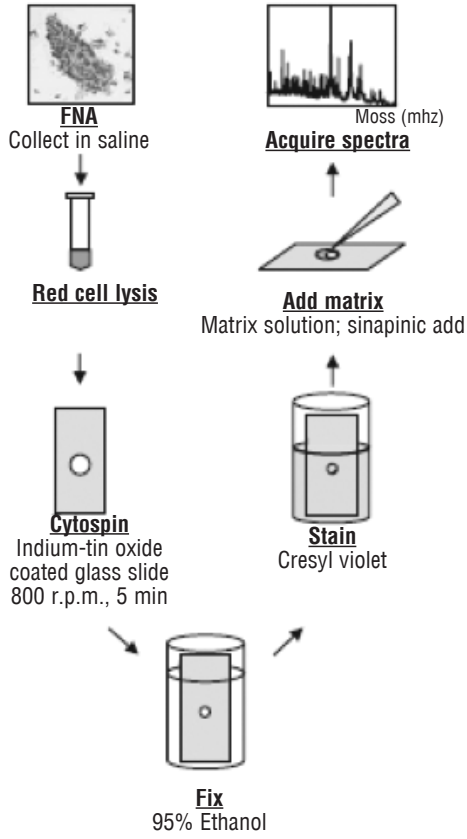
**a.MALDİ-TOF** (matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight): Proteinlerin lazer ile iyonizasyonu sağlanarak, yüksek basınç ile sabit voltaj potansiyeli altında iyonların geçişi sağlanır ve iyonların detektöre çarpmasına kadar geçen zaman ölçülür.

Aynı elektriksel yükteki ağır dokulu iyonların daha düşük ağırlıklara göre daha yavaş hareket edeceği ilkesine göre her iyonun detektöre ulaşma hızı eğrisi oluşturulur. İyonlar Y-eksenini, doku elektrik yükü X-eksenini oluşturur.<sup>3</sup>

TOF yöntemiyle dokudan elde edilen iyonize moleküllerin, doku/elektriksel yük oranı doğrudan ölçülür. İyonizasyon işleminde moleküle proton eklenmesiyle oluşan tek bir pozitif yüklü molekülün moleküler ağırlığı doğru olarak ölçülebilir.<sup>1</sup> Bu yöntemle sadece birkaç hücreden oluşan küçük örnekler de kolayca değerlendirilebilir.

Çalışmalarda akciğer kanseri dokusu ile normal dokunun ayrımında %93 doğruluk, gizli nodal tutulumun saptanmasında %80 doğruluk saptanmıştır. Yöntemin sakıncalı yanları ise, düşük yüzdede proteinin analiz edilebilmesidir. MALDİ-MS yöntemi ile enerji absorbe ettirilerek bir matriksle kristalize edilir ve ardından moleküller hızla gaz faza dönüştürülür. Böylece kompleks dokular parçalanmadan analiz edilebilir. Bu yöntemin avantajları biyolojik örnekleri büyük oranda yansıtabilme kapasitesi, birkaç dakikada analiz edilmesi ile tuzlar, tamponlar ve biyolojik kontaminasyonlar için yüksek tolerasyon sağlamasıdır. Serum, kan, idrar, doku örnekleri, hücreler ya da lazerle hazırlanmış mikro preparatlardaki hücreler çalışılabilir. MALDİ yöntemi ile protein array yönteminin kombinasyonu olan SELDI-TOF yöntemi ise, çözünmüş örneklerin farklı kimyasal yapılarla (hidrofobik, hidrofilik, immobilize metal affiniteli) ya da biyolojik karakterlerle (antikor, antijen, bağlayıcı proteinler, reseptörler) hazırlanmış yüzeylerden doğrudan absorbe edilmesidir. Daha sonra matriks solüsyonları yüzeylere eklenir ve gösterilmiş olduğu gibi, bağlanan proteinler MALDİ-TOF yöntemiyle analiz edilerek kanserli olguların ayırt edilmesi sağlanır.<sup>3</sup>

**b. MS/MS:** İkili doku spektrometrisi, kompleks dokularda peptidlerin ayırt edilmesinde güçlü ve bilgi sağlayıcı bir yöntemdir. Bir doku spektrometrisi tarafından peptid karışımı çözülür ve her peptid, çarpışma hücrelerinde parçalanarak tahmini molekül ağırlıklarına göre bir seri oluşturulur ve 2.



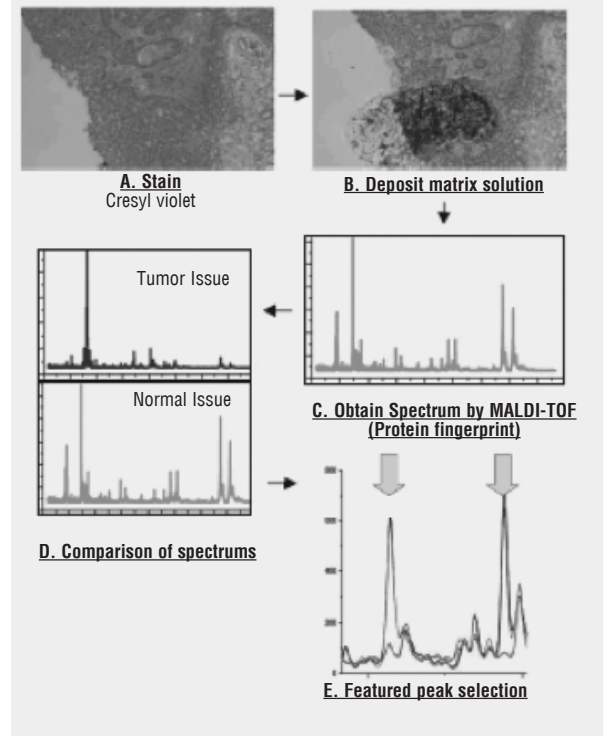
**Şekil 1.** İnce iğne aspirasyonu örneğinin değerlendirilmesi.<sup>3</sup>

İnce iğne aspirasyonu ile elde edilen örnekler, sitospinle iletken cam slaytlar üzerine yerleştirilir. Kristal viyole ile sabitlendikten sonra, etanol ile yıkanarak tümör hücreleri mikroskopa görünür hale getirilir. Tümör hücrelerinin matris solüsyonuyla (sinapnik asit) işaretlenmesinden sonra, MALDI yöntemi kullanılarak spektrum elde edilir.

basamak doku spektrometrisinde analiz edilerek peptid tanımlanır. Bu bilgi bilgisayardaki veritabanıyla analiz edilerek, peptidin tanınıp tanınmadığı belirlenir. Eğer yeterli sayıdaki tanımlanmış peptid tek bir proteinde eşleşirse, tanımlama yapılabilir.<sup>2</sup> MS yöntemi ile sadece protein modifikasyonunun tanımlanması değil, lokalizasyonu, sayısındaki artma da saptanabilir.<sup>1,2</sup>

### Protein mikroarray

Aynı anda çok sayıda örneği ya da proteini incelemeye yarayan bir yöntemdir. Protein array yönteminde, ileri faz sıralama (FPAs) ve ters faz sıralama (RPAs) olmak üzere iki ana yöntem vardır. İleri faz protein sıralama yönteminde, yüzlerce spesifik antikor cam yüzeyde sıralanır ve direkt ya da indirekt olarak parçaları eklenerek işaretlenir. Bu yöntemle, kanserli bir örnekteki çok sayıda proteinin modifikasyonu (fosforilasyon gibi) ve ekspresyon düzeyi hakkında bilgi sahibi olunur.<sup>1,3</sup> Ancak bu yöntemin en önemli sınırları, özgüllük ve doğruluğunun büyük ölçüde uygun antikor elde



**Şekil 2.** Proteomik doku profil analizinde dokunun görüntülenmesi.<sup>3</sup>

(A):Doku örnekleri iletken cam slaytlar üzerine yerleştirilerek kristal viyole ile sabitlenir.  
(B): Matris solüsyonu eklenir.  
(C): MALDI-TOF yöntemi ile spektrum elde edilir.  
(D): Spektrum yapısı değerlendirilir ve spektrumlar karşılaştırılır.  
(E): Normal doku ve tümör dokusunun spektrumları elde edilir. Tümör dokusunu normal dokudan ayıran pikler işaretlenir (okla işaretli). Bu piklerin belirlenmesinde sıklıkla istatistiksel analizler kullanılır. Çok sayıda belirleyici pikin kullanımı proteomik tanıda doğruluğu artırmaktadır.<sup>3</sup>

edilebilmesine bağlı olmasıdır. Duyarlılık, prostat kanseri gibi bazı kanser türlerinde diğer yöntemlere göre daha düşük kalmaktadır. FPAs ve RPAs protein mikroarray yöntemleri güvenilir bilgi üretir. ELİSA bu yöntemin klinikte kullanılan tekniğidir. Ancak geniş skalada proteomik çalışmalar için yeni antikor üretimi yapan yeni teknikler gereklidir.<sup>3,6</sup>

Akciğer kanserinin oluşumu, birden çok sayıda genetik değişiklikle ilişkilidir. Yukarıda sözü edilen genomik teknolojilerin uygulanması, akciğer kanserinin bu kompleks biyolojisini anlamaya yardımcı olmaktadır. Bunun nedeni, tümörün biyolojisinin tümörü oluşturan hücrelerdeki gen ekspresyonları ile belirlenmesidir. Gen ve protein ekspresyon profilleri ile yeni moleküler hedefleri bulmak ve tedaviyi yönlendirmek kolaylaşmaktadır. Çeşitli inflamatuvar stimuluslara yanıt olarak akciğer endotel hücreleri, alveolar ile hava yolu epitel hücreleri ve aktive alveolar, makrofajlar, nitrik oksit ve superoksit üretirler ve bunlar da peroksinitrit oluşumunda rol oynar. Peroksinitrit, surfaktan protein A

gibi çeşitli akciğer proteinlerindeki amino asitleri okside eder ve fonksiyon kaybına neden olur.<sup>8</sup> Gen ekspresyon paternleri ile hücre fonksiyonları arasında sıkı bir ilişki olmasına rağmen, kanser fenotipinden esas olarak genetik değişimlerin sorumlu olduğu artık kabul edilen bir gerçektir. Artmış akciğer kanser riskini gösteren spesifik genetik polimorfizmler hakkında bilgi sahibi olmak, hem hastalığın erken saptanmasını sağlamakta hem de çevresel maruziyetin bireyde hasar yapma olasılığını belirleme becerisini kazandırmaktadır.<sup>9</sup> Akciğer kanserinin en önemli nedenlerinden biri olan sigara dumanında bulunan N-nitrosamin ve polisiklik aromatik hidrokarbonlar ise, genom başına 100 kadar mutasyona yol açmaktadır.<sup>10</sup> Yine sigara dumanının FAS/FAS ligand ekspresyonunu etkilediği ve akciğer kanseri oluşumunda azalmış FAS ekspresyonu ve/veya artmış FASL ekspresyonunun da rol oynadığı bilinmektedir. Çünkü akciğer kanserinde FASL yapılabilmekte ama FAS reseptörleri olmadığı için FAS'a bağlı apoptoz gerçekleşmemektedir. FAS-1377AA genotipinin sigara içen kişilerdeki akciğer kanseri riskini belirlemede rol oynadığı düşünülmektedir.<sup>11-13</sup> Ayrıca fragil histidin triad (FHIT) geninin hipermetilasyonunun da p16 metilasyonu ile ilişkili olduğu ve sigara dumanına maruz kalan kişilerde skuamoz hücreli akciğer kanserinin gelişimine neden olduğu gösterilmiştir.<sup>14</sup> Bütün bunlar bize gen-çevre ilişkisinin önemini belirtmektedir. Artık son on yıllık dönemden itibaren bu tip modifikasyonlar hastalardan elde edilen protein örneklerinin analizi ile gösterilebilmektedir.

Gen ekspresyon profili ile akciğer kanserinin histolojik sınıflaması arasında ilişki olduğunu gösteren çalışmalar vardır. Skuamoz hücreli kanserde yüksek oranda ekspresyon alan genler sitokeratin 5, 13 ve 17 içeren genlerdir. Büyük hücreli akciğer kanserinde FOS-ilişkili antijen 1 ve doku plasminojen aktivator (TPA) içeren genlerin aşırı ekspresyonu mevcuttur. Oldukça agresif olan KHAK'de ise, bilindiği gibi, nöroendokrin diferensiyasyon gösteren genler rol oynamaktadır. İnsulinoma-ilişkili protein 1, nöroendokrin diferensiyasyon gösteren tümörler için belirleyici olarak kabul edilir, KHAK'de L-myc ekspresyonu da önemlidir ve nöroendokrin diferensiyasyonun üst düzeyde olduğuna işaret eder. Adenokanserlerde ise 3 alt grup tarif edilmiştir. Surfaktan A1 grup 1 ve 2'de görülmektedir, ancak grup 3'te ekspresyonu düşüktür. Siklin-bağımlı kinaz inhibitör p16 içeren genin kuvvetli ekspresyonu ise hem grup 2 hem de grup 3'te belirgindir. Grup 3 adenokanser metastaz olasılığı daha yüksek olan ve KHAK ile büyük hücreli akciğer kanseriyle ortak gen paylaşımı bulunan gruptur.<sup>15-18</sup> Yanagisawa ve arkadaşları, yayımladıkları yazıda, proteomik patern ile tümörün histolojik ayırımını yaparak, rezeke edilmiş KHDAK'de nodal tutulumun ve sağkalımın tahmin edilebileceğini belirtmişlerdir.<sup>19</sup>

Genomik analiz ile histolojik olarak benzer tümörlerin ayırımı (MPM ile AC veya KHAK ile karsinoid) mümkün-

dür ve bu işlem küçük bir tümör dokusunda bile yapılabilmektedir. Bu ayırım, gen ekspresyon profili yardımıyla KHAK'nin epitel kökenli neoplazm olduğunu, pulmoner karsinoidin ise nöral krestten köken alan beyin tümörü olduğunu gösterme yoluyla yapılabılır.<sup>20,21</sup>

Normal bronş dokusu ile pre-invazif ya da invazif tümör dokusunun proteomik profillerinin ayrı olduğu da gösterilmiştir.<sup>22</sup> Bu durumda, hastalığın erken tanısıyla, risk altındaki bireylerin belirlenebilmesi yönünde önemli adımlar atılabilir. Çok merkezli, kontrollü, örnek sayısı çok olan birçok çalışma yapılması gerekmektedir. KHAK olgularının bronş epitelinde 5q21-22 ve 13q14 delesyonlarının bulunduğu, buna karşılık KHDAK olgularında 8p21-23 delesyonunun daha fazla olduğu belirtilmektedir.<sup>23</sup> Normal akciğer epitelinde bulunan, akciğer kanseri olgularında bulunmayan LCC1 geni kromozom 20q13-3'de yerleşmiştir. Bu genin inaktivasyonunun akciğer tümörigenezini başlatmada rol oynadığı yolunda bilgiler sağlayan çok yeni çalışmalar vardır.<sup>24</sup>

Günümüzde akciğer kanserinin kesin tanısı, invazif girişimlerle (bronkoskopi, TİAB, vb) gerçekleştirilmektedir.<sup>25</sup> Proteomik analizin avantajı da tümör dokusuna gerek duyulmadan kan ile plevral effüzyon gibi diğer vücut sıvılarından tümör hücrelerine ulaşılabilmesidir. Toraks tümörlerine ulaşımın oldukça zor olduğu göz önüne alındığında, serum ve plazma proteomik analizin özellikle erken evrede tanıyı ne derece kolaylaştırabileceği anlaşılmaktadır. Alt solunum yollarına dökülen hücrelerdeki protein profil değişikliklerinin ekshale edilen soluk havasında saptanabileceği düşüncesi de, erken tanı ya da taramada laboratuvar aşamasında araştırılmaktadır.<sup>26</sup> Bu uygulamanın klinik kullanıma geçmesi için çalışmaların yoğunlaştırılması gerekmektedir.

Karsinogenezin oluşumundaki değişiklikleri fark edebilmek için, global olarak protein ekspresyon analizi yapılması sayesinde hastanın prognozu hakkında güvenilir bir öngörü sahibi olmak mümkün olabilir.<sup>3</sup> Gen ekspresyon oranlarının belirlenmesi soliter pulmoner nodüllerin ayırıcı tanısında önemli adımlar atılmasına yardımcı olacaktır.<sup>27</sup> Patz ve arkadaşları proteomik inceleme yardımıyla gösterilen dört serum proteininin (karsinoembriyonik antijen, retinol bağlayıcı protein, alfa1-antitripsin ve skuamoz hücreli karsinoma antijeni) akciğer kanseri tahmininde etkili olduğunu ve kesin tanı almamış pulmoner lezyonların tanısında yarar sağlayabileceğini belirtmişlerdir.<sup>28</sup>

Akciğer kanseri çeşitli kromozomal değişikliklerle ilişkilidir; kromozomal kopya sayılarında artmalar (1p, 1q, 3q, 5p, 6p, 8q, 12, 17q, 19p, 19q, 20p, 20q, X) ve azalmalar (2q, 3p, 4p, 5p, 8p, 9p, 10p, 11p, 11q, 13q, 17p) görülebilir. Bunlar da onkogenlerin aşırı ekspresyonu (CMYC, KRAS, EGFR, siklin D1, BCL2 vb) ya da tümör baskılayıcı genlerin azalmasına neden olur.<sup>29,30</sup> Örneğin KHDAK'de EGFR aşırı ekspresyonu olduğu ve bunun ileri evre, artmış meta-



statik oran ve kötü prognoz ile ilişkili olduğu gösterilmiştir.<sup>31,32</sup> Artık günümüzde plevral efüzyon ve ince iğne aspirasyonu incelemelerinde bile operasyona gerek kalmadan bu mutasyonlar gösterilebilmektedir.<sup>33,34</sup> Yine adenokarsinomada MIF (migration inhibitory factor) aşırı ekspresyonu rapor edilmiş,<sup>35</sup> sonrasında Campa ve arkadaşları tarafından da doğrulanmıştır.<sup>35,36</sup> Genomik uygulamaların cesaret verici sonuçları da tümör hücrelerindeki gen ekspresyon ölçümüne dayanmaktadır. Oligonükleotid ve cDNA haritaları gibi yeni yöntemlerle on binlerce gen ekspresyonu ölçülebilmektedir.<sup>9</sup>

Akciğer kanseri histoloji, progresyon, tedavi yanıtı ve gen ekspresyonu yönünden oldukça farklılıklar gösteren bir kanser tipidir.<sup>6</sup> Bu nedenle de genomik uygulamalar akciğer kanserinin tanı, tedavi ve prognoz takibinde önemli bir yer edinmek üzeredir. Gen ya da protein ekspresyon profilleri ile akciğer kanserinin prognozu arasındaki ilişkiyi gösteren çeşitli çalışmalar vardır.<sup>37-42</sup> Desmoglein 3 ekspresyon eksikliğinin, histolojik tip ne olursa olsun akciğer kanserinde kısa sağkalımı gösterdiği belirtilmektedir.<sup>43</sup> Yassı hücreli karsinoma bir onkopsupresor olan FHIT ekspresyonu ile karakterizedir.<sup>44</sup> KHDAK'de özellikle yassı hücreli kanserde TIMP1 ekspresyonunun kötü prognoz göstergesi olduğu belirtilmektedir.<sup>45</sup> Adenokanser surfaktan A2 ve B, musin 1 ve pronapsin A gibi surfaktan ve küçük hava yolları ile ilişkili genlerin aşırı ekspresyonu ile karakterizedir.<sup>46,47</sup> Adenokanserde apoptotik potansiyelin kontrolünde görev alan kaspaz-4 ve p63'ün bulunması<sup>40</sup> ve MUC1 ekspresyonu prognozun kötü olduğunu göstermektedir.<sup>48</sup> Buna karşılık MPM'da transmembran-4 gen ailesinin iki üyesinin, L6 tümör antijenini kodlayan gen ve plazmolipin geninin, iyi prognoz ile ilişkili olduğu gösterilmiştir.<sup>49,50</sup> CD24 hücre yüzey antijen ekspresyonu birçok malignitede gözlemlenmiş ve KHDAK'de de prediktif bir değeri olduğu gösterilmiştir. CD24'ün yüksek olmasının, KHDAK'de olduğu gibi, MPM'de de düşük sağkalım ile ilişkilendiği belirtilmiştir.<sup>51,52</sup>

Büyük hücreli akciğer kanserinde HMGI aşırı ekspresyonu, FOS ilişkili antijen 1 aşırı ekspresyonu, e-kaderin düşük ekspresyonu, PAX 8 düşük ekspresyonu gibi epitelyalden mezenkimale geçişi yansıtan gen ekspresyon profilleri mevcuttur.<sup>15</sup> Uzak metastazın azalmasında PTEN, KAI-1 ve NM23-H metastaz supresor genlerinin üçünün birlikte saptanmasının tek tek saptanmasına göre daha etkili olduğu gösterilmiştir.<sup>53</sup> Diğer bir çalışmada mikroaray analiz ile metastatik KHDAK'de MMP ve tripsinojen-C/4B ekspresyonu yanında S100P ve S100A2'nin bulunmasının karakteristik olduğu belirtilmektedir.<sup>41</sup> Yine aynı şekilde KHAK'de de S100A7'nin aşırı ekspresyonunun beyin metastazı ile ilişkili olduğu belirtilmiştir.<sup>54</sup> Buna karşılık, transmembran heparan sulfat proteoglikan olan sindekan-1 ekspresyonu ise iyi prognoz işaretidir.<sup>55</sup> MMP-9 ekspresyonu ise adenokanser progresyonu ile ilişkilidir.<sup>56</sup> KHAK için TTF-1,

ELAV4 ve CAPS gen ekspresyonu iyi prognozu ortaya koyarken, FOX-C1 ve TSGA1 ekspresyonu kötü prognozu belirtmektedir.<sup>57</sup> CD 9'un düşük ekspresyonunun KHAK'nin daha agresif olduğunu gösterdiğine inanılmaktadır.<sup>58</sup> Bu incelemeler terapötik hedeflerin belirlenmesinde de önemli bir rol oynar. Chen ve arkadaşları, glukoneogenezis ve glikolizisi regüle eden 4 proteinin (fosfogliserat kinaz 1, fosfogliserat mutaz,  $\alpha$  enolaz ve piruvat kinaz M1) sağkalım üzerine etkili olduğunu göstermişlerdir.<sup>59</sup>

Sitotoksik bir ilacın sensitif ya da rezistan oluşu, gen ekspresyon çalışmaları ile *in vitro* olarak anlaşılabilir. <sup>60,61</sup> Örneğin Sequist ve arkadaşları, EGFR mutasyonu olan hastaların EGFR TKI tedavisine daha iyi yanıt verdiğini göstermiştir.<sup>62</sup> Benzer şekilde EGFR mutasyonu olan KHDAK hastalarının erlotinib tedavisine daha iyi yanıt verdikleri de belirtilmiştir.<sup>63</sup> Proteomik ya da genomik inceleme ile hedefe yönelik tedaviden hangi hasta grubunun yarar göreceği yolunda önemli adımlar atılmıştır ve yakında klinik uygulamaya da geçilebilecektir.<sup>64</sup> Bu teknikler sayesinde relaps riskinin yüksek olduğu olguların saptanması ve adjuvan tedavi gereksiniminin belirlenmesi kolaylaşmaktadır.<sup>65</sup> Okano ve arkadaşları, yaptıkları proteomik çalışmada, cerrahi sonrası nüks olan adenokanser olgularında gefitinib yanıtın önceden tahmin edilebildiğini belirtmişlerdir.<sup>66</sup>

Sonuç olarak; insan genomu yaklaşık 20,000-25,000 gen-den oluşmaktadır. Genlerin tek bir protein formu bile, karsinogenez ile ilişkili olsun ya da olmasın, işlemsel çevrimler sırasında yüz binlerce parçacığa dönüşebilir.<sup>3-5</sup> Geliştirilen her yeni teknik, kanser hücrelerinin kompleks genetik ve protein yapısını daha iyi anlamamızı sağlayarak, farklı ipuçlarını ortaya çıkarmaktadır. Yapılan çalışmalarda umut verici sonuçlar elde edilmekle birlikte, kanser hücrelerinin profilinin çıkarılmasında önümüzde hâlâ aşılması gereken uzun bir yol vardır.

## KAYNAKLAR

1. Meyerson M, Carbone D. Genomic and proteomic profiling of lung cancers: Lung cancer classification in the age of the targeted therapy. *J Clin Oncol* 2005;23:3219-3226.
2. Massion PP, Caprioli RM. Proteomic strategies for the characterization and the early detection of lung cancer. *J Thorac Oncol* 2006;1:1027-1039.
3. Kikuchi T, Carbone DP. Proteomic analysis in lung cancer. Challenges and opportunities. *Respirology* 2007;12:22-28.
4. Granville AG, Dennis PA. An overview of lung cancer genomics and proteomics. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2005;32:169-176.
5. Yıldız PB, Shyr Y, Rahman JS, et al. Diagnostic accuracy of MALDI mass spectrometric analysis of unfractionated serum in lung cancer. *J Thorac Oncol* 2007;2(10):893-901.
6. Kopper L, Timar J. Genomics of lung cancer may change diagnosis, prognosis and therapy. *Pathol Oncol Reserch* 2005;11(1):5-10.
7. Taguchi F, Solomon B, Gregorc V, et al. Mass Spectrometry to Classify Non-Small-Cell Lung Cancer Patients for Clinical Outcome After Treatment With Epidermal Growth Factor Receptor Tyrosine Kinase Inhibitors: A Multicohort Cross-Institutional Study. *JNCI* 2007;99(11):838-846.

8. Hirsch J, Hansen K, Burlingame AL, Matthay MA. Proteomics: current techniques and potential applications to lung disease. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2004;287:L1-L23.
9. Gil L, Adonis M. Genomics and proteomics offers new hopes towards a personalized approach to lung cancer prevention and treatment. *J Biotech* 2003;6(3):168-173.
10. Phillips DH, Hewer A, Martin CN, et al. Correlation of DNA adduct levels in human lung with cigarette smoking. *Nature* 1988;336:790-792.
11. Bijl M, Horst G, Limburg PC, Kallenberg CG. Effects of smoking on activation markers, Fas expression and apoptosis of peripheral blood lymphocytes. *Eur J Clin Invest* 2001;31:550-553.
12. Viard-Leveugle I, Veyrenc S, French LE, et al. Frequent loss of Fas expression and function in human lung tumors with overexpression of FasL in small cell lung carcinoma. *J Pathol* 2003;201:268-277.
13. Zhang X, Miao X, Sun T, et al. Functional polymorphisms in cell death pathway genes FAS and FASL contribute to risk of lung cancer. *J Med Genet* 2005;42:479-484.
14. Kim JS, Kim H, Shim YM, et al. Aberrant methylation of the FHIT gene in chronic smokers with early stage squamous cell carcinoma of the lung. *Carcinogenesis* 2004;25(11):2165-2171.
15. Bhattacharjee A, Richards WG, Staunton J, et al. Classification of human lung carcinomas by mRNA expression profiling reveals distinct adenocarcinoma subclasses. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001;98:13790-13795.
16. Garber ME, Troyanskaya OG, Schluens K, et al. Diversity of gene expression in adenocarcinoma of the lung. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001;98:13784-13789.
17. Fujii T, Dracheva T, Player A, et al. A preliminary transcriptome map of non-small cell lung cancer. *Cancer Res* 2002;62:3340-3346.
18. Nacht M, Dracheva T, Gao Y, et al. Molecular characteristics of non-small cell lung cancer. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001;98:15203-15208.
19. Yanagisawa K, Shyr Y, Xu BJ, et al. Proteomic patterns of tumour subsets in non-small-cell lung cancer. *Lancet* 2003;362:433-439.
20. Anbazhagan R, Tihan T, Bornman DM, et al. Classification of small cell lung cancer and pulmonary carcinoid by gene expression profiles. *Cancer Res* 1999;59:5119-5122.
21. Gordon GJ, Jensen RV, Hsiao LL, et al. Translation of microarray data into clinically relevant cancer diagnostic tests using gene expression ratios in lung cancer and mesothelioma. *Cancer Res* 2002;62:4963-4967.
22. Rahman SMJ, Shyr Y, Yildiz PB, et al. Proteomic patterns of preinvasive bronchial lesions. *Am J Respir Crit Care Med* 2005;172:1556-1562.
23. Wistuba II, Berry J, Behrens C, et al. Molecular changes in the bronchial epithelium of patients with small cell lung cancer. *Clin Cancer Res* 2000;6(7):2604-2610.
24. Hong KM, Yang SH, Chowdhuri SR, et al. Inactivation of LLC1 gene in nonsmall cell lung cancer. *Int J Cancer* 2007;120(11):2353-2358.
25. Hoffman PC, Mauer AM, Vokes EE. Lung cancer. *Lancet* 2000;355:479-485.
26. Conrad DH, Goyette J, Thomas PS. Proteomics as a method for early detection of cancer: a review of proteomics, exhaled breath condensate, and lung cancer screening. *J Gen Intern Med* 2008;23 Suppl 1:78-84.
27. Gordon GJ, Deters LA, Nitz MD, et al. Differential diagnosis of solitary lung nodules with gene expression ratios. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2006;132(3):621-627.
28. Patz EF Jr, Campa MJ, Gottlin EB, et al. Panel of serum biomarkers for the diagnosis of lung cancer. *J Clin Oncol* 2007;25(35):5578-5583.
29. Minna JD, Roth JA, Gazdar AF. Focus on lung cancer. *Cancer Cell* 2002;1:49-52.
30. Balsara BR, Testa JR. Chromosomal imbalances in human lung cancer. *Oncogene* 2002;21:6877-6883.
31. Scagliotti GV, Selvaggi G, Novello S, Hirsch FR. The biology of epidermal growth factor receptor in lung cancer. *Clin Cancer Res* 2004;10:4227-4232S.
32. Ohsaki Y, Tanno S, Fujita Y, et al. Epidermal growth factor receptor expression correlates with poor prognosis in non-small cell lung cancer patients with p53 overexpression. *Oncol Rep* 2000;7:603-607.
33. Soh J, Toyooka S, Aoe K, et al. Usefulness of EGFR mutation screening in pleural fluid to predict the clinical outcome of gefitinib treated patients with lung cancer. *Int J Cancer* 2006;119:2353-2358.
34. Shih JY, Gow CH, Yu CJ, et al. Epidermal growth factor receptor mutations in needle biopsy/aspiration samples predict response to gefitinib therapy and survival of patients with advanced nonsmall cell lung cancer. *Int J Cancer* 2006;118:963-969.
35. Kamimura A, Kamachi M, Nishihira J, et al. Intracellular distribution of macrophage migration inhibitory factor predicts the prognosis of patients with adenocarcinoma of the lung. *Cancer* 2000;89:334-341.
36. Campa MJ, Wang MZ, Howard B, et al. Protein expression profiling identifies macrophage migration inhibitory factor and cyclophilin A as potential molecular targets in non-small cell lung cancer. *Cancer Res* 2003;63:1652-1656.
37. Borczuk AC, Shah L, Pearson GD, et al. Molecular signatures in biopsy specimens of lung cancer. *Am J Respir Crit Care Med* 2004;170:167-174.
38. Kikuchi T, Daigo Y, Katagiri T, et al. Expression profiles of non-small cell lung cancers on cDNA microarrays: identification of genes for prediction of lymph-node metastasis and sensitivity to anti-cancer drugs. *Oncogene* 2003;22:2192-2205.
39. Tomida S, Koshikawa K, Yatabe Y, et al. Gene expression based, individualized outcome prediction for surgically treated lung cancer patients. *Oncogene* 2004;23:5360-5370.
40. Beer DG, Kardias SL, Huang CC, et al. Gene-expression profiles predict survival of patients with lung adenocarcinoma. *Nat Med* 2002;8:816-824.
41. Diederichs S, Bulk E, Steffen B, et al. S100 family members and trypsinogens are predictors of distant metastasis and survival in early-stage non-small cell lung cancer. *Cancer Res* 2004;64:5564-5569.
42. Wigle DA, Jurisica I, Radulovich N, et al. Molecular profiling of non-small cell lung cancer and correlation with disease-free survival. *Cancer Res* 2002;62:3005-3008.
43. Fukuoka J, Dracheva T, Shih JH, et al. Desmoglein 3 as a prognostic factor in lung cancer. *Hum Pathol* 2007;38(2):276-283.
44. Toledo G, Sola JJ, Lorenzo MD, et al. Loss of FHIT protein expression is related to high proliferation, low apoptosis and worse prognosis in non-small-cell lung carcinoma. *Mod Pathol* 2004;17:440-448.
45. Aljada IS, Rammath N, Donohue K, et al. Upregulation of the tissue inhibitor of metalloproteinase-1 protein is associated with progression of human non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol* 2004;22:3218-3229.
46. McDoniels-Silvers AL, Nimri CF, Stoner GD, et al. Differential gene expression in human lung adenocarcinomas and squamous cell carcinomas. *Clin Cancer Res* 2002;8:1127-1138.
47. McDoniels-Silvers AL, Stoner GD, Lubet RA, You M. Differential expression of critical cellular genes in human lung adenocarcinomas and squamous cell carcinomas in comparison to normal lung tissues. *Neoplasia* 2002;4:141-150.
48. Tsutsumida H, Goto M, Kitajima S, et al. Combined status of MUC1 mucin and surfactant apoprotein A expression can predict the outcome of patients with small-size lung adenocarcinoma. *Histopathology* 2004;44:147-155.
49. Pass HI, Liu Z, Wali A, et al. Gene expression profiles predict survival and progression of pleural mesothelioma. *Clin Cancer Res* 2004;10:849-859.

50. Gordon GJ, Jensen RV, Hsiao LL, et al. Using gene expression ratios to predict outcome among patients with mesothelioma. *J Natl Cancer Inst* 2003;95:598–605.
51. Kristiansen G, Schluns K, Yongwei Y, et al. CD24 is an independent prognostic marker of survival in nonsmall cell lung cancer patients. *Br J Cancer* 2003;88:231–236.
52. Gordon GJ, Rockwell GN, Godfrey PA, et al. Validation of genomics-based prognostic tests in malignant pleural mesothelioma. *Clin Cancer Res* 2005;11(12):4406–4414.
53. Goncharuk VN, del-Rosario A, Kren L, et al. Co-downregulation of PTEN, KAI-1, and nm23-H1 tumor/metastasis suppressor proteins in non-small cell lung cancer. *Ann Diagn Pathol* 2004;8:6–16.
54. Zhang H, Wang Y, Chen Y, et al. Identification and validation of S100A7 associated with lung squamous cell carcinoma metastasis to brain. *Lung Cancer* 2007;57(1):37–45.
55. Shah L, Walter KL, Borczuk AC, et al. Expression of Syndecan-1 and expression of epidermal growth factor receptor are associated with survival in patients with nonsmall cell lung carcinoma. *Cancer* 2004;101:1632–1638.
56. Simi L, Andreani M, Davini F, et al. Simultaneous measurement of MMP9 and TIMP1 mRNA in human non small cell lung cancers by multiplex real time RT-PCR. *Lung Cancer* 2004;45:171–179.
57. Jones MH, Virtanen C, Honjoh D, et al. Two prognostically significant subtypes of high-grade lung neuroendocrine tumours independent of small-cell and large-cell neuroendocrine carcinomas identified by gene expression profiles. *Lancet* 2004;363:775–781.
58. Funakoshi T, Tachibana I, Hoshida Y, et al. Expression of tetraspanins in human lung cancer cells: frequent downregulation of CD 9 and its contribution to cell motility in small cell lung cancer. *Oncogene* 2003;22:674–687.
59. Chen G, Gharib TG, Wang H, et al. Protein profiles associated with survival in lung adenocarcinoma. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003;100:13537–13542.
60. Staunton JE, Slonim DK, Collier HA, et al. Chemosensitivity prediction by transcriptional profiling. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001;98:10787–10792.
61. Dan S, Tsunoda T, Kitahara O, et al. An integrated database of chemosensitivity to 55 anticancer drugs and gene expression profiles of 39 human cancer cell lines. *Cancer Res* 2002;62:1139–1147.
62. Sequist LV, Joshi VA, Janne PA, et al. Response to Treatment and Survival of Patients with Non-Small Cell Lung Cancer Undergoing Somatic EGFR Mutation Testing. *Oncologist* 2007;12:90–98.
63. Tsao MS, Sakurada A, Cutz JC, et al. Erlotinib in lung cancer—molecular and clinical predictors of outcome. *N Engl J Med* 2005;353:133–144.
64. Greenberg AK, Lee MS. Biomarkers for lung cancer: clinical uses. *Curr Opin Pulm Med* 2007;13(4):249–255.
65. Wozniak AJ, Gadgeel SM. Adjuvant treatment of non-small-cell lung cancer: how do we improve the cure rates further? *Oncology (Williston Park)*. 2007;21(2):163–171.
66. Okano T, Kondo T, Fujii K, et al. Proteomic Signature Corresponding to the Response to Gefitinib (Iressa, ZD1839), an Epidermal Growth Factor Receptor Tyrosine Kinase Inhibitor in Lung Adenocarcinoma. *Clin Cancer Res* 2007;13(3):799–805.