

T.C.  
GAZIANTEP ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

**KÜÇÜK HÜCRELİ DIŞI AKCİĞER KANSERLERİNDE c-erbB-2'NİN  
PROGNOSTİK ÖNEMİ**

UZMANLIK TEZİ

Dr. Bülent AKGÜL

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Celalettin CAMCI

GAZIANTEP – 2003

## İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ	II
KISALTMALAR	III
TABLO, RESİM VE ŞEKİL LİSTESİ	IV
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Akciğer kanserlerinin epidemiyolojisi	3
2.2. Akciğer kanserinin sigara ile ilişkisi	3
2.3. Mesleki ve çevresel faktörler	4
2.4. Akciğer kanserlerinde patolojik tanı	4
2.5. Küçük hücreli dışı akciğer kanseri	4
2.5.1. Skuamöz hücreli karsinom	4
2.5.2. Adenokarsinom	5
2.5.3. Büyük hücreli karsinom	5
2.6. Küçük hücreli akciğer kanseri	5
2.7. Akciğer kanserlerinde evreleme	5
2.7.1. Akciğer kanserlerinde TNM sınıflaması	6
2.7.2. TNM sınıflamasına göre klinik evreleme	7
2.7.3. Evrelemede özel durumlar	7
2.8. Prognostik faktörler	9
2.9. C-erbB-2	11
2.9.1. C-erbB-2 ekspresyonu ve amplifikasyonunun tespiti	13
2.9.2. Akciğer kanseri ve c-erbB-2	14
2.9.3. C-erbB-2 ve tedavi	15
3. MATERYAL VE METOD	16
3.1. Hastaların seçimi	16
3.2. İmmünohistokimya ve değerlendirilmesi	16
3.3. İstatistiksel yöntem	17
4. BULGULAR	18
5. TARTIŞMA	27
6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER	30
7. ÖZET	31
8. SUMMARY	32
9. KAYNAKLAR	33

## ÖNSÖZ

Bu çalışmada araştırmanın planlanmasından yazımına kadar tüm aşamalarda yardım eden tez hocam Doç. Dr. Celalettin Camcı'ya, İç Hastalıkları Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Yalçın Kepekçi'ye, Doç. Dr. Süleyman Büyükberber'e, Prof. Dr. İbrahim Sarı'ya, Doç. Dr. Abdullah Aydın'a, Uzm. Dr. Mehmet Türk'e, Uzm. Dr. Alper Sevinç'e, Yrd. Doç. Dr. Birgül Özçırpıcı'ya, Doç. Dr. Hasan Herken'e ve İç Hastalıkları Kliniğinde çalışan tüm asistan arkadaşlarıma, tıp eğitimim ve asistanlığım boyunca desteklerini esirgemeyen anneme, babama ve eşime yardımlarından dolayı teşekkür ederim.

**KISALTMALAR**

KHDAK	Küçük Hücreli Dışı Akciğer Kanseri
KHAK	Küçük Hücreli Akciğer Kanseri
HER , C-erbB-2	Human Epidermal Growth Factor Receptor
IHK	İmmunhistokimya
FISH	İnsitu fluorescent hybridization
PCR	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
ELİSA	Enzyme-linked immünosorbent assay
EGF	Epidermal Growth Factor
TNM	Tümör, bölgesel lenf nodu, uzak metastaz
HE	Hemotoksilen-Eosin

## TABLO, ŞEKİL VE RESİM LİSTESİ

Tablo 1: Akciğer kanserlerinde TNM Evrelemesi	9
Tablo 2: HER (erb) gen ailesi	12
Tablo 3 : Hastaların ortalama yaşları, cinsiyet ve c-erbB-2 pozitifliği	18
Tablo 4 : Hücre tipine göre c-erbB-2 pozitifliği	22
Tablo 5 : Hastalık evresine göre c-erbB-2 pozitifliği	24
Tablo 6 : Evrelere göre c-erbB-2 ekspresyonu gösteren ve c-erbB-2 eksprese etmeyen hastaların ortalama yaşam süreleri	25
Şekil 1: C-erbB-2'nin hücre membran reseptörü ve hücre içi sinyallerini kullanarak oluşturduğu etki mekanizması	12
Şekil 2 : Hastaların evrelere göre dağılımı	19
Şekil 3 : Hastaların histopatolojik alt gruplara göre dağılımı	19
Şekil 4 : Histopatolojik alt tiplere göre c-erbB-2 ekspresyon oranları	23
Şekil 5 : Evrelere göre c-erbB-2 eksprese eden hastaların oranları	24
Şekil 6 : Operabl ve inoperabl hastalarda c-erbB-2 oranları	26
Resim 1: KHDAK'de orta derecede c-erbB-2 ekspresyonunun (2+) immünohistokimyasal yöntemle gösterilmesi (HE, x200)	20
Resim 2: KHDAK'de orta derecede c-erbB-2 ekspresyonunun (2+) immünohistokimyasal yöntemle gösterilmesi (HE, x400)	20
Resim 3: KHDAK'de şiddetli kesintisiz c-erbB-2 ekspresyonunun (3+) immünohistokimyasal yöntemle gösterilmesi (HE, x400)	21
Resim 4: Meme kanserinde c-erbB-2 pozitifliğinin (kontrol doku) immünohistokimyasal yöntemle gösterilmesi (HE, x200)	21

## 1. GİRİŞ VE AMAÇ

Akciğer kanseri tüm dünyada kadınlarda ve erkeklerde en sık görülen kanser türlerinden olup başlıca mortalite sebeplerindedir. Ülkemizde de erkeklerde birinci, kadınlarda ikinci sıklıkta rastlanan, gerek tanı gerekse tedavi yöntemlerindeki ilerlemelere rağmen hala mortalitesi ve morbiditesi yüksek seyretmeye devam eden bir kanser çeşididir. Klinik ve patolojik sınıflandırma ile aynı evrede gibi görünen hastalarda hastalığın farklı ve bazen çok daha kötü seyretmesi, araştırmacıları akciğer kanserleri için daha farklı prognoz belirleyicileri bulmaya doğru yönlendirmiştir. Akciğer kanserlerinde erken evrelerde cerrahi rezeksiyonla kür sağlamak mümkün iken ileri evrelerde bu durum mümkün olamamaktadır. Böyle hastalar için uygulanmakta olan tedaviler hastalığın progresyonunu yavaşlatmak ve semptomatik palyasyon amacına yöneliktir. Ayrıca erken evrede tanı konan ve cerrahi uygulanan hastalarda bile daha sonra hastalığın nüks etmesi veya metastaz ile tekrar ortaya çıkması söz konusu olabilmektedir. Böyle hastaların cerrahi sonrası hangi parametrelerle takip edilmesi gerektiği netlik kazanmamıştır.

Son yıllarda birçok kanser tipinin tedavisinde ilerlemeler olmasına rağmen akciğer kanserli hastalarda 5 yıllık sağkalım oranında önemli bir artış sağlanamamıştır. Gerek immünohistokimya gerekse moleküler düzeyde çok çeşitli araştırma metodunun tıbbın hizmetine girmesi sonucunda diğer tümör tiplerinde olduğu gibi akciğer kanseri üzerinde de çok yoğun moleküler düzeyde incelemeler yapılmaya başlanmıştır. Bazı araştırmaların sonuçlarına göre akciğer kanserinde uzun zamandan beri bilinmekte olan klinik ve patolojik parametrelerin yanı sıra prognozu belirlemede bazı yeni moleküler ve/veya immünohistokimyasal parametrelerin varlığından söz edilmektedir.

Akciğer kanserinde de diğer kanserlerde olduğu gibi bazı spesifik genlerde (protoonkogen, tümör süpresör gen) veya bunların regülasyon

bölgelerindeki bazı değişiklikler normal hücrelerin malign transformasyonuna neden olmaktadır. Bu genetik değişikliklerden birisi de protoonkogen olan c-erbB-2'de olmaktadır. Artmış c-erbB-2 yapımının kötü prognozla ilişkili olduğu iddia edilmektedir. Ayrıca serumda yüksek konsantrasyonda tespit edilen c-erbB-2'nin artmış tümör yükü ve ilerlemiş hastalığın göstergesi olduğu düşünölmüştür. Bunun yanı sıra, c-erbB-2 ekspresyonunun hastalarda kemoterapiye direnç oluşturduğu ve çeşitli yöntemlerle bloke edilmesinin kemoterapiye duyarlılığı arttırdığı gösterilmiştir.

Bu çalışmada, kliniğimizde tanı konan küçük hücreli dışı akciğer kanserli hastalarda c-erbB-2 ekspresyonu ve bunun tümörün histolojik tipi, evresi ve hastaların yaşam süreleri ile ilişkisinin araştırılması planlandı.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. AKCİĞER KANSERLERİNİN EPİDEMİYOLOJİSİ

Akciğer kanserleri dünyada en çok karşılaşılan kanserlerden biridir. Görülme sıklığı yaşla birlikte artmaktadır. Hastaların çoğu 50-70 yaş grubundadır. Tanının konulduğu ortalama yaş 60 civarındadır. Akciğer kanseri erkeklerde daha sık görülmektedir. Gelişmiş ülkelerde erkeklerde sigara içme prevalansı %30-40, kadınlarda %20-40 iken gelişmekte olan ülkelerde erkeklerde %40-60 kadınlarda %2-10'dur. Son yıllarda akciğer kanser insidansı kadınlarda erkeklere göre daha fazla artış göstermektedir. Bu durumun sigara içme alışkanlığındaki değişikliklerle ilgili olduğu düşünülmektedir.

Kadınlarda adenokarsinoma ve küçük hücreli karsinom sık görülürken, erkeklerde skuamöz kanserler daha sık görülmektedir (1).

### 2.2. AKCİĞER KANSERİ VE SİGARA İLİŞKİSİ

Sigara içenlerde akciğer kanseri görülme riski, içmeyenlerden 24-36 kat daha fazladır. Pasif sigara içiminde ise risk %3,5'tir. Sigara içiminde akciğer kanseri gelişimini etkileyen faktörler sigara içme süresi, içilen sigara sayısı, içilen sigara tipi ve sigaraya başlama yaşıdır (2). Sigara dumanında 400'den fazla kimyasal bileşen vardır. Hem sigarada, hem de dumanında radyoaktif maddeler bulunur. Bunlar radon ve bozunma ürünleri, kurşun ( $Pb^{210}$ ), bizmut ( $Bi^{210}$ ), ve polonyum ( $P^{210}$ )'dur. Bu radyoizotoplar, sigara dumanının karsinojenitesine katkıda bulunabilirler.

Sigara içilmesi ile bronş epitelindeki progresif displastik değişiklikler mukozal hiperplaziden başlayarak metaplazi, atipi, karsinoma in situ ve invaziv karsinoma dönüşmektedir. Bu değişikliklerin trakeobronşial mukozanın birçok yerinde olduğu gösterilmiştir. Sigaranın bırakılmasıyla, bu değişiklikler normale döner ve 20 yıldan az sigara içenlerde sigarayı bıraktıktan 10-15 yıl sonra akciğer kanseri riski, sigara içmeyenlerinkine eşit olmaktadır.



Her iki cinste de adenokarsinomlar sigara içmeyenlerde daha sıktır; fakat sigaradan bağımsız olarak skuamöz hücreli karsinom erkeklerde, adenokarsinom ise kadınlarda daha sıktır. Sigara ile en fazla ilişkili tipler skuamöz hücreli karsinom ve özellikle kadınlarda olmak üzere küçük hücreli karsinomdur (3).

### **2.3. MESLEKİ VE ÇEVRESEL FAKTÖRLER**

Amerika'da akciğer kanserlerinin %5-15'inin mesleki maruziyete bağlı olarak geliştiği belirtilmektedir. Arsenik, asbest, bisklorometileter, nikel ve nikel bileşikleri, polisiklik aromatik hidrokarbonlar, radyasyon, krom, vinil klorid gibi maddelerle temas ayrıca hava kirliliği, skar ve fibrozisin de karsinogenezisi hazırladığı düşünülmektedir.

### **2.4. AKCİĞER KANSERLERİNDE PATOLOJİK TANI**

Akcığer kanserlerindeki insidanda artış ve hastaların genellikle inopere evrede yakalanmış olmaları nedeniyle birinci hedef erken evrede tanı koymaktır. Genellikle balgam, bronkoskopik aspirasyon, lavaj, fırçalama ve bronkoskopik biyopsi, transbronşial biyopsi ya da eğer varsa periferik lenf nodu eksizyonu ile tanı konmaktadır. Bu konvansiyonel yöntemlerin duyarlılığı tümörün lokalizasyonuna, büyüklüğüne ve histolojik tipine bağlıdır.

Akcığer kanserlerinin biyolojik davranış ve prognoz yönünden farklılık gösteren histolojik alt tipleri " küçük hücreli (KHAK) " ve " küçük hücreli dışı (KHDAK)" olmak üzere iki ana alt grupta toplanmaktadır.

### **2.5. KÜÇÜK HÜCRELİ DIŞI AKCİĞER KANSERİ (KHDAK):**

KHDAK'nin Histolojik alt tipleri:

#### **2.5.1. Skuamöz Hücreli Karsinom**

Trakea ve bronş ağacının santral ya da proksimalinde oluşma ve yavaş gelişme eğiliminde olan bir tümördür. Tümörde skuamöz metaplazi , displazi ve in situ karsinom bölgeleri bulunabilir. Tümör insidansında eski yıllara göre bir azalma görülmektedir. Tümörlerin %16'sı periferik yerleşimlidir. %20'si kavitasyona eğilimli ve 1/3'ü kötü diferansiye olup diğer tiplerden daha fazla uzak yayılım yapar.

### **2.5.2. Adenokarsinom**

Önceleri kadınlarda ve daha genç yaş gruplarında görüldüğü ve sigara ile bağlantısı olmadığı düşünülürken, bugün sigara ile ilişkili olduğu kabul edilmektedir. Genellikle 2/3'si periferik lokalizasyonlu olup distal hava yolları ve alveol epitellerinden ya da skar alanlarından gelişmekte, 1/3'i büyük bronşların yüzey epiteli ya da submukozal bezlerden gelişip santralde yerleşmektedir.

### **2.5.3. Büyük Hücreli Karsinom**

Periferik yerleşme eğiliminde büyük, agresif tümörler olup 5 yıllık yaşam süresi %5'in altındadır. Hematoksilen-eozin ve müsin boyaları ile glandüler ve skuamöz diferansiasyonu olmayan, total diferansiasyon kaybı gösteren tümörlerdir.

## **2.6. KÜÇÜK HÜCRELİ AKCİĞER KANSERİ (KHAK)**

KHAK'nin %90'ı santral, %10'u periferik yerleşim gösterir. KHAK, lenfatik ve vasküler invazyon ile submukozal yayılıma bağlı endobronşial kitle oluşturmayabilir. Mediasten invazyonu nedeniyle lenfoma ile karışabilir. Tanı anında %70 metastatik olduğu saptanmaktadır. Hematojen yolla en fazla beyin, kemik iliği ve karaciğere metastaz yapar.

Akciğer tümörlerinde heterojenite çok önemli tanısal bir sorun oluşturmaktadır. Tümörlerin ancak %37'sinin tek tip hücrelerden oluştuğu, diğerlerinin ise iki veya daha fazla hücre tipine sahip olduğu bildirilmektedir (4).

Patolojik olarak akciğer kanseri tanısı konduktan sonra, hastalığın hangi evrede olduğu, küratif olarak tedavi edilip edilemeyeceği araştırılmalı ve tedavi bu verilere göre planlanmalıdır.

## **2.7. AKCİĞER KANSERLERİNDE EVRELEME**

Evreleme sisteminin en önemli fonksiyonu kanserli hastaları anatomik alt gruplara ayrılarak prognoz ve tedavi şekillerinin belirlenmesini sağlamaktır. Genellikle aynı evrede bulunan hastaların benzer tedavi seçeneği ve sağ kalım süresi olduğu düşünülürken.

### 2.7.1. Akciğer Kanserlerinde TNM Sınıflaması

#### PRİMER TÜMÖR (T)

TX : Primer tümörün belirlenememesi veya balgam ya da bronş lavajında malign hücrelerin tespit edilip görüntüleme teknikleri ya da bronkoskopi ile tümörün gösterilememesi

T1 : En geniş çapı < 3 cm, akciğer veya viseral plevra ile çevrili, bronkoskopik olarak lob bronşundan daha proksimale (ana bronşa) invazyon göstermeyen tümör

T2 : Tümörün aşağıdaki özelliklerden en az birine sahip olması

- En geniş çapı > 3cm,
- Ana bronş invaze ancak ana karinaya uzaklık > 2cm,
- Visseral plevra invazyonu,
- Hiler bölgeye ulaşan ancak tüm akciğeri kapsamayan atelektazi ya da obstrüktif pnömoni

T3 : Tümörün herhangi bir büyüklükte olup göğüs duvarı (superior sulkus tümörleri dahil), diyafragma, mediastinel plevra, pariyetal perikard gibi yapılardan herhangi birine doğrudan invazyon göstermesi veya karinaya 2 cm'den daha yakın ancak karinayı tutmayan ana bronştaki tümör veya bütün bir akciğeri kapsayan atelektazi veya obstrüktif pnömoni ile birlikte olan tümör.

T4 : Tümörün herhangi bir büyüklükte olup , mediasten, kalp, büyük damarlar, trakea, özofagus, vertebral kolon, karina gibi yapılardan herhangi birini invaze etmesi veya malign plevral veya perikardial sıvı ile birlikte olan tümör veya tümörle aynı lop içinde satellit lezyon.

### BÖLGESEL LENF BEZİ (N)

N0 : Bölgesel lenf bezi metastazı yok.

N1 : Aynı taraf peribronşial ve/veya aynı taraf hiler lenf bezlerine metastaz ve primer tümörün direkt yayılması ile intrapulmoner lenf bezlerinin tutulması

N2 : Aynı taraf mediastinal ve/veya subkarinal lenf bezlerine metastaz

N3 : Karşı taraf mediastinal, hiler ; aynı veya karşı taraf supraklavikular veya skalen lenf bezi metastazı

### UZAK METASTAZ (M)

M0 : Uzak metastaz yok

M1 : Uzak metastaz var.

### 2.7.2. TNM Sınıflamasına Göre Klinik Evreleme

EVRE IA T1 N0 M0

EVRE IB T2 N0 M0

EVRE IIA T1 N1 M0

EVRE IIB T2 N1 M0, T3 N0 M0

EVRE IIIA T3 N1 M0, T1-3 N2 M0

EVRE IIIB T4 N0 M0, T4 N1 M0, T4 N3 M0, T1 N3 M0, T2 N3 M0, T3 N3 M0

EVRE IV Herhangi bir T, herhangi bir N, M1

### 2.7.3. Evrelemede Özel Durumlar

- Rekürren laringeal sinir invazyonu T4 kabul edilir.
- Pulmoner arter ve venin perikard içinde invazyonu T4 olarak değerlendirilirken perikard dışında invazyonu T3 kapsamında ele alınır.

- Superior sulkus tümörleri T3 (sempatik ganglionların invazyonundan kaynaklanan "Horner Sendromu" dahil) kapsamında değerlendirilirken, brakial pleksusun geniş bir şekilde tutulmasından kaynaklanan gerçek "Pancoast Sendromu" (Horner Sendromu, C8-T1 düzeyinde ağrı ile kol, el ve parmak kaslarında atrofi) T4 olarak evrelendirilir.
- Diyafragma ya da toraks duvarının doğrudan invazyonu T3 iken, tümörle komşuluk olmadan ortaya çıkan tutuluşlar M1 olarak değerlendirilir.
- Viseral plevranın doğrudan invazyonu T2, parietal plevranın (malign sıvı olmadan) invazyonu ise T3 olarak değerlendirilir. Eğer tümörle doğrudan komşuluk olmadan visseral veya parietal tutuluşu varsa (malign sıvı olsun veya olmasın) T4 olarak değerlendirilir.
- Frenik sinir invazyonu T3 kapsamına girer.
- Mediastinel organlar tutulmadan sınırlı düzeyde sadece mediastinel yağ dokusu invazyonu T3 olarak tanımlanır.
- Azigos veni invazyonu T3 olarak değerlendirilir.
- Primer tümör lobunda olmayan aynı taraf intrapulmoner metastaz M1 olarak sınıflandırılmaktadır.

Tablo I. Akciğer kanserlerinde TNM evrelemesi

## AKCIĞER KANSERİNDE TNM EVRELEMESİ

Supraklavikular	Skalen (ipsi-kontralateral)	Mediastinal		Subkarinal	Hiler		Peribronşial (ipsilateral)	LENF NODU
		(kontralateral)	(ipsilateral)		(kontralateral)	(ipsilateral)		
+	+	+			+			<b>N3</b>
-	-	-	+&/+		-			<b>N2</b>
-	-	-	-	-	-	+&/+		<b>N1</b>
-	-	-	-	-	-	-	-	<b>N0</b>

**Evre 0**  
( Tis, No, Mo )

**METASTAZLAR (M)**

**M0 : YOK**

**M1 : VAR**

Primer tümör lobu dışında ipsilateral metastatik tümör nodülü varlığı M1'dir.

Tis : Karsinoma in situ

Gizli (occult) karsinoma (Tx, N0, M0)

\* İntrapulmoner nodlara direkt yayılım dahil.

# Bronş duvarı içinde (submukozada) yerleşmiş tümörler dahil. Bu tümörler histopatolojik olarak (klinik olarak değil) tespit edilirler ve karınaya 2 cm'den yakın olabilirler.

† Superior sulkus tümörü dahil.

‡ Her plevral ve perikardial effüzyon tümöre ait değildir.

	<b>T1</b>	<b>T2</b>	<b>T3</b>	<b>T4</b>	<b>PRİMER TÜMÖR (T)</b>
	a&b&c	a/b/c/d	(a&c)/b/d	(a&c)/d	Kriter
	≤ 3 cm	> 3 cm	herhangi	herhangi	a. Büyüklük
	Lob bronş proksimalinde invazyon yok* (ana bronş içinde tümör yok)	Ana bronşda (karınaya ≥ 2cm uzakta)	Ana bronşda (karınaya < 2cm yakında)	-	b. Endobronşial lokalizasyon
	Akciğer veya visseral plevra ile çevrili	Visseral plevra	Göğüs duvarı† Diafragma Mediastinal plevra Paryetal perikard	Mediasten Trakea Kalp Büyük damarlar Özefagus Vertebra Karına	c. Lokalizasyon
	-	Hiler bölgeye uzanan fakat tüm akciğeri tutmayan atelektazi / obstrüktif prömonitis	Tüm akciğeri tutan atelektazi/ obstrüktif prömonitis	Malign plevral veya perikardial effüzyon ‡ veya primer tümör lobu içinde satellit tümör nodülü	d. Diğerleri

(&: ve) (/: veya) (&/: ve/veya)

### 2.8. PROGNOSTİK FAKTÖRLER

Evre ve hastalığın yaygınlığı prognozu belirleyen en önemli göstergedir (4). KHADK bütün akciğer kanserlerinin yaklaşık %80'ini oluşturmaktadır. KHADK'i olan hastaların yaklaşık %30'unu Evre I ve II hastalar oluşturmaktadır. Bu hastalar için en iyi yaklaşım cerrahidir tedavidir. Hastalığın tam rezeksiyonuna rağmen 5

yıllık sağ kalım Evre I için %57-67, Evre II için %39-55 olup relaps hastaların çoğunda cerrahiden sonraki ilk 2 yıl içerisinde gelişmektedir (5).

Hastaların %25-30'u tanı sırasında lokal ileri evrededir (Evre IIIA ve IIIB ). Bu evredeki tümörlerin cerrahi rezeksiyonu bazı vakalarda mümkün olabilirse de, bu grup hastaların tedavilerinin aslı palyatif ya da radikal radyoterapidir. Evre IIIA için 5 yıllık yaşam süresi %9-25, Evre IIIB için %3-7'dir. Son çalışmalar bu grup hastalarda kemoterapinin ilave edilmesinin sağ kalımı arttırdığını göstermiştir (5). Evre IV hastaların sonuçları oldukça kötü olup 5 yıllık sağ kalım %1'in altındadır. Gerçekten sistemik tedavi için uygun hastalarda kemoterapi sağ kalımı ancak 6-12 hafta uzatabilmektedir. 1 yıllık sağ kalım destek tedavisi ile %5-15, kemoterapi alanlarda ise %30-40'tır (5,7). Patolojik evre ile bildirilen sağ kalım süreleri, klinik evrelemedeki sağ kalım sürelerine göre daha yüksektir. Bu durum patolojik kriterlere göre daha doğru bir evreleme yapılması ve özellikle Evre IIIA'da cerrahi tedavi için uygun hastaların seçilmesi ile ilişkilidir. Tanısal girişimler, cerrahi, radyoterapi ve kemoterapideki ilerlemelere rağmen tüm KHDAK'li hastalarda yaşam süreleri kötü olup 5 yıllık sağ kalım %8-14'tür.

İleri evre hastalarda özellikle %10'dan fazla kilo kaybı, performansın düşük oluşu kötü prognozu gösterir. Kadınlarda kanserin daha iyi bir seyir göstermesi nedeniyle cinsiyet prognostik önem taşıyabilir (8). Rezektabl tümörlü hastalarda ileri yaş, postoperatif yüksek mortalite oranları nedeni ile genellikle olumsuz bir prognostik faktör olarak tanımlanır (9). İleri evre (Evre IIIB ve IV) KHDAK'nde hastaların kemoterapi rejimleri için yaş ve ırk önemli bir faktör değildir. Bununla beraber sosyoekonomik faktörler hastalığın seyrini etkileyebilir.

Skuamöz hücreli karsinomlar lokal, bölgesel büyüme eğiliminde iken adenokarsinomlar daha çok uzak metastaz yaparlar. Ancak yine de histolojik tipin prognoza etkisi gösterilememiştir (10).

Beş yıllık sağ kalım oranı diploid tümörlerde (%61) , anöploid tümörlerden (%35) daha yüksek bulunmuştur (11,12). KHDAK'li hastaların %49-60'ında kromozom 3p delesyonu gösterilmiştir. Bu delesyon sağ kalımı, evre ve histolojik tipten bağımsız olarak olumlu yönde etkilemektedir (13).

Bcl-2 programlanmış hücre ölümünü (apoptozis) inhibe eden bir proto-onkogendir. KHDAK'nde bcl-2 ekspresyonu ile sağ kalım arasında doğrudan bir

ilişki bulunmaktadır. bcl-2 pozitif hastalarda 5 yıllık yaşam oranı daha fazladır (14).

### 2.9. C-erbB-2

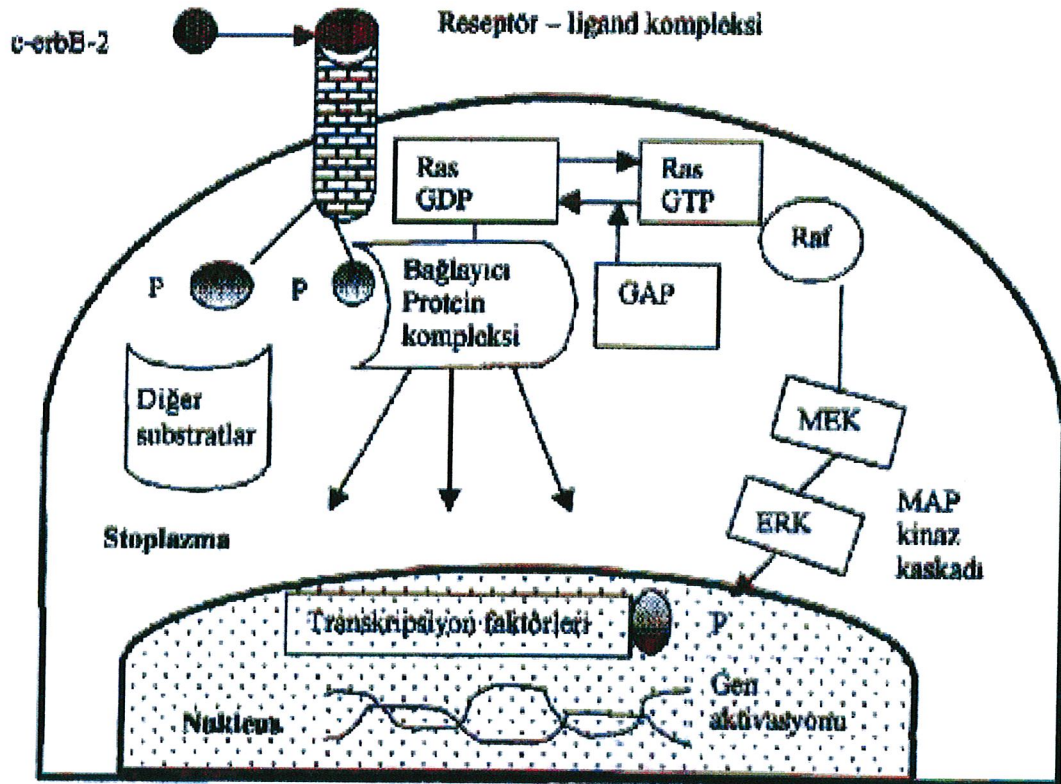
Onkogen olan v-erbB geni, kuşlara ait bir eritroblastozis virüsüdür ve tavuklarda eritroblastozis ve sarkomların oluşumunu indükler. Tirozin kinaz aktivitesine sahip, 170 kilodalton ağırlığındaki glikoprotein olan “Epidermal Growth Faktör” (EGF) reseptör geninin ürünüdür (15). V-erB geni ile ilişkili olan c-erbB-2 geni ilk kez etil-nitrosoüre ile indüklenerek oluşturulan, sıçan nöroblastomalarında transforming onkogen olarak tanımlandığı için “neu” diye adlandırılmıştır (16). İnsanda ise v-erB geniyle ilişkili olan 17 no’lu kromozomun q21’de yerleşmiş olan c-erbB-2 geni bulunmuştur (17).

C-erbB-2 geni (HER-2/neu), büyüme faktör reseptörleri ile yakın ilişkili, dört kişilik bir ailenin elemanıdır. Her biri yüzey reseptörlerinin aracılığıyla hücre membranındaki tirozin kinaz reseptörünün ligandlarına bağlanır. Bu ligandlara “neu differentiation” veya “heregulin” adı verilir (Tablo I) (18,19). C-erbB-2, Class I büyüme faktör reseptör tirozin kinaz ailesinden 185-kilodalton ağırlığındaki transmembran proteinini kodlar (18,19,20). Hücre membranında bulunan transmembran protein tirozin kinaz reseptörü, N- uç ekstrasellüler ligand bağlayıcı alan, tek transmembran  $\alpha$  heliks ve kinaz aktivitesi olan sitozolik c- uç bölgesinden oluşur. Bu reseptörlerin en büyük özellikleri, ligandın bağlanmasıyla dimer oluşturmalarıdır. Bu yolla reseptörün otofosforilasyonu oluşur. Reseptör fosforilasyonu, hedef proteinlerin fosforilasyonuna yol açar ve hücre içi sinyal ileti yolları tetiklenmiş olur. Artmış reseptör ekspresyonu genin amplifikasyonu ile olur (Şekil 1). Genin amplifikasyonu, c-erbB-2 haberci RNA (mRNA) ve P185 proteininin aşırı ekspresyonuna yol açar. Artmış olan bu protein ekspresyonu immünohistokimyasal yöntemle, tümör hücresinde yoğun hücre membranının boyanması şeklinde izlenir (17,20).



Tablo II. HER (erb) Gen ailesi

Gen	Ligand
HER-1(c-erbB-1)	“Epidermal Growth Factor” “Transforming Growth Factor- $\alpha$ ” “ $\beta$ -Cellulin” “Heparin Binding Growth Factor” “Amphiregulin”
HER-2(c-erbB-2)	“Heregulin”
HER-3(c-erbB-3)	“Heregulin neu differantion factor-1 and 2”
HER-4(c-erbB-4)	“Heregulin neu differantion factor-1 and 2”



Şekil 1. c-erbB-2'nin hücre membran reseptörü ve hücre içi sinyallerini kullanarak oluşturduğu etki mekanizması

### 2.9.1. C-erbB-2 EKSPRESYON VE AMPLİFİKASYONUNUN TESBİTİ

Dokuda c-erbB-2 geninin amplifikasyonunu ölçmek için "Southern Blot" ve "Slot blotting" , "Northern Blot" , Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR), "insitu fluorescent hybridization (FISH)" , "nonfluorescent" yöntemler, "Western Blot" testi ve "Enzyme-linked immunosorbent assay (ELİSA)" yöntemleri kullanılır. c-erbB-2 protein ekspresyonunu tayin etmek için ise immünohistokimyasal (İHK) yöntem kullanılır. Bu yöntemlerde taze doku, frozen kesitler ve formalinle tespitli parafin kesitlerden hazırlanan bloklar kullanılabilir (18,19,21,22). Rutin patoloji laboratuvarlarında en çok kullanılan yöntem İHK yöntemidir. Işık mikroskopunda, tümör dokusunda membranöz boyanma varlığı ve şiddetine göre değerlendirilir. Boyanma yoksa 0, zayıf membranöz boyanma 1+, orta derecede şiddette membranda devamlılığı tam olmayan boyanma 2+, şiddetli, kesintisiz membranöz boyanma 3+ olarak değerlendirilir (18,23).

C-erbB-2 amplifikasyonunu tespit etmek için günümüzde en çok kullanılan ve en duyarlı yöntemlerden biri, insitu fluorescent hybridization (FISH) tekniğidir. Bu yöntem parafin bloklara uygulanabilir ancak maliyeti oldukça yüksektir. İHK yöntemi ile saptanan boyanma şiddeti ile genin amplifikasyonu arasında doğru ilişki olduğunu gösteren çeşitli çalışmalar vardır (18,22,24,25). Bir çok araştırmacı, çeşitli yöntemlerin birbirlerine olan üstünlüklerini ortaya çıkarmaya çalışmışlardır. Son zamanlarda yapılan çalışmalarda, İHK olarak 2+ olan olgulara FISH uygulandığında yaklaşık %25-40 oranında c-erbB-2 gen amplifikasyonu tespit edilmiştir (26). Bu sonuçların ışığında, şu anda geçerli olan görüş; tüm olgulara daha ucuz ve kolay olan İHK yöntemini uygulamak ve sadece 2+ membranöz boyanma gösteren olgularda FISH ile c-erbB-2 gen amplifikasyonunu tespit etmek şeklindedir. İHK ile boyanma olmayanlarda ve 1+ membranöz boyanma gösterenler c-erbB-2 ekspresyonu açısından negatif, 3+ membranöz boyanma gösterenler ise pozitif olarak kabul edilir. 2+ membranöz pozitif boyananlar ise FISH ile amplifikasyon tespit edildikten sonra pozitif olarak kabul edilmektedir (26).

### 2.9.2. Akciğer Kanserleri ve c-erbB-2

Son 25 yıldır bir çok kanser tipinin tedavisinde ilerlemeler olmasına rağmen akciğer kanserli hastalarda 5 yıllık sağ kalım oranında önemli bir artış sağlanamamıştır (27). Bu şartlar altında akciğer kanseri tedavisinde gelişme sağlayabilmek için yeni stratejiler araştırılmış ve sitogenetik ve moleküler biyoloji alanındaki çalışmalara ağırlık verilmiştir. Akciğer kanserinde de diğer kanserlerde olduğu gibi bazı spesifik genlerde (protoonkogen, tümör süpresör gen) veya bunların regülasyon bölgelerinde meydana gelen mutasyon, delesyon, kromozomal translokasyon, amplifikasyon veya viral genom entegrasyonu gibi değişiklikler normal hücrelerin malign transformasyonuna neden olmaktadır (28,29,30,31). Bu genetik değişikliklerden birisi de protoonkogen c-erbB-2'de olmaktadır. Normal solunum yolu epitel hücrelerinden salgılanan HER-2/neu olarak isimlendirilen bu protein normal akciğer epitelinin gelişimi ve differansiasyonunda rol oynar (28,29,32). c-erbB-2 onkogeninin aktivasyonu farelerde nokta mutasyonu, insanlarda ise gen amplifikasyonu yolu ile olur ve HER-2/neu proteininin aşırı yapımını başlatır (29,32). Epidermal Growth Faktör Reseptörünün antisitoplazmik kısmına yapısal benzerlik gösteren HER-2/neu, tirozin kinaz aktivitesi ile hücre içine sinyal iletimini sağlar (28,29). KHDAK'de vakaların yaklaşık 1/3'ünde bu proteinin yapımının arttığı ve özellikle de adenokarsinomlarda c-erbB-2 gen amplifikasyonu ve artmış c-erbB-2 protein yapımı olup bunun kötü prognoz ile de bağımsız olarak ilişkili olduğu iddia edilmektedir (28,30,31,32). Şimdiye kadar yapılan çalışmalarda KHAK'de c-erbB-2 ekspresyonu, ya çok minimal bulunmuş ya da hiç tespit edilememiştir (30).

Son zamanlarda yapılan bazı çalışmalarda adenokarsinomların %26,6'sında serumda yüksek konsantrasyonda HER-2/neu tespit edilmiş ve bunun artmış tümör yükü ile ilerlemiş hastalığın göstergesi olduğu düşünülmüştür (28,33).

KHDAK'li olgularda yapılan immünohistokimyasal çalışmada HER-2 ekspresyonu, Evre I tümörlerin %18'inde, EvreIV tümörlerin %60'ında saptanmıştır (34). Bu durum KHDAK'nde HER-2 gen ekspresyon artışının KHDAK'nde hem ileri evre hem de kısa yaşam süresi ile ilişkili olduğunu düşündürmüştür.

### 2.9.3. C- erbB-2 ve Tedavi

KHDAK'de c-erbB-2 ekspresyonunun tedaviye yanıtta da etkili olduğu ileri sürülmüştür(34). Nguyen ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada KHDAK'nin %30'unda tespit edilen c-erbB-2 ekspresyonunun hastalarda kemoterapiye direnç oluşturduğu ve in vitro olarak HER-2/neu proteininin ekstrasellüler parçasının monoklonal antikor yöntemi ile bloke edilmesinin sisplatin sensitivitesini arttırdığı gösterilmiştir (35).

KHDAK'de c-erbB-2 eksprese eden olgularda son yıllarda tedavide c-erbB-2'ye dayanan yeni yaklaşımlar vardır; 1) Tek başına veya kombine kullanılan büyüme reseptörü inhibitörleri, 2) Fosforilasyonu engelleyerek sinyal iletimini etkileyen tirozin kinaz inhibitörleri (36), 3) Bazı hastalarda c-erbB-2 immünojenik olduğu için , aktif immünoterapi kullanımıdır (37). Son yıllarda geliştirilen rhuMab HER-2, doğrudan c-erbB-2 proteinine karşı oluşturulmuş, monoklonal bir antikordur. Trastuzumab aktivitesi için önerilen mekanizmalarından biri HER 2 downregülasyonudur. Yakın zamanda yapılan bir çalışmada , Trastzumab ile kemoterapinin beraber uygulanmasının KHDAK'nin yaşam süresini olumlu yönde etkilediği ve kemoterapinin daha iyi tolere edilmesini sağladığını göstermiştir (38).

### **3. MATERYAL VE METOD**

#### **3.1. Hasta Seçimi**

Bu çalışmaya Kasım 1997- Mayıs 2003 tarihleri arasında Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesine müracaat ederek küçük hücreli dışı akciğer kanseri tanısı almış hastalardan 20 erken evre (Evre I – Evre IIIA) ve 14 ileri evre (Evre IIIB – Evre IV) akciğer kanseri hastası alındı. Hastalara ait yaş, cinsiyet, uygulanan cerrahi, evre, takip süreleri ve yaşam süreleri, akciğer kanserinin histolojik alt tipi gibi klinik bilgiler takip dosyalarından elde edildi. Patolojik tiplere dünya sağlık örgütü kriterlerine göre sınıflandırıldı. Hastaların evrelemesi uluslararası akciğer kanseri evreleme sistemine (TNM sistemi) göre yapıldı (Tablo I) (5).

#### **3.2. İmmünohistokimya ve değerlendirme**

c-erbB-2 tayini için Rabbit ABC (Avidin Biotin Kompleks) boyama sistemi kullanıldı (Neomarkers , US). Sırası ile şu işlemler uygulandı:

1. Parafin bloklar halinde arşiv materyalleri 5 mikron kalınlığında mikrotom ile kesildi.

2. Deparafinizasyon için xylene, %100'lük alkol ve %95'lik alkol ile muamele edildikten sonra deiyonize su ile 5 dakika yıkandı.

3. Endojen peroksidaz aktivitesini önlemek için % 0.1-1'lik hidrojen peroksit ile 5-10 dakika inkübe edildikten sonra fosfat tamponlu tuzlu suda (PBS, Phosphate Buffer Saline) yıkandı.

4. Nonspesifik boyanmayı önlemek için %1.5 "Blocking" serumla bir saat süreyle inkübe edildi.

5. Primer antikor [Neomarkers US, MS-730-PO] ile oda sıcaklığında 30 dakika süre ile inkübe edildi. Primer antikor 1/350 oranında PBS içerisinde % 1,5'lük blocking serum ile sulandırıldı. İnkübasyon sonunda her biri 5 dakika olmak üzere 3 kez PBS ile yıkandı.

6. Sekonder antikor ile 30 dakika inkübe edildi. 5 dakika 3 kez PBS ile yıkandı.

7. 30 dakika AB enzim ile inkübe edildi. 3 kez PBS ile 5'er dakika yıkandı.

8. Peroksidaz ile 5 dakika inkübe edildi. Deiyonize su ile 5 dakika yıkandı.

9. Mayer's hemotoksilen ile 5 dakika boyandıktan sonra deiyonize su ile yıkandı.

10. Her biri 10 saniye olmak üzere iki kez %95'lik etanol, iki kez %100'lük etanol ve üç kez xylene ile muamele edilerek dehidratasyon yapıldıktan sonra ışık mikroskobu ile incelendi.

Patolojik incelemede hiç c-erbB-2 ekspresyon göstermeyenler (0) ve zayıf boyanma şeklinde c-erbB-2 ekspresyonu gösterenler (1+), orta derecede boyanma şekli gösterenler (2+) ve kuvvetli boyanma şeklinde c-erbB-2 ekspresyonu gösterenler (3+) şeklinde derecelendirildi. C-erbB-2 ekspresyon göstermeyenler ve zayıf ekspresyon edenler negatif, orta ve kuvvetli derecede c-erbB-2 ekspresyon edenler ise pozitif olarak tanımlandı.

### **3.3. İstatistik**

Bu çalışmada yapılan istatistiksel analiz ve grafik çizimleri SPSS ver 10.0 ve Microsoft Excel-2000 bilgisayar programları kullanılarak gerçekleştirildi. Hasta karakteristiklerini özetlemek için Descriptive istatistik kullanıldı. Gruplar arasındaki karşılaştırmada Mann Whitney-U testi kullanıldı.

#### 4.BULGULAR

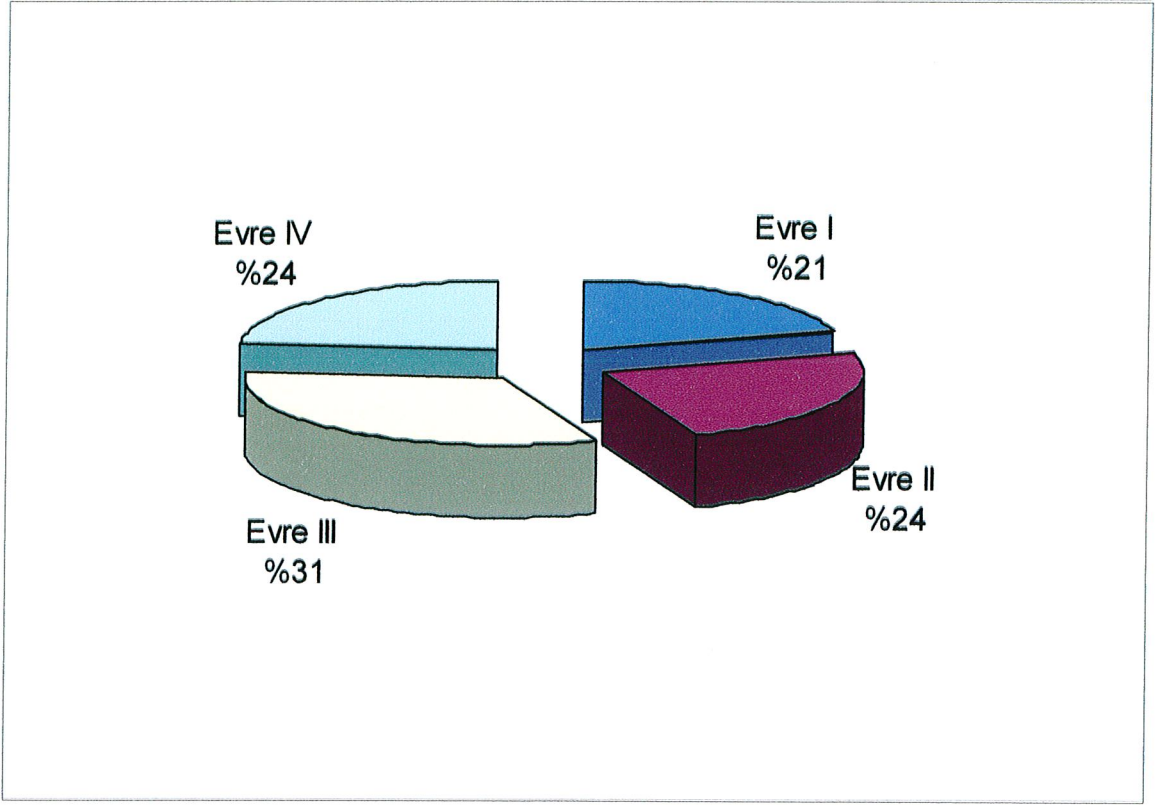
Bu çalışmaya 1997-2003 tarihleri arasında Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesinde KHDAK tanısı alan 34 hasta alındı. Çalışma bu hastalara ait patoloji örneklerinde immünohistokimyasal boyama yöntemi ile c-erbB-2 boyanması ve klinik parametrelerin retrospektif olarak taranması sonucunda gerçekleştirildi. Hastaların 4'ü kadın, 30'u erkekti. Hastaların yaş ortalaması  $58.5 \pm 10.0$  ve ortalama yaşam süresi  $18.1 \pm 18.1$  ay idi. Erkeklerin yaş ortalaması  $57.7 \pm 9.6$ , kadınların yaş ortalaması  $65.0 \pm 12.8$  idi (Tablo 3).

Tablo 3. Hastaların ortalama yaşları, cinsiyet ve c-erbB-2 pozitifliği

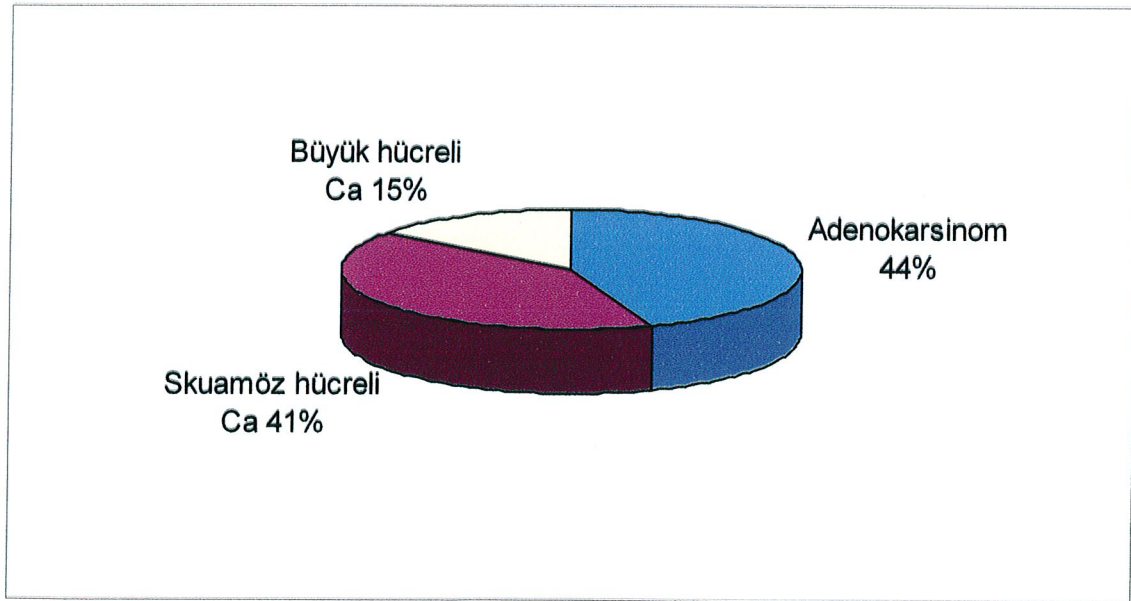
	n	Yaş	(-)	(+)	(++)	(+++)	Pozitif n / (%)
Erkek	30	$57.7 \pm 9.6$	8	14	5	3	8 / (%26.6)
Kadın	4	$65.0 \pm 12.8$	2	1	1	-	1 / (%25)

(-) : Negatif, (1+) : Zayıf Pozitif, (2+) : Orta Pozitif, (3+) : Kuvvetli Pozitif

Olguların 7'si evre I, 8'i evre II, 11'i evre III (5'i evre IIIA, 6'sı evre IIIB), 8'i evre IV hastalardan oluşuyordu (Şekil 2). Hastalardan 20'si (% 58.8) operabl, 14'ü (% 41.2) inoperabl idi. Hastalara akciğer kanseri histopatolojik tipi açısından bakıldığında 15 adenokarsinom, 14 skuamöz hücreli karsinom, 5 büyük hücreli karsinom tanısı alan hasta vardı (Şekil 3). Patolojik incelemede hiç c-erbB-2 eksprese etmeyenler (0) ve zayıf boyanma şeklinde c-erbB-2 ekspresyonu gösterenler (1+), orta derecede boyanma şekli gösterenler (2+) ve kuvvetli boyanma şeklinde c-erbB-2 ekspresyonu gösterenler (3+) şeklinde derecelendirildi. C-erbB-2 eksprese etmeyenler ve zayıf eksprese edenler negatif, orta ve kuvvetli derecede c-erbB-2 eksprese edenler ise pozitif olarak tanımlandı (Resim 1, 2, 3). Kontrol grubu olarak meme kanseri dokusu kullanıldı (Resim 4). İHK yöntemi ile (2+) c-erbB-2 ekspresyonu gösteren olgular doğrulamak amacıyla FISH yöntemi ile tekrar incelendiğinde %25-40'ının gerçek (2+) değere sahip olduğu bildirilmiştir. Bu yöntem meme kanserli hastalar için kullanılmakta olup akciğer kanserinde kullanım yeri yoktur.

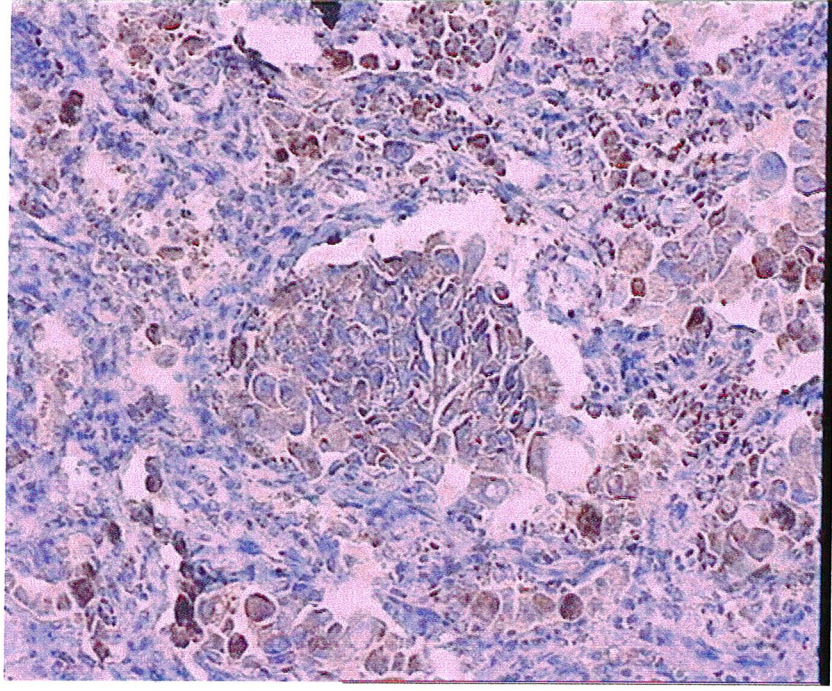


Şekil 2. Hastaların evrelere göre dağılımı

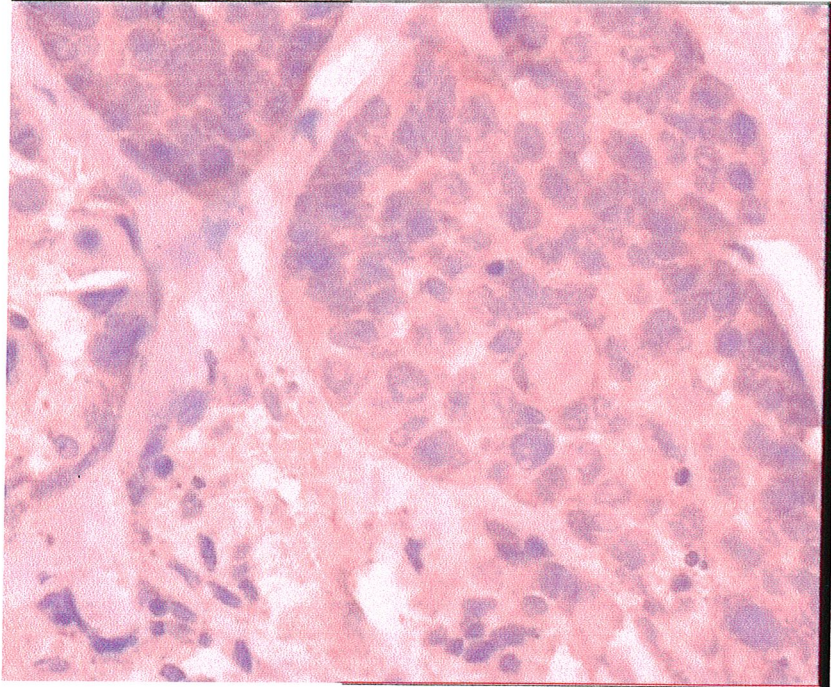


Şekil 3. Hastaların histopatolojik alt gruplara göre dağılımı



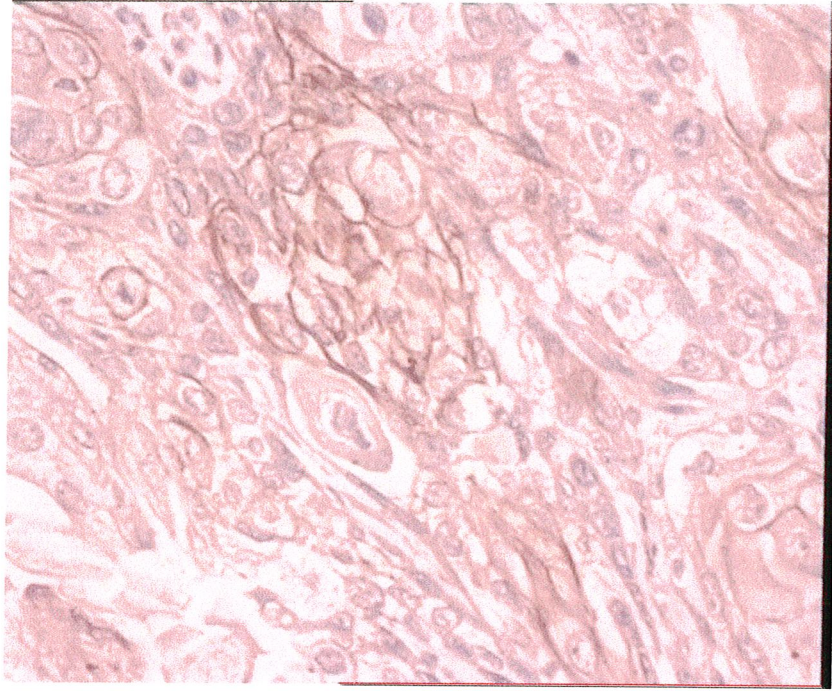


**Resim 1.** Küçük hücreli dışı akciğer karsinomunda hücre zarında orta derecede c-erbB-2 ekspresyonunun (2+) immünhistokimyasal yöntemle gösterilmesi (HE, x200)

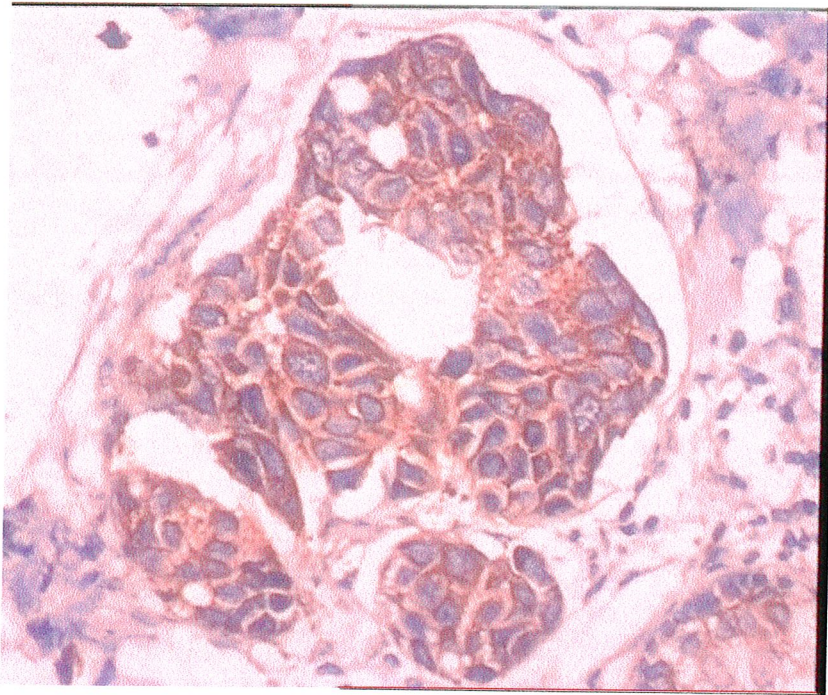


**Resim 2.** Küçük hücreli dışı akciğer kanserinde hücre zarında orta derecede c-erbB-2 ekspresyonunun (2+) immünhistokimyasal olarak gösterilmesi (HE, x 400).





**Resim 3.** Küçük hücreli dışı akciğer kanserinde hücre zarında şiddetli, kesintisiz c-erbB-2 ekspresyonunun (3+) immünohistokimyasal olarak gösterilmesi (HE, x 400).



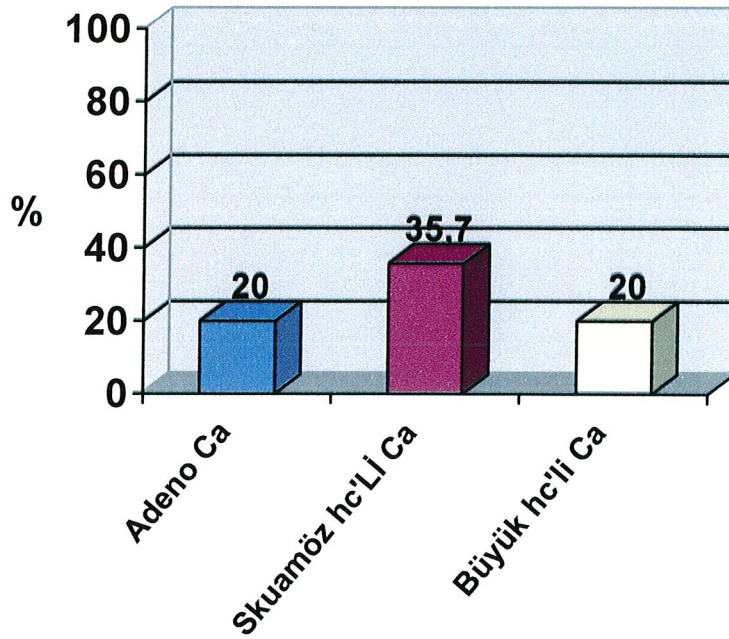
**Resim 4.** Meme kanserinde (kontrol doku) c-erbB-2 pozitifliğinin immünohistokimyasal yöntemle gösterilmesi (HE, x200)

Histopatolojik alt tipler arasında c-erbB-2 boyaması açısından fark olup olmadığı araştırıldı. 15 adenokarsinom tanısı olan hastanın 3'ünün (%20) c-erbB-2 eksprese ettiği, 14 skuamöz hücreli karsinom tanılı hastadan 5'inin (%35.7) ve 5 büyük hücreli karsinomlu hastadan 1'inin (%20) c-erbB-2 eksprese ettiği saptandı (Şekil 4) (Tablo 4). Tümör dokusunun c-erbB-2 ile boyanması açısından bakıldığında histopatolojik alt grupların boyanma oranları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktu (p=0.593).

**Tablo 4 . Hücre tipine göre c-erbB-2 pozitifliği**

Histolojik Tip	Hasta Sayısı n	c-erbB-2 ekspresyonu				Pozitiflik % n / %
		(-)	1(+)	2(+)	3(+)	
Adenokarsinom	15	5	7	2	1	3 ( %20)
Skuamöz hücreli	14	2	7	3	2	5 ( %35.7)
Büyük hücreli	5	3	1	1	-	1 (%14)

(-) : Negatif, (1+) : Zayıf Pozitif, (2+) : Orta Pozitif, (3+) : Kuvvetli Pozitif



Şekil 4. Histopatolojik tiplere göre c-erbB-2 ekspresyon oranları

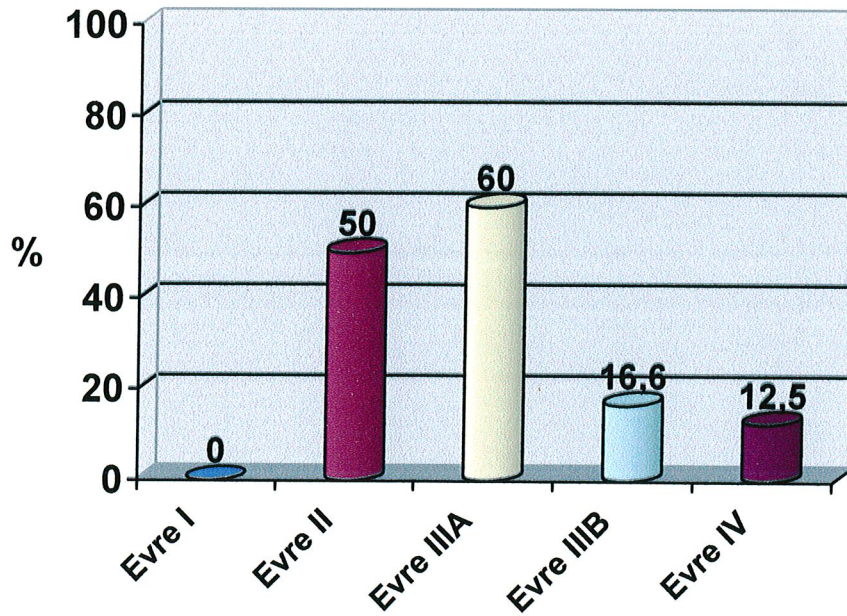
Hastalık evrelerine göre c-erbB-2 oranlarına bakıldığında evre I'deki 7 hastada c-erbB-2 ekspresyonu saptanmazken, evre II'deki 8 hastanın 4'ünde (%50) ve evre IIIA'daki 5 hastanın 3'ünde (%60), evre IIIB'deki 6 hastanın 1'inde (%16.6) c-erbB-2 ekspresyonunun var olduğu saptandı. Evre IV'deki 8 hastanın ise 1'inde (%12.5) c-erbB-2 ekspresyonu saptandı. (Şekil 5) (Tablo 5). Evre ile c-erbB-2 ekspresyonu arasında anlamlı bir ilişki bulunamadı ( $p=0.067$ ).



Tablo 5. Hastalık evresine göre c-erbB-2 pozitifliği

Evre	Hasta sayısı	C-erbB-2 ekspresyonu				Pozitiflik oranı
		(-)	(+)	(++)	(+++)	
I	7	2	5	-	-	0 (%0)
II	8	2	2	2	2	4 (%50)
IIIA	5	-	2	2	1	3 (%60)
IIIB	6	2	3	1	-	1 (%16.6)
IV	8	4	3	1	-	1 (%12.5)

(-) : Negatif , (+) : Zayıf Pozitif , (++) : Orta Pozitif , (+++) : Kuvvetli Pozitif



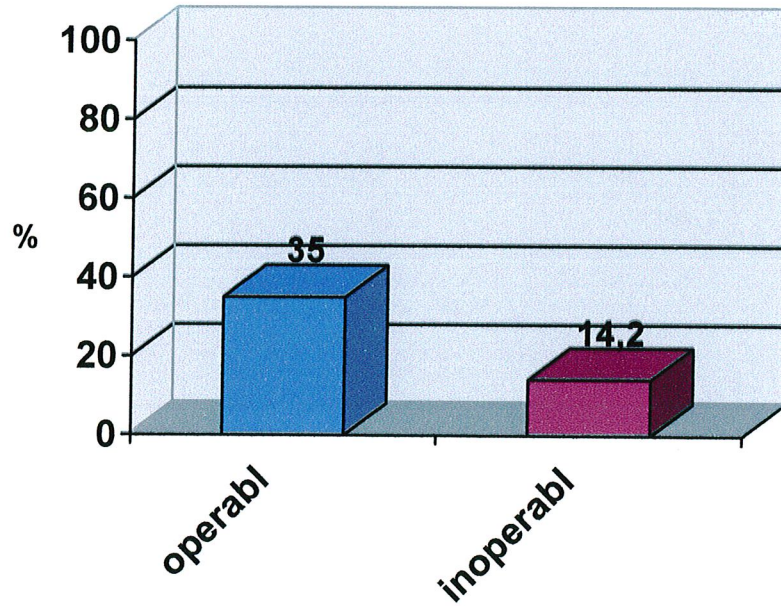
Şekil 5. Evrelere göre c-erbB-2 eksprese eden hastaların oranları

Evre I'deki c-erbB-2 negatif hastaların (7 hasta) ortalama yaşam süresi  $29.1 \pm 15.3$  ay, iken c-erbB-2 ile pozitif boyanan hasta yoktu. Evre II'deki c-erbB-2 negatif hastaların (4 hasta) ortalama yaşam süresi  $25.0 \pm 19.8$  ay iken, pozitif hastaların (4 hasta) ortalama yaşam süresi  $35.2 \pm 29.8$  ay idi ( $p>0.05$ ). Evre IIIA'daki c-erbB-2 negatif hastaların (2 hasta) ortalama yaşam süresi  $30.0 \pm$  ay, c-erbB-2 pozitif hastaların (3 hasta) ortalama yaşam süreleri ise  $11.0 \pm 4.6$  ay olarak saptandı ( $p>0.05$ ). Evre IIIB'deki pozitif sonuç gösteren 1 hastanın yaşam süresi 5.0 ay iken, c-erbB-2 negatif olan 5 hastanın ortalama yaşam süresi  $4.6 \pm 2.3$  ay olarak saptandı ( $p>0.05$ ). Evre IV'deki hastalarda (8 hasta) c-erbB-2 pozitif olan 1 hastanın yaşam süresi 7 ay iken, negatif saptanan 7 hastanın ortalama yaşam süresi  $6.1 \pm 2.1$  ay idi ( $p>0.05$ ) (Tablo 6). Hastalarda TNM evrelemesi, yaşam süreleri ve c-erbB-2 ekspresyonu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmadı ( $p>0.05$ ).

Tablo 6. Evrelere göre c-erbB-2 ekspresyonu gösteren ve c-erbB-2 ekspresyon etmeyen hastaların ortalama yaşam süreleri

Evre	Ortalama yaşam süresi -Ay		p
	c-erbB-2 negatif (n)	c-erbB-2 pozitif (n)	
I	$29.1 \pm 15.3$ (7)	-	-
II	$25.0 \pm 19.8$ (4)	$35.2 \pm 29.8$ (4)	$>0.05$
IIIA	$30.0 \pm 25.4$ (2)	$11.0 \pm 4.6$ (3)	$>0.05$
IIIB	$4.6 \pm 2.3$ (5)	5.0 (1)	$>0.05$
IV	$6.1 \pm 2.1$ (7)	7.0 (1)	$>0.05$
Toplam	25	9	

Hastalar operabl ve inoperabl olarak iki gruba ayrılıp c-erbB-2 pozitifliği açısından incelendi. 20 operabl hastanın 7'sinde (%35) c-erbB-2 pozitif bulunurken , 14 inoperabl hastanın 2'sinde (%14.2) c-erbB-2 pozitif olarak bulundu. Operabl hastalarda c-erbB-2 eksprese etmeyen hastaların ortalama yaşam süreleri  $28.0 \pm 16.5$  iken, c-erbB-2 eksprese eden hastaların ortalama yaşam süreleri  $28.0 \pm 24.8$  olarak bulundu ( $p>0.05$ ). İnoperabl hastalardan c-erbB-2 ile boyanmayan hastaların ortalama yaşam süreleri  $5.5 \pm 2.2$  iken, c-erbB-2 ile boyanan hastaların ortalama yaşam süreleri  $6.0 \pm 1.4$  olarak bulundu. Operabl ve inoperabl evrede olan hastalarda c-erbB-2 pozitifliği ile yaşam süresi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktu ( $p>0.05$ ) (Şekil 6).



Şekil 6. Operabl ve inoperabl hastalarda c-erbB-2 pozitiflik oranları

## 5. TARTIŞMA

Akciğer kanserinde diğer kanser türlerinde olduğu gibi çeşitli onkogen aktivasyonlarının karsinogenezde rol oynadığı bilinmektedir. Bunların arasında c-erbB-2 onkogeninin aktivasyonu ve bunun protein ürünü olan HER-2/neu'nun ekspresyonu da yer almaktadır (29, 30). C-erbB-2'nin protein ürünü solunum yolu epitelinden salgılanıp bu hücrelerin gelişimi ve diferansiyasyonunda rol oynar (27, 29, 30, 31). Küçük hücreli dışı akciğer kanserlerinin yaklaşık 1/3' ünde bu proteinin fazla miktarda üretiminin olduğu ve bu durumun özellikle adenokarsinomlu hastalarda sağkalım süresi ile bağımsız olarak ilişkili olduğu öne sürülmektedir (27, 29, 30, 31). Küçük hücreli akciğer kanserlerinde ise c-erbB-2 pozitifliği çok düşük oranlarda tespit edilebilmiş veya hiç tespit edilememiştir (29).

Shi ve arkadaşları 114 küçük hücreli dışı akciğer kanseri hastasında yaptıkları çalışmada %58.7 oranında c-erbB-2 pozitifliği saptamışlardır (38). Ancak yapılan pek çok araştırmada tüm küçük hücreli dışı akciğer kanseri olgularında saptanan c-erbB-2 pozitifliği %12.7-30 gibi daha düşük oranlarda bulunmuştur (34, 39). Salepci ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada küçük hücreli akciğer kanserlerinde c-erbB-2 ekspresyonu negatif bulunurken, küçük hücreli dışı akciğer kanserlerinde c-erbB-2 pozitiflik oranı %58.7 olarak bildirilmiştir (40). Bizim çalışmamızda küçük hücreli dışı akciğer kanserli hastalarda c-erbB-2 pozitifliği %26.4 olarak bulundu ve bu sonuç literatürlerle uyumluydu. C-erbB-2 ekspresyonunun özellikle adenokarsinomlu hastalar dikkate alındığında daha yüksek oranlarda bulunduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur (32, 41, 42). Bakır ve arkadaşlarının yaptıkları bir çalışmada c-erbB-2 ekspresyon oranı skuamöz hücreli karsinomlarda %88.8 ve adenokarsinomlarda %86.6 olarak tespit edilmiştir (43). Kern ve arkadaşları adenokarsinomlu hastalarda tümör dokusunda %34 oranında c-erbB-2 ekspresyonu tespit etmişlerdir (39, 41). Bizim adenokarsinomlu hastalarımızda bu oran %20, skuamöz hücreli karsinomlarda ise %35.3 olarak tespit edildi. Ancak hasta grubumuz daha az sayıda hastadan oluştuğu göz önüne alındığında



skuamöz hücreli karsinomların oranının göreceli olarak daha yüksek çıkmış olabileceği düşünüldü. Ayrıca yapılan çalışmalarda adenokarsinomda c-erbB-2 pozitifliğinin hastalarda bağımsız bir kötü prognoz göstergesi olabileceği kanaatine ulaşılmış fakat tümör evresi veya farklılaşma derecesi (grade'i) ile arasında bir ilişki tespit edilememiştir (32, 42). Bakır ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada tümörün histolojik grade'i, nodal metastaz, mitotik aktivite ile c-erbB-2 ekspresyonu arasında anlamlı bir ilişki saptanmaz iken , klinik evre ile c-erbB-2 arasında anlamlı korelasyon tespit edilmiştir (43). Pastorino ve arkadaşları ise sadece evre I olan 515 küçük hücreli dışı akciğer kanseri vakasını incelemişler, tüm küçük hücreli dışı akciğer kanserlerinde %4, adenokarsinomlarda %6 olacak şekilde diğer araştırmacılara göre çok daha düşük oranlarda c-erbB-2 pozitifliği tespit etmişlerdir (26). Bu pozitifliğin hastaların sağkalım süresi ile ilişkisini gösterememişlerdir. Brabender ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada küçük hücreli dışı akciğer kanserlerinde c-erbB-2 ekspresyonu %34.9 olarak bildirilmektedir (46).

Bizim çalışmamızda da hastalardaki c-erbB-2 pozitifliği ile klinik evre ve tümörün histolojik tipi arasında istatistiksel anlamlı ilişki bulunamamıştır. Bu sonuç diğer araştırmacıların sonuçları ile uyumludur. Çalışmamızda küçük hücreli dışı akciğer kanserleri arasında en büyük grubu 15 hasta ile adenokarsinomlar oluşturmaktaydı ve bu grupta %20 oranında c-erbB-2 pozitifliği saptandı. Bu oran skuamöz hücreli karsinomlu hastalarda %35.7 ve büyük hücreli karsinomlar arasında ise %20 olarak saptandı. Bu yüzdeler arasında rakamsal farklılık olmakla beraber istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı. Bu sonuçlara göre tümörün tipi ile c-erbB-2 pozitifliği arasında ilişki olmadığı düşünüldü.

Hastaların evrelerine göre c-erbB-2 ekspresyonu incelendiğinde bu oran evre I'deki hastalarda %0, evre II hastalarda %50, evre IIIA hastalarda %60 olarak saptandı. Evre IIIB hastalarda %16.6 ve evre IV'deki hastalarda da %12.5 olarak saptandı. Erken evrelerde evre ile beraber c-erbB-2 pozitifliği artarken evre IIIB ve IV'deki hastalarda bu oran beklenenden düşük olarak bulundu. Hastaların klinik evreleri ile c-erbB-2 pozitifliği arasında anlamlı bir ilişki olmadığı düşünüldü.

Hastalar arasında operabl evrede olanlarla ve inoperabl evrede olanlar ayrılıp bunlar arasında c-erbB-2 pozitifliği arasından bir fark araştırıldı. 20 operabl hastanın 7'sinde (%35) c-erbB-2 pozitif bulunurken 14 inoperabl hastanın 2'sinde

(%14.2) c-erbB-2 pozitif olarak saptandı. İnoperabl hastalardaki oranın düşük çıkmasının hastaların sayısının yetersiz olmasından kaynaklandığını düşünmekteyiz. Bu iki grup arasında da sayısal değerler açısından fark olmakla beraber istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır. Bu sonuç hastaların evresi ile c-erbB-2 arasında ilişki olmadığını bir kez daha desteklemektedir.

Kern ve arkadaşlarının (39) ile Tateishi ve arkadaşlarının (44) yaptıkları çalışmalarda hastalarda tespit edilen c-erbB-2 ekspresyonu ile yaşam süresi arasında anlamlı bir korelasyon olduğu bildirilmiştir oysa Pfeiffer ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada (45) c-erbB-2 ekspresyonu ile yaşam süresi arasında anlamlı bir ilişki bulunamamıştır. Brabender ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada da, c-erbB-2 ekspresyonunun küçük hücreli dışı akciğer kanserlerinde yaşam süresi için bağımsız bir prognostik faktör olduğu gösterilmiştir (46). Giatromanolaki ve arkadaşları yaptıkları çalışmada ise c-erbB-2 eksprese eden ve etmeyen gruplar arasında yaşam süresi açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamışlardır (47). Bizim yaptığımız çalışmada yaşam süresi ile c-erbB-2 pozitifliği arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunamamıştır.

c-erbB-2 ekspresyonu ile akciğer kanseri prognozu arasındaki ilişkinin tespiti ve tedavide immünoterapi ve onkogen blokajı gibi yeni yöntemlerin etkinliğinin sağlıklı bir şekilde değerlendirilebilmesi için daha fazla sayıda hasta içeren gruplarda çalışmaların tekrarlanması gerektiğini düşünmekteyiz.

## 6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Küçük hücreli dışı akciğer kanseri tanısı almış olan 34 hastada yapılan c-erbB-2 ekspresyonunun immünohistokimyasal analizi sonucunda:

1. c-erbB-2 eksprese eden ve c-erbB-2 eksprese etmeyen hastaların ortalama yaşam sürelerinin istatistiksel olarak farklı olmadığı saptandı.
2. Histopatolojik alt gruplar açısından değerlendirildiğinde skuamöz hücreli karsinomlarda bir miktar fazla olmakla beraber, adenokarsinomlarla skuamöz hücreli karsinomlar arasında c-erbB-2 ekspresyonu açısından anlamlı bir farkın olmadığı görüldü.
3. c-erbB-2 ekspresyonunun hastalık evresine göre değişmediği saptandı.
4. Operabl ve inoperabl hastalar karşılaştırıldığında her iki grupta da c-erbB-2 pozitifliği ile ortalama yaşam süresi arasında anlamlı bir fark olmadığı görüldü.
5. Mevcut bilgiler tümörlerdeki c-erbB-2'nin çeşitli yöntemlerle bloke edilmesinin, gelecekte yapılacak çalışmaların ışığında kemoterapiye cevabı arttırabileceğini ve bu yöntemlerin kemoterapi ile birlikte kullanılmasını gündeme gelebileceğini göstermektedir. Bu konuda daha fazla sayıda hasta içeren gruplarda yapılmış çalışmalara ihtiyaç vardır.

## 7. ÖZET

Akciğer kanseri dünyada kadınlarda ve erkeklerde en sık görülen kanserlerden biri olup tanı ve tedavi yöntemlerindeki ilerlemelere rağmen morbidite ve mortalitesi hala yüksek seyreden bir hastalıktır. Aynı evredeki hastalarda bile hastalık seyrinin aynı gitmemesi bazı hastalarda ise daha agresif seyir göstermesi dikkatleri tümörün kendisi ile ilgili farklı prognoz belirleyicilerinin olabileceği konusuna çekmiştir. Bu şartlar altında akciğer kanseri tedavisinde gelişme sağlayabilmek için yeni stratejiler araştırılmış ve sitogenetik ve moleküler biyoloji alanındaki çalışmalara ağırlık verilmiştir. Bu çalışmalarda saptanan değişikliklerden birisi de insanlarda 17 ve 21q kromozomunda bulunan protoonkogen c-erbB-2'de olmaktadır. Normal solunum yolu epitel hücrelerinden salgılanan c-erbB-2 proteini normal akciğer epitelinin gelişimi ve diferansiasyonunda rol oynar. Yapılan çalışmalarda KHDAK'de tümör dokusunda c-erbB-2 ekspresyonunun arttığı ve bunun da kötü prognoz ile bağımsız olarak ilişkili olduğu iddia edilmektedir. Bu çalışmada KHDAK hastalarında tümör dokularında immünohistokimyasal yöntemle c-erbB-2 ekspresyonuna bakılarak c-erbB-2 ekspresyonunun ortalama yaşam süresi ile ilişkisi, evrelere ve histopatolojik alt gruplara göre değişip değişmediği incelenmiştir. Çalışmaya 34 KHDAK'li hasta alınmıştır. Sonuç olarak tüm hastalarda c-erbB-2 ekspresyonu varlığı ile ortalama yaşam süreleri arasında anlamlı bir ilişki saptanamamıştır ( $p>0.05$ ). Adenokarsinomlu hastalarla skuamöz hücreli karsinom tanısı olan hastalar karşılaştırıldığında, skuamöz hücreli karsinomlarda c-erbB-2 oranı daha yüksek bulunmakla beraber istatistiksel olarak anlamlı olmadığı görülmüştür ( $p=0.593$ ). Evrelere bakıldığında c-erbB2 ekspresyonunun evreler arasında da farklılık göstermediği görülmüştür ( $p=0.067$ ). C-erbB-2 ekspresyonu ve akciğer kanseri arasındaki ilişkinin belirlenebilmesi için daha fazla sayıda hasta içeren homojen gruplarla yapılacak çalışmalara ihtiyaç vardır.

## 8. SUMMARY

Despite the improvements in the diagnosis and treatment methods, lung cancer is one of the most frequent cancers seen among men and women. Morbidity and mortality of the lung cancer is still high. Being the course of disease is different even in the patients with same stage and in some patients even more aggressive, has been taking attention whether there may be various prognostic markers. In this condition, new strategies have been emerged and the studies in the area of cytogenetic and molecular biology have been concentrated on to make progress in the treatment of lung cancer. One of the differences determined in those studies is the protooncogen c-erbB-2 found at chromosome 17 and 21q in humans. Protein c-erbB-2 secreted from the intact respiratory epithelial cells plays a role in the development and differentiating of the normal lung epithelial cells. In the performed studies among NSCLC patients, increased expression of c-erbB-2 has been shown and its relation to poor prognosis was claimed. In this trial by immunohistochemical methods, the expression of c-erbB-2 was examined within the cancer tissues of NSCLC patients to search the relation of c-erbB-2 with mean survival time and whether the expression of c-erbB-2 changes in according to stages and histopathological subgroups. Thirty four patients with NSCLC were included in this study. As a result, among all patients there was no significant relation determined between the expression of c-erbB-2 and the mean survival time. When adenocarcinomas were compared to squamous cell carcinomas; in squamous cell carcinomas it was found that the c-erbB-2 rate was higher, but statistically it was not significant ( $p=0.593$ ). Considering the stages it was found that there was no differences among the stages ( $p=0.067$ ). To determine the relationship between the expression of c-erbB-2 and the lung cancer, new studies including more patients to be performed is needed.

## 9. KAYNAKLAR

1. Travis WD, Lubin J, Ries L, Devesa S. United States lung carcinoma incidence trends: declining for most histologic types among males, increasing among females. *Cancer* 1996; 77: 2464-70
2. Loeb LA, Ernster VL, Warner KE, Abbots J, Laszlo J. Smoking and lung cancer: an overview. *Cancer Res* 1984; 44: 5940-58
3. Truong LD, Underwood RD, Greenberg SD, McLarty JW. Diagnosis and typing of lung carcinomas by cytopathologic methods. A review of 108 cases. *Acta Cytol* 1985; 29: 379-84
4. Radzikowska E, Glaz P, Roszkowski K. Lung cancer in women: age, smoking, histology, performance status, stage, initial treatment and survival. Population-based study of 20 561 cases. *Ann Oncol* 2002; 13: 1087-93.
5. Mountain CF. Revisions in the International System for Staging Lung Cancer. *Chest* 1997; 111: 1710-7.
6. Vokes EE. CHART for non-small cell lung cancer—promises and limitations. *Lancet* 1997; 350: 156-7
7. Nicum S, Cullen MH. Chemotherapy versus palliative care in non-small cell lung cancer. *Anticancer Drugs* 2000; 11: 603-7

8. Albain KS, Crowley JJ, LeBlanc M, Livigston RB. Survival determinants in extensive-stage non-small cell lung cancer: Southwest Oncology Group experience. *J Clin Oncol* 1991; 9: 1618-26
9. Grazione SL. Non-small cell lung cancer: clinical value of new biological predictors. *Lung Cancer* 1997; 17 Suppl. 1: S37-58
10. Gail MH, Eagan RT, Feld R, Ginsberg R, Goodell B, Hill L. Prognostic factors in patients with resected stage I non-small cell lung cancer. A report from the Lung Cancer Study Group. *Cancer* 1984; 54: 1802-13
11. Salgia R, Skarin AT. Molecular abnormalities in lung cancer. *J Clin Oncol* 1998; 16: 1207-17
12. Zimmerman PV, Hawson GA, Bint MH, Parsons PG. Ploidy as a prognostic determinant in surgically treated lung cancer. *Lancet* 1987; 2: 530-3
13. Horio Y, Takahashi T, Kuroishi T, Hibi K, Suyama M, Niimi T. Prognostic significance of p53 mutations and 3p deletions in primary resected non-small cell lung cancer. *Cancer Res* 1993; 53: 1-4
14. Kwiatkowski DJ, Harpole DH Jr, Godleski J, Herndon JE 2nd, Snieh DB, Richards W. Molecular pathologic substaging in 244 stage I non-small cell lung cancer patients: clinical implications. *J Clin Oncol* 1998; 16: 2468-77
15. Neville AM, Price KN, Gelber RD, Goldhirsch, Axillary node micrometastases and breast cancer. *The Lancet*, 1991; 337: 110-113
16. Evans TR J, Rowlands MG, Law M, Coombes RC. Intratumoral oestrone sulphatase activity as a prognostic marker in human breast carcinoma. *Br J Cancer*, 1994; 69: 555-561

17. Akiyama T, Sudo C, Ogawara H. The product human c-erbB-2 gene: A 185-Kilodalton glycoprotein with tyrosine kinase activity. *Science* 1986; 232: 1644-46.
18. Jeffrey S Ross, Fletcher J. Her-2/neu (c-erbB-2) gene and protein in breast cancer. *Am J Clin Pathol* 1999; 112(Suppl): 53-67
19. Wallis YL, Macdonald F. Oncogenes. *J Clin Pathol: Mod Pathol* 1999; 52: 55-59
20. Mccan AH, Devran PA, O'Regan M. Prognostic significance of c-erbB-2 and Estrogen receptor status in human breast cancer. *Cancer Res* 1991; 51: 3296-303.
21. Jeffrey S Ross, Fletcher J. The HER-2/neu Oncogene in breast cancer: Prognostic factor, Predictive factor and Target of Therapy. *Oncologist* 1998; 16: 413-28.
22. Fitzgibbons PL, Page DL, Weaver D. Prognostic factors in breast cancer. Collage of American Pathologists Consensus Statement 1999. *Arch Pathol Lab Med* 2000; 124: 966-78.
23. Allred DC, Harvey JM, Berardo M. Prognostic and predictive factors in breast cancer by immunohistochemical analysis. *Mod Pathol* 1998; 11: 155-68.
24. Sharma A, Pratap M, Sawhney VM. Frequent amplification of c-erbB-2 (HER-2/neu) oncogene in cervical carcinoma as detected by non-fluorescence in situ hybridization technique on paraffin sections. *Oncology* 1999; 56: 83-87.



25. Tsuda H, Akiyama F, Teraski H. Detection of Her-2/neu (c-erbB-2) DNA amplification in primary breast carcinoma. Interobserver reproducibility and correlation with immunohistochemical HER-2 overexpression. *Cancer* 2001; 92: 2965-74.
26. Pastorino U, Andreola S, Tagliabue E. Immunocytochemical markers in stage I lung cancer : relevance to prognosis. *J Clinical Oncology* 1997; 15: 2658-2865.
27. Kern J.A, Mc Lennan G. Genetic and molecular changes in human lung cancer. In : Fishman A.P ed. *Fishman's Pulmonary Diseases and Disorders*. 3rd ed. New York, Mcgraw-Hill 1997 ; 2: 1695-1705.
28. Fishman A.P, Kern J.A. Dominant oncogenes and tumor supressor genes in human lung cancer. In : Fishman A.P ed. *Update: Pulmonary Disseas and Disorders*. New York, Mc Graw-Hill 1992; 30: 433-451.
29. Carbone D.P, Minna J.D. The molecular genetics of lung cancer. *Adv in Int Med* 1992; 37: 153-167.
30. Makela T.P, Mattson K, Alitalo K. Tumor markers and oncogenes in lung cancer. *Eur J Cancer* 1991; 27: 1323-1327.
31. Mountain C.F. New prognostic factors in lung cancer. *Chest* 1995; 108: 246-254.
32. Osaki T, Mitsudomi T, Oyama T. Serum level and tissue expression of c-erbB-2 protein in lung adenocarcinoma. *Chest* 1995; 108: 157-162.
33. Tateishi M, Ishida T, Mitsudomi T, Kaneko S, Sugimachi K. Prognostic value of c-erbB-2 protein expression in human lung adenocarcinoma and squamous cell carcinoma. *Eur J Cancer* 1991; 27: 1372-5.

34. Nguyen D, Kuang J.Q, Duong M.N. Induction of chemosensitivity to cisplatin in nonsmall cell lung cancer by 9-cis retinoic acid: modulation by the specific erbB-2 /P185 tyrosine kinase inhibitor cp 127, 374. Chest 1998; Abstracts of original investigations 268.
35. Liu CY, Seen S. Gefitinib Therapy for Advanced Non-Small-Cell Lung Cancer. Ann Pharmacother 2003 ; 37 : 1644-1653 .
36. Salgaller ML . The development of immunotherapies for non-small cell lung cancer. Expert Opin Biol Ther 2002 ; 2: 265-78.
37. Zinner RG, Kim J, Herbst RS. Non-small cell lung cancer clinical trials with trastuzumab: their foundation and preliminary results. Lung Cancer 2002 ; 37: 17-27.
38. Shi D , He G, Cao S. Overexpression of the c-erbB-2 /neu encoded p 185 protein in primary lung cancer. Mol Carcinog 1992; 11: 1677-1682
39. Kern JA, Schwartz DA, Nordberg JE P 185 neu expression in human lung adenocarcinomas predicts shortened survival. Cancer Res 1990; 50: 5184-5191
40. Salepci B, Özdemir N, Özdoğan S. Akciğer kanseri hastalarında c-erbB-2 onkogen ekspresyonu. Solunum 3; 2001: 121-125
41. Kern JA, Silebos RJC, Top B. C-erbB-2 expression and codon 12 K-ras mutations both predict shortened survival for patients with pulmonary adenocarcinomas. J Clin Invest 1994; 93: 516-520

42. Tateishi M , Ishida T, Kohdono S. Prognostic influence of the co expression of epidermal growth factor receptor and c-erbB-2 protein in human lung adenocarcinoma. *Surg Onc* 1994; 3: 109-113
  
43. Bakır K, Uçak R, Tunçözgür B, Elbeyli L. Prognostic Factors and c-erbB-2 Expression in Non-Small Cell Lung Carcinoma. *Thorac Cardiovasc Surg* 2002; 50: 55-58
  
44. Tateishi M, Ishida T, Mitsudomi T, Kaneko S, Sugimachi K. Prognostic value of c-erbB-2 protein expression in human lung adenocarcinoma and skuamöz cell carcinoma. *Eur J Cancer* 1991; 27: 1372-1375
  
45. Pfeiffer P, Claussen PP, Andersen K, Rose C. Lack of prognostic significance of epidermal growth factor receptor and the oncoprotein p185HER-2 patients with systemically untreated non-small cell lung cancer: an immunohistochemical study on cryosections. *Br. J. Cancer* 1996 ; 74: 86-91
  
46. Brabender J, Danenberg KD, Metzger R, Schneider PM, Park J. Epidermal Growth Factor Receptor and HER2-neu mRNA Expression in Non-Small Cell Lung Cancer Is Correlated with Survival. *Clin Can Res* 2001; 7: 1850-1855
  
47. Giatromanolaki A, Gorgoulis V, Chetty R, Koukourakis MI, Whitehouse R, Kittas C, et al. C-erbB-2 oncoprotein expression in operable non-small cell lung cancer. *Anticancer Res* 1996; 16: 987-93.