

T.C.
PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
PATOLOJİ ANABİLİM DALI

**P63 EKSPRESYONUNUN AKCİĞER KANSERİ
PROGNOZUNA ETKİSİ VE AKCİĞER KANSERİ ALT TİP
AYIRICI TANISINDAKİ OLASI YARARLILIĞI**

UZMANLIK TEZİ

DR. AYŞEGÜL AKSOY ALTINBOĞA

TEZ DANIŞMANI

YRD. DOÇ.DR. FERDA BİR

DENİZLİ – 2008

T.C.
PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
PATOLOJİ ANABİLİM DALI

**P63 EKSPRESYONUNUN AKCİĞER KANSERİ
PROGNOZUNA ETKİSİ VE AKCİĞER KANSERİ ALT TİP
AYIRICI TANISINDAKİ OLASI YARARLILIĞI**

UZMANLIK TEZİ

DR. AYŞEGÜL AKSOY ALTINBOĞA

TEZ DANIŞMANI

YRD. DOÇ.DR. FERDA BİR

DENİZLİ – 2008


Yrd. Doç. Dr. Ferda Bir danışmanlığında Dr. Ayşegül Aksoy Altınboğa tarafından yapılan "P63 Ekspresyonunun Akciğer Kanseri Prognozuna Etkisi ve Akciğer Kanseri Alt Tip Ayırıcı Tanısındaki Olası Yararlılığı" başlıklı çalışma jürimiz tarafından Patoloji Anabilim Dalı'nda TIPTA UZMANLIK TEZİ olarak kabul edilmiştir.

BAŞKAN : Prof. Dr. S. Ender DÜZCAN

ÜYE : Prof. Dr. Neşe ÇALLI DEMİRKAN

ÜYE :Yrd. Doç. Dr. Ferda BİR

Yukarıdaki imzaların adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylarım.


Prof. Dr. Zafer Aybek
Pamukkale Üniversitesi
Tıp Fakültesi
Dekani

TEŞEKKÜR

Asistanlığım süresince bilgi ve tecrübeleri ile yetişmemde büyük katkıları bulunan değerli hocalarım başta tez danışmanım Yrd. Doç. Dr. Ferda Bir olmak üzere, Prof. Dr. S. Ender Düzcan, Prof. Dr. Neşe Çallı Demirkan, Doç. Dr. Nagihan Yalçın, Yrd. Doç. Dr. Metin Akbulut, Yrd. Doç. Dr. Nilay Ően Türk ve Uzm. Dr. Canan Kelten'e, tezimin hazırlanmasındaki katkılarından dolayı Tıbbı Genetik Anabilim Dalından Doç. Dr. Lale Tufan-Őatırođlu'na, birlikte çalışmaktan zevk duyduğum araştırma görevlisi arkadaşlarıma, tezimin teknik kısmında yardımcı olan tüm laboratuvar personeline, bu süre içinde bana her anlamda destek olan sevgili eşime, anneme ve bu sürecin 16 ayına sabırla beni bekleyerek eşlik eden birtanecik oğluma teşekkür ederim.

Dr. Ayőegöl Aksoy Altınboğa

Denizli, 2008

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

GİRİŞ	1
GENEL BİLGİLER	3
Akciğer Embriyolojisi	3
Akciğer Anatomi ve Histolojisi	4
Akciğer Kanserinde Epidemiyoloji	5
Akciğer Kanserinde Etiyoloji	7
Akciğerde Preinvazif Lezyonlar	9
Skvamöz Karsinoma İn situ	9
Atipik Adenomatöz Hiperplazi	9
Diffüz İdiyopatik Pulmoner Nöroendokrin Hücre Hiperplazisi	10
Akciğer Tümörlerinde Sınıflama Sistemleri	10
Akciğer Tümörlerinde Histopatoloji	11
Skvamöz Hücreli Karsinom	11
Küçük Hücreli Karsinom	13
Adenokarsinom	14
Büyük Hücreli Karsinom	18
Adenoskvamöz Karsinom	21
Sarkomatoid Karsinom	21
Karsinoid Tümör	23
Akciğer Kanserinde Klinik	23
Prognoz	25
P63 ve Tümör Patogenezi	27
GEREÇ-YÖNTEM	30
BULGULAR	40
TARTIŞMA	63
SONUÇLAR	75
ÖZET	77

İNGİLİZCE ÖZET	79
KAYNAKLAR	81

TABLoların DİZİNİ

Sayfa no

Tablo 1	Akciğer Kanserinde WHO 2004 Sınıflaması.....	31
Tablo 2	Küçük Hücre Dışı Akciğer Karsinomlarında TNM Evrelemesi.....	34
Tablo 3	Küçük Hücreli Akciğer Karsinomu Evreleme Sistemi (WHO 1796).....	36
Tablo 4	RT-PCR'da Kullanılacak Primerler	38
Tablo 5	Olguların Klinik Özelliklere Göre Dağılımı.....	40
Tablo 6	Olguların Histopatolojik Özelliklerine Göre Dağılımı.....	47
Tablo 7	Olguların Histopatolojik Tiplere Göre Dağılımı.....	48
Tablo 8	Tümör Tipi ve Differansiyasyon Arasındaki İlişki.....	48
Tablo 9	Olguların Patolojik Evreye Göre Dağılımı.....	48
Tablo 10	Tümör Tipi ve Tümör Çapı Arasındaki İlişki.....	51
Tablo 11	Tümör Tipi ve Skuamöz Karsinoma İnsitu Varlığı Arasındaki İlişki.....	51
Tablo 12	Tümör Tipi ve Atipik Adenomatöz Hiperplazi Varlığı Arasındaki İlişki.....	51
Tablo 13	Tümörün Tipi ve p63 Boyanması İlişkisi.....	52
Tablo 14	Prekanseroz Lezyonlar ve p63 Boyanma İlişkisi.....	54
Tablo 15	Lenf Nodu Metastazı ve p63 Boyanma İlişkisi.....	55
Tablo 16	Evre ve p63 Boyanması İlişkisi.....	55
Tablo 17	RT-PCR Uygulanan Olgularda Tümör ve Normal Akciğerde p63 Dağılımı.....	56

ŞEKİLLERİN DİZİNİ

Sayfa No

Şekil 1	Skumöz Hücreli Karsinom, Bazaloid Varyant (H&EX100).....	42
Şekil 2	Adenokarsinom, Asiner Tip (H&EX100).....	42
Şekil 3	Bronkoalveoler Karsinom (H&EX100).....	43
Şekil 4	Adenokarsinom, Papiller Tip (H&EX100).....	43
Şekil 5	Adenokarsinomda Fokal Taşlı Yüzük Alanı (a:H&E, b:müsin, X400).....	44
Şekil 6	Karsinoid Tümör (a:H&EX100, b:PansitokeratinX200, c:CD56X100).....	44
Şekil 7	Büyük Hücreli Nöroendokrin Karsinom (a:H&E, b:Pansitokeratin, c:Kromogranin, d:Sinaptofizin, X200)....	45
Şekil 8	Sarkomatoid Karsinom, Pleomorfik Tip (Skumöz hücreli karsinom+dev hücreli) (H&EX100).....	45
Şekil 9	Karsinosarkom (a:H&E, b:Vimentin, c:Pansitokeratin, X100).....	46
Şekil 10	Skumöz Karsinoma İnsitu (H&EX100).....	50
Şekil 11	Atipik Adenomatöz Hiperplazi (H&EX100).....	50
Şekil 12	Az Differansiye Skumöz Hücreli Karsinomda p63 Boyanma Paterni (p63X200).....	53
Şekil 13	Adenokarsinomda p63 Boyanma Paterni (a:Asiner tip adenokarsinom, X100 b:Bronkoalveoler karsinom, X100 c:Solid tip adenokarsinom, X100 d:Fokal taşlı yüzük alanı, X200).....	53
Şekil 14	Skumöz Karsinoma İnsitu Alanında p63 Boyanması (X200).....	54
Şekil 15	TAp63 ve GAPDH.....	56
Şekil 16	DNp63 ve GAPDH.....	57
Şekil 17	Tümör Boyutunun Sağkalım ile İlişkisi.....	58

Şekil 18	Tümör Diferansiyasyonun Sağkalım ile İlişkisi.....	59
Şekil 19	Tümörde p63 Boyanmasının Sağkalım ile İlişkisi.....	60
Şekil 20	Tümörde p63 Boyanmasının Hastalısız Yaşam Süresi ile İlişkisi.....	61
Şekil 21	Metastaz Varlığının Sağkalım ile İlişkisi.....	62
Şekil 22	Skvamöz Hücreli Karsinomda İyi Differansiye Alanda Tümör Adası Santralinde p63 Boyanmasında Azalma (X200).....	65
Şekil 23	a: Skvamöz Metaplazi, H&EX100, b: Skvamöz Metaplazi, p63X100, c: Displazi H&EX100, d: Displazi p63X100, e: Skvamöz Karsinoma İnsitu H&EX100, f: Skvamöz Karsinoma İnsitu p63X100.....	70

GİRİŞ

Akciğer kanseri dünyada en sık görülen malign tümördür (1). Genellikle nonspesifik bulgular verdiği için erken dönemde tanı koymak güçtür. Akciğer karsinomu şüphesi olan bir hastada, fiberoptik bronkoskop ile hava yolları endobronşiyal bir lezyon yönünden değerlendirilir. Eş zamanlı olarak patolojik tanı için biyopsi alınır, bronşiyal aspirasyon ve fırçalama yapılır. Periferal yerleşimli tümörlerde ise tümörü örnekleyebilmek için bilgisayarlı tomografi eşliğinde transtorasik ince iğne aspirasyon biyopsisi (TTİAB) tercih edilir. Tanı genellikle %80 olguda inoperabl geç dönemde konur. Küçük biyopsi materyallerinde ya da sitolojik materyallerde tanı konması zorunluluğu ve tüm bunlara ek olarak akciğer tümörlerinin bilinen histolojik heterojeniteleri tanıda çeşitli tuzaklar oluşturur (1). Tümörün histolojik görünüm ve differansiyasyonu bir alandan diğerine, bir kesitten öbürüne belirgin farklılıklar gösterir (2).

Klinik ve prognostik özellikleri ile anlamlı farklılık gösteren küçük hücreli karsinom ve küçük hücreli dışı karsinom ayırımında patoloğlar arasında aynı tanıyı verme oranı oldukça yüksek iken ($\kappa=0.86$), küçük hücre dışı karsinom alt tiplerinin ayırıcı tanısında bu oran oldukça düşüktür ($\kappa=0.25$) (3). Tanı tuzakları son yıllarda kullanıma giren immünohistokimyasal ve moleküler belirleyicilerle aşılmaya çalışılmaktadır. Rutinde immünohistokimyasal belirteçleri kullanmamıza rağmen, küçük biyopsi örneklerinde tanı alan tümörlerin %30-40'ının histolojik klasifikasyonunda başarısızlık söz konusudur (4). Özellikle küçük biyopsi materyallerinde, tümör az differansiye veya heterojen bir alanı temsil ediyorsa, mevcut immünohistokimyasal belirteçlerin ayırıcı tanıya katkısı daha da sınırlanmaktadır. Bu nedenle ayırıcı tanıda kolay kullanılabilen yeni belirteçlere ihtiyaç olduğu açıktır.

İlk defa 1998'de tanımlanan, 3q27-29'da lokalize olan p63, bazı akciğer kanserlerinde aşırı eksprese olmaktadır. Ancak farklı çalışmalarda, alt tipler için p63 (+)'lik oranları benzerlik içermekle birlikte farklı sonuçlarda gösterebilmektedir (4-8).

Bu çalışmada, Denizli ve çevresinde yaşayan akciğer kanseri olgularında p63 ekspresyonunun immunohistokimyasal yöntemle analizi yapılarak, alt tiplerin ayırıcı

tanısındaki olası yararlılığının araştırılması amaçlanmıştır. Ek olarak P63 ekspresyonunun hastalığın nüksünde, metastazların ortaya çıkmasında ve sağkalımı belirlemedeki rolü de değerlendirilmiştir. Ayrıca preinvazif lezyon içeren sınırlı sayıda olguda, preinvazif alanlarda immünhistokimyasal olarak p63 ekspresyonu değerlendirilmiş, klinikopatolojik parametrelerle kıyaslanmıştır. Yine prospektif olarak sınırlı sayıda olguda, TAp63 ve DNp63 izotiplerine ait gen ekspresyonlarının, akciğer tümör ve tümör komşuluğundaki dokularda mRNA düzeyinde araştırılması planlanmıştır. Elde edilen deney sonuçlarının kliniko-patolojik parametrelerle karşılaştırılmasının tümör patogenezinin ışık tutacağı, ayırıcı tanıya ve prognoz tayinine katkıda bulunacağı düşünülmektedir.

GENEL BİLGİLER

AKCİĞER EMBRİYOLOJİSİ

Yaklaşık 5 haftalık embriyoda, solunum sisteminin ilk taslağı ön barsağın (foregut) ventral duvarından bir divertikül halinde belirir. Bu divertikül kaudal yönde genişlediğinde, ön barsaktan daha sonra trakea ve özefagusu oluşturacak olan 2 bölmeli boru benzeri özofagotrakeal şişkinlik adı verilen bir yapı oluşur. Endodermal kökenli olan bu şişkinlikler özofagotrakeal septumu oluşturacak şekilde birleştiklerinde, ön barsakta bir dorsal bir de ventral bölüm meydana getirir. Dorsal bölüm özofagusu oluşturur (9). Ventral bölüm 5-6. haftalarda, ön barsaktan ayrılırken trakea denilen bir orta hat ve akciğer tomurcuğu denilen iki lateral çıkıntı oluşturur (9,10). Akciğer tomurcukları, kaudal ve lateral yönlerde büyümeye devam ederek, perikardiyoperitoneal kanala penetre olur. Ön barsağın her iki yanında yer alan bu boşluklar zamanla genişleyen akciğer tomurcukları tarafından doldurulur. Akciğeri dıştan saran mezoderm tabakasından visseral plevra, vücut duvarının iç yüzünü saran mezoderm tabakasından da parietel plevra oluşur (9).

Gebeliğin 7. haftası civarında primer bronküslerden, primitif lobar bronküsler ortaya çıkar. Böylece 2 loblu sol, 3 loblu sağ akciğer taslağı oluşur. 16. gebelik haftasına kadar 16 bronş dalı meydana gelir. 16-23. haftalar arasında ise dallanma gelişigüzel olarak devam eder ve 24. haftada dallanma sona erer. Alveolizasyon ise 20. haftadan itibaren başlar ve doğumdan sonra devam eder (10).

Histolojik olarak akciğer gelişimi 4 ayrı dönemde incelenir. 5-17. haftalar arasındaki "*Psödoglandüler Evre*"de bronşiyol ve respiratuvar ağacın gelişimi ile undifferansiye primordiyal sistem oluşur. Daha sonra 16-25. haftalar arasındaki "*Kanaliküler Evre*" de terminal keseler ve vaskülarizasyon ortaya çıkar. Bu dönemde bronşiyolleri küboidal epitel hücreleri döşemektedir. 3. evre olan 25-40. haftalar arasındaki "*Terminal Kese Evresi*"nde; terminal keselerin sayısı ve vaskülarizasyon artar. Bronşiyolleri döşeyen küboidal hücrelerin bir kısmı incelerek tip I ve tip II pnömositleri oluşturur. 40 haftadan doğuma kadar devam eden "*Alveoler Evre*"de ise terminal keseler matür alveoler yapılara dönüşür (9,11).

AKCİĞER ANATOMİSİ VE HİSTOLOJİSİ

Akciğer kanseri bronş ve bronkoalveoler yapılardan geliştiğinden, hava yollarının dallanmasının anlaşılması önemlidir. Trakea toraks içinde, yaklaşık 4. vertebra hizasında sağ ve sol ana bronşa ayrılır. Ana bronşlar akciğere beraberlerindeki pulmoner arter ve ven ile birlikte girer. Daha sonra sağ ana bronş 3 lobar bronküse, sol ana bronş 2 lobar bronküse ayrılır. Lobar bronküslerden sağda 10, solda 9 olmak üzere segmental bronküsler ve onlardan da subsegmental bronküsler dallanır (12).

Bu büyük hava yollarının iç yüzeyini, mukus sekrete eden goblet hücreleri ile karışık psödostratifiye silyalı kolumnar epitel döşer. Silyalar, epitel hücrelerinin lüminal yüzeyine dar bir alanda tutunarak, belirgin siyah bir çizgi şeklinde görülen terminal barı oluştururlar. Epitelin bazal membran tarafında ise epitel rejenerasyonunun kaynağı olan üçgen şeklinde bazal hücreler (rezerv hücreler) mevcuttur. Ayrıca özellikle bifürkasyonlarda yerleşen, bazal yerleşimli 'Feyrter' veya 'Kulchitsky' diye bilinen, nörosekretuar granül içeren az sayıda nöroepitelyal hücreler de vardır (13).

Epitel altında ince bir lamina propriya, onun da altında seröz ve müköz bez yapıları, düz kas lifleri içeren submukozal tabaka bulunur. Submukozanın derininde hiyalin kıkırdak yapısı izlenir. Lobar bronküslerden segmenter bronküslere doğru gidişte, kıkırdak miktarı giderek azalır. Subsegmenter bronşlardan sonra görülen hava yollarında ise kıkırdak yapısı ve submukozal bez yapıları yoktur. Kıkırdak tabakası altında bir arteriyol, bir venül ve kapillerler içeren bağ dokudan oluşan adventisya tabakası vardır. Adventisya dışında her bir bronşa eşlik eden pulmoner arter ve ven yapısı görülür (13,14).

Subsegmenter bronküslerden itibaren hava yolları sırasıyla; bronşiyol, terminal bronşiyol, respiratuar bronşiyol, alveoler duktus ve alveoler keselere dallanır. Bronşiyollerde mukoza kıvrımları oldukça belirgindir. Psödostratifiye silyalı kolumnar epitel içindeki goblet hücrelerinin sayısı azdır. Epitel altında bulunan ince lamina propriya tabakasının çevresi iyi gelişmiş bir düz kas tabakasıyla, bunun çevresi ise adventisya ile sarılıdır. Komşuluğunda bir pulmoner arter dalı görülür (14).

Terminal bronşiyol ve respiratuar bronşiyolde de benzer yapı bulunur. Ancak terminal bronşiyolden itibaren goblet hücreleri yerine sürfaktan üreten 'Clara' hücreleri yer alır. Bu hücreler sitoplazmalarının apikal kısmında PAS (+), diastaza dirençli sekretuar materyal ile karakterizedir. İmmünohistokimyasal olarak bu hücreler insan sürfaktan-ilişkili glikoprotein ile (+) boyanır. Respiratuar bronşiyolü döşeyen epitel ise giderek basıklaşarak küboidal epitele dönüşür. Proksimal kısmında epitel hücrelerinde az sayıda silya görülebilirken, ilerledikçe bunlar tamamen kaybolur (13).

Alveolleri döşeyen epitel iki tip hücreden oluşur: alveoler yüzeyin %95'ini döşeyen, yassılaştırmış *tip I pnömositler* ve sürfaktan kaynağı olan, aynı zamanda tip I pnömosit hasarından sonra alveoler epitelin onarımını sağlayan yuvarlak *tip II pnömositler*. Komşu alveoller arası kapiller damar ağı, elastik lifler, ince kollajen bantlar, az sayıda fibroblast benzeri interstisyel hücre, düz kas hücreleri, mast hücreleri ve nadiren de lenfosit ve monosit içeren, alveoler septum olarak adlandırılan ince bir interstisyel doku vardır. Sıklıkla karbon partikülleri ve fagosite ettikleri materyaller ile dolu olan alveoler makrofajlar, alveol epiteline gevşek bir şekilde tutunur (12).

AKCİĞER KANSERİNDE EPİDEMİYOLOJİ

Dünyada en sık görülen malign tümör akciğer kanseridir. Aynı zamanda %28.5 oranı ile en sık ölüme neden olan kanser de akciğer kanseridir (1,15). Amerikan verilerine göre yeni tanımlanan akciğer kanseri olgusu 1950'de 18 000'den, 2003'te 171 900'e yükselmiştir (12). Avrupada ise her yıl tanımlanan kanser vakası 150 000 civarındadır (16). Erkeklerde, kadınlara göre 2.7 kat daha fazladır. Dünya geneline baktığımızda akciğer kanseri 1985'ten 2002'ye kadar kadınlarda %76, erkeklerde %44 olmak üzere ortalama %51'lik bir artış göstermiştir (17).

Türkiye'de hastalığın yaygınlığıyla ilgili gerçek bir rakam vermek olası olmasa da 1994 ve 1999 yılı Sağlık Bakanlığı verilerine göre insidansın 100.000'de 10.73'ten 14.2'ye yükseldiği bildirilmiştir (18,19). Coğrafi dağılım göz önüne alındığında akciğer kanseri sıklığı batı ve güney bölgelerimizde en yüksek (Akdeniz 41.0/100.000, Ege ve İç Anadolu 39.5/100.000) Güneydoğu ve Doğu bölgelerimizde en düşüktür (17.7/100.000 ve 11.7/100.000) (20).

Tüm akciğer tümörlerinin %99'unu karsinomlar oluşturur. İnsidans cinsiyete göre değişiklik gösterir. Dünya sağlık örgütüne göre en sık görülen karsinom olan skuamöz hücreli karsinom erkeklerde %44'lük bir dilimi kapsarken, kadınlarda ancak %25'lik bir dilim oluşturur. Adenokarsinomda oran tersine dönerek, erkeklerde %28'lik bir oranda kalırken, kadınlarda skuamöz hücreli karsinomu geçerek %42'lere ulaşır (1). Bazı otörlere göre bu oranlar değişiklik gösterir. Her iki cinsten adenokarsinom en sık görülen akciğer kanseri olarak belirtilir (21). Türkiye'de 2004'te yapılan bir çalışmaya göre, skuamöz hücreli karsinom %41.1 ile en sık görülen akciğer kanseri tipini oluşturur. Adenokarsinom ise %25.6 ile 2. sırada yer alır (22). Türkiye'de yine 1992-1998 yıllarını kapsayan 3431 olgu içeren geniş bir seride yapılan bir çalışmada, kadın hasta sayısında (%6.8'den %8,5'a yükselme) ve adenokarsinom sıklığında artış olduğu rapor edilmiştir (23). Bir başka merkezin 1972-2002 yılları arasında akciğer kanseri tanısı konulan 1834 hastayı içeren bir çalışmada, en sık primer akciğer kanseri histolojik tipinin %32.1 oranı ile skuamöz hücreli karsinom olduğu belirtilmiştir. Ancak cinsiyet göz önünde bulundurulduğunda, kadınlarda %14 ile en sık adenokarsinom, erkeklerde %36.1 ile en sık skuamöz hücreli karsinom görüldüğü bildirilmiştir (24). 1999-2003 yıllarını kapsayan başka bir merkezin 971 hastalık bir çalışmada da sonuçlar benzerlik göstermektedir (19).

Dünya sağlık örgütü verilerine göre diğer histolojik tiplerde cinsiyet gözetmeksizin insidans küçük hücreli karsinomda % 20, büyük hücreli karsinomda %9'dur (1). Türkiye'de ise; benzer şekilde küçük hücreli karsinom %13.1 oranı ile 3. en sık görülen akciğer kanseri tipini oluşturur (13).

Akciğer kanserli olguların çoğu 50 ve 60 yaşlarda pik yapacak şekilde 40-60 yaşları arasında görülür. Vakaların sadece %2'den azı 40 yaş altındadır. Türkiye'de Sulu E ve ark. yaptığı çalışmaya göre; akciğer kanseri yaş ortalaması 1992'de 56.4, 1998'de 57.9, 2004 ise 59.1'dir (22). Bozkurt ve ark. yaptığı 1834 hastayı içeren bir başka çalışmada ise; 40 yaş ve üstü grupta skuamöz hücreli karsinom, adenokarsinom ve küçük hücreli karsinom; 18-40 yaş grubunda ise büyük hücreli karsinom, karsinoid ve metastatik kanserin daha fazla görüldüğü bildirilmiştir (24).

AKCİĞER KANSERİNDE ETYOLOJİ

Etyolojik faktörler arasında akciğer kanseri ile ilişkisi en iyi bilinen, inhale edilen bir karsinojen olan sigaradır. Hiç sigara içmeyen biri ile kıyaslandığında, sigara kanser riskini erkeklerde 8-15 kat, kadınlarda 3-10 kat artırır (1). Bir yılda saptanan akciğer kanseri olgularının gelişmekte olan ülkelerde %16'sının, gelişmiş ülkelerde ise %10'unun sigara nedeniyle ortaya çıktığı tahmin edilir. Kuzey Amerika, Avrupa, Yeni Zellanda, Avusturalya gibi bir çok ülkeyi içeren kapsamlı bir çalışmanın sonuçları, akciğer kanseri olan erkeklerin %85'inde, kadınların ise %47'sinde, sigara öyküsünün mevcut olduğunu gösterir (17,25). Sigara içenlerde yapılan iki ayrı çalışmanın sonuçlarına göre ise akciğer kanseri görülme sıklığı Olak ve ark.'larına göre %20, Kopper ve ark.'larına göre ise %10-15'dir (15,26).

Sigaranın ortalama tüketim miktarı, içim süresi, başlama yaşı, içindeki tütünün cinsi, inhalasyon paterni ve eğer bırakılmışsa üzerinden ne kadar süre geçtiği, sigara ve akciğer kanseri ilişkisini daha netleştiren özelliklerdir. Bunlardan özellikle sigara içim süresi, akciğer kanseri gelişiminde en önemli belirleyicidir (1,27). Sigaranın tüm akciğer kanserlerinde riski arttırdığı bilinmekle birlikte, en sık skuamöz hücreli karsinom gelişimini artırır. Azalan oranla küçük hücreli karsinom ve adenokarsinom da ilişkili akciğer maligniteleridir (1).

Asbest, silika, kristalin silika, radon, ağır metal ve polisiklik aromatik hidrokarbonların karışımı gibi bazı mesleki ajanların akciğer karsinomu ile ilişkisi olduğu bilinir (1). Yüksek doz iyonize radyasyon da akciğer kanseri ile ilişkilidir. Hiroşima ve Nagasaki atom bombalarından sonra bu bölgede yaşayanlarda akciğer kanseri sıklığının artması bu ilişkinin kanıtıdır (12). Kogan ve arkadaşlarının Çernobil kazası sonrası uzun süre radyasyona maruz kalan 15 akciğer kanserli hastayı içeren bir çalışmasının sonucunda, bu hastalarda radyasyonla ilişkili olarak 4 küçük hücreli karsinom, 5 skuamöz differansiyasyonlu kombine küçük hücreli karsinom, 5 adenokarsinom ve 1 adenoskuamöz karsinom geliştiğini bulmuşlardır (28).

Sigara ve diğer ajanlar, akciğerde çeşitli genetik değişikliklere neden olur (26). Sigara içindeki aktif karsinojenler KRAS, p53 ve FHIT (frasil histidin triad) gibi tümör supresör genlerde delesyon oluşturabilir (16).

Çeşitli karsinojenlerin etkisine maruz kalan akciğerde klinik olarak görünür tümörün ortaya çıkması için ortalama 10-20 arasında genetik mutasyon oluşmalıdır (29). Normal alveol epitelinden atipik adenomatöz hiperplazi veya bronş epitelinden skuamöz hücre displazisi gelişimi için %18 oranında KRAS, %10'dan az oranda Beta-katenin mutasyonu, %80 oranında 3p LOH ya da %70 oranında p16, %15 oranında pRb inaktivasyonunu içeren genetik değişikliklerin en az birinin kısmen de olsa varlığı gereklidir. Daha ileri dönemde adenokarsinom ve skuamöz hücreli karsinom oluşumunda bu değişiklikleri %50 oranında p53 inaktivasyonu ve %80 oranında 13q LOH takip etmelidir. En son olarak da %70 oranında 2q LOH, %80 oranında 9p LOH, %85 oranında 18q LOH, %75 oranında 22q LOH, %10 oranında cMYC amplifikasyonu bekleriz (26).

%80 oranında 3p LOH ve %90 oranında pRb inaktivasyonu nöroendokrin karakteri olan epitel hücrelerinin erken dönem transformasyonunda önemli olduğu düşünülen değişikliklerdir. Küçük hücreli karsinom gelişimi için bunları %90 oranında p53 inaktivasyonu, %70 oranında 5q LOH ve %70 oranında 22q LOH takip eder. Küçük hücreli karsinomun daha ileri progresyonu ise %30 oranında cMYC amplifikasyonu ile ilişkilidir (26).

Epidermal growth factor receptor (EGFR)'ü, EGF, transforming growth faktör-alfa (TGF- α) ve diğer epidermal growth faktör (EGF) ailesinden olan ligandlara cevap veren, tirozin kinaz reseptör ailesine ait bir reseptördür. Normal bronşiyal mukozadan epitelyal hiperplaziye, epitelyal hiperplaziden kansere doğru gidişte, EGFR ekspresyonunda belirgin bir basamaklı artış görülür. Bu da akciğer karsinogenezine EGFR'nin katılımını destekler (30,31). Küçük hücre dışı akciğer karsinomunda, EGFR ekspresyon oranları farklı serilerde % 43'ten %89'a değişir. EGFR aşırı ekspresyonu %70 oranı ile en çok skuamöz hücreli karsinomda görülür. Sonra sırasıyla, %50 oranında adenokarsinomda, ve daha az oranda büyük hücreli karsinomda izlenir. Küçük hücreli karsinomda ise ekspresyon oldukça nadirdir (31).

AKCİĞERDE PREİNVAZİV LEZYONLAR

1.Skuamöz Displazi ve Karsinoma İnsitu:

Büyük hava yollarında bronş epitelinde gelişen, tek başına veya invaziv karsinom ile birlikte olabilen, skuamöz hücreli karsinom öncüsü bir lezyon grubudur. Bu lezyonlar; silya yokluğu, epitel kalınlığı, atipi derecesi ve atipik hücrelerin oranı ve dağılımına göre hafif, orta, şiddetli displazi ve karsinoma insitu şeklinde derecelendirilir. Hafif displazide sitolojik ve yapısal değişiklikler minimal iken, karsinoma insituda epiteli tam kat tutan belirgin atipi, pleomorfizm, mitoz ve maturasyon kaybı mevcuttur (1,32).

2.Atipik Adenomatöz hiperplazi:

Akciğer periferinde lokalize olan, tip 2 pnömosit veya clara hücrelerine benzeyen, küboidal veya alçak kolumnar hücrelerin alveolleri ve nadiren respiratuvar bronşiyolleri döşemesi ile oluşan bir lezyondur. Periferik pulmoner adenokarsinomun bir öncüsüdür. Genellikle adenokarsinom nedeniyle rezekt edilen materyallerde multifokal olarak rastlantısal fark edilir. Çoğunlukla 1-3 mm çapındadır. Çapı 5mm'den fazla olan lezyonlar, karsinom olarak kabul edilmelidir (1,32,33).

3.Diffüz İdiyopatik Pulmoner Nöroendokrin Hücre Hiperplazisi (DIPNAECH):

Bronş veya bronşiyol epitelindeki pulmoner nöroendokrin hücrelerin tek hücreler, küçük nodüller şeklinde veya lineer proliferasyonudur. Tümörlet, karsinoid ve atipik karsinoidin prekürsör lezyonudur. Hastalarda uzun yıllardır olan, yavaş ilerleyen, kuru öksürük ve nefes darlığı şikayetleri bulunur. Fizik muayenede genellikle bulgu vermezken, solunum testlerinde obstrüktif veya obstrüktif ve restriktif paternin birlikte olduğu karışık pattern ve azalmış diffüzyon kapasitesi görülür. Makroskopik olarak erken lezyonlar genellikle gözle görülmez. Tümörlet veya mikrokarsinoid geliştiğinde, küçük gri-beyaz nodül ortaya çıkar. Histopatolojik olarak pulmoner nöroendokrin hücrelerin, subepitelyal bazal membran korunacak şekilde, yaygın proliferasyonu izlenir. Bronşiyol duvarı fibrozis nedeniyle kalınlaşmış olabilir. Fibrozis veya nöroendokrin hücre hiperplazisi nedeniyle bronşiyol tıkanması görülebilir. 5 mm çapa ulaştıkları zaman karsinoid olarak adlandırılmalıdır (1,32,33).

AKCİĞER TÜMÖRLERİNDE SINIFLAMA SİSTEMLERİ

Tüm dünyada tümörler için, tümörün davranışı hakkında bilgi verecek, dolayısıyla uygun tedavi seçimi ve prognoz tayinine yardımcı olacak sınıflama sistemleri geliştirilmeye çalışılır. Akciğer tümörleri için 1952'de Kreyberg ve Food ile başlayan, 1981-1999 ve nihai olarak 2004 WHO ile devam eden sınıflama sistemleri geliştirilmiştir. Günümüzde yaygın olarak 2004 WHO sınıflama sistemi kullanılmaktadır.

1999 WHO sınıflama sisteminde 1981'den farklı olarak atipik adenomatöz hiperplazi ve diffüz nöroendokrin hücre hiperplazisinden oluşan 2 yeni prekürsör lezyon tanımlanmıştır. Ayrıca bronkoalveoler karsinom tanımlaması lepidik yayılım gösteren invazyon yapmayan tümörler ile sınırlandırılmıştır. Fetal adenokarsinom, kolloid adenokarsinom, müsinöz kistadenokarsinom, taşlı yüzük hücreli adenokarsinom ve berrak hücreli adenokarsinomu içeren adenokarsinom alt tipleri eklenmiştir. Büyük hücreli nöroendokrin karsinom ve bazaloid karsinom alt tipleri büyük hücreli karsinom grubuna alınmıştır. Son olarak pleomorfik, sarkomatoid veya sarkomatöz elementler içeren karsinom diye yeni bir grup eklenmiştir (33).

2004 WHO sınıflamasında ise 1999 sınıflamasından farklı olarak bu son eklenen grup pleomorfik karsinom, içsi hücreli karsinom, dev hücreli karsinom, karsinosarkom ve pulmoner blastom, sarkomatoid karsinom başlığı altında toplanmıştır (1).

AKCİĞER TÜMÖRLERİNDE HİSTOPATOLOJİ

Skvamöz Hücreli Karsinom

Akciğerin skuamöz hücreli karsinomunun % 50'den fazlası ana bronküslerden gelişir (34). Santral bölge tümörleri hem endobronşiyal ve peribronşiyal bölgeye, hem de akciğer parankimine doğru yayılarak büyüme gösterir. Periferik yerleşimli skuamöz hücreli karsinom iyi sınırlı nodüller bir büyüme özelliğine sahip genellikle kavitasyon yapma eğiliminde bir tümördür (1,34).

Diğer bölgelerdeki çok katlı yassı epitelden köken alan karsinomlara göre, akciğerin skuamöz hücreli karsinomu genellikle orta ve az differansiyedir. Mikroskopik olarak diğer bölgelerin skuamöz hücreli karsinomları ile ortak özellikler taşır. Differansiyasyon, hücresel pleomorfizm ve mitotik aktivite dikkate alınarak; iyi, orta ve az differansiye şeklinde derecelendirilir. Tümörün derecesi belirlenirken, tüm histolojik kesitlerde en az differansiye alan temel alınır. Keratinizasyon ve intersellüler köprüleşmeler iyi differansiye karsinomlarda belirginken, az differansiye karsinomlarda daha nadir izlenir (1,34).

Akciğerin skuamöz hücreli karsinomu, tutulmuş olan bronküs boyunca intraepitelyal insitu uzanım gösterir. Adenokarsinom ve küçük hücreli karsinom bronşiyal uzanım göstermez, tam tersine genellikle epitel altında büyür. Bu görünüm özellikle küçük biyopsi materyallerinde keratinizasyon ve intersellüler köprü bulunmadığında histolojik tipe karar vermede yardımcıdır. Skuamöz hücreli karsinom parankim içinde ise alveolleri harap ederek veya alveolleri doldurur tarzda büyüme gösterir (34).

Skuamöz hücreli karsinomun dünya sağlık örgütü 2004 sınıflandırmasına göre papiller, berrak hücreli, küçük hücreli ve bazoloid varyantları mevcuttur.

Papiller skuamöz hücreli karsinom endobronşiyal, ekzofitik büyür. Mikroskopik olarak fibrovasküler stroma etrafında papiller konfigürasyonda büyüme gösterir. Papiller yapıları döşeyen epitelde kalınlaşma ve tam kat belirgin hücresel atipi bulunur (35). İnvazyon çoğu vakada mevcuttur. Ancak bazı vakalarda invazyon olmaksızın sadece sınırlı miktarda intraepitelyal uzanım görülebilir (1,34). Bu özellikleri nedeniyle akciğerin papiller skuamöz hücreli karsinomunun benign epidermoid papillom, tiroid karsinomunun bronşiyal metastazı, endobronşiyal polipoid adenokarsinom gibi diğer endobronşiyal papiller tümörlerden ayırımı önemlidir (36). Epidermoid papillom, lezyonun altında yatan bazal membran varlığı ile endobronşiyal papiller skuamöz hücreli karsinomdan ayrılır (37).

Berrak hücreli varyantta tümör hücrelerinin neredeyse tamamını, belirgin hücre sınırları olan berrak sitoplazmaya sahip hücreler oluşturur. Sitoplazmik PAS (+)

glikojen içeriği nedeniyle böbreğin berrak hücreli karsinomunu anımsatır bir görünümü vardır. Bu nedenle böbreğin metastatik berrak hücreli karsinomundan ayrılmalıdır (1).

Küçük hücreli varyant, hiperkromatik nükleus, belli belirsiz bir nükleol, nükleer katlanma, ince nükleer membran ile karakterize klasik küçük hücreli karsinom hücresinin nükleer özelliklerini göstermeyen, morfolojik olarak küçük tümör hücrelerinden oluşan az differansiye bir skuamöz hücreli karsinom varyantıdır. Küçük hücreli karsinoma kıyasla daha iyi gelişmiş fibröz bir stroma ve belirgin hücre yuvalanmaları içerir. Ayrıca bu alanlarla içiçe geçmiş oldukça belirgin skuamöz differansiyasyon alanları vardır. Hücrelerin nükleusları daha kaba kromatinli olup nükleol içerir (1,35). Bu varyanttaki hücrelerin gerçek küçük hücreli karsinom hücresinin nükleer özelliklerini taşıması, skuamöz hücreli karsinom ve küçük hücreli karsinomu birarada içeren kombine küçük hücreli karsinomdan ayırımını sağlar (1,34).

Bazaloid varyantta, tümör hücre adalarının periferinde belirgin palizadlaşan hücreler vardır. Nodüler veya trabeküler bir büyüme paterni gösteren küçük tümör hücrelerinde dar ancak görülebilir bir sitoplazma, belirgin nükleol içermeyen hiperkromatik nükleus ve sık mitotik aktivite mevcuttur (38). Skuamöz differansiyasyon olmaksızın yaygın bazaloid patern içeren az differansiye karsinomlar, büyük hücreli karsinomun bazaloid varyantı olarak kabul edilmelidir (1,33,34).

Skuamöz hücreli karsinom immünohistokimyasal olarak %96 oranında yüksek molekül ağırlıklı sitokeratin (HMWCK) (34β12) (28), %100 oranında sitokeratin 5/6 (SK5/6) (39) ve %77 oranında ise karsinoembriyonik antijen (CEA) (40) ekspresyon eder. %3.6 gibi daha düşük oranda ise tiroid transkripsiyon faktör-1 (TTF-1) (41) ekspresyonu görülebilir (1,4,40,41). Ayrıca %25 oranında bcl-2, %23 oranında sitokeratin 7(SK7) ve %63 oranında p16 ekspresyonu bildirilmiştir (39,42).

Küçük Hücreli Karsinom

Küçük hücreli karsinomun köken aldığı hücre tam olarak bilinmemekle birlikte, herhangi bir akciğer kanseri geliştirebilecek plüripotent bronş rezerv hücresinden köken aldığı düşünülür. Nöroendokrin tümörler spektrumunda değerlendirildiğinde, morfolojik ve genetik açıdan tipik ve atipik karsinoidden çok, büyük hücreli nöroendokrin karsinoma benzer. Hücrelerin büyük bir kısmının elektron mikroskopisinde nöroendokrin granüller izlenir. Makroskopik olarak hem ana bronşta hem de akciğer parankiminde yerleşebilir. Bronşta yerleştiği zaman makroskopik olarak skuamöz hücreli karsinomdan farklı mukoza altında düz ve parlak nodüler bir yapı şeklindedir. Periferde gelişenler ise sınırları düzgün, nodüler görünümlü lezyonlardır (1,33).

Mikroskopik olarak hiperkromatik nükleus, belli belirsiz bir nükleol, nükleer katlanma, ince nükleer membran, dar sitoplazma ve belirsiz hücre sınırları içeren küçük hücrelerin diffüz büyümesinden oluşur (43). Her bir hücrenin boyutu 4 lenfosit boyutundan küçüktür. Hücreler bazen rozet, trabekül ve periferde palizadlaşan hücreler bulunduran yığıntılar oluşturur. Mitotik oran çok yüksektir (1,33).

Küçük hücre dışı karsinom tiplerinden (sıklıkla adenokarsinom, skuamöz hücreli karsinom, veya büyük hücreli karsinom) herhangi birisi ile birlikte küçük hücreli karsinom varlığında, *kombine küçük hücreli karsinom* adını alır. Kombine küçük hücreli karsinom denilebilmesi için, küçük hücre dışı komponent en az %10 oranında bulunmalıdır (33,44).

İmmünohistokimyasal olarak olguların 2/3'ünden fazlası CD56, kromogranin, sinaptofizin (+) iken, %25 kadar tümörde nöroendokrin belirleyicilerin hiçbiri ile boyanma görülmez (45). Ayrıca %90 kadar küçük hücreli karsinomda TTF-1 (+)'tir (46,47). Sitokeratinlerden ise SK 19 % 80 oranında, SK 7 % 37 oranında eksprese olur (39). 34ß12 (yüksek molekül ağırlıklı sitokeratin) küçük hücreli karsinomlarda negatif iken, kombine küçük hücreli karsinomun küçük hücre dışı alanında pozitif olabilir (48).

Adenokarsinom

Akciğerin adenokarsinomları 6 ayrı makroskopik paternde görülür. En sık akciğer periferinden gelişen, santral skar ve sıklıkla plevral invazyon içeren gri-beyaz renkli kitle şeklindedir. Tümör kenarında lobüle bir görünüm veya ışınsal uzanımlar olabilir. İkinci makroskopik görünüm, santral veya endobronşiyal kitle şeklindedir. Bu paternde tümörün yüzeyini örten mukoza korunarak plak oluşturur ya da polipoid büyüme gösterebilir. Bronşiyal lümen obstrüksiyonuna bağlı, distalde lipoid pnömoni eşlik edebilir. Üçüncü makroskopik patern, tipik müsinöz bronkoalveoler karsinomda görülen alttaki çatinın korunduğu diffüz pnömoni benzeri lobar konsolidasyondur. Dördüncü makroskopik patern diffüz bilateral akciğer hastalığından oluşur. Bazı vakalar tüm lobları tutan değişik boyutta nodüller içerirken, bazı vakalar karsinomun yaygın lenfatik yayılımına bağlı interstisyel pnömoni benzeri görünüm oluşturabilir. Beşinci makroskopik paternde ise tümör visseral plevra boyunca plevrayı invaze ederek yayılır. Bu görünüm malign mezoteliomadaki kabuk benzeri kalınlaşmayı taklit ettiği için "*Psödomezoteliomatöz Karsinom*" denilen özel bir adla anılır. Son makroskopik patern lokalize bir skar veya diffüz interstisyel fibrozis zemininde gelişen adenokarsinom paternidir (1).

Dünya Sağlık Örgütünün 2004 sınıflandırmasına göre akciğer adenokarsinomları mikst, asiner, papiller, bronkoalveoler, müsin üreten solid adenokarsinom alt tiplerine ayrılır.

Asiner adenokarsinom, müsin üreten, bronşları döşeyen hücrelere benzeyen küboidal ve kolumnar hücrelerin oluşturduğu asini ve tübüller ile karakterizedir.

Papiller adenokarsinom, akciğer parankiminin yerini almış, tiroid ve overde görülene benzer, fibrovasküler bir kor etrafında papiller yapılar içerir (1,21). Bu papiller yapılar artmış mitotik aktivite sergileyen, belirgin nükleollü, iri hiperkromatik nükleuslu, büyük atipik hücreler ile döşelidir (21). Morfolojik olarak papiller adenokarsinomlar, nonmüsinöz bronkoalveoler karsinomlar ile karışabilir. Komplike papiller büyüme paterni, altta yatan akciğer parankiminin destrüksiyonu, belirgin nükleer atipi papiller adenokarsinom lehine bulgulardır (49).

Stromal, plevral veya vasküler invazyon olmaksızın alveoller boyunca (lepidik patern) ana çatı korunacak şekilde neoplastik hücrelerin büyümesi ile *bronkoalveoler karsinom* oluşur (1,21). Müsinöz, nonmüsinöz ve ikisinin karışımından oluşan mikst alt tipleri vardır (1). Makroskopik olarak soliter bir pulmoner nodül olarak görülebileceği gibi diffüz pnömoni benzeri gelişim de gösterebilir (21). Bronkoalveoler karsinomda skleroz nedeniyle septal kalınlaşma sıktır. Alveoler septaların kalınlaşması nedeniyle alveoler kollaps olduğunda sklerozan bronkoalveoler karsinom ile erken invaziv adenokarsinom ayırımı güçleşir. İnvazyon genellikle sitolojik atipide artış, fibrovasküler stromal reaksiyon ve sıklıkla asiner büyüme paterni ile karakterizedir (1). Bronkoalveoler karsinomlar fibroblastik aktivite içermelerine göre değerlendirildiğinde; fibroblastik aktivite içermeyenler cerrahi olarak çıkarıldıklarında kür kabul edildikleri için, akciğerin insitu adenokarsinomu olarak değerlendirilebilir. Fibroblastik aktivite içerenler ise sklerozan bronkoalveoler karsinom olarak adlandırılır. Fibroblastik fokus ortasında tümör hücreleri daha az differansiye olup, daha fazla atipi içerir. Bu alanda invazyon olabileceği unutulmamalıdır (50).

Nonmüsinöz bronkoalveoler karsinom soliter bir lezyon olarak görülür. Histopatolojik olarak sıklıkla papiller bir çatı oluşturur (21,49). Tümörü oluşturan hücrelerde klara hücresi ve/veya tip II pnömosit differansiyasyonu mevcuttur. Klara hücreleri sitoplazmik çıkıntıları olan, soluk eosinofilik sitoplazmalı kolumnar hücreler olarak fark edilir. Tip II pnömositler ise sitoplazmik vakuelleri olan veya berraktan-köpüksü görünüme değişebilen sitoplazmaya sahip küboidal hücrelerden oluşur. İntranükleer eosinofilik inklüzyonlar içerebilir (1).

Müsinöz bronkoalveoler karsinom bazal nükleusu olan, soluk sitoplazmalı uzun kolumnar hücrelerden oluşan düşük dereceli bir tümördür. Bu hücreler değişik oranlarda sitoplazmik müsin içerikleri ile goblet hücrelerine benzer. Bu tümörde çevre alveoler dokuyu dolduran müsin gölcükleri de görülebilir. Tümör hücrelerinde sitolojik atipi genellikle minimaldir. Tümör hücreleri hava yolu ile yayılır ve ana tümör dokusu etrafında satellit tümör odakları oluşturabilir (1). Bu lezyonların enterik, pankreatik ve biliyer kaynaklı metastatik adenokarsinomlardan ayırımı yapılmalıdır (21).

Mikst alt tipte bronkoalveoler karsinom nadir görülür. Müsinöz ve non müsinöz bronkoalveoler karsinom makroskopik olarak soliter, mültifokal veya konsolidasyon alanı şeklinde izlenebilir (1).

Müsin üreten solid adenokarsinom; asini, tübül ve papilla yapısı içermeksizin iki büyük büyütme alanında en az beş müsin içeren tümör hücresi bulunduran tabakalar şeklinde poligonal hücrelerden oluşur. Dünya Sağlık Örgütünün 2004 sınıflamasına göre; fetal adenokarsinom, müsinöz (kolloid) karsinom, müsinöz kistadenokarsinom, taşlı yüzük hücreli adenokarsinom, berrak hücreli adenokarsinom; müsin üreten solid adenokarsinom alt tipleri vardır (1).

Fetal adenokarsinom glikojenden zengin, silya içermeyen hücrelerin döşediği fetal akciğer tübüllerini anımsatan glandüler yapılardan oluşan bir tümördür. Hücrelerin içerdiği subnükleer ve supranükleer vakuoller tümöre endometrioid görüntü verir. Endometrioid adenokarsinomdaki skuamöz morüllere benzeyen geniş eosinofilik ve ince granüler sitoplazmalı hücrelerin oluşturduğu morüllerde sık görülür. Çoğu fetal adenokarsinom iyi differansiyedir. Sarkomatöz primitif blastemal stroma ile ilişkili olduğunda, pulmonar blastom olarak sınıflanır (1).

Müsinöz (kolloid) adenokarsinom altta yatan akciğer parankimini destrükte ederek geniş müsin gölcükleri oluşturan bir tümördür. Müsin gölcükleri içinde yüzen tek veya küçük küme oluşturmuş neoplastik epitel hücreleri vardır (1).

Müsinöz kistadenokarsinom parsiyel fibröz kapsülü olan sınırlı bir tümördür. Tümörün santralinde müsin içeren kistik değişiklikler izlenir. Neoplastik müsinöz epitel alveol duvarları boyunca büyüme gösterir (1).

Taşlı yüzük hücreli adenokarsinom geniş müsin vakuolleri nedeniyle nükleusu kenarda izlenen taşlı yüzük hücreleri içeren oldukça az differansiye bir tümördür (21). Genellikle diğer adenokarsinom alt tipleri ile ilişkili olarak fokal bir patern şeklinde görülür (1). Taşlı yüzük hücreli adenokarsinom tanısı için taşlı yüzük hücrelerinin tümörün en az %75'ini oluşturması gerekir (21). Akciğerin primer taşlı yüzük hücreli adenokarsinomu oldukça nadir olduğu için, akciğerde taşlı yüzük hücreli

adenokarsinom varlığında, primeri mide, kolon veya meme olabilecek metastatik bir tümör ekarte edilmelidir (51).

Berrak hücre değişikliği sıklıkla majör adenokarsinom subtipleri içinde fokal olarak görülür. Ancak nadiren tümörün major komponentini oluşturur ve *berrak hücreli adenokarsinom* olarak adlandırılır (1).

Mikst alt tipte adenokarsinom %80 ile en sık görülen alt tiptir. Histolojik subtiplerin karışımının yanısıra, değişik differansiyasyon alanları da içerir (50).

Adenokarsinomlar öncelikle lenfatik ve hematojen yol ile yayılır. Bronkoalveoler karsinomlar aynı veya başka lobta, hava yolları boyunca yayılım gösterebilir. Bu durum bronkoalveoler karsinomlarda multisentrisiteye neden olur (1).

İmmünohistokimyasal olarak adenokarsinomlar sitokeratin AE1/AE3, EMA, CEA gibi epitelyal belirleyicileri tipik olarak eksprese ederler (52). %100 oranında SK 7 ve SK 19'u eksprese ederken, SK 20 pozitifliği oldukça nadirdir. TTF-1 pozitifliği özellikle iyi differansiye tümörlerde belirgin olmak üzere % 90 oranında bulunur (39). Sürfaktan protein A (SP-A) ekspresyonu adenokarsinom alt tiplerinde değişiklik göstermektedir. Asiner adenokarsinomda %25, papiller adenokarsinomda %38, müsin üreten solid adenokarsinomda %3 oranında SP-A reaksiyonu görülür (53). Ayrıca adenokarsinomlarda %10 oranında bcl-2, %35-71 oranında siklin D1 ekspresyonu görülebilir (42).

Büyük Hücreli Karsinom

Büyük hücreli karsinom; küçük hücreli karsinom, glandüler veya skuamöz differansiyasyon sitolojik ve yapısal görünümü içermeyen, undifferansiye küçük hücre dışı karsinomdur. Büyük hücreli karsinom tanısı skuamöz hücreli karsinom, adenokarsinom ve küçük hücreli karsinom komponenti dışlandıktan sonra konur. Dünya Sağlık Örgütü 2004 sınıflamasına göre, büyük hücreli nöroendokrin karsinom, bazaloid karsinom, lenfoepitelyoma benzeri karsinom, berrak hücreli karsinom, rabdoid fenotipli büyük hücreli karsinomdan oluşan alt tipler içerir (Tablo 1). Ekzofitik bronşiyal büyüme gösteren bazaloid karsinom dışındakiler tipik olarak periferik

yumuşak, pembe-ten renkli büyük kitle olarak görülür. Ancak subsegmental veya daha büyük bronşlara da yerleşebilir. Sıklıkla visseral plevrayı, göğüs duvarını ve diğer komşu yapıları invaze eder (1,54).

Histopatolojik olarak belirgin nükleollü, veziküler nükleuslu, büyük poligonal şekilli hücrelerin oluşturduğu tabakalar ve yuvalanmalardan oluşur (1, 34).

Büyük hücreli nöroendokrin karsinom, organoid yuvalanmalar, trabeküller, rozet benzeri ve palizadlaşan bir paternle nöroendokrin differansiyasyonu düşündüren görünüme sahiptir. Tümör hücreleri genellikle büyük, orta genişlikte veya geniş sitoplazmalı hücrelerdir. Nükleol sıklıkla vardır ve belirgindir. Nükleol varlığı küçük hücreli karsinomdan ayırır. 10 büyük hücreli hücrede, en fazla 75 olacak şekilde 11'den fazla mitoz içerir. Atipik karsinoidden daha yüksek mitotik oran ve geniş nekroz alanlarına sahip olması ile ayrılır (1,54).

İmmünohistokimyasal olarak kromogranin, sinaptofizin, CD56 gibi nöroendokrin belirteçler ile nöroendokrin differansiyasyon gösterilmelidir. Diffüz ve belirgin bir boyanma olduğunda tek bir nöroendokrin belirleyicinin pozitif olması tanı koymak için yeterlidir (34,54). Büyük hücreli karsinomların genelinde TTF-1 %16, sitokeratin 7 %40, sitokeratin 19 %36 oranında ekspresyon olur. Büyük hücreli nöroendokrin karsinomda ise bu oranlar sırasıyla %60, %70 ve %80'e yükselmektedir (39). Sitokeratin 1, 5, 10 ve 14 (34β12)'ü ise ekspresyon etmez (1,54).

Büyük hücreli nöroendokrin karsinomun alt tipi olan *kombine büyük hücreli nöroendokrin karsinom* tanısı; büyük hücreli nöroendokrin karsinom ile birlikte skuamöz hücreli karsinom, adenokarsinom, dev hücreli karsinom ve/veya iğsi hücreli karsinom olduğunda konulur (54).

Bazaloid karsinom; solid, nodüler veya trabeküler büyüme paterni ile birlikte periferik palizadlaşan hücreler içerir. Tümör hücreleri, küboidal den fuziforma değişen küçük monomorfik hücrelerdir. Sitoplazma oldukça dar ve mitotik oran 2mm²'de 15-50 olacak şekilde oldukça yüksektir. Skuamöz hücreli karsinomun bazaloid varyantının aksine skuamöz differansiyasyon içermemelidir. Çoğu bazaloid karsinom

stromada hiyalin veya mukoid dejenerasyon ve küçük kistik boşluklar içerebilir. Ayrıca komedo tip nekroz sık bulunabilir. İmmünohistokimyasal olarak SK 34β12 tüm vakalarda pozitif iken, TTF-1 negatiftir (1,54).

Lenfoepiteliyoma benzeri karsinom; büyük veziküler nükleuslu, belirgin nükleollü hücrelerin sinsityal büyüme paterni oluşturmaları ve yoğun lenfositik infiltrat ile karakterizedir. Tümörün diffüz tabakalardan oluşan itici bir büyüme paterni vardır. Lenfoid reaksiyonu matür lenfositler ile karışık plazma hücreleri, histiyositler daha nadir olarakta nötrofil ve eosinofiller oluşturur. Tümör hücrelerinde Epstein Bar Virüsü (EBV) viral sekansı saptanır (1,54).

Berrak hücreli karsinom; böbrek, tiroid ve tükrük bezindeki berrak hücreli karsinomları anımsatır şekilde, köpüksü sitoplazmalı geniş poligonal hücreler ile karakterizedir.

Rabdoid fenotipli büyük hücreli karsinomda tümör hücrelerinin en az % 10'unu rabdoid hücreler oluşturur. Bu rabdoid hücrelerin eosinofilik sitoplazmik globülleri içinde yer alan intermediate filamentleri vimentin, SK, ve desmin pozitifdir (54). Saf rabdoid fenotipli büyük hücreli karsinom oldukça nadirdir. Tümör içinde küçük adenokarsinom foküsleri ve nöroendokrin belirleyiciler ile pozitiflik görülebilir (1).

Adenoskuamöz Karsinom

Adenoskuamöz karsinom, biri en az %10 olacak şekilde skuamöz hücreli karsinom ve adenokarsinom içerir. Genellikle akciğerin periferindeki santral bir skar üzerinde yerleşir. Keratin ve intersellüler köprü varlığı ile skuamöz hücreli karsinom alanları; asini, tübül veya papiller yapı varlığı ile adenokarsinom alanları belirlenir. Eğer adenokarsinom komponenti müsin üreten solid paternde ise, tanı koymak güçleşir. Bu durumda adenokarsinom tanısı koymak için diğer solid tip adenokarsinomlarda olduğu gibi bir büyük büyütme alanında 5 müsin damlacığı görmek gerekir. Tümör, ayrıca bu iki komponente ilave olarak büyük hücreli komponent içerebilir. Ancak bu durumda bile tanı değişmez (1,34).

Adenoskuamöz karsinomun mukoepidermoid karsinomdan ayırımı zordur. Düşük dereceli bir mukoepidermoid karsinomda; atipi içermeyen veya hafif atipi içeren intermediate veya skuamoid hücreler ile karışık müsinöz glandlar mevcuttur. Yüksek dereceli mukoepidermoid karsinomu ayırmak daha güçtür. Müsinöz ve epidermoid hücrelerin karışımı ile oluşan karakteristik görüntü, proksimal, ekzofitik, endobronşiyal yerleşim, düşük dereceli mukoepidermoid alanların varlığı, keratinizasyon veya skuamöz inci yapılarının ve altta yatan skuamöz karsinoma insitu alanlarının yokluğu yüksek dereceli mukoepidermoid karsinom lehine bulgulardır. Ancak tüm vakalarda tam bir ayırım her zaman yapılamamaktadır (1).

İmmünohistokimyasal olarak skuamöz hücreli ve adenokarsinom özelliklerini birlikte gösterir. SK AE1/AE3, SK 7 ve EMA pozitiftir. TTF-1 pozitifliği adenokarsinom alanı ile sınırlıdır (1).

Sarkomatoid Karsinom

Sarkomatoid karsinom, sarkom veya sarkom benzeri (iğsi ve/veya dev hücre) komponent içeren az differansiye küçük hücre dışı akciğer karsinomudur. Dünya Sağlık Örgütü'nün 2004 sınıflamasına göre pleomorfik karsinom, iğsi hücreli karsinom, dev hücreli karsinom, karsinosarkom ve pulmoner blastom olmak üzere 5 alt tipi vardır (Tablo 1). Santral veya periferik akciğerde yerleşir. Periferik yerleşim gösterenler genellikle 5 cm üstünde çapa sahip olup, iyi sınırlı belirgin nekrozu olan kitle şeklinde izlenir. Santral yerleşimli olanlar sesil veya pediküle, daha küçük kitlelerdir (1).

Pleomorfik karsinom tanısı; az differansiye skuamöz hücreli, adenokarsinom veya büyük hücreli karsinomdan birisine en az %10 oranında eşlik eden iğsi hücre ve/veya dev hücre varlığında konur. Mikroskopik olarak karsinomatöz alanlardan sarkomatöz alanlara (iğsi ve/veya dev hücre içeren alanlar) geçişin görülmesi, bu sarkomatöz alanlarda epitelyal belirleyicilerin pozitif olması ve bazı vakalarda sarkomatöz alanlardaki hücrelerde intrasitoplazmik müsin varlığı gibi özellikler; sarkomatöz alanların karsinomatöz alanlardan differansiye olduğunu gösterir (55).

Tümör sadece işsi hücrelerden oluştuğunda *İşsi hücreli karsinom* olarak tanımlanır (1).

Dev hücreli karsinom tanısı ise; tümör belirgin kohezyon kaybı gösteren pleomorfik, multi ve/veya mononükleer dev hücrelerden oluştuğunda konur (1,34).

Malign kıkırdak, kemik, iskelet kası gibi differansiye sarkomatöz eleman içeren sarkom ve karsinom birlikte olduğunda *karsinosarkom* olarak adlandırılır (13,56). Sıklıkla üst loblarda solid kitle olarak görülür. %62 endobronşiyal veya santral kitle iken %38'i periferel yerleşir (56).

Pulmoner blastom ise, iyi differansiye fetal adenokarsinomu anımsatan primitif epitelyal komponent ve osteosarkom, kondrosarkom ve rabdomyosarkom foküsü içeren, primitif mezenkimal stroma içeren bifazik bir tümördür (1). 10-16. haftalar arasındaki fetal akciğer dokusuna benzeyen bir görüntüsü vardır (57).

Pleomorfik, işsi hücreli ve dev hücreli karsinom immünohistokimyasal olarak sıklıkla, sitokeratin, vimentin, karsinoembriyonik antijen ve düz kas belirleyicilerini eksprese eder. Dev hücreli karsinomlarda TTF-1 pozitif olabilir. Karsinosarkomun epitelyal komponenti keratinler ile pozitif boyanır. Sarkomatöz komponent kondrosarkom ise S-100 ile, rabdomyosarkom ise kas belirleyicileri ile pozitifdir. Pulmoner blastomun fetal adenokarsinom komponenti epitelyal belirleyiciler ile pozitif saptanırken, stromal hücreler ise vimentin ve kas spesifik aktin içerir (1).

Karsinoid Tümör

Karsinoid tümör; nöroendokrin differansiyasyonu düşündüren büyüme paterni (trabeküller, palizadlaşmalar, organoid yapılar, rozet benzeri görünümler) ile karakterize tümördür (1). Diffüz nöroendokrin sisteme dahil olan Kulchitsky hücresinden köken alır (34). Tümör hücreleri; ince granüler kromatinli ve eosinofilik sitoplazma içeren, poligonal şekilli uniform hücrelerdir. Tümör hücreleri arası stroma oldukça dar ve vaskülerdir (34). Tipik karsinoid tümör, 2 mm²'de 2'den az mitoz içerir ve nekroz bulundurmaz. Akciğer boyunca uniform bir dağılım gösterir. Bronş ile ilişkili olduğunda yüzeyinde intakt veya ülserle bir mukoza bulunduran endobronşiyal kitle

şeklinde izlenir. Atipik karsinoid tümör 2 mm²'de 2-10 mitoz ve/veya nekroz foküsü içerir. Akciğerde daha çok periferik yerleşim gösterir. Her ikisinde iyi sınırlı, kesi yüzü ten rengi-sarı arası değişen kitle oluşturur (1).

Karsinoidlerin çoğu sitokeratin eksprese eder. Kromogranin, sinaptofizin, CD56, CD57 gibi nöroendokrin belirleyiciler, tipik karsinoidlerde güçlü pozitif iken, atipik karsinoidlerde güçlü veya fokal, yama şeklinde pozitiflik gösterir (1). Tipik karsinoidler nöral hücre adezyon molekülü (N-CAM) %100 oranında, S-100 %40 oranında eksprese eder (31). Ayrıca %26 oranında TTF-1 içerir (39).

AKCİĞER KANSERİNDE KLİNİK

Akciğer kanserinde hastalar genellikle kilo kaybı, iştahsızlık, ateş gibi nonspesifik bulgular ile doktora başvururlar. Bazen hastalığın akciğer kökenli olabileceğini işaret eden progresif solunum kısılması, öksürük, göğüs ağrısı, sesin boğuklaşması veya kaybı, hemoptizi gibi belirtiler de görülebilir. Pnömoni tablosu hastalarda ilk işaret olabilir. Adenokarsinom, diğer akciğer karsinomu tiplerine göre, daha sessiz bir kliniğe sahiptir. Genellikle görüntüleme yöntemleri ile rastlantısal olarak fark edilir (1,21)

Küçük hücre dışı karsinomu olan hastalara göre küçük hücreli karsinomu olan hastaların klinik görünüşleri oldukça farklıdır. Bu hastalar sıklıkla uzak metastaza bağlı kilo kaybı, karaciğer, adrenal ve pankreas tutulumuna bağlı karın ağrısı, kemik tutulumuna bağlı ağrı gibi şikayetlerle hekime başvururlar. %10 kadar hastada tümörün süperior vena kavaya basısına bağlı, yüz ve boyunda şişlik, boyun, üst ekstremiteler ve gövdede dilate venöz kanallar, yüzde kızarma, siyanoz, solunum sıkıntısı, stridor ve nörolojik bulgular ile giden "*süperior vena kava sendromu*" görülür (58). İlk tanı anında %5-10 hastada beyin metastazı bulunur. İlerleyen dönemlerde ise bu oran oldukça yükselir, hastaların çoğunda santral sinir sistemi tutulumu saptanır (1).

Akciğer kanserinde paraneoplastik semptomlar sıktır. Antidiüretik hormon (ADH) üretimine bağlı hiponatremi ile giden "*uygunsuz ADH sekresyonu*",

adrenokortikotropik hormon (ACTH) üretimine bağlı “*cushing sendromu*”, parathormon, paratiroid hormon ilişkili peptid, prostaglandin E ve bazı sitokinlerin üretimine bağlı “*hiperkalsemi*”, kalsitonin üretimine bağlı “*hipokalsemi*”, gonodotropin üretimine bağlı “*jinekomasti*”, serotonin ve bradikinin üretimine bağlı “*karsinoid sendrom*” görülebilecek paraneoplastik semptom ve sendromları oluşturmaktadır. Akciğer kanserinde bu sendromların sıklığı %1-10 arasında değişmektedir. Histolojik tiplerin hepsi bu hormonlardan herhangi birisini üretebilir. Ancak ACTH ve ADH üretimi daha çok küçük hücreli karsinomda görülür. Hiperkalsemi ise skuamöz hücreli karsinomda siktir. Adenokarsinomlarda diğer akciğer karsinomu tiplerine göre endokrin ve paraneoplastik sendromlar daha az görülür (12).

Akciğer kanseri ayrıca kas güçsüzlüğü ile giden Lambert-Eaton myastenik sendrom, periferik nöropati, akantozis nigrikans, lökemik reaksiyonlar, hipertrofik pulmoner osteoartropati gibi değişik sistemleri tutan bulgu/hastalıklar ile de ilişkilidir (12).

Üst pulmoner sulkusta yer alan apikal akciğer kanseri, diğer bir deyimle “*pankost tümörleri*”, trakea etrafındaki servikal sempatik ağı içeren sinir yapılarına yayılarak endoftalmus, pitozis, miyozis ve anhidriyi içeren Horner sendromuna neden olabilir (12).

PROGNOZ

Prognozu belirlemede evreleme en önemli kriterdir. Küçük hücre dışı karsinomlarda evreleme için TNM klasifikasyonu kullanılırken, küçük hücreli karsinomlar sıklıkla, sınırlı veya yaygın hastalık olarak evrenir (1).

Tüm akciğer karsinomları değerlendirildiğinde, çoğu hasta tanı aldığı anda ileri evre hastalığa sahiptir ve 6 yıllık sağkalım % 15 civarındadır (59). 5 yıllık sağkalımda ise, sadece evre I hastalıkta iyi sonuçlar mevcuttur. Diğer evrelerde ise sonuçlar oldukça kötüdür (60).

Evre I ve II hastalıkta erkek cinsiyet, ileri yaş ve skuamöz hücreli karsinom dışı karsinom varlığı daha kötü bir prognoz ile ilişkilidir. Evre III'te ise, genel durumun

kötüleşmesi ve yükselmiş serum laktat dehidrogenaz (LDH) düzeyi prognozu kötüleştiren faktörlerdir (61).

Küçük hücre dışı karsinomların 3 ve 5 yıllık sağkalım oranlarına bakıldığında; klinik evre IA'da sırasıyla %71 ve %61, patolojik evre IA'da %80 ve %67 olan oranlar, klinik evre IIIA'da %18 ve %13'lere, patolojik evre IIIA'da %46 ve %39'lara düşmektedir (1).

Skumöz hücreli karsinom adenokarsinoma kıyasla daha iyi bir prognoza sahiptir. Evre I hastalıkta skumöz hücreli karsinomda 5 yıllık sağkalım %80 iken, adenokarsinomda %70'tir. Adenoskumöz karsinomun ise her ikisinden daha kötü bir prognozu vardır. Bu karsinomda 5 yıllık sağkalım lokalize hastalık rezeksiyonundan sonra %62.5, çıkarılabilen diğer vakalar için %35'tir (1).

Son yıllarda skumöz hücreli ve adenokarsinomlar için bazı immünohistokimyasal belirteçlerin prognozu tahmin etmede kullanılabileceği görüşü ortaya çıkmıştır. Örneğin skumöz hücreli karsinomlarda p53 ve p63 ekspresyonu varlığı iyi prognoz ile ilişkili iken, siklin D1 ekspresyonu adenokarsinomda daha iyi prognozu ifade eder (61,62). Aksine her2/neu ekspresyonu akciğer adenokarsinomunda kötü bir prognoz ile ilişkilidir (62).

Büyük hücreli karsinomda prognoz alt tiplerde değişiklik gösterir. Bazaloid karsinomların çoğu evre I-II'de tanı almasına rağmen, oldukça kötü prognozludur. Aksine lenfoepitelyoma-benzeri karsinom diğer küçük hücre dışı karsinomlardan da daha iyi bir prognoza sahiptir. Büyük hücreli nöroendokrin karsinom ve küçük hücreli karsinom prognozlarına bakıldığında ise belirgin bir fark görülmez (1).

Sarkomatoid karsinomların prognozu diğer küçük hücre dışı karsinomlardan kötüdür. Çoğu vaka evre I'de tanı almasına rağmen 5 yıllık sağkalım sadece %20'dir. Karsinoid tümörlere bakıldığında ise atipik karsinoidlerin tipik karsinoidlerden daha kötü prognoza sahip olduğu görülür. 5 yıllık sağkalım tipik karsinoidler için %90-98 iken, atipik karsinoidler için %61-73'tür (1).

Küçük hücreli karsinomlu hastalar %60-70 oranında klinik olarak belirgin yaygın hastalık ile hekime başvurur. Bu hastaların ortalama 7-12 ay sağkalımları vardır. 5 yıllık sağkalım oranları ise %2'dir. Sınırlı hastalık varlığında ortalama sağkalım süresi 23 aya, 5 yıllık sağkalım oranı ise %12-17'ye yükselir (63).

Hastanın genel durumunun iyi olması, sınırlı hastalık varlığı, kadın cinsiyet ve normal serum LDH düzeyi küçük hücreli karsinomlarda iyi prognoz ile belirgin ilişkisi olan faktörlerdir. Metastaz alanının azlığı, plevral effüzyon, beyin metastazı ve karaciğer metastazı yokluğu, yaşın 40'ın altında olması, normal serum sodyum konsantrasyonu ve normal karaciğer fonksiyon testleri de küçük hücreli karsinomlarda iyi prognoz ile ilişkisi olduğu düşünülen faktörlerdir (63).

P63 ve TÜMÖR PATOGENEZİ

P63, ilk defa 1998'de tanımlanmış, kromozom 3q27-29'da lokalize, 15 ekzon ve en az 6 protein izoformu içeren bir gendir (5). BAX, p21, PUMA, IGFBP3 ve HSP70 gibi hücre döngüsü ve apoptoz ile ilişkili spesifik genleri modüle eder (64).

Deneysel çalışmalar göstermektedir ki, embriyonik gelişim esnasında, p63 birçok dokunun morfogenezinde de önemli role sahiptir. Ekstremitte oluşumunda, diş, saç, meme ve prostat bezleri, ter ve göz yaşı bezleri gibi eklerin oluşumunu içeren epidermal morfogenezde, p63 ekspresyonu gereklidir (65). Temel olarak mezenkimal hücre özelliklerini baskılayarak skuamöz epitelyal fenotipi oluşturur (66). Erken kök hücrelerin bazal hücrelere dönüşümü, normal trakeabronşiyal pseudostratifiye epitel ve özefagusun skuamöz epitelinin gelişimi için oldukça önemlidir (67). Bu nedenle özellikle epitelyal-mezenkimal etkileşimin olduğu alanlarda eksprese edilir. p63 eksik hayvanlarda, morfogenezleri sırasında düzgün bir epitelyal-mezenkimal etkileşime ihtiyaç duyan yapılarda sorunlar vardır ve doğumdan kısa bir süre sonra bu hayvanlar ölür (66). Bunlarda epidermis, kıl folikülü, diş, prostat, meme glandları yokluğunu kapsayan, çarpıcı gelişimsel anomaliler görülür (67).

p63'ün bugüne kadar tanımlanmış 6 değişik izotipi vardır. Bu izotiplerden kodlanan proteinlerin birbirlerinden farklı biyolojik fonksiyonları olduğu düşünülür. p63 izotipleri temelde 2 promotor (TA ve DN) ve karboksi terminal bölgesinde bulunan 3

alternatif splice bölgesi (a, b ve c) tarafından üretilir (68-71). En önemli iki izotipden biri olan TAp63'de amino terminalinde transaktivasyon bölgesi bulunurken, diğer önemli izotip olan DNp63'de amino terminalinde transaktivasyon bölgesi bulunmaz. Böylelikle TAp63 izoformu, p53'ün hedef genlerini (p21waf1/cip1, mdm2, and bax), aktive ederek hücre döngüsünü durdurur ve hücrenin apoptoza yönelmesini sağlar. Tam tersi olarak DNp63 izoformu ise "dominant-negatif" gibi davranarak bu transkripsiyonal aktivasyonu baskılar ve hücre proliferasyonu tetikler (68,71-73).

İnsanda p63 ekspresyonu deri, özefagus, tonsil, prostat, ürotelyum, ektoserviks ve vajina epitel bazal hücre nükleusu, prostat, meme ve bronşiyal glandüler yapıların bazal hücre popülasyonunda izlenir (65). Erişkinde skuamöz ve diğer stratifiye epitelde kök hücre popülasyonunu sağlamakta p63 önemli bir role sahiptir. Normal akciğer dokusunda, bronşiyal rezerv hücreler immünohistokimyasal olarak şiddetli boyanırken, silli hücreler, goblet hücreleri, alveoler epitel hücreleri veya epitelyal olmayan hücrelerde boyanma görülmez. Terminal bronşiyollerde pozitif hücreler dağınık yerleşimlidir. Submukozal bronşiyal bezlerde myoepitelyal hücrelerde de boyanma görülür. Skuamöz metaplazide boyanma vardır ve bu boyanma bir çok hücre sırasında izlenir (6,74). Bu da, akciğerde, p63 pozitif rezerv hücrelerin gerektiğinde, skuamöz epitel oluşturabildiklerinin göstergesidir (74).

İnsanda, baş-boyun skuamöz hücreli karsinomunda, akciğer karsinomunda, özefagus skuamöz hücreli karsinomunda, mesane transizyonel hücreli karsinomunda, gastrik karsinomda p63 ekspresyonu görülür (65). Transizyonel hücreli karsinomda, diferansiyasyon azalması ile ekspresyon oranı azalırken (65,66), akciğer skuamöz hücreli karsinomunda tam tersi olarak, diferansiyasyon azalması ile ekspresyon oranı artar (6). p63 boyanması prostatik adenokarsinomlar bazal hücre tabakasından yoksun olduğu ve boyanma göstermediği için prostat bezlerinde bazal hücre tabakası için güvenilir bir belirleyicidir ve bazal hücre hiperplazisini adenokarsinomdan ayırmada kullanışlıdır. Memede ise p63 duktusların myoepitelyal tabakasını boyar. Ancak p63 ekspresyon kaybı, meme duktal karsinoma insituda invazyonun değerlendirilmesinde güvenilir bir belirleyici değildir (65).

Bazı akciğer kanserlerinde aşırı p63 ekspresyonu vardır (65). Ancak farklı çalışmalarda, alt tipler için p63 (+)'lik oranları benzerlikler içermekle birlikte farklı sonuçlarda görülebilir (4,6-8).

GEREÇ VE YÖNTEM

2001-2008 yılları arasında Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalında tanı almış evreleri I-III arasında değişen preoperatif antikanser tedavisi almamış, 62 akciğer karsinomu olgusu retrospektif olarak incelendi. Ayrıca bunlardan prospektif olarak seçilmiş 6 olguda ek olarak RT-PCR ile mRNA analizi yapıldı.

Olguların 40 (%64.5) adetinde lobektomi, 17 (%27.4) adetinde pnömonektomi, 3 (%4.8) adetinde bilobektomi ve 2 adetinde (%3.2) wedge rezeksiyon + lenf nodu diseksiyonu yapılmıştı. Kayıtlardan olgulara ait standart nüfus bilgileri, tümörün preoperatif evresi, tedavi biçimi, takip süreleri ve hastalığın sonuçları (hastaliksız sağkalım verileri, nüks, kanser ilişkili ölüm verileri) ile ilişkili bilgiler sağlandı.

Her hastaya ait rezeksiyon materyallerinin histolojik kesitlerinde akciğer karsinomu tanısı, tümörün differansiyasyonu; lenf nodu diseksiyon materyallerinde metastatik lenf nodu varlığı yeniden gözden geçirilerek değerlendirildi.

Histopatolojik incelemede tümörün histolojik tipi ve grade'lemesi Dünya Sağlık Örgütü'nün (WHO Pathology and Genetics of Tumors of the Lung, Plevra, Thymus and Heart) 2004 sınıflamasına göre yapıldı (Tablo 1).

Histolojik grade tümör hücrelerinin pleomorfizm, hücresel differansiyasyon ve mitotik aktivite özelliklerine göre iyi differansiye, orta derecede differansiye ve az differansiye olarak değerlendirildi. Skuamöz hücreli karsinomlarda; belirgin keratinizasyon, seyrek mitoz ve hafif derecede pleomorfizm gösteren hücrelerin oluşturduğu skuamöz adalardan oluşan tümörler iyi differansiye skuamöz hücreli karsinom; belirgin pleomorfizm, sık mitoz gösteren, keratinizasyon görülmeyen tümör hücrelerinden oluşan tümörler ise az differansiye skuamöz hücreli karsinom; ikisinin arasında morfoloji içeren tümörler ise orta derecede differansiye skuamöz hücreli karsinom olarak değerlendirildi.

Adenokarsinom derecelendirmesi tümörün arşitektürel paterninin normal akciğer dokusuna benzerliğine ve sitolojik atipinin derecesine göre yapıldı. Asiner ve papiller adenokarsinomlar iyi, orta ve az differansiye olarak değerlendirildi. Bronkoalveoler karsinomların her zaman iyi veya orta differansiye, solid adenokarsinomların her zaman az differansiye olduğu göz önüne alındı. Bir tümörde birden fazla differansiyasyon alanı varlığında, raporda en az differansiye alan belirtildi.

Tablo - 1: Akciğer Karsinomlarında Histolojik sınıflama, WHO 2004

1.Malign Epitelyal Tümörler

1.1.Skuamöz Hücreli Karsinom

1.1.1.Papiller

1.1.2.Berrak Hücreli

1.1.3.Küçük Hücreli

1.1.4.Bazaloid

1.2.Küçük Hücreli Karsinom

1.2.1.Kombine Küçük Hücreli Karsinom

1.3.Adenokarsinom

1.3.1.Adenokarsinom, Mikst Subtip

1.3.2.Asiner Adenokarsinom

1.3.3.Papiller Adenokarsinom

1.3.4.Bronkioloalveoler Karsinom

1.3.4.1.Nonmüsinöz

1.3.4.2.Müsinöz

1.3.4.3.Mikst Nonmüsinöz Ve Müsinöz Kombine Veya Belirsiz

1.3.5.Müsin Üretimi İle Birlikte Solid Adenokarsinom

1.3.5.1.Fetal Adenokarsinom

1.3.5.2.Müsinöz (Kolloid) Karsinom

1.3.5.3.Müsinöz Kistadenokarsinom

1.3.5.4.Taşlı Yüzük Hücreli Karsinom

1.3.5.5.Berrak Hücreli Adenokarsinom

1.4.Büyük Hücreli Karsinom

1.4.1. Büyük Hücreli Nöroendokrin Karsinom

1.4.1.1.Kombine Büyük Hücreli Nöroendokrin Karsinom

1.4.2.Bazaloid Karsinom

1.4.3.Lenfoepiteliyoma Benzeri Karsinom

1.4.4.Berrak Hücreli Karsinom

1.4.5.Rabdoid Fenotipi Olan Büyük Hücreli Karsinom

1.5.Adenoskuamöz Karsinom

1.6.Sarkomatoid Karsinom

1.6.1.Pleomorfik Karsinom

1.6.2.İğsi Hücreli Karsinom

1.6.3.Dev Hücreli Karsinom

1.6.4.Pulmoner Blastom

1.7.Karsinoid Tümör

1.7.1.Tipik Karsinoid

1.7.2.Atipik Karsinoid

1.8.Tükrük Bezi Tümörü

1.8.1.Mukoepidermoid Karsinom

1.8.2.Adenoid Kistik Karsinom

1.8.3.Epitelial-Myoepitelial Karsinom

1.9.Preinvaziv Lezyonlar

1.9.1.Skuamöz Karsinoma İn situ

1.9.2.Atipik Adenomatöz Hiperplazi

1.9.3.Diffüz İdiyopatik Pulmoner Nöroendokrin Hücre Hiperplazisi

1.10.Mezenkimal Tümörler

1.10.1.Epitelial Hemanjiyoendoteliyoma

1.10.2.Anjiyosarkom

1.10.3.Plevrapulmoner Blastom

1.10.4.Kondrom

1.10.5.Konjenital Peribronşiyal Myofibroblastik Tümör

1.10.6.Diffüz Pulmoner Lenfanjiyomatozis

1.10.7.İnflamatuar Myofibroblastik Tümör

1.10.8.Lenfanjiyoleyomyomatozis

1.10.9.Sinoviyal Sarkom

1.10.9.1.Monofazik

1.10.9.2.Bifazik

1.10.10.Pulmoner Arter Sarkomu

1.10.11.Pulmoner Ven Sarkomu

2.Benign Epitelyal Tümörler

2.1.Papillomlar

2.1.1.Skuamöz Hücreli Papillom

2.1.1.1.ekzofitik

2.1.1.2.İnverted

2.1.2.Glandüler Papillom

2.1.3.Mikst Skuamöz Hücreli Ve Glandüler Papillom

2.2.Adenomlar

2.2.1.alveoler Adenom

2.2.2.Papiller Adenom

2.2.3.Tükrük Bezi Tipi Adenomlar

2.2.3.1.Müköz Gland Adenomu

2.2.3.2.Pleomorfik Adenom

2.2.3.3.Diğerleri

2.2.4.Müsinöz Kistadenom

3.Lenfoproliferatif Tümörler

3.1.Malt Tipi Marjinal Zon B-Hücreli Lenfoma

3.2.Diffüz Büyük B-Hücreli Lenfoma

3.3.Lenfomatoid Granlamotozis

3.4.Langerhans Hücre Histiyositozu

4.Muhtelif Tümörler

4.1.Hamartom

4.2.Sklerozing Hemanjiyom

4.3.Berrak Hücreli Tümör

4.4.Germ Hücreli Tümörler

4.4.1.Teratoma, Matür

4.4.2.İmmatür

4.4.3.Diğer Germ Hücreli Tümörler

4.5.Intrapulmoner Timoma

4.6.Melanom

5. Metastatik Tümörler

Tümörün evrelemesi “American Joint Committee for Cancer Staging and End Results Reporting” kriterlerine göre yapıldı (Tablo 2,3).

TABLO - 2: Küçük Hücre Dışı Akciğer Karsinomlarında TNM Evrelemesi

T-Primer Tümör

TX: Primer tümör tayin edilemediğinde veya tümör görüntüleme yöntemleri veya bronkoskopi ile görüntülenmezken fırçalama ya da bronşiyal yıkamada malign hücre varlığında

T0: Primer tümörün hiçbir kanıtı yok

Tis: Karsinoma insitu

T1: Tümör 3 cm veya daha az çapta, akciğer veya visseral plevra ile çevrelenmiş, bronkoskopik olarak lobar bronküsten daha ileri invazyon yok (yani ana bronküste tümör yok)

T2: Tümör aşağıdaki görünüm veya uzanımlardan birine sahip

-En büyük çap 3 cm'den fazla

-Ana bronküs tutulmuş, karınaya 2 cm veya daha uzak

-Visseral plevra tutulumu

-Atelektazi veya tüm akciğeri tutmaksızın hilar bölgeye uzanan obstrüktif pnömonit ile ilişki

T3: Aşağıdakilerden herhangi birini tutan herhangi bir çapta tümör: göğüs duvarı (süperior sulkus tümörleri dahil), diaphragma, mediastinal plevra, parietal perikardiyum; ya da karına tutulumu olmaksızın tümör karına 1'e 2 cm'den daha yakın olacak şekilde ana bronküste tümör varlığı; ya da tutulan akciğerde atelektazi veya obstrüktif pnömonit varlığı

T4: Aşağıdakilerden herhangi birini tutan herhangi bir çapta tümör: mediasten, kalp, büyük damarlar, trakea, özefagus, vertebral cisim, karına; aynı lobta ayrı tümör nodülü; malign plevral effüzyonla birlikte tümör

N-Rejyonel Lenf Nodu

NX: Rejyonel lenf nodu belirlenemez

N0: Rejyonel lenf nodu metastazı yok

N1: İpsilateral peribronşiyal ve/veya ipsilateral hilar lenf nodu ve intrapulmoner nod metastazı, direkt uzanımı içerecek şekilde

N2: İpsilateral mediastinal ve/veya subkarinal lenf nodu metastazı

N3: Kontralateral mediastinal, kontralateral hilar, ipsilateral veya kontralateral skalen veya supraklavikular lenf nodu metastazı

M-Uzak Metastaz

MX: Uzak metastaz belirlenemez

M0: Uzak metastaz yok

M1: Farklı bir lobda ayrı tümör nodülünü de (ipsilateral veya kontralateral) içeren uzak metastaz

Evre Grupları:			
Gizli karsinom	TX	N0	M0
Evre 0	Tis	N0	M0
Evre IA	T1	N0	M0
Evre IB	T2	N0	M0
Evre IIA	T1	N1	M0
Evre IIB	T2	N1	M0
	T3	N0	
Evre IIIA	T1, T2	N2	M0
	T3	N1, N2	
Evre IIIB	Herhangi bir T	N3	M0
	T4	Herhangi bir N	
Evre IV	Herhangi bir T	Herhangi bir N	M1

TABLO - 3: Küçük Hücreli Akciğer Karsinomu Evreleme Sistemi (WHO 2004)
(International Association for the Study of Lung Cancer (IASLC)'ye göre)

Sınırlı Hastalık	Rejyonel lenf nodu (hilar, ipsi ve kontralateral mediastinal veya supraklavikular) metastazı içeren tek bir hemitoraksa sınırlı hastalık
	Kontralateral mediastinal lenf nodu ve supraklavikular lenf nodu metastazı olan hastalık
	İpsilateral plevral efüzyon içeren hastalık
Yaygın Hastalık	Sınırlı hastalık kategorisine girmeyen tüm hastalar

Usulüne göre örneklenen materyallerden hazırlanan formalin ile tespitli parafin bloklardan hazırlanan beş mikronluk hemotoksilen eosin kesitler, yeniden değerlendirildi ve histopatolojik olarak 2004 WHO Klasifikasyonuna göre tekrar tiplendirildi (Tablo 1).

Akciğer karsinomlarında tümör dokusunu en iyi yansıtan birer örnek belirlendi. Seçilen parafin bloklardan pozitif yüklü lamlara yeniden 3-5 mikronluk kesitler alındı. Alınan doku örnekleri deparafinizasyon için 50 C'de bir gece etüvde bekletildi. Daha sonra otomatik yöntemle (VENTANA, Benchmark LT) boyandı. Otomatik boyama yapılan kesitlere, anti p63 antikoru (Clone 4A4, BioGenex, USA) 1/100'lük bir dilüsyon kullanılarak hedeflenen protein görünür hale getirildi. Sonra sırasıyla %70'lik alkolde 2 dakika, %80'lik alkolde 2 dakika, %95'lik alkolde 2 dakika ve absöü alkolde 2 dakika tutuldu. Havada kurutulduktan sonra ksilolde 15 dakika tutulan kesitler entellan ile kapatıldı.

İmmünohistokimyasal çalışmalarda, p63 için sadece nükleer boyanmalar pozitif kabul edilerek değerlendirildi. Semikantitatif ve subjektif gradeleme sistemi kullanılarak boyanma yoğunluğu ve tümör hücrelerinin boyanma oranları incelendi.

Her bir tümörde p63 boyanma yüzdeleri en az 3 büyük büyütme alanı gözönünde bulundurularak sayıldı. Daha sonra bu yüzdeler 3 dilime ayrılarak derecelendirildi. %0-10 oranı 0, %11-44 oranı 1, %45-100 oranı 2 olarak sınıflandırıldı.

0: boyanma yok

1: hafif boyanma

2: şiddetli boyanma

Semi-kantitatif RT-PCR ile TAp63 ve DNp63 ekspresyonlarının araştırılması

Akciğer tümörü olgularından, taze dondurulmuş olmak üzere tümör dokusu ve komşuluğundaki normal akciğer dokusundan TRI-Reagent (Sigma) kullanılarak, üretici firmanın önerdiği protokol çerçevesinde RNA izolasyonu yapıldı. RNA kalitesi ve miktarları belirlendikten sonra, ilgili RNA örnekleri ve primer çiftleri kullanılarak

(Tablo 4) (75) TAp63 (169 bç)-GAPDH (98 bç) ve DNp63 (169 bç)-GAPDH (98 bç), hedef bölgeleri OneStep RT-PCR kit (Cat # 210212, Qiagen) kullanılarak, tek aşamalı multiplex semikantitatif RT-PCR reaksiyonu ile çoğaltıldı.

Tablo - 4: RT-PCR'da Kullanılacak Primerler (75)

İzotip	Tek aşamalı RT-PCR'da Kullanılacak Primerler	RT-PCR ürünü
TAp63	5'-GGTGCACAAACAAGATTGA-3'(forward) 5'-GCGCGTGGTCTGTATTAG-3'(reverse)	169bç
DNp63	5'-GGAAAACAATGCCAGACTC-3'(forward) 5'-GCGCGTGGTCTGTATTAG-3'(reverse)	125bç
GAPDH	5'-CCCCACACACATGCACTTACC-3'(forward) 5'-CCTAGTCCCAGGGCTTTGATT-3'(reverse)	100bç

(TA p63 ve GAPDH) ve (DN p63 ve GAPDH) Tek aşamalı semikantitatif RT-PCR reaksiyonu için uygulanan sıcaklık profili:

Reverse Transkripsiyon: 50°C → 30 dak

PCR Aktivasyonu : 95°C → 15 dak

94°C → 1 dak

57°C → 1 dak

72°C → 1 dak

} 35 Döngü

72°C → 10 dak

Tek aşamalı multiplex semikantitatif RT-PCR reaksiyonu ile çoğaltılan amplikonlar, EtBr ile boyanmış %4'lik MS agaroz (Roche) jelde görüntülendi. Multiplex Semikantitatif RT-PCR reaksiyonunda, Gliseraldehit-3-fosfat dehidrogenaz (GAPDH)

gen ifadesi “kontrol gen ifadesi (housekeeping gene expression)” olarak kullanıldı. Semi-kantitatif analiz için TAp63 ve DNp63 RT-PCR ürünleri EtBr ile boyanmış %4'lik MS agaroz (Roche) jelde görüntüleme işlemini takiben, birbirinden bağımsız olarak GAPDH RT-PCR ürünü ile oranlanarak ve Scion Image bilgisayar programı kullanılarak gen ekspresyon düzeyleri sayısal değerlere çevrildi.

BULGULAR

Klinikopatolojik Bulgular

Çalışmaya alınan 62 hastanın yaşları 31-74 arasında olup, ortalama yaş 58.8 ± 10 olarak saptandı. Hastaların 58'i erkek, 4'ü kadındı (Tablo 5).

Tablo - 5: Olguların Klinik Özelliklere Göre Dağılımı

Klinikopatolojik Özellikler	Hasta Sayısı(n)	%(yüzde)
Yaş		
<40	4	6.5
40-65	41	66.1
>65	17	27.4
Cinsiyet		
Erkek	58	93.5
Kadın	4	6.5
Lokalizasyon		
Sağ	39	62.9
Sol	23	37.1
Uzak metastaz		
Var	7	12.3
Yok	50	87.7
Lokal Nüks		
Var	6	10.5
Yok	51	89.5

57 olgunun klinik izlem bilgilerine ulaşılabildi. Bu 57 olgunun klinik izlem süreleri minimum 1 ay, maksimum 42 ay olup, ortalama takip süresi 16.72 ± 10.6 aydı. Olguların hastalısız yaşam süreleri ise ortalama 15.8 ± 10.2 aydı (minumum 1 ay, maksimum 38 ay). Hastaların %10.5' inde hastalığın nüks ettiği saptandı. İzlenen hastaların % 82.5' inin izlem süresi sonunda hayatta olduğu görüldü.

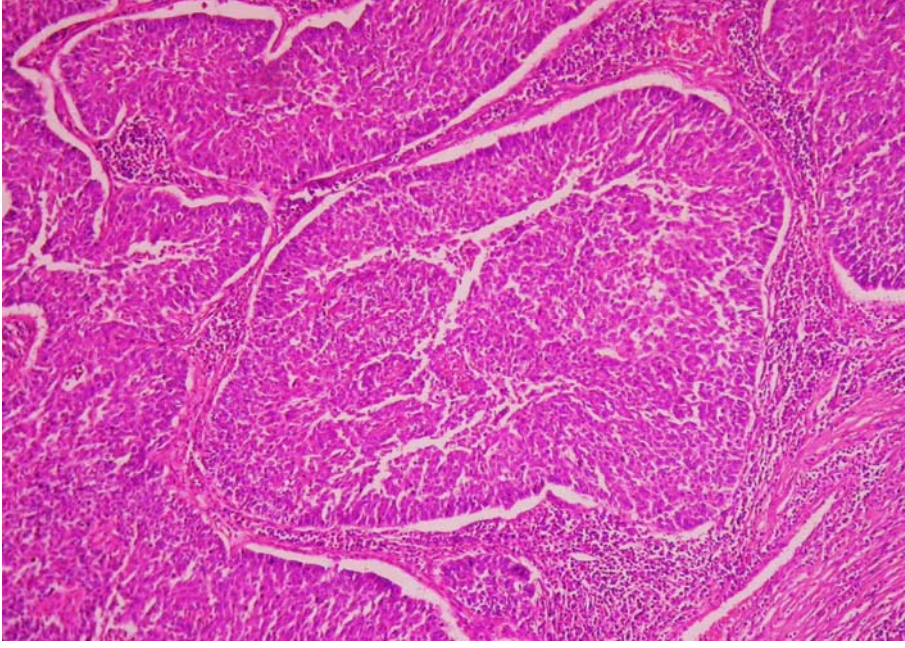
Tümörlerde en büyük boyut 1.9-8 cm arasında olup, ortalama 3.8 ± 1.3 cm'di. Olguların 39'unda (% 62,9) tümör sağ akciğerde, 23'ünde (%37,1) sol akciğerde saptandı. Olguların 40'ına (% 64.5) lobektomi, 17'sine pnömonektomi (% 27.4), 3'üne bilobektomi (% 4.8), 2'sine (% 3.2) wedge rezeksiyon operasyonu uygulanmıştı.

Makroskopik olarak olguların 33'ünde (% 53.2) endobronşiyal lezyon yokken, 29'u (% 46.8) endobronşiyal lezyon vardı (Tablo 6).

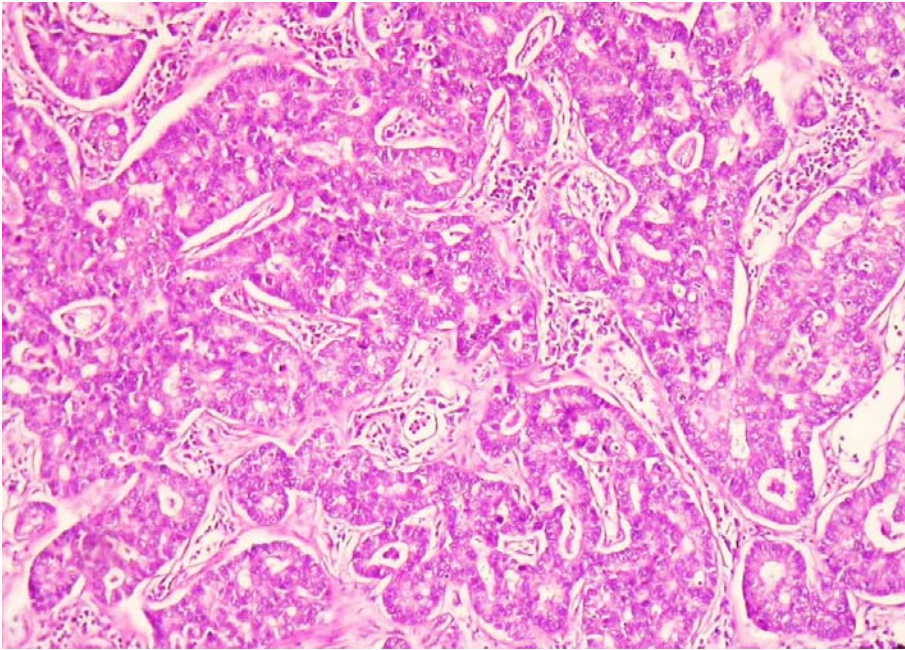
Histolojik olarak olguların 24'ü (%38.7) skuamöz hücreli karsinom (Şekil 1), 20'si (%32.3) adenokarsinom (Şekil 2-5), 5'i (%8.1) karsinoid tümör (Şekil 6), 3'ü (%4.8) büyük hücreli nöroendokrin karsinom (Şekil 7), 3'ü (%4.8) sarkomatoid karsinom (Şekil 8,9), 1'i (%1.6) adenoskuamöz karsinom, 1'i (%1.6) atipik karsinoid, 1'i (%1.6) büyük hücreli karsinom, (büyük hücreli nöroendokrin karsinomlar hariç), 1'i (%1.6) mukoepidermoid karsinomdu (Tablo 6) 1 olguda (%1.6) skuamöz hücreli karsinom ve büyük hücreli nöroendokrin karsinom, 1 olguda (%1.6) adenokarsinom ve karsinoid tümör, 1 olguda (%1.6) adenokarsinom ve skuamöz hücreli karsinom eş zamanlı tümörler olarak bulunmaktaydı (Tablo 7). 24 skuamöz hücreli karsinom olgusunun 16'sı (%66.7) orta derece, 8'i (%3.3) az differansiye iken, 20 adenokarsinomun 5'i (%25.0) iyi, 2'si (%10.0) orta derece, 13'ü (%65.0) az differansiye tümörden oluşmaktaydı (Tablo 8).

Olgular anjiyolenfatik invazyon ve sinir invazyonu açısından değerlendirildiğinde, 43'ü (% 69.4) anjiyolenfatik invazyon, 18'i (%29.0) sinir invazyonu içermekteydi (Tablo 6).

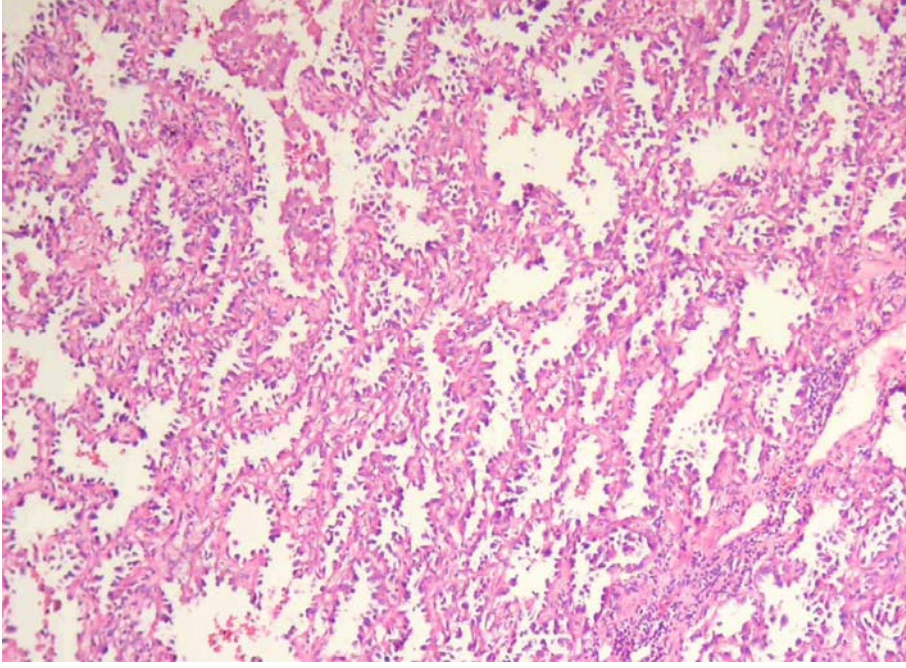
Tümörlere %19.4 oranında skuamöz karsinoma insitu, %9.7 oranında atipik adenomatöz hiperplazi eşlik etmekteydi. % 71.0 olguda insitu lezyon saptanmadı.



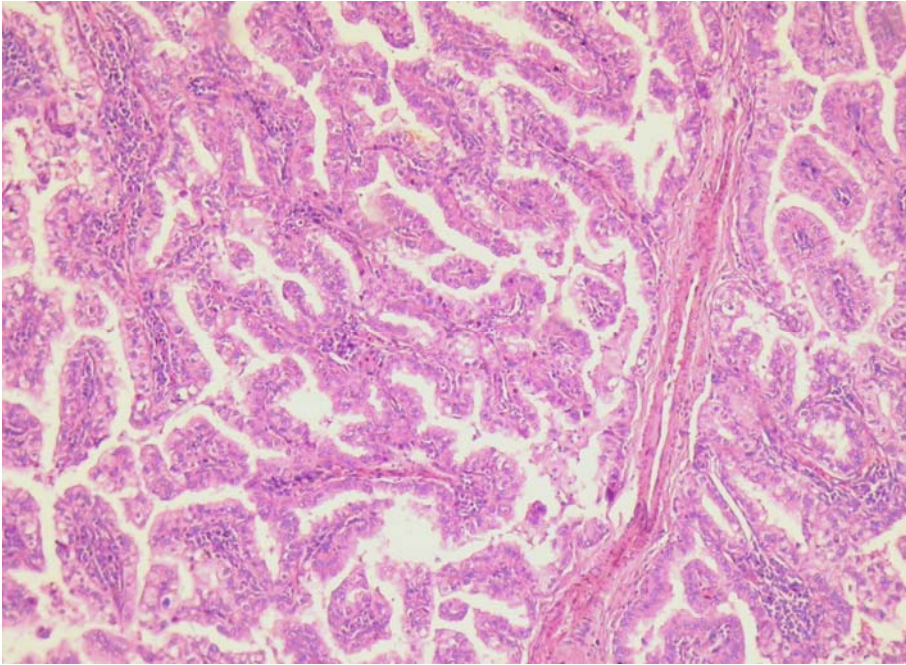
Şekil - 1: Skuamöz Hücreli Karsinom, Bazaloid Varyant (H&E X100)



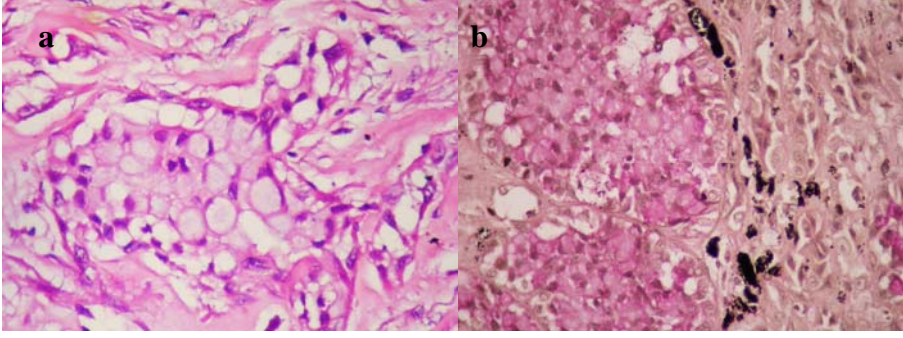
Şekil - 2: Adenokarsinom, asiner tip (H&E X100)



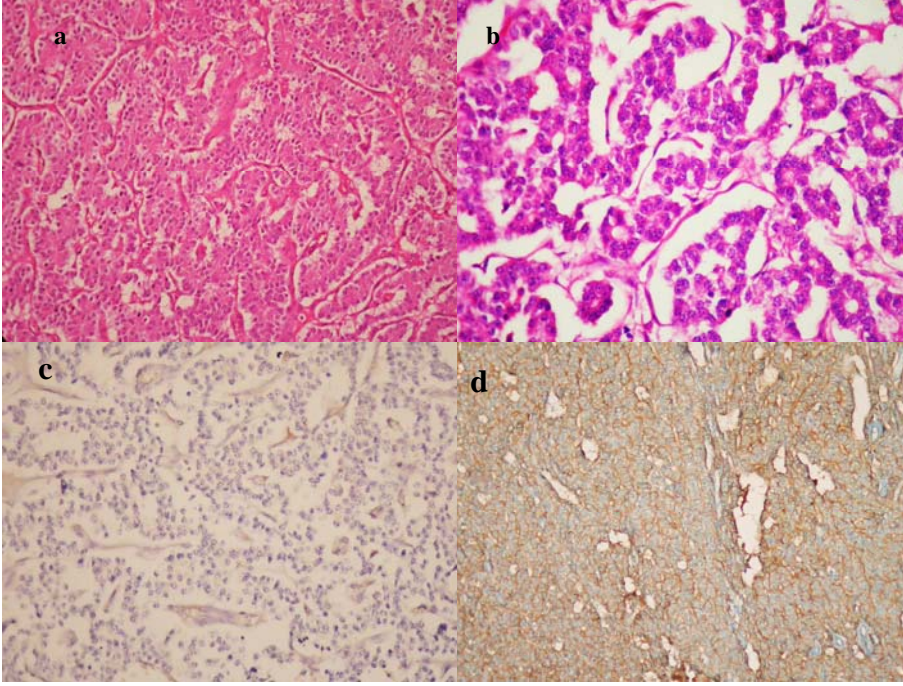
Şekil - 3: Bronkoalveoler karsinom (H&EX100)



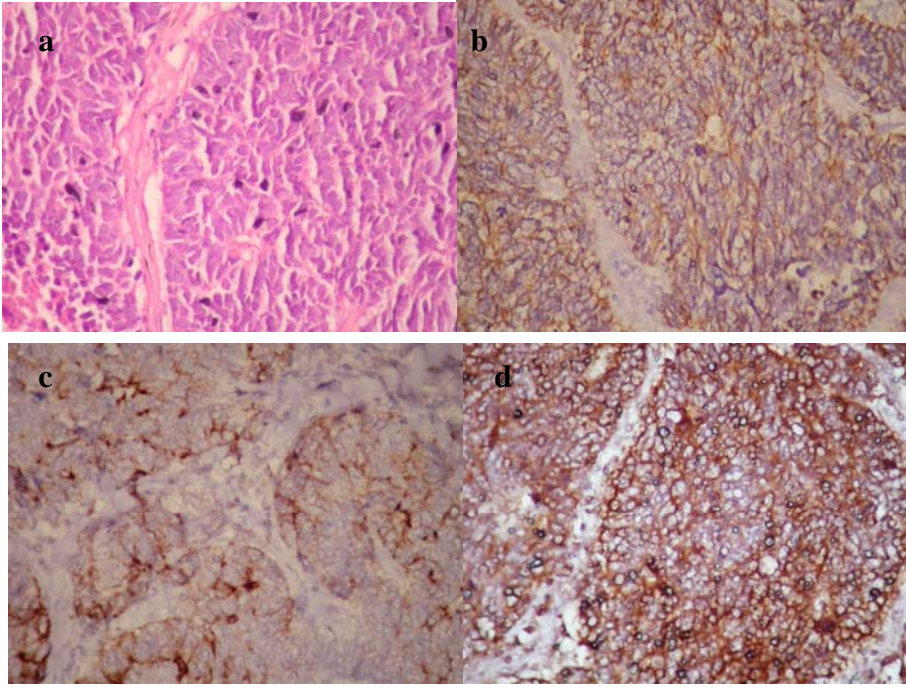
Şekil - 4: Adenokarsinom, papiller tip (H&EX100)



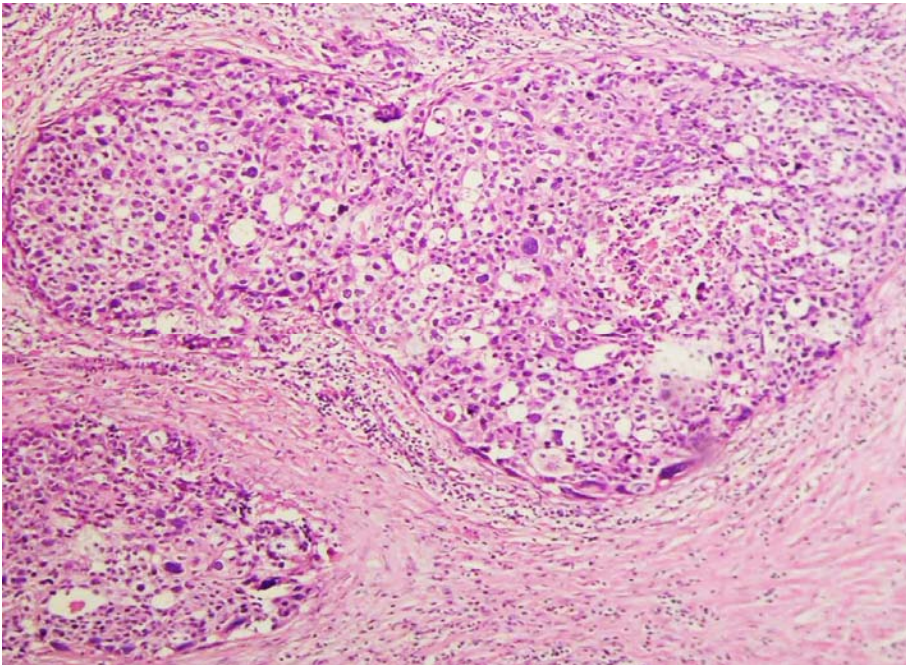
Şekil - 5: Adenokarsinomda fokal taşlı yüzük alanı (a:H&E, b:müsin, X400)



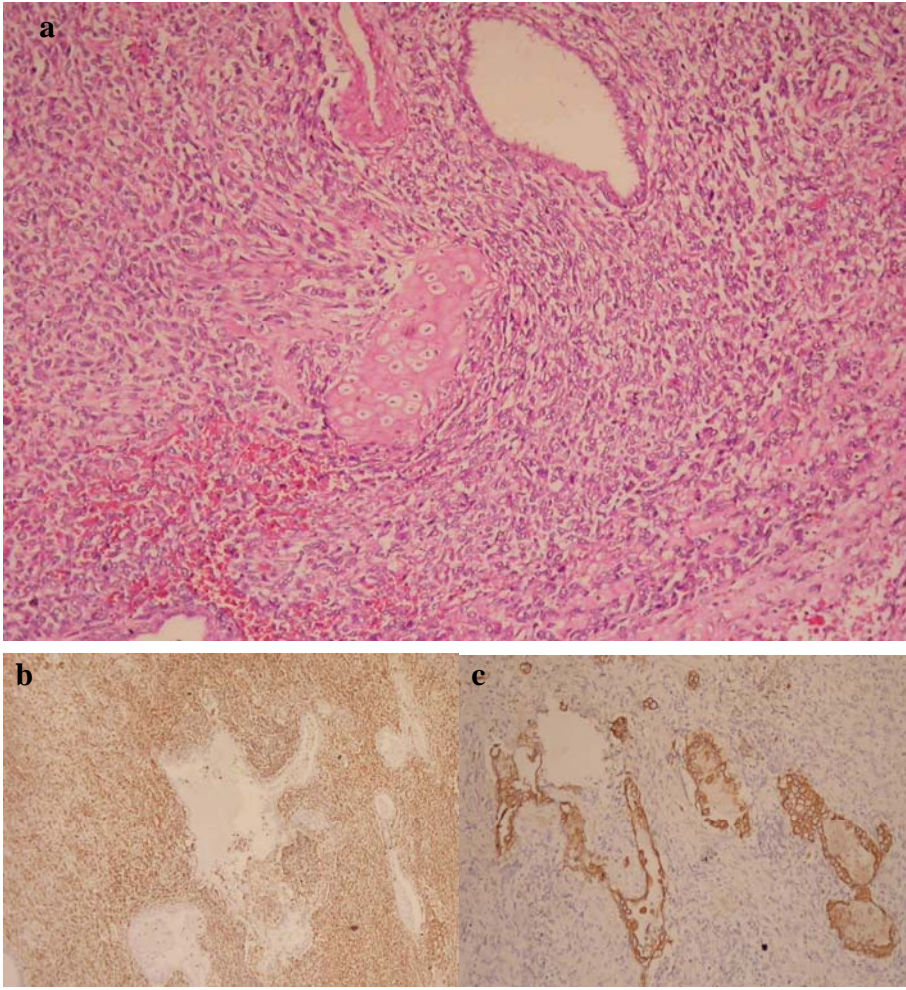
Şekil - 6: Karsinoid tümör (a:H&EX100, b:H&EX400, c:PansitokeratinX200, d:CD56X100)



Şekil - 7: Büyük Hücreli Nöroendokrin Karsinom (**a:**H&E, **b:**Pansitokeratin, **c:**Kromogranin, **d:**Sinaptofizin, X200)



Şekil - 8: Sarkomatoid karsinom, pleomorfik tip (Skuamöz hücreli karsinom+dev hücreli) (H&EX100)



Şekil - 9: Karsinosarkom (a:H&E, b:Vimentin, c:Pansitokeratin, X100)

Tablo - 6: Olguların Histopatolojik Özelliklerine Göre Dağılımı

Histopatolojik Özellikler	Hasta Sayısı (n)	%(yüzde)
Tümör Büyüklüğü		
<3cm	25	40.3
>3 cm	37	59.7
Lenf nodu metastazı		
Var	19	30.6
Yok	43	69.4
Sinir invazyonu		
Var	18	29.0
Yok	44	71.0
Anjiyo-lenfatik invazyon		
Var	43	69.4
Yok	19	30.6
Plevral invazyon		
Var	17	27.4
Yok	45	72.6
Endobronşiyal lezyon		
Var	29	46.8
Yok	33	53.2
Stromal reaksiyon		
Desmoplastik	36	69.2
Lenfositik	15	28.8
Desmoplastik+lenfositik	1	1.9

AJCC TNM evreleme sistemine göre olguların büyük kısmı evre IB (%38.7), Evre IA (%17.7), Evre IIB (%17.7) ve Evre IIIA (%22.6) olup, sadece %3.2'si Evre IIIB'deydi. Olguların büyük bölümünde tümör T2 (%58.1) boyutunda gözlemlendi. 43 olguda (%69.4) lenf nodu metastazı gözlenmezken, 19 olguda (%30.6) lenf nodu metastazı saptandı. Olguların 43'ü (% 69.4) N0, 7'si (% 11.3) N1, 12'si (%19.4) N2 idi (Tablo 9).

Tablo - 7: Olguların Histopatolojik Tiplere Göre Dağılımı

Histopatolojik Tipler	Hasta Sayısı (n)	%(yüzde)
Skvamöz hücreli karsinom	24	38.7
Adenokarsinom	20	32.3
Karsinoid tümör	5	8.1
Büyük hücreli nöroendokrin karsinom	3	4.8
Sarkomatoid karsinom	3	4.8
Atipik karsinoid tümör	1	1.6
Büyük hücreli karsinom, (nöroendokrin karsinomlar hariç)	1	1.6
Adenoskuamöz karsinom	1	1.6
Mukoepidermoid karsinom	1	1.6
Skvamöz hücreli + Büyük hücreli nöroendokrin karsinom	1	1.6
Adenokarsinom+karsinoid tümör	1	1.6
Adenokarsinom+skvamöz hücreli karsinom	1	1.6

Tablo – 8: Tümör Tipi ve Differansiyasyon Arasındaki İlişki

Tümör Tipi	İyi	Orta	Az
	differansiye Sayı (%)	differansiye Sayı (%)	differansiye Sayı (%)
Skvamöz hücreli karsinom	0	16(%66.7)	8(%33.3)
Adenokarsinom	5(%25.0)	2(%10.0)	13(%65.0)

Tablo - 9: Olguların Patolojik Evreye Göre Dağılımı

AJGG Evre	Hasta Sayısı (n)	%(yüzde)
Evre IA	11	17.7
Evre IB	24	38.7
Evre IIA	0	0
Evre IIB	11	17.7
Evre IIIA	14	22.6
Evre IIIB	2	3.2

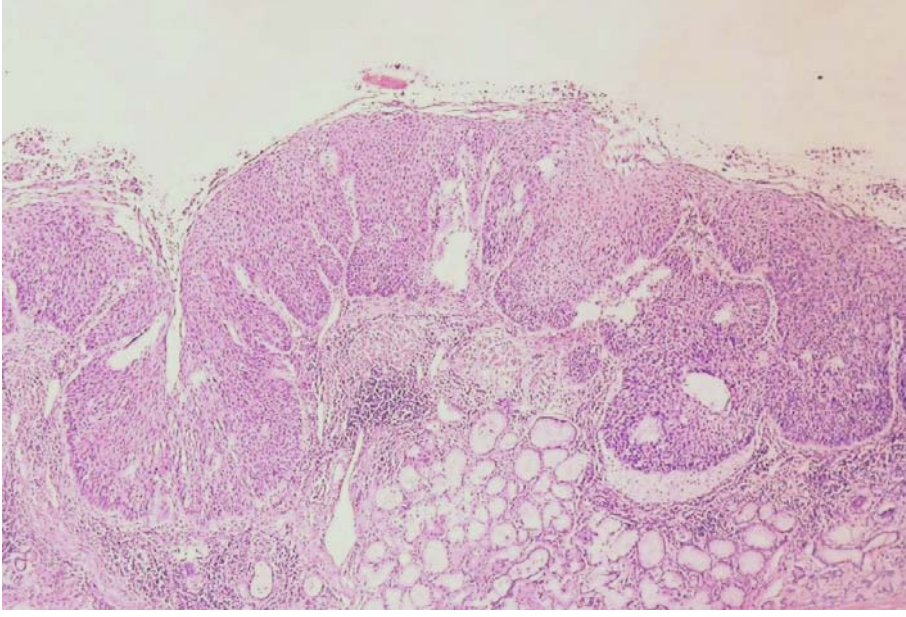
İstatistiksel olarak histopatolojik diferansiyasyon ve evrelere göre yaş grupları arasında anlamlı bir fark saptanmadı ($p > 0.05$). Tümör tipleri ve tümör çapı arasındaki ilişki istatistiksel olarak anlamlı değildi (Tablo 10).

Evreler ile tümörün tipi arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı görüldü ($p > 0.05$). Tümörün diferansiyasyonu ile evre I-II (erken evreler) ve evre III- IV (geç evreler) arasında yine anlamlı bir fark olmadığı saptandı ($p > 0.05$).

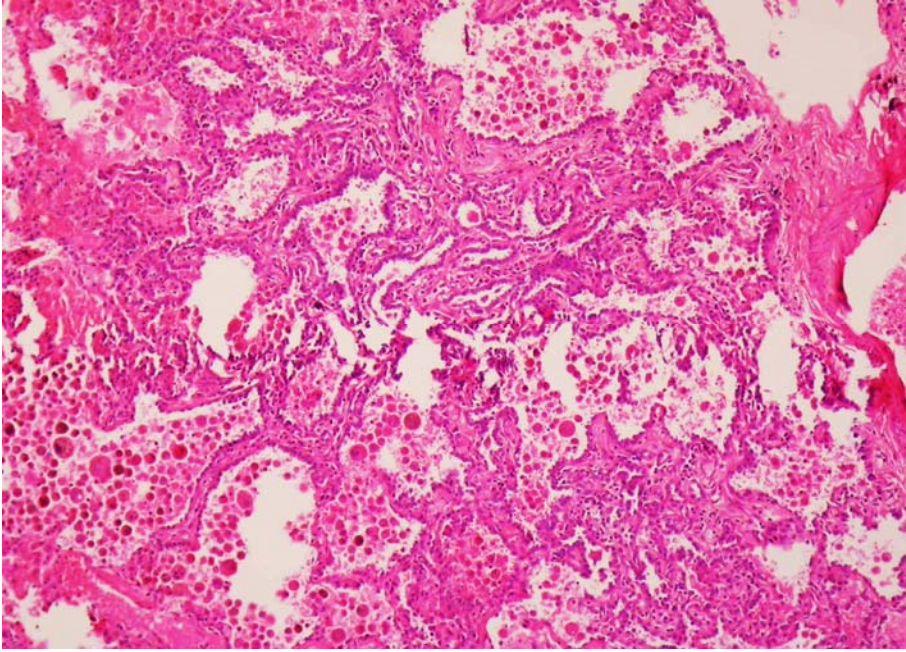
İstatistiksel olarak tümör tipi ile anjiyolenfatik invazyon, sinir invazyonu, stromal reaksiyon tipi, tümör lokalizasyonu, diferansiyasyon, lenf nodu metastazı, nüks, uzak organ metastazı arasında anlamlı fark görülmedi ($p > 0.05$) (Tablo 5-6).

Skvamöz hücreli karsinom ile adenokarsinom arasında endobronşiyal lezyon varlığı açısından, skuamöz hücreli karsinom lehine anlamlı bir fark tespit edildi ($p=0.039$) (Tablo 6).

Skvamöz hücreli karsinomların % 40'ında skuamöz karsinoma insitu saptanırken (Şekil 10), adenokarsinomların hiçbirinde skuamöz karsinoma insitu saptanmadı. İstatistiksel olarak skuamöz karsinoma insitu açısından, skuamöz hücreli karsinom ve adenokarsinom arasında belirgin anlamlı fark mevcuttu ($p=0.002$) (Tablo 11). Atipik adenomatöz hiperplazi ise adenokarsinomların %20'sine (Şekil 11), skuamöz hücreli karsinomların %1'ine eşlik etmekteydi. Atipik adenomatöz hiperplazi açısından, bu 2 grup arasında anlamlı fark görülmedi ($p > 0.05$) (Tablo 12).



Şekil - 10: Skuamöz Karsinoma İnsitu (H&EX100)



Şekil - 11: Atipik Adenomatöz Hiperplazi (H&EX100)

Tablo - 10: Tümör Tipi ve Tümör Çapı Arasındaki İlişki

Tümör Tipi	Sayı (n)	Ortalama tümör çapı (cm)
Skvamöz hücreli karsinom	25	3.7±1.4
Adenokarsinom	20	4.2±2.3
Nöroendokrin tümörler	9	2.9±1.7
Diğerleri	7	5.8±2.9

p>0.05

Tablo - 11: Tümör Tipi ve Skvamöz Karsinoma İnsitu Varlığı Arasındaki İlişki
Skvamöz karsinoma insitu n(%)

Tümör tipi	Var	yok
Skvamöz hücreli karsinom	10(%40)	15(%60)
Adenokarsinom	0	20(%100)
Nöroendokrin tümörler	0	9(%100)
Diğerleri	2(%25)	6(%75)

P=0.002

Tablo - 12: Tümör Tipi ve Atipik Adenomatöz Hiperplazi Varlığı Arasındaki İlişki

Tümör tipi	Var	yok
Skvamöz hücreli karsinom	1(%4)	24(%96)
Adenokarsinom	4(%20)	16(%80)
Nöroendokrin tümörler	1(%11.1)	8(%88.9)
Diğerleri	0	8(%100)

p>0.05

İmmünohistokimyasal Bulgular

P63, 25 skuamöz hücreli karsinom olgusunun 24'ünde (% 96) (Şekil 12), 20 adenokarsinom olgusunun 5'inde (%25), 1 büyük hücreli karsinom (nöroendokrin

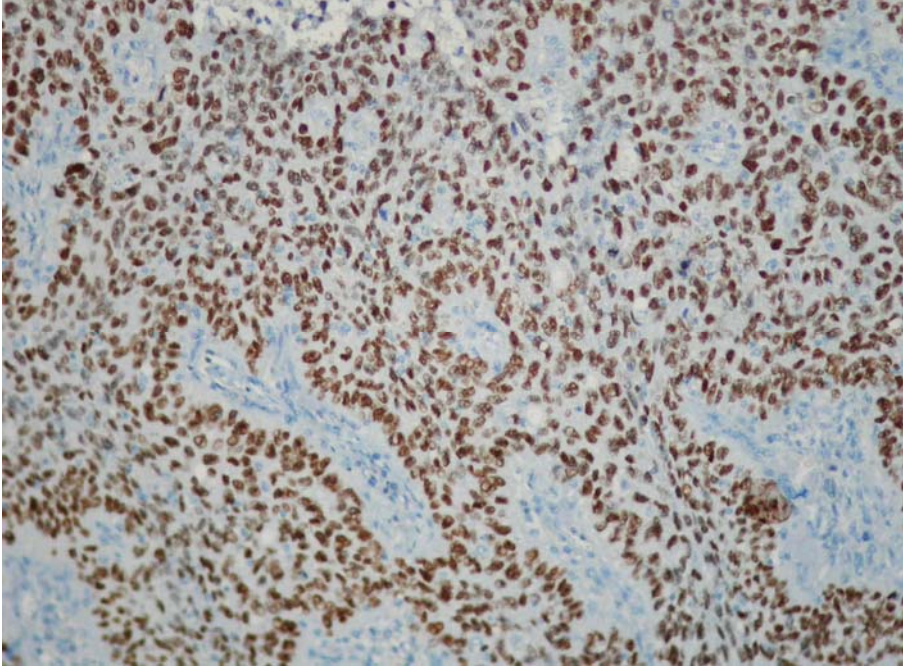
karsinomlar hariç) (%100) farklı boyanma yoğunluklarında immünreaktif olarak saptandı. P63 indeksi ile değerlendirildiğinde 25 skuamöz hücreli karsinom olgusunun 24'ü (%96) şiddetli boyanma gösterdi. 20 adenokarsinom olgusundan pozitif boyanan 5 olguda ve 1 büyük hücreli karsinom (nöroendokrin karsinomlar hariç), boyanma hafif şiddette saptandı. İstatistiksel olarak P63 boyanması gruplar arasında skuamöz hücreli karsinom lehine anlamlı bulundu ($p<0.001$) (Tablo 13). Skuamöz hücreli karsinom olgularında, daha iyi diferansiye alanlarda, p63 tümör adalarının periferinde daha güçlü boyandığı ancak santralinde boyanma şiddeti ve yoğunluğunun azaldığı dikkati çekti. Az diferansiye alanlarda ise santral ve periferdeki boyanma yoğunluklarının benzer olduğu, iyi diferansiye alanlardan daha şiddetli ve yoğun boyanma özelliğine sahip olduğu saptandı.

P63 ile pozitif boyanan 5 adenokarsinom olgusu farklı alt tipler açısından (asiner, papiller, solid, nonmüsinöz bronkoalveoler, taşlı yüzük alanı) değerlendirildiğinde, %2-30 arasında boyanma izlendi (Şekil 13). Solid alan içeren 10 adenokarsinom olgusunda, bu solid alanlardan 5'inde hafif şiddete boyanma (3 olgu %2, 1 olgu %5, 1 olgu %18) izlenirken, 5'inde boyanma saptanmadı.

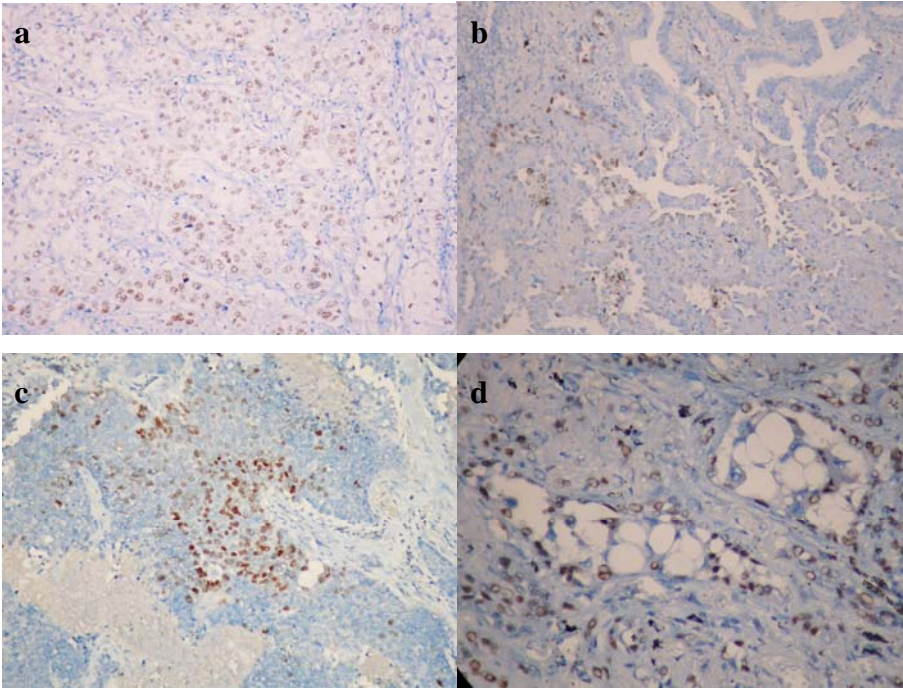
Tablo - 13: Tümörün Tipi ve p63 Boyanması İlişkisi

Tümör tipi	p63 boyanma dereceleri n(%)		
	Yok	Zayıf	Şiddetli
Skuamöz hücreli karsinom	1(%4)	0	24(%96)
Adenokarsinom	15(%75)	5(%25)	0
Nöroendokrin tümörler	9(%100)	0	0
Diğerleri	0	4(%50)	4(%50)

$p<0.001$

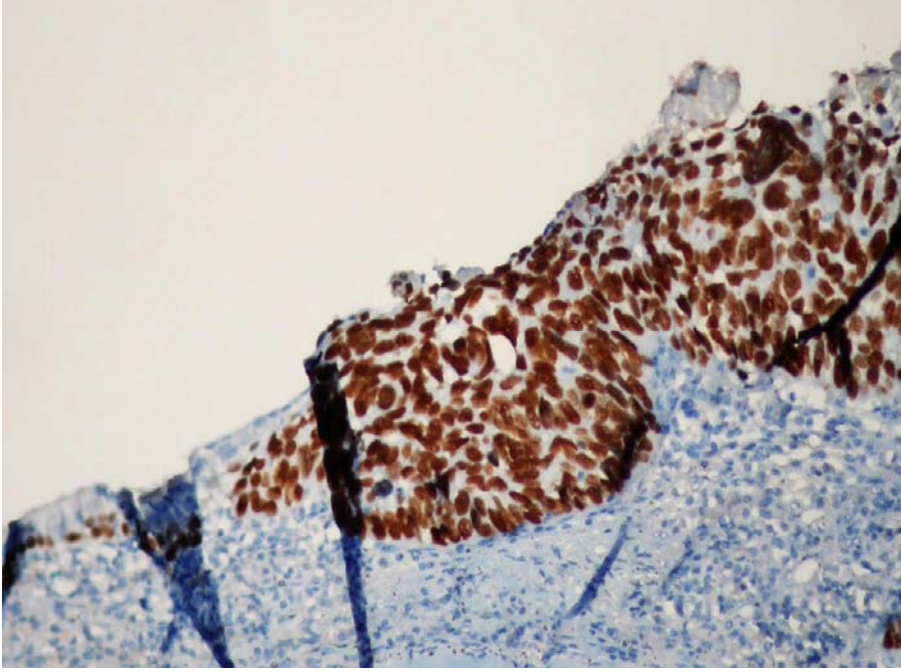


Şekil - 12: Az differansiye skuamöz hücreli karsinomda p63 boyanma paterni (p63X200)



Şekil - 13: Adenokarsinomda p63 boyanma paterni (a:Asiner tip adenokarsinom, X100 b:Bronkoalveoler karsinom, X100 c:Solid tip adenokarsinom, X100 d:Fokal taşlı yüzük alanı, X200)

12 skuamöz karsinoma insitu lezyonunun tamamında (%100) p63 boyanması şiddetli olarak gözlendi (Şekil 14). 6 atipik adenomatöz hiperplazi alanının ise sadece 1'inde (%16.7) hafif şiddette boyanma saptanırken, 5'inde (%83.3) boyanma görülmedi (Tablo 14).



Şekil - 14: Skuamöz karsinoma insitu alanında p63 boyanması (X200)

Tablo - 14: Prekanseröz Lezyonlar ve p63 Boyanma İlişkisi

p63 boyanma dereceleri n(%)

İnsitu lezyon	Yok	Zayıf	Şiddetli
Skvamöz Karsinoma İnsitu (n=12)	0	0	12(%100)
Atipik Adenomatöz Hiperplazi (n=6)	5(%75)	1(%25)	0

P63 boyanma indeksi ve uzak metastaz, lenf nodu metastazı, anjiyolenfatik invazyon, plevral invazyon, sinir invazyonu, stromal reaksiyonun tipi, endobronşiyal

lezyon varlığı, uzak organ metastazı varlığı, nüks varlığı, evre, tümör boyutu gibi kliniko-patolojik parametreler arasında ilişki saptanmadı ($p > 0.05$) (Tablo 15,16).

Tablo - 15: Lenf Nodu Metastazı ve p63 Boyanma İlişkisi

Lenf nodu metastazı	p63 boyanma dereceleri n(%)		
	Yok	Zayıf	Şiddetli
Var	6 (%31.6)	3(%15.8)	10(%52.6)
Yok	19(%44.2)	6(%14)	18(%41.9)

$p > 0.05$

Tablo - 16: Evre ve P63 Boyanması İlişkisi

Evre	P63 boyanma dereceleri n(%)		
	Yok	Zayıf	Şiddetli
Evre I	16(%45.7)	4(%11.4)	15(%42.9)
Evre II	2(%18.2)	3(%27.3)	6(%54.5)
Evre III	7(%43.8)	2(%12.5)	7(%43.8)

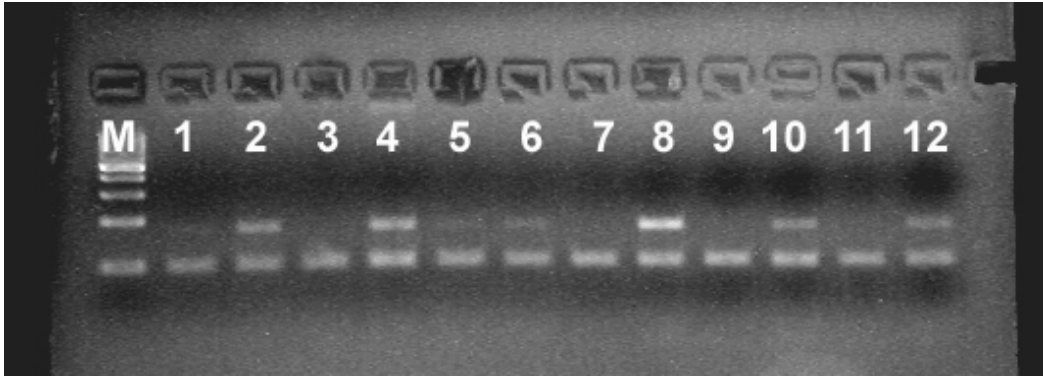
$p > 0.05$

RT-PCR sonuçları

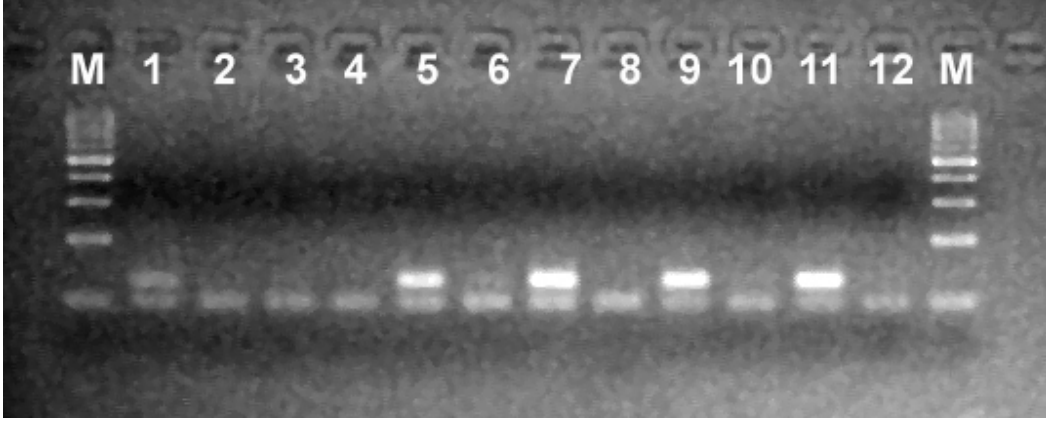
RT-PCR ile p63 için mRNA analizi yapılan 6 olgudan biri adenokarsinom, biri karsinoid tümör, biri mukoepidermoid karsinom, üçü ise skuamöz hücreli karsinomdan oluşmaktaydı (Tablo 17). TA p63 normal akciğer parankiminde güçlü pozitif bulunurken, bir skuamöz hücreli karsinom olgusu (olgu 3) haricinde tümörde negatif saptandı. Delta-N p63'ün dağılımı ise şu şekilde bulundu; skuamöz hücreli karsinom olgularının tamamında (3/3) güçlü pozitiflik, mukoepidermoid karsinom olgusunda güçlü pozitiflik, adenokarsinom olgusunda zayıf pozitiflik, karsinoid tümör olgusunda negatiflik (Şekil 15,16).

Tablo - 17: RT-PCR Uygulanan Olgularda Tümör ve Normal Akciğerde p63 Dağılımı

Olgu no	Tanı	Delta-N P63 Tümör	Delta-N P63 Normal Akciğer	TA Tümör	P63	TA Normal Akciğer	P63
1	Adenokarsinom	Zayıf (+)	(-)	(-)		Güçlü (+)	
2	Karsinoid Tümör	(-)	(-)	(-)		Güçlü (+)	
3	Skvamöz Hücreli Karsinom	Güçlü (+)	(-)	Zayıf (+)		Zayıf (+)	
4	Skvamöz Hücreli Karsinom	Güçlü (+)	(-)	(-)		Güçlü (+)	
5	Mukoepidermoid Karsinom	Güçlü (+)	(-)	(-)		Güçlü (+)	
6	Skvamöz Hücreli Karsinom	Güçlü (+)	(-)	(-)		Güçlü (+)	



Şekil - 15: TAp63 ve GAPDH (1:AK-T, 2:AK-N, 3:Karsinoid-T, 4: Karsinoid-N, 5:SHK-T, 6:SHK-N, 7:SHK-T, 8:SHK-NT, 9:MEK-T, 10:MEK-N, 11:SHK-T, 12:SHK-N) (AK: Adenokarsinom, SHK:Skvamöz hücreli karsinom, MEK:Mukoepidermoid karsinom, T:Tümör, N:Normal akciğer parankimi)



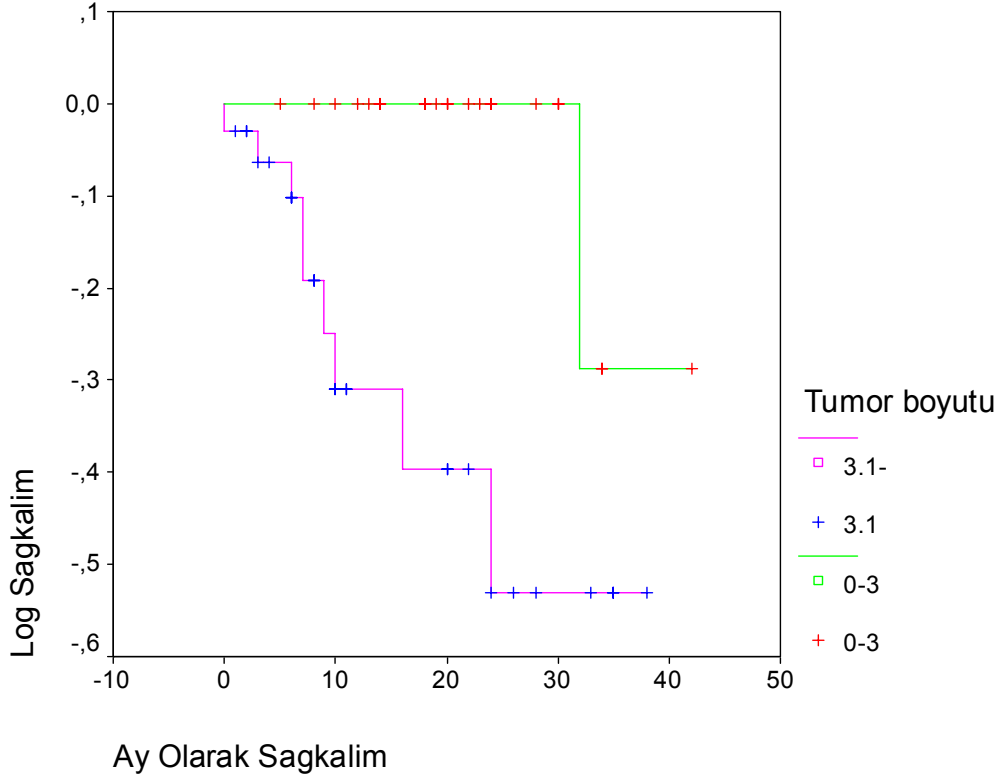
Şekil - 16:DNp63 ve GAPDH (1:AK-T, 2:AK-N, 3:Karsinoid-T, 4: Karsinoid-N, 5:SHK-T, 6:SHK-N, 7:SHK-T, 8:SHK-NT, 9:MEK-T, 10:MEK-N, 11:SHK-T, 12:SHK-N, T:Tümör, N:Normal akciğer parankimi)

Sağkalım Analizi

1-42 ay arasında değişen sürelerde izlenen 48 olgudan 10'unun (%19.6) tümör ile ilişkili nedenlerle ve 0-32 ay arasında değişen sürelerde kaybedildiği saptandı. Altı vakada ise en az 9 ay, en çok 23 ay içinde nüks olduğu belirlendi.

Hastalarda "Kaplan-Meier sağkalım analizi" ile tümörün boyutu ve sağkalım arasındaki ilişki değerlendirildiğinde, 0-3cm arası çapa sahip tümörlerde % 95.65 oranında, 3 cm'den büyük çapa sahip tümörlerde %73.53 oranında sağkalım izlendi; tümör çapı ile sağkalım arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptandı ($p<0.001$). Bulgular Şekil 17'de gösterilmiştir.

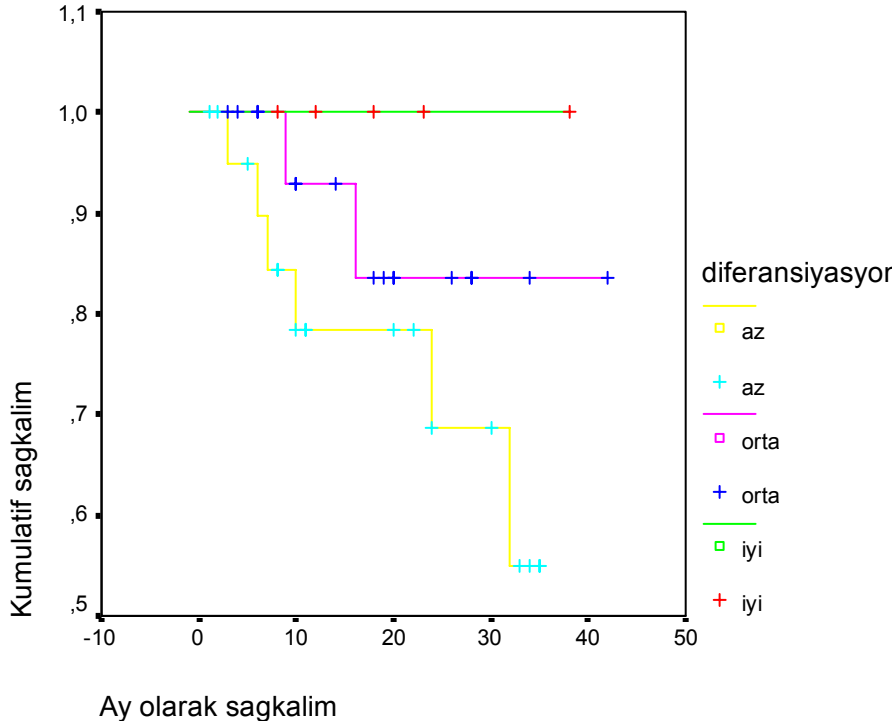
Şekil - 17:Tümör Boyutunun Sağkalım ile İlişkisi



T parametresi ve sağkalım arasındaki ilişkiye bakıldığında; T1'de %92.86, T2'de %87.88, T3'te ve T4'te ise %50 oranında sağkalım görüldü. Bulgular istatistiksel olarak anlamlı idi ($p=0.02$).

Tümörün differansiyasyonu ile sağkalım arasındaki ilişkiye bakıldığında iyi differansiye olgularda %100 oranında, orta derecede differansiye olgularda %85.71 oranında, az differansiye olgularda %74.07 oranında sağkalım görülerek, istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunmadı ($p>0.05$). Bulgular Şekil 18'de gösterilmiştir.

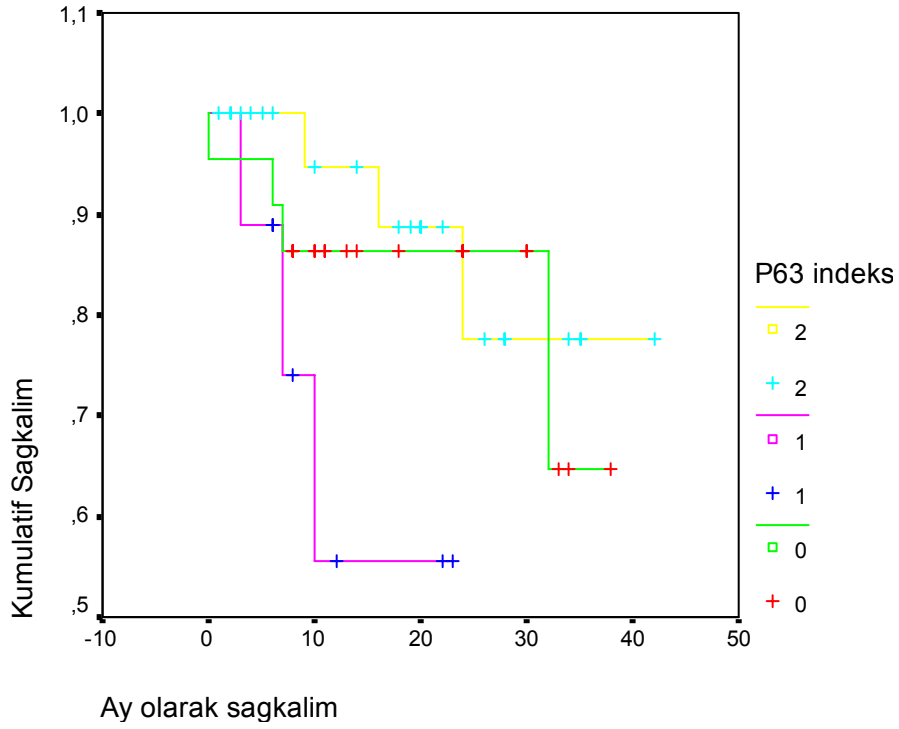
Şekil - 18: Tümör Diferansiyasyonunun Sağkalım ile İlişkisi



Tümörün evresi ile sağkalım arasındaki ilişki incelendiğinde evre I'deki 31 olguda %90.32 oranında, evre II'deki 10 olguda %70 oranında, evre III'deki 16 olguda %75 oranında sağkalım görüldü. Bulgularda istatistiksel anlamlılık saptanmadı ($p>0.05$).

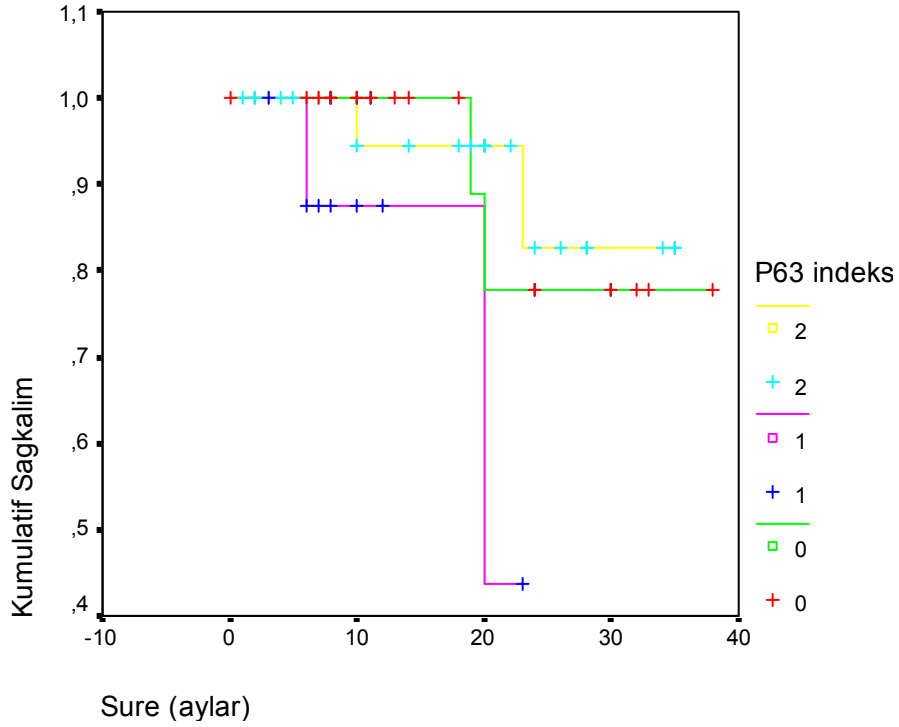
P63 ile boyanma göstermeyen 22 olgunun ortalama izlem süresi 32 ± 3 ay, p63 indeksi düşük boyanma gösteren olgularda ortalama izlem süresi 16 ± 3 ay, yüksek boyanma içeren olgularda ise 37 ± 3 ay olduğu saptandı. P63 ile boyanmayan grupta %81.82, p63 indeksi ile düşük boyanma gösteren grupta %66.67 oranında, yüksek boyanma gösteren grupta %88.46 oranında sağkalım izlendi. Bu ilişki istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p>0.05$). Bulgular Şekil 19'da gösterilmiştir.

Şekil - 19: Tümörde p63 Boyanmasının Sağkalım ile İlişkisi



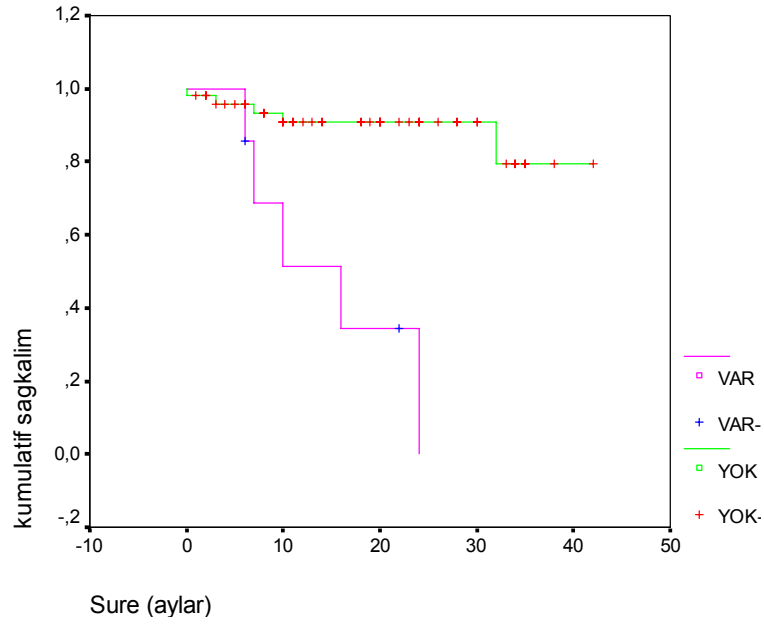
p63 ile boyanmayan olgularda hastalıksız yaşam süresi ortalama 32 ± 3 ay, p63 indeksi ile düşük boyanma gösteren olgularda 16 ± 3 ay iken, yüksek boyanma içeren olgularda 31 ± 2 ay olduğu belirlendi. p63 ile boyanmayan olgularda %81.82 oranında, p63 indeksi ile düşük boyanma gösteren olgularda %66.67 oranında, yüksek boyanma gösteren olgularda %88.46 oranında hastalıksız yaşam süresi saptandı. Bu ilişki de istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p > 0.05$). Bulgular Şekil 20'de gösterilmiştir.

Şekil - 20: Tümörde p63 Boyanmasının Hastalıksız Yaşam Süresi ile İlişkisi



Multivaryasyon analizinde yaş, tümörün en büyük boyutu, cinsiyet, TNM evresi, tümörün differansiyasyonu, uzak metastaz, lenf nodu metastazı, anjiyolenfatik invazyon, plevral invazyon, sinir invazyonu, stromal reaksiyonun tipi, endobronşiyal lezyon varlığı, uzak organ metastazı varlığı, nüks varlığı, evre, tümör boyutu, tümörün lokalizasyonu ve p63 antikor reaktivitesinin sağkalım oranı üzerine etkileri araştırıldığında, sadece metastaz varlığının ($p < 0.001$) prognozu belirlemede bağımsız prognostik faktör olduğu saptandı (Şekil 21). Tümörde p63 boyanma indeksi ve tümör tipi için Cox multivaryasyon analizinde sırasıyla p değerleri $p = 0.051$, $p = 0.066$ bulundu.

Şekil - 21: Metastaz Varlığının Sağkalım ile İlişkisi



TARTIŞMA

Akciğer kanseri dünyada en sık görülen malign tümördür (1). Tüm akciğer tümörlerinin %99'unu karsinomlar oluşturur. İnsidans cinsiyete göre değişiklik gösterir. Dünya sağlık örgütüne göre en sık görülen karsinom olan skuamöz hücreli karsinom erkeklerde %44'lük bir dilimi kapsarken, kadınlarda ancak %25'lik bir dilim oluşturur. Adenokarsinomlarda ise oran tersine dönerek, erkeklerde %28'lik bir oranda kalırken, kadınlarda skuamöz hücreli karsinomları geçerek %42'lere ulaşır (1). Bazı otörlere göre bu oranlar değişiklik gösterir ve her iki cinste adenokarsinom en sık görülen akciğer kanseri olarak belirtilir (21).

Türkiye'de 2004'te yapılan bir çalışmaya göre, skuamöz hücreli karsinom %41.1 ile en sık görülen akciğer kanseri tipini oluşturur. Adenokarsinom ise %25.6 ile 2. sırada yer alır (22). Türkiye'de yine 1992-1998 yıllarını kapsayan 3431 olgu içeren geniş bir seride yapılan bir çalışmada, kadın hasta sayısında (%6.8'den %8,5'a yükselme) ve adenokarsinom sıklığında artış olduğu rapor edilmiştir (23). Bir başka merkezin 1972-2002 yılları arasında akciğer kanseri tanısı konulan 1834 hastayı içeren bir çalışmasında, en sık primer akciğer kanseri histolojik tipi %32.1 oranı ile skuamöz hücreli karsinomdur. Ancak cinsiyet göz önünde bulundurulduğunda, kadınlarda %14 ile en sık adenokarsinom, erkeklerde %36.1 ile en sık skuamöz hücreli karsinom görüldüğü rapor edilmiştir (24). 1999-2003 yıllarını kapsayan başka bir merkezin 971 hastalık bir çalışmasında da sonuçlar benzerlik göstermektedir (19).

Dünya sağlık örgütü verilerine göre diğer histolojik tiplerde cinsiyet gözetmeksizin insidans küçük hücreli karsinomda %20, büyük hücreli karsinomda %9'dur (1). Türkiye'de ise; benzer şekilde küçük hücreli karsinom %13.1 oranı ile 3. en sık görülen akciğer kanseri tipini oluşturur (22).

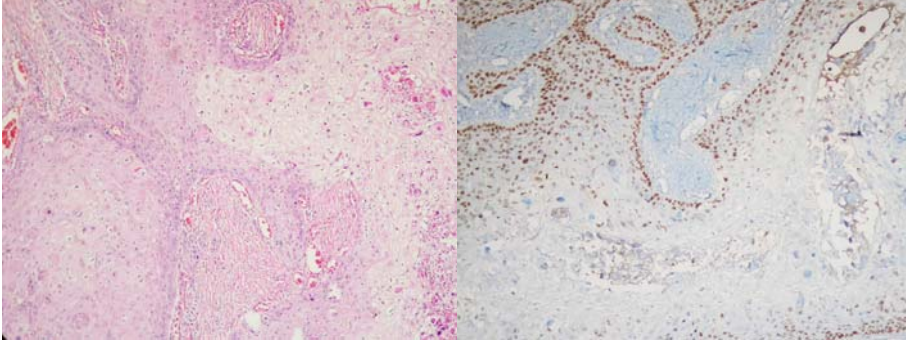
Bu çalışmada, cinsiyet gözetmeksizin bakıldığında %38.7 oranı ile Türkiye'deki diğer çalışmalara benzer şekilde skuamöz hücreli karsinom en sık görülen karsinom tipidir. %32.3 oranı ile adenokarsinom ikinci, %8.1 oranı ile karsinoid tümör üçüncü, %4.8 oranı ile büyük hücreli karsinom ve sarkomatoid karsinom dördüncü ve beşinci sırada yer alır. Erkeklerde literatüre uygun olarak %41.4 oranı ile birinci sırada

skuamöz hücreli karsinom, %32.8 oranı ile ikinci sırada adenokarsinom görülür. %6.9 oranı ile karsinoid tümör üçüncü ve %5.2 oranı ile büyük hücreli nöroendokrin karsinom dördüncü sırada saptanmıştır. Bu çalışmada yer alan 4 kadın hastadan birinde adenokarsinom, birinde karsinoid tümör, birinde sarkomatoid karsinom bulunmuştur. Diğer bir hastada ise adenokarsinom ve karsinoid tümör birlikte bulunmaktadır. Kadın hasta sayısının azlığı nedeniyle, kadınlarda akciğer kanseri sıklığıyla ilgili yorum yapmak mümkün değildir.

p63, ilk defa 1998'de tanımlanmış, kromozom 3q27-29'da lokalize, 15 ekzon ve en az 6 protein izoformu içeren bir gendir (5). İnsanda, baş-boyun skuamöz hücreli karsinomunda, akciğer karsinomunda, özefagus skuamöz hücreli karsinomunda, mesane transizyonel hücreli karsinomunda, gastrik karsinomda p63 ekspresyonu görülür (6,8,65,74). Akciğer karsinomunda farklı çalışmalarda, alt tipler için p63 (+)'lik oranları benzerlik içermekle birlikte farklı sonuçlarda gösterilmiştir (4,6-8).

Bu çalışmada, skuamöz hücreli karsinom olgularının tamamına yakınında (%96), adenokarsinom olgularının %25'inde ve bir adet büyük hücreli karsinomda (nöroendokrin karsinomlar hariç), P63 farklı boyanma yoğunluklarında immünreaktif olarak saptanmıştır. Pozitif boyanan olgularda boyanma şiddeti değerlendirildiğinde; skuamöz hücreli karsinom olgularında yaygın ve şiddetli boyanma izlenirken, adenokarsinom olgularında ve büyük hücreli karsinom olgusunda boyanma şiddet ve yaygınlığında azalma görülmüştür. İstatistiksel olarak P63 boyanması gruplar arasında skuamöz hücreli karsinom lehine anlamlı bulunmuştur.

Literatürde skuamöz hücreli karsinomda p63 ekspresyonu ile ilgili çalışmalar, tam bir fikirbirliği içindedir. Skuamöz hücreli karsinomda bu çalışmada olduğu gibi güçlü p63 pozitifliği bildirilmiştir. İyi differansiye tümörlerde tümör adasının periferinde güçlü olan boyanma, santralde differansiyasyonun arttığı alanda azalma gösterdiği saptanmıştır. P63 pozitifliğinin differansiyasyonun azalması ile şiddetlendiği gösterilmiştir. Solid tümör adalarının ortasında da periferdekine benzer yoğun boyanma olduğu tariflenmiştir (6,7,76,77).



Şekil - 22: Skuamöz hücreli karsinomda iyi differansiye alanda tümör adası santralinde p63 boyanmasında azalma (X200)

Bu çalışmada da literatür ile uyumlu olarak, orta ve az differansiye skuamöz hücreli karsinomdan oluşan olgular, immünohistokimyasal olarak belirgin şiddetli p63 ekspresyonu göstermiştir. Bu tümörler içerisinde fokal odaklar şeklinde izlenen iyi differansiye alanlarda ise, literatürde tarif edildiği gibi p63 boyanması, tümör adalarının santralinde daha zayıf olarak izlenmiştir (Şekil 22).

Literatürde yer alan bir çok çalışma, akciğer karsinomunda p63'ü immünohistokimyasal olarak araştırmıştır. Pierre ve ark. immünohistokimyasal yöntemle ek olarak FISH ve RT-PCR yöntemi ile inceleme yapmıştır. Skuamöz hücreli karsinomda FISH yöntemi ile %88 p63 pozitifliği elde etmiştir. RT-PCR metodu ile delta-N p63-alfa, delta-N p63-beta ile skuamöz hücreli karsinomların tamamında pozitiflik saptarken, TA p63 ile skuamöz hücreli karsinomların bir kısmında zayıf pozitiflik bulmuştur. Normal akciğer dokusunda ise hem delta-N p63 hemde TA p63 ile negatiflik saptamıştır (76).

RT-PCR ile delta-N p63'te elde edilen pozitiflik (3/3) ve TA p63 için bir olguda saptanan pozitiflik dışında negatif sonuç alınması Pierre'nin daha önceki çalışması ile benzerlik göstermektedir. Normal akciğer dokusunda Pierre'nin çalışmasından farklı olarak TA p63 ile pozitif sonuç alınmıştır (76).

Adenokarsinomda literatürde çelişkili sonuçlar bulunur. Bazı çalışmalar adenokarsinomda sırasıyla %12, %11, %15.8 ve %30'luk immünohistokimyasal p63 (+)'liği saptarken (6,8,76,78), bazı çalışmalarda adenokarsinomda p63 negatiftir

(4,78). Pozitiflik bildirilen çalışmalardan biri olan Sheikh ve ark. yaptıkları çalışmada, p63 pozitif boyanan 4/33 adenokarsinom olgusundan 3'ünde %5'in altında bir boyanma izlenirken, 1 olguda farklı olarak %80'den fazla pozitiflik saptanmıştır (78). Pelosi ve ark.nın yaptığı çalışmada yer alan 15 adenokarsinom olgusunda ise %15.8'lik p63 pozitifliği bulunmuştur. Pozitif kabul edilen olgulardaki pozitif hücre oranı ise %5.4±15.9 olarak bildirilmiştir (6).

Pierre ve ark. ise yaptıkları bir çalışmada, adenokarsinomlarda FISH yöntemi ile %11 oranında gen amplifikasyonu, immünohistokimyasal yöntem ile %18 oranında protein ekspresyonu saptadıklarını raporladılar. Sınırlı olguda çalıştıkları delta-N p63-alfa, delta-N p63-beta ve TA p63 splice varyantları ile adenokarsinom olgularını negatif saptadıklarını belirttiler (76). Bu çalışmada, tek adenokarsinom olgusunda RT-PCR ile tümörde zayıf delta-N p63 pozitifliği ve TA p63 negatifliği, normal akciğer parankiminde ise delta-N p63 negatifliği ve TA p63 pozitifliği saptanmıştır.

Wang ve ark. yaptığı çalışmada oran diğer çalışmalara göre oldukça yükselir. 7 bronkoalveoler karsinomda %57 oranında, 23 adenokarsinomda %65 oranında pozitiflik elde ettiklerini belirtmişlerdir. Ancak olgularda p63 boyanma yüzdesi belirtmeden sadece nadir, fokal veya multifokal boyanma saptadıklarını ve bu boyanmanın skuamöz hücreli karsinomda elde ettikleri uniform pozitiflikten farklı olduğunu vurgulamışlardır (74).

Au ve ark. 408 akciğer karsinomundan oluşan çalışmalarında 2 farklı laboratuvarında aynı konsantrasyonda p63 antikoru kullanarak, farklı protokoller uygulamışlardır. Bu iki laboratuvarında sonuçlar skuamöz hücreli karsinom için benzer iken, bu karsinom dışındaki tiplerde farklı sonuçlar elde edilmiştir. Adenokarsinom için, bir laboratuvarında %30 oranında, diğer laboratuvarında %8.6 oranında boyanma saptanmıştır (8). Aynı seride uygulanan, aynı konsantrasyonda p63 kullanımına rağmen oluşan bu değişikliği, teknik farklılıklar ve diğer kimyasalların farklılığı ile açıklamışlardır. Bu iki ayrı laboratuvarında, skuamöz hücreli karsinom olgularında benzer sonuç (bir laboratuvarında %96.9, diğerinde %96.2) elde edilmesi ise, 'skuamöz hücreli karsinom olgularının her iki boyama protokolü ile belirlenebilecek kadar yüksek bir ekspresyon içermesi ile açıklanmıştır (8).

Narahashi ve ark. p63'ün prognoz üzerine etkisini saptamak amacıyla yaptıkları çalışmada, adenokarsinomda %50 nükleer, %51 sitoplazmik p63 pozitifliği saptamışlardır (79).

Bu çalışmada yer alan 20 adenokarsinom olgusundan p63 pozitif boyanan 6'sı, literatürdekine benzer şekilde zayıf boyanma (%10-40) gösterir. Adenokarsinomun alt tipleri içerisinde az differansiye skuamöz hücreli karsinom ile en sık karışan solid alanlar incelendiğinde, 10 solid alandan 5'inde p63 pozitifliği saptanmıştır. P63 pozitif boyanan solid alan içeren bu 5 olguda, solid alanlarda hafif şiddette boyanma (3 olgu %2, 1 olgu %5, 1 olgu %18) izlenmiştir.

Skuamöz hücreli karsinom ile adenokarsinom arasındaki belirgin p63 ekspresyon farkı, bu iki tümörü ayırmanın güç olduğu az differansiye olgularda, p63'ün ayırıcı tanıda oldukça yararlı olabileceğini gösterir. Rezeksiyon materyallerinde daha geniş bir tümöral alan izlenebildiği için, boyanma paterni farklılığını saptamak daha kolaydır. Ancak oldukça sınırlı doku örneği ile tanı konulmaya çalışılan küçük biyopsi örneklerinde, p63 boyanmasını değerlendirmek oldukça güçtür. Bu açıdan akılda tutulması gerekenlerden biri; p63 negatifliği skuamöz hücreli karsinom tanısını dışlamaya yardımcı olabilir. Akılda tutulması gereken bir diğer nokta ise, histolojik olarak skuamöz hücreli karsinom ve adenokarsinom arasında kaldığımız olgularda, hafif ve daha az oranda bir p63 pozitifliği, adenokarsinom lehine bir yorum yapmaya yönlendirebilir. İmmünohistokimyasal olarak p63 boyanma özelliği ile ayırıcı tanıya gidemediğimiz olgularda ise, p63'ün mRNA düzeyinde araştırılması tanı koymada yardımcı olabilir. Ancak baş-boyun skuamöz hücreli karsinomunda, özefagus skuamöz hücreli karsinomunda, mesane transizyonel hücreli karsinomunda, gastrik karsinomda p63 ekspresyonu görülmesi nedeniyle, bu tümörlerin akciğere olan metastazını, primer akciğer karsinomundan ayırmada p63 yardımcı değildir.

Skuamöz karsinoma insitu büyük hava yollarında bronş epitelinde gelişen, tek başına veya invaziv karsinom ile birlikte olabilen, skuamöz hücreli karsinom öncüsü bir lezyondur (32). Bu çalışmada skuamöz hücreli karsinomların % 40'ında skuamöz

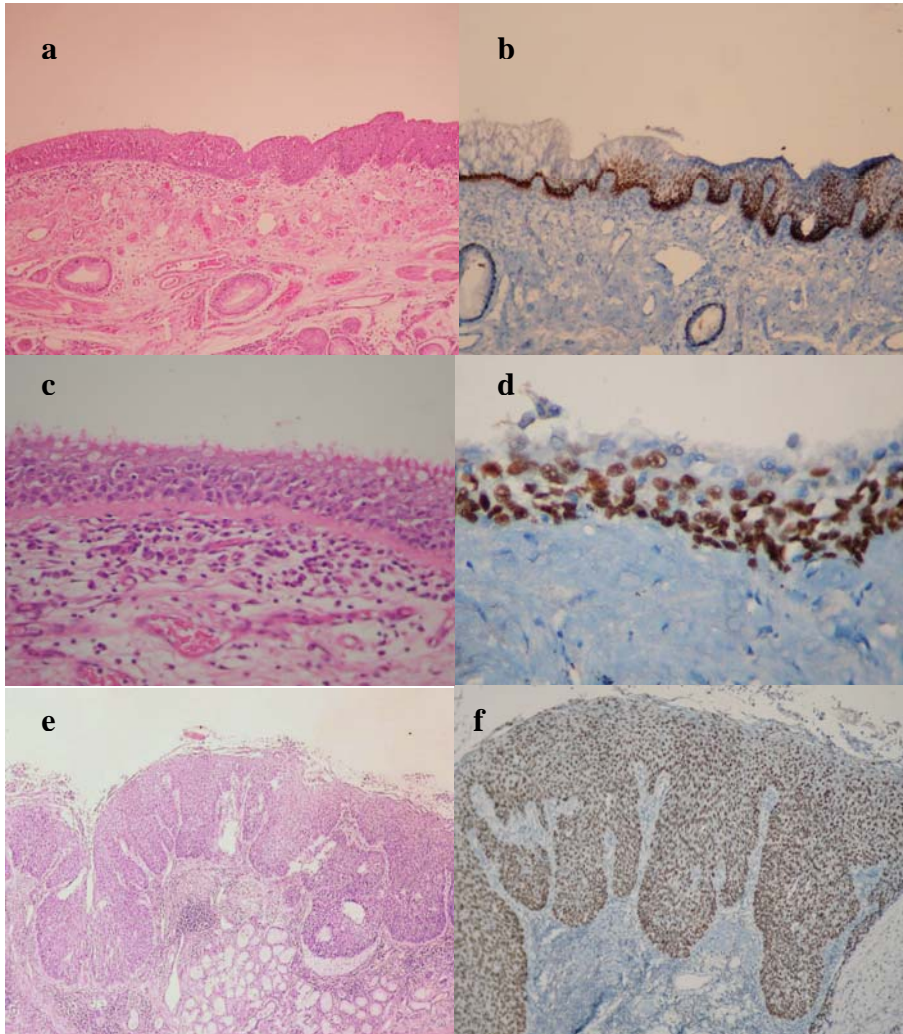
karsinoma insitu saptanırken, adenokarsinomların hiçbirinde skuamöz karsinoma insitu saptanmamıştır ($p=0.002$). Bu bulgu, küçük biyopsi materyallerinde tümöre eşlik eden skuamöz karsinoma insitu varlığı dikkate alınarak, biyopsiyi skuamöz hücreli karsinom lehine yorumlamada yardımcı olabilir. Atipik adenomatöz hiperplazi ise periferik pulmoner adenokarsinomun bir öncüsü kabul edilen ve genellikle adenokarsinom nedeniyle rezeke edilen materyallerde multifokal olarak rastlantısal fark edilen bir lezyondur (32,33). Bu çalışmada atipik adenomatöz hiperplazi adenokarsinomların %20'sine, skuamöz hücreli karsinomların %1'ine eşlik etmektedir ($p>0.05$). İstatistiksel olarak atipik adenomatöz hiperplazi açısından, bu 2 grup arasında anlamlı fark olmaması nedeniyle benzer yorumu atipik adenomatöz hiperplazi için yapmamız mümkün değildir.

Literatürde preinvazif lezyonlarda p63 ekspresyonu ile ilgili çalışma sayısı oldukça azdır. Pierre ve ark.yaptığı çalışmada, 43 preinvazif skuamöz lezyonu insitu hibridizasyon (FISH) yöntemi ile incelediklerinde; şiddetli displazi ve karsinoma insituyu içeren yüksek dereceli lezyonlarda, artmış p63 gen kopya sayısı saptadıklarını ve bu amplifikasyonun p63 immün boyanması ile korele bulduklarını bildirmişlerdir (76). Pelosi ve ark. 221 evre I küçük hücre dışı karsinom ve 57 evre I-IV nöroendokrin karsinomu içeren çalışmalarında, hiperplastik, metaplastik ve displastik bronş epitelinde p63 boyanmasını incelediklerinde; bazal hücre hiperplazisi, skuamöz metaplazi, hafif, orta ve şiddetli displazide artan oranda (sırasıyla %44.9±2.8, %62.3±6.2, %52.6±14.5, %65.7±9.7 ve %76.3±4.1) p63 pozitifliği saptamışlardır (6) (Şekil 23). Her iki çalışmada, preinvaziften invazif lezyona geçişte p63 ekspresyonu belirgin bir artış göstermiştir. Bir başka çalışmada ise 30 skuamöz hücreli karsinom olgusuna eşlik eden, sayısı belirtilmemiş skuamöz karsinoma insitu alanında, tam kat p63 boyanması saptadıklarını belirtmişlerdir (74).

Bu çalışmada, 12 skuamöz karsinoma insitu lezyonunun tamamında (%100) p63 şiddetli pozitif olarak saptanmıştır. Çalışmada yer alan 6 atipik adenomatöz hiperplazi alanı değerlendirildiğinde ise, sadece 1 olguda (%16.7) hafif şiddette boyanma saptanırken, 5 olguda (%83.3) boyanma izlenmemiştir. Bu bulgu literatürde yer alan Hina ve ark.yaptıkları çalışma ile uyumludur. Hina ve ark. çalışmalarında 5

atipik adenomatöz hiperplazi alanından 2'sinde p63 pozitifliği saptadıklarını belirtmişlerdir (78).

Normal nöroendokrin hücrelerde, nöroepitelyal cisimciklerde ve nöroendokrin tümörletlerde p63 (-)'liği bu hücrelerin p63'ten bağımsız (p63-, SK+) kök hücrelerden geliştiğini veya erken dönemde p63 ekspresyonunu kaybettiklerini gösterir. Pelosi ve ark. yaptıkları çalışmada, yüksek dereceli nöroendokrin karsinomda (%45), özellikle de büyük hücreli nöroendokrin karsinomda p63 pozitifliği saptanması nedeniyle, bu tümörlerin en azından bir kısmının diğer küçük hücre dışı akciğer karsinomundaki ile benzer kök hücreden geliştikleri sonucuna varmıştır (6). Bu çalışmada 3 büyük hücreli nöroendokrin karsinomdan hiçbirinde p63 pozitifliği saptanmaması benzer şekilde, büyük hücreli nöroendokrin karsinomların bile tümünün aynı gelişim yolunu izlemediklerini düşündürür.



Şekil - 23: a:Skumöz metaplazi, H&EX100, b:Skumöz metaplazi, p63X100, c:Displazi H&EX100, d:Displazi p63X100, e:Skumöz karsinoma insitu H&EX100, f:Skumöz karsinoma insitu p63X100

Bir başka çalışmada yer alan 57 nöroendokrin karsinom olgusunda %17.5 olarak saptanan p63 pozitifliği, sırasıyla alt tipler için şu şekilde bildirilmiştir; 7/10 büyük hücreli nöroendokrin karsinom, 2/10 küçük hücreli karsinom, 1/28 karsinoid tümör ve 0/9 atipik karsinoid tümör (6). Au ve ark. 2 ayrı laboratuvarında aynı konsantrasyonda p63 kullanarak yaptıkları, 408 olgudan oluşan çalışmada, skumöz hücreli karsinom dışındaki karsinom tiplerinde farklı sonuçlar elde etmiştir. Bir laboratuvarında; büyük hücreli karsinom olgularında %37, karsinoid tümörde %1.9, atipik karsinoidde %30.8, büyük hücreli nöroendokrin karsinomda %50, küçük hücreli karsinomda %76.9 pozitiflik bulunmuştur. Bu bulgular nöroendokrin karsinomda diferansiyasyon azalması ile artan bir p63 ekspresyonu olduğunu gösterir. Aynı olgular ikinci bir laboratuvarında p63 ile boyandığında, büyük hücreli karsinomda %23.6, karsinoid tümörde %1.7, atipik karsinoidde %14.8, büyük hücreli nöroendokrin karsinomda %0, küçük hücreli karsinomda %30.8 pozitiflik bulunmuştur (8). Aynı seride uygulanan, aynı konsantrasyonda p63 kullanımına rağmen oluşan bu değişikliğin, teknik farklılıklar ve diğer kimyasalların farklılığından kaynaklandığını, nöroendokrin karsinomda p63 pozitifliğinin güvenli bir belirleyici olmadığını vurgulamışlardır.

Nöroendokrin karsinomda değişik pozitiflik bildiren bu çalışmalar yanı sıra, boyanma saptanmayan çalışmalarda bilinmektedir. Zhang ve ark. çalışmalarında 28 küçük hücreli nöroendokrin karsinom olgusunun hiçbirinde boyanma saptamadıklarını rapor etmişlerdir (7). Kargı ve ark.nın yine aynı sayıda küçük hücreli karsinom olgusunda p63 negatifliğini bildiren çalışmaları bulunmaktadır (77). Wang ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada yer alan 9 küçük hücreli karsinom ve 5 karsinoid tümörde de boyanma yoktur (74).

Bu çalışmada yer alan 9 nöroendokrin karsinom olgusundan 5'i tipik karsinoid tümör, 3'ü büyük hücreli nöroendokrin karsinom, 1'i atipik karsinoid tümördür.

Bunlardan hiçbirinde p63 ile boyanma saptanmamıştır. RT-PCR ile p63 için mRNA analizi yapılan karsinoid tümör olgusunda delta-N p63 ve TA p63 ile negatif sonuç alınmıştır. Bu olgunun normal akciğerinden çalışılan örneklerde ise diğer tümör tipleri ile benzer olarak TA p63 ile negatiflik, delta-N p63 ile pozitiflik saptanmıştır. Bu bulgular, ayırıcı tanı problemi yaşanan az differansiye skuamöz hücreli karsinom ile büyük hücreli nöroendokrin karsinom arasında kalınan olgularda, nöroendokrin karsinomu desteklemek için p63 negatifliğinin kullanılabileceğini gösterir.

Literatürde yer alan 5 adenoskuamöz karsinom olgusunun değerlendirildiği bir çalışmada, olguların hepsinde p63 pozitifliği saptanmıştır. Bu olguların skuamöz alanlarında pozitiflik çoğunda %50'den fazla olmak üzere %5-90 arasında değişir. Adenokarsinom alanlarında ise %0-20 arasında değişen bir pozitiflik bulunur (78). Bir başka çalışmada, yine 5 adenoskuamöz karsinom olgusunda %100 p63 pozitifliği saptadıklarını bildirirken, bu pozitifliğin adenokarsinom alanları ve skuamöz alanlardaki dağılımı hakkında bilgi vermemişlerdir (74). Bu çalışmada yer alan tek adenoskuamöz karsinom olgusunda, skuamöz alanlarda orta düzeyde bir boyanma izlenirken, adenokarsinom alanlarında boyanma görülmemiştir.

Tüm akciğer kanserleri birlikte değerlendirildiğinde, evre I ve II hastalıkta erkek cinsiyet, ileri yaş, evre III'te ise, genel durumun kötüleşmesi, yükselmiş serum laktat dehidrogenaz (LDH) düzeyi kötü prognoz ile ilişkilendirilmiştir (61). Bu çalışmada kliniko-patolojik parametrelerden yaş, cinsiyet, tümör lokalizasyonu, endobronşiyal lezyon varlığı, plevral invazyon, anjiyolenfatik invazyon, sinir invazyonu, tümöre karşı oluşan stromal cevabın niteliği ve evre ile sağkalım arasında anlamlı ilişki saptanmamıştır. Ancak tümör çapı ve sağkalım ilişkisine bakıldığında, tümör çapı 3 cm ve altında olan olgularda sağkalım %95.65 iken, 3 cm'nin üstünde çapa sahip olan tümörlerde bu oran %73.53'e düşmektedir. Başka bir parametre olarak, evreleme için kullanılan TNM klasifikasyonu içinde yer alan; tümörün çapı ve tümörün hem akciğer içindeki durumu, hem de mediastendeki diğer organlar ile ilişkisini değerlendiren T'ler ayrı değerlendirildiğinde; T1 için %92.86, T2 için %87.88 olan sağkalım oranları, T3 ve T4 için %50'ye düşmektedir (p=0.0.2). Ancak 'cox regresyon analizi' ile değerlendirildiğinde, tümör büyüklüğü ve T parametresi bağımsız prognostik faktör olarak saptanmamıştır.

Literatürde tümörün TNM evresinin prognoz üzerine etkisini vurgulayan çalışmalar bulunmasına rağmen metastazın prognoz üzerine bağımsız etkisi olduğunu bildiren çalışma bulunmamaktadır (80,81). Ancak bu çalışmada metastaz, bağımsız prognostik faktör olarak kötü prognozla ilişkili saptanmıştır.

Histolojik tiplendirme, akciğer karsinomlarının prognozunu belirlemede önemli yeri olan bir parametredir. Skuamöz hücreli karsinomun adenokarsinoma kıyasla daha iyi bir prognoza sahip olduğu bilinmekle birlikte, farklı çalışmalarda değişik evrelerde prognozun histolojik tipler için değişiklik gösterebileceği belirtilmiştir. Literatürde, evre I hastalıkta prognozun, skuamöz hücreli karsinomda daha iyi olduğunu belirten çalışmalar yanısıra, adenokarsinomda daha iyi olduğu sonucunu elde eden çalışmalar da bulunmaktadır (82-86). Evre II hastalıkta ise sağkalım ve histolojik tip arasında bir ilişki olmadığını belirten çalışmalar yanısıra skuamöz hücreli karsinomlarda daha iyi bir prognoz olduğunu vurgulayan çalışmalar da mevcuttur (86-89). Evre I hastalıkta skuamöz hücreli karsinomda 5 yıllık sağkalım %80 iken, adenokarsinomda %70'tir.

Büyük hücreli karsinomda prognoz alt tiplerde değişiklik gösterir. Büyük hücreli nöroendokrin karsinomun prognozu küçük hücreli karsinomun prognozuna benzerdir (1). 5 yıllık sağkalım tipik karsinoidler için %90-98 oranındadır (1).

Bu çalışmada sağkalım skuamöz hücreli karsinomlarda %90.91, adenokarsinomlarda %77.78 olarak saptanmıştır. Bu oran karsinoid tümörlerde %100, büyük hücreli karsinomlarda ise %75'tir. Diğer tümör tiplerinde sayı azlığı nedeniyle değerlendirme yapılmamıştır. Evreler gözönünde bulundurularak bir değerlendirme yapıldığında, evre I olgularda skuamöz hücreli karsinomda %92.31 olan sağkalım, adenokarsinomda %100 olarak bulunmuştur. Evre II'de ise bu oranlar sırasıyla %100 ve %60 olarak saptanmıştır. Literatürde de belirtildiği gibi, görüntüleme yöntemlerindeki gelişmeler nedeniyle çok küçük tümör odaklarını saptayabilme imkanı, evre I hastalıkta adenokarsinomun daha iyi bir prognoza sahip olmasını açıklayabilir (86). Bu çalışmada elde edilen sonuçlar takip sürelerinin kısalığı nedeniyle prognoz için güvenilir değildir. Histolojik tipin prognoz üzerine

etkisini saptamak için daha uzun takibe sahip olgularda yapılan çalışmalara ihtiyaç vardır.

Pierre ve ark. çalışmalarında, FISH yöntemi ile saptadıkları p63 gen amplifikasyonu olan hastalarda daha uzun bir sağkalım olduğu, immünohistokimyasal olarak p63 güçlü boyanması olan tümöre sahip hastalarda ise daha düşük bir ölüm riski olduğunu bulmuştur (76). Pelosi ve ark. ve Au ve ark. yaptıkları çalışmalarda ise, p63'ün, küçük hücre dışı akciğer karsinomlarının prognozu üzerine etkisi olmadığını saptamıştır (6,8). Benzer şekilde, Iwata ve ark. 161 skuamöz hücreli karsinom üzerinde yaptıkları çalışmada, delta-N p63'ün prognoz üzerinde etkisi olmadığı sonucuna varmıştır (90). Bu çalışmada bağımsız prognostik faktör olarak tümörde p63 varlığı, $p=0.051$ ile istatistiksel olarak anlamlı değere yakındır. Daha fazla olguda yapılacak bir çalışmada istatistiksel anlamlılık saptanabileceğinden benzer çalışma daha büyük bir seride daha güvenilir sonuçlar verecektir.

Çapı 3 cm'den küçük adenokarsinomlar kullanılan bir çalışmada, p63'ün nükleer boyanmasının prognoz üzerine etkisinin olmadığı, ancak sitoplazmik boyanmasının prognoz üzerine olumsuz etkisinin olduğu bildirilmiştir (79). Au ve ark. yaptıkları bir başka çalışmada, 284 küçük hücre dışı akciğer karsinomu olgusunda 18 ayı belirleyicinin prognoz üzerine etkisini değerlendirdiklerinde; sadece p53 ve p63'ün skuamöz hücreli karsinomlarda prognoz ile ilişkili olduğu ve pozitif boyanan olguların daha iyi bir prognoza sahip olduğu sonucunu elde etmiştir (62).

SONUÇ

Bu çalışmada amacımız özellikle küçük biyopsi materyallerinde tanı zorluğu oluşturan az differansiye adenokarsinom, az differansiye skuamöz hücreli karsinom, büyük hücreli karsinom ve küçük hücreli karsinomun ayırıcı tanısına katkı oluşturmaktır. Mevcut çalışmada literatür ile uyumlu olarak az differansiye skuamöz hücreli karsinomun az differansiye adenokarsinomdan daha fazla endobronşiyal lezyon oluşturduğunu, karsinoma insitu alanlarının skuamöz hücreli karsinoma daha sık eşlik edebileceğini saptadık. Bu bulgular, bronkoskopide endobronşiyal lezyon tanımlanan, yüzey epiteli içeren küçük biyopsi materyallerinde karsinoma insitu varlığında, bizi skuamöz hücreli karsinoma tanısına yaklaştırır.

Skuamöz karsinoma insituların tümünde saptadığımız kuvvetli p63 pozitifliği, atipik adenomatöz hiperplazilerde bariz izlenen negatiflik, bu iki tümörün kökeninin farklı yollar izlediği yolunda işaretler vermektedir. Bu konuda daha büyük serilerde yapılan genetik çalışmalara ihtiyaç vardır.

İmmünohistokimyasal olarak p63 boyanmasının az differansiye skuamöz hücreli karsinomda yaygın ve kuvvetli pozitiflik göstermesi, skuamöz hücreli karsinomu adenokarsinomdan ayırmada, yine skuamöz hücreli karsinomu büyük hücreli nöroendokrin karsinomdan ayırmada p63'ün kullanışlı bir belirleyici olduğunu düşündürdü. Ayrıca RT-PCR sonuçları, kuvvetli boyanmayan az diferansiye adenokarsinom ve büyük hücreli nöroendokrin karsinomlarda immünohistokimyasal incelemeye rağmen tanı zorluğu olduğu noktada, genetik olarak p63'ün mRNA düzeyinde saptanmasından faydalanabileceğimizi gösterdi. Ancak RT-PCR yapılan olgu sayımızın azlığı bu konuda daha geniş serilerde çalışılarak daha güvenli sonuçlara ulaşılabileceğini düşündürdü.

İmmünohistokimyasal olarak tümörde p63 ekspresyonu ile prognoz arasındaki ilişki değerlendirildiğinde, net bir ilişki saptanmamıştır. Ancak elde edilen anlamlı değere oldukça yakın olan $p=0.051$ değeri, büyük serilerle yapılan çalışmalarla desteklenirse akciğer kanserinin prognozunu değerlendirmede kullanılabileceğini düşündürür.

ÖZET

P63 EKSPRESYONUNUN AKCİĞER KANSERİ PROGNOZUNA ETKİSİ VE AKCİĞER KANSERİ ALT TİP AYIRICI TANISINDAKİ OLASI YARARLILIĞI

DR. AYŞEGÜL AKSOY ALTINBOĞA

Bu çalışmada, immunohistokimyasal p63 ekspresyonunun akciğer kanserinde ayırıcı tanıya katkısı, p63 ekspresyonunun ve çeşitli klinikopatolojik değişkenlerin prognoz üzerine etkisi araştırıldı. Seçilmiş sayıda olguda RT-PCR yöntemi ile mRNA analizi yapılarak, mRNA analizinin ayırıcı tanıya ve akciğer tümörlerinin histogenezine katkısı belirlendi.

İmmünohistokimyasal olarak p63 ekspresyonu 62 olguda değerlendirildi. Seçilmiş 6 olguda RT-PCR yöntemi ile mRNA analizi yapıldı. 57 olgunun klinik izlem verilerine ulaşıldı. Hastaların takip süreleri 1-42 ay arasında değişmekteydi.

P63 indeksi ile değerlendirildiğinde 25 skuamöz hücreli karsinom olgusunun 24'ünde (%96) şiddetli boyanma görüldü. 20 adenokarsinom olgusundan pozitif boyanan 6 olguda ve 1 büyük hücreli karsinomda (nöroendokrin karsinomlar hariç), hafif şiddette boyanma saptandı. İstatistiksel olarak P63 boyanması gruplar arasında skuamöz hücreli karsinom lehine anlamlı bulundu ($p<0.001$).

Skuamöz hücreli karsinomların % 40'ında skuamöz karsinoma insitu saptanırken, adenokarsinomların hiçbirinde saptanmadı. İstatistiksel olarak skuamöz karsinoma insitu açısından, skuamöz hücreli karsinom ve adenokarsinom arasında belirgin anlamlı fark mevcuttu ($p=0.002$). 12 skuamöz karsinoma insitu lezyonunun tamamında p63 boyanması şiddetli olarak gözlemlendi. 6 atipik adenomatöz hiperplazili olgunun %83.3'ünde boyanma görülmedi.

RT-PCR ile p63 için mRNA analizi yapılan 6 olguda DN p63'ün dağılımı skuamöz hücreli karsinom olgularının tamamında güçlü pozitif, mukoepidermoid karsinom olgusunda güçlü pozitif, adenokarsinom olgusunda zayıf pozitif, karsinoid tümör olgusunda negatifti. TA p63 ise normal akciğer parankiminde güçlü pozitifken, bir skuamöz hücreli karsinom olgusu haricinde tümörde negatif saptandı.

Bu çalışmada kliniko-patolojik parametrelerden tümör çapı dışındakiler ile sağkalım arasında anlamlı ilişki saptanmadı. Ancak 3 cm üzerinde tümörü olan olgularda daha kötü bir prognoz olduğu saptandı ($p=0.02$). P63 boyanma indeksi ve kliniko-patolojik parametreler arasında ilişki saptanmadı ($p >0.05$).

Skuamöz karsinoma insituların tümünde saptadığımız kuvvetli p63 pozitifliği, atipik adenomatöz hiperplazilerdeki belirgin negatiflik, bu iki tümörün kökeninin farklı yollar izlediği yolunda işaretler vermektedir. Bu konuda daha büyük serilerde yapılan genetik çalışmalara ihtiyaç vardır.

İmmünohistokimyasal olarak p63 boyanmasının az differansiye skuamöz hücreli karsinomda yaygın ve kuvvetli pozitiflik göstermesi, skuamöz hücreli karsinomu adenokarsinomdan ayırmada, yine skuamöz hücreli karsinomu büyük hücreli nöroendokrin karsinomdan ayırmada kullanışlı bir belirleyici olduğunu düşündürmüştür. Ayrıca RT-PCR sonuçlarımız, kuvvetli boyanmayan az differansiye adenokarsinom ve hiç boyanma izlemediğimiz büyük hücreli nöroendokrin karsinomlarda immünohistokimyasal incelemeye rağmen tanı zorluğu olduğu noktada, genetik olarak p63'ün mRNA düzeyinde saptanmasından faydalanabileceğimizi göstermiştir.

SUMMARY
DIAGNOSTIC UTILITY OF P63 EXPRESSION IN DIFFERENTIAL
DIAGNOSIS OF LUNG CARCINOMA AND ITS EFFECT IN
PROGNOSIS

DR. AYŞEGÜL AKSOY ALTINBOĞA

The aim of this study was to investigate whether there was a correlation between p63 expression, differential diagnosis of lung carcinoma and prognosis. Additionally, putative effects of clinicopathological variables on prognosis was also examined. mRNA analyses was done simultaneously by RT-PCR method in the selected cases. Overall data was evaluated whether it has any effect on differential diagnosis of lung carcinoma and clarifying in histogenesis of lung tumors.

Expression of p63 in 62 lung carcinomas were investigated immunohistochemically. mRNA analysis using RT-PCR method was done in selected 6 cases. Fiftyseven cases were followed up until time of death or median survival time of 16.72 ± 10.6 months, ranging from 1 to 42 months.

When cases were evaluated for p63 staining, 24 of 25 (%96) squamous cell carcinomas were strongly positive. Six of twenty adenocarcinomas and one (%100) large cell carcinoma (except neuroendocrine carcinoma) were mild positive. p63 staining was statistically significant for favoring squamous cell carcinoma than other tumors ($p < 0.001$).

Fourty percent of squamous cell carcinomas had squamous carcinoma insitu, where as adenocarcinomas had none. There was a significant statistical difference between squamous cell carcinoma and adenocarcinoma ($p = 0.002$). p63 was strongly positive in all of 12 squamous carcinoma insitu cases. But in %83.3 of atypical adenomatous hyperplasia, p63 was negative.

Six cases, in which mRNA analysis was performed by RT-PCR method, DNp63 was strong positive in three (3/3) squamous cell carcinoma, mild positive in one (1/1) adenocarcinoma, negative in carcinoid tumor. TAp63 was strong positive in nontumoral lung, but was negative in all tumors, except one squamous cell carcinoma.

In this study, there was no correlation between clinicopathological variables and overall survival, except tumor diameter. Tumors that are more than 3 cm in diameter had worse prognosis than others ($p=0.02$). There was no correlation between clinicopathological variables and p63 staining.

Significant positive staining in all squamous carcinoma insitu and negative staining in atypical adenomatous hyperplasia reveal clues that these two tumors had different pathways in tumorigenesis.

Our data suggested that when poorly differentiated squamous cell carcinoma had strong and widespread staining for p63 immunohistochemically, p63 can be a useful marker in differentiating squamous cell carcinoma from adenocarcinoma and squamous cell carcinoma from large cell neuroendocrine carcinoma. Our RT-PCR results also reveal that, along with immunohistochemical staining, when diagnosis is difficult in poorly differentiated adenocarcinoma and large cell neuroendocrine carcinoma, evaluating mRNA of p63 can be useful.

KAYNAKLAR

1. Travis WD, Brambilla E, Hermelink HKM, Haris CC. Pathology and Genetics of Tumors of the Lung, Plevra, Thymus and Heart, IARC Press, Lyon, 2004.
2. Roggli VL, Vollmer RT, Greenberg SD, McGavran MH, Spjut HJ, Yesner R. Lung cancer heterogeneity: a blinded and randomized study of 100 consecutive cases. *Human Pathology*. 1985; 16(6): 569-579.
3. Burnett RA, Swanson Beck J, Howatson SR, Lee FD, Lessells AM, McLaren KM, Ogs ton S, et al. Observer variability in histopathological reporting of malignant bronchial biopsy specimens. *Journal of Clinical Pathology*. 1994; 47(7): 711-713.
4. Camilo R, Capelozzi VL, Siqueira SA, Del Carlo Bernardi F. Expression of p63, keratin 5/6, keratin 7, and surfactant-A in non-small cell lung carcinomas. *Human Pathology*. 2006; 37(5): 542-546.
5. Natalie AL, Aart GJ. Molecules in focus p63. *The International Journal of Biochemistry and Cell Biology*. 2002; 34: 6-9.
6. Pelosi G, Pasini F, Olsen Stenholm C, Pastorino U, Maisonneuve P, Sonzogni A, Maffini F, et al. p63 immunoreactivity in lung cancer: yet another player in the development of squamous cell carcinomas? *The Journal of Pathology*. 2002; 198(1): 100-109.
7. Zhang H, Liu J, Cagle PT, Allen TC, Laga AC, Zander DS. Distinction of pulmonary small cell carcinoma from poorly differentiated squamous cell carcinoma: an immunohistochemical approach. *Modern Pathology*. 2005; 18(1): 111-118.
8. Au NH, Gown AM, Cheang M, Huntsman D, Yorida E, Elliott WM, Flint J, et al. P63 expression in lung carcinoma: a tissue microarray study of 408 cases.

- Applied Immunohistochemistry and Molecular Morphology. 2004; 12(3): 240-247.
9. Sadler T.W. Langman's Medikal Embriyoloji, 6.baskı. Palme Yayıncılık: 216-222. 1989.
 10. Warburton D, Schwarz M, Tefft D, Flores-Delgado G, Anderson KD, Cardoso WV. The molecular basis of lung morphogenesis. Mechanisms of Development. 2000; 15; 92(1): 55-81.
 11. Stocker JT, Dehner LP. Pediatric Pathology, 2nd edition. Lippincott JV: 505-510, 1992.
 12. Kumar V, Abbas AK, Fausto N. Robbins and Cotran, Pathologic Basis of Disease, 7th edition. Philadelphia: E Saunders, 711-773: 2005.
 13. Koss LG, Melamed MR. Koss' Diagnostic Cytology and its Histopathologic Bases, 5th edition. Philadelphia: Lippincott Williams&Wilkins: 646-670, 2006.
 14. Di Fiore MSH. Histoloji Atlası, 5. baskı. Güven Yayınevi: 182-185, 1981.
 15. Olak J, Colson Y. Gender differences in lung cancer: have we really come a long way, baby? The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery. 2004; 128(3): 346-351.
 16. Huber RM, Stratakis DF. Molecular oncology--perspectives in lung cancer. Lung Cancer. 2004; 45 Suppl 2: 209-213.
 17. Parkin DM, Bray F, Ferlay J, Pisani P. Global cancer statistics, 2002. CA: A Cancer Journal for Clinicians. 2005; 55(2): 74-108.
 18. Özacar R, Böncü M, Yıldırım Y, Halilçolar H. Koah'lı olgularda akciğer kanseri. Akciğer Arşivi. 2002; 4: 177-181

19. Arınç S, Özvaran MK, Güngör N, Çelik O, Soğukpınar Ö, Çolak F, Baran R. Hastanemizde tanı alan akciğer kanserli olguların epidemiyolojik ve histolojik özellikleri. *Akciğer Arşivi*. 2005; 6: 149-152.
20. Hayretbağ HA, Akkoçlu A. Akciğer kanseri epidemiyolojisi. *Türkiye Klinikleri Cerrahi Tıp Bilimleri* 2006; 2(12): 58-65.
21. Moran CA. Pulmonary adenocarcinoma: the expanding spectrum of histologic variants. *Archives Pathology and Laboratory Medicine*. 2006; 130(7): 958-962.
22. Sulu E, Damadoğlu E, Nergiz S, Ertuğrul M, Saltürk C, Öğütçü-Karabay E, Yılmaz A. Primer akciğer kanserinde tümör tipi ve cinsiyet dağılımı değişiyormu? 2004 yılı sonuçlarının daha önceki yıllar ile karşılaştırılması. *Tüberküloz ve Toraks Dergisi*. 2007; 55(1): 59-63.
23. Yılmaz A, Özvaran K, Unutmaz S, Bayramgürler B, Akaya E, Yazıcıoğlu Ö, Düzgün S. Akciğer kanserli olgularda tümör tipi ve bazı epidemiyolojik özellikler değişiyor mu? (1992-1998). *Toraks Dergisi* 2001; 2: 6-8.
24. Bozkurt B, Selçuk ZT, Fırat P, Kalyoncu AF, Artvinli M. 1972-2002 döneminde Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesinde akciğer kanseri tanısı konulan hastaların histolojik ve epidemiyolojik değerlendirilmesi. *Toraks Dergisi*. 2004; 5(3): 148-153
25. Parkin DM, Pisani P, Lopez AD, Masuyer E. At least one in seven cases of cancer is caused by smoking. Global estimates for 1985. *International Journal of Cancer*. 1994; 59(4): 494-504.
26. Kopper L, Tímár J. Genomics of lung cancer may change diagnosis, prognosis and therapy. *Pathology Oncology Research*. 2005; 11(1): 5-10.

27. Tyczynski JE, Bray F, Aareleid T, Dalmas M, Kurtinaitis J, Plesko I, Pompe-Kirn V, et al. Lung cancer mortality patterns in selected Central, Eastern and Southern European countries. *International Journal of Cancer*. 2004; 109(4): 598-610.
28. Kogan EA, Cherniaev AL, Chuchalin AG, Samsonova MV, Demura SA, Sekamova SM, Zholt S, et al. Morphologic and molecular-genetic characterization of lung cancer developing in people who have worked at nuclear facilities and who have lived in Russian territories polluted after the accident at the Chernobyl power plant. *Arkiv Patologii*. 1999; 61(1): 22-26.
29. Salgia R, Skarin AT. Molecular abnormalities in lung cancer. *Journal of Clinical Oncology*. 1998; 16(3): 1207-1217.
30. Hirsch FR, Scagliotti GV, Langer CJ, Varella-Garcia M, Franklin WA. Epidermal growth factor family of receptors in preneoplasia and lung cancer: perspectives for targeted therapies. *Lung Cancer*. 2003; 41 Suppl 1: 29-42.
31. Scagliotti GV, Selvaggi G, Novello S, Hirsch FR. The biology of epidermal growth factor receptor in lung cancer. *Clinical Cancer Research*. 2004; 10(12 Pt 2): 4227s-4232s.
32. Kerr KM. Pulmonary preinvasive neoplasia. *Journal of Clinical Pathology*. 2001; 54(4): 257-271.
33. Brambilla E, Travis WD, Colby TV, Corrin B, Shimosato Y. The new World Health Organization classification of lung tumours. *The European Respiratory Journal*. 2001; 18(6): 1059-1068.
34. Mills SE. Sternberg's Diagnostic Surgical Pathology, 4th edition. Philadelphia: Lippincott Williams&Wilkins,; 1173-1217, 2004.

35. Silverberg SG, DeLellis RA, Frable WJ, LiVolsi VA, Wick MR. Silverberg's Principles and Practice of Surgical Pathology and Cytopathology, 4th edition. Elsevier: 941-942, 2006.
36. Dulmet-Brender E, Jaubert F, Huchon G: Exophytic endobronchial epidermoid carcinoma. *Cancer*. 1986; 57(7):1358-1364
37. Cooper L, Hagenschneider JK, Banky S, Rosado-de-Christenson ML, Suster S: Papillary endobronchial squamous cell carcinoma. *Annals Diagnostic Pathology*. 2005; 9(5): 284-288.
38. Foroulis CN, Iliadis KH, Mauroudis PM, Kosmidis PA: Basaloid carcinoma, a rare primary lung neoplasm: report of a case and review of the literature. *Lung Cancer*. 2002; 35(3): 335-338.
39. Jerome Marson V, Mazieres J, Groussard O, Garcia O, Berjaud J, Dahan M, Carles P, et al. Expression of TTF-1 and cytokeratins in primary and secondary epithelial lung tumours: correlation with histological type and grade. *Histopathology*. 2004; 45(2): 125-134.
40. Ordóñez NG. The diagnostic utility of immunohistochemistry in distinguishing between epithelioid mesotheliomas and squamous carcinomas of the lung: a comparative study. *Modern Pathology*. 2006; 19(3): 417-428.
41. Zhang H, Liu J, Cagle PT, Allen TC, Laga AC, Zander DS. Distinction of pulmonary small cell carcinoma from poorly differentiated squamous cell carcinoma: an immunohistochemical approach. *Modern Pathology*. 2005; 18(1): 111-118.
42. Pankiewicz W, Minarowski L, Niklińska W, Naumnik W, Nikliński J, Chyczewski L. Immunohistochemical markers of cancerogenesis in the lung. *Folia Histochemica et Cytobiologica*. 2007; 45(2): 65-74.

43. Junker K, Wiethège T, Müller KM. Pathology of small-cell lung cancer. *Journal of Cancer Research and Clinical Oncology*. 2000; 126(7): 361-368.
44. Nicholson SA, Beasley MB, Brambilla E, Hasleton PS, Colby TV, Sheppard MN, Falk R, et al. Small cell lung carcinoma (SCLC): a clinicopathologic study of 100 cases with surgical specimens. *American Journal of Surgical Pathology*. 2002; 26(9): 1184-1197.
45. Guinee DG Jr, Fishback NF, Koss MN, Abbondanzo SL, Travis WD. The spectrum of immunohistochemical staining of small-cell lung carcinoma in specimens from transbronchial and open-lung biopsies. *American Journal of Clinical Pathology*. 1994; 102(4): 406-414.
46. Folpe AL, Gown AM, Lamps LW, Garcia R, Dail DH, Zarbo RJ, Schmidt RA. Thyroid transcription factor-1: immunohistochemical evaluation in pulmonary neuroendocrine tumors. *Modern Pathology*. 1999; 12(1): 5-8.
47. Kaufmann O, Dietel M. Expression of thyroid transcription factor-1 in pulmonary and extrapulmonary small cell carcinomas and other neuroendocrine carcinomas of various primary sites. *Histopathology*. 2000; 36(5): 415-420.
48. Sturm N, Rossi G, Lantuéjoul S, Laverrière MH, Papotti M, Brichon PY, Brambilla C, Brambilla E. 34BetaE12 expression along the whole spectrum of neuroendocrine proliferations of the lung, from neuroendocrine cell hyperplasia to small cell carcinoma. *Histopathology*. 2003; 42(2): 156-166.
49. Silver SA, Askin FB. True papillary carcinoma of the lung: a distinct clinicopathologic entity. *American Journal of Surgical Pathology*. 1997; 21(1): 43-51.
50. Terasaki H, Niki T, Matsuno Y, Yamada T, Maeshima A, Asamura H, Hayabuchi N, et al. Lung adenocarcinoma with mixed bronchioloalveolar and

invasive components: clinicopathological features, subclassification by extent of invasive foci, and immunohistochemical characterization. *American Journal of Surgical Pathology*. 2003; 27(7): 937-951.

51. Merchant SH, Amin MB, Tamboli P, Ro J, Ordóñez NG, Ayala AG, Czerniak BA, et al. Primary signet-ring cell carcinoma of lung: immunohistochemical study and comparison with non-pulmonary signet-ring cell carcinomas. *American Journal of Surgical Pathology*. 2001; 25(12): 1515-1519.
52. Johansson L, Andersson C, Albin M. Immunohistochemical study of 158 lung carcinomas. *Acta Pathologica, Microbiologica, et Immunologica Scandinavica*. 1992; 100(10): 914-921.
53. Uzaslan E, Stuempel T, Ebsen M, Freudenberg N, Nakamura S, Costabel U, Guzman J. Surfactant protein A detection in primary pulmonary adenocarcinoma without bronchioloalveolar pattern. *Respiration*. 2005; 72(3): 249-253.
54. Brambilla E. Large cell carcinoma. *Breathe*. 2005.1(4); 311-319, (www.ersnet.org/ers/LR/browse/viewPDF).
55. Nakajima M, Kasai T, Hashimoto H, Iwata Y, Manabe H. Sarcomatoid carcinoma of the lung: a clinicopathologic study of 37 cases. *Cancer*. 1999; 86(4): 608-616.
56. Koss MN, Hochholzer L, Frommelt RA. Carcinosarcomas of the lung: a clinicopathologic study of 66 patients. *American Journal of Surgical Pathology*. 1999; 23(12): 1514-1526.
57. Cutler CS, Michel RP, Yassa M, Langleben A. Pulmonary blastoma: case report of a patient with a 7-year remission and review of chemotherapy experience in the world literature. *Cancer*. 1998; 82(3): 462-467.

58. Nunnelee JD. Superior vena cava syndrome. *Journal of Vascular Nursing*. 2007; 25(1): 2-5.
59. Kawahara M. Screening for lung cancer. *Current Opinion in Oncology*. 2004; 16 (2):141-145.
60. Ohira T, Suga Y, Nagatsuka Y, Usuda J, Tsuboi M, Hirano T, Ikeda N, et al. Early-stage lung cancer: diagnosis and treatment. *International Journal of Clinical Oncology*. 2006; 11(1): 9-12.
61. Friedel G, Steger V, Kyriss T, Zoller J, Toomes H. Prognosis in N2 NSCLC. *Lung Cancer*. 2004; 45 Suppl 2: S45-53.
62. Au NH, Cheang M, Huntsman DG, Yorlida E, Coldman A, Elliott WM, Bebb G, et al. Evaluation of immunohistochemical markers in non-small cell lung cancer by unsupervised hierarchical clustering analysis: a tissue microarray study of 284 cases and 18 markers. *Journal of Pathology*. 2004; 204(1): 101-109.
63. Jackman DM, Johnson BE. Small-cell lung cancer. *Lancet*. 2005; 366(9494): 1385-1396.
64. Mills AA. p63: oncogene or tumor suppressor? *Current Opinion in Genetics and Development*. 2006; 16(1): 38-44.
65. Moll UM, Slade N: p63 and p73. Roles in development and tumor formation. *Molecular Cancer Research*. 2004; 2(7): 371-386.
66. Barbieri CE, Pietenpol JA. p63 and epithelial biology. *Experimental Cell Research*. 2006; 312 (6): 695-706.
67. Daniely Y, Liao G, Dixon D, Linnoila RI, Lori A, Randell SH, Oren M, et al. Critical role of p63 in the development of a normal esophageal and

tracheobronchial epithelium. *American Journal of Physiology. Cell Physiology*. 2004; 287(1): 171-181.

68. Osada M, Ohba M, Kawahara C, Ishioka C, Kanamaru R, Katoh I, Ikawa Y, et al. Cloning and functional analysis of human p51, which structurally and functionally resembles p53. *Nature Medicine*. 1998; 4(7): 839 – 843.
69. Senoo M, Seki N, Ohira M, Sugano S, Watanabe M, Inuzuka S, Okamoto T, et al. A second p53-related protein, p73L, with high homology to p73. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 1998; 248(3): 603-607.
70. Trink B, Okami K, Wu L, Sriuranpong V, Jen J, Sidransky D. A new human p53 homologue. *Nature Medicine*. 1998; 4 (7) : 747 – 748.
71. Yang A, Kaghad M, Wang Y, Gillett E, Fleming MD, Dotsch V, Andrews NC, et al. p63, a p53 homolog at 3q27-29, encodes multiple products with transactivating, death-inducing, and dominant-negative activities. *Molecular Cell*. 1998; 2(3): 305–316.
72. Signoretti S, Waltregny D, Dilks J, Isaac B, Lin D, Garraway L, Yang A, et al. p63 is a prostate basal cell marker and is required for prostate development. *The American Journal of Pathology*. 2000; 157(6): 1769- 1775.
73. Dohn M, Zhang S, Chen X. p63a and DNp63a can induce cell cycle arrest and apoptosis and differentially regulate p53 target genes. *Oncogene*. 2001; 20(25): 3193-3205.
74. Wang BY, Gil J, Kaufman D, Gan L, Kohtz DS, Burnstein DE. p63 in pulmonary epithelium, pulmonary squamous neoplasms and other pulmonary tumors. *Human Pathology*. 2002; 33(9): 921-926.

75. Maruya SI, Kies MS, Williams M, Myers JN, Weber RS, Batsakis JG, El-Naggar AK. Differential expression of p63 isotypes (DN and TA) in salivary gland neoplasms: biological and diagnostic implications. *Human Pathology*. 2005; 36: 821– 827.
76. Pierre P. Massion, Peter M. Taflan, S. M. Jamshedur Rahman, Pinar Yildiz, Yu Shyr, Mary E. Edgerton, Matthew D. Westfall, et al. Significance of p63 Amplification and Overexpression in Lung Cancer Development and Prognosis. *Cancer Research*. 2003; 63:7113–7121.
77. Kargi A, Gurel D, Tuna B. The diagnostic value of TTF-1, CK 5/6, and p63 immunostaining in classification of lung carcinomas. *Applied Immunohistochemistry and Molecular Morphology*. 2007; 15(4): 415-420.
78. Sheikh HA, Fuhrer K, Cieply K, Yousem S. p63 expression in assessment of bronchioloalveolar proliferations of the lung. *Modern Pathology*. 2004; 17(9): 1134-1140.
79. Narahashi T, Niki T, Wang T, Goto A, Matsubara D, Funata N, Fukayama M. Cytoplasmic localization of p63 is associated with poor patient survival in lung adenocarcinoma. *Histopathology*. 2006; 49(4): 349-357.
80. Moro D, Nagy-Mignotte H, Bolla M, Colonna M, Brichon PY, Brambilla C, Schaefer R, et al. Evaluation of survival and prognostic factors of 2,000 broncho-pulmonary cancers registered during 10 years in a multidisciplinary oncology department. *Bulletin du Cancer*. 1997; 84(2): 155-161.
81. Zöchbauer S, Krajnik G, Huber H. Bronchial cancer--development, diagnosis, therapy, prognosis. *Wiener Klinische Wochenschrift*. 1994; 106(14): 431-447.
82. Nesbitt JC, Putnam JB Jr, Walsh GL, Roth JA, Mountain CF. Survival in early-stage non-small cell lung cancer. *The Annals of Thoracic Surgery*. 1995; 60(2): 466-472.

83. Gail MH, Eagan RT, Feld R, Ginsberg R, Goodell B, Hill L, Holmes EC, et al. Prognostic factors in patients with resected stage I non-small cell lung cancer. A report from the Lung Cancer Study Group. *Cancer*. 1984; 54(9): 1802-1813.
84. Naruke T, Tsuchiya R, Kondo H, Asamura H. Prognosis and survival after resection for bronchogenic carcinoma based on the 1997 TNM-staging classification: the Japanese experience. *The Annals of Thoracic Surgery*. 2001; 71(6): 1759-1764.
85. Suzuki K, Nagai K, Yoshida J, Moriyama E, Nishimura M, Takahashi K, Nishiwaki Y. Prognostic factors in clinical stage I non-small cell lung cancer. *The Annals of Thoracic Surgery*. 1999; 67(4): 927-932.
86. Okamoto T, Maruyama R, Suemitsu R, Aoki Y, Wataya H, Kojo M, Ichinose Y. Prognostic value of the histological subtype in completely resected non-small cell lung cancer. *Interactive Cardiovascular and Thoracic Surgery*. 2006; 5(4): 362-366.
87. Ichinose Y, Yano T, Asoh H, Yokoyama H, Yoshino I, Katsuda Y. Prognostic factors obtained by a pathologic examination in completely resected non-small-cell lung cancer. An analysis in each pathologic stage. *The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery*. 1995; 110(3): 601-605.
88. Khan OA, Fitzgerald JJ, Field ML, Soomro I, Beggs FD, Morgan WE, Duffy JP. Histological determinants of survival in completely resected T1-2N1M0 nonsmall cell cancer of the lung. *The Annals of Thoracic Surgery*. 2004; 77(4): 1173-1178.
89. Martini N, Burt ME, Bains MS, McCormack PM, Rusch VW, Ginsberg RJ. Survival after resection of stage II non-small cell lung cancer. *The Annals of Thoracic Surgery*. 1992; 54(3): 460-465.

90. Iwata T, Uramoto H, Sugio K, Fujino Y, Oyama T, Nakata S, Ono K, et al. A lack of prognostic significance regarding DeltaNp63 immunoreactivity in lung cancer. *Lung Cancer*. 2005; 50(1): 67-73.