

T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

**AKCİĞER KANSERLİ HASTALARDA
SERUM VE BRONKOALVEOLAR LAVAJ
SIVISINDA VASOHİBİN-1 DÜZEYLERİNİN
BELİRLENMESİ**

Alev LAZOĞLU ÖZKAYA

UZMANLIK TEZİ

DANIŞMAN
Prof. Dr. M. Sait KELEŞ

ERZURUM-2015

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	iv
ÖZET	v
ABSTRACT	vi
KISALTMALAR DİZİNİ	i
TABLolar DİZİNİ	iv
ŞEKİLLER DİZİNİ	v
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. Bronş ve Akciğerlerin Anatomisi ve Gelişimi	4
2.2. Akciğerlerin Histolojisi	5
2.3. Akciğer Kanseri	6
2.3.1. Epidemiyoloji	6
2.3.2. Etiyoloji	6
2.3.3. Histopatoloji	9
2.3.3.1. Squamöz Hücreli Karsinom	11
2.3.3.2. Adenokarsinom	12
2.3.3.3. Küçük Hücreli Karsinom (SCLC)	12
2.3.3.4. Büyük Hücreli Karsinom	12
2.3.4. Tümör Yayılımı	12
2.3.5. Akciğer Kanserinde Tanı	13
2.3.5.1. Semptom ve Bulgular	13
2.3.5.2. Fizik Muayene	15
2.3.5.3. Laboratuvar İncelemeleri	16
2.3.5.4. Radyolojik İnceleme	16
2.3.5.5. Girişimsel Tanı Yöntemleri	18
2.3.5.5.1. Balgam Sitolojisi	18
2.3.5.5.2. Bronkoskopi	18
2.3.5.5.3. Transtorasik İğne Aspirasyonu ve Biyopsi	19
2.3.5.5.4. Metastatik Lezyonların Tanısı	19
2.3.5.6. Akciğer Kanserinde Tarama Testleri	19
2.3.6. Klinik Evrelendirme	20

2.3.6.1. Hastalık Evresi	21
2.3.6.2. Sağkalım.....	25
2.3.7. Akciğer Kanserinde Tedavi.....	25
2.3.7.1. Küçük Hücreli Dışı Akciğer Kanserinde Tedavi Yaklaşımı.....	25
2.3.7.2. Küçük Hücreli Akciğer Kanserinde Tedavi Yaklaşımları	27
2.3.8. Akciğer Kanserinde Prognostik Faktörler.....	27
2.3.8.1. Hastaya Ait Klinik Faktörler	28
2.3.8.1.1. Yaş	28
2.3.8.1.2. Performans Durumu	28
2.3.8.1.3. Kilo Kaybı.....	29
2.3.8.1.4. Cinsiyet	29
2.3.8.2. Histopatoloji.....	29
2.3.8.3. Laboratuvar Bulguları	30
2.3.8.3.1. Tümör Belirteçleri.....	30
2.3.8.3.1.1. Onkofetal Antijenler.....	31
2.3.8.3.1.2. Sitokeratinler	32
2.3.8.3.1.3. Diğer Polipeptid Antijenler	33
2.3.8.3.1.4. Enzimler	34
2.3.8.3.1.5. Hormonlar	36
2.3.8.4. Genetik Faktörler	38
2.3.8.4.1. Kromozomal Anormallikler ve DNA İçeriği	38
2.3.8.4.2. Proliferatif Aktivite Belirteçleri	38
2.3.8.4.3. Protoonkogenler/Onkogenler	39
2.3.8.4.4. Tümör Baskılayıcı Genler	43
2.3.8.5. Tümör Evresi.....	44
2.3.8.6. Lenfatik ve Kan Damar İnvazyonu	45
2.3.8.6.1. Bazal Membran Yıkımı.....	45
2.3.8.6.2. Anjiogenez	46
2.3.8.6.2.1. Vasohibin-1	47
3. GEREÇ VE YÖNTEM	54
3.1. Kan Örnekleri	54
3.2. Bronkoalveolar Lavaj Örnekleri	55

3.3. Analitlerin Tayin Yöntemleri	55
3.4. İstatistiksel Değerlendirme	57
4. BULGULAR.....	58
5. TARTIŞMA	62
6. SONUÇ ve ÖNERİLER.....	76
7. KAYNAKLAR	78

TEŞEKKÜR

Hekimlik mesleğinin öğrenilmesinde ara kademelerden biri olan asistanlık eğitimimin sonuna gelmiş bulunuyorum. Mesleğimin ayrıntılarını öğrenmek ve hastalarımın zarar vermeden faydalı olmak için önümde aşmam gereken birçok engel olduğunun farkında olarak;

Uzmanlık eğitimim boyunca ilminden faydalandığım, insani ve ahlaki değerleri ile de örnek edindiğim ve tecrübelerinden yararlanırken göstermiş olduğu hoşgörü ve sabırdan dolayı değerli tez hocam sayın Prof. Dr. Mevlüt Sait KELEŞ'e ,

Uzmanlık eğitimim boyunca, bilgi ve tecrübelerinin yanında insanlık adına çok şey öğrendiğim, kıymetli zamanımı, hoşgörüsünü, desteğini ve sabrını esirgemeyen, her zaman yakın ilgi ve bilimsel desteklerini gördüğüm Biyokimya Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Ebubekir BAKAN'a, Prof. Dr. Nuri BAKAN'a, Prof. Dr. Hülya AKSOY'a, Prof. Dr. Ahmet KIZILTUNÇ'a, Prof. Dr. Fatih AKÇAY'a, Prof. Dr. Yaşar Nuri ŞAHİN'e, Prof. Dr. Zuhale UMUDUM'a, Prof. Dr. Abdulkadir YILDIRIM'a ve Yrd. Doç. Dr. Nurinnisa ÖZTÜRK'e ve hastaların toplanmasında yardımcı olan Doç. Dr. Elif YILMAZEL UÇAR'a,

Bu çalışmamın maddi yönden Bilimsel Araştırma Projesi ile destek sağlayan Atatürk Üniversitesi Rektörlüğü'ne,

İhtisasım süresince beraber çalıştığım, iyi günümde kötü günümde her zaman yanımda olan sevgili asistan ve personel arkadaşlarıma, çalışmamda yardımlarını esirgemeyen tüm laboratuvar teknisyenlerine,

Bugünlere gelmemde en büyük paya sahip canım annem ve babama, hayatımı bir kat daha değerli kılan sevgili eşim Gökhan ÖZKAYA'ya, dünyanın en güzel duygusu olan anneliği yaşamama vesile olan canım kızım Işıl'a teşekkür ederim.

Dr. Alev LAZOĞLU ÖZKAYA

ÖZET

Akciğer Kanserli Hastalarda Serum ve Bronkoalveolar Lavaj Sıvısında Vasohibin-1 Düzeylerinin Belirlenmesi

Akciğer kanseri tüm dünyada kanser olgularının %17'sinden, kanser ölümlerinin ise %23'ünden sorumludur. Vasohibin 1 (VASH1) anjiogeneziste ve yeni yapılan damarların olgun hale getirilmesinde önemli bir rol oynar. Bu çalışmanın amacı akciğer kanserinde VASH1'in serum ve bronkoalveolar lavaj (BAL) düzeylerinin tanısal değerini araştırmaktır. Çalışma kapsamına 43 akciğer kanserli, 39 benign akciğer hastalığı olan kişi alındı. Serum ve BAL VASH1 düzeyleri enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) yöntemi ile ölçüldü.

Akciğer kanseri grubunda, BAL VASH1 düzeyleri benign hastalığı olan kişilerinkinden anlamlı derecede düşüktü ($p=0,032$). Ancak serum VASH1 seviyeleri açısından her iki grup arasında anlamlı bir fark yoktu ($p=0,206$). Malign ve benign vakalarda serum VASH1-BAL VASH1 düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı, orta dereceli, pozitif yönlü bir ilişki vardı.

Akciğer kanserli hastalar patolojik 'stage' lerine ve histolojik tiplerine göre ayrıldığında, evreler ve histolojik tipler arasında serum ve BAL sıvısı VASH1 konsantrasyonları bakımından önemli bir farklılık yoktu.

Sigara içen ile içmeyen vakaların serum VASH1 ortalamaları arasında anlamlı fark yok iken, sigara içen ve içmeyen vakaların BAL VASH1 ortalamaları arasında ise istatistiksel olarak anlamlı bir fark vardı ($p=0,04$). Benign hastalıklar arasında serum ve BAL VASH1 ortalamaları açısından ayrı ayrı yapılan analizde benign hastalıklar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu.

Sonuç olarak, akciğer kanserinde BAL VASH1 konsantrasyonları azalmakta iken, serum VASH1 konsantrasyonları açısından fark bulunamamıştır. Ayrıca sigara içen kişiler içmeyenler ile karşılaştırıldığında BAL sıvısı VASH1 konsantrasyonları anlamlı bir fark ile azalmıştır. Bu nedenle akciğer kanseri olgularında VASH1 seviyeleri araştırılırken bu durum dikkate alınmalıdır.

Anahtar Kelimeler: Akciğer kanseri, vasohibin-1, serum, bronkoalveolar lavaj

ABSTRACT

Determination of Vasohibin-1 Levels in Serum and Bronchoalveolar Lavage Fluid in Patients with Lung Cancer

Lung cancer is responsible for 17% of cases of cancer worldwide and for 23% of cancer-related deaths. Vasohibin-1 (VASH1) plays an important role in angiogenesis and in the maturation of newly forming blood vessels. The purpose of this study was to investigate the diagnostic value of serum and bronchoalveolar lavage (BAL) VASH1 levels. Forty-three patients with lung cancer and 39 patients with benign lung cancer were enrolled. Serum and BAL VASH1 levels were measured using the enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) method.

BAL VASH1 levels were significantly lower in the lung cancer group compared to individuals with benign lung disease ($p=0.032$). However, there was no difference between the two groups in terms of serum VASH1 levels ($p=0.206$). There was a significant, moderate, positive correlation between serum VASH1 and BAL VASH1 levels in malign and benign cases.

When patients with lung cancer were classified on the basis of pathological 'stages' and histological types, there was no significant difference in terms of serum or BAL fluid VASH1 concentrations between stages and histological types.

While there was no significant difference between mean serum VASH1 values in smoking and non-smoking cases, a significant difference was determined between mean BAL VASH1 values in smoking and non-smoking cases ($p=0.04$). No significant difference was observed between benign patients in terms of mean serum and BAL VASH1 values at separate analyses.

In conclusion, BAL VASH1 concentrations decreased in lung cancer, while no difference was determined in terms of serum VASH1 concentrations. Comparison of smokers and non-smokers revealed a significant decrease in BAL fluid VASH1 concentrations. This should therefore be considered when investigating VASH1 levels in cases of lung cancer.

Key Words: Lung cancer, vasohibin-1, serum, bronchoalveolar lavage

KISALTMALAR DİZİNİ

ACTH	: Adrenocorticotropic Hormon
ADH	: Antidiüretik Hormon
Ad-LacZ	: Adenovirus-mediated Beta-Galaktozidaz Transferi
Ad-VASH1	: Adenovirus-mediated Vasohibin-1 Transferi
AJCC	: American Joint Committee on Cancer
ALK	: Anaplastic lymphoma kinase
ALT	: Alanin Amino Transferaz
APUD	: Amino Precursor Uptake and Dekarboxylation
AST	: Aspartat Amino Transferaz
BAL	: Bronkoalveolar Lavaj
Bcl-2	: B-Cell Lymphoma 2
Bil-T	: Total bilirubin
BRAF	: B-Raf Protooncogene
Ca	: Kalsiyum
CEA	: Karsino Embriyonik Antijen
CK	: Kreatin Kinaz
Cre	: Kreatin
BT	: Bilgisayarlı Tomografi
CYFRA 21-1	: Sitokeratin Fragman 21-1
DIC	: Dissemine İntravasküler Koagülopati
E2F	: Elongasyon 2 Faktör
ECOG	: Eastern Cooperative Oncology Group
EİA	: Enzyme İmmunoassay
EGFR	: Epidermal Büyüme Faktörü Reseptörü
ELISA	: Enzyme Linked Immunosorbent Assay
EML-4	: Echinoderm Microtubule-Associated Protein Like-4
ER	: Endoplazmik Retikulum
EZH2	: Zeste Homologue 2
FGF	: Fibroblast Büyüme Faktörü
GFR	: Glomerular Filtration Rate

GGT	: Gama Glutamil Transferaz
GRP	: Gastrin-Releasing Peptid
HER-2	: Human Epidermal Growth Factor Receptor-2
HIF-1 α	: Hypoxia-İnducible Factor 1 α
HUVEC	: İnsan Umbilical Ven Endotelyal Hücre
H22	: Hepatocellular Carcinoma Cell Line
IASLC	: International Association for the Study of Lung Cancer
IDC	: İnvaziv Duktal Karsinoma
IFN- γ	: İnterferon-Gama
IGF	: İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü
IL	: İnterleukin
IMA	: İmmunometric Assay
K	: Potasyum
KO	: Knockout
KOAH	: Kronik Obstruktif Akciğer Hastalığı
KT	: Kemoterapi
LDH	: Laktat Dehidrojenaz
LLC	: Lewis Lung Carcinoma
LVD	: Lymphatic Vessel Density
MAPK	: Mitogen-Activated Protein Kinase
MRG	: Manyetik Rezonans Görüntüleme
MVD	: Micro Vessel Density
Na	: Sodyum
NSCLC	: Non-small Cell Lung Cancer
NSE	: Nöron Spesifik Enolaz
PCNA	: Proliferatif Cell Nuclear Antigen
PCR	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu
PDR	: Proliferatif Diabetic Rethinopathy
PEDF	: Pigment Epithelium Derived Factor
PET	: Pozitron Emisyon Tomografi
PKC	: Protein Kinaz C
PSA	: Prostat Spesifik Antijen

Rb	: Retinoblastom
RİA	: Radioimmunoassay
RT	: Radyoterapi
SCCA	: Squamous Cell Carcinoma Related Antigen
SCLC	: Small Cell Lung Carcinom
SRP	: Signal Recognition Particle
SVBP	: Small Vasohibin Binding Protein
TAMs	: Tumor-Associated Macrophage
TGF	: Transforme Edici Büyüme Faktörü
TNF- α	: Tümör Nekroze Edici Faktör-alfa
TPA	: Tissue Polypeptid Antigen
UICC	: International Union Against Cancer
VASH	: Vasohibin
VEGF	: Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü
WHO	: Dünya Sağlık Örgütü
WT	: Wild Type

TABLolar DİZİNİ

Tablo 2.1. Akciğer Tumorlerinin 2004 WHO/IASLC Patolojik Sınıflaması	10
Tablo 2.2. 3500' ün üzerindeki hastada başlangıçtaki belirtilerinin sıklığı.	15
Tablo 2.3. Radyolojik Tetkikler ve Endikasyonları.	17
Tablo 2.4. NSCLC' inde TNM Evrelemesi.	22
Tablo 2.5. TNM'ye Göre Evreleme	23
Tablo 2.6. Yeni TNM Evrelendirilmesinde Önerilen Değişiklikler.....	24
Tablo 2.7. Ecog Performans Skalası.....	28
Tablo 2.8. Karnofsky Performans Skalası.....	29
Tablo 2.9. Akciğer Kanseri Hastalarının Serumlarında Bulunan Tumor Belirteçleri.	38
Tablo 2.10. İnsan Vasohibin 1 Proteininin Amino Asit Dizisi	48
Tablo 4.1. Serum ve BAL sıvısı VASH1 Konsantrasyonları.....	59

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. VASH1 ve VASH2 Anjiogenez Aşamasındaki Etkileri.....	49
Şekil 2.2. VASH1 – SVBP İlişkisi	51
Şekil 2.3. VASH1 Proteininin Posttranslasyonel İşlenme Süreci.....	52
Şekil 4.1. Grupların Cinsiyete Göre Dağılımı	58
Şekil 4.2. BAL VASH1 Düzeylerinin Gruplar Arası Karşılaştırılması.....	59
Şekil 4.3. Serum VASH1 düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması	60

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Akciğer kanseri erkeklerde daha sık görülmekle birlikte günümüzün önemli bir sağlık sorunudur. Tüm dünyada kanser olgularının %17'sinden, kanser ölümlerinin ise %23'ünden akciğer kanseri sorumludur (1). Akciğer kanserinin %85'ini küçük hücreli dışı akciğer kanseri (NSCLC) oluşturmaktadır ve sıklığı özellikle yaşlı popülasyonda giderek artmaktadır (2). Ülkemizde %45 oranında en sık skuamöz hücreli kanser, yaklaşık %20 oranında küçük hücreli ve adenokanser görülmektedir. Büyük hücreli kanser %2 oranında en az görülen kanser tipidir. Tanı anında olguların %86,7'si lokal ileri ve ileri evrede yer almaktadır (3). Tanı anında NSCLC hastaların ise, yaklaşık %50'sini toraks dışına metastazlı olgular, %10-15'ini lokal ilerlemiş olduğundan rezeksiyona uygun olmayan hastalar oluşturur. Yeni tedavi ve girişimlere rağmen prognoz genellikle kötüdür (2). Evresine göre değişmekle beraber ortalama 5 yıllık sağ kalım oranları 2000-2008 yılları arasında %11 olarak belirlenmiştir (4).

Kanserlerde prognostik faktörler, sonucu önceden tahmin edebilmek için önemlidir. Kanserinin biyolojik davranışı önceden belirlenebilirse, bu bilgiler tedaviyi belirleme, tedaviye cevabı önceden tahmin edebilme ve klinik çalışmaları planlamada kullanılabilir. 1997'de güncellenmiş olan IASLC (International Association for the Study of Lung Cancer) çalışma grubunun görüş birliği raporuna göre performans durumu, kilo kaybı ve hastalığın evresi en önemli prognostik faktörler olarak bildirilirken, serum laktat dehidrogenaz (LDH), albumin düzeyi, yaş, cinsiyet, histolojik özellikler ve biyolojik faktörler olası prognostik faktörler olarak gösterilmiştir (5). Prognoz ve tedaviyi belirlemede çeşitli biyolojik belirleyiciler son yıllarda yoğun bir şekilde araştırılmakla birlikte ideal bir klinik prognostik faktör henüz geliştirilememiştir. Özellikle ileri evre akciğer kanserli hastalarda yeni prognostik faktörlerin belirlenmesi gerektiği önemle vurgulanmaktadır. Bu nedenle tümörün morfolojik özellikleri ve yayılma durumunu öngörmede kullanılmak üzere yeni tümör belirteçleri tespit etmek için çeşitli biyokimyasal çalışmalar yapılmaktadır. Bu amaçla diğer tümörlerde de araştırılması yaygınlaşan çeşitli moleküllerden birisi de Vasohibin 1 (VASH1)'dir.

Yeni kan damar ağlarının oluşumu olarak adlandırılan anjiogenez, insanın sadece normal gelişiminde değil, inflamasyon ve tümör oluşumu gibi patofizyolojik durumlarda

da önemli bir rol oynar. Anjiogenez aktivitesinin kanserli hastalar için kötü prognoz ve metastaz insidansındaki artışla ilişkili olduğu gösterilmiştir (6). Anjiogenez genellikle uyarıcı ve baskılayıcı faktörler arasındaki denge ile kontrol altındadır. CD34, von Willebrand faktör ve vascular endothelial-cadherin gibi uyarıcı moleküller damar endotel hücrelerinden salgılanır ve biyolojik belirteçler olarak hizmet verebilirler (7). Vücutta farklı roller oynayan, damar oluşumunu baskılayıcı birçok molekül sentezlenmektedir. Bu moleküllere örnek olarak, pigment epithelium-derived factor (PEDF) (8), chondromodulin-1 (9) ve maspin (10) verilebilir. Baskılayıcı bu moleküller damarlara dıştan yapışmış olarak bulunur ve fonksiyonel bir bariyer gibi yeni damar oluşumunu durdurur (11). Bu durum vücudun yeni damar oluşumunda kendini kontrol edebilme kapasitesinin olduğunu gösterir.

Vascular endothelial growth factor (VEGF) tarafından salgılanması uyarılan VASH1 ise endotel hücreleri tarafından üretilerek yeni damar oluşumunu baskılar (12). Yapılan hayvan çalışmalarında da fizyolojik olaylar ve kanser dahil bazı patolojik durumlarda anjiogenez esnasında endotel hücrelerden vasohibin 1'in eksprese edildiği histolojik analizlerle gösterilmiş ve vasohibin 1'in anjiogenezin bir göstergesi olarak kullanılabileceği ifade edilmiştir (13). Anjiogenezin ilk aşamasında uyarıcı role sahip olan Vasohibin 2 (VASH2)'nin aksine VASH1 damarlanmanın son aşamasında daha fazla salgılanarak damar oluşumunu sonlandırır (11).

VASH1 seviyelerinin artışının, üriner sistem (14), kolorektal (15), prostat (16), hepatoselüler (17) ve meme (18) gibi çeşitli organ kanserlerde metastaz ve kötü prognoz ile ilişkili olduğu ve VASH1'in bu tümörlerde prognostik faktör olarak kullanılabileceğini belirtilmiştir. Mide kanserli hastalarda yapılan bir çalışmada, VASH1 ekspresyonu metastatik olmayan kanser hücreleri ile kıyaslandığında metastatik kanser hücrelerinde önemli ölçüde yüksek bulunmuştur (19). Endometrial (20) ve servikal (21) kanserler ile yapılan çalışmalarda da yüksek VASH ekspresyonunun VEGF ekspresyonu artışı ile doğru orantılı olduğu gösterilmiştir.

NSCLC hastalarla yapılan immunohistokimyasal bir çalışmada, yüksek VASH1 ekspresyonunun kötü prognozla ilişkili olduğu ve VASH1'in NSCLC tedavisinde yeni bir hedef olabileceği iddia edilmiştir (22).

Bu çalışmanın amacı akciğer kanseri olgularında serum ve bronkoalveolar lavaj (BAL) sıvısı VASH1 konsantrasyonlarını ölçmek ve bu sonuçları kanser dışı akciğer hastalığı olan kişilerin serum ve BAL sıvısı VASH1 düzeyleri ile karşılaştırmak idi. Ayrıca bu çalışmada serum ve BAL sıvısı VASH1 konsantrasyonunun akciğer kanser yayılımı ile ilişkisinin olup olmadığı da araştırıldı. Bu amaçla çalışma kapsamına alınan olgular iki gruba ayrıldı: Grup 1. Akciğer kanseri grubu, Grup 2. Kanser dışı akciğer hastalığı grubu. Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Göğüs Hastalıkları Kliniğine başvuran ve akciğer kanseri tanısı alarak tedavi edilen hastalar 1. grubu oluştururken, akciğer kanseri olmayan fakat akciğer dokusunu etkileyen başka bir hastalık tanısı alan olgular ise 2. grubu oluşturdu. Tümörlü hastalardan ve kanser dışı akciğer hastalığı olan kişilerden rutin analizler için alınan kan örnekleri ve tanı amacıyla yapılan bronkoskopi esnasında alınan BAL sıvı örneklerinin bir miktarı çalışma için ayrıldı. VASH1 ile ilgili şimdiye kadar yapılmış çalışmalarda, akciğer kanserinde BAL sıvısı VASH1 düzeylerine bakılmamış olması nedeni ile bizim çalışmamız bu konuda bir ilk olacaktır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Bronş ve Akciğerlerin Anatomisi ve Gelişimi

Solunum sisteminin ilk taslağı, embriyonal hayatın 3-4. haftası arasında primitif tüpün ventral bölümünde cep şeklinde bir tomurcuğun belirmesi ile oluşmaya başlar.

Bronşlar; Solunum sisteminin trakea'dan sonra gelen parçası bronşlardır. 5. torakal vertebranın üst kenarına denk gelen hat üzerinde trakeanın ikiye bölünmesi ile sağ ve sol bronş oluşur. Sağ bronş 3, sol bronş 2 ana dala ayrılarak trakeobronşiyal ağacı oluştururlar.

Akciğerler: göğüs boşluğunda büyük bir alanı dolduran akciğerler, kalbin her iki yanında yer alır. Organ, solunum fonksiyonunun en önemli bölümü olan kan ile hava arasındaki gaz alışverişini sağladığından elastik ve spongiyoz bir yapıya sahiptir. Akciğerlerin dış yüzleri visseral plevra ile örtülüdür. Organın rengi yenidoğanda pembesi-beyaz, yetişkinde koyu mavi-kırmızı, tozlu yerlerde veya kömür ocaklarında çalışanlarda ise siyah renktedir (23).

Erişkin bir erkekte akciğerler, normal bir solunumda 500 cm³'lük hava alıp verir. Akciğerlerin iç yüzeyi yaklaşık 70-80 m² olmasına karşılık, dış yüzeyinin alanı 1 m²'dir. Bu hava alışverişinden asıl sorumlu bölge respiratuvar bronşiyol, alveol kanalları ve alveol keselerinden oluşan, terminal solunum ünitesi adı verilen bölümlerdir (23). Yeni doğanda 20-50 milyon alveol keseciği mevcut iken, gelişimin tamamlandığı 2 yaş döneminde mm³'te 170 ve ortalama 300-800 milyon alveol keseciği mevcuttur (24).

Arteriyel ve venöz sistem: Akciğerlerin arteriyel dolaşımını A. Bronşiyalis, A. pulmonalis dextra ve sinistra isimli damarlar sağlar ve akciğerler organizmanın en gelişmiş kapiller ağına sahiptirler. V. Bronşiyalis, V. pulmonalis süperior ve inferiorlar ise akciğerlerin venöz dolaşımını sağlar.

Lenfatik sistem: Akciğerlerin yüzeysel ve derin lenf damarları süperior ve inferior trakeobronşiyal nodlara açılır ve sonrasında genel lenf dolaşımına katılırlar.

İnnervasyon: Akciğerlerin sinirsel innervasyonu sempatik (truncus sympathicus) lifleri ile parasempatik (n.vagus) sinir liflerinin oluşturduğu plexus pulmonalis' den sağlanır. Sempatik uyarım bronş ve bronşiyollerde genişlemeye, damarlarda daralmaya yol açar; parasempatik uyarı ise tersine bronş ve bronşiyollerde daralmaya, damarlarda genişlemeye yol açar (23).

Ayrıca akciğerlerin gelişiminde tiroid hormonları, çeşitli büyüme hormonları, fibroblast growth factor (FGF), transforming growth factor- β (TGF- β) ve VEGF gibi faktörlerin de rol oynadığı bilinmektedir. FGF, tip 2 pnömosit hücrelerin gelişiminde ve surfaktan protein C'nin salgılanmasında önemli bir role sahiptir. TGF- β , akciğer morfolojisinin tamamlanmasında ve hasar sonrası onarımında etkilidir ve fazla sentezlenmesi akciğer fibrozisine neden olur (25). VEGF ise akciğerlerin normal gelişimi için gerekli olan yeni damar oluşumundan sorumludur (26).

2.2. Akciğerlerin Histolojisi

Akciğerler sağ ve sol akciğer olarak kalbin her iki yanına yerleşmiş halde bulunurlar. Sağ akciğer 3, sol akciğer ise 2 lobdan oluşmaktadır. Sağ akciğere giren bronşlar 10, sol akciğere giren bronşlar ise 8 bronkopulmoner segmente ayrılırlar. Bronşlar, terminal bronşiyol ve respiratuvar bronşiyol olarak dallara ayrılarak akciğerin temel yapısını oluşturan lobüllere girerler. Bronşlardan sonra alveolar kanallar ve alveolar kesecikler yer alır.

Bronşlar histolojik olarak içten dışa doğru; mukoza, muskularis, submukoza, kartilaj ve adventisya olmak üzere 5 tabakadan meydana gelir. Mukoza, epitelyum ve bazal laminadan oluşur. Epitelyum silyalı hücre, goblet hücre, fırçamsı hücre ve granül hücresi gibi çeşitli hücrelerden oluşur. Bronşiyol epiteli ise bu hücrelere ek olarak salgı yapabilen özel 'clara' hücrelerine sahiptir. Clara hücresi, özellikle ekspirasyon esnasında bronşiyolislerin yüzeylerinin birbirine yapışmasını engelleyen yüzey aktif ajanlar salgılar.

Alveolar epitelyum ise tip 1 ve tip 2 pnömositlerden oluşur. Tip 2 pnömositler, solunan hava ile epitelyum arasındaki yüzey basıncını azaltarak

ekspiryum esnasında alveollerin birbirine yapışmasını engelleyen surfaktan proteinini sentezler. Surfaktan dipalmitoil fosfatidil kolin olarak adlandırılan özelleşmiş bir fosfolipiddir (27).

2.3. Akciğer Kanseri

2.3.1. Epidemiyoloji

20. yüzyılın başında akciğer kanseri nadir olarak görülen bir hastalık iken son yıllarda sigara içme alışkanlığı ve çeşitli kanserojenlere maruziyetin artmasına paralel olarak sıklığı giderek artmıştır. Günümüzde en sık görülen kanser türüdür. 1993-1994 yıllarında ülkemizde Sağlık Bakanlığı' nın pasif kanser kayıtlarına göre akciğer kanseri insidansı 11,5/100000 olarak belirlenmiştir (28). 2008 yılında dünya genelinde 1,600,000 yeni vaka olmuş ve 1,380,000 ölüme sebebiyet vermiştir. Tüm dünyada kanser olgularının %17'sinden, kanser ölümlerinin ise %23'ünden akciğer kanseri sorumludur (1). Akciğer kanserine bağlı ölümlerin oranı kolon, meme ve prostat kanserine bağlı ölümlerin toplamından daha fazladır (29).

Akciğer kanserli olgularda 5 yıllık yaşam, 1974-1976 yıllarında %12 iken, 1992-1997 yılları arasında çok az yükselmiş ve %15 oranına ulaşmıştır (29). Son yapılan araştırmalara göre ise ortalama 5 yıllık sağ kalım oranları 2000-2008 yılları arasında %11 olarak belirlenmiştir (4).

Akciğer kanserinin %85'ini NSCLC oluşturmakta ve sıklığı özellikle yaşlı popülasyonda giderek artmaktadır (2). Ülkemizde %45 oranında en sık skuamöz hücreli kanser, yaklaşık %20 oranında küçük hücreli ve adenokanser görülmektedir. Büyük hücreli kanser %2 oranında en az görülen kanser tipidir. Tanı anında olguların %86,7'si lokal ileri ve ileri evrede yer almaktadır (3).

2.3.2. Etiyoloji

Akciğer kanseri, etiyojisinde çok sayıda faktörün rol oynadığı bir hastalıktır. Sigara, hava kirliliği gibi çevresel faktörler, mesleki karsinojenler, diyet, viral enfeksiyonlar, geçirilmiş akciğer hastalıkları, genetik ve immünolojik faktörler başlıca etyolojik faktörlerdir.

Sigara: Akciğer kanseri gelişiminden sorumlu en önemli faktördür. Yapılan araştırmalar akciğer kanseri gelişiminden % 85-94 oranında sigaranın sorumlu olduğunu göstermektedir. Akciğer kanseri riskinin sigara içenlerde içmeyenlere göre 24-36 kat arttığı bildirilmiştir (30).

Ülkemizde akciğer kanserinin etyolojik özelliklerini belirlemek amacıyla Türk Toraks Derneği Akciğer ve Plevra Maligniteleri Çalışma Grubu tarafından ulusal ve hastane kaynaklı retrospektif bir çalışma yapılmıştır. Bu çalışmada, 11849 akciğer kanserli olgunun %90,4'ü erkek, %9,6'sı kadın olup, olguların %56,7'si 46-65 yaşları arasında yer almıştır. Olguların yaklaşık %90'ında sigara kullanma öyküsü saptanmıştır (%77,9 aktif sigara içicisi, %10,8 sigarayı bırakmış) (31).

Sigaraya başlama yaşı, sigara içme süresi ve içilen sigara sayısı akciğer kanseri gelişme riskini önemli ölçüde etkilemektedir. Rölatif risk; hem günlük içilen sigara sayısı, hem de sigara içme süresiyle birlikte artar. 35 yaşındaki bir insanın günlük 25 adetten fazla sigara içmesi durumunda, 85 yaşından önce akciğer kanserinden ölme olasılığı %18 iken; günlük 25'ten az sigara içmesi durumunda ise bu oranın %9 olduğu tahmin edilmektedir (32). Gelişmiş ülkelerde sigara içimi prevalansı kadınlarda %20-40, erkeklerde %30-40 iken gelişmekte olan ülkelerde bu oranlar sırasıyla %2-10 ve %40-60 olarak değişmektedir. Ülkemizde ise sigara içme prevalansı kadınlarda %24, erkeklerde %63'tür (33).

Sigara bırakmanın, erken evrede tespit edilen akciğer kanserli hastalarda olumlu etkileri olduğu saptanmıştır. Aynı zamanda; erken evrede tanı konan ancak sigara içmeye devam eden akciğer kanserli hastalarda yapılan çalışmalarda mortalite oranlarında, rekürrenste ve ikinci bir primer tümörün oluşma oranında artış belirtilmiştir (34).

Mesleki ve Çevresel Maruziyet: Akciğer kanseri gelişiminde sigara dışında pek çok kanserojenin rol oynadığı bilinmektedir. Bunların bazıları, arsenik, polisiklik aromatik hidrokarbonlar, nikel, kadmiyum, krom, klorometil eter ve klorometil metil eter, radyasyon, vinil klorid, demir-çelik, asbest, radon, berilyum, silika, formaldehiddir. Asbest maruziyetinde risk 5 kat artarken, sigara ile beraber risk 50-100 kat artar. Radon maruziyetinde ise risk 20 kat artmaktadır. İç ve dış ortam hava

kirliliği, çevresel sigara maruziyeti, dizel yakıtların atıkları ile petrokimyasal atıklar akciğer kanseri gelişiminde rol oynayan en önemli çevresel faktörlerdir (35).

Genetik Faktörler: Genetik açıdan bakıldığında, akciğer kanserli hastaların birinci derece akrabalarında, akciğer kanseri riskinde artış olduğu belirtilmektedir. 28 vaka-kontrol çalışması ve 17 gözlemsel kohort çalışmasının meta-analizinde, etkilenen bir akrabanın olması durumunda akciğer kanser riskinin de arttığı gösterilmiştir (36).

Tütün ve akciğer kanseri gelişimi arasındaki ilişki, tütün dumanının kimyasal bir bileşeni olan benzopireninin p53 tümör süpresör geninin spesifik loküsüne zarar vermesi olarak kabul edilmiş ve primer akciğer kanserli hastaların %60'ında bu gen anormalliği saptanmıştır. Tütün dumanında bulunan diğer polisiklik aromatik hidrokarbonların ise akciğer kanserine neden olabilecek mutasyonlara yol açtıkları belirtilmiştir (37). Suçlanan genetik faktörlerden biri de P450 enzim sisteminde yer alan aril hidrokarbon hidroksilaz enziminin artmış aktivitesidir ve riski 8 kat artırır (35).

Son yıllarda, sigara içen kişilerde artmış akciğer kanser riski ile ilgili olduğu düşünülen nikotinic asetilkolin reseptörü ile ilişkili genler üzerinde durulmakta ve bazı genetik varyantlarının nikotin bağımlılığı ile de ilişkili olduğu tahmin edilmektedir. Nikotinic asetilkolin reseptör subunitini kodlayan CHRNA3 ve CHRNA5 genlerindeki tek nükleotid polimorfizminin, artmış nikotin bağımlılığı ve akciğer kanser riski ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (38).

Akciğerin diğer hastalıkları: Bronşektazi, abse, pnömoni, tüberküloz ve pulmoner emboli gibi akciğerde skar bırakan hastalıkların kanser gelişimine zemin oluşturduğu öngörülmektedir. Akciğer tüberkülozu geçiren olgularda akciğer kanseri gelişme riskinin 8 kat arttığı gösterilmiştir (39). Pulmoner fibrozis' de 8-14 kat (40), kronik obstrüktif akciğer hastalığı (KOA) 'nda 2-6 kat (41) ve alfa-1 antitripsin eksikliği' nde yaklaşık 2 kat (42) arttığı belirtilmiştir.

Diyet: Akciğer kanserinde diyetin rolünü araştıran birçok çalışma yapılmıştır. Beta karoten (provitamin A) ve A vitamini bakımından yoksun diyet

akciğer kanseri riskini artırırken aynı zamanda vitamin E ve selenyum antioksidan etkileri aracılığı ile bu riski azaltmaktadır. Özellikle yeşil çay koruyucu etki göstermektedir (33, 43, 44).

2.3.3. Histopatoloji

Günümüzde sigara içme sıklığı ve alışkanlıklarındaki değişiklikler tüm dünyada akciğer kanseri insidansını ve mortalitesini büyük ölçüde değiştirmektedir. Bu değişikliklerin akciğer kanserlerinin histolojik tipleri ve görülme oranları üzerine de etkisi olmaktadır. Tümörlerin sınıflandırılması; hastaların tedavisinde uyum sağlanmasının yanısıra epidemiyolojik ve biyolojik çalışmaların temelini oluşturması açısından oldukça önemlidir.

Histolojik açıdan bakıldığında sigara içen kişilerde, sigara dumanının zararlı etkileri sonucunda ilk olarak solunum sisteminin normal epitelyum hücreleri silyalarını kaybeder. Bunun sonucunda üretilen mukusun uzaklaştırılma mekanizması bozulmuş olur. Başta trakea olmak üzere tüm solunum yollarında birikmiş olan mukusu dışarı atabilmek için kronik öksürük başlar. Öksürük aynı zamanda silyalı hücrelerin azalmasına sebep olur. Bu azalma normal epitelyum yapısı iyice bozar ve sonuçta etkilenen bölgelerde tabakalı squamöz epitelyum gelişmeye başlar. Bazı hastalıklarda da gelişebilen bu durum sigara içen kişilerde sürekli maruziyet nedeni ile düzeltilemez ve malign transformasyon gelişir. Bu yüzden solunum sisteminin en sık görülen kanserlerinden biri squamöz metaplazi zemininde gelişen squamöz hücreli kanserdir (27).

Dünya sağlık örgütü (WHO) sınıflandırmasına göre, primer akciğer kanserinin dört ana histolojik hücre tipi vardır. Bunlar adenokarsinom, skuamoz hücreli karsinom, büyük hücreli karsinom ve küçük hücreli karsinomdur. Histolojik alt tipleri ülkelere göre değişmekle birlikte squamöz hücreli karsinom erkeklerde %44, bayanlarda %25 iken adenokarsinom erkeklerde %28, bayanlarda %42 oranında değişmektedir (45).

Adenokarsinom, birçok ülkede akciğer kanserinin en sık görülen alt sınıfıdır (46). Ayrıca 50 yaş altı kişilerde, kadınlarda ve hiç sigara içmemiş veya daha önce bırakmış

kişilerde en sık görülen akciğer kanser tipidir (47). Sigara içen kişilerde tüm akciğer kanser tiplerinin insidansı artmakta fakat en sık squamöz hücreli kanser görülmektedir. Sigara içen kişilerin alışkanlıklarındaki farklılıklar (filtre kullanımı, nikotin oranı azaltılmış sigara, derin inhalasyon) tümörün distal bronşiyal, alveolar veya proximal yerleşimli olması konusunda belirleyici olabilir (45).

Akciğer kanserinin, WHO ve International Association for the Study of Lung Cancer (IASLC) tarafından 2004 yılında yapılan en son sınıflaması Tablo 2.1.'de verilmiştir.

Tablo 2.1. Akciğer Tümörlerinin 2004 WHO/IASLC Patolojik Sınıflaması

Küçük hücreli karsinom Kombine küçük hücreli karsinom
Skvamöz hücreli karsinom Papiller Berrak hücreli Küçük hücreli Bazaloid
Adenokarsinom Adenokarsinom, mikst subtip Asiner adenokarsinom Papiller adenokarsinom Bronkoalveoler karsinom Müsinöz Nonmüsinöz Mikst Müsin salgılayan solid adenokarsinom Fetal Kolloid Müsinöz kistadenokarsinom Taşlı yüzük adenokarsinom Berrak hücreli adenokarsinom

Tablo 2.1. (Devam)

Büyük hücreli karsinom Büyük hücreli nöroendokrin karsinom Büyük hücreli kombine nöroendokrin karsinom Bazaloid karsinom Lenfoepitelyoma benzeri karsinom Berrak hücreli karsinom Rabdoid fenotipinde büyük hücreli karsinom
Adenoskuamöz karsinom
Sarkomatoid karsinom Pleomorfik karsinom İğ hücreli karsinom Dev hücreli karsinom Karsinosarkom Pulmoner blastom
Karsinoid tümör Tipik karsinoid Atipik karsinoid
Tükrük bezi tipindeki karsinomlar Mukoepidermoid karsinom Adenoidkistik karsinom Epitelyal-miyoepitelyal karsinom
Preinvaziv lezyonlar Skvamöz hücreli insitu karsinom Atipik adenomatöz hiperplazi Diffüz idiyopatik pulmoner Nöroendokrin hücre hiperplazisi

* (45)

2.3.3.1. Squamöz Hücreli Karsinom

Bazı ülkeler dışında en sık görülen akciğer kanseridir. Hücrelerarası köprüler ve keratinizasyon ile karakterize, bronşiyal epitel kaynaklı malign tümördür (45). Yaklaşık %90 sigara kullanımı ile ilişkilidir. Sıklıkla santral yerleşimli bir tümördür (48). Akciğerin üst bölgesine yerleşmesi durumunda Pancoast tümörü olarak adlandırılır ve Horner sendromuna sebep olabilir. Uzak organ metastazı, akciğerin

diğer primer tümörlerinden ve adenokarsinomdan çok daha az görülür. Daha sıklıkla lokal agresif gelişim gösterir ve bu nedenle kitle etkisi sonucu endobronşiyal tıkanmaya bağlı semptomlarla karakterizedir (45).

2.3.3.2. Adenokarsinom

Glanduler değişim gösteren ve musin üretimi ile karakterize, tipik olarak asiner, tubuler veya papiller yapılar oluşturan hücrelerden meydana gelen malign tümördür. Bazı ülkelerde en sık görülen histolojik alt tiptir (45). Özellikle hiç sigara içmemiş bayanlarda diğer tüm akciğer kanseri histolojik alt tiplerinden daha sık görülür. Periferik tümörlerin çoğunluğunu oluşturur (49).

2.3.3.3. Küçük Hücreli Karsinom (SCLC)

Suluk gri renkte, santral lokalizasyonda, genellikle submukozal yerleşim gösteren malign bir tümördür. Küçük oval, yuvarlak, dar sitoplazmalı, sınırları belirsiz, hiperkromatik nüveli ve çok mitoz gösteren hücrelerden oluşmuşlardır. Paraneoplastik sendromların en sık eşlik ettiği histolojik alt tiptir. Sigara kullanımı ile yakın ilişkili kanserlerdir (45).

2.3.3.4. Büyük Hücreli Karsinom

Anaplastik karsinom olarak da adlandırılır. Hücresel farklılaşma göstermeyen squamöz veya glanduler yapıya sahiptir. Sıklıkla periferik yerleşim gösteren büyük hacimli tümörlerdir (45). Birçok alt tipi mevcuttur. Lenfoepitelyoma-like olarak adlandırılan alt tipi hariç diğer tipleri sigara içenlerde daha sık görülür. Lenfoepitelyoma-like alt tipi ise orta yaş bayanlarda daha sık görülür ve % 40 sigara ile ilişkilidir (50).

2.3.4. Tümör Yayılımı

Akciğer kanserinin intratorasik yayılımı direkt genişleme ya da lenfatikler yoluyla gerçekleşir. Brakiyal pleksus, larengeal ve frenik sinir, perikard, myokard, özefagus ve göğüs duvarı, vena cava ve mediastinal lenf nodu tutulumu görülebilir (51).

Otopsi serilerinde ekstratorasik metastaz sıklığı, skuamoz hücreli karsinomda % 54, adenokarsinomda % 82, büyük hücreli karsinomda % 86 olarak belirtilmiştir (52). Akciğer kanseri en sık kemik dokusu olmak üzere, santral sinir sistemi, kalp, perikard, böbrek, plevra, adrenal bez, karaciğer, deri ve yumuşak doku gibi organlara metastaz yapar (30).

2.3.5. Akciğer Kanserinde Tanı

Erken evre akciğer kanseri sıklıkla asemptomatiktir. Lokal ileri ve metastatik evre olana kadar çoğunlukla belirti vermez. Bu da hastalığın ne kadar agresif bir biyolojiye sahip olduğunu gösterir. Ayrıca efektif bir tarama testinin olmaması da ileri evrede tanı alınmasından sorumlu faktörlerden biridir.

2.3.5.1. Semptom ve Bulgular

Semptomlar tümörün lokal etkilerinden, bölgesel yada uzak metastazlarından ayrıca tümörün metastaz ile ilişkili olmayan uzak hormonal etkilerinden (paraneoplastik) kaynaklanabilir (51).

Bir çalışmada akciğer kanserli hastaların % 6'sının yakınmasız olduğu, % 27'sinin primer tümör ile ilişkili yakınmalar, % 27'sinin iştahsızlık ve kilo kaybı gibi nonspesifik sistemik yakınmalar ve % 32'sinin ise metastaz düşündürülen yakınmalar tanımladığı belirtilmiştir (53).

Akciğer kanserli hastalarda saptanan yakınmalar ve bulgular 4 grupta toplanmaktadır.

1. Primer Tümör ile İlişkili Yakınma ve Bulgular:

Primer tümör ile ilişkili olarak görülen en sık semptom, öksürük, nefes darlığı ve hemoptizidir. Tümör bazı hastalarda hava yolu obstrüksiyonuna yol açarak nefes alma esnasında duyulan ıslık çalma benzeri ses ile karakterize stridor, tıkanan bölgeye lokalize ronküs, atelektazi, pnömoni, abse gibi patolojilere neden olabilir. Bu durumda, bu klinik tablolarla ilişkili yakınma ve bulgular ortaya çıkabilir (30, 53).

2. İntratorasik Yayılıma Bağlı Yakınma ve Bulgular:

Akciğer kanserinin direkt uzanım veya lenfatikler yoluyla gerçekleşen intratorasik yayılımı sonucu sinirler, göğüs duvarı ve plevra, vasküler yapılar ve toraks içi organlar tutulur. Sinir tutulumu sonucu ses kısıklığı, diyafragma paralizisine bağlı solunum güçlüğü, tek taraflı enoftalmi, pitozis, myozis ve aynı taraf yüz ve üst ekstremitede anhidrozis gibi bulgularla ortaya çıkan Horner Sendromu, brakial pleksus tutulumuna bağlı kolda güçsüzlük ve el kaslarında atrofi, göğüs duvarı ve plevra tutulumu sonucu göğüs ağrısı, plörezi ve buna bağlı nefes darlığı, vasküler yapıların tutulumu sonucu vena kava superior sendromu, kalbi çevreleyen zarlar arasında sıvı birikimine bağlı ortaya çıkan tamponad belirtileri ve özofagus tutulumu sonucu disfaji gibi yakınmalar ve bulgular meydana gelebilir (30, 53, 54).

3. Toraks Dışı Metastazlara Bağlı Yakınma, Bulgu ve Laboratuvar Testleri:

Akciğer kanserli hastaların yaklaşık 1/3'ü başvuru sırasında toraks dışı yayılıma bağlı semptomlara sahiptir. Uzak metastazların en sık olduğu bölgeler kemikler, karaciğer, beyin, böbreküstü bezleri, deri ve lenf bezleridir (53). Lokalize kemik ağrısı, serum kalsiyum (Ca) ve alkalen fosfataz (ALP) yüksekliği kemik metastazını düşündüren bulgulardır. Adrenal bez metastazı düşündürecek spesifik bir yakınma veya bulgu yoktur. Serum transaminaz düzeylerinde yükseklik, epigastrik bölgede hassasiyet ve ağrı, iştahsızlık varlığında karaciğer metastazı düşünülebilir. Baş ağrısı, bulantı-kusma, kişilik değişiklikleri, fokal nörolojik bulgular, denge kusuru, konfüzyon beyin metastazlı hastalarda saptanan bulgu ve yakınmalardır. Ayrıca uzak organ metastazında kilo kaybı ve anemi gibi bulgular saptanabilir (30, 53).

Akciğer kanserinin en sık görülen semptomları ve sıklıkları tablo 2.2 de verilmiştir.

4. Paraneoplastik Sendromlara Bağlı Yakınma ve Bulgular:

Bu bulgular akciğer kanserli hastaların yaklaşık %10' unda görülür. Paraneoplastik sendromlar, primer tümör veya metastatik hastalık ile direkt ilişkisi olmayan bulgu ve yakınmaları ifade eder. Akciğer kanseri ile ilişkili paraneoplastik

sendromlar, endokrin bozukluklar (hiperkalsemi, uygunsuz antidiüretik hormon (ADH) salınımı, cushing sendromu vb.), nörolojik bulgular (lambert-eaton sendromu, ensefalomyelit, nöropati vb.), metabolik bozukluklar (hipoürisemi, hiperamilazemi vb.), renal hastalıklar (glomerülonefrit, nefrotik sendrom), hematolojik bulgular (trombositoz, lökositoz, eozinofili vb.), iskelet sistemi (hipertrofik osteoartropati, çomak parmak), vasküler sistem (dermatomyozit, vaskülit, sistemik lupus eritamatozus (SLE), polimiyozit) ve cilt hastalıkları (sweet sendromu, bazex sendromu, hipertrikoz, eritrodermi vb.) ayrıca koagülopati (dissemine intravasküler koagülasyon (DIC), tromboflebit vb.) ve diğer (ateş, kaşeksi vb.) olarak gruplandırılabilir (30, 53, 54).

Tablo 2.2. 3500' ün üzerindeki hastada başlangıçtaki belirtilerinin sıklığı.

Belirtiler ve Sıklık (%)
Öksürük 45-74
Kilo kaybı 46-68
Nefes darlığı 37-58
Göğüs ağrısı 27-49
Hemoptizi 27-29
Kemik ağrısı 20-21
Ses kısıklığı 8-18

* (55)

2.3.5.2. Fizik Muayene

Akciğer kanserli olgularda fizik muayenede plevral sıvı birikimi, lokalize ronküs, supraklavikular lenfadenopati, Horner sendromu bulguları (tek taraflı enoftalmi, pitozis, miyozis, aynı taraf yüz ve üst ekstremitede anhidrozis), hepatomegali, kaşeksi, lokalize kemik duyarlılığı, periferik motor ve/veya duyuşal nöropati ve nörolojik bulgular olabileceği gibi hiçbir fizik muayene bulgusu olmayabilir.

2.3.5.3. Laboratuvar İncelemeleri

Tüm hastalara tam kan sayımı ile birlikte alkalen fosfotaz, albumin, alanin aminotransferaz (ALT), aspartat aminotransferaz (AST) , gama glutamil transferaz (GGT), total bilirubin (Bil-T), üre, kreatinin (Cre), LDH, sodyum (Na), potasyum (K), Ca içeren biyokimyasal testler ile elektrokardiyografi yapılmalıdır. Diğer testlerin rutin olarak yapılmasına gerek yoktur. Çok çeşitli moleküler ve biyolojik madde (karsino embriyonik antijen, sialik asit, nöron spesifik enolaz, pro gastrin-releasing peptid, vb.), akciğer kanserinin varlığı, evrelemesi yada progresyonunu gösterebilmek amacıyla klinik çalışmalar ile araştırılmıştır. Günümüzde akciğer kanserlerini erken evrede saptayabilecek yada hastalığın takibini etkileyebilecek özgül ve duyarlı bir tümör belirleyicisi ortaya konamamıştır (56).

2.3.5.4. Radyolojik İnceleme

Tümör tanısının konulması ve evrelendirilmesi amacı ile radyolojik görüntüleme yöntemlerine başvurulur. İlk seçilecek radyolojik yöntem iki yönlü akciğer grafisidir. Ancak akciğer grafisinde kör noktalar olarak tanımlanan bölgelerin varlığı nedeniyle, bilgisayarlı tomografi, akciğer kanseri tanısında başvuru olan diğer bir radyolojik görüntüleme yöntemidir. Bilgisayarlı tomografi (BT), magnetik rezonans (MRG) ve pozitron-emisyon tomografisi (PET) incelemeleri özellikle akciğer kanserinin evrelendirilmesi amacı ile kullanılan diğer görüntüleme yöntemleridir (30, 45).

Bir nodülün kanser yönünden kesin tanısı sitolojik ya da histolojik konulabilmekle birlikte şekil, kenar, iç yapısı, kalsifikasyon içerip içermemesi ve büyüme hızı gibi radyolojik özellikleri malign ve benign lezyon ayırımında yardımcı olabilir (57).

Akciğer kanserli hastalara tanı konulması ve evrelemesi amacı ile yapılan radyolojik tetkikler ve endikasyonları Tablo 2.3'de verilmiştir.

Tablo 2.3. Radyolojik Tetkikler ve Endikasyonları.

Akciğer Grafisi
Primer parankimal tümörün belirlenmesi ve tanımlanması Ana bronş ve trakea tutulumunun değerlendirilmesi Göğüs duvarı invazyonunun belirlenmesi Hiler veya mediastinal invazyon ve adenopatinin değerlendirilmesi Obstruktif atelektazi ve pnömonitisin belirlenmesi Plevral efüzyonun belirlenmesi
BT
Ana bronş ve trakea tutulumunun değerlendirilmesi Göğüs duvarı invazyonunun belirlenmesi Hiler veya mediastinal invazyon ve adenopatinin değerlendirilmesi Karaciğer ve adrenal bez metastazının belirlenmesi
PET
Metastazların belirlenmesi
MRG
Göğüs duvarı invazyonunun belirlenmesi (özellikle üst bölgesine yerleşmiş tümörlerde) Mediastinal veya spinal kanal invazyonunun belirlenmesi İntravenöz kontrast maddenin uygulamanın kontrendike olduğu durumlarda hiler veya mediastinal invazyon ve adenopatinin değerlendirilmesi İzole adrenal kitlelerin tanımlanması Beyin metastazının belirlenmesi
Ultrason
Plevral efüzyonun belirlenmesi ve torasentez için rehberlik Periferik akciğer veya mediastinal kitle için rehberlik
Gallium-67 scan
Hiler veya mediastinal invazyon ve adenopatinin değerlendirilmesi Distal metastazların belirlenmesi
Pulmoner anjiyografi
Pulmoner arter invazyonunun belirlenmesi

* (45)

2.3.5.5. Girişimsel Tanı Yöntemleri

Akciğer kanserinin patolojik tanısında kullanılan tanı yöntemleri, primer tümör ve metastaz bölgesi için uygulanabilir. Balgamın sitolojik incelemesi, fiberoptik bronkoskopi ve transtorasik iğne aspirasyonu primer tümöre yönelik başlıca girişimsel tanı yöntemleridir. Torasentez, plevra biyopsisi, torakoskopi, lenf bezi ve cilt biyopsisi ise metastatik lezyona yönelik tanısall girişimler olarak sayılabilir (30, 58).

2.3.5.5.1. Balgam Sitolojisi

Akciğer kanseri tanısında kullanılan noninvaziv bir tanı yöntemidir. Tanı için en az 3 örnek alınması önerilmektedir. Yöntemin sensitivitesinin % 42-97, spesifitesinin % 66-100 olduğu rapor edilmiştir. Santral lezyonlardaki sensitivite değeri (% 71), periferik lezyonlara (% 49) göre daha yüksek bulunmuştur. Tanı oranı tek örnek için % 68 iken, üç örnek için % 85 olarak ölçülmüştür (58).

2.3.5.5.2. Bronkoskopi

Akciğer kanseri tanısında en sık kullanılan yöntemlerden biridir. Özellikle santral tümörlerin tanısında yüksek tanı değerine sahiptir. Bu tümörlerin tanısında kullanılan tanısall işlemler bronşiyal yıkama, fırçalama, bronkoskopik biyopsi ve bronkoskopik iğne aspirasyonudur (58). Merkezi endobronşiyal lezyonlarda fiberoptik bronkoskopinin sensitivitesi % 88'dir. (59). Bu yöntemlerin değerlendirildiği bir meta analiz çalışmasına göre sensitivite değerleri endobronşiyal biyopsi için % 74, fırçalama için % 59 ve bronşiyal yıkama için % 48' dir. Bronkoskopik iğne aspirasyonu için % 23 ile % 90 arasında değişen bir sensitivite değeri bildirilmiştir (58). Bir başka çalışmada ise sensitivite değerleri bronkoskopik biyopsi için % 83, fırçalama için % 68, endobronşiyal iğne aspirasyonu için % 69 ve bronşiyal yıkama için % 32 olarak bildirilmiştir. Santral tümörler için uygulanan tanısall işlemlerin kombine edilmesi sonucunda bronkoskopinin tanı değerinin % 89.8 olduğu belirtilmiştir (60). Periferik lezyonlarda bronkoskopinin tanı değeri azalır. Periferik lezyonların tanısında kullanılan yöntemler bronkoalveolar lavaj, fırçalama, transbronşiyal iğne aspirasyonu ve transbronşiyal biyopsi olup bu işlemler için

bildirilen ortalama sensitivite değerleri sırasıyla % 43, % 52, % 67 ve % 46' dır. Bu yöntemler birlikte uygulandığında sensitivite değeri % 69 olarak ölçülmüştür (58). Tanı aşamasında bronkoskopi ile saptanan lezyon tipine göre bronş biopsisi, transbronşiyal biopsi, bronşiyal fırçalama, bronş lavajı, BAL yapılmaktadır.

2.3.5.5.3. Transtorasik İğne Aspirasyonu ve Biyopsi

Bu iki yöntem özellikle periferik lezyonların tanısında yaygın olarak kullanılmaktadır. Transtorasik iğne aspirasyonunun akciğer kanseri tanısı için sensitivitesi % 90'dır. İki cm'den küçük çaplı lezyonlar için daha az duyarlıdır. Bireysel çalışmalarda SCLC ve NSCLC ayırımındaki başarısı % 94 ila %100 arasındadır. Ortalama yanlış pozitif ve yanlış negatif sonuç oranları sırasıyla % 9 ve %2'dir (59).

2.3.5.5.4. Metastatik Lezyonların Tanısı

Plevral efüzyon, akciğer kanserli olguların yaklaşık % 50'sine eşlik eden bir bulgudur. Torasentez ve plevra biyopsisi, plevral efüzyonların tanısında kullanılan tanı yöntemleridir. Torasentez için tanı değeri %50-60 ve plevra biyopsisi için tanı değeri % 46 olarak bildirilmektedir (30). Cilt ve lenf bezi gibi diğer metastaz bölgelerinden yapılan biyopsiler de akciğer kanseri tanısında kullanılmaktadır (30, 58).

2.3.5.6. Akciğer Kanserinde Tarama Testleri

2011 yılında yapılmış çalışma sonrasında akciğer kanseri de tarama önerilen kanserler arasına girmiştir. Taramada yüksek riskli hastalara yılda bir kez üç yıl boyunca ve 74 yaşına kadar düşük doz bilgisayarlı tomografi çekilmesi önerilmektedir (61).

Yüksek riskli hasta tanımı:

- . Yaş; 55-74 yaş
- . 30 paket/yıl ve üzeri sigara içiciliği ve <15 yıl sigara bırakma öyküsü veya
- . Yaş \geq 50 yaş
- . $20 \geq$ paket/yıl sigara içiciliği ve 1 tane ek risk faktörü bulundurmak.

2.3.6. Klinik Evrelendirme

Kanserli hastaları prognozlarına göre gruplayıp, tedavilerini planlama ihtiyacı sonucunda bir evreleme sistemi geliştirilmiştir. İlk kez 1946 da Denoix tarafından önerilen TNM sistemi 1966'da "Union for International Cancer Control" (UICC) ve 1973'de "American Joint Committee on Cancer" (AJCC) tarafından akciğer kanserlerine uyarlanmıştır. Bu iki farklı sistem 1986 'da AJCC ve UICC'nin yıllık toplantılarında yeniden düzenlenmiş ve "Uluslararası Akciğer Kanseri Evreleme Sistemi" adı altında tek bir sistem haline getirilmiştir (62).

Evreleme sisteminin daha özgül hale getirilmesi amacıyla 1996' da AJCC ve UICC'nin yıllık toplantılarında onaylanan yeni bir düzenleme yapılmıştır. Yeni evreleme sistemin skuamöz hücreli, adenokarsinom (bronkoalveoler dahil) büyük ve küçük hücreli olmak üzere akciğer kanserinin 4 ana tipinin yanısıra spesifik alt grubu belirlenmemiş indiferansiye karsinomlara da uygulanması önerilmiştir. Akciğer kanserli hastaların evrelendirilmesinde, tedavinin planlanmasında ve etkinliğinin değerlendirilmesinde bölgesel lenf bezlerinin durumu önemli bir faktördür. Lenf bezlerinin durumunu daha standart bir şekilde değerlendirmek amacıyla çeşitli haritalar geliştirilmiştir. AJCC ve "Prognostic Factors TNM Committee of the UICC" nin 1996 yıllık toplantılarında öngörülen yol haritaları birleştirilmiş ve tek bir bölgesel lenf bezi haritası kullanılması önerilmiştir (62).

Küçük hücreli dışı akciğer kanseri (NSCLC) evrelendirmesinde tümör nodu metastazı (TNM) evreleme sistemi kullanılır (tablo 2.4 ve tablo 2.5). Bu evreleme sistemi primer tümörün özellikleri (T), bölgesel lenf nodu tutulumu (N) varlığı veya yokluğu, uzak metastaz (M) varlığı veya yokluğuna göre tümörleri sınıflandırır. Tümörün evresi (evre 1'den evre 4'e) T,N,M derecelerinin birleşimi ile belirlenir. Bu özelliklerin herhangi biri için hastalığın yaygınlığı belirlenememişse, bu durum, "X" eki ile belirtilir (örneğin Tx, Nx, veya Mx). TNM evreleme sistemi, hastanın, klinik tanı evresini, cerrahi-patolojik evresini, tedavi öncesi evresini ve otopsi evresini belirlemek için kullanılır.

Uzun süredir kullanılan TNM evrelendirilmesinde IASLC 2009 yılında yeni değişiklikler yapmıştır. TNM evrelendirmesi ve yeni kabul edilen değişiklikler tablo 2.6' da gösterilmiştir.

2.3.6.1. Hastalık Evresi

NSCLC tedavisine tanı ve evreleme kesinleştikten sonra başlanır. Eğer uzak metastaz yoksa, mediastinal lenf nodu durumu son derece önemlidir. Görüntüleme yöntemlerine rağmen, pek çok durumda evreleme için invaziv girişim gereklidir (63).

Toraks BT anatomik ayrıntıların saptanmasında oldukça yararlıdır. Fakat mediastinal lenf nodlarının benign mi malign mi olduğunu ayırmada yetersiz kalmaktadır. Mediastinal lenf nodu metastazını belirlemek için uygulanan BT görüntülemesinin sensitivite ve spesifitesinin sırasıyla %51 ve %85 oluşu BT'nin mediastinal metastaz varlığını değerlendirmede sınırlı bir kapasiteye sahip olduğunu gösterir (64).

PET, mediastinal tutulumun değerlendirilmesinde BT ye göre daha iyi sensitivite ve spesifiteye sahiptir (sırasıyla %74 ve %85) ve uzak metastazlar PET ile saptanabilir. Bugün için PET mediasteni değerlendirmede kullanılan en güvenilir noninvazif görüntüleme yöntemidir. Fakat doğru evrelemeden emin olmak için her iki testte de anormal bulgular doku biyopsisi ile doğrulanmalıdır (64).

Belirgin mediastinal tutulumu olan hastalarda, invaziv evrelemeye gerek yoktur. Farklı bölgelerde lenf nodu büyümesi olan hastalarda, BT ve PET kesin sonuçlar vermez. Evre II ya da merkezi tümöre sahip hastalarda, mediastinal lenf nodlarının invaziv evrelemesi gereklidir. Normal boyutlu nodlarda iğne tekniklerinin yanlış negatif oranlarının daha yüksek olması sebebiyle, genellikle mediastinoskopi tercih edilir. Periferik yerleşimli ve klinik evre I olan NSCLC hastalarında lenf nodlarındaki PET bulgusu negatif olduğu sürece, mediastinal nodların invaziv incelemesine genellikle ihtiyaç yoktur (63).

Tablo 2.4. NSCLC' inde TNM Evrelemesi.

PRİMER TÜMÖR (T)

Tx Primer tümörün belirlenememesi veya balgam ya da bronş lavajında malign hücrelerin tesbit edilip görüntüleme teknikleri ya da bronkoskopi ile tümörün gösterilememesi

To Primer tümör belirtisi yok

T1 Tümörün en geniş çapı ≤ 3 cm, akciğer veya visseral plevra ile çevrili, bronkoskopik olarak lob bronsundan daha proksimale invazyon göstermeyen tümör (örn. Ana bronşta lezyon yok)

T2 Tümörün aşağıdaki özelliklerden en az birine sahip olması:

En geniş çapı >3 cm

Ana bronşa invaze, ancak karınaya uzaklık >2 cm

Visseral plevra invazyonu

Hiler bölgeye ulaşan, ancak tüm akciğeri kapsamayan atelektazi

T3 Tümör herhangi bir büyüklükte olup, göğüs duvarı (superior sulkus tümörleri dahil), diafragma, mediastinal plevra , parietal perikard gibi yapılardan herhangi birine doğrudan invazyon göstermesi veya karınaya 2 cm' den daha yakın, ancak karınayı tutmayan ana bronştaki tümör; veya bütün akciğeri kapsayan atelektazi veya obstrüktif pnömoni ile birlikte olan tümör.

T4 Tümör herhangi bir büyüklükte olup, mediasten, kalp, büyük damarlar, trakea, özefagus, vertebra korpusu, karına gibi yapılardan herhangi birinin işgali veya malign plevral veya perikardiyal sıvı ile birlikte olan tümör veya tümörle aynı lob içinde serbest nodül

Tablo 2.4. (Devam)

<p>BÖLGESEL LENF BEZİ (N)</p> <p>N_x Bölgesel lenf bezi durumunun değerlendirilememesi</p> <p>N₀ Bölgesel lenf bezi metastazı yok</p> <p>N₁ Aynı taraf peribronşiyal ve/veya aynı tarafta hiler lenf bezlerine metastaz ve primer tümörün doğrudan yayılması ile intrapulmoner bezlerin tutulması</p> <p>N₂ Aynı taraf mediastinal ve/veya subkarinal lenf bezlerine metastaz</p> <p>N₃ Karşı taraf mediastinal, hiler; aynı veya karşı taraf supraklavikuler veya skalen lenf bezi metastazı</p>
<p>UZAK METASTAZ (M)</p> <p>M_x Uzak metastaz varlığının değerlendirilememesi</p> <p>M₀ Uzak metastaz yok</p> <p>M₁ Uzak metastaz var</p>

Tablo 2.5. TNM'ye Göre Evreleme

<p>Evre 0 Tis N0 M0 Evre IIIA T3 N1 M0 T1-3 N2 M0</p> <p>Evre IA T1 N0 M0 Evre IIIB T0-4 N3 M0 T4 N0-2 M0</p> <p>Evre IB T2 N0 M0 Evre IV T0-4 N0-2 M1</p> <p>Evre IIA T1 N1 M0</p> <p>Evre IIB T2 N1 M0 T3 N0 M0</p>

*(62)

Tablo 2.6. Yeni TNM Evrelendirilmesinde Önerilen Değişiklikler

Klasifikasyon ögesi yeni evrelendirme önerisi
<p>T:</p> <p>T1 iki alt gruba ayrılmıştır</p> <p>T1a: tümör ≤ 2 cm</p> <p>T1b: tümör >2 cm ve ≤ 3 cm</p> <p>T2 iki alt gruba ayrılmıştır</p> <p>T2a: tümör >3 cm ve ≤ 5 cm</p> <p>T2b: tümör >5 cm and ≤ 7 cm</p> <p>T2 >7 cm tümörler T3 olarak yeniden sınıflandırılmıştır</p> <p>Aynı lobdaki nodül(ler) nedeni ile T4 olarak değerlendirilen tümörler T3 olarak sınıflandırılmıştır.</p> <p>İpsilateral lobtaki nodül(ler) nedeni ile M1 olarak değerlendirilen tümörler T4 olarak sınıflandırılmıştır.</p> <p>Malign plevral efüzyon nedeni ile T4 olarak sınıflandırılan tümörler M1a olarak sınıflandırılmıştır.</p>
<p>N:</p> <p>Yeni sınıflandırmada herhangi bir değişiklik yapılmamıştır.</p>
<p>M:</p> <p>M1 iki alt gruba ayrılmıştır.</p> <p>M1a: kontralateral lobdaki nodül(ler)</p> <p>Plevral nodüller</p> <p>Malign plevral efüzyon ve perikardiyal efüzyon</p> <p>M1b: uzak metastaz</p>

*(65)

2.3.6.2. Sağkalım

Klinik evre IA, IB, IIA, IIB, IIIA, IIIB ve IV için ortalama beklenen sağkalım süreleri 60, 43, 34, 18, 14, 10 ve 6 aydır (66).

Patolojik evre IA, IB, IIA, IIB, IIIA, IIIB ve IV için ortalama beklenen sağkalım süreleri 119, 81, 49, 31, 22, 13 ve 17 aydır (67). Patolojik evre IV hastalığı olanlarda beklenmedik şekilde sağkalım oranının daha yüksek olması, yapılan tahminlerin cerrahi rezeksiyonu tolere edebilen küçük bir hasta grubu üzerinde olduğunu düşündürmektedir.

2.3.7. Akciğer Kanseri Tedavi

2.3.7.1. Küçük Hücreli Dışı Akciğer Kanseri Tedavi Yaklaşımı

Tedavi, hastalığın evresi ve hastanın performans durumu dikkate alınarak planlanmalıdır.

TXN0M0 ve Yüzeysel Tümörlerde Tedavi

Akciğer radyografisi ve fizik muayenesi normal ancak balgam sitolojisi pozitif olan olgulardır ve yüksek risk grubunu oluştururlar. Bu hastalara spiral toraks BT taraması önerilmektedir. BT’de lezyon saptanırsa cerrahi önerilir ancak lezyon saptanamayan olgulara otofloresan bronkoskopi yapılmalıdır. İnvazyon derinliği 3 mm’yi ve uzunluğu 1 cm’yi geçmeyen yüzeysel lezyonlarda da cerrahi tedavi önerilir. Spiral BT ya da otofloresan bronkoskopi ile lezyon saptanamayan olgular ise izlenmelidir (68).

Evre IA-IB Tümörlerde Tedavi

Evre IA ve IB tümörlerinin tedavisinde standart yaklaşım, cerrahi olarak tümörün çıkartılması ve ek olarak hiler, mediastinal lenf bezi diseksiyonu ile tam rezeksiyondur. Tam olarak rezeke edilmiş olgulara radyoterapi (RT) veya sistemik kemoterapi (KT) önerilmemektedir. Ancak cerrahi sınır pozitif ise tamamlayıcı cerrahi ve cerrahi uygun değilse RT uygulanır. Medikal inoperabl olan ya da operasyonu kabul etmeyen hastalara torasik RT önerilmektedir (69).

Evre IIA-IIB Tümörlerde Tedavi

Evre IIA ve IIB tümörlerinin tedavisinde standart yaklaşım, cerrahi olarak tümörün tam rezeksiyonudur. Hiler ve mediastinal lenf bezi diseksiyonu rutin olarak yapılmalıdır (69). Superior sulkus tümörleri cerrahi yönden değerlendirilmelidir. Mediastinal lenf bezi metastazı, subklavian damar, vertebra ve brakial pleksusun derin invazyonu ve Horner sendromu bulgularının varlığı kötü prognostik faktörler olup bu durumda seçilmiş bazı hastalar dışında cerrahi önerilmez. Bu tetkikler sonunda tümör boyutu T3 ya da minimal invazyon gösteren T4N0-1 olgular neoadjuvan KT+RT ya da tek başına RT programına alınmalı ve sonrasında hastalara en az lobektomi olacak şekilde cerrahi uygulanmalıdır. Cerrahi sınır negatif olan ve postoperatif lenf nodu metastazı saptanmayan olgularda tekrar tedaviye gerek yoktur. Cerrahi düşünülmeyen olgular ise KT+RT ya da sadece RT ile tedavi edilmektedir (70).

Evre IIIA'da tedavi

Göğüs duvarı, plevra, perikard, mediastinal yağ dokusu ve ana bronş tutulumu nedeniyle T3(N1) olgularda tercih edilecek tedavi, cerrahi tam rezeksiyondur. Tam rezeke edilen olgularda torasik RT uygulamasının lokal nüksü azalttığı bildirilmektedir. Preoperatif değerlendirmede N2 saptanmayan olgularda primer tümörün rezeksiyonu ve mediastinal lenf nod diseksiyonu ile operasyon tamamlanır. Tam rezeke edilen ve N2 saptanmayan olgularda postoperatif RT'ye gerek yoktur (71). Preoperatif mediasten değerlendirmesi (BT, mediastinoskopi, PET, diğer nodal biopsiler) negatif olan, ancak torakotomi sırasında N2 saptanan olgularda eğer tam rezeksiyon yapılabilecekse operasyona devam edilir. Tam rezeke edilen olgularda, lokal nüks riskini azaltmak için toraksa RT uygulanır (72).

N2 olgularda neoadjuvan KT ya da KT+RT konusunda pek çok çalışma yapılmıştır. Bu çalışmaların sonucu olarak N2 olgularda neoadjuvan KT sonrası hastalıkta gerileme gözlenirse cerrahi uygulanması yönünde görüş birliği vardır. Gerileme gözlenmeyen olgularda cerrahinin yeri tartışmalıdır. Pnömektomi gerektiren olgularda ise yüksek mortalite riski nedeniyle cerrahiden kaçınılmalıdır (30).

Evre IIIB’de tedavi

Rezeke edilebilir T4N0-1M0 olgularda (superior vena kava, sol atrium, vertebra cismi, distal pulmoner arterin minimal tutulduğu seçilmiş olgularda) 2-3 kür sisplatin bazlı sistemik KT uygulandıktan sonra, primer tümörde küçülme varsa cerrahi yönden tekrar değerlendirilir. Stabil ise ya da progresyon varsa, torasik RT veya eş zamanlı KT+RT programına alınır. Cerrahi için uygun olmayan ve Eastern Cooperative Oncology Group (ECOG) performans durumu 0-1 olan olgulara ardışık ya da eş zamanlı KT ve RT uygulanır (73).

Evre IV’de tedavi

Evre IV NSCLC hasta grubunda mevcut tedavilerin hiçbirisi ile kür sağlamak mümkün değildir. Temel tedavi yaklaşımı sisplatin bazlı kombinasyon kemoterapisidir (74). KT uygulamasında amaç semptomları kontrol altına alarak sağ kalımda uzama elde etmeye yöneliktir.

2.3.7.2. Küçük Hücreli Akciğer Kanserinde Tedavi Yaklaşımları

SCLC kemoterapiye duyarlı bir tümör olması nedeni ile temel tedavi kemoterapidir. Sınırlı evre SCLC’nin tedavisi sistemik KT ve torasik RT’dir. Sınırlı evre hastalıkta torasik RT’nin uygulanmasının lokal nüksü azalttığı ve yaşam süresini uzattığı bildirilmektedir (75). Yaygın evre SCLC ise kombinasyon KT rejimleri ile tedavi edilmelidir. En uygun kombine tedavi olarak sisplatin/etoposid önerilmektedir (76).

2.3.8. Akciğer Kanserinde Prognostik Faktörler

Tüm kanserlerde prognostik faktörler sonucu önceden tahmin etmede oldukça önemli rol oynamaktadır. Kanserin biyolojik davranışının tedaviye başlamadan önce belirlenebilmesi, tedaviyi belirleme ve klinik çalışmaları yönetme konusunda yol gösterici olacaktır.

Akciğer kanseri heterojen biyolojik davranış özelliğine sahiptir. Olgular aynı histolojik tipte de olsalar, kemoterapi (KT) ve radyoterapiye (RT) yanıt yönünden

farklılıklar gösterebilirler. Yapılan çalışmalar sonucunda birçok prognostik faktör tanımlanmıştır. Akciğer kanserinde başlıca prognostik faktörler 5 ana başlıkta incelenebilir.

2.3.8.1. Hastaya Ait Klinik Faktörler

2.3.8.1.1. Yaş

40 yaş altında tanı gecikmesinden dolayı prognoz kötü olmakta ve çoğuna ileri evre kanser tanısı konmaktadır (77). Yaşlı hastalarda ise tümör büyümesi daha yavaş ve metabolik hastalık oranı göreceli olarak düşüktür (78). Performans durumu iyi olan, kardiyopulmoner riski düşük olan yaşlı hastalarda prognoz, genç hastaların prognozuna benzer. Yaş, cerrahi tedavi planlanan hastalarda tek başına prognostik faktör değildir. Diğer faktörlerle beraber değerlendirilmelidir. RT alan olgularda yaş prognostik faktör değildir. 70-75 yaş üstü hastalarda ilaç toksisitesi yaşam kalitesini olumsuz etkileyeceğinden KT verilmez (79).

2.3.8.1.2. Performans Durumu

ECOG 0-2 veya Karnofsky performans durumu %70'in üzerinde olan hastalarda prognoz daha iyidir (80). Performans durumu iyi olmayan olgularda aşırı toksisite ve yaşam süresini kısaltıcı etkiden dolayı KT önerilmemektedir. ECOG ve Karnofsky performans durum skalaları Tablo 2.7 ve 2.8'de gösterilmiştir.

Tablo 2.7. Ecog Performans Skalası

- | |
|--|
| <ol style="list-style-type: none">0. Yakınması yok. Normal aktivitesini sürdürüyor.1. Tümör bulguları var ancak normal yaşantısını sürdürebiliyor.2. Tümör bulguları rahatsız edici düzeyde ancak günün%50'den fazlasını yatak dışında geçiriyor.3. Ciddi derecede rahatsızlığı olup günün %50'sinden fazlasını yatakta geçiriyor.4. İleri derecede rahatsızlığı olup günün tamamını yatakta geçiriyor |
|--|

*(81)

Tablo 2.8. Karnofsky Performans Skalası

Normal, yakınması yok	100
Normal aktivitesini yapabiliyor.	90
Hastalığın minör bulgu ve belirtisi var.	80
Kendine bakabilir, normal aktivite ve işini yapamaz.	70
İhtiyaçlarını karşılayabilir, nadiren yardım gerekir.	60
Sıkça yardım ve tıbbi bakım gerekir.	50
Özel bakım ve yardım gerekir.	40
Hastane bakımı gerektirecek durumda.	30
Çok hasta, hastanede aktif destek tedavisi gereksinimi var.	20
Ölmek üzere	10
Ölüm0	

* (82)

2.3.8.1.3. Kilo Kaybı

Özellikle ileri evre NSCLC’de son 6 ayda vücut ağırlığının %5-10’undan daha fazla kilo kaybı kötü prognostik faktör olarak kabul edilmektedir (83).

2.3.8.1.4. Cinsiyet

Evre ve diğer risk faktörlerine göre gruplandırma yapıldığı zaman kadınların daha uzun yaşam süresine sahip olduğu görülmüş ve bu yüzden cinsiyetin prognoz açısından önemli olduğu kabul edilmiştir (84).

2.3.8.2. Histopatoloji

NSCLC’li hastalar üzerinde yapılan çalışmalar, adenokarsinom ve skuamöz hücreli karsinom ayrımının prognozu etkileyip etkilemediği konusunda çelişkili sonuçlar vermiştir. Skuamöz hücreli karsinomun, aynı evredeki adenokanser ve büyük hücreli kansere göre prognozu daha iyidir (85). Tümörün evresi esas alındığında, histolojik tipin prognoza etkisinin çok anlamlı olmayabileceği de gösterilmiştir (86). Bronkoalveoler karsinomda nodüler formun diffüz forma göre, müsün salgılamayanların ise müsün salgılayanlara göre prognozları daha iyidir (87).

Ayrıca histolojik grade ve proliferatif aktivitenin de prognozla ilişkili olduğu gösterilmiştir (88).

2.3.8.3. Laboratuvar Bulguları

Prognozun serum LDH, Ca, ALP seviyeleri yüksek ve hemoglobin değeri 11 g/dl' nin altında olan olgularda daha kötü olduğu gözlenmiştir (79). Serum albumin düzeyinin 3,5 g/dl' nin altında olmasının sağkalım süresini negatif yönde etkilediği gösterilmiştir (89).

2.3.8.3.1. Tümör Belirteçleri

Tümör belirteçleri onkolojik durumlarda olduğu gibi bronş kanserlerinde de tarama, tanı, prognoz, tedavisinin monitörizasyonu ve olası relapları belirlemek amacıyla kullanılmaktadır (tablo 2.8). Günümüzde asemptomatik bir kişide kanser taraması yapılabilecek ve kesin kanser tanısı koydurabilecek bir belirteç henüz bulunamamıştır. Daha spesifik ve sensitif tümör belirteçlerinin bulunup geliştirilerek rutinde uygulanması veya diğer testleri tamamlayıcı olarak kullanıma girmesi için çalışmalar yapılmaktadır.

Tümör belirteçleri ya kanser hücreleri tarafından ya da konak hücreleri tarafından kansere karşı mücadelenin bir parçası olarak sentezlenen biyolojik maddelerdir. Tümörün varlığını saptamak, rekürrensleri belirlemek veya prognoz hakkında tahminde bulunabilmek amacıyla kullanılabilirler. Kanda, sekresyonlarda ve seröz sıvılarda bulunanlar immunokimyasal (radyoimmunoassay ve/veya enzim immünoassay), hücre membranında veya sitoplazmasında bulunanlar ise immünohistolojik veya immünositolojik yöntemlerle (immünofluoresans ve immünoperoksidaz) belirlenebilmektedir. Ayrıca çok sayıda solid veya hematolojik malignitelerde de nükleer DNA ölçümü yapılabilmektedir. Kromozomal değişiklikler ise moleküler tanı testleri ile saptanabilmektedir.

Tümör belirtecini ölçen yöntem çok küçük miktarları doğru şekilde saptayabilmeli, çabuk uygulanabilmeli ve ucuz olmalıdır. İyi bir tümör belirteci, neoplazmın varlığında patolojik olarak artmalı (yüksek sensitivite), neoplazmın

yokluğunda artmamalı (yüksek spesifite), tümör hücre yükü ve metastaz ile ilgili olmalı, hastalığın mevcut durumunu yansıtmalı ve ilerleyişi ile doğru orantılı olarak değişmeli, semptomatik olmadan önce relaps varlığını tahmin edebilme imkanı vermeli ve serum veya idrar gibi kolay elde edilebilir örneklerde ölçülebilmelidir. Özetle örneklemek gerekirse bir belirteç tümörün alevlenmesi ile artıp uygun tedavi ile remisyona girilince ölçülemeyecek kadar düşmeli ve relaps olduğunda da tekrar yükselebilmelidir. Ayrıca tedavi etkisiz kaldığı zaman da hastalığın prognozunu gösterilebilmelidir.

Bu amaçla akciğer kanserli hastalarda başvuru laboratuvar testleri 5 ana başlıkta incelenebilir.

2.3.8.3.1.1. Onkofetal Antijenler

Karsinoembriyonik Antijen

Karsinoembriyonik antijen (CEA), kolorektal, gastrointestinal, meme ve akciğer kanserinde sıklıkla kullanılan bir belirteçtir. CEA ilk kez 1965 yılında insan kolon kanser dokusunda tanımlanmıştır.

CEA, %45-55 oranında karbonhidrat içeren ve 150-300 kDa ağırlığında olan bir glikoproteindir. 641 amino asid (aa) içeren tek bir polipeptid zincirinden oluşur ve N-terminal ucu lizillenmiştir. CEA ailesinin 36 farklı üyesi tanımlanmıştır ve bunlar 19. kromozomda lokalize 10 gen tarafından kodlanır.

CEA kolorektal, akciğer, mide, göğüs, pankreas, over ve uterin karsinomalarda yüksek seviyelerde bulunmaktadır. Ancak yanlış pozitif ve yanlış negatif sonuçlardan dolayı CEA kanserli hastaların takibinde kullanılmamaktadır. CEA düzeyinin normal referans değerinin 5-10 kat üstüne çıkması kolon kanser varlığının güçlü bir göstergesidir. NSCLC hastalarında tanı aşamasında faydalı olabilir.

Serum CEA seviyeleri genellikle immunometric assay (IMA) yöntemleri ile belirlenir. Sağlıklı kişilerde üst limiti, sigara içmeyenler için 3 mikrogram/L iken sigara içen kişilerde 5 mikrogram/L olarak belirlenmiştir (90).

Daha önce yapılan bazı çalışmalar CEA'in sigara içen kişilerde içmeyenlere

oranla daha yüksek olduğu gösterilmiştir. Bu da sigara içen bazı kişilerde epitel hasarının gerçekleştiğini ve antijen salınımının arttığını gösterir (91).

Yapılan büyük bir çalışmada akciğer kanserli hastalarda CEA miktarındaki artışın tümör hacmi ve metastaz varlığını değerlendirmek için uygun olmadığı ancak CEA seviyesi ile akciğer kanserinde tedaviye yanıtın değerlendirilmesi ve prognoz arasında kuvvetli bir ilişki olduğu gösterilmiştir (92).

2.3.8.3.1.2. Sitokeratinler

Doku Polipeptid Antijen

Doku polipeptid antijen (TPA) dört adet subunitten oluşan bir proteindir (93). Normal ve kanser her hücre tipinde üretilir ve yüksek serum düzeyleri hücrelerin proliferatif aktivitesi ve hücre turnoveri ile ilişkilidir. Bu yüzden proliferasyonun bir belirteci olarak kullanılabilir ancak spesifik bir tümör belirteci değildir. Sadece metastatik kanserlerin takibinde kullanılabileceği belirtilmektedir (90).

Göğüs, akciğer, mide, kolon-rektum, pankreas, safra kesesi, uterus, prostat, melanoma ve lenfoma gibi birçok kanserde serum ve idrar TPA seviyelerinin yüksek olduğu gözlenmiştir (94).

Akciğer kanserli hastalarda tedaviden önce bakılan TPA seviyeleri ile, primer tümör özellikleri, lenf nod tutulumu ve metastatik durum arasında korelasyon bulunmuştur. TPA' nın yüksek seviyelerinin sağkalım süresi ile ters yönde korelasyon gösterdiği belirtilmiştir. Analizler sonucunda bu antijenin SCLC, büyük hücreli akciğer kanseri ve adenokarsinom için daha yararlı olabileceği iddia edilmiştir (95).

Squamöz Hücreli Karsinom-İlişkili Antijen

Squamöz hücreli karsinom-ilişkili antijen (SCCA), tümörle ilişkili antijen-4 olarak adlandırılmıştır. SCCA' nın nötral ve asidik kısımları mevcuttur. Nötral kısmı malign ve non malign bütün squamöz hücrelerde bulunurken, asidik kısmı temelde malign hücrelerde bulunur ve dolaşıma salınır.

SCCA normal koşullar altında serviks, akciğer, cilt, baş-boyun, over ve ürogenital epitelyumdaki squamöz hücrelerden ve akciğer enfeksiyonları gibi benign durumlarda sentezlenebilir. Ancak kanserli hastalarda evre ile orantılı olarak artmaktadır. Squamöz hücreli karsinomlarda tedavi öncesi yüksek düzeylerinin kötü prognoz ile ilişkili olabileceği düşünülmektedir. Kanser prognozunun, rekürrensının ve tedaviye cevabın değerlendirilmesinde kullanılabilir. İmmunoradyometrik ve enzim immunoassay yöntemleri ile ölçülebilmektedir (90).

Sitokeratin 19 fragmenti (CYFRA 21-1)

Sitokeratinler, hücre iskeletinin ana proteinini oluştururlar ve ara filament ailesinin birer üyesidirler. Sitokeratin 19 düşük molekül ağırlığına sahiptir ve bronş epiteli de dahil birçok basit epitelden eksprese edilir. CYFRA 21-1, sitokeratin 19' un bir parçasıdır ve NSCLC için bir tümör belirteci olarak kabul edilir (96).

Akciğer kanserinin bütün tiplerinde seviyesi artan CYFRA 21-1 özellikle NSCLC için sensitiftir. CYFRA 21-1 konsantrasyonu evrenin ilerlemesi ile pozitif korelasyon gösterir ve hastalığın takibinde kullanılmaktadır. NSCLC hastalarında yaşam süresinin kısalması, nod tutulumu ve tümör evresi ile ilişkili olduğu ve akciğer için uygun bir tümör belirteci olabileceği belirtilmektedir (90).

2.3.8.3.1.3. Diğer Polipeptid Antijenler

Ferritin

Ferritin başta karaciğer, kemik iliği, dalak ve barsak olmak üzere tüm dokularda bulunan ve gereksinim duyulacağı zamana kadar demirin depolanmasını sağlayan başlıca depo proteindir. Ferritin, dış yüzünde 24 altbirimden oluşan apoferritin bir kılıf ve iç kısmında ferrikoksihidroksit (FeOOH) çekirdeğe sahip küresel bir moleküldür (97).

Akciğer kanserinde, hastalığın klinik evresi veya tedaviye cevabın değerlendirilmesinde, histolojik tip ile serum ferritin seviyeleri arasında herhangi bir ilişki bulunamamıştır (93). Yapılan başka bir çalışmada, akciğer kanserli hastalarda, histolojik tipten bağımsız olarak metastazı olan kişilerde serum ferritin seviyesinin

daha yüksek olduğu gösterilmiştir (98).

İnterlökin-2 Reseptör (sIL-2R)

IL-2, birçok işleve sahip bir sitokindir. En önemli işlevlerinden biri, aktive-T hücrelerinin proliferasyonunu başlatmaktır. IL-2 etkisini T hücreleri üzerindeki spesifik yüzey reseptörüne (IL-2R) bağlanarak gerçekleştirir. Aktive olan lenfositler bu reseptörün çözülebilir formunu (sIL-2R) üretir ve dolaşıma verir (99).

Yapılan bir çalışmada, sIL-2R serum seviyelerinin tedavi edilmeyen akciğer kanserli hastalarda yüksek bulunduğu gösterilmiştir (100). Başka bir çalışma, sağlıklı bireyler ve benign akciğer hastalığı olan kişiler karşılaştırıldığında akciğer kanserli hastalarda sIL-2R seviyelerinin anlamlı ölçüde yüksek bulunduğunu fakat bu yüksekliğin ne hücre tipi ne de hastalığın evresi ile uyumlu olmadığını göstermiştir (101).

Kromogranin A

Kromograninler, santral ve periferik sinir sistemi dahil birçok nöroendokrin hücrenin sekretuar granüllerinde mevcut olan protein yapılarıdır. Granin ailesi temelde 3 ana protein yapıdan oluşmaktadır; kromogranin A, kromogranin B ve sekretogranin. Bunlar nöroendokrin hücrelerde bulunan sekretuar granüllerin düzenlenmesinden ve proteolitik olarak biyoaktif hale getirilmelerinden sorumludurlar. Kromograin A, nöroendokrin hücrelerdeki nöropeptidler ve hormonlarla birlikte eksprese edildiği için nöroendokrin tümörlerin bir belirteci olarak kabul edilmektedir (90).

Yapılan çalışmalarda kromogranin A, akciğer kanserli hastaların serumlarında ve tümör dokularında immunohistokimyasal yöntemlerle gösterilmiştir (102).

2.3.8.3.1.4. Enzimler

Nöron Spesifik Enolaz

Enolaz, fosfopiruvat hidrataz olarak bilinen glikolitik bir enzimdir. Memeli dokularında üç farklı immunolojik alt birimden meydana gelen dimerler oluşturmaktadır. α -enolaz birçok dokuda yaygın olarak bulunur. β -enolaz özellikle

kalp dokusunda olmak üzere çizgili kas hücrelerinde bulunur. γ -enolaz ise nöron spesifik enolaz (NSE) olarak adlandırılır (103).

NSE nöronal dokularda, nöroendokrin sistemde ve amine precursor uptake and decarboxylation (APUD) dokularında bulunmaktadır. Dolayısı ile SCLC dahil pek çok nöroendokrin kaynaklı tümörler ile ilişkilidir. Serum seviyeleri radioimmunoassay (RIA), enzyme-linked immunosorbent assay (ELİSA) ve automated enzyme immunoassay (EİA) yöntemleri ile ölçülebilmektedir.

SCLC için sensitivitesi %80 ve spesifitesi %80-90 arasındadır. NSE konsantrasyonları hastalığın evresi ile uyumludur ve prognoz tahmini için kullanışlı bir göstergedir. Ayrıca kemoterapinin monitorizasyonu amacı ile kullanılabilir (90).

Bronşiyal karsinomu olan hastalarda serum NSE seviyelerini ölçen birçok çalışma yapılmıştır. Serum NSE seviyeleri SCLC olan hastaların yaklaşık %78' inde, NSCLC olan hastaların yaklaşık %18' inde ve malign olmayan akciğer hastalıklarında %6 oranında yüksek konsantrasyonda bulunmuştur (104).

Kreatin Kinaz -BB

Kreatin kinaz (CK) 41 kDa ağırlığında iki ayrı subunitten oluşan 81 kDa ağırlığında dimerik bir enzimdir. Bu subunitleri (B ve M) 14. ve 19. kromozomlar üzerinde lokalize genler tarafından üretilirler. Aktif hali dimerik bulunan bu enzimin 3 izoenzimi vardır: BB, MM ve MB. İzoenzimlerin hepsi hücrenin sitozolüne yerleşik halde bulunurlar. CK, adenosin trifosfat (ATP) varlığında kreatinden kreatin fosfat oluşumunu katalize eder (105).

Klinik örneklerde bakılan CK seviyeleri, normal akciğer dokusu, normal hücre kültürü ve NSCLC ile kıyaslandığında SCLC' de 10-100 kat daha yüksek bulunmuştur (106). Yapılan çalışmalar, CK-BB seviyelerinin tedavi edilmeyen ve ilerlemiş SCLC' de % 41 iken, ilk evre SCLC' de %2 olduğunu göstermektedir. Ayrıca bu yüksekliğin metastaz bölgelerinin çokluğu ile pozitif ve sağkalım süresi ile negatif korelasyon gösterdiği belirtilmektedir (107).

2.3.8.3.1.5. Hormonlar

Gastrin releasing peptid

Gastrin releasing peptid (GRP), proGRP' den türetilen 10 aa' li bir peptiddir. GRP, akciğer nöroendokrin hücrelerden salgılandığı ve akciğerlerin gelişimini stimule ettiği gösterilmiştir. Bu yüzden hücrelerde disregulasyon ve karsinogenezis ile ilgili ve hem normal akciğer hem de tümör dokusu için mitojenik bir faktör olduğu kabul edilmektedir.

GRP etkisini GRP reseptörüne bağlanarak gösterir ve bu reseptör SCLC hücrelerinde gösterilmiştir (108).

Adrenokortikotropik Hormon

Adrenokortikotropik hormon (ACTH) adenohipofizden salınan ve pro-opiomelanokortinin enzimatik yıkılması ile oluşan 39 aminoasitten oluşan bir peptid hormondur. ACTH primer olarak adrenal korteks üzerine etki ederek kortikosteroidlerinsentez ve sekresyonunu düzenler. Serum ACTH seviyeleri kemiluminesans ve ELİSA dahil pek çok immunassay metod ile ölçülebilir (109).

Ektopik salınımı ilk olarak Cushing Sendromu ve SCLC' de gösterilmiştir. Yapılan retrospektif bir çalışmada SCLC hastalarının % 4,5' unda paraneoplastik sendrom olarak yüksek serum ACTH seviyeleri ve buna bağlı olarak yüksek serum ve idrar kortizol düzeyleri, ödem, hiperglisemi, hipokalemi ve myopati gözlenmiştir (110).

Ancak ACTH serum düzeyleri ile hastalığın evresi, sağkalım ve tedaviye cevabın değerlendirilmesi arasında çelişkili sonuçlar rapor edilmiştir. ACTH' nın akciğer kanserinde ne sensitif ne de spesifik bir gösterge olarak kabul edilemeyeceği düşünülmektedir (111).

Antidiüretik Hormon

Antidiüretik hormon (ADH), hipotalamusun supraoptik çekirdekleri tarafından sentezlenir ve nörofizin binding protein tarafından aksonal yolla arka hipofize taşınarak salgılanıncaya kadar burada granüller içinde depolanır. 9 aminoasitten oluşan hormonun 1. ve 6. aminoasitleri sisteindir ve molekül içi disülfid bağı oluştururlar. 8. pozisyonda arjinin içerdiği için arjinin-vasopressin olarak da adlandırılmıştır. ADH' un başlıca etkisi böbreklerden su tutulmasını artırmak ve dolayısı ile idrar oluşumunu azaltmaktır. Serum ve idrar ADH seviyeleri pek çok immunassay yöntem ile ölçülebilir (109).

Ektopik ADH salınımı birçok malignite, akciğer hastalıkları, nörolojik bozukluklar ve ilaç tedavileri sonrasında gösterilmiştir. Serum ADH konsantrasyonları SCLC hastalarının %35'inde paraneoplastik sendrom olarak yüksek bulunmuştur. Ancak ne hastalığın evresi ne de tedaviye cevap ile korelasyon göstermediği bildirilmiştir (112).

Insulin-like growth factor

Insulin-like growth factor (IGF), yapı olarak proinsuline benzeyen bir polipeptiddir. Serum veya plazma IGF seviyeleri spesifik monoklonal antikorlar kullanılan immunassay yöntemler ile ölçülebilir.

IGF-I, SCLC hücreleri için mitojeniktir ve insan SCLC için otokrin bir büyüme faktörü gibi davranır. IGF-I'in tümör belirteci olarak yararlılığı konusunda çelişkili raporlar sunulmuştur. Akciğer kanseri hastalarında serum IGF-I seviyelerinin ölçüldüğü bir çalışmada, sağlıklı kontrollerle kıyaslandığında IGF-I seviyeleri SCLC ve NSCLC hastalarında anlamlı ölçüde yüksek bulunmuş fakat ne NSCLC alt tipleri ne de klinik evre ile uyumlu olmadığı saptanmıştır (113).

Tablo 2.9. Akciğer Kanserli Hastaların Serumlarında Bulunan Tümör Belirteçleri

Tümörle ilişkili antijenler
Karsinoembriyonik antijen Doku polipeptid antijen Squamöz hücreli karsinom- ilişkili antijen Sitokeratin 19 fragmenti
Diğer polipeptid antijenler
Ferritin İnterlökin-2 reseptörü Kromagranin A
Enzimler
Nöron spesifik enolaz Kreatin kinaz-BB
Hormonlar
Gastrin releasing peptide Adrenokortikotropik hormon Antidiüretik hormon Insulin-like growth factor

* (93)

2.3.8.4. Genetik Faktörler

2.3.8.4.1. Kromozomal Anormallikler ve DNA İçeriği

NSCLC'li hastaların %49-60'ında kromozom 3p delesyonu gösterilmiş ve bu delesyonun sağ kalımı, evre ve histolojik tipden bağımsız olarak olumsuz yönde etkilediği gözlenmiştir. Ayrıca skuamöz hücreli karsinomda DNA içeriği diploid olan tümörlerde anöploid olanlara göre prognozun daha iyi olduğu belirlenmiştir (114).

2.3.8.4.2. Proliferatif Aktivite Belirteçleri

Ki-67

Prolifere olan hücreler tarafından eksprese edilen nükleer antijen ile reaksiyona giren monoklonal bir antikordur. Rezek NSCLC ve Ki-67 skoru yüksek olan kişilerde hastalısız yaşam süresinin daha düşük olduğu tespit edilmiştir (115).

Ayrıca patolojik evre T1 adenokarsinomlu hastalarda, timidin kinaz ekspresyonunun tümör prognozunu ve invazyonu değerlendirmede Ki-67' den daha iyi bir belirteç olduğu gösterilmiştir (116).

Proliferatif Hücre Nükleer Antijeni

Proliferatif hücre nükleer antijeni (PCNA), DNA sentezinde rol oynayan nükleer bir proteindir. PCNA ekspresyonu geç G1 fazında başlar, S-fazında maksimuma ulaşır ve G2 fazında azalır. Evre I olgularda yüksek PCNA aktivitesinin metastaz gelişimi ile birlikteliği gösterilmiştir (115).

2.3.8.4.3. Protoonkogenler/Onkogenler

Protoonkogenler, mutasyonlar veya artmış gen ekspresyonu nedeniyle onkogene dönüşebilme yeteneği olan normal genlerdir. Hücre büyümesi ve farklılaşmasını düzenleyen proteinleri kodlarlar. Birçok kanserde büyüme faktörü reseptörlerinin gen düzeyinde mutasyonu ve patolojik aşırı yapımı gözlenmiştir. Büyüme faktörü reseptörlerinin aşırı sentezi, mutasyonlardan daha sık görülür. Mutant reseptörler, bağlanan büyüme faktörü olmadığı zaman bile, hücreye devamlı mitojenik sinyal iletirler. Bu aşırı artmış olan sentez, proliferasyonu tetiklemeyecek düşük seviyedeki büyüme faktörü düzeyine dahi aşırı cevap verilmesi sonucunu doğurur. Epidermal büyüme faktörü reseptörü (EGFR) 'ndeki artış aşırı sentezin bilinen en iyi örneğidir (117).

Epidermal Büyüme Faktörü Reseptörü

Epidermal Büyüme Faktörü Reseptörü (EGFR), EGF ile aktive edilen ve hücre içi kısmında tirozin kinaz enzim aktivitesine sahip olan bir transmembran glikoproteindir. EGFR'ne EGF bağlanması ile enzim aktivitesi gösteren tirozin kinaz fosforile olarak aktivite kazanır. Sonuçta hücrede proliferasyon, diferansiyasyon ve bölünme gerçekleşir.

EGFR ve diğer aile üyeleri, kanser oluşumunda önemli rol oynayan proliferasyon, apoptozis, hücre hareketi ve damar ağı oluşumunun düzenlenmesinde önemli bir role sahiptir. Birçok malignansinin patogenezinde ve ilerlemesinde EGFR'

deki değişiklikler sorumlu tutulmuş ve kötü prognostik faktör olarak tanımlanmıştır (118). Yapılan çalışmaların sonucunda, akciğer bronşiyaloalveolar karsinomda %26 ve adenokarsinomda %10 oranında EGFR' ünü kodlayan gende mutasyon varlığı gösterilmiştir (119).

Transforme Edici Büyüme Faktörü β 1

Transforme Edici Büyüme Faktörü β 1 (TGF- β 1), Hücre bölünmesinde önemli rolü olan bir sitokindir. TGF- β 'nın, TGF- β 1, TGF- β 2 ve TGF- β 3 olmak üzere 3 farklı tipi vardır. Bu sitokinin en önemli etkisi hücre tipine bağlı olarak hücre bölünmesini pozitif veya negatif yönde etkilemesidir. Örneğin, TGF- β epitelyal, endotelyal ve hematopoetik hücrelerin bölünmesini inhibe ederken, mezenşim ve kas hücrelerinin bölünmesini stimüle etmektedir (120).

TGF- β 'nın kanser oluşumu ve ilerlemesinde rol oynadığı ve akciğer kanserinde invazyon ve metastaz ile kısmen ilişkili olduğu gösterilmiştir (121).

Yapılan başka bir çalışmada TGF- β 'nın baskılanmasının kolon, meme ve akciğer kanserinde invaziv fenotip ve kötü prognozla ilişkili olduğu gösterilmiştir (122).

Ras geni

Ras familyasında H, K ve N Ras olmak üzere 3 gen bulunur. Bu genlerin kodladığı ras proteinleri küçük G proteinleridir. Hücre yüzeyi reseptörleri aracılığı ile sinyali hücre içine iletirler. Bu proteinler hücre çoğalması ve diferansiyasyonunu düzenleyen yolda kritik role sahiptirler (123). Guanozin trifosfat (GTP) bağlı iken aktiftirler ve GTP nin guanozin difosfat (GDP) ye hidrolizi ile inaktive olurlar. Gende meydana gelen mutasyon sonucunda ras'ın GTPaz aktivitesi kaybolur ve sürekli olarak aktif kalarak sinyal üretmeye devam ederler. Sonuçta birden fazla sinyal ile büyüme yollarını aktive ederler (124).

Akciğer kanserinde en yaygın görülen mutasyonlardan biri de KRAS mutasyonudur. KRAS mutasyonunun varlığı akciğer adenokarsinomlu hastaların yaklaşık %25-40' ında gösterilmiştir (125).

HER2/neu

Human epidermal growth factor receptor-2 (HER-2/neu) geni epitelyal hücrelerden 185 kDa ağırlığında bir transmembran protein kodlar. Bu protein tirozin kinaz reseptörlerinin EGF ailesine aittir. Ekstraselüler bağlayıcı kısım, tek bir transmembran kısım ve intraselüler tirozin kinaz kısımına sahiptir. Ekstraselüler kısım metalloproteazlar tarafından parçalanabilir ve serbest kalan bu parça kanda ölçülebilir. Bu protein hücrenin çoğalması, farklılaşması ve yaşamını devam ettirebilmesi ile ilgilidir. HER2/neu akciğer dahil bazı organların normal epitelyum hücrelerinden de eksprese edilmekle beraber kanser hücrelerinden daha fazla eksprese edilmektedir (90).

Akciğer kanserli hastalarda yapılan bazı çalışmalar sonucunda HER2 deki değişikliklerin genellikle adenokarsinomda ortaya çıktığı gösterilmiştir (126). Ayrıca HER2/neu pozitifliğinin kötü prognozla ilişkisi olduğu belirtilmiştir (79).

BRAF

B-Raf protooncogene, serine/threonine kinase (BRAF) geni, hücre proliferasyonu ve yaşamının düzenlenmesi ile ilgili sinyal yolağında rol oynayan mitojen aktive protein kinaz (MAPK)' ı aktive eden, serin-treonin protein kinazı kodlar. BRAF mutasyonu sonucu kinaz aktivitesi artar ve hücrelerde aşırı çoğalma ve transformasyon gözlenir (127).

NSCLC' nde %3 oranında BRAF mutasyonu gözlenmiştir. Ayrıca akciğer kanserli hastalarda BRAF mutasyonunun sıklıkla adenokarsinomda ortaya çıktığı gözlenmiştir (128).

C-myc

C-myc, DNA' ya bağlanarak transkripsiyonu düzenleyen bir protoonkogendir. Bu genin ürünü olan c-myc proteini DNA' nın replikasyonu ve transkripsiyonun artması için esansiyeldir. Ayrıca c-myc seviyesi hücrenin bölünme oranı ile ilişkilidir. Akciğer kanserinde kopya sayısının artışı ile prognozun kötüleştiği belirtilmektedir (90).

Yapılan bir çalışmada akciğer adenokarsinomlu hastalarda c-myc kopya sayısının %19 oranında arttığı gözlenmiştir (129).

Bcl-2

B-cell lymphoma 2 (Bcl-2) geninin ürünü 239 aminoasidden oluşan, 25 kDa ağırlığında, öncelikle mitokondri membranı olmak üzere diğer hücre membranlarında yerleşmiş olan integral membran proteinidir. Bu proteinin apoptozisi inhibe ettiği ve kanser hücrelerinin yaşamının devam ettirilmesinden sorumlu olduğu bilinmektedir. Bu protein uzun yaşam süresine sahip nöronlar ve hızlı çoğalma kapasitesine sahip bazal epitelyum gibi hücrelerde normal şartlarda eksprese edilir (90).

Mitokondri dış membranında yerleşik olan bcl-2, mitokondriden sitokrom c salınmasını uyararak bir sistein proteaz olan kaspazların aktivasyonunu önler. Dolayısıyla artmış bcl-2 ekspresyonu, hücre döngüsünü etkileyerek apoptozisi engellemektedir (130). Artmış bcl-2 ekspresyonu akciğer adenokarsinomlu hastalarda %54.5 olarak saptanmış ve adenokarsinomda prognostik gösterge olabileceği savunulmuştur (131).

ALK/ EML4

Akciğer kanserinin alt tiplerinin bir kısmında anaplastic lymphoma kinase (ALK) geni tarafından kodlanan tirozin kinaz reseptörünün hücre içi kinaz parçası ile echinoderm microtubule-associated protein-like 4 (EML-4) tarafından kodlanan tirozin kinaz reseptörünün hücre içi kinaz parçasının amino terminal ucu birleşerek ALK/EML-4 füzyon proteinini oluştururlar (132). EML4-ALK füzyonu, 2. kromozomun kısa kolunda bulunan 2p21 ve 2p23 noktaları arasında kalan yaklaşık 12mb uzunluğundaki kromozomal parçanın inversiyonu (ters dönme) sonrasında meydana gelir ve onkojenik etkiye sahip yapısal olarak aktive olmuş bir protein kinaz eksprese olur. EML4-ALK pozitifliği anti-EGFR tedavisine (tirozin kinaz inhibitörü ilaçlar) direnç ve hücrenin proliferasyonu ve apoptozisin inhibisyonu ile ilişkilidir (133).

Bu füzyon proteini seçilmemiş NSCLC hastalarının yaklaşık %4' ünde tanımlanmıştır (134).

2.3.8.4.4. Tümör Baskılayıcı Genler

Hücre büyümesinin kontrolü, DNA tamiri ya da apoptozisi gerçekleştiren proteinleri kodlayan tümör baskılayıcı genlerin inaktivasyonuna yol açan mutasyonlar da kontrolsüz hücre büyümesine neden olabilir. Bu genlerin inaktivasyonu veya delesyonu, kontrolsüz büyümeye ve hasarlı DNA içeren hücrelerin apoptozisinde azalmaya neden olabilir.

p53

17. kromozom üzerinde bulunan p53 geninin ürettiği p53 proteini hücre bölünmesini S fazında kontrol eder. DNA' nın herhangi bir nedenle hasarı p53' ü indükleyerek siklin bağımlı kinaz inhibitörleri aracılığı ile hücre siklusunu durdurur ve DNA tamiri yada apoptozise neden olur (135).

P53' ün homozigot delesyonunun akciğer kanserinde en önemli genetik anormalliklerden birisi olduğu ve SCLC' de %90, NSCLC' de %65 oranında görüldüğü belirtilmiştir. p53' ün inaktivasyonuna neden olan mutasyonların ise SCLC' de %80-100 oranında gözlemlendiği rapor edilmiştir (136).

Retinoblastom Geni

13. kromozom üzerinde yer alan retinoblastom geni (Rb) geni 105 kDa ağırlığında bir protein üretimine neden olur. Bu protein hipofosforile halde iken bir transkripsiyon faktörü olan elongasyon 2 faktör (E2F)' ü inaktive eder ve hücre siklusunu durdurur. Rb proteini fosforile edilerek inaktif hale geldiği zaman veya Rb geninin mutasyonu durumunda hücre siklusu kontrol edilemez bir şekilde ilerler ve sonuçta hücresel çoğalma ve DNA sentezi artar (90).

NSCLC de Rb gen mutasyonu %7.7 oranında gözlenmiştir (137). Ayrıca p53 gen mutasyonu, amplifikasyonu ve Rb gen delesyonunun kötü prognoz işareti olduğu belirtilmektedir (79).

2.3.8.5. Tümör Evresi

T Durumu/Tümör Boyutu

Evre I NSCLC' de primer tümör boyutunun yaşam süresi üzerine çok önemli bir etkisi olduğu gösterilmiştir. Evre IA'da %67'den %83'e ve Evre IB'de de %50'den %85'e arasında değişen 5 yıllık yaşam süresi oranları rapor edilmiştir (62, 138). Evre I tümörleri daha detaylı incelendiğinde (0-2 cm, 2-4 cm, 4 cm ve üzeri) 5 yıllık yaşam süresi sırasıyla %74, %60 ve %45 olarak belirtilmiştir (138).

Evre I, T1 aşamasında olan hastalık bir basamak daha evrelendirilerek tümör boyutlarına göre 0.1-1 cm, 1.1-2 cm, 2.1-3 cm olarak gruplandırıldığında yaşam süresi

oranlarını %90, %86.1 ve %65.4 olarak bildirilmiştir (139). Evre II akciğer kanserinde de T1N1'de 5 yıllık yaşam süresi %55 iken T2N1'de bu oran %39 olarak tespit edilmiştir (62). T1 tümörlerinde görülen istatistiksel olarak anlamlı uzamış yaşam süresi değişikliklerine dayanarak uluslararası akciğer kanseri evrelendirme sistemi yeniden düzenlenmiş ve Evre I, IA ve IB, Evre II, IIA ve IIB olarak sınıflandırılmıştır.

Erken evre akciğer kanserinde tümörün lokalizasyonu da prognostik faktör olarak kabul edilmiştir. Visseral plevra invazyonunun toplam yaşam süresini olumsuz yönde etkilediği gösterilmiştir (140). Bu prognostik önemden dolayı visseral plevra invazyonu gösteren tümörler 3 cm'den küçük olsa bile T2 olarak kabul edilirler (62).

Lenf Nodu Durumu

Evre II kanserli hastalarda N1 nodların sayısı ve lokalizasyonları tümörün boyutundan çok daha önemli bir yere sahiptir.

Evre II hastalarda bir tane N1 pozitifliğinin (5 yıllık yaşam süresi %45), çok sayıda N1 pozitifliği (5 yıllık yaşam süresi %31) ile karşılaştırıldığında daha olumlu bir prognostik faktör olduğu rapor edilmiştir (141).

Evre II akciğer kanserli 78 hastadan, lobar N1 nodlu hastaların hiler N1 nodlu hastalara göre 5 yıllık yaşam süresi avantajının belirgin yüksek olduğu gözlenmiştir

(%64.5'e %39.7). Ayrıca bu çalışmada N1 nodlarının lokalizasyonuna göre metastatik yayılımın da farklı bölgeleri kapsadığı gösterilmiştir. Lober N1 hastalarda metastaz en sık beyine gerçekleşirken, hiler N1'li hastalarda akciğer en sık etkilenen bölgedir (142).

2.3.8.6. Lenfatik ve Kan Damar İnvazyonu

Lenfatik veya kan damarı invazyonunun varlığı NSCLC' de tümörün biyolojik saldırganlığının bir belirtisi olarak kabul edilmektedir.

Yapılan bir çalışmada nüks olan 17 hastanın 15'inde uzak bir bölgede venöz kan damarı invazyonu olduğu gösterilmiş ve invaziv venlerin metastatik yayılım için kaynak oluşturduğu iddia edilmiştir (140).

Damar invazyonunun varlığı prognozda önemli bir faktör olarak rapor edilmektedir (138).

Rutin histolojik inceleme ve ışık mikroskopisi teknikleri ile tümörün boyutu, N durumu, histolojisi, diferansiasyonu, vasküler-lenfatik invazyon değerlendirilebilmekte, fakat bu metodların sensitivitesinin düşük olduğu bilinmektedir. Örneğin histolojik olarak negatif bir lenf bezi %15 oranında mikrometastaz içerebilir (143).

Tümör İnvazyonu

Bir tümör kolonisinin büyümesi ve invaziv olabilmesi için 2 işlem gereklidir:

1. Bazal membranın yıkımı
2. Anjiogenez (yeni damar oluşumu)

2.3.8.6.1. Bazal Membran Yıkımı

Plazminojen aktivatörleri plazminojeni plazmine çevirirler. Plazmin kanser hücrelerinin invazyonu ve metastazı esnasında ekstraselüler matrikste bazal membranında dahil olduğu çeşitli proteinleri yıkar ve plazminojen aktivatör inhibitörleri aracılığı ile kontrol edilir (144).

Yapılan bir çalışmada azalmış plazminojen aktivatör inhibitör düzeyinin NSCLC hastalarında azalmış yaşam süresi ve artmış lenf bezi metastazı ile uyumlu olduğu gösterilmiştir (145).

2.3.8.6.2. Anjiogenez

Yeni kan damarı oluşum süreci anjiogenez olarak adlandırılmaktadır. Anjiogenez oluşumunda gerçekleşen ilk olay var olan bir damarın stabilitesinden sorumlu dyvar hücresi olan ‘mural perisit’ hücrelerinin damar duvarını yıkmasıdır. Daha sonra ‘ipucu’ hücresi olarak adlandırılan filizlenmenin ucundaki özelleşmiş endotel hücresi bazal membranı yırtarak göç eder. İpucu hücrelerini takip eden ‘stalk’ hücreleri çoğalır ve tüp formunu oluşturur. Sonuçta olgun olan yeni damar duvarlarına perisitler yerleştirilir (11).

Anjiogenez, birçok kanserin büyümesi, invazyonu ve metastazında önemli bir rol oynar. Normal gelişim ve fizyolojik tamir sürecinde sıkı bir kontrolle gerçekleşen anjiogenez, malign değişimin yaşandığı dokularda tümör dokusunun büyümesi ve metastatik özelliğin kazanılmasından sorumlu faktörlerden birisidir. Anjiogenez aktivitesinin kanserli hastalar için kötü prognoz ve metaztaz insidansındaki artışla ilişkili olduğu gösterilmiştir (6). Anjiogenez genellikle uyarıcı ve baskılayıcı faktörler arasındaki denge ile kontrol altında tutulur. CD34, von Willebrand faktör ve vascular endothelial-cadherin gibi vaskularizasyonu uyarıcı moleküller damar endotel hücrelerinden salgılanırlar ve anjiogenez için biyolojik belirteçler olarak belirtilmektedirler (7). Ayrıca vücutta damar oluşumunu baskılayıcı birçok molekül de sentezlenmektedir. Bu moleküllere örnek olarak, PEDF (8), chondromodulin-1 (9) ve maspin (10) verilebilir. Baskılayıcı özelliğe sahip bu moleküller damarlara dıştan yapışmış olarak bulunur ve fonksiyonel bir bariyer gibi yeni damar oluşumunu engeller (11).

Uyarıcı ve baskılayıcı faktörler arasındaki denge ile kontrol altında tutulan anjiogenezi uyaran en önemli faktörlerden biri VEGF’ dir. Kan temininin yetersiz oluşu ve kanser hücrelerinin sürekli çoğalması sonucu tümör dokusunda ortaya çıkan hipoksik ortam sonucu hypoxia-inducible factor (HIF) 1 α ve HIF1 β birleşerek heterodimerik yapılı bir transkripsiyon faktör olan HIF1 aktiveleşir. HIF1, VEGF

geninin promoter bölgesindeki hipoxia responsive elemente bağlanarak VEGF üretimini uyarır (146). Tedavi öncesi kandaki VEGF seviyeleri ile NSCLC hastalarının yaşam süreleri tahmin edilebilir (147).

FGF-2 anjigenezi aktive eden bir diğer önemli faktördür. FGF-2' nin uyarılmasının kanser dokusunda anjigenez ile ilişkili olduğu belirtilmiş ve bazı NSCLC hücrelerinde FGF-2' nin eksprese edildiği gösterilmiştir (147).

p53'ün kontrolü altında eksprese edilen thrombospondin-1 ise NSCLC hücrelerinde anjiogenezisi inhibe eden faktörlerin başında gelir. NSCLC hücreleri de dahil bazı kanser hücrelerinde p53 genindeki değişiklik sonucu thrombospondin-1 ekspresyonu azalır. NSCLC' nde thrombospondin-1 ekspresyonunun azalması kötü prognoz ile ilişkilidir (148).

NSCLC' de mikrodamarların sayısı anjiogenezi değerlendirmede kullanılabilir. Yüksek vaskülarizasyonu olan Evre I akciğer kanserli hastalarda 2 yıllık yaşam süresi %50 iken, aynı evre düşük vaskülarizasyonu olan hastalarda bu oranın %95 olduğu belirtilmiştir (149).

2.3.8.6.2.1. Vasohibin-1

Son yıllarda üzerinde durulan insan VASH1 geni 14q24.3 kromozomunda lokalize olup 8 exon ve 7 introndan oluşmaktadır. İnsan VASH1 proteininin 2 formu vardır; VASH1A ve splice form olan VASH1B. VASH1A proteini 365 amino asit (aa)' den oluşurken VASH1B ise 204 aa' den oluşmaktadır (tablo 2.10). Anti-anjiogenik aktiviteye sahip formu VASH1B proteindir (150).

Yapılan araştırmalar sonucunda VASH1 genine homolog başka bir gen daha bulunmuş ve VASH2 olarak isimlendirilmiştir. VASH2 geni 1q32.3 kromozomu üzerinde lokalize olup 9 exondan oluşmuştur. VASH2 proteini 355 aa' den meydana gelir. VASH1' in tersine herhangi bir büyüme faktörü veya sitokinin indüklemesi ile salgılanmaz. VASH1 ile VASH2 arasında amino asit seviyesinde % 52.5 oranında benzerlik mevcuttur (151).

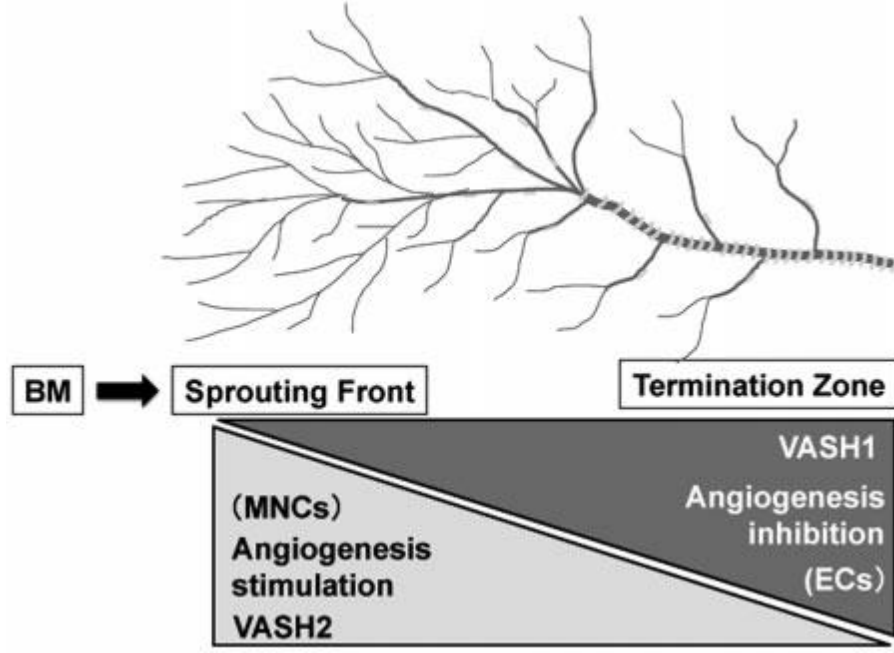
Tablo 2.10. İnsan Vasohibin 1 Proteininin Amino Asit Dizisi

1	MPGGKKVAGG GSSGATPTSA AATAPSGVRR LETSEG TSAQ RDEEPEEEGE
51	EDLRDGGVPF FVNRGGLPVD EATWERMWKH VAKIHPDGEK VAQRIRGATD
101	LPKIPIPSVP TFQPSTPVPE RLEAVQRYIR ELQYNHTGTQ FFEIKKSRPL
151	TGLMDLAKEM TKEALPIKCL EAVILGIYLT NSMPTLERFP ISFKTYFSGN
201	YFRHIVLGVN FAGRYGALGM SRREDLMYKP PAFRTLSELV LDFAAYGRC
251	WHVLKKVKLG QSVSHDPHSV EQIEWKHSVL DVERLGRDDF RKELERHARD
301	MRLKIGKGTG PPSPTKDRKK DVSSPQRAQS SPHRRNSRSE RRPSGDKKTS
351	EPKAMPDLNG YQIRV

* (152)

Yapılan bir hayvan çalışmasında subkutanöz anjiogenez incelenmiş ve endojen VASH1 ekspresyonunun ön filizlenmedeki endotel hücrelerinde az miktarda mevcut olduğu gözlenmiştir. Buna karşın terminal zondaki çoğalmayan endotel hücrelerinde yüksek miktarlarda var olduğu tespit edilmiştir. Yine aynı çalışmada VASH1 homoloğu olan VASH2 proteininin ise kemik iliğinden mobilize olan mononükleer hücrelerde eksprese olduğu ve ön filizlenmedeki endotel hücrelerini uyararak anjiogenezi aktive ettiği belirlenmiştir. Bu çalışmanın sonucunda VASH1 proteininin terminal zondaki endotel hücrelerinden eksprese olarak anjiogenezi sonlandırdığı, VASH2' nin ise ön filizlenme aşamasında damar etrafına infiltre olan mononükleer hücrelerden salgılanarak anjiogenezi artırdığı tespit edilmiştir. VASH1 knockout (KO) fareler analiz edilmiş ve anjiogenezin sonlanması gereken yerlerde çok sayıda olgunlaşmamış mikrodamarların varlığı gösterilmiştir. VASH2 KO farelerde ise anjiogenezin ilk aşaması olan ön filizlenmenin yetersiz olduğu gözlenmiştir (11).

VASH1' in anjiogenezi sonlandırmanın yanısıra endotel hücrelerinin strese karşı direncini artırdığı ve damarları stabilize ettiği de belirlenmiştir (153).



Şekil 2.1. VASH1 ve VASH2 Anjiogenez Aşamasındaki Etkileri

VASH1 proteini, en potent anjiogenez aktivatörleri olan VEGF ve FGF-2 aracılığı ile indüklenir ve in vivo ortamda anjiogenezin aktif olduğu bölgedeki endotel hücrelerini seçici olarak tanıyarak inhibe eder. VASH1 ekzojen olarak eklendiği zaman VEGF ve FGF-2 tarafından uyarılan endotel hücrelerinin proliferasyon ve migrasyonunu inhibe eder. Bu inhibisyonun VEGF reseptörlerinin fosforilasyonunun inhibisyonundan kaynaklanmadığı belirtilmiş ancak mekanizması henüz tam olarak anlaşılamamıştır (12).

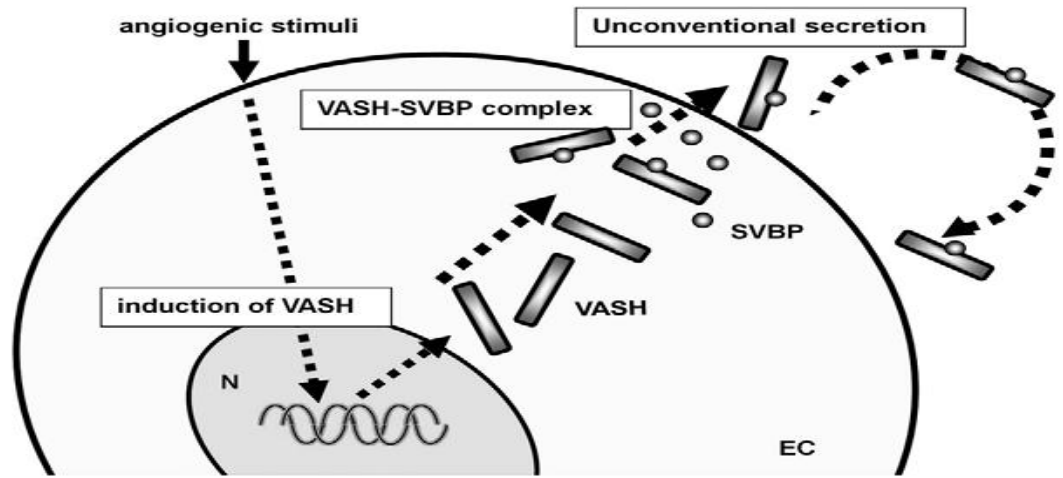
İnsan umbilikal ven endotelial hücre kültürü (HUVEC) aracılığı ile VEGF'ün VASH1' i indükleyici etkisi araştırılmıştır. VEGF iki ayrı tirozin kinaz reseptörü ile hücre içine sinyal iletir. Bu reseptörler VEGFR1/Flt-1 ve VEGFR2/Flk-1 olarak adlandırılmaktadır. VASH1' i artırıcı etkisi olan reseptörün hangisi olduğu araştırılmış ve sonuçta VEGF aracılığı ile VASH1' i indükleyen reseptörün VEGFR2 olduğu anlaşılmıştır. VEGFR2 bu etkisini PKC δ (protein kinaz C δ) aracılığı ile göstermektedir. VEGFR2' nin hücre içi sinyal yolunu anlamak için çeşitli araştırmalar yapılmıştır. PKC δ ' nın spesifik bir inhibitörü olduğu bilinen 'rottlerin' isimli maddenin uygulanması sonucu VASH mRNA artışının güçlü bir şekilde inhibe olduğu ve PKC aktivatörü olduğu bilinen 'phorbol 12-myristate

13-acetate' maddesinin kullanımından sonra ise VASH ekspresyonunun zenginleştigi gösterilmiştir. Bu sonuçlar VEGF aracılı VASH artışı için temel sinyalin PKC δ tarafından oluşturulduğunu göstermektedir (150). PKC ailesi 12 adet izoformdan oluşur ve VEGF endotel hücrelerinde PKC α , PKC β ve PKC δ ' yı aktive eder. PKC α ve PKC β anjiogenezi aktive ederken PKC δ inhibe etmektedir (154).

Yapılan analizler sonucunda 365 aa' den oluşan VASH1 proteininin glikozile olmadığı belirlenmiştir. Bu aminoasid dizisinin analiz edilmesi sonucu temel aa kümesinin C-terminal ucunda bulunduğu fakat klasik bir sinyal dizisine sahip olmadığı belirtilmiştir. Aynı zamanda endoplazmik retikulum (ER) belirteci olan calnexin ile ko-lokale olmadığı ve ekstraselüler ortama alınlmamış bir şekilde salındığı ve taşındığı düşünülmektedir (12). Yapılan analizler sonucunda VASH1' in sekresyonunu düzenleyen özgün bir şaperon olan small vasohibin-binding protein (SVBP) tespit edilmiştir (155).

Sitozoldeki ribozomlarda sentezlenen sekretuar proteinlerin çoğu hücredeki son yerlerine yönlendirilme aşamasında sinyal dizisi adı verilen önemli bir etkene ihtiyaç duyarlar. Sinyal dizisi proteinin N-terminal ucunda bulunan 10-15 kadar hidrofobik amino asit içeren toplam 13-36 aa' den oluşan kısa bir dizidir. Sinyal dizisini içeren proteinlerin sentezlendiği ribozomlar bu dizi sayesinde endoplazmik retikuluma yönelirler. Sinyal dizisi sentez sürecinde erken belirir ve ribozomdan dışarı çıktıkça sinyal tanıyan parçacık (SRP) ile bağlanır. SRP bundan sonra GTP' yi bağlar ve polipeptid 70 aa kadar uzunluğa ulaştığında sentezi durdurur. GTP-bağlı SRP, mRNA ya bağlı ribozomu ve tamamlanmamış polipeptidi ER' nin sitozolik yüzeyindeki GTP-bağlı SRP reseptörlerine yönlendirir. SRP ribozomdan her iki GTP hidrolizi ile ayrılır. Bu arada SRP tarafından durdurulmuş olan protein sentezi yeniden başlayarak ER lümenine aktarılır. Protein sentezi bitince sinyal dizisi ER lümeninde bir sinyal peptidazla uzaklaştırılır ve ribozom ER membranından ayrılarak yeniden kullanıma katılır. Sinyal dizisinin uzaklaştırılmasından sonra proteinler çoğunlukla şaperonlar yardımı ile katlanır, disülfid bağları oluşur ve birçok protein glikozillenir. Uygun şekilde değiştirilen proteinler ER' dan golgi kompleksine gelerek hedef yerine doğru yönlendirilir (156).

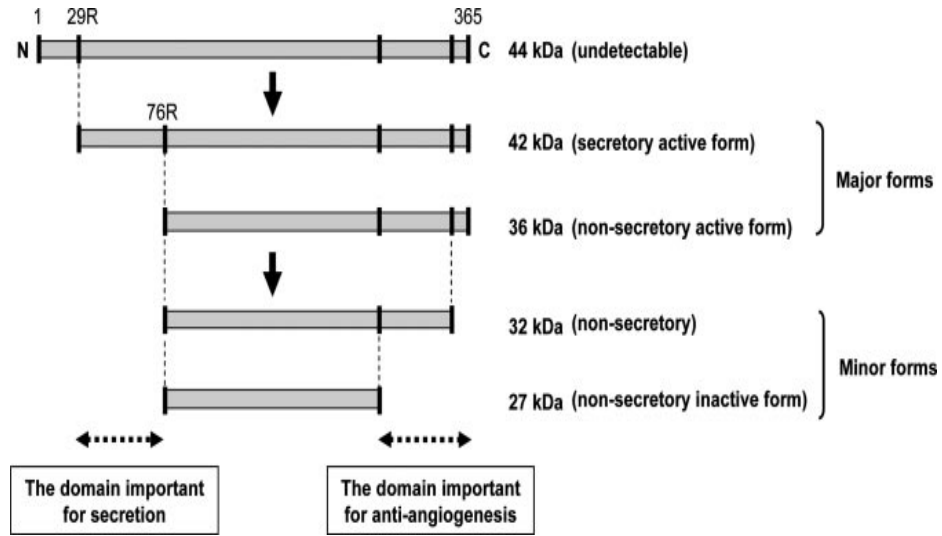
Sekretuar proteinlerin çoğu sentez ve salgılanma aşamasında bu yolu izlerken VASH1 proteini alışılmamış bir sekresyon yolunu izlemektedir. VASH1 ER' a translokasyon için klasik sinyal dizisine sahip değil ve ER belirteci olan calnexin ile ko-lokalle değil. Henüz tam olarak anlaşılammış olmakla birlikte yapılan çalışmalar sonucunda VASH1 için spesifik 66 aa' den oluşan ve small vasohibin binding protein (SVBP) olarak adlandırılan bir şaperon tespit edilmiştir. SVBP mRNA ekspresyonu normal koşullar da dahil olmak üzere özellikle kemik iliği, dalak ve testiste yüksek miktarlarda tespit edilmiştir. Kültür edilmiş endotel hücrelerinde VASH1 ile SVBP' nin hücre içinde birlikte buldukları ve beraber sekrete edildikleri hatta VASH1' in posttranslasyonel sürecinde beraber buldukları bildirilmiştir. Yapılan tüm bu çalışmalar sonucunda SVBP' nin endotel hücrelerinden VASH1 sekresyonunu düzenlediği ve anti-anjiogenik aktivitesine katkıda bulunduğu anlaşılmıştır. Ayrıca SVBP VASH1' in ubiquitilasyonunu engelleyerek stabilizasyonunu artırmaktadır (155).



Şekil 2.2. VASH1 – SVBP ilişkisi

VASH1' in posttranslasyonel sürecinin daha iyi anlaşılabilmesi amacı ile yapılan bir çalışmada hücre kültürüne transfer edilen insan vasohibin cDNA analizi yapılmıştır. Hüresel ekstraktın incelenmesi sonucunda 44 kDa ağırlığında üretilen VASH1 proteininin posttranslasyonel modifikasyon ile 42 ve 36 kDa ağırlığında 2 major ve 32 ve 27 kDa ağırlığında 2 minor bant ürettiği tespit edilmiştir. Translasyondan hemen sonra amino terminal ucu işlendiği için 44 kDa formu

görülmemektedir. VASH proteininin var olan diğer formlarının anlaşılabilmesi için temel aminoasitler üzerinden mutant formlar oluşturulmuştur. Yapılan analizler sonucu amino terminal ucundaki 29. ve 76. arjinin aminoasitleri üzerinden 2 farklı bölünmenin gerçekleştiği gözlenmiştir. 29. arjininden bölünürse 42 kDa' luk form ve 76. arjininden bölünürse 36 kDa' luk form oluşmaktadır. Fakat western blot analizleri ile hücre lizatında temel olarak 42 kDa' luk form tespit edilmiştir çünkü diğer formlar çok düşük miktarlarda mevcuttur. Proteinin sekresyonu için amino terminal ucundaki 29. arginin aa' i ile 76. arjinin aa' i arasındaki bölgenin önemli olduğu tespit edilmiştir. Karboksil ucundan yapılan bölünmeler henüz tam olarak açıklanamamıştır. Var olan bilgiler ışığında karboksi terminal ucundaki 77. metionin aminoasidinden bölünme olursa 32 kDa' luk form ve 47 aa sonra tekrar bölünme sonucunda 27 kDa' luk inaktif formun oluşacağı söylenebilir. Sonuç olarak N-terminal bölgenin sekresyon için, C-terminal bölgenin ise anti-anjiogenik fonksiyon için önemli olduğu söylenebilir (157).



Şekil 2.3. VASH1 Proteininin Posttranslasyonel İşlenme Süreci

İmmünohistokimyasal analizler VASH1 proteininin, gelişmekte olan insan embriyosunun endotel hücrelerinde mevcut olduğunu, doğumdan sonra azaldığını ve anjiogenezin aktif olduğu bölgelerde tekrar ortaya çıktığı gösterilmiştir. Yetişkin bireylerde ise beyinde ve daha az miktarda kalp ve böbreklerde varlığı gösterilmiştir. İnflamasyon patolojik anjiogenez ile ilişkili olduğu için ortama salınan sitokinler

(tümör nekrozis faktör (TNF)- α , interlökin (IL)-1 β ve interferon (IFN)- γ VEGF aracılı VASH1 ekspresyonunu artırır (12). Yapılan hayvan çalışmalarında da fizyolojik olaylar ve kanser dahil bazı patolojik durumlarda anjiogenez esnasında endotelial hücrelerden vasohibin 1'in eksprese edildiği histolojik analizlerle gösterilmiş ve VASH1' in bir anjiogenez biomarkeri olarak kabul edilebileceği ifade edilmiştir (13).

VASH1 KO farelerde geliştirilen tümörler incelenmiş, çok sayıda olgunlaşmamış damar olduğu ve tümörün daha hızlı büyüdüğü tespit edilmiştir (158). Ayrıca VASH1'in tümör lenfanjiogenezini ve lenf nod metastazını azalttığı yani anti-lenfanjiogenik etki gösterdiği belirtilmektedir (159). Başka bir çalışma kanser hücrelerinde VASH2 ekspresyonunun azaldığı durumlarda hem anjiogenezin hemde tümör büyümesinin belirgin derecede inhibe olduğu gözlenmiştir (160). NSCLC hastalarla yapılan immunohistokimyasal bir çalışmada, yüksek VASH1 ekspresyonunun kötü prognozla ilişkili olduğu ve VASH1 'in NSCLC tedavisinde yeni bir hedef olabileceği iddia edilmiştir (22).

VASH1 seviyelerinin artışının, ürotelyal (14), kolorektal (15), prostat (16), hepatoselüler (17) ve meme (18) gibi çeşitli organ kanserlerde metastaz ve kötü prognoz ile ilişkili olduğu ve VASH1 'in bu tümörlerde prognostik faktör olarak kullanılabilmesi de belirtilmiştir. Mide kanserli hastalarda yapılan bir çalışmada, VASH1 ekspresyonu metastatik olmayan kanser hücreleri ile kıyaslandığında metastatik kanser hücrelerinde önemli ölçüde yüksek bulunmuştur (19). Endometrial (20) ve servikal (21) kanserler ile yapılan çalışmalarda da yüksek VASH1 ekspresyonunun VEGF ekspresyon artışı ile doğru orantılı olduğu gösterilmiştir.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmaya, Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulunun 20.03.2014 tarih ve 4 no'lu toplantının 6 no' lu kararı ile onay alındıktan sonra başlandı. Göğüs hastalıkları kliniğine Mart 2014-Mart 2015 tarihleri arasında, öksürük, nefes darlığı ve hemoptizi gibi şikayetler ile başvuran, yapılan radyolojik ve biyokimyasal tetkikler ile aynı zamanda bronkoskopi ve gerek duyulması halinde gerçekleştirilen biopsi işlemleri sonrası alınan örneklerin histopatolojik olarak değerlendirilmesi ile akciğer kanseri tanısı alan 43 hasta 1. grup olarak çalışma kapsamına alındı. Hastalar ile aynı demografik özelliklere sahip, kanser dışı akciğer hastalığı tanısı alan 39 hasta 2. grubu oluşturdu. Çalışma gruplarındaki tüm olgular çalışma hakkında bilgilendirilip, imzalı onam formları alındıktan sonra çalışmaya dahil edildiler.

Çalışmaya dahil edilme kriterleri; 30-85 yaş arası, yeni akciğer kanseri tanısı alan veya kanser dışı akciğer hastalığı olan bireyler olarak belirlendi. Kanser dışı akciğer hastalığı varlığı için kriterler ; öksürük, nefes darlığı ve hemoptizi gibi akciğer hastalığını düşündüren semptomlar ile başvurmuş olmak ve yapılan tetkikler sonucunda akciğerlerin interstisyel dokusunu etkileyen sarkoidoz, tüberküloz, pnömoni, hemoptizi ve KOAH gibi hastalıklardan birine sahip olmak idi.

Çalışma dışında bırakılma kriterleri; akciğer kanseri dışında herhangi bir malignite varlığı, aktif kemoterapi, immünoterapi veya radyasyon tedavisi almak ve son üç ay içinde akciğerlere yönelik cerrahi geçirmek olarak belirlendi.

3.1. Kan Örnekleri

Çalışmaya dahil olan hastalardan herhangi bir ilaç tedavisi başlanmadan ya da cerrahi müdahale yapılmadan önce rutin biyokimya tetkikleri için alınan kan örnekleri pıhtılaşması için 10-20 dk. tüp dik pozisyonda olacak şekilde bekletildikten sonra +4°C'de, 4000 rpm' de 15 dk santrifüj edildi. Elde edilen serum örnekleri alikotlanarak -80°C'de derin dondurucuya konuldu ve analiz edileceği güne kadar burada bekletildi.

3.2. Bronkoalveolar Lavaj Örnekleri

Çalışmaya dahil olan hastalardan herhangi bir ilaç tedavisi başlanmadan ya da cerrahi müdahale yapılmadan önce tanı konulması amacı ile gerçekleştirilen bronkoskopi işlemi sonrasında fırçalama veya biopsi yapılmamış olması koşulu ile bir miktar serum fizyolojik belirlenmiş bir akciğer segment bronşuna verildi. Verilen sıvı belirlenmiş bir basınç ile geri aspire edildi. Elde edilen bu lavaj örnekleri alikotlanarak -80°C'de derin dondurucuya konuldu ve analiz edileceği güne kadar burada bekletildi.

3.3. Analitlerin Tayin Yöntemleri

Serum ve BAL VASH1 düzeyleri günler arası varyasyondan etkilenmemesi için aynı gün ölçüldü. Serum ve BAL örneklerinde VASH1 düzeyleri ELISA yöntemiyle, "Human Vasohibin-1 ELISA Kit" (Lot: 30211832) kullanılarak, üretici firmanın yönergeleri doğrultusunda ölçüldü. Kitin ölçüm aralığı 0.156-10 ng/mL arasında idi. Tespit etme sınırı olan 0.05 ng/ml'nin altında bulunan değerler '0' olarak kabul edildi.

Elisa kit parametreleri şöyle idi:

Detection range: 0,156-10 ng/mL

Sensitivity: 0,05 ng/ml

Specific: diğer faktörler ile cross reaksiyon bulunmamaktadır

Intraassay Precision: ≤ %8

Interassay Precision: ≤ %12

Storage: -20

Spesifications: 96T

Ölçüm için uygulanan işlemler şöyle idi:

Çalışma gününe kadar -80°C'de saklanan serum ve BAL sıvı örnekleri tamamen çözünene kadar oda sıcaklığında bekletildi ve homojen hale gelmesi için karıştırıldı.

İnsan VASH1 proteinine karşı geliştirilmiş olan spesifik monoklonal antikorlar ile kaplanan 96 kuyucuktan oluşan mikropate pipetleme öncesi 20 dk oda sıcaklığında bekletilerek hazır hale getirildi.

Yıkama solüsyonu distile su ile 1:25 oranında sulandırılarak hazırlandı.

İnsan VASH1 proteini liyofilize standart örneğine 1 mL diluent eklenerek 30 dk oda sıcaklığında bekletildikten ve yavaşça karıştırılarak hazır hale getirildikten sonra seri dilüsyonlarla 10, 5, 2.5, 1.25, 0.625, 0.312, 0.156 ve 0 ng/mL konsantrasyonlarına sahip standart çözeltiler elde edildi.

Farklı konsantrasyonlarda hazırlanan 8 adet standart, serum ve BAL sıvı örnekleri mikropate kuyucuklarına 100 µL hacminde pipetlenerek 37°C' de 90 dk inkübe edildi. Örneklerde bulunan VASH1 molekülleri bu kaplı olan antikorlara bağlandı ve yıkama solüsyonu ile 3 kez yıkanarak bağlanmayan moleküller uzaklaştırıldı.

Konsantre halde bulunan biotinli antikor, 1:100 oranında dilüe edilerek kullanıma hazır hale getirildi. VASH1 proteinine spesifik olan bu ikinci antikor da bütün kuyucuklara 100 µL hacminde eklenerek 37°C' de 60 dk inkübe edildi. İnkübasyon sonunda yıkama solüsyonu ile 3 kez yıkanarak bağlanmayan antikorlar uzaklaştırıldı.

İçinde avidin ile bağlı olan peroksidaz enzimi bulunan konsantre haldeki enzim konjugat, 1:100 oranında dilüe edilerek kullanıma hazır hale getirildi. Bütün kuyucuklara 100 µL eklenerek 37°C' de 30 dk daha inkübe edildi ve yıkama solüsyonu ile 5 kez yıkandı.

Colour reagent A ve B 9:1 oranında karıştırılarak colour reagent sıvısı kullanıma hazır hale getirildi. Bütün kuyucuklara 100 µL eklenerek 37°C' de karanlıkta bekletildi. Avidin ile bağlı peroksidaz enzimi ortama ilave edilen 3,3', 5,5'-tetra-metil benzidini okside ederek numunelerdeki VASH1 konsantrasyonu ile doğru orantılı olarak renk değişikliğine sebep oldu. 30 dk sonunda bütün kuyucuklara 100 µL asidik içeriğe sahip colour reagent C eklenerek reaksiyon durduruldu ve herbir kuyucuğun 450 nm dalga boyunda ölçümü yapıldı.

0.156 ng/mL, 0.312 ng/mL, 0.625 ng/mL, 1.25 ng/mL, 2.5 ng/mL, 5 ng/mL ve 10 ng/mL konsantrasyonlarında hazırlanan standartlar kullanılarak absorbans-konsantrasyon grafiğinden her bir örnek içindeki VASH1 konsantrasyonu ng/mL cinsinden hesaplandı.

3.4. İstatistiksel Değerlendirme

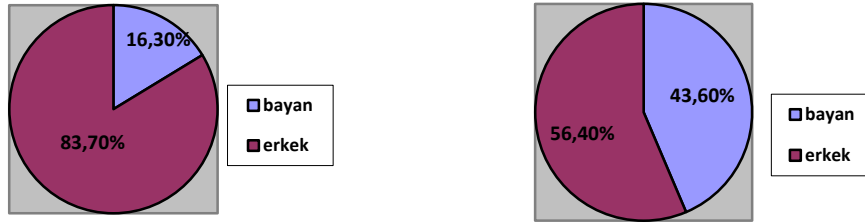
Verilerin kaydedilmesi ve istatistiksel değerlendirmeler için “SPSS 20.0 for Windows” (SPSS Inc., IL, ABD) programından yararlanıldı. Elde edilen verilere ait tanımlayıcı istatistikler kategorik değişkenler için sayı ve %, numerik değişkenler için ortalama±standart sapma olarak verildi. Verilerin normal dağılıma uygunluk analizinde Kolmogorov Smirnov Testi ve histogram grafikleme yöntemi kullanıldı. Normallik şartlarını karşılamayan verilerin bağımsız iki grup arası karşılaştırmalarında Mann Whitney U, çoklu karşılaştırmalarda ise Kruskal Wallis Testi kullanıldı. Normal dağılmayan numerik veriler arası ilişki aranmasında Spearman’s rho korelasyon yöntemi kullanıldı. Yapılan analizlerde $p < 0.05$ ise anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

Çalışmamızda akciğer kanserli 43 olgunun yaşlarının ortalama değerleri $63,6 \pm 10,9$ yıl iken benign akciğer hastalığı olan 39 olgunun $55,6 \pm 15,8$ yıl idi. Yapılan istatistiksel değerlendirmede gruplar arasında yaş bakımından önemli bir farklılık bulundu (ANOVA $p=0,009$). Bu durumda kanserli hastalar ile benign hastalar arasında olabilecek farklılığın yaştan kaynaklanıp kaynaklanmadığını belirlemek için ağırlıklandırma yapıldı.

Gruplardaki olguların cinsiyet dağılımı Şekil 4.1'de verilmiştir. Buna göre akciğer kanseri olgularının 7 (% 16,3) 'si kadın, 36 (% 83,7) 'sı erkek, benign akciğer hastalığı olanların 17 (% 43,6) 'si kadın, 22 (% 56,4) 'si erkek idi.

GRUP 1 GRUP 2



Şekil 4.1. Grupların Cinsiyete Göre Dağılımı

Serum VASH1 düzeyleri akciğer kanser olgularının 7 tanesinde, benign akciğer hastalığı olan olguların 1 tanesinde tespit etme sınırının altında idi. Grupların tümünde serum VASH1 düzeylerinin ortalama±standart sapma değerleri Tablo 4.1'de verilmiştir. Akciğer kanseri grubunda serum VASH1 düzeyleri $0,30 \pm 0,25$ ng/mL iken, benign hastalığı olan olgularda $0,38 \pm 0,31$ ng/mL idi. Standart sapma değerleri ortalama değerlerine çok yakındı. Gruplar arasında serum VASH1 düzeyleri açısından önemli farklılık yoktu (Mann Whitney U test $p=0,206$) (Şekil 4.3).

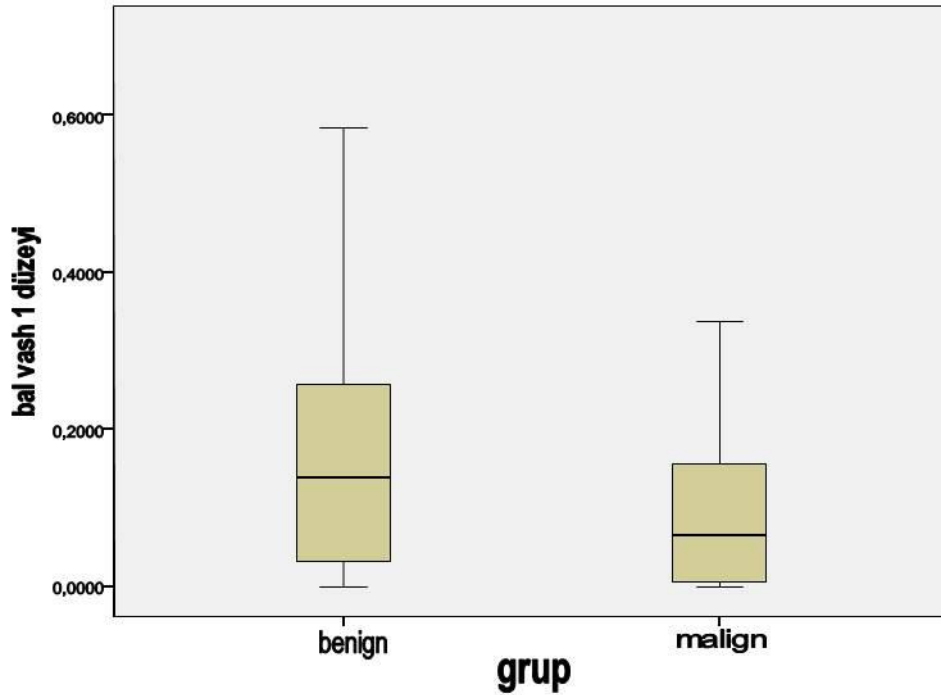
BAL sıvısı VASH1 düzeyleri değerlendirildiğinde, akciğer kanser olgularının 8 tanesinde, benign hastalığı olan olguların ise 5 tanesinde tespit etme sınırının altında idi. Grupların tümünde BAL sıvısı VASH1 düzeylerinin ortalama±standart sapma değerleri

Tablo 4.1’de verilmiştir. Akciğer kanseri grubunda, BAL sıvısı VASH1 düzeyleri $0,10\pm 0,12$ ng/mL iken bu değerler benign hastalığı olan olguların grubunda $0,19\pm 0,18$ ng/mL idi. Buna göre BAL sıvısı VASH1 sonuçları açısından 2 grup arasında önemli farklılık vardı (Mann Whitney U test $p=0,032$) (Şekil 4.2). Vakalar yaşa göre ağırlıklandırıldıktan sonra benign ve malign hastalarda ayrı ayrı bakılan BAL VASH1 ortalamaları arasında her iki grupta da ileri derecede anlamlı fark vardı (Mann Whitney U test $p<0.001$).

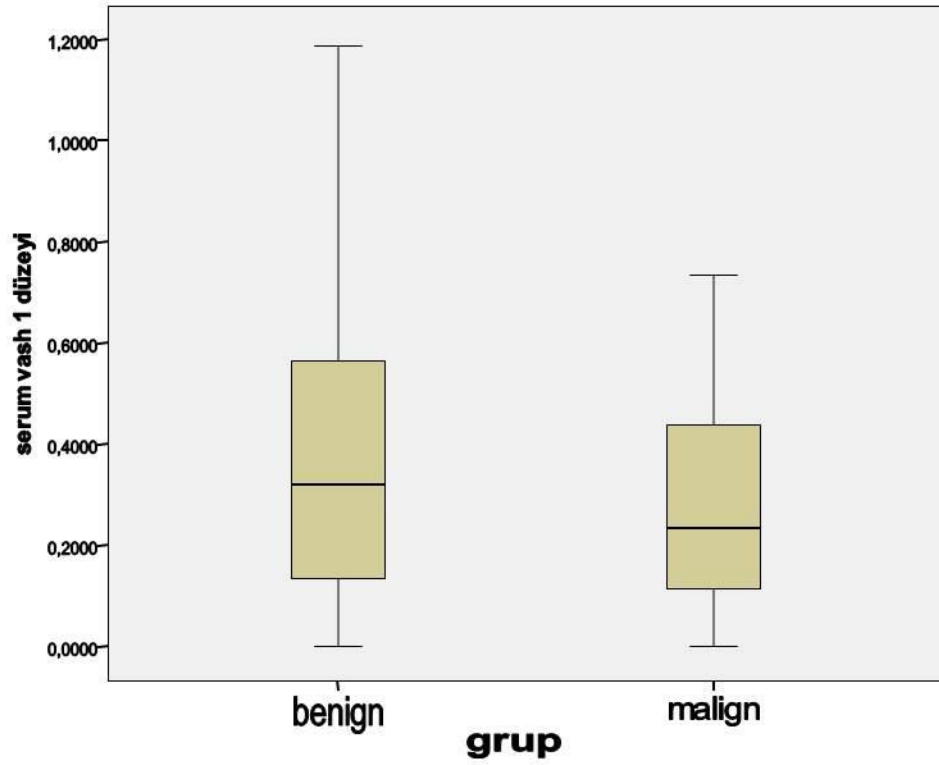
Tablo 4.1. Serum ve BAL sıvısı VASH1 Konsantrasyonları

Gruplar	Serum VASH1 (ng/mL)	BAL VASH1 (ng/mL)
Grup 1	$0,30\pm 0,25$	$0,10\pm 0,12$
Grup 2	$0,38\pm 0,31$	$0,19\pm 0,18$

*Sonuçlar ortalama±standart sapma olarak verilmiştir.



Şekil 4.2. BAL VASH1 Düzeylerinin Gruplar Arası Karşılaştırılması



Şekil 4.3. Serum VASH1 düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması

Benign ve malign vakalarda VASH1 değişkeninin normal dağılmaması nedeni ile Spearman's rho korelasyon yöntemi kullanılarak bakılan serum ve BAL sıvısı VASH1 düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı, orta dereceli, pozitif yönlü ilişki vardı (benign için $r=0.442$, $p=0.005$; malign için $r=0.364$, $p=0.016$).

Akciğer kanseri olan hastaların patoloji sonuçlarına göre tiplendirmeleri ve evrelemeleri yapıldı. Akciğer kanseri olan hastalar histolojik bulgularına göre değerlendirildiğinde 20 hastada squamöz hücreli karsinom, 7 hastada adenokarsinom ve 16 hastada küçük hücreli karsinom belirlendi. Squamöz hücreli karsinomlu hastaların 6 tanesi evre II, 5 tanesi evre III ve 9 tanesi evre IV idi. Adenokarsinomlu hastaların 1 tanesi evre III ve 6 tanesi evre IV idi. Küçük hücreli karsinomlu hastaların ise 1 tanesi evre II, 1 tanesi evre III ve 14 tanesi evre IV idi. Toplamda 7 hasta evre II, 7 hasta evre III ve 29 hasta evre IV grubuna ait idi.

Malign vakaların evrelerine göre karşılaştırılması sonucu VASH1 değişkeninin normal dağılıma uymaması nedeni ile kullanılan Kruskal-Wallis Testi' ne göre serum ($\chi^2 = 0.199$, $p=0.905$) ve BAL ($\chi^2 = 1.535$, $p=0.464$) VASH1 ortalamaları açısından gruplar arası fark anlamlı değildi. Malign vakaların histolojik tiplerine göre karşılaştırılması sonucu VASH1 değişkeninin normal dağılıma uymaması nedeni ile kullanılan Kruskal-Wallis Testi' ne göre histolojik tipler arasında serum ($\chi^2 = 1.608$, $p=0.448$) ve BAL ($\chi^2 = 0.208$, $p=0.901$) VASH1 ortalamaları açısından gruplar arası anlamlı bir fark bulunamadı. 27 hastanın NSCLC ve 16 hastanın da SCLC olarak sınıflanması durumunda yine Kruskal-Wallis Testi ile yapılan istatistik sonucu serum ($p=1.000$) ve BAL ($p=0,308$) VASH1 ortalamaları açısından gruplar arası anlamlı bir fark bulunamadı.

Sigara içen ile içmeyen vakaların serum VASH1 ortalamaları arasında anlamlı bir fark yoktu ($p=0.359$). Sigara içmeyen (mean=0.24) ve sigara içen (mean=0.12) vakaların BAL sıvısı VASH1 ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardı (Mann Whitney U test $p=0.04$). Sigara kullanan ve kullanmayan gruplar arasında Spearman's rho korelasyon yöntemi kullanılarak bakılan serum ve BAL VASH1 düzeyleri arasında sigara kullanan vakalarda anlamlı, pozitif yönlü ve yüksek dereceli ($r=0,365$, $p=0,002$); sigara kullanmayan vakalarda ise yine anlamlı, pozitif yönlü ve orta dereceli ($r=0,571$, $p=0,026$) ilişki vardı. Bulunan bu sonuçların yaş farkından kaynaklanıp kaynaklamadığını belirlemek için ağırlıklandırma yapıldı. Vakalar yaşa göre ağırlıklandırıldıktan sonra sigara kullanan ve kullanmayanlarda ayrı ayrı bakılan serum ve BAL VASH1 ortalamaları arasında her iki grupta da ileri derecede anlamlı fark vardı ($p<0.001$).

Benign hastalıklara sahip vakalar arasında 7 tanesi sarkoidoz, 11 tanesi tüberküloz, 10 tanesi pnömoni, 4 tanesi hemoptizi ve 7 tanesi KOAH tanısı almış idi. Benign hastalıklar arasında serum ve BAL sıvısı VASH1 ortalamaları açısından ayrı ayrı yapılan analizde benign hastalıklar arasında serum VASH1 (Kruskal Wallis test $p=0,448$) ve BAL VASH1 (Kruskal Wallis test $p=0,901$) ortalamaları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktu.

5. TARTIŞMA

Akciğer kanseri; sık görülen, morbidite ve mortalitesi yüksek olan bir kanser türüdür. Akciğer kanserlerinin mortalite oranının yüksek olması, hastalığın erken teşhis, yakın takip ve gerektiği anda doğru tedavi edilebilmesi aşamalarında yaşanan zorluklar nedeni ile gerçekleşmektedir. Bununla birlikte akciğer kanserinde erken tanı, nüks varlığı, invazyon ve metastaz durumunu belirlemede sitoloji ve tümör belirteci gibi noninvaziv tetkiklerin tanı değeri hala istenilen düzeylerde değildir. Hastaların yakın aralıklarla takibinin gerekmesi, araştırmacıları invaziv ve morbiditesi yüksek girişimlerin yerine noninvaziv biyokimyasal belirteçleri bulmaya yönlendirmiştir. Tümörün varlığı, nüks, invazyon ve metastaz varlığını göstermede tümör belirteci olmaya aday VASH1 gibi proteinlerin kullanımının ümit vermesi bu konudaki araştırmaların artarak devam etmesine yol açmaktadır.

Yeni damarlanmanın gerçekleşmesi olarak tanımlanan anjiogenez, tümörün hem büyümesinde hem de invazyon ve metastazında önemli faktörlerden biridir. Damar yoğunluğundaki artış, anjiogenik aktivitenin bir göstergesi olup, özellikle solid tümörlerde anjiogenezi değerlendirmek için kullanılmaktadır (161). Ayrıca anjiogenezde rol alan endotelial belirteçlerin, tümör dokuları ve kan dolaşımındaki düzeylerinin araştırıldığı çalışmalar vardır (14-16).

Tümör hücrelerinin lokal invazyon ve metastazları öncelikle bazal membranın yıkımını ve yeni damar oluşumunu gerektirir. Yeni damar oluşumu için mevcut damar endotel hücrelerinden anjiogenezi uyarıcı çeşitli biomoleküllerin sentezlenip salgılanması gerekmektedir. Anjiogenezi aktive eden bilinen en önemli moleküllerden biri VEGF' dir. VEGF sentezinin artması ile birlikte anjiogenez inhibitörü olan VASH1 molekülünün sentezi de artmaktadır (12). Özellikle yeni yapılan damarların olgun hale getirilmesi ve gerektiği yerde sonlandırılmasında önemli rol oynayan VASH1 molekülü için son yıllarda çeşitli çalışmalar yapılmış ve tümör invazyonu, metastaz ve kötü prognoz ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (13).

Damar endotelinde çeşitli sebeplerle ekspresyonu artan moleküllerin genel dolaşımdaki düzeylerinde de artış görülecektir. Aynı zamanda akciğer bronşiollerinin duvarında bulunan damar endotelinden ekspresyonu artan moleküllerin bronkoskopi

sonrası yapılan yıkama işlemi ile elde edilen BAL sıvısında da tespit edilebilmesi mümkündür. Üstelik bronş bazal epitelyum hücrelerinin de bu sıvıya dökülmesi yine bu moleküllerin BAL sıvısında tespit edilebilmesinin bir nedeni olabilmektedir. Bu nedenle akciğer kanser olgularında, serumun yanı sıra BAL sıvısında da bazı belirteçlerin düzeyi araştırılmaktadır (162).

Yapılan literatür taramaları sonucunda henüz çok yakın zamanda bulunmuş olan VASH1 proteinin akciğer kanseri dahil birçok hastalıkta serum ve BAL seviyelerinin yeterince araştırılmadığı tespit edildi. Bizim çalışmamız bu proteinin hasta serum ve BAL sıvısında 'ELİSA' yöntemi kullanılarak araştırıldığı ve kanserin histolojik tip ve evresi ile karşılaştırıldığı ilk çalışmadır. Ayrıca kanser dışı benign akciğer hastalığı olan kişilerde de serum ve BAL sıvısı VASH1 düzeyine bakılarak malign hastalıklar ile karşılaştırılmıştır. Bu konu ile ilgili daha detaylı araştırmaların yapılması literatüre daha fazla katkı sağlaması açısından önemli olabilir.

Bizim çalışmamızda serum ve BAL düzeylerini ölçtüğümüz VASH1 molekülü anjiogenezin terminal bölgede sonlandırılmasında ve olgunlaştırılmasında önemli rol oynayan anjiogenez inhibitörüdür. Literatüre uyumlu olarak çalışmamızda bu molekülü akciğer kanserli ve benign akciğer hastalığı olan bireylerin serum ve BAL sıvı örneklerinde ELİSA yöntemi ile ölçerek sonuçların gruplar arası karşılaştırmasını yaptık. Akciğer kanseri grubunda BAL sıvısı VASH1 düzeyleri benign hastalığı olan kişilere göre daha düşük iken, serum VASH1 düzeyleri açısından benign ve malign hastalar arasında anlamlı bir farklılık bulunamadı. Ancak hem benign hem de malign hastalığa sahip vakalar arasında serum ve BAL sıvı VASH1 düzeyleri arasında anlamlı ve pozitif bir korelasyon gözlenmiştir. Ayrıca çalışma dahilinde malign hastalar arasında evre ve tümörün histolojik tipine göre yapılan sınıflama ile karşılaştırılan serum ve BAL sıvısı VASH1 düzeyleri arasında anlamlı bir ilişki bulunamadı. Ayrıca her iki hasta grubunda sigara içen bireyler ile içmeyen bireyler arasında da serum ve BAL VASH1 düzeyleri karşılaştırıldı. Sigara içen kişilerde BAL sıvı örneğinde VASH1 düzeyi içmeyen bireylere oranla daha düşük bulundu. Bu sonuçlar azalmış VASH1 seviyelerinin sigara içen kişilerde kansere yatkınlığın artmasının bir göstergesi olabileceğini düşündürdü. Hasta sayısı ve dolayısı ile evre ve histolojik tip grup sayılarının daha fazla artırılarak bu çalışmanın tekrarlanması,

gruplar arası farklılıkların daha doğru değerlendirilebilmesi açısından önerilebilir.

Gelişmekte olan insan embriyosu endotel hücrelerinde belirlenebilen ve doğumla birlikte düzeyi azalan VASH1 proteininin çeşitli fizyolojik ve kanser dahil patolojik olayların ortaya çıkması ile beraber seviyesi yeniden artmaktadır. Daha önce yapılan çalışmalar kanserli hastaların tümör dokuları ile cerrahi rezeksiyon sonrası kanser hücresinin bulunmadığı temiz sınırlardan alınan doku örnekleri veya sağlıklı kişilerin doku örneklerinden çoğunlukla immunohistokimyasal analiz ile VASH1 düzeylerini belirlemişlerdir. Bizim çalışmamızda serum örneğinin yanı sıra bronkoalveolar lavaj örneklerinin de kullanılması ve sağlıklı kişilerden bu örneğin alınmasının mümkün olmaması nedeni ile kanserli hastalar sağlıklı kişiler ile değil benign akciğer hastalığı olan bireyler ile karşılaştırılmıştır. Kanserli hastalarda BAL sıvı örneklerinde VASH1 düzeylerinin benign hastalara oranla daha düşük bulunması tümör dokusunun normal dokuya oranla daha hızlı büyümesini ve damar stabilitesini sağlayan mural hücrelerden yoksun ve dolayısı ile olgunlaşmamış damar yapısının daha fazla olmasını açıklıyordu.

Yaptığımız literatür taramasında akciğer kanserli olgularda doku örneklerinde VASH1 ekspresyonunun araştırıldığı iki çalışma mevcuttur. Bu çalışmaların birinde Zhang ve ark. (22) tarafından yapılmış ve küçük hücreli dışı akciğer kanserli hastalardan cerrahi olarak alınan biopsi örneklerinde, tümör anjiogenezinde, invazyon ve metastazında rol alan VASH1 proteininin ekspresyonu immunohistokimyasal metod ile ölçülmüştür. VASH1 hem kanser dokusu hem de normal dokunun damar endotel hücrelerinin sitoplazmasında tespit edilmiştir. Yüksek VASH1 ekspresyonlu örnek sayısını normal doku örnekleri ile karşılaştırdıklarında akciğer kanserli hastalarda daha yüksek bulunmuştur. Ayrıca yüksek VASH1 ekspresyonunun TNM evrelemesi ile ilişkili olduğu ancak kanserli hasta dokularındaki yüksek VASH1 ekspresyonunun yaş, cinsiyet, sigara, histolojik tip ve tümör büyüklüğü ile önemli bir ilişkisinin olmadığı gösterilmiştir. Hastalığın evresinin arttıkça VASH1 ekspresyonunun da arttığı gösterilmiştir. Bizim çalışmamızda hastalığın evreleri ile serum ve BAL sıvı VASH1 düzeyleri yapılan tüm çalışmalardan farklı olarak 'ELİSA' yöntemini kullanılarak belirlendi ve gruplar arasında anlamlı bir fark bulunamadı. Bunun sebebinin ise zaten sayısı 43 olan malign hasta grubundaki 29 kişinin evre 4

olmasından kaynaklandığı düşünöldü. Ayrıca yapılan bu çalışma kapsamına alınan akciğer kanserli hastaların yaşam süreleri değeriendirildiğinde, yüksek VASH1 ekspresyonu olan hastaların düşük olanlara göre yaşam sürelerinin önemli ölçüde kısa olduğu belirtilmiştir. Bu bilgiler ışığında tümör dokusunda eksprese edilen yüksek VASH1' in NSCLC hastalarının kısa yaşam süreleri için bağımsız bir prognostik faktör olabileceğini ileri sürmüşlerdir. Ayrıca yüksek VASH1 ekspresyonunun kötü prognozla ilişkili olduğu ve VASH1 'in NSCLC tedavisinde yeni bir hedef olabileceği iddia edilmiştir (22).

Akciğer kanserli hastalarda yapılan diğeri çalışmada ise Hosaka ve ark. (158) NSCLC hastası 44 kişinin akciğer kanseri doku örneklerini immunohistokimyasal metod ile incelemiş ve VASH1' in fonksiyonunu daha iyi açıklamak için kültüre ettikleri Lewis lung carcinoma (LLC) hücrelerini VASH1 -/- ve wild-type (WT) farelere inokule etmişlerdir. Doku örneklerinde yapılan inceleme sonucu VASH1 proteininin kanser olmayan rezeksiyon bölgelerine oranla tümör stromasında daha belirgin eksprese edildiğini göstermişlerdir. Aynı zamanda bu çalışma ile doku örneklerinde iki önemli anjiogenik faktör olan VEGF ve FGF-2 düzeylerine ve VASH1 ile aralarındaki ilişkiye bakılmıştır. İmmunohistokimyasal analizler sonucunda NSCLC doku örneklerinde sadece VEGF ve onun indüklediği HIF-1 α ayrıca FGF-2 bulunması halinde VASH1 mevcudiyeti gösterilmiştir. Aynı çalışmada LLC hücrelerinin VASH1 -/- farelere inokule edilmesi sonucunda WT farelere göre tümör çapının çok daha büyük, büyümesinin daha hızlı, vasküler alanın daha geniş ve damarların mural hücrelerden yoksun ve olgunlaşmamış olduğu gösterilmiştir. Aynı zamanda VASH1 -/- farelere ekzojen VASH1 uygulanması durumunda farelerdeki tümör büyüklüğünün inhibe olduğu, vasküler alanın azaldığı ve tümör damarlarının daha olgun hale geldiği gösterilmiştir. Çalışmanın sonucu olarak endojen VASH1 proteininin tümör anjiogenezini inhibe ettiği için akciğer kanser tanı ve tedavisinde yeni bir test olabileceği iddia edilmiştir (158). Bizim çalışmamızda BAL sıvısında düşük seviyelerde bulunan VASH1 proteininin hem tümör dokusunun varlığı, büyüklüğü ve olgunlaşmamış damarların yoğunluğu hakkında bilgi verebilmesi hem de tedavi amacı ile kullanılabileceği hakkında yol göstermesi açısından önemli olabilir.

Tamaki ve ark. (163) meme kanserli bayan hastalarda VASH1-pozitif mikrodamar yoğunluğunu ve bunun sağkalım ve prognoz ile ilişkisini araştırmışlardır. 151 bayan hastanın 98 tanesinin histolojik olarak invaziv duktal karsinom (IDC) tipine ait olduğu belirtilmiştir. İmmunohistokimyasal olarak yapılan analizler sonucu IDC' lu hastalar ile diğer histolojik tipler arasında VASH1-pozitif mikrodamar yoğunluğu açısından önemli bir fark olduğu açıklanmıştır. Ayrıca VASH1 ile VEGF arasında pozitif bir korelasyonun olduğu ve insan meme tümör endotel hücrelerinde VASH1' in VEGF tarafından indüklendiği belirtilmiştir. Bu çalışmada VASH1' in önemli bir anjiogenez aktivatörü olan VEGF tarafından indüklenerek düzeyinin yükselebileceğinin belirtilmesi, bizim çalışmamızda malign ve benign hastalar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunan BAL sıvısında VASH1 ile VEGF düzeyleri arasındaki ilişkinin araştırılması gerektiği sonucunu doğrulamaktadır. Bu çalışma ile IDC' lu hastaların VASH1 immunodansitesinin yüksek bulunmasının insan meme kanserinin anti-anjiogenik kompensatuar mekanizmasının mevcut olduğu belirtilmiştir. Ayrıca VASH1-pozitif damar yoğunluğunun yüksekliği ile genel sağkalım arasında istatistiksel olarak önemli ve daha iyi bir ilişki olduğu fakat hastalısız sağkalım ile negatif korelasyon gösterdiği belirtilmektedir. Yapılan bu çalışmada sonuç olarak VASH1-pozitif damar yoğunluğunun prognoz ve metastaz için bir belirteç olabileceği, VASH1 proteininin tümör anjiogenezinin kontrolü amacı ile ilaç olarak kullanılabilmesi ve bu konuda daha fazla çalışmaya ihtiyaç duyulduğu iddia edilmektedir (163). Biz çalışmamızda ise çoğunluğunu evre 4 (%67) hastaların oluşturduğu malign hasta grubumuzda evreler arasında serum ve BAL VASH1 düzeyleri açısından anlamlı bir fark bulamamıştık. Kanserli hasta grubumuzda takibin oldukça zor olması nedeni ile sağkalım değerlendirilememekle birlikte akciğer kanserli hastalarda evrenin yükselmesi ile genel sağkalım arasında ters bir ilişkinin olduğu zaten bilinmektedir. Çalışmamızda malign hastalarda benign hastalara kıyasla VASH1 proteininin BAL sıvı düzeyini anlamlı derecede düşük bulmamız ile çoğunluğunu evre 4' ün oluşturduğu malign hastaların genel sağkalım süresinin daha kısa olmasının uyumlu olduğu söylenebilir. Ayrıca akciğer kanserli hastaların serum ve BAL sıvılarında VASH1 proteininin ELİSA yöntemi ile ölçümünün yanısıra yukarıdaki çalışmada yapıldığı gibi tümör dokusunun VASH1-pozitif damar

yoğunluğunun da belirlenmesi ile de sonuçlar karşılaştırılabilir ve farklı açılardan değerlendirilebilir.

Miyazaki ve ark. (14) tarafından üst üriner yoldan kaynaklanan ürotelyal karsinomlu hastalarda immonohistokimyasal yöntem ile tümör dokusunda, damar endotel hücrelerinin bir belirteci olarak kabul edilen CD34 ve VASH1-pozitif damar yoğunlukları belirlenerek karşılaştırılmıştır. 171 kanserli hasta grade ve evresine göre sınıflandırılmıştır. Çalışma sonucunda kanserli hastalarda tümör dokusunun VASH1-pozitif damar yoğunluğunun fazla olmasının kötü prognoza eğilimi artırdığı ve VASH1 dansitesi ile tümörün grade ve evresi arasında önemli bir korelasyon tespit edilmiştir. VASH1 proteininin kansere spesifik yaşam süresi ve tümör rekürrensünün her ikisi için de bağımsız bir prognostik gösterge olabileceği belirtilmiştir. Bu sonuçlar doğrultusunda VASH1-pozitif damar yoğunluğunun tümör anjiogenezinde ki malign potansiyelin bir göstergesi olabileceği savunulmuştur (14).

Yan ve ark. (15) yaptıkları çalışma ile 132 kolorektal kanserli hastanın tümör dokularını ve normal paraneoplastik doku örneklerini immunohistokimyasal ve Western blot yöntemi ile analiz etmişler ve ayrıca farklı metastatik potansiyele sahip kolorektal kanser hücrelerini ve normal kolon mukoza hücrelerini kültüre ederek Western blot ve PCR yöntemi ile incelemişlerdir. Tümör dokularının immonohistokimyasal analizi sonucunda VASH1 proteininin kolorektal kanser dokusunda %88.6 oranında eksprese edildiği tespit edilmiştir. Western blot yöntemi ile yapılan analizler ile de paraneoplastik dokularla karşılaştırıldığında kolorektal kanser dokusunda VASH1 proteininin boyanma alanının daha geniş olduğu gösterilmektedir. Western blot yöntemi kullanılarak yapılan hücre kültür analizlerinde, normal kolon hücre kültürü ile kıyaslandığında, kanserli hücre kültüründe boyanmanın daha yüksek derecede olduğu ve mRNA seviyelerinin kanserli hücrelerde önemli derecede daha yüksek olduğu gösterilmektedir. VASH1 protein ekspresyonunun yaş ve cinsiyet ile herhangi bir korelasyon göstermediği belirtilmekle birlikte yüksek VASH1 ekspresyonunun tümörün evresi, invazyonun derinliği, tutulan lenf nod sayısı ve uzak metastaz ile önemli derecede ilişkili olduğu gözlenmektedir. Ayrıca yüksek VASH1 ekspresyonlu hastalarda genel sağkalımın daha kısa olduğu belirtilmektedir. Bu çalışma ile yüksek VASH1 protein

ekspresyonunun kolorektal kanserin biyolojik davranışının agresif olma durumunu gösterebileceği ve kolorektal kanser prognozunu değerlendirmek amacı ile kullanılabilecek bir belirteç olabileceğini iddia etmektedirler (15).

Yoshinaga ve ark. (21) servikal karsinomlu bayan hastalara ait tümör dokusu ile normal servikal epitelyum dokusunda VASH1 ve VASH1' in etki mekanizmasında önemli rolü olduğu düşünülen VEGFR2 ekspresyon düzeyini immunohistokimyasal metod ile araştırdıkları çalışmalarında, normal dokular ile farklı histolojik tiplere sahip servikal karsinom dokularını karşılaştırdıklarında, MVD ve lymphatic vessel density (LVD) ile beraber vasküler endotel hücrelerindeki VASH1 ve VEGFR2 ekspresyonlarını önemli derecede düşük bulmuşlardır. Ayrıca tüm doku örneklerinde VASH1 ile VEGFR2 arasında kuvvetli pozitif korelasyon tespit etmişlerdir. Bu sonuçlara göre VASH1' in insan kanser dokularında anjiogenezi inhibe edebilecek yeni bir tedavi yöntemi olabileceğini belirtmişler ve bu mantıkla tümör damar endotel hücrelerindeki VASH1 ekspresyonunun düşük olmasının kötü prognozu tahmin etmede kullanılabileceğini iddia etmişlerdir (21).

Yine Yoshinaga ve ark. (20) endometrial karsinomlu hastalar ile menstruel siklusun farklı dönemlerinde alınmış normal endometrial epitelyum dokularını immunohistokimyasal yöntem ile inceleyerek VASH1 ve VEGFR2 düzeylerini karşılaştırmışlardır. Sonuç olarak farklı evrelerdeki endometrioid adenokarsinom doku örneklerinde ve normal fonksiyonel endometriumun sekretuar fazında VASH1 proteininin yüksek miktarlarda eksprese edildiğini ve ayrıca karsinomlu hastalarda VASH1 ile VEGFR2 arasında önemli pozitif bir korelasyon olduğunu belirtmişlerdir. Tüm bu sonuçlara dayanarak VASH1 proteininin endometrial kanserde anjogenezisin bir belirteci olarak kullanılabileceğini ifade etmişlerdir (20).

Kosaka ve ark. (16) tarafından yapılan başka bir çalışmada, 167 prostat kanserli hastada VASH1-pozitif damar yoğunluğu araştırılmıştır. Küratif cerrahi ile elde edilen doku örnekleri immunohistokimyasal yöntem ile incelenmiş ve prostat kanserli hastalar yaş, serum prostat spesifik antijen (PSA) düzeyi, Gleason skorlama ve patolojik T evrelemesine göre gruplara ayrılmıştır. Yaş ve serum PSA seviyeleri ile VASH1-pozitif damar yoğunluğu arasında anlamlı bir ilişki bulunmaz iken, evre ve skorlama ile aralarında önemli bir fark belirlenmiştir. Evre ve Gleason skoru arttıkça

VASH1-pozitif damar yoğunluğunun da arttığı tespit edilmiştir. VASH1 dansitesi yüksek damar yoğunluğunun fazla olması ile kısa yaşam süresi arasında da önemli bir fark bulunmuştur. Araştırmacılar, prostat kanserinde VASH1-pozitif damar yoğunluğunun, kısa yaşam süresi ve kötü prognoz göstergesi olarak kabul edilebileceğini ve özellikle tümör anjiogenezi için yeni bir moleküler hedef olabileceğini ifade etmişlerdir (16).

Birçok kanser türünde araştırıldığı gibi hepatocellüler karsinomda da Murakami ve ark. (17) tarafından yapılan çalışma ile immünohistokimyasal yöntem kullanılarak VASH1 ekspresyonu araştırılmıştır. 181 kişinin cerrahi patolojik dokuları üzerinde yapılan çalışma sonucunda düşük ekspresyon düzeyleri karşılaştırıldığında, tümör büyüklüğü, kısa yaşam süresi, kötü prognoz ve damar invazyon oranları yüksek VASH1 ekspresyonu olan kişilerde önemli derecede farklı bulunmuştur. VASH1 proteininin anjiogenik aktivitenin önemli bir göstergesi olduğu belirtilen çalışmada, hepatocellüler karsinomda yüksek VASH1 ekspresyonunun kötü prognozu tahmin etmede kullanılabileceği belirtilmektedir (17).

İnsan tümör dokusunda VASH1 ekspresyonunun anjiogenez ve prognoz açısından önemini ortaya koyan bir çalışma ile Lu ve ark. (164) over kanserli hastalarda EZH2 (zeste homologue 2) ekspresyonunu araştırmışlardır. Tümör damar endotel hücrelerinde VEGF aracılığı ile sitümüle olduğu ve tümör anjiogenezinde destekleyici olduğu anlaşılan EZH2' nin tümör endotel hücrelerinde susturulmasının VASH1' in seviyesinin artması ve anjiogenezin azalması ile sonuçlandığını belirtmişlerdir. Aynı şekilde over kanserli hastalarda tümör damar endotel hücrelerinde ekspresyonu artan EZH2' nin VASH1 promoterinin metilasyonu yolu ile ekspresyonunu azalttığı ve dolayısı ile over kanser büyümesinin hızlandığı ve klinik gidişatın kötüleştiği gösterilmiştir. Sonuç olarak over kanserinde EZH2' nin artması ve bu sayede VASH1 ekspresyonunun azalması ile kanserin kötü prognozlu olabileceğini belirtmişlerdir (164). Biz de çalışmamız ile, prognozlarının daha kötü olduğunu bildiğimiz malign hastaların BAL sıvılarında VASH1 düzeylerini benign hastaların BAL sıvılarından daha düşük bulmuştuk. Dolayısı ile VASH1 düzeyi düşüklüğü ile kötü prognoz arasındaki ilişki anlamlı idi.

Romatoid artrit ve osteoartrit eklemleri etkileyen ve en sık görülen iki hastalık

olmasına ve bulgularının birbirine benzemesine rağmen romatoid artrit inflamasyon ile karakterizedir. İnflamasyonun ve inflamatuvar sitokinlerin anjiogenez ve VASH1 üzerindeki etkilerini araştırmak için, Miyake ve ark. (165) tarafından romatoid artrit ve osteoartrit hastalarının sinoviyal dokularında VASH1 ve VEGF düzeyleri immunohistolojik yöntem ile incelenerek karşılaştırılmış ve romatoid artritli hastaların sinoviyal dokularında hem VASH1 hem de VEGF ekspresyon seviyeleri osteoartritli hastalara göre daha yüksek bulunmuştur. VASH1 ve VEGF düzeyinin inflamatuvar skor ile ilişkili olduğu ve romatoid artrit tedavisinde kullanılabilir olup olmadığının daha ileri araştırmalar gerektirdiği ifade edilmiştir (165).

Sato ve ark. (166) tarafından proliferatif diabetik retinopatili (PDR) hastalarda VASH1 ve VEGF' nin vitröz seviyelerinin incelendiği araştırmada, VEGF proteini ELİSA yöntemi ile ve VASH1 proteini Western blot yöntemi ile ölçülmüştür. VEGF proteininin vitröz seviyelerini PDR' li hastalarda, idyopatik gelişen maküler problemleri olan kontrol hasta grubuna göre önemli ölçüde yüksek bulunmuştur. Western blot yöntemi ile vitröz sıvıda VASH1 proteininin varlığı gösterilmiş ve bu proteinin PDR' li hastaların gözlerindeki fibrovasküler membran tarafından üretildiği savunulmuştur. Aynı zamanda vitröz sıvıda VEGF ile VASH1 seviyeleri arasında kuvvetli bir korelasyon varlığı gösterilmiştir. Araştırmacılar bu çalışma ile VASH1 proteininin retinal anjiogenezisin bir inhibitörü olduğunu ve bu etkisi ile diabetik retinopatili kişilerde anti-VEGF tedavisinden farklı ve alternatif bir mekanizma ile tedavi edici bir ajan olarak kullanılabilereğini savunmuşlardır (166).

Kronik böbrek yetmezliğini de içeren böbrek hastalığı olan kişilerde, böbrek fonksiyonlarının bozulması ile plazma ve idrar VASH1 seviyeleri arasındaki ilişki araştırılmıştır. Hinamoto ve ark. (167) tarafından yapılan çalışmada plazma ve idrar VASH1 düzeylerini ELİSA yöntemi ile ölçülmüştür. Plazma VASH1 düzeyleri ile hastaların sistolik/diyastolik kan basınçları ve yaşları arasında kuvvetli ters korelasyon tespit ettikleri bu çalışmada, plazma ve idrar VASH1 seviyeleri ile yıllık tahmini glomerular filtration rate (GFR) değişiklikleri arasında da ters bir ilişki olduğu belirtilmiştir. Dolayısı ile plazma VASH1 yüksekliğinin renal hastalığı olan kişilerde fonksiyonların bozulması açısından kötü prognozu tahmin etmede kullanılabilereğini

ancak hayvan çalışmalarını da içeren daha fazla sayıda *invivo* ve *invitro* araştırmanın yapılması gerektiği ifade edilmiştir (167).

Ito ve ark. (13) yaptıkları bir hayvan çalışmasında, kültüre ettikleri LLC hücrelerini WT ve VASH1 -/- farelere inokule etmişlerdir. Belirli bir süre sonra tümör büyüklüğünü ve vasküler alanı değerlendirdiklerinde, VASH1 -/- farelerde WT farelere kıyasla tümörün çok daha büyük ve vasküler alanın daha geniş olduğu gösterilmiştir. Ayrıca VASH1 -/- farelerde olgunlaşmamış damar ve mural hücrelerden yoksun damar yapısının daha yoğun olduğu ve bu durumun kanser hücrelerinin intravazasyonunu artırdığı sebebi ile primer tümör kaynaklı metastatik nodül ve metastatik lenf nod sayısında belirgin bir artış olduğu belirtilmiştir (13). Bizim çalışmamızda da benign hastalar ile kıyaslandığında malign hastaların BAL sıvısı VASH1 düzeylerinin daha düşük çıkması zaten bilindiği üzere tümör dokusunun olgunlaşmamış damar yoğunluğunun daha fazla olmasını açıklamaktadır.

Yapılan başka bir hayvan çalışmasında Li ve ark. (168) tarafından farelere adenovirus-mediated vasohibin transfer (Ad-VASH1) ile inkube edilmiş hepatocellular carcinoma cell line (H22) hücre enjeksiyonu ile tümör oluşturulmuştur. Ayrıca kontrol grubu oluşturularak her iki grup arasında tümör hücre proliferasyonu, büyümesi, anjiogenezi ve farelerin yaşam süreleri açısından karşılaştırma yapılmıştır. H22 hücre kültürü Ad-VASH1 ve kontrol ile inkube edildikten sonra hücre proliferasyonu mitokondrial aktiviteye dayalı '3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-Diphenyltetrazolium Bromide' yöntemi ile kolorimetrik olarak ölçülmüştür. Sonuçta Ad-VASH1 eklenmiş grubun hücre proliferasyonunu inhibe etmediği tespit edilmiştir. Ancak Ad-VASH1 ile inkube edilmiş H22 hücrelerinin farelere enjeksiyonu sonrasında bu grubun tümör büyümesinin kontrol grubuna göre daha yavaş olduğu, bu farelerin ortalama yaşam sürelerinin önemli derecede uzadığı ve anti-CD31 antikoru kullanılarak yapılan microvessel density (MVD) ölçümü ile tümör anjiogenezinin inhibe olduğu tespit edilmiştir. Yapılan bu çalışma ile VASH1 proteininin tümör hücrelerini değil fakat tümör anjiogenezinin inhibe ettiği ve VASH1' in tümör anjiogenezinin inhibisyonu amacı ile kanser tedavisinde kullanılabileceği iddia edilmiştir (168).

Akciğer transplantasyonundan sonra gelişen önemli bir komplikasyon olan bronşiyolitisi obliterans bronşiyol lümenin daralması ve anjiogenez ile karakterizedir. Bu hastalıkta anjiogenez inhibisyonunun etkisini araştırmak amacıyla Watanabe ve ark. (169) tarafından yapılan bir hayvan çalışmasında, model üzerinde intrapulmoner trakeal transplantasyon yapılarak bu işlemin bir komplikasyonu olan ve morbidite ve mortalite üzerinde önemli etkisi olan bronşiyolitisi obliterans gelişmesi sağlanmıştır. Hastalık oluşturulduktan sonra hayvan modelleri gruplara ayrılmıştır. Bir gruba VASH1 geni transfer edilmiş adenovirüs ve diğer gruba kontrol adenovirüs enjekte edilmiştir. Sonuçta 21. ve 28. günlerde doku örnekleri vasküler alan ve lümen daralması açısından incelenmiştir. VASH1 transfer edilen grupta kontrol grubuna göre daralmanın ve anjiogenezin önemli ölçüde azaldığı tespit edilmiş ve bronşiyolitisi obliterans hastalığında tedavi edici bir ajan olarak kullanılabileceği belirtilmiştir (169).

Diabetes mellitus makro ve mikrovasküler komplikasyonların gelişmesine sebep olabileceği için tehlikeli olabilen hastalıklardan birisidir. Nasu ve ark. (170) yaptıkları hayvan çalışması ile streptozisin aracılı tip I diabet oluşturdukları ratlarda, VASH1 proteininin diabetin major mikrovasküler komplikasyonu olan diabetik nefropati üzerindeki etkisini incelemişlerdir. Diabetik nefropatili ratların bir grubu Ad-VASH1 ile tedavi edilirken diğer grup kontrol kabul edilerek adenovirus-mediated beta-galaktozidaz transfer (Ad-LacZ) ile tedavi edilmiştir. Ad-VASH1 enjekte edilen grubun serum VASH1 seviyelerine immunoblot yöntemi ile bakılmış ve kontrol grubuna göre önemli ölçüde yüksek bulunmuştur. Belli bir süre sonra böbrek dokularının immunohistolojik yöntemler ile ve idrarın nefelometrik incelenmesi ile diabetik nefropatinin karakteristik erken değişikliklerinin (albuminüri, glomeruler hiperfiltrasyon ve bazı histolojik değişiklikler) Ad-VASH1 ile tedavi edilmiş ratlarda, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, önemli ölçüde inhibe olduğu gözlenmiştir. Bu inhibisyonun, VASH1 proteini tarafından antianjiogenik, antifibrotik ve anti-inflamatuar mekanizmalar aracılığı ile gerçekleştirildiği ifade edilmiştir. Araştırmacılar VASH1 proteininin, diabetik nefropatili hastalarda yeni bir tedavi stratejisi olabileceğini ileri sürmüşlerdir (170). Yine obez tip II diabetik ratlarda VASH1 proteininin tedavi edici etkisini araştırmak için Saito ve ark. (171) tarafından yapılan çalışmada ratlara intravenöz enjeksiyon yolu ile Ad-VASH1 ve Ad-LacZ

uygulanmış ve ratların böbrek dokuları histolojik yöntemler ile idrar albumini ELİSA yöntemi ile analiz edilmiştir. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında VASH1 uygulanan ratlarda glomeruler hipertrofi, glomeruler hiperfiltrasyon düzelmiş ve podositlerin onarımı sağlanarak proteinüri ve albuminüri önemli derecede azalmıştır. Bu çalışma ile VASH1 proteininin diabetik nefropatinin tedavisinde kullanılabilecek yeni bir hedef olduğu ifade edilmiştir (171).

Karaciğer sirozu dünya genelinde ölümlerin ve karaciğer tranasplantasyonunun en sık nedenlerinden birisidir. Sirozlu hastalarda görülen portal hipertansiyon, portal ven kan basıncının artışı, dalak kan akımının artışı ve portal ven çevresinde kollateral damar yapımının artışı ile karakterize bir sendromdur. Aynı zamanda stellat hücre aktivasyonu sonucu gerçekleşen karaciğer fibrozisi ile karakterize sirozda ortaya çıkan portal hipertansiyon ve diğer bulguların hemen tümünde yeni kollateral damar yapımının rolü büyüktür (172). Coch ve ark. (173) tarafından yapılan çalışmada patolojik anjiogenez üzerindeki negatif feedback etkisi bilinen VASH1 proteininin, hepatit C enfeksiyonu sebebi ile karaciğer sirozu olan hastalardan alınan biopsi örneklerindeki ekspresyonu ve portal hipertansiyon geliştirilen ratlardaki tedavi edici etkileri araştırılmıştır. İmmunohistolojik ve Western blot yöntemleri ile sirozlu karaciğer doku örneklerinde ölçülen VASH1 düzeyinin sağlıklı karaciğer dokularına göre daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Siroz ve portal hipertansiyon geliştirilen ratlara ise Ad-VASH1 aracılığı ile tedavi uygulanmış ve tedavi sonunda karaciğer fibrozisinde önemli rol oynayan stellat hücrelerin inhibe olduğu, fibrotik alanın önemli derecede azaldığı, portal ven basıncın düştüğü, intrahepatik ve mezenterik anjiogenezin azaldığı, kollateral damar yapımının azaldığı ve dolayısı ile hastalık progresyonunun iyileştiği belirtilmektedir. Çalışma sonucunda araştırmacılar tarafından, VASH1 proteininin portal hipertansiyon ve siroz için yeni bir tedavi stratejisi olabileceği iddia edilmektedir (173).

Yaşa bağımlı maküler dejenerasyon hastalığında ortaya çıkan santral görme kaybının asıl nedeni, subretinal hemoraji ve retinal yırtılmalara sebep olabilen koroidal neovaskülarizasyondur (174). Wakusawa ve ark. (175) tarafından yapılan bir hayvan çalışmasında WT ve VASH1 KO farelerde lazer fotokoagülasyon yöntemi ile gözde koroidal neovaskülarizasyon oluşturulmuş ve endojen VASH1 proteininin bu

lezyon üzerindeki etkisi araştırılmıştır. Deney sonunda floresan anjiyografi ile koroidal neovaskularizasyon değerlendirilmiş ve KO farelerde anjiogenezin inhibe edilememesi sebebi ile lezyon alanının WT farelere göre önemli ölçüde daha geniş olduğu tespit edilmiştir. Aynı çalışmada WT farelere intravitreal VASH1 protein enjeksiyonu yapılmış ve koroidal neovaskularizasyonun önemli derecede baskılandığı gösterilmiştir. Koroidal neovaskularizasyonun tedavisi için VASH1 proteininin intravitreal enjeksiyonunun kullanılabileceği belirtilmektedir (175).

Shen ve ark. (19) yaptığı bir çalışmada metastatik ve non-metastatik dört farklı mide kanser hücre kültüründe ve tumor-associated macrophages (TAMs) hücrelerinde realtime-Polymerase Chain Reaction (RT-PCR) yöntemi ile VASH1 ve VASH2 düzeyleri araştırılmıştır. Sonuç olarak VASH1 ve VASH2 proteinlerinin mide kanseri hücre kültürlerinin hepsinden ve TAMs hücrelerinden ifade edildiği fakat metastatik hücrelerde ki mRNA ekspresyonunun non-metastatik olanlara göre daha yüksek olduğu belirtilmiştir. Ayrıca VASH1 proteini ile VEGF arasında güçlü pozitif bir korelasyon olduğu gösterilmiştir. Yine aynı çalışmada normal koşullar altında mide kanser hücre kültürlerinin hepsinden VASH1 ve VASH2 proteinlerinin önemli ölçüde TAMs aracılığı ile artırılarak düzenlendiği fakat hipoksik koşullar altında metastatik hücrelerde bu proteinlerin ekspresyonlarının önemli ölçüde azaldığı gösterilmiştir. Proteinlerin ekspresyon seviyelerinin TAMs ve hipoksi aracılığı ile düzenlendiği ve VASH1 proteininin mide kanserinin tedavisinde anjiogenezin inhibisyonu için yeni bir aday olabileceği belirtilmiştir (19). Bizim çalışmamızda gruplar arasında anlamlı bir farklılık gösteren BAL sıvısı VASH1 düzeyleri malign hastalarda daha düşük bulundu. Zaten tümör dokusunun diğer çevre dokulara veya sağlıklı dokulara oranla daha fazla hipoksik olduğu ve hipoksinin anjiogenez aktivatörlerini uyarıp inhibitörlerinin seviyesini azalttığı bilinmektedir. Dolayısı ile benign hastalar ile kıyaslandığında kanser hastalarının tümör dokusunda hipoksinin daha fazla olması nedeni ile anjiogenez inhibitörlerinin seviyelerinin daha fazla azaldığı düşünülürse, VASH1 proteininin BAL sıvısındaki düzeyinin malign hastalarda daha düşük seviyelerde bulunması anlam kazanır.

Literatürdeki VASH1' in anjiogenezi inhibe edici etkisinin yanında yeni yapılan damarların olgunlaştırılması ve düzenlenmesi üzerinde de etkisi olan bir protein olduğu

belirtilmektedir. Yukarıda belirtilen, genelini kanser hastalarının oluşturduğu çalışmalarda immunohistolojik yöntemler ile yapılan analizlerde, kanser dokularında VASH1 düzeyi sağlıklı dokulara kıyasla daha yüksek tespit edilmiştir. Bunun yanı sıra yapılan hayvan çalışmaları ile düşük VASH1 seviyesinin metastaz, derin invazyon ve kötü prognoz göstergesi olabileceği belirtilmiştir. Literatürdeki çalışmaların hemen tümü VASH1 proteininin kanser ve diğer hastalıklarda anjiogenezi inhibe etmek amacı ile kullanılabilir yeni bir tedavi yöntemi olduğunu belirtmektedir. Çalışmalar arasındaki tutarsızlık çalışmaların farklı klinik gruplarda ve farklı analiz yöntemleri ile gerçekleştirilmiş olması ile açıklanabilir. Daha kapsamlı çalışmalar yapılarak bu konudaki çelişkili bilgiler aydınlatılmalıdır. Çalışmamızda malign hastaların BAL sıvısında ölçülen VASH1 düzeyinin benign hastaların BAL sıvı ölçümlerine göre daha düşük olması, kanserli hastalarda anjiogenez inhibisyonunun daha fazla azaldığı, olgunlaşmamış damar yoğunluğunun daha fazla olduğu ve bu sebeple metastaz ve invazyonun gerçekleşebildiği ve benign hastalara kıyasla prognozunun daha kötü olduğu fikrini desteklemektedir. Ayrıca yapılan immunohistokimyasal çalışmaların aksine bizim çalışmamızda malign hastaların BAL sıvılarında VASH1 proteinini düşük tespit etmemizin diğer bir sebebinin, VASH1 proteininin molekül ağırlığının yüksek olması (42 kDa) nedeni ile dokudan seruma az miktarlarda geçmesi olarak düşünüldü.

6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Yaptığımız çalışmada akciğer kanseri grubunda BAL sıvı VASH1 düzeylerinin benign hastalığı olan kişilere göre istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük olduğu bulundu ($p=0,032$).

Akciğer kanseri grubu ile benign hastalık grubu arasında serum VASH1 düzeyleri açısından önemli bir farklılık yoktu ($p=0,206$).

Ayrıca vakalar yaşa göre ağırlıklandırıldıktan sonra benign ve malign hastalarda ayrı ayrı bakılan BAL VASH1 ortalamaları arasında her iki grupta da ileri derecede anlamlı fark vardı (Mann Whitney U test $p<0.001$).

Malign ve benign vakalarda serum VASH1-BAL VASH1 düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı, orta dereceli, pozitif yönlü bir ilişki vardı (benign için $r=0.442$, $p=0.005$; malign için $r=0.364$, $p=0.016$).

Malign vakalarda evreler arasında serum ($\chi^2 = 0.331$, $p=0.954$) ve BAL ($\chi^2 = 2.228$, $p=0.527$) VASH1 ortalamaları açısından istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu.

Malign vakalarda histolojik tipler arasında serum ($\chi^2 = 1.608$, $p=0.448$) ve BAL ($\chi^2 = 0.208$, $p=0.901$) VASH1 ortalamaları açısından istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu.

Sigara içen ile içmeyen vakaların serum VASH1 ortalamaları arasında anlamlı fark yoktu ($p=0.359$). Sigara içen (mean=0.12) ve sigara içmeyen (mean=0.24) vakaların BAL VASH1 ortalamaları arasında ise istatistiksel olarak anlamlı bir fark vardı ($p=0.04$).

Sigara kullanan vakalarda serum ve BAL VASH1 düzeyleri arasında anlamlı, pozitif yönlü ve yüksek dereceli ($r=0.365$, $p=0.002$); sigara kullanmayan vakalarda ise yine anlamlı, pozitif yönlü ve orta dereceli ($r=0.571$, $p=0,026$) ilişki vardı.

Vakalar yaşa göre ağırlıklandırıldıktan sonra sigara kullanan ve kullanmayanlarda ayrı ayrı bakılan serum VASH1 ve BAL VASH1 ortalamaları arasında her iki grupta da ileri derecede anlamlı bir fark vardı ($p<0.001$).

Benign hastalıklar arasında serum ve BAL VASH1 ortalamaları açısından ayrı ayrı yapılan analizde benign hastalıklar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu (serum için $p=0,448$, BAL için $p=0,901$).

Sonuçta akciğer kanseri benign hastalıklar ile karşılaştırıldığında BAL sıvısı VASH1 konsantrasyonlarında azalma tespit edilmiştir. Ayrıca sigara içen kişiler içmeyenler ile karşılaştırıldığında BAL sıvısı VASH1 konsantrasyonları anlamlı bir fark ile azalmıştır. Bu nedenle akciğer kanseri olgularında VASH1 değişimi araştırılırken bu durum dikkate alınmalıdır. Akciğer kanserini benign hastalıklardan ayırmada BAL VASH1 düzeylerinin ölçümü faydalı olabilir.

7. KAYNAKLAR

1. Jemal A, Bray F, Center MM, Ferlay J, Ward E, Forman D. Global cancer statistics. *CA: a cancer journal for clinicians*. 2011;61(2):69-90.
2. Fu XL, Zhu XZ, Shi DR, Xiu LZ, Wang LJ, Zhao S, et al. Study of prognostic predictors for non-small cell lung cancer. *Lung cancer*. 1999;23(2):143-52.
3. Goksel T, Akkoclu A, Turkish Thoracic Society L, Pleural Malignancies Study G. Pattern of lung cancer in Turkey, 1994-1998. *Respiration; international review of thoracic diseases*. 2002;69(3):207-10.
4. Schabath MB, Nguyen A, Wilson P, Sommerer KR, Thompson ZJ, Chiappori AA. Temporal trends from 1986 to 2008 in overall survival of small cell lung cancer patients. *Lung cancer*. 2014.
5. Feld R AR, Graziano S, Jassem J, Lacquet L, Ninane V, et al. Pretreatment minimal staging and prognostic factors for non-small cell lung cancer. *Lung cancer*. 1997;17(1):3-10.
6. Sato Y. Molecular diagnosis of tumor angiogenesis and anti-angiogenic cancer therapy. *International journal of clinical oncology*. 2003;8(4):200-6.
7. Weidner N, Semple JP, Welch WR, Folkman J. Tumor angiogenesis and metastasis--correlation in invasive breast carcinoma. *The New England journal of medicine*. 1991;324(1):1-8.
8. Renno RZ, Youssri AI, Michaud N, Gragoudas ES, Miller JW. Expression of pigment epithelium-derived factor in experimental choroidal neovascularization. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2002;43(5):1574-80.
9. Yoshioka M, Yuasa S, Matsumura K, Kimura K, Shiomi T, Kimura N, et al. Chondromodulin-I maintains cardiac valvular function by preventing angiogenesis. *Nature medicine*. 2006;12(10):1151-9.
10. Maass N, Nagasaki K, Ziebart M, Mundhenke C, Jonat W. Expression and regulation of tumor suppressor gene maspin in breast cancer. *Clinical breast cancer*. 2002;3(4):281-7.
11. Kimura H, Miyashita H, Suzuki Y, Kobayashi M, Watanabe K, Sonoda H, et al. Distinctive localization and opposed roles of vasohibin-1 and vasohibin-2 in the regulation of angiogenesis. *Blood*. 2009;113(19):4810-8.

12. Watanabe K, Hasegawa Y, Yamashita H, Shimizu K, Ding Y, Abe M, et al. Vasohibin as an endothelium-derived negative feedback regulator of angiogenesis. *The Journal of clinical investigation*. 2004;114(7):898-907.
13. Ito S, Miyashita H, Suzuki Y, Kobayashi M, Satomi S, Sato Y. Enhanced cancer metastasis in mice deficient in vasohibin-1 gene. *PloS one*. 2013;8(9):73931.
14. Miyazaki Y, Kosaka T, Mikami S, Kikuchi E, Tanaka N, Maeda T, et al. The Prognostic Significance of Vasohibin-1 Expression in Patients with Upper Urinary Tract Urothelial Carcinoma. *Clinical Cancer Research*. 2012;18(5):4145-53.
15. Yan Y, Shen Z, Ye Y, Jiang K, Zhang H, Shen C, et al. A novel molecular marker of prognosis in colorectal cancer: Vasohibin-1. *Medical oncology*. 2014;31(2):816.
16. Kosaka T, Miyazaki Y, Miyajima A, Mikami S, Hayashi Y, Tanaka N, et al. The prognostic significance of vasohibin-1 expression in patients with prostate cancer. *British journal of cancer*. 2013;108(10):2123-9.
17. Murakami K, Kasajima A, Kawagishi N, Sekiguchi S, Fujishima F, Watanabe M, et al. The prognostic significance of vasohibin 1-associated angiogenesis in patients with hepatocellular carcinoma. *Human pathology*. 2014;45(3):589-97.
18. Tamaki K, Sasano H, Maruo Y, Takahashi Y, Miyashita M, Moriya T, et al. Vasohibin-1 as a potential predictor of aggressive behavior of ductal carcinoma in situ of the breast. *Cancer science*. 2010;101(4):1051-8.
19. Shen Z, Kauttu T, Seppanen H, Vainionpaa S, Ye Y, Wang S, et al. Vasohibin-1 and vasohibin-2 expression in gastric cancer cells and TAMs. *Medical oncology*. 2012;29(4):2718-26.
20. Yoshinaga K, Ito K, Moriya T, Nagase S, Takano T, Niikura H, et al. Expression of vasohibin as a novel endothelium-derived angiogenesis inhibitor in endometrial cancer. *Cancer science*. 2008;99(5):914-9.
21. Yoshinaga K, Ito K, Moriya T, Nagase S, Takano T, Niikura H, et al. Roles of intrinsic angiogenesis inhibitor, vasohibin, in cervical carcinomas. *Cancer science*. 2011;102(2):446-51.

22. Zhang T, Yu TT, Zhang DM, Hou XM, Liu XJ, Zhao D, et al. Vasohibin-1 expression detected by immunohistochemistry correlates with prognosis in non-small cell lung cancer. *Medical oncology*. 2014;31(5):963.
23. Gökmen FG. *Sistematik Anatomi*. İzmir; İzmir Güven Kitabevi. 2008:432-44.
24. Kotecha S. Lung growth: implications for the newborn infant. *Archives of disease in childhood Fetal and neonatal edition*. 2000;82(1):F69-74.
25. Maeda Y, Dave V, Whitsett JA. Transcriptional control of lung morphogenesis. *Physiological reviews*. 2007;87(1):219-44.
26. Voelkel NF, Vandivier RW, Tudor RM. Vascular endothelial growth factor in the lung. *American journal of physiology Lung cellular and molecular physiology*. 2006;290(2):L209-21.
27. Michael H. Ross WP. *Histology a Text and Atlas*. In: *Respiratory System*. 2011:676-80.
28. T.C. Sağlık Bakanlığı, Kanser Daire Başkanlığı. *Kanser bildirimlerinin değerlendirilmesi 1993-1994*. Ankara 1997;yayın no: 582.
29. Jemal A, Thomas A, Murray T, Thun M. *Cancer statistics, 2002*. CA: a cancer journal for clinicians. 2002;52(1):23-47.
30. Türk Toraks D. Akciğer kanseri tanı ve tedavi rehberi. *Toraks Dergisi*. 2006;7 (ek 2):1-37.
31. Turkish Thoracic Society, Lung and Pleural Malignancies Study Group. Pattern of lung cancer in Turkey 1994-1998. *Respiration*. 2002;69:207-10.
32. M E Mattson, E S Pollack, J W Cullen. What are the odds that smoking will kill you? *Am J Public Health*. 1987; 77(4):425-34.
33. İtil O. Akciğer kanserlerinin epidemiyolojisi ve etyolojisi. In: Haydaroğlu A. *Tanı ve tedavi*. İzmir; Ege üniversitesi basımevi. 2000:15-34.
34. Parsons A, Daley A, Begh R, Aveyard P. Influence of smoking cessation after diagnosis of early stage lung cancer on prognosis: systematic review of observational studies with meta-analysis. *Bmj*. 2010;340:b5569.
35. Bilgel N. Akciğer kanserlerinin epidemiyolojisi. In: Engin K, Özyardımcı N. 6. *Uludağ Onkoloji Sempozyumu Kitabı ve konsensus raporu*. Bursa; Uludağ üniversitesi yayınları. 2001:35-8.

36. Matakidou A, Eisen T, Houlston RS. Systematic review of the relationship between family history and lung cancer risk. *British journal of cancer*. 2005;93(7):825-33.
37. Denissenko MF PA, Tang M, Pfeifer GP. Preferential formation of benzo[a]pyrene adducts at lung cancer mutational hotspots in P53. *Science*. 1996;274(5286):430-2.
38. Timofeeva MN, McKay JD, Smith GD, Johansson M, Byrnes GB, Chabrier A, et al. Genetic polymorphisms in 15q25 and 19q13 loci, cotinine levels, and risk of lung cancer in EPIC. *Cancer epidemiology, biomarkers & prevention : a publication of the American Association for Cancer Research, cosponsored by the American Society of Preventive Oncology*. 2011;20(10):2250-61.
39. Tatar D, Kılınç O, Yorgancıoğlu A ve ark. Akciğer tümörü ve akciğer tüberkülozu birlikteliği. *Solunum*. 2000;2():56-60.
40. Hubbard R, Venn A, Lewis S, Britton J. Lung cancer and cryptogenic fibrosing alveolitis. A population-based cohort study. *Am J Respir Crit Care Med*. 2000;161(1):5-8.
41. Young RP, Hopkins RJ, Christmas T, Black PN, Metcalf P, Gamble GD. COPD prevalence is increased in lung cancer, independent of age, sex and smoking history. *Eur Respir J*. 2009;34(2):380-6.
42. Yang P, Sun Z, Krowka MJ, Aubry MC, Bamlet WR, Wampfler JA, et al. Alpha1-antitrypsin deficiency carriers, tobacco smoke, chronic obstructive pulmonary disease, and lung cancer risk. *Archives of internal medicine*. 2008;168(10):1097-103.
43. Wang L, Zhang X, Liu J, Shen L, Li Z. Tea consumption and lung cancer risk: a meta-analysis of case-control and cohort studies. *Nutrition*. 2014;30(10):1122-7.
44. Xu X, Cai, L. [A case-control study on tea consumption and the risk of lung cancer]. *Wei sheng yan jiu = Journal of hygiene research*. 2013;42(2):211-6.
45. Travis WD, Brambilla E, Müller-Hermelink HK. *Pathology and Genetics: Tumours of the Lung, Pleura, Thymus and Heart*. Lyon, IARC. 2004:12-38.
46. Travis WD, Travis LB, Devesa SS. Lung cancer. *Cancer*. 1995;75(1):191-202.

47. Ramalingam S, Pawlish K, Gadgeel S, Demers R, Kalemkerian GP. Lung cancer in young patients: analysis of a Surveillance, Epidemiology, and End Results database. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology*. 1998;16(2):651-7.
48. Tomaszefski JFJr, Connors AFJr, Rosenthal ES, Hsiue IL. Peripheral vs central squamous cell carcinoma of the lung. A comparison of clinical features, histopathology, and survival. *Archives of pathology & laboratory medicine*. 1990;114:468-74.
49. Khuder SA. Effect of cigarette smoking on major histological types of lung cancer: a meta-analysis. *Lung cancer*. 2001;31(2-3):139-48.
50. Iyoda A, Hiroshima K, Toyozaki T, Haga Y, Fujisawa T, Ohwada H. Clinical characterization of pulmonary large cell neuroendocrine carcinoma and large cell carcinoma with neuroendocrine morphology. *Cancer*. 2001;91(11):1992-2000.
51. Spiro SG, Gould MK, Colice GL. Initial Evaluation of the Patient With Lung Cancer: Symptoms, Signs, Laboratory Tests, and Paraneoplastic Syndromes; Diagnosis And Management Of Lung Cancer. *ACCP Evidence-Based Clinical Practice Guidelines (Alberts WM) 2nd Edition CHEST*. 2007;132:149-60.
52. Kvale PA. Lung Cancer. In *ACCP Pulmonary Board Review. Continuing medical education course syllabus, USA*. 2002:35-50.
53. Beckles MA, Spiro SG, Colice GL, Rudd RM. Initial evaluation of the patient with lung cancer: symptoms, signs, laboratory tests, and paraneoplastic syndromes. *Chest*. 2003;123(1 Suppl):97S-104S.
54. Collins LG, Haines C, Perkel R, Enck RE. Lung cancer: diagnosis and management. *American family physician*. 2007;75(1):56-63.
55. Hyde L, Hyde CI. Clinical manifestation of lung cancer. *Chest*. 1974(65):299-306.
56. Pretreatment evaluation of non-small-cell lung cancer. The American Thoracic Society and The European Respiratory Society. *Am J Respir Crit Care Med*. 1997;156(1):320-32.
57. McLoud TC. Imaging techniques for diagnosis and staging of lung cancer. *Clinics in chest medicine*. 2002;23(1):123-36.

58. Schreiber G, McCrory DC. Performance characteristics of different modalities for diagnosis of suspected lung cancer: summary of published evidence. *Chest*. 2003;123(1 Suppl):115S-28S.
59. Rivera MP, Mehta AC. Initial Diagnosis of Lung Cancer, Diagnosis And Management Of Lung Cancer. ACCP Evidence-Based Clinical Practice Guidelines (Alberts WM) 2nd Edition CHEST. 2007;132:131-48.
60. Karahalli E, Yilmaz A, Turker H, Ozvaran K. Usefulness of various diagnostic techniques during fiberoptic bronchoscopy for endoscopically visible lung cancer: should cytologic examinations be performed routinely? *Respiration; international review of thoracic diseases*. 2001(68):611-4.
61. Rusch VW, Hawes D, Decker PA, Martin SE, Abati A, Landreneau RJ, et al. Occult metastases in lymph nodes predict survival in resectable non-small-cell lung cancer: report of the ACOSOG Z0040 trial. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology*. 2011;29(32):4313-9.
62. Mountain CF. Revisions in the International System for Staging Lung Cancer. *Chest*. 1997;111(6):1710-7.
63. Detterbeck FC, Jantz MA, Wallace M, Vansteenkiste J, Silvestri GA, American College of Chest P. Invasive mediastinal staging of lung cancer: ACCP evidence-based clinical practice guidelines (2nd edition). *Chest*. 2007;132(3 Suppl):202S-20S.
64. Silvestri GA, Gould MK, Margolis ML, Tanoue LT, McCrory D, Toloza E, et al. Noninvasive staging of non-small cell lung cancer: ACCP evidenced-based clinical practice guidelines (2nd edition). *Chest*. 2007;132(3 Suppl):178S-201S.
65. Detterbeck FC, Boffa DJ, Tanoue LT. The new lung cancer staging system. *Chest*. 2009;136(1):260-71.
66. Goldstraw P, Crowley J, Chansky K, Giroux DJ, Groome PA, Rami-Porta R, et al. The IASLC Lung Cancer Staging Project: proposals for the revision of the TNM stage groupings in the forthcoming (seventh) edition of the TNM Classification of malignant tumours. *Journal of thoracic oncology : official publication of the International Association for the Study of Lung Cancer*. 2007;2(8):706-14.

67. Groome PA, Bolejack V, Crowley JJ, Kennedy C, Krasnik M, Sobin LH, et al. The IASLC Lung Cancer Staging Project: validation of the proposals for revision of the T, N, and M descriptors and consequent stage groupings in the forthcoming (seventh) edition of the TNM classification of malignant tumours. *Journal of thoracic oncology : official publication of the International Association for the Study of Lung Cancer*. 2007;2(8):694-705.
68. Mathur PN, Edell E, Sutedja T, Vergnon JM, American College of Chest P. Treatment of early stage non-small cell lung cancer. *Chest*. 2003;123(1 Suppl):176S-80S.
69. Ginsberg RJ, Port JL. Surgical therapy of stage I and II nonsmall cell lung cancer. In: Pass HI, Mitchell JB, Johnson DH et al; eds. *Lung cancer principles and practice*. Philadelphia: Lippicott Williams & Wilkins. 2000:682-93.
70. Rusch VW, Giroux DJ, Kraut MJ, Crowley J, Hazuka M, Johnson D, et al. Induction chemoradiation and surgical resection for non-small cell lung carcinomas of the superior sulcus: Initial results of Southwest Oncology Group Trial 9416 (Intergroup Trial 0160). *The Journal of thoracic and cardiovascular surgery*. 2001;121(3):472-83.
71. Gandara DR, Leigh B, Vallieres E, Albain KS. Preoperative chemotherapy in stage III non-small cell lung cancer: long-term outcome. *Lung cancer*. 1999;26(1):3-6.
72. Postoperative radiotherapy in non-small-cell lung cancer: systematic review and meta-analysis of individual patient data from nine randomised controlled trials. PORT Meta-analysis Trialists Group. *Lancet*. 1998;352(9124):257-63.
73. Non-small Cell, Lung Cancer Collaborative Group. Chemotherapy in non-small cell lung cancer: a meta-analysis using updated data on individual patients from 52 randomised clinical trials. *Bmj*. 1995;311:899-909.
74. Sause W, Kolesar P, Taylor SI, Johnson D, Livingston R, Komaki R, et al. Final results of phase III trial in regionally advanced unresectable non-small cell lung cancer: Radiation Therapy Oncology Group, Eastern Cooperative Oncology Group, and Southwest Oncology Group. *Chest*. 2000;117(2):358-64.
75. Jeremic B, Shibamoto Y, Acimovic L, Milisavljevic S. Initial versus delayed accelerated hyperfractionated radiation therapy and concurrent chemotherapy in

- limited small-cell lung cancer: a randomized study. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology*. 1997;15(3):893-900.
76. Osterlind K. Chemotherapy in small cell lung cancer. *The European respiratory journal*. 2001;18(6):1026-43.
 77. Antkowiak JG, Regal AM, Takita H. Bronchogenic carcinoma in patients under age 40. *The Annals of thoracic surgery*. 1989;47(3):391-3.
 78. Lee-Chiong TL, Jr., Matthay RA. Lung cancer in the elderly patient. *Clinics in chest medicine*. 1993;14(3):453-78.
 79. Çıkrıkçıoğlu S, Kıyık M, Altın S, Gürses A, Karadeniz AN, Aydiner A. Prognostik faktörler ve tedavi öncesi değerlendirme. In: Akkoçlu A, Öztürk C, eds., *Akciğer kanserinde multidisipliner yaklaşım*. Toraks Kitapları, Ankara: Bilimsel Tıp Yayınevi. 1999:80-96.
 80. Feld R, Abratt R, Graziano S, Jassem J, Lacquet L, Ninane V, et al. Pretreatment minimal staging and prognostic factors for non-small cell lung cancer. *Lung cancer*. 1997;17 Suppl 1:S3-10.
 81. Oken MM, Creech RH, Tormey DC, Horton J, Davis TE, McFadden ET, et al. Toxicity and response criteria of the Eastern Cooperative Oncology Group. *American journal of clinical oncology*. 1982;5(6):649-55.
 82. Karnofsky DA, Burchenal JH. "The Clinical Evaluation of Chemotherapeutic Agents in Cancer." In: MacLeod CM (Ed), *Evaluation of Chemotherapeutic Agents*. Columbia Univ Press 1949:196.
 83. Johnson DH, Blanke CD. Small cell lung cancer: Diagnosis, treatment and natural history. In: Fishman AP, Elias JS, Fishman JA, Grippi MA, Kaiser LR, Senior RM. *Fishman's Pulmonary Diseases and Disorders*. Newyork. 1998:1819-33.
 84. Ferguson MK, Skosey C, Hoffman PC, Golomb HM. Sex-associated differences in presentation and survival in patients with lung cancer. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology*. 1990;8(8):1402-7.
 85. Cangemi V, Volpino P, D'Andrea N, Chiarotti F, Tomassini R, Piat G. Results of surgical treatment of stage IIIA non-small cell lung cancer. *European journal of*

- cardio-thoracic surgery : official journal of the European Association for Cardio-thoracic Surgery. 1995;9(7):352-9.
86. Fraire AE, Roggli VL, Vollmer RT, Greenberg SD, McGavran MH, Spjut HJ, et al. Lung cancer heterogeneity. Prognostic implications. *Cancer*. 1987;60(3):370-5.
 87. Liu YY, Chen YM, Huang MH, Perng RP. Prognosis and recurrent patterns in bronchioloalveolar carcinoma. *Chest*. 2000;118(4):940-7.
 88. Martini N, Melamed MR. Occult carcinomas of the lung. *Ann Thorac Surg*. 1980;30(3):215-23.
 89. Herndon JE, 2nd, Fleishman S, Kornblith AB, Kosty M, Green MR, Holland J. Is quality of life predictive of the survival of patients with advanced nonsmall cell lung carcinoma? *Cancer*. 1999;85(2):333-40.
 90. Carl A. Burtis, Edward R. Ashwood, David E. Bruns. Teitz Fundamentals of Clinical Chemistry. In: Daniel W. Chan, Ronald A. Booth, Eleftherios P. Diamandis. Tumor Markers. United States of America: Saunders Elsevier. 2008:337-62.
 91. Khoo SK, Warner NL, Lie JT, Mackay IR. Carcinoembryonic antigenic activity of tissue extracts: a quantitative study of malignant and benign neoplasms, cirrhotic liver, normal adult and fetal organs. *International journal of cancer Journal international du cancer*. 1973;11(3):681-7.
 92. Vincent RG, Chu TM, Fergen TB, Ostrander M. Carcinoembryonic antigen in 228 patients with carcinoma of the lung. *Cancer*. 1975;36(6):2069-76.
 93. Ferrigno D, Buccheri G, Biggi A. Serum tumour markers in lung cancer: history, biology and clinical applications. *The European respiratory journal*. 1994;7(1):186-97.
 94. Menendez-Botet CJ, Oettgen HF, Pinsky CM, Schwartz MK. A preliminary evaluation of tissue polypeptide antigen in serum or urine (or both) of patients with cancer or benign neoplasm. *Clinical chemistry*. 1978;24:868-72.
 95. Buccheri G, Ferrigno D. Prognostic value of the tissue polypeptide antigen in lung cancer. *Chest*. 1992;101(5):1287-92.

96. Rapellino M, Niklinski J, Pecchio F, Furman M, Baldi S, Chyczewski L, et al. CYFRA 21-1 as a tumour marker for bronchogenic carcinoma. *The European respiratory journal*. 1995;8(3):407-10.
97. Figen Gürdöl, Evin Ademoğlu. *Biyokimya*. In: Evin Ademoğlu. *Eser ve Ultraeser Elementler*. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri. 2012:479-88.
98. Gropp C, Havemann K, Lehmann FG. Carcinoembryonic antigen and ferritin in patients with lung cancer before and during therapy. *Cancer*. 1978;42(6):2802-8.
99. Waldmann TA. The structure, function, and expression of interleukin-2 receptors on normal and malignant lymphocytes. *Science*. 1986;232(4751):727-32.
100. Marino P, Cugno M, Preatoni A, Cori P, Rosti A, Frontini L, et al. Increased levels of soluble interleukin-2 receptors in serum of patients with lung cancer. *British journal of cancer*. 1990;61(3):434-5.
101. Buccheri G, Marino P, Preatoni A, Ferrigno D, Moroni GA. Soluble interleukin 2 receptor in lung cancer. An indirect marker of tumor activity? *Chest*. 1991;99(6):1433-7.
102. Said JW, Vimadalal S, Nash G, Shintaku IP, Heusser RC, Sassoon AF, Lloyd RV. Immunoreactive neuron-specific enolase, bombesin, and chromogranin as markers for neuroendocrine lung tumors. *Hum Pathol*. 1985;16(3):236-40.
103. Tolan NV, Vidal-Folch N, Algeciras-Schimmich A, Singh RJ, Grebe SK. Individualized correction of neuron-specific enolase (NSE) measurement in hemolyzed serum samples. *Clinica chimica acta; international journal of clinical chemistry*. 2013;424:216-21.
104. Burghuber OC, Worofka B, Schernthaner G, Vetter N, Neumann M, Dudczak R, et al. Serum neuron-specific enolase is a useful tumor marker for small cell lung cancer. *Cancer*. 1990;65(6):1386-90.
105. Carl A. Burtis, Edward R. Ashwood, David E. Bruns. *Teitz Fundamentals of Clinical Chemistry*. In: Mauro Panteghini, Renze Bais. *Enzymes*. United States of America: Saunders Elsevier. 2008:317-36.
106. Weynants P, Humblet Y, Canon JL, Symann M. Biology of small cell lung cancer: an overview. *The European respiratory journal*. 1990;3(6):699-714.

107. Carney DN, Zweig MH, Ihde DC, Cohen MH, Makuch RW, Gazdar AF. Elevated serum creatine kinase BB levels in patients with small cell lung cancer. *Cancer research*. 1984;44(11):5399-403.
108. Sunday ME, Choi N, Spindel ER, Chin WW, Mark EJ. Gastrin-releasing peptide gene expression in small cell and large cell undifferentiated lung carcinomas. *Human pathology*. 1991;22(10):1030-9.
109. Carl A. Burtis, Edward R. Ashwood, David E. Bruns. Teitz Fundamentals of Clinical Chemistry. In: Laurence M. Demers, Mary Lee Vance. Pituitary Disorders. United States of America: Saunders Elsevier 2008:735-48.
110. Shepherd FA, Laskey J, Evans WK, Goss PE, Johansen E, Khamsi F. Cushing's syndrome associated with ectopic corticotropin production and small-cell lung cancer. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology*. 1992;10(1):21-7.
111. Yalow RS, Eastridge CE, Higgins G, Jr., Wolf J. Plasma and tumor ACTH in carcinoma of the lung. *Cancer*. 1979;44(5):1789-92.
112. Hansen M, Hammer M, Hummer L. ACTH, ADH, and calcitonin concentrations as markers of response and relapse in small-cell carcinoma of the lung. *Cancer*. 1980;46(9):2062-7.
113. Macaulay VM, Teale JD, Everard MJ, Joshi GP, Smith IE, Millar JL. Somatomedin-C/insulin-like growth factor-I is a mitogen for human small cell lung cancer. *British journal of cancer*. 1988;57(1):91-3.
114. Horio Y, Takahashi T, Kuroishi T, Hibi K, Suyama M, Niimi T, et al. Prognostic significance of p53 mutations and 3p deletions in primary resected non-small cell lung cancer. *Cancer research*. 1993;53(1):1-4.
115. Graziano SL. Non-small cell lung cancer: clinical value of new biological predictors. *Lung cancer*. 1997;17 Suppl 1:S37-58.
116. Xu Y, Liu B, Shi QL, Huang PL, Zhou XJ, Ma HH, Lu ZF, Bo Y, Eriksson S, He E, Skog S. Thymidine kinase 1 is a better prognostic marker than Ki-67 for pT1 adenocarcinoma of the lung. *Int J Clin Exp Med*. 2014;7(8):2120-8.
117. Kumar V, Abbas AK, Aster JC. Robbins Basic Pathology. Çeviri: Tuzlalı S, Güllüoğlu M, Çevikbaş U. Temel Patoloji. İstanbul: Nobel Tıp Kitapevi. 2003:166-210.

118. Cheng L, Zhang S, Alexander R, Yao Y, MacLennan GT, Pan CX, et al. The landscape of EGFR pathways and personalized management of non-small-cell lung cancer. *Future oncology*. 2011;7(4):519-41.
119. Marchetti A, Martella C, Felicioni L, Barassi F, Salvatore S, Chella A, et al. EGFR mutations in non-small-cell lung cancer: analysis of a large series of cases and development of a rapid and sensitive method for diagnostic screening with potential implications on pharmacologic treatment. *Journal of clinical oncology: official journal of the American Society of Clinical Oncology*. 2005;23(4):857-65.
120. Massague J, Cheifetz S, Laiho M, Ralph DA, Weis FM, Zentella A. Transforming growth factor-beta. *Cancer surveys*. 1992;12:81-103.
121. Wilgus ML, Borczuk AC, Stoopler M, Ginsburg M, Gorenstein L, Sonett JR, et al. Lysyl oxidase: a lung adenocarcinoma biomarker of invasion and survival. *Cancer*. 2011;117(10):2186-91.
122. Borczuk AC, Kim HK, Yegen HA, Friedman RA, Powell CA. Lung adenocarcinoma global profiling identifies type II transforming growth factor-beta receptor as a repressor of invasiveness. *Am J Respir Crit Care Med*. 2005;172(6):729-37.
123. Downward J. Targeting RAS signalling pathways in cancer therapy. *Nature reviews Cancer*. 2003;3(1):11-22.
124. Karnoub AE, Weinberg RA. Ras oncogenes: split personalities. *Nature reviews Molecular cell biology*. 2008;9(7):517-31.
125. Riely GJ, Kris MG, Rosenbaum D, Marks J, Li A, Chitale DA, et al. Frequency and distinctive spectrum of KRAS mutations in never smokers with lung adenocarcinoma. *Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research*. 2008;14(18):5731-4.
126. Tomizawa K, Suda K, Onozato R, Kosaka T, Endoh H, Sekido Y, et al. Prognostic and predictive implications of HER2/ERBB2/neu gene mutations in lung cancers. *Lung cancer*. 2011;74(1):139-44.
127. Davies H, Bignell GR, Cox C, Stephens P, Edkins S, Clegg S, et al. Mutations of the BRAF gene in human cancer. *Nature*. 2002;417(6892):949-54.

128. Marchetti A, Felicioni L, Malatesta S, Grazia Sciarrotta M, Guetti L, Chella A, et al. Clinical features and outcome of patients with non-small-cell lung cancer harboring BRAF mutations. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology*. 2011;29(26):3574-9.
129. Seo AN, Yang JM, Kim H, Jheon S, Kim K, Lee CT, et al. Clinicopathologic and prognostic significance of c-MYC copy number gain in lung adenocarcinomas. *British journal of cancer*. 2014;110(11):2688-99.
130. Yıldırım S.E. Apoptoz. Onat T, Emerk K, Sönmez E.Y. İnsan Biyokimyası. Ankara: Palme Yayıncılık. 2006:700-1.
131. Cakir E, Yilmaz A, Demirag F, Oguztuzun S, Sahin S, Yazici UE, et al. Prognostic significance of micropapillary pattern in lung adenocarcinoma and expression of apoptosis-related markers: caspase-3, bcl-2, and p53. *APMIS : acta pathologica, microbiologica, et immunologica Scandinavica*. 2011;119(9):574-80.
132. Koivunen JP, Mermel C, Zejnullahu K, Murphy C, Lifshits E, Holmes AJ, et al. EML4-ALK fusion gene and efficacy of an ALK kinase inhibitor in lung cancer. *Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research*. 2008;14(13):4275-83.
133. Shaw AT, Solomon B. Targeting anaplastic lymphoma kinase in lung cancer. *Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research*. 2011;17(8):2081-6.
134. Solomon B, Varella-Garcia M, Camidge DR. ALK gene rearrangements: a new therapeutic target in a molecularly defined subset of non-small cell lung cancer. *Journal of thoracic oncology : official publication of the International Association for the Study of Lung Cancer*. 2009;4(12):1450-4.
135. Wendy A. Cooper, David C. L. Lam, Sandra A. O'Toole, John D. Minna. Molecular biology of lung cancer. *J Thorac Dis*. 2013;5:479-90.
136. D'Amico D, Carbone D, Mitsudomi T, Nau M, Fedorko J, Russell E, et al. High frequency of somatically acquired p53 mutations in small-cell lung cancer cell lines and tumors. *Oncogene*. 1992;7(2):339-46.

137. Wang D, Ye YK, Su CQ, Rong TH, Guo AY, Yi JH, et al. [Detection of multiple gene mutations in non-small-cell lung cancer by suspension microarray]. *Zhonghua yi xue za zhi*. 2009;89(48):3393-6.
138. Harpole DH, Jr., Herndon JE, 2nd, Young WG, Jr., Wolfe WG, Sabiston DC, Jr. Stage I nonsmall cell lung cancer. A multivariate analysis of treatment methods and patterns of recurrence. *Cancer*. 1995;76(5):787-96.
139. Padilla J, Calvo V, Penalver JC, Sales G, Morcillo A. Surgical results and prognostic factors in early non-small cell lung cancer. *The Annals of thoracic surgery*. 1997;63(2):324-6.
140. 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. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 1995;110(3):601-5.
141. 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):460-5; discussion 6.
142. Yano T, Yokoyama H, Inoue T, Asoh H, Tayama K, Ichinose Y. Surgical results and prognostic factors of pathologic N1 disease in non-small-cell carcinoma of the lung. Significance of N1 level: lobar or hilar nodes. *The Journal of thoracic and cardiovascular surgery*. 1994;107(6):1398-402.
143. Macchiarini P, Fontanini G, Hardin MJ, Squartini F, Angeletti CA. Relation of neovascularisation to metastasis of non-small-cell lung cancer. *Lancet*. 1992;340(8812):145-6.
144. Yan L, DeMars LC. Effects of a high-fat diet on spontaneous metastasis of lewis lung carcinoma in plasminogen activator inhibitor-1 deficient and wild-type mice. *PloS one*. 2014;9(10):e110869.
145. Yoshino H EY, Watanabe Y, Sasaki T. Significance of plasminogen activator inhibitor 2 as a prognostic marker in primary lung cancer: association of decreased plasminogen activator inhibitor 2 with lymph node metastasis. *British journal of cancer*. 1998;78(6):833-9.
146. Liao D, Johnson RS. Hypoxia: a key regulator of angiogenesis in cancer. *Cancer metastasis reviews*. 2007;26(2):281-90.

147. Bremnes RM, Camps C, Sirera R. Angiogenesis in non-small cell lung cancer: the prognostic impact of neoangiogenesis and the cytokines VEGF and bFGF in tumours and blood. *Lung cancer*. 2006;51(2):143-58.
148. Yamaguchi M, Sugio K, Ondo K, Yano T, Sugimachi K. Reduced expression of thrombospondin-1 correlates with a poor prognosis in patients with non-small cell lung cancer. *Lung cancer*. 2002;36(2):143-50.
149. Fontanini G, Lucchi M, Vignati S, Mussi A, Ciardiello F, De Laurentiis M, De Placido S, Basolo F, Angeletti CA, Bevilacqua G. Angiogenesis as a prognostic indicator of survival in non-small-cell lung carcinoma: a prospective study. *J Natl Cancer Inst*. 1997;89(12):881-6.
150. Shimizu K, Watanabe K, Yamashita H, Abe M, Yoshimatsu H, Ohta H, et al. Gene regulation of a novel angiogenesis inhibitor, vasohibin, in endothelial cells. *Biochemical and biophysical research communications*. 2005;327(3):700-6.
151. Nimmagadda S, Geetha-Loganathan P, Prols F, Scaal M, Christ B, Huang R. Expression pattern of Vasohibin during chick development. *Developmental dynamics : an official publication of the American Association of Anatomists*. 2007;236(5):1358-62.
152. Sonoda H, Ohta H, Watanabe K, Yamashita H, Kimura H, Sato Y. Multiple processing forms and their biological activities of a novel angiogenesis inhibitor vasohibin. *Biochemical and biophysical research communications*. 2006;342(2):640-6.
153. Miyashita H, Watanabe T, Hayashi H, Suzuki Y, Nakamura T, Ito S, et al. Angiogenesis inhibitor vasohibin-1 enhances stress resistance of endothelial cells via induction of SOD2 and SIRT1. *PloS one*. 2012;7(10):e46459.
154. Harrington EO, Loffler J, Nelson PR, Kent KC, Simons M, Ware JA. Enhancement of migration by protein kinase Calpha and inhibition of proliferation and cell cycle progression by protein kinase Cdelta in capillary endothelial cells. *The Journal of biological chemistry*. 1997;272(11):7390-7.
155. Suzuki Y, Kobayashi M, Miyashita H, Ohta H, Sonoda H, Sato Y. Isolation of a small vasohibin-binding protein (SVBP) and its role in vasohibin secretion. *Journal of cell science*. 2010;123(Pt 18):3094-101.

156. David L. Nelson, Michael M. Cox. *Lehninger Principles of Biochemistry*. Çeviri: Nedret Kılıç. *Lehninger Biyokimyanın İlkeleri*. Ankara: Palme Kitapevi. 2005:1056-58.
157. Sato Y, Sonoda H. The vasohibin family: a negative regulatory system of angiogenesis genetically programmed in endothelial cells. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*. 2007;27(1):37-41.
158. Hosaka T, Kimura H, Heishi T, Suzuki Y, Miyashita H, Ohta H, et al. Vasohibin-1 Expression in Endothelium of Tumor Blood Vessels Regulates Angiogenesis. *Am J Pathol*. 2009;175(1):430-9.
159. Heishi T, Hosaka T, Suzuki Y, Miyashita H, Oike Y, Takahashi T, et al. Endogenous angiogenesis inhibitor vasohibin1 exhibits broad-spectrum antilymphangiogenic activity and suppresses lymph node metastasis. *Am J Pathol*. 2010;176(4):1950-8.
160. Bai X, Margariti A, Hu Y, Sato Y, Zeng L, Ivetic A, et al. Protein kinase C $\{\delta\}$ deficiency accelerates neointimal lesions of mouse injured artery involving delayed reendothelialization and vasohibin-1 accumulation. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*. 2010;30(12):2467-74.
161. Geng Y, Wang J, Jing H, Wang HW, Bao YX. Inhibitory effect of dexamethasone on Lewis mice lung cancer cells. *Genetics and molecular research : GMR*. 2014;13(3):6827-36.
162. Almatroodi SA, McDonald CF, Collins AL, Darby IA, Pouniotis DS. Quantitative Proteomics of Bronchoalveolar Lavage Fluid in Lung Adenocarcinoma. *Cancer genomics & proteomics*. 2015;12(1):39-48.
163. Tamaki K, Moriya T, Sato Y, Ishida T, Maruo Y, Yoshinaga K, et al. Vasohibin-1 in human breast carcinoma: A potential negative feedback regulator of angiogenesis. *Cancer science*. 2009;100(1):88-94.
164. Lu C, Han HD, Mangala LS, Ali-Fehmi R, Newton CS, Ozbun L, et al. Regulation of tumor angiogenesis by EZH2. *Cancer cell*. 2010;18(2):185-97.
165. Miyake K, Nishida K, Kadota Y, Yamasaki H, Nasu T, Saitou D, et al. Inflammatory Cytokine-induced Expression of Vasohibin-1 by Rheumatoid Synovial Fibroblasts. *Acta Med Okayama*. 2009;63(6):349-58.

166. Sato H, Abe T, Wakusawa R, Asai N, Kunikata H, Ohta H, et al. Vitreous levels of vasohibin-1 and vascular endothelial growth factor in patients with proliferative diabetic retinopathy. *Diabetologia*. 2009;52(2):359-61.
167. Hinamoto N, Maeshima Y, Saito D, Yamasaki H, Tanabe K, Nasu T, et al. Urinary and plasma levels of vasohibin-1 can predict renal functional deterioration in patients with renal disorders. *PloS one*. 2014;9(6):96932.
168. Li D, Zhou K, Wang S, Shi Z, Yang Z. Recombinant adenovirus encoding vasohibin prevents tumor angiogenesis and inhibits tumor growth. *Cancer science*. 2010;101(2):448-52.
169. Watanabe T, Okada Y, Hoshikawa Y, Eba S, Notsuda H, Watanabe Y, et al. A Potent Anti-angiogenic Factor, Vasohibin-1, Ameliorates Experimental Bronchiolitis Obliterans. *Transpl P*. 2012;44(4):1155-7.
170. Nasu T, Maeshima Y, Kinomura M, Hirokoshi-Kawahara K, Tanabe K, Sugiyama H, et al. Vasohibin-1, a Negative Feedback Regulator of Angiogenesis, Ameliorates Renal Alterations in a Mouse Model of Diabetic Nephropathy. *Diabetes*. 2009;58(10):2365-75.
171. Saito D, Maeshima Y, Nasu T, Yamasaki H, Tanabe K, Sugiyama H, et al. Amelioration of renal alterations in obese type 2 diabetic mice by vasohibin-1, a negative feedback regulator of angiogenesis. *American journal of physiology Renal physiology*. 2011;300(4):F873-86.
172. Schuppan D, Afdhal NH. Liver cirrhosis. *Lancet*. 2008;371(9615):838-51.
173. Coch L, Mejias M, Berzigotti A, Garcia-Pras E, Gallego J, Bosch J, et al. Disruption of Negative Feedback Loop Between Vasohibin-1 and Vascular Endothelial Growth Factor Decreases Portal Pressure, Angiogenesis, and Fibrosis in Cirrhotic Rats. *Hepatology*. 2014;60(2):633-47.
174. Klein R, Peto T, Bird A, Vannewkirk MR. The epidemiology of age-related macular degeneration. *American journal of ophthalmology*. 2004;137(3):486-95.
175. Wakusawa R, Abe T, Sato H, Sonoda H, Sato M, Mitsuda Y, et al. Suppression of Choroidal Neovascularization by Vasohibin-1, a Vascular Endothelium-Derived Angiogenic Inhibitor. *Invest Ophth Vis Sci*. 2011;52(6):3272-80.

T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI

TIBBİ BİYOKİMYA
ANABİLİM DALI BAŞKANLIĞI

AKCİĞER KANSERLİ HASTALARDA SERUM VE BRONKOALVEOLAR LAVAJ
SIVISINDA VASOHİBİN-1 DÜZEYLERİNİN BELİRLENMESİ

Dr. Alev LAZOĞLU ÖZKAYA

Uzmanlık Eğitimine Başlama Tarihi : 14.03.2011

Uzmanlık Eğitimini Bitirme Tarihi : 11.08.2015

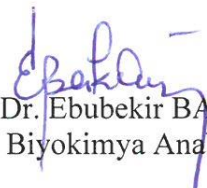
Uzmanlık Sınavı Tarihi : 11.08.2015

Tez Danışmanı : Prof. Dr. M. Sait KELEŞ

Jüri üyesi : Prof. Dr. Ebubekir BAKAN

Jüri üyesi : Prof. Dr. Özkan ALATAŞ




Prof. Dr. Ebubekir BAKAN
Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı Başkanı

AĞUSTOS - 2015
ERZURUM