



ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ

TIBBİ PATOLOJİ ANABİLİM DALI

**PRİMER AKCİĞER ADENOKARSİNOMU VE SKUAMOZ
HÜCRELİ KARSİNOMUNDA TGF β 1, SNON VE P53
EKSPRESYONUNUN ARAŞTIRILMASI**

TIPTA UZMANLIK TEZİ

Dr. Çiğdem UZUN

Samsun

Ocak 2018



ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ

TIBBİ PATOLOJİ ANABİLİM DALI

**PRİMER AKCİĞER ADENOKARSİNOMU VE
SKUAMOZ HÜCRELİ KARSİNOMUNDA TGF β 1,
SNON VE P53 EKSPRESYONUNUN
ARAŞTIRILMASI**

TIPTA UZMANLIK TEZİ

Dr. Çiğdem UZUN

Danışman

Doç. Dr. Yurdanur SÜLLÜ

Samsun

Ocak 2018

TEŐEKKÖR

Bu günlere gelmemi sağlayan başta ailem olmak üzere üzerimde emeği geçen tüm öğretmenlerime, hocalarıma, akıl hocalarıma, hayat arkadaŐıma ve kızırıma gönülden teŐekkörü bir borç bilirim. Uzun ve yorucu bir maraton olan asistanlık sürecini çekilir kılan, omuz omuza yürüdüğüm asistan arkadaşlarıma, tez danışmanım olan Doç. Dr. Yurdanur SÖLLÖ ve istatistiksel analiz aŐamasında yardımcı olan Prof. Dr. Sevgi CANBAZ hocalarıma çok teşekkür ederim. Ayrıca tüm patoloji teknik ekip ve sekreterlerine teşekkür ederim.



İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	I
RESİMLER LİSTESİ.....	III
TABLolar LİSTESİ.....	IV
ÖZET.....	VII
ABSTRACT.....	IX
1.GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	4
2.1 Dünya Sağlık Örgütü (WHO) 2015'e Göre Akciğer Tümörlerinin Sınıflaması	4
2.2 Epidemiyoloji Ve Etiyoloji	9
2.3 Adenokarsinom ve Skuamoz Hücreli Karsinom ile İlgili Genel Bilgiler	9
2.3.1 Adenokarsinom	9
2.3.2 Skuamoz Hücreli Karsinom	10
2.3.4 Tümörlerin Histolojik Derecesi	11
2.4 Evreleme ve Tedavi.....	13
2.4.1 Küçük Hücreli Dışı Akciğer Karsinomlarının Evrelemesi	13
2.4.2 Evrelere Göre Tedavi Seçenekleri	16
2.5 İmmünohistokimyasal Belirteçler.....	16
2.5.1 Transforming Growth Factor Beta (TGFβ)	16
2.5.2 Ski Novel Gen N (SnoN)	20
2.5.3 P53 Geni	21
3. GEREÇ VE YÖNTEM	21
3.1 Olgu Seçimi ve Çalışma Grupları.....	21
3.2 İstatistiksel Yöntemler.....	23
4. BULGULAR	24
5. TARTIŞMA	47
6. SONUÇLAR	55
KAYNAKÇA.....	57

RESİMLER LİSTESİ

- Resim 1: TGF β 1 ile tümörde skor 2 boyanma (DAB, x400) (A), TGF β 1 ile tümörde skor 0 boyanma (DAB, x400) (B) 33**
- Resim 2: TGF β 1 ile peritümöral stromada skor 2 boyanma (DAB, x400) (A), TGF β 1 ile peritümöral stromada skor 0 boyanma (DAB, x400) (B) 33**
- Resim 3: SnoN ile tümörde sitoplazmik skor 2 boyanma (DAB, x400) (A), SnoN ile tümörde sitoplazmik skor 0 boyanma (DAB, x400) (B) 34**
- Resim 4: SnoN ile peritümöral stromada skor 0 sitoplazmik ve skor 2 nükleer boyanma, tümörde skor 2 sitoplazmik boyanmalar (DAB, x400) (A), SnoN ile tümörde skor 2 nükleer boyanma (DAB, x400) (B) 34**
- Resim 5: TGF β 1 ile tümörde nükleer boyanma (DAB, x400) (A), TGF β 1 ile peritümöral stromada skor 2 boyanma (DAB, x400) (B) 35**
- Resim 6: P53 ile tümörde skor 0 boyanma (DAB, x400) (A), P53 ile tümörde skor 2 boyanma (DAB, x 400) (B) 35**

TABLolar LİSTESİ

Tablo 1: Ülkemizde Akciğer Kanserinin Histolojik Tiplerinin Yüzde Dağılımı (Türkiye Birleşik Veri Tabanı, 2014)	3
Tablo 2: 2004 ve 2015 Dünya Sağlık Örgütü Akciğer Adenokarsinom Sınıflamaları	7
Tablo 3: 2004 ve 2015 Dünya Sağlık Örgütü Akciğer Skuamoz Hücreli Karsinom Sınıflamaları	8
Tablo 4: Akciğer Skuamoz Hücreli Karsinomlarında Tümörün Histolojik Derecelemesi İçin Kullanılan Yöntem	12
Tablo 5: 8.TNM Evrelemesi	14
Tablo 6: 7. Ve 8. TNM Evrelerinin Karşılaştırması	15
Tablo 7: İmmünohistokimyasal Boyanma Skorlaması	23
Tablo 8: Hastaların Tanı ve Cinsiyete Göre Dağılımı	25
Tablo 9: Adenokarsinom ve Skuamoz Hücreli Karsinom Olgularının Yaş Ortancası	25
Tablo 10: Klinik Evreye Göre Hastaların Dağılımı	26
Tablo 11: Adenokarsinomda Histolojik Alt Tiplerin Dağılımı	27
Tablo 12: Adenokarsinomda TGFβ1'in Tümörde ve Peritümöral Stromada Sitoplazmik Boyanma Skorlarının Dağılımı	28
Tablo 13: Adenokarsinomda SnN'in Tümör Hücrelerinde Sitoplazmik ve Nükleer Boyanma Skorlarının Dağılımı	29

Tablo 14: Adenokarsinomda Peritümöral Stromada SnoN'in Sitoplazmik ve Nükleer Boyanma Skorlarının Dağılımı	29
Tablo 15: Skuamoz Hücreli Karsinomda TGFβ1'in Tümörde ve Peritümöral Stromada Boyanma Skorlarının Dağılımı	30
Tablo 16: Skuamoz Hücreli Karsinomda SnoN'in Tümör Hücrelerinde Sitoplazmik ve Nükleer Boyanma Skorlarının Dağılımı	31
Tablo 17: Skuamoz Hücreli Karsinomda SnoN'in Peritümöral Stromal Hücrelerde Sitoplazmik ve Nükleer Boyanma Skorlarının Dağılımı	31
Tablo 18: Skuamoz Hücreli Karsinomda p53'ün Tümörde Boyanma Skorlarının Dağılımı	32
Tablo 19: Adenokarsinomda TGFβ1'in Tümörde Sitoplazmik Boyanma Skoru ile Uzak Metastaz Arasındaki İlişki	36
Tablo 20: Adenokarsinomda TGFβ1 'in Tümörde Sitoplazmik Boyanma Skoru ile Tümör Evresinin İlişkisi	36
Tablo 21: Adenokarsinomda Tümörde Sitoplazmik TGFβ Boyanma Skoru ile Lenfovasküler İnvazyon Arasındaki İlişki	37
Tablo 22: Adenokarsinom Vakalarında Tümörde TGFβ1 ile Nükleer Boyanma Olan ve Boyanma Olmayan Hastaların Hastalısız ve Genel Sağ Kalım Sürelerinin Karşılaştırması	38
Tablo 23: Adenokarsinom Olgularında Tümörde Nükleer TGFβ1 Ekspresyonu ile Tümör Evresinin Karşılaştırması	39
Tablo 24: Adenokarsinomda SnoN'in Tümörde Nükleer Boyanma Skoru ile Tümör Evresi Arasındaki İlişki	40

Tablo 25: Adenokarsinomda SnoN'in Tümörde Nükleer Boyanma Skoru ile Genel ve Hastalısız Sağ Kalım Süreleri Arasındaki İlişki	40
Tablo 26: Adenokarsinom Olgularında SnoN'in Peritümöral Stromal Hücrelerdeki Nükleer Boyanma Skorlarının Tümör Evresi İle İlişkisi	42
Tablo 27: Adenokarsinomda Olgularında Peritümöral Stromada SnoN'in Sitoplazmik Ekspresyonunun Hastalısız Sağ kalım Süresi ile Karşılaştırması	42
Tablo 28: Adenokarsinomda Tümörde P53 Ekspresyonu ile Uzak Metastaz Durumunun Karşılaştırması.	43
Tablo 29: Adenokarsinomda Tümörde P53 Ekspresyonu ile Hastalısız ve Genel Sağ Kalım Sürelerinin Karşılaştırılması	43
Tablo 30: TGFβ1, SnoN ve p53 Ekspresyon Skoru 2 Olan Hastaların Adenokarsinomda Histolojik Alt Tiplere Göre Dağılımı	45
Tablo 31: Skuamoz Hücreli Karsinom Olgularında Tümör Hücrelerinde TGFβ1'in Nükleer Ekspresyonunun Klinik Evre ile İlişkisi	46

ÖZET

Amaç: Akciğer kanseri tüm dünyada en yaygın kanserdir. Kansere bağlı ölümlerin de başında gelir. Kanser gelişiminde yer alan moleküllerin ve genetik değişikliklerin tespiti, tedavi stratejilerinin geliştirilmesinde anahtar role sahiptir. TGFβ1, SnoN ve p53 çeşitli tümör dokularında tespit edilen ve onkojenik dönüşüm, tümör invazyonu ve metastazı sırasında birbiriyle ilişki içerisinde olan moleküllerdir. Tümör hücrelerinde ve tümörü çevreleyen stromadaki fonksiyonları çok yönlü ve karmaşıktır. Sinyal yolları üzerinde hâlen çalışılan bir konu olup henüz tam olarak aydınlatılamamıştır. Farklı tümörler üzerinde yapılan çalışmalarda TGFβ1 ve SnoN'in ekspresyon değişikliklerinin tümör progresyonunda rolü olduğu gözlenmiştir. Çalışmamızda akciğer adenokarsinomu ve skuamoz hücreli karsinomunda SnoN, TGFβ1 ve p53 ekspresyonunun, tümör evresi, tümör çapı ve histolojik derecesi, histolojik alt tipi, lenfovasküler invazyon, plevra invazyonu, uzak metastaz ve sağ kalım süreleri ile ilişkisini araştırdık.

Gereç ve Yöntem: 2005 -2013 yılları arasında Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim dalında primer akciğer adenokarsinomu ve skuamoz hücreli karsinomu tanısı almış 200 hastaya ait cam preparatlar tekrar değerlendirilerek TGFβ1, SnoN ve p53 antikoları ile immünohistokimyasal çalışma uygulandı. Boyanma skorları tümör evresi, tümör çapı ve histolojik derecesi, lenfovasküler ve plevral invazyon, uzak metastaz durumu, genel ve hastaliksız sağ kalım süreleri ile kıyaslandı.

Bulgular: TGFβ1'in adenokarsinom olgularının %48,6'sında (52 kişi) tümör hücrelerinde, %68,2'sinde (73 kişi) tümör stromasında sitoplazmik ekspresyonu güçlü ve yaygındır (skor 2). Ayrıca adenokarsinom tanılı hastaların %46,7'sinde (50 kişi) TGFβ1'in sitoplazmik ekspresyonuna eşlik eden nükleer ekspresyon mevcuttur. TGFβ1'in nükleer ekspresyonu olan olgular ağırlıklı olarak ileri evredeki hastalardır. Adenokarsinom tanılı uzak metastazı olan hastalarda TGFβ1'in tümörde sitoplazmik ekspresyonu azalmakta, nükleer ekspresyonu artmakta, hastaliksız ve genel sağ kalım süreleri kısalmaktadır.

SnoN'in hem adenokarsinomda hem de skuamoz hücreli karsinomda tümör hücrelerindeki ekspresyonu ağırlıklı olarak sitoplazmik olarak gözlenmiş olup adenokarsinom olgularının %92,5'inde (99 kişi), skuamoz hücreli karsinom olgularının %73,1'inde (68 kişi) SnoN'in tümör hücrelerinde sitoplazmik ekspresyon güçlü ve yaygındır (skoru 2). Ancak sitoplazmik SnoN ekspresyonunun evre, tümör çapı, tümör derecesi veya sağ kalım ile ilişkisi mevcut değildir. SnoN'in tümör hücrelerinde nükleer ekspresyonu ise ileri evre ve kısa sağ kalım süreleri ile ilişkili bulunmuştur. Adenokarsinomda peritümöral stromada SnoN'in sitoplazmik ekspresyonu ile hastalıksız sağ kalım süresi negatif korelasyon göstermektedir. Adenokarsinom olgularında tümörde p53 ekspresyonu ileri evre ve kısa sağ kalım süreleri ile korelasyon göstermektedir. Skuamoz hücreli karsinomda istatistiksel olarak anlamlı bulunan tek korelasyon TGFβ1'in tümörde nükleer ekspresyonu ile ileri tümör evresidir.

Sonuçlar: Akciğer adenokarsinomlarında tümörde TGFβ1 ekspresyonu azalması, SnoN'in tümör hücrelerinde nükleer ekspresyon artışı ile ilişkili olup bu da uzak metastaz sıklığının artışı, hastalıksız ve genel sağ kalım sürelerinin kısalması ile korelasyon göstermektedir. Adenokarsinomda tümörü çevreleyen stromada SnoN'in sitoplazmik ekspresyonu ile tümör hücrelerinin p53 ekspresyonu arasında pozitif korelasyon mevcuttur ve bu da kısa sağ kalım süreleri ile ilişkilidir.

Anahtar kelimeler: Akciğer adenokarsinomu, Akciğer skuamoz hücreli karsinomu, TGFβ1, SnoN, p53

ABSTRACT

Aim: Lung cancer is the most common cancer worldwide. Lung cancer is also the leading cause of cancer-related deaths. Detection of molecules involved in cancer development and genetic alterations has a key role in the development of treatment strategies. TGF β 1, SnoN and p53 are molecules found in various tumor tissues and associated with each other during oncogenic transformation, tumor invasion and metastasis. Their functions in tumor cells and tumor stroma are versatile and complex. It is a subject that still works on the signal pathways and has not yet been fully elucidated. Studies on different tumors have shown that expression alterations of TGF β 1 and SnoN play a role in tumor progression. We investigated the expression of SnoN, TGF β 1 and p53 expression in lung adenocarcinoma and squamous cell carcinoma in relation to tumor stage, tumor size and histological grade, histologic subtype, lymphovascular invasion, pleural invasion, distant metastasis and survival in our study.

Materials and Methods: Glass preparations of 200 patients between 2005 and 2013 years with primary pulmonary adenocarcinoma and squamous cell carcinoma diagnosed in Ondokuz Mayıs University Faculty of Medicine Pathology department, were reevaluated and immunohistochemical studies were performed with TGF β 1, SnoN and p53 antibodies. Staining scores were compared with disease stage, tumor diameter and histologic type, pleural and lymphovascular invasion, distant metastasis and survival times.

Findings: The cytoplasmic expression of TGF β 1 in tumor cells was 48.6% (52 persons) and in tumor stroma 68.2% (73 persons) was strong and diffuse (score 2). Also 46.7% (50 person) of patients with adenocarcinoma have nuclear expression associated with cytoplasmic expression of TGF β 1. Patients with nuclear expression of TGF β 1 are predominantly advanced. In patients with distant metastasis with adenocarcinoma, the cytoplasmic expression of TGF β 1 in the tumor is decreased, nuclear expression is increased, disease free and overall survival is shortened.

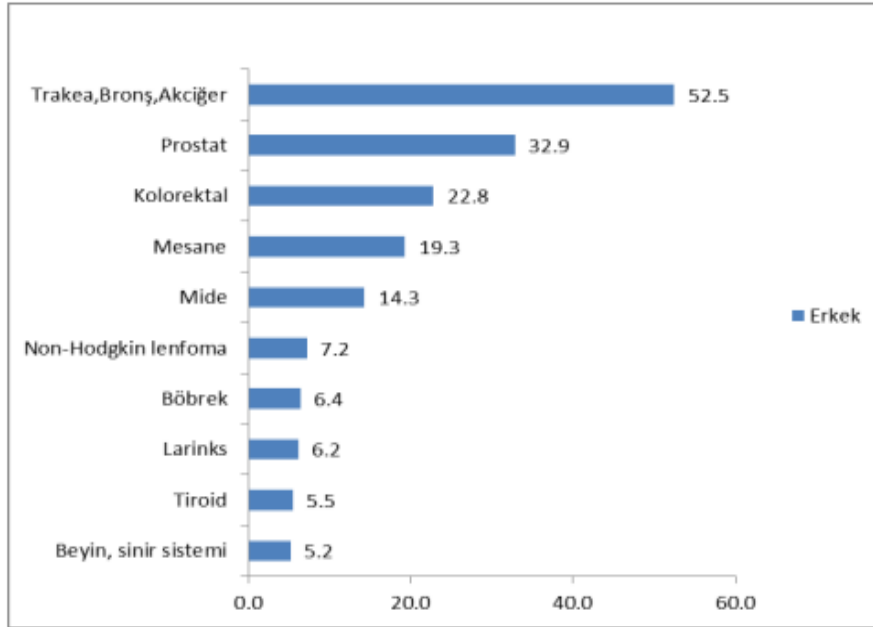
In both adenocarcinoma and squamous cell carcinoma, expression of SnoN in tumor cells was predominantly cytoplasmic, with 92.5% (99 patients) of adenocarcinoma and 73.1% (68 patients) of squamous cell carcinoma in the tumor cells was strong and diffuse (score 2) cytoplasmic SnoN expression. However, cytoplasmic SnoN expression does not exist in relation to stage, tumor size, tumor grade or survival. Nuclear expression of SnoN in tumor cells has been associated with advanced stage and short survival times. In adenocarcinoma, cytoplasmic expression of SnoN in tumor stroma is negatively correlated with disease-free survival. In adenocarcinoma cases, p53 expression in the tumor correlates with advanced stage and short survival times. The only statistically significant correlation in squamous cell carcinoma is advanced tumor progression with nuclear expression of TGF β 1 in tumor cells.

Results: The decrease in tumor TGF β 1 expression in lung adenocarcinomas is associated with an increase in nuclear expression of SnoN in tumor cells, which correlates with an increase in the frequency of distant metastasis, a reduction in disease-free and overall survival. There is a positive correlation between cytoplasmic expression of SnoN in tumor stroma and p53 expression of tumor cells in adenocarcinoma, which is associated with short survival times.

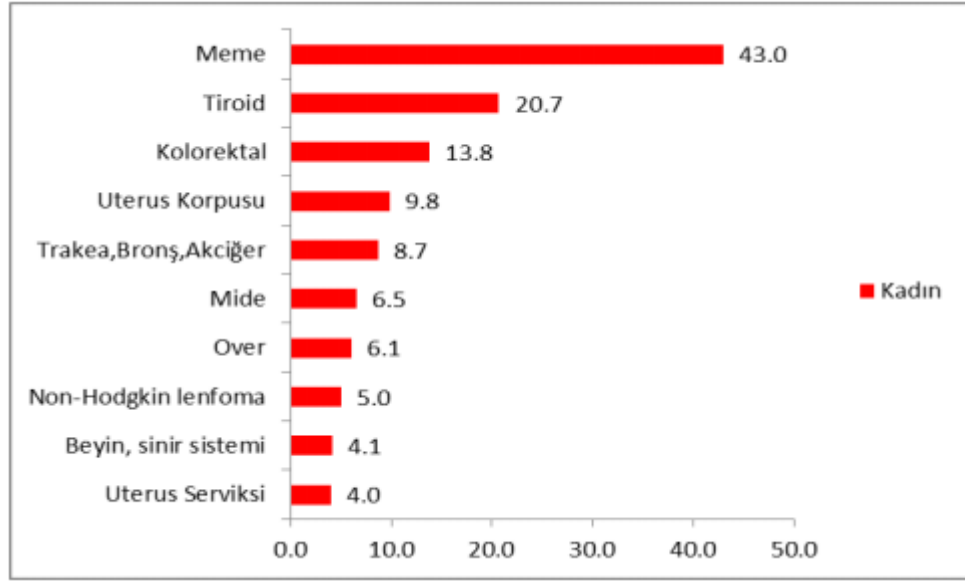
Keywords: Lung adenocarcinoma, Lung squamous cell carcinoma, TGF β 1, SnoN, p53

1.GİRİŞ VE AMAÇ

Kanser günümüzde önemli bir halk sağlığı sorunudur. Uluslararası Kanser Araştırmaları Ajansının (GLOBOCAN) verilerine göre 2012 yılında tüm dünyada yeni tanı alan kanser vakalarının sayısı 14,1 milyondur. 8,2 milyon ölüm kanser nedeniyledir. Dünya çapında en çok tanı konan kanser çeşitleri sırasıyla akciğer (%13,0), meme (%11,9) ve kolon (%9,7) 'dur. Kansere bağlı ölümlerin en sık sebebi ise akciğer kanseridir [1], [2]. Akciğer kanseri yine tüm dünyada erkeklerde en yaygın (1,2 milyon, %16,7) kanser türüdür. Kadınlarda ise meme, kolorektal kanserler, uterus serviksi ve uterus korpusu tümörlerinden sonraki en sık kanser türüdür [1]. Ülkemizde de bu sıralama benzerdir [3].



Grafik 1:Türkiye’de Erkeklerde En Sık Görülen 10 Kanserın Yaşa Göre Standardize Edilmiş Hızları (Türkiye Birleşik Veri Tabanı, 2014) (Dünya Standart Nüfusu, 100.000 Kişide) [3]



Grafik 2: Türkiye’de Kadınlarda En Sık Görülen 10 Kanserin Yaşa Göre Standardize Edilmiş Hızları (Türkiye Birleşik Veri Tabanı, 2014) (Dünya Standart Nüfusu, 100.000 Kişide) [3]

Akciğer karsinomları hava yollarını döşeyen yüzey epitelinden köken alırlar. Bu epiteli dört ana hücre tipi oluşturur; bazal hücreler, müköz hücreler, silyalı kolumnar hücreler ve nöroendokrin hücreler. Silyalı kolumnar hücreler hariç diğerleri bölünme yeteneğine sahiptir ve malign potansiyel kazanabilir. Benzer şekilde bronşiyol ve alveolleri döşeyen Tip 2 pnömositler ve Clara hücreleri de periferik hava yollarının kök hücreleridir [4].

Akciğer karsinomlarının yaklaşık %80’i küçük hücreli dışı akciğer karsinomlarıdır [3] , [5]. Küçük hücreli dışı akciğer karsinomu tanısı alan hastaların ancak %30’u tanı anında küratif cerrahi rezeksiyona cevap verebilecek durumdadır. Bu da bu tümörlerin agresif doğasının göstergesidir[5].

Tablo 1: Ülkemizde Akciğer Kanserinin Histolojik Tiplerinin Yüzde Dağılımı (Türkiye Birleşik Veri Tabanı, 2014)[3]

Histolojik Tip	Histolojik Alt Tip	Yüzde	Toplam %
Küçük Hücreli Dışı Karsinom	Skuamoz Hücreli Karsinom	%37,5	%79,2
	Adenokarsinom	%43,8	
	Büyük Hücreli Karsinom	%1,8	
	NOS	%16,8	
Küçük Hücreli Karsinom			%16,6
Diğerleri			%4,2
Toplam %			%100

Etiyolojik faktörlere maruziyetin en aza indirgenmesi ve önlenebilir nedenlerin ortadan kaldırılması kadar kanser taramaları, erken tanı ve tedavi de önemlidir.

Teknolojik gelişmelere paralel olarak tanı ve tedavide gelişmeler ile hastaya özel ve moleküler hedeflere yönelik tedaviler geliştirilmeye başlanmıştır. Akciğer kanserlerinin güncel tedavilerinde de seçilen hedef moleküller akciğer kanseri gelişimine neden olan genetik mutasyonları hedef alan moleküllerdir. Bu mutasyonların tespiti ve buna yönelik tedavi yöntemlerinin geliştirilmesi ile EGFR ve ALK inhibitörleri gibi hedefe yönelik tedaviler uygulamaya geçmiştir [6]. Bu nedenle akciğer kanseri gelişimi yolağında hedef molekülleri belirlemek önemlidir.

Literatürde farklı araştırmacılar tarafından yapılan çeşitli çalışmalarda *Transforming growth factor β (TGF β)*'nin hücre homeostazını sağlamak yanı sıra hücrenin onkojenik dönüşümünde ve sonrasında, gerek hücre içi yollarda gerekse

stromal değişikliklerde tümör progresyonunu destekleyici rolü olduğu ve bu olaylar zincirinde SnoN gibi moleküllerle etkileşim içinde olduğu tespit edilmiştir. SnoN molekülü ve ilişkili olduğu ski proteinleri, hem hücre sitoplazmasında hem de nükleusta Smad proteinleri ile yarışarak veya Smad komplekslerine bağlanarak TGFβ'ya bağlı gen transkripsiyonunu baskılar. Böylece TGFβ'nın hücre proliferasyonu ve diferansiasyonu üzerindeki baskılayıcı etkisi ortadan kalkar. Hücrede anti-proliferatif sinyaller azalıp, proliferasyon yolları üzerindeki denetim kalkınca kontrolsüz çoğalma ve diferansiasyon kaybı, apoptozun baskılanması gibi malign dönüşümü başlatacak değişiklikler meydana gelir [7],[8] . Ancak SnoN 'in Smad proteinlerinden bağımsız olarak, bir tümör baskılayıcı gen olan p53 molekülünün ekspresyonunu artırarak ve molekülü stabilize ederek hücre yaşlanmasını uyarıp, hücre ölümü ve apoptozu destekler rol oynadığı da bilinmektedir. Bu yönüyle SnoN anti-onkojenik etki de gösterebilir [9], [10]. İnsanlarda görülen pek çok kanser türünde bu moleküllerde ve sinyal yollarında değişiklikler olduğu gözlenmiştir [11], [12].

Bu çalışmada akciğerin adenokarsinomu ve skuamoz hücreli karsinomlarında TGFβ1, SnoN ve p53 ekspresyonunun varlığını ve tümör derecesi, evresi ve prognozu ile ilişkisini araştırmayı ve hedef tedavi seçeneklerine katkı sağlamayı amaçladık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1 Dünya Sağlık Örgütü (WHO) 2015'e Göre Akciğer Tümörlerinin Sınıflaması

Epitelial Tümörler

Adenokarsinom

- Lepidik paterni baskın adenokarsinom
- Asiner paterni baskın adenokarsinom
- Papiller paterni baskın adenokarsinom
- Mikropapiller paterni baskın adenokarsinom

Solid paterni baskın adenokarsinom

İnvaziv müsinöz adenokarsinom

Kolloid adenokarsinom

Fetal adenokarsinom

Enterik adenokarsinom

Minimal invaziv adenokarsinom

- Non-müsinöz
- Müsinöz

Preinvaziv lezyonlar

- Atipik adenomatöz hiperplazi
- Adenokarsinoma in situ

Non-müsinöz

Müsinöz

Skuamoz hücreli karsinom

Keratinize skuamoz hücreli karsinom

Non-keratinize skuamoz hücreli karsinom

Bazaloid skuamoz hücreli karsinom

Preinvaziv lezyon

- Skuamoz karsinoma in situ

Nöroendokrin tümörler

Büyük hücreli karsinom

Adenoskuamoz karsinom

Pleomorfik karsinom

İğsi hücreli karsinom

Dev hücreli karsinom

Karsinosarkom

Pulmoner blastom

Diğerleri ve sınıflanmamış karsinomlar

Tükürük bezi tipi tümörler

Papillomlar

Adenomlar

Mezenkimal Tümörler

Lenfohistiyositik tümörler

Ektopik orjinli tümörler

Metastatik tümörler

Akciğer adenokarsinomunda klinik, radyolojik, patolojik ve moleküler yönündeki hızlı gelişmelere bağlı olarak, tanı ve tedaviyi önemli ölçüde etkileyecek gelişmeler meydana geldi. Bu gelişmelere bağlı olarak 2004 Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) sınıflamasının çok disiplinli bir yaklaşımla geliştirilmeye ihtiyacı vardı. 2011’de International Association for the Study of Lung Cancer (IALSC) /American Thoracic Society/ European Respiratory Society akciğer adenokarsinomlarının uluslararası multidisipliner sınıflamasında değişiklikler yaptı [13]. Bu değişikliklerin amacı küçük hücreli karsinom ve küçük hücreli dışı akciğer karsinomu (KHDAK) olarak yapılan ayrımın yeterli olmayıp KHDAK’larının alt tiplerinin ayrımının yapılmasının tedavi stratejisi açısından önemini vurgulamak ve hastaların tanı ve tedavi süreçlerinin yönetiminde, tümör dokusunun ve zamanın akılcı kullanımını sağlamaktır. Buna göre adenokarsinom veya skuamoz hücreli karsinomu ayrımını yapmak çok önemlidir. Çünkü adenokarsinom veya küçük hücreli dışı akciğer adenokarsinomu- NOS tanısı alan olgular EGFR mutasyonları için araştırılmalıdır. Bu mutasyonların varlığı EGFR tirozin kinaz inhibitörlerine duyarsızlığı öngörmektedir. Skuamoz hücreli karsinomlarda ise bevacizumab tedavisi yaşamı tehdit edecek hemorajilere sebep olmaktadır [13].

Dünya Sağlık Örgütü’nün 2004’te yayınladığı akciğer tümörleri sınıflaması, güncel gelişmelerin ışığı altında düzenlenerek 2015’’te tekrar yayınlandı. Bu düzenlemede en çarpıcı değişiklik adenokarsinomların histolojik tip ve alt tiplerinde oldu [14].

Tablo 2: 2004 ve 2015 Dünya Sağlık Örgütü Akciğer Adenokarsinom Sınıflamaları

DSÖ 2004	DSÖ 2015
<ul style="list-style-type: none">❖ Mikst adenokarsinom❖ Asiner adenokarsinom❖ Papiller adenokarsinom❖ Bronkoalveolar adenokarsinom<ul style="list-style-type: none">➤ Müsinöz➤ Non-müsinöz➤ Mikst müsinöz/ non-müsinöz❖ Müsin içeren solid adenokarsinom❖ Mikst alt tipler içeren adenokarsinom<ul style="list-style-type: none">➤ Fetal adenokarsinom➤ Müsinöz (kolloid) adenokarsinom➤ Müsinöz kistadenokarsinom➤ Taşlı yüzük hücreli karsinom➤ Berrak hücreli karsinom❖ Pre-invaziv lezyon<ul style="list-style-type: none">➤ Atipik adenomatöz hiperplazi	<ul style="list-style-type: none">❖ İnvaziv adenokarsinom<ul style="list-style-type: none">➤ Asiner adenokarsinom➤ Papiller adenokarsinom➤ Lepidik adenokarsinom (Non-müsinöz bronkoalveoler paternin karşılığı)➤ Solid adenokarsinom➤ Mikropapiller adenokarsinom❖ İnvaziv adenokarsinom varyantları<ul style="list-style-type: none">➤ Fetal adenokarsinom➤ Kolloid adenokarsinom➤ İnvaziv müsinöz adenokarsinom➤ Enterik adenokarsinom❖ Minimal invaziv adenokarsinom<ul style="list-style-type: none">➤ Müsinöz➤ Non- müsinöz❖ Pre-invaziv lezyonlar<ul style="list-style-type: none">➤ Atipik adenomatöz hiperplazi➤ Adenokarsinoma in situ

Adenokarsinom için alt tiplerin belirlenmesi ve tanıda “adenokarsinom” terimi ile birlikte baskın paternin ve diğer azınlık paternlerin oranlarının belirtilmesi tümörün davranışını, dolayısıyla hastanın prognozunu belirlemek açısından önemlidir. Çünkü paternlerin tümörün histolojik derecesi ve diferansiasyonu ile ilişkisi vardır. Bu nedenle 2015 Dünya Sağlık Örgütü sınıflamasında adenokarsinom alt tipleri, lepidik adenokarsinom, asiner adenokarsinom, papiller adenokarsinom, mikropapiller adenokarsinom, solid adenokarsinom ve invaziv müsinöz adenokarsinom olarak belirtildi [14].

Güncel sınıflamadaki yeniliklerden en önemlilerinden biri de ‘bronkoalveolar karsinom’ teriminin kalkmasıdır. 2015 sınıflamasında pre-invaziv lezyonlar kategorisinde geçen adenokarsinoma in situ bronkoalveolar karsinomun yerini aldı. Adenokarsinoma in situ da müsinöz ve non- müsinöz alt tiplere ayrıldı. Yine pre-invaziv lezyonlar kategorisinde 2004 sınıflamasında olduğu gibi atipik adenomatöz hiperplazi yer aldı. Minimal invaziv adenokarsinom terimi ilk kez 2015 sınıflamasında kullanılmış olup küçük (≤ 3 cm) ve tek odak halinde, baskın olarak lepidik paternde ancak 5 mm veya daha küçük çapta invazyon içeren adenokarsinomları ifade etmektedir. Müsinöz kistadenokarsinom da kullanımı bırakılan terimlerden biridir. Güncel sınıflamada kolloid adenokarsinomların içinde yer almaktadır. Adenokarsinom varyantı sayılan taşlı yüzük hücreli ve berrak hücreli adenokarsinomlar ise 2015 sınıflaması ile birlikte birer sitolojik özellik olarak kabul edildi ve varyant kategorisinden çıkarıldı [14].

Akciğerin primer skuamoz hücreli karsinomu Dünya Sağlık Örgütü’ne göre 2004 yılındaki sınıflamada papiller, berrak hücreli, küçük hücreli ve bazaloid alt tiplere ayrılmışken 2015 sınıflamasında keratinize, non- keratinize ve bazaloid skuamoz hücreli karsinom başlıkları altında sınıflandı. Adenokarsinoma benzer şekilde pre-invaziv lezyon olarak skuamoz karsinoma in situ kategorisi belirlendi [14].

Tablo 3: 2004 ve 2015 Dünya Sağlık Örgütü Akciğer Skuamoz Hücreli Karsinom Sınıflamaları

DSÖ 2004	DSÖ 2015
<ul style="list-style-type: none"> ❖ Skuamoz hücreli karsinom <ul style="list-style-type: none"> ➤ Papiller varyant ➤ Berrak hücreli varyant ➤ Küçük hücreli varyant ➤ Bazal hücreli varyant 	<ul style="list-style-type: none"> ❖ Skuamoz hücreli karsinom <ul style="list-style-type: none"> ➤ Keratinize ➤ Non-keratinize ➤ Bazaloid ❖ Pre-invaziv lezyon <ul style="list-style-type: none"> ➤ Skuamoz karsinoma in situ

2.2 Epidemiyoloji Ve Etiyoloji

Akciğer bol kanlanan ve sık metastaz alan bir organdır. Primer tümörlerinden en sık epitelyal tümörler görülür. Epitelyal tümörlerin de yaklaşık %80-85'ini küçük hücreli dışı karsinomlar oluşturmakta olup adenokarsinom, skuamoz hücreli karsinom ve büyük hücreli karsinom başlıca histolojik tiplerdir [15].

Akciğer kanseri etiyojisinde rol oynayan en önemli etken ve kanser vakalarının yaklaşık % 90'ının sorumlusu sigara kullanımudur. Sigara ve tümör gelişimi arasındaki kuvvetli bağlantı skuamoz hücreli karsinom ve küçük hücreli karsinomda gözlenir [16]. 1960'lardan itibaren sigara içeriğindeki değişiklikler ve filtrelerin kullanımının artmasıyla beraber, adenokarsinom insidansı artarak akciğer kanserinin en sık gözlenen histolojik tipi olmuştur [15], [17], [18], [19] . Dünya genelinde akciğer kanseri olgularının yaklaşık % 25' i hayatı boyunca sigara içmemiş bireylerdir ve tümörün histolojik tipi adenokanserdir [18].

Tüm dünyadaki akciğer kanseri olgularının içinde erkeklerin %15'i, kadınların % 53'ünde etiyojide sigara dışı nedenler rol almaktadır [5]. Bu etkenler arasında mesleki karsinojenlere maruziyet, radon maruziyeti, hava kirliliği, asbestoz, iyonize radyasyon, çevresel karsinojenler, endüstriyel kimyasal ajanlar, altta yatan pulmoner fibrozis, malformasyonlar ve diyet sayılabilir [4], [16].

2.3 Adenokarsinom ve Skuamoz Hücreli Karsinom ile İlgili Genel Bilgiler

2.3.1 Adenokarsinom

Akciğer adenokarsinomunun insidansı son iki dekatta belirgin artmış olup günümüzde küçük hücreli dışı akciğer kanserleri içinde, hem kadın hem erkekte en sık görülen histolojik tiptir ve akciğer kanserlerinin % 50'sinden fazlasını oluşturarak diğer tüm histolojik tiplerin önüne geçmiştir [19]. Sigara ile ilişkisi diğer tiplere göre daha zayıftır. Ancak sigara kullananlarda giderek yaygınlaşmaktadır [16], [19].

Kaynaklandığı hücre tipi açısından akciğer adenokarsinomlarında iki ayrı histogenetik grup olduğu gösterilmiştir. Bunlardan Clara hücreleri, silyasız bronşiyol epitel hücreleri ve periferal akciğer dokusundaki tip 2 pnömositler, 1. grup progenitör hücreleri temsil eder. Bazal hücreler ve santral iletili hava yollarının mukus hücreleri muhtemel 2. grup progenitör tümör hücreleridir [5]. Adenokarsinomlar bu hücrelerden kaynaklanıp glandüler diferansiyasyon gösteren, mükün üreten veya pnömosit belirteçlerini eksprese eden malign epitelyal tümörlerdir. Asiner, papiller, mikropapiller, lepidik veya solid büyüme paterni gösterebilirler [14]. Akciğer adenokarsinomların % 80'i paternlerin bir kaçını, değişen oranlarda içerecek şekilde gözlenir [16]. Baskın patern ile hastalığın prognozu arasında ilişki vardır. Solid ve mikropapiller paternler kötü prognoza sahipken, lepidik paternin prognozu mükemmeldir. Özellikle pür lepidik patern gösteren adenokarsinoma in situ cerrahi rezeksiyonla %100 hastaliksız sağ kalım sağlar [21]. Bu nedenle gözlenen tüm paternlerin %5 ve 5'in katları olacak şekilde oranlarla belirtmek, hem baskın paterne karar vermede hem de kötü prognoza sahip (mikropapiller, solid patern) paternlerin varlığını ve ağırlığını belirlememizde yardımcı olur. Böylece patoloji raporlarında da bir standart sağlanmış olur.

Moleküler düzeyde incelendiğinde akciğer adenokarsinomlarında büyüme faktörü reseptörü sinyal yolağındaki proteinlerde onkojenik işlev kazanmayı sağlayan mutasyonlar (sürücü mutasyonları) tespit edilmiştir. Bu mutasyonlar tirozin kinaz aktivitesi gösteren reseptörleri kodlayan pek çok geni etkilemektedir. Bunlar EGFR, ALK, ROS, MET ve RET gibi diğer bazı kanser türlerinde de etkili olan gen mutasyonlarını içermektedir [6] . Tirozin kinaz reseptör mutasyonu içermeyen tümörlerde de sıklıkla KRAS mutasyonu tespit edilmiştir ki bu gen de büyüme faktörü sinyal yolağı içindeki tirozin kinaz reseptör kaskadında bulunmaktadır [6] ,[18].

2.3.2 Skuamoz Hücreli Karsinom

Skuamoz hücreli karsinom değişen derecelerde keratinizasyon ve / veya intersellüler köprüler içeren malign epitel hücrelerinden kaynaklanan tümördür. Bronş ağacında proksimal bronşları döşeyen epitel hücrelerinden gelişir. Sigara

içimi ile kuvvetli bir ilişkisi vardır. Bazal hücre hiperplazisiyle başlayan dönüşüm skuamoz metaplazi sonrasında displazi gelişimi, karsinoma in situ ve skuamoz hücreli karsinom gelişimi ile sona erer [5], [18].

Skuamoz hücreli karsinomların moleküler genetiğinde tümör süpresör genleri ilgilendiren kromozom delesyonları gibi pek çok genetik sapmalar gözlenir. Özellikle TP53 geni ve CDKN2A (Siklin bağımlı kinaz inhibitörü 2A) genini kodlayan kromozom 17p, 3p ve 9p kayıpları, tümör gelişiminin erken aşamalarından itibaren mevcuttur ve sigara kullanıcılarının histolojik olarak normal görünümlü mukoza epitel hücrelerinde de saptanabilmiştir [18].

2.3.4 Tümörlerin Histolojik Derecesi

Derecelendirme, spesifik bir tümör grubunun morfolojik görünümünü temel olarak prognostik olarak anlamlı iki ya da daha fazla sınıfa bölünmesidir. Akciğer adenokarsinomları ve skuamoz hücreli karsinomlar için genel olarak kabul edilmiş bir derecelendirme sistemi henüz mevcut değildir [14]. Ancak hastaların prognozunu öngörebilmek için evre kadar tümör derecelendirmesine de gereksinim vardır.

2011'de Uluslararası Akciğer Kanseri Araştırmaları Derneği (IASLC) Amerikan Toraks Derneği (ATS) ve Avrupa Solunum Derneği (ERS) akciğer adenokarsinomlarının rezeksiyon materyallerinde uygulanabilecek, adenokarsinomun beş histolojik paternine ve bunların oranına dayanan yeni bir sınıflama önerdi. Hastaların prognozları, adenokarsinomun alt tiplerine göre belirgin bir biçimde değişiklik gösterdiği için, tümörün baskın paternini ve daha az orandaki diğer paternleri belirlemek önemlidir [14]. Bu nedenle adenokarsinom tanısı verirken baskın patern ve diğer bileşenler oranları ile belirtilmelidir. Tümörlerin derecelendirmesini de baskın patern üzerinden lepidik patern derece 1, asiner ve papiller patern derece 2, solid ve mikropapiller patern derece 3 olarak kabul edilebileceği önerilmiştir [14].

Skuamoz hücreli karsinom için de derecelendirme konusunda standart bir yöntem geliştirmek için yeterli veri mevcut değildir [14]. Tümör hücrelerinin keratin yapma kabiliyeti, keratin incilerinin varlığı ve hücre sitoplazmasının keratinize olduğunu gösteren belirgin yoğun eozinofilik görünümünün olması tümörün iyi diferansiye olduğunun göstergelerinden biridir. Bu özelliklerin olduğu ancak çok belirgin olmadığı tümörler orta, keratinizasyon bulgusu hiç göstermeyen tümörler az diferansiyedir [16] , [14].

Skuamoz hücreli karsinomlar için bir başka dereceleme önerisi de mitoz sayısı, nükleer pleomorfizm ve nükleol belirginliğine göre yapılan derecelendirmedir [22]. Çalışmamızda da kullandığımız bu yöntem tablo 4'te özetlenmiştir.

Tablo 4: Akciğer Skuamoz Hücreli Karsinomlarında Tümörün Histolojik Derecelemesi İçin Kullanılan Yöntem

Derece 1	Mitoz sayısı bir büyük büyütme alanında (x400) 0-3 arası	Nükleer pleomorfizm minimal, nükleol küçük.
Derece 2	Mitoz sayısı bir büyük büyütme alanında (x400) 4-8 arası	Nükleer pleomorfizm kolayca fark edilebilir düzeyde, nükleol orta büyüklükte.
Derece 3	Mitoz sayısı bir büyük büyütme alanında (x400) 8'den fazla	Nükleer pleomorfizm belirgin ve multinükleer tümör hücreleri de gözlenebilir, nükleol büyük ve düzensiz şekilli.

2.4 Evreleme ve Tedavi

2.4.1 Küçük Hücreli Dışı Akciğer Karsinomlarının Evrelemesi

Akciğer tümörlerinin evrelemesi TNM evreleme sisteminin 8. uyarlamasına göre yapılmaktadır. Akciğere sınırlı ve plevra invazyonu bulunmayan 3 cm'den küçük tümörlerin kategorisi olan T1, 3 cm'den büyük ancak 5 cm ve daha küçük tümörler T2 olarak kategorisine alındı. Ayrıca çapına bakılmaksızın, visseral plevra invazyonu, karinaya ulaşmadan ana bronş invazyonu veya hiler bölge tutulumuna bağlı atelektazi/ obstruktif pnömoni varlığı da T2 kategorisindedir. 5 cm'den büyük ancak 7 cm'yi geçmeyen tümörler T3 kategorisine yükseltildi. Çapı ne olursa olsun, göğüs duvarı, pariyetal perikard veya frenik sinir invazyonu ve primer tümör ile aynı lobda ayrı bir tümör nodülünün varlığı da T3 kategorisindedir. Diyafram invazyonu olan tümörler yanı sıra en büyük çapı 7 cm'den büyük tümörler başka kriter aranmaksızın T4 kategorisine yükseltildi. Bunun dışında T4 kategorisi 7. TNM ile aynıdır [13].

Lenf nodu kategorileri değiştirilmedi. N1 bölgesel, peribronşal ve hiler lenf nodu tutulumunu, N2 aynı taraf mediastinal ve subklavikular lenf nodu metastazını, N3 ise karşı tarafın mediastinal, hiler, skalen veya subklavikular lenf nodu metastazını temsil etmektedir [13].

Uzak metastaz kategorisinde 7. TNM'deki gibi karşı akciğerde tümör nodülü varlığı veya plevrada, perikardda nodüller veya malign effüzyon olması M1a olarak kaldı. M1b kategorisi ise uzak metastazın kaç organda ve kaç odakta olduğu göz önüne alınarak M1b ve M1c olarak ayrıldı. M1b tek ekstratorasik organda tek metastaz odağı, M1c ise tek veya multiple ekstratorasik organda multiple metastaz odağı varlığında kullanılacaktır [13].

Tablo 5: 8.TNM Evrelemesi

T ₁	En geniş çapı ≤3 cm, akciğer veya viseral plevra ile çevrili, bronkoskopik olarak lob bronşundan daha proksimalde invazyon bulgusu olmayan tümör (örneğin: ana bronşta olmayan)
T _{1a} mi	Minimal invaziv (mi) adenokarsinoma
T _{1a}	En geniş çapı ≤1 cm olan tümör
T _{1b}	En geniş çapı >1 cm ancak ≤2 cm olan tümör
T _{1c}	En geniş çapı >2 cm ancak ≤3 cm olan tümör
T ₂	>3 cm fakat ≤5 cm veya Aşağıdaki özelliklerden en az biri ile birlikte olan tümör <ul style="list-style-type: none">- Karinaya olan uzaklığına bakılmaksızın ana bronş tutulumu var ancak karina tutulumu yok- Visseral plevra invazyonu var- Hiler bölgeye uzanan atelektazi veya obstrüktif pnömoni oluşturan, akciğerin bir kısmını veya tümünü içeren tümör
T _{2a}	En geniş çapı >3 cm ancak ≤4 cm olan tümör
T _{2b}	En geniş çapı >4 cm ancak ≤5 cm olan tümör
T ₃	En geniş çapı >5 cm ancak ≤7 cm olan tümör veya göğüs duvarı (superior sulcus tümörleri dahil), frenik sinir, parietal plevra'dan herhangi birini direkt olarak invaze eden tümör veya Aynı lobda ayrı nodül(leri) olan tümör
T ₄	>7 cm tümör veya Diyafagma, mediasten, kalp, büyük damarlar, trakea, rekürren larengeal sinir, özofagus, vertebra cismi, karina gibi yapılardan herhangi birini invaze eden tümör veya aynı taraf farklı lobda ayrı tümör nodül(leri) bulunması

N0:	Bölgesel lenf nodu tutulumu yok
N1:	Aynı taraf peribronşiyal, hilar ve intrapulmoner yayılım
N2	Aynı taraf mediastinal ve/veya subkarinal lenf nodu tutulumu
N3	Karşı taraf mediastinal, hilar lenf nodu tutulumu, aynı veya karşı taraf skalen, subklavikular lenf nodu tutulumu

M: Uzak metastaz

M 0	Uzak metastaz yok
M1a	Karşı akciğerde ayrı tümör nodül(leri); tümörle birlikte plevral ya da perikardiyal nodül(ler) ya da malign plevral ya da perikardiyal efüzyon*
M1b	Ekstratorasik tek metastaz**
M1c	Ekstratorasik bir ya da daha fazla organda multipl metastaz

* Akciğer kanseri ile birlikte olan plevral (perikardiyal) efüzyonlar en sık olarak tümöre bağlı olur. Çok az hastada multipl mikroskopik incelemelerde plevral (perikardiyal) sıvı tümör açısından negatiftir ve sıvı hemorajik değildir ve eksüda değildir. Bu bulgular var ise ve klinik karar efüzyonun tümörle ilgili olmadığını düşündürüyor ise, efüzyon evreleme kararından çıkarılmalıdır.

** Bu evreleme uzak tek (nonregional: bölgesel olmayan) lenf nodu metastazını da kapsar.

Tablo 6: 7. Ve 8. TNM Evrelerinin Karşılaştırması

7. TNM	8. TNM	N Kategorisi ve Klinik Evre			
		N0	N1	N2	N3
T1 : ≤ 1 cm	T1a	IA1(IA)	IIB(IIA)	IIIA	IIIB
T1 :1-2 cm	T1b	IA2(IA)	IIB(IIA)	IIIA	IIIB
T1 :2-3 cm	T1c	IA3(IA)	IIB(IIA)	IIIA	IIIB
T2 :3-4cm	T2a	IB	IIB(IIA)	IIIA	IIIB
T2 :4-5 cm	T2b	IIA(IB)	IIB(IIA)	IIIA	IIIB
T2 :5-7cm	T3	IIB(IIA)	IIIA(IIIB)	IIIB(IIIA)	IIIC(IIIB)
T3 :Göğüs duvarı, pariyetal perikard, frenik sinir invazyonu veya aynı lobda ayrı bir tümör nodülünün varlığı	T3	IIB	IIIA	IIIB(IIIA)	IIIC(IIIB)
T3: Diyafram invazyonu veya > 7cm	T4	IIIA(IIIB)	IIIA	IIIB(IIIA)	IIIC(IIIB)
T3: Ana bronş içinde ve karınaya 2 cm'den yakın, 3-4 cm çapında tümör	T2a	IIIA(IIIB)	IIB(IIIA)	IIIA	IIIB
T3: Ana bronş içinde ve karınaya 2 cm'den yakın, 4-5 cm çapında tümör	T2b	IB(IIIB)	IIB(IIIA)	IIIA	IIIB
T4: mediastene, kalp, büyük damar ve sinirler, trakea, özofagus, vertebra korpusu, karına invazyonu, aynı akciğerin farklı lobunda ayrı bir tümör nodülü	T4	IIIA	IIIA	IIIB	IIIC(IIIB)
M1a: Karşı akciğerde nodül, plevral veya perikardiyal nodül ya da malign effüzyon	M1a	IVA(IV)	IVA(IV)	IVA(IV)	IVA(IV)
M1b: Ekstratorasik metastaz (tek ya da multiple)	M1b: Tek lezyon	IVA(IV)	IVA(IV)	IVA(IV)	IVA(IV)
	M1c: Multiple lezyon	IVB(IV)	IVB(IV)	IVB(IV)	IVB(IV)

2.4.2 Evrelere Göre Tedavi Seçenekleri

Lokalize tümörlerde (evre I ve II) küratif yöntem cerrahi tedavidir. Adjuvan kemoterapi bu hastalarda tedavi başarısına katkı sağlayabilir. Radyoterapiyle kombine edilerek verilen kemoterapi çoğu hastada palyasyon sağlar, ancak küçük bir grup hastada kür sağlanabilir [25]. Klinik olarak lokal ileri evre kabul edilen evre III tümörlerde ana tedavi yöntemi eş zamanlı kemoradyoterapidir. Seçilmiş evre III hastalarda tedaviye cerrahi eklenebilir [25], [26]. Evre IV hastalıkta ana tedavi yöntemi sistemik kemoterapidir. Tümörün histolojik alt tipi saptanan mutasyonlara göre tedavi kişiselleştirilebilir [26].

Kişiyeye yönelik tedavi uygulamalarında, tüm ileri evre ve nüks adenokarsinom hastalarında cinsiyet, sigara öyküsü, ırk ve diğer klinik faktörlere bakılmaksızın EGFR mutasyonu ve ALK geni yeniden düzenlenmesine eşzamanlı bakılması önerilmektedir. Bu hastalarda moleküler tedavinin kemoterapiye üstün olduğu gösterilmiştir [26].

2.5 İmmünohistokimyasal Belirteçler

2.5.1 Transforming Growth Factor Beta (TGF β)

'*Transforming Growth Factor β* ' yapısal sitokin ailesinin bir üyesidir ve tüm hücrelerde eksprese edilir [27], [17], [28]. Pek çok izoformu vardır ancak üç izoformu (TGF β 1, β 2 ve β 3) memeli hücrelerinde eksprese edilir. İnsanlarda bu üç izoform sırasıyla 19. , 1. ve 14. kromozomlarda bulunmaktadır. Her izoformun spesifik fonksiyonu vardır. Ama yapısal olarak ve sinyal yolları benzerdir [28].

TGF β hücre çoğalması ve diferansiasyonu, adezyon, apoptoz, migrasyon, epitelyal mezankimal dönüşüm (EMT) , ekstrasellüler matriksin yeniden modellenmesi, fibrozis, immünolojik fonksiyonlar ve tümör invazyonu / metastazı gibi hücre davranışlarını kontrol eder [28],[17] ,[7]. Üyesi olduğu sitokin ailesinde aktivinler, kemik yapısal proteinleri (BMP), miyostatinler, anti-Müllerian hormon (AMH) gibi moleküller yer alır [29], [17],[28] .

TGF β molekülü disülfid köprüsü içeren 25 kDa'lık bir homodimerdir. Hücrede sentezlendiği formu inaktif bir pro-protein niteliğindedir. Yapısındaki LTBP (latent TGF β bağlayan proteinler) ve LAP (*latency associated protein*) proteinlerinin serin proteaz enzimleri aracılığıyla molekülden ayrılmasıyla (veya LAP'ın yapısal değişimi) TGF β aktifleşir [7].

TGF β reseptörü 3 çeşittir. Tip 1 (T β R1) ve tip 2 (T β R2) reseptörler sinyalizasyon reseptörleridir ve membrana bağlı serin / treonin kinaz aktivitesi gösterirler. Tip 3 reseptör (T β R3) ise TGF β ligandının bağlanmasını ve TGF β cevabını düzenler [28],[7]. Kompleks bir kaskad olan TGF β sinyal yolağı, ligandın reseptöre bağlanması ile başlar. Reseptörün kinaz aktivitesi ile sitoplazmadaki Smad proteinleri fosforillenir. Smad proteinlerinin yapısındaki birbiriyle bağlantılı iki globüler bölge bulunur. Bunlardan biri MH1 bölgesidir ve DNA 'ya bağlanmayı sağlar. Bu bölge aynı zamanda diğer sinyal yolaklarının da TGF β yolu ile kesiştikleri noktadır. MH2 bölgesi ise Smad-reseptör, Smad-Smad ve Smad-transkripsiyon faktörü etkileşimlerine aracı olur. MH2 bölgesi, sitoplazmadaki aktifleşmiş TGF β 1 reseptörü tarafından fosforillenir. Fosforillenen MH2 bölgesine de RSmad molekülü bağlanır [7], [30] . Oluşan RSmad/ Smad 4 kompleksi sitoplazmadan nükleusa taşınır. Böylelikle TGF β yolunun nükleer kolu başlamış olur. Nükleusta RSmad/Smad4 kompleksi 300/400'e yakın genin promotör bölgesine bağlanarak DNA transkripsiyonunu aktive eder ya da baskılarlar [7], [31] [32].

Smad/Smad/DNA etkileşimini kontrol eden kofaktörlerin aktivasyonu veya ekspresyonu TGF β / Smad yanı sıra başka pek çok sinyalizasyon yolu tarafından kontrol edilir. Böylece TGF β / Smad yolu hücredeki diğer sinyal yolaklarıyla karşılıklı etkileşir [7].

TGF β -Smad yolundaki sinyal iletiminin inhibisyonu defosforilasyon ya da ubikuitinizasyon ile sağlanır. TGF β ligandı, reseptörlerinden ayrılınca, RSmad proteinleri defosforile edilerek inaktif olur ve sitozole aktarılır. Defosforilasyon mekanizmasına ek olarak, ubikutin ligaz enziminin etkisi ile RSmad'ların bağlaç bölgesine ubikutin bağlanır. Böylece Smad proteinleri yıkım için proteozoma taşınır.

Bu mekanizmalarla hücrede TGF β 'ya olan cevabın derecesi ve süresi kontrol edilir [7].

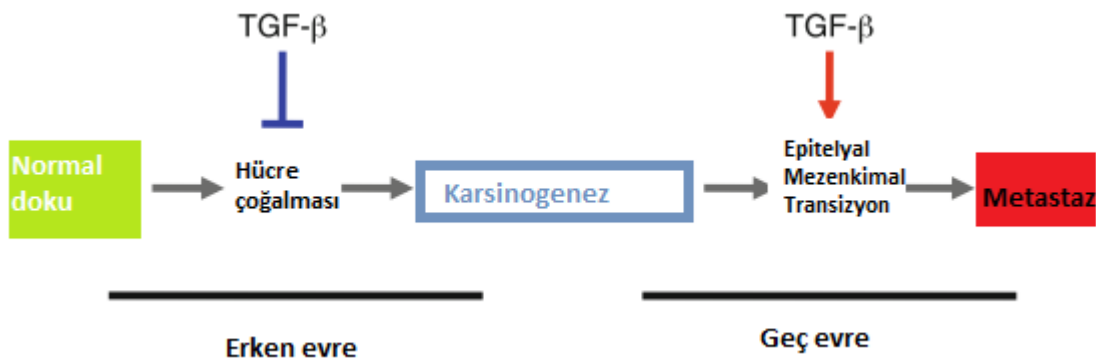
TGF β tümör gelişiminde kompleks ve ikili bir rol oynamaktadır [7]. Hücre siklusu arresti ve pek çok hücrede apoptozu uyarıp hücre proliferasyonunun güçlü bir inhibitörü gibi davranmakla beraber[7], bu antimitojenik cevabın malign transformasyonun erken aşamalarında sıklıkla kaybolup, tümör hücrelerinde ve tümör mikro çevresinde malign transformasyonu teşvik ettiği bilinmektedir [7], [33], [27].

Hücre bir kez onkojenik değişime uğradıktan sonra TGF β 'nın tümör süpresör etkisinden kurtulmakla kalmaz aynı zamanda TGF β sayesinde progresyon ve epitelyal mezenkimal transizyonun uyarılması ile tümöral hücrenin stromal invazyon ve metastaz kapasitesi artar [27]. Bunun sebebi epitelyal-mezenkimal dönüşüme uğrayan epitel hücrelerinin karakteristik epitel özelliklerini kaybederek mezenkimal fenotip özellikleri kazanmalarındır [28], [34]. TGF β 'nın rolü klauidin, okludin gibi hücre-hücre bağlantı moleküllerinin azalması ve hücreler arası sıkı bağlantının bozulmasına yol açmasıdır [33]. Epitelyal- mezenkimal dönüşüm sırasında TGF β aracılı Smad 3 fosforilasyonu ile E kaderin kaybı ve N kaderin artışı bağlantılıdır. Buna ek olarak TGF β 'nın Smadlarla ilişkisi olmayan çeşitli yollarla MAP-kinaz aktivasyonu, Rho-benzeri GTPaz ve fosfotidilinozitol-3 kinaz (PI3K)/AKT aktivasyonu aracılığı ile de EMT'ü uyarır [27], [35], [36]. Tümör hücrelerinin mezenkimal dönüşümü, metastazı ve ilaç direncini yönlendirir ve tümör progresyonunda anahtar mekanizma olarak kabul edilmektedir. Ayrıca bu sayede tümör hücrelerinin sitotoksik T hücreleri tarafından öldürülmeye karşı direnç sağlayarak, komplemana bağımlı sitotoksositeye ve tümör çevresinde baskılayıcı immün hücre popülasyonlarının uyarılması yoluyla tümör hücresine karşı konakçı yanıtına (''host'' reaksiyonu) da direnç geliştirdiği gösterilmiştir [37].

Pek çok kanserin gelişim basamaklarında TGF β 'nın hücre büyümesi ve çoğalması üzerindeki baskılayıcı etkisinin kaybı gözlenir. Hücrelerin TGF β 'nın hücre çoğalmasını baskılayıcı etkisine direnç kazanmasında TGF β sinyal yolağındaki moleküllerin onkojenik aktivasyonu ve / veya fonksiyon kaybına sebep

olan mutasyonların rol oynadığına dair önemli deliller vardır. Hücre büyümesi ve çoğalmasını baskılayan sinyallerden kaçan tümör hücrelerinde TGF β 'nın sinyal yolağında değişiklikler olduğu gözlenmiştir. Örneğin mikrosatellit kararsızlığı olan kolon kanserlerinin %90'ında TGF β R2'de varyasyon tespit edilmiştir [38].

Çoğu insan tümöründe, hücreler önce TGF β ile indüklenen büyüme inhibisyonu ve apoptoza dirençli hale gelir ve bir veya daha fazla TGF β izoformunun üretimini artırır. TGF β 'nın yüksek seviyeleri, immün sistemin koruyucu mekanizmalarının baskılanması, bağ dokusu oluşumunun ve anjiyogenezin uyarılması yanı sıra invazyon ve metastazı destekleyen değişiklikler yoluyla otokrin ve / veya parakrin tarzda tümör hücre proliferasyonunu destekler [36]. Tümör hücrelerinde sıklıkla bulunan başka bir değişim de bazı genlerin transkripsiyonel indüksiyonu gibi TGF β 'ya cevap olarak meydana gelen hücre içi olaylarla, hücre çoğalmasını baskılayan etkisinin kaybıdır. TGF β sinyalizasyonu ile çakışan diğer yollaklarda meydana gelen onkojenik aktivasyon TGF β 'nın etkilerini antagonize edebilir. Buna örnek olarak Ski ve Sno gibi pro-onkogenlerin aşırı ekspresyonunun TGF β yolağını baskılaması gösterilebilir [38]. Tümör hücrelerinde TGF β ya olan cevabın kaybı, *feedback* mekanizma ile TGF β 'nın otokrin kontrolüne ve TGF β sentezinin artmasına sebep olabilir. Tümörün erken aşamalarında hücre çoğalmasının önemli bir baskılayıcısı gibi davranan TGF β , tümörün ileri evrelerinde anjiyogenez ve tümöre karşı immün cevapları etkileyerek, tümör progresyonunu uyarır [11].



Şekil: Tümör Gelişiminin Erken ve Geç Evrelerinde TGF β 'nın Rolü [27]

2.5.2 Ski Novel Gen N (SnoN)

Sno geni (Ski novel gen) başlangıçta Sloan–Kettering virus (SKV) ‘ün bir komponenti (V-ski) ve bunun hücrel homoloğu olan c-ski ile yakın benzerliği sayesinde keşfedildi. İnsan hücrelerinde bulunan Ski ve SnoN proteinlerinin amino asit dizilerinin yaklaşık %50’si benzerdir ve benzer yapısal bölgeler taşırlar [10]. SnoN, Sno geni (Ski novel gen) geni 3q26.2’ de lokalizedir [28]. Embriyolojik hayatta ski proteini, nöral tüp kapanması ve nöral krest hücrelerinin göçü ile iskelet kası gelişiminde en yüksek seviyeye ulaşır. Bu ekspresyon pateni ski geninin fare embriyosunda kraniyofasiyal yapılar, periferel ve santral sinir sistemi, kas dokusu ve solunum sistemine ait dokuların gelişiminde rol oynayabileceğini göstermektedir [10].

Ski ve SnoN erişkinde tüm hücrelerde düşük seviyelerde sentezlenmektedir. Sinir ve kas hücreleri başta olmak üzere birkaç hücre tipinin farklılaşmasını düzenleyebilirler [10] . Tavuk ve bildircin embriyolarının fibroblastlarında WT ski veya SnoN’in aşırı ekspresyonu kas diferansiasyonunu başlatır. Benzer şekilde farelerde Ski geninin kaybı kas kütesinin azalmasına ski geninin aşırı ekspresyonu ise kas hipertrofiniye yol açar [10]. Hem Ski hem de SnoN’in erişkin hücrelerindeki başlıca fonksiyonu, gen transkripsiyonunu düzenlemektir. Bu moleküller DNA’ya direkt bağlanamazlar ancak Smad, GATA1, retinoik asit reseptörü α (RAR α) gibi transkripsiyon faktörleri ile etkileşirler [10].

İnsan hücrelerinde SnoA, SnoN, SnoN2 ve SnoI formları bulunur [38] . Bu moleküllerin hücrenin onkojenik dönüşümü ve tümör progresyonunu destekleyen hücrel olaylarda rolü olduğu tanımlanmıştır [33], [39]. Ancak farklı yollardan onkogen ya da tümör süpresör gibi davranarak ikili rol oynar [39]. Ski ve SnoN ‘in onkojenik rolü, Smad protein komplekslerini bozarak ya da direkt olarak TGF β R1 etkileyerek TGF β sinyal yolağının hücre büyümesi ve çoğalmasını baskılayan sinyallerini dolayısıyla TGF β ’nın tümör süpresör aktivitesini engellemesinden kaynaklanır [39], [32] ,[40]. Ancak SnoN düşük seviyelerde TGF β sinyal yolağına bağlı transkripsiyonu artırdığı gibi yüksek seviyelerde sentezlenince farklı mekanizmalarla bu yolu antagonize eder [32]. Tümör baskılayıcısı gibi görev aldığı

bir başka mekanizma da bir p53 gen ekspresyonunu stabilize ederek hücre yaşlanması ve ölümünü uyarmasıdır [39] .

2.5.3 P53 Geni

P53 geni 17. kromozomda bulunan bir tümör süpresör genidir. Pek çok genin transkripsiyonunu kontrol eder. Anti-apoptotik gen olan Bcl-2'yi baskımlarken, pro-apoptotik gen olan bax'ı aktive eder. P53 geni, DNA hasarı durumunda DNA tamir genlerini uyararak hasarın giderilmesini, eğer hasar giderilemiyorsa da hücre ölümünü uyararak hücre homeostazını sağlar [5] . P53 genindeki mutasyonlar ve defektler anormal hücre çoğalması ve kanser oluşumuna yol açabilir [41]. P53 mutasyonu insan kanserlerinde en yaygın değişikliktir ve gen fonksiyonu delesyon ile kaybolur. Nükleusta artmış p53 ekspresyonu normal solunum yolu epitelinden sırayla bazal hücre hiperplazisi, skuamoz metaplazi, displazi ve karsinoma in situya ilerleyişi gösterir [5]. P53 proteini immünohistokimyasal olarak normal hücrelerde tespit edilemez veya çok düşük seviyelerde bulunur. Değişmiş p53 proteininin intrasellüler yarı ömrü değişken ' ' *wild*' *tip* p53 proteininden çok daha uzundur. Böylece hücre nükleusunda tespit edilebilir. Çoğu anti p53 antikoları *wild tip* p53'e ve mutant proteinlere bağlanır [5].

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1 Olgu Seçimi ve Çalışma Grupları

Araştırma için 2005 -2013 yılları arasında Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim dalında primer akciğer adenokarsinomu ve skuamoz hücreli karsinomu tanısı almış, cam preparat ve parafin blokları bölümümüzün lam ve blok arşivinde mevcut olan, klinik ve prognoz bilgileri elde edilebilen 200 hasta seçildi.

Seçilen 200 adet hastaya ait preparatlar patoloji bölümü arşivinden çıkarılarak tekrar değerlendirildi. Tümörler güncel DSÖ sınıflamasına göre histolojik tip ve alt tiplerine ayrıldı [14]. Tümörlerin histolojik dereceleri belirlendikten sonra 8. TNM'ye göre evrelemesi yapıldı [13].

Hastalara ait dokular tamponlanmış %10'luk nötral formalin solüsyonunda tespit edilmiş olup parafinde bloklanmıştır. Tümörü en iyi temsil eden bloklar, blok arşivinden çıkarıldı. Bu bloklardan tümörün farklı paternlerini ve farklı diferansiyon derecelerini temsil eden alanlar 3 mm çapındaki panç kalemi ile parafin bloklardan çıkarıldı. Her hasta için iki kor alındı. Bu 3mm'lik korlar Quick-Ray marka 5 x 6 adet 3 mm'lik korluk alan içeren matriks blokların içerisine yerleştirilerek parafine gömüldü ve bloklandı.

Elde edilen 13 adet parafin bloktan bölümümüzdeki mikrotom cihazları kullanılarak 5 mikron'luk yeni kesitler alındı. Alınan kesitlerle TGFβ1 (Bioss rabbit anti TGF beta polyclonal antibody), SnoN (Acris polyclonal antibody to SKIL/SnoN (N-term)) ve p53 primer antikoru ile laboratuvarımızda bulunan otomatik immünohistokimyasal boyama cihazında (Ventana, Benchmark, XT, USA) boyama yapıldı.

İmmünohistokimya boyalı preparatlar iki gözlemci tarafından Olympus Bx51 (Olympus, USA, 1999) ışık mikroskopunda çift kör olarak değerlendirildi. Boyanma varlığı/ yokluğu, boyanmanın hücredeki lokalizasyonu, boyanma şiddeti ve yüzdesi göz önüne alınarak semi kantitatif olarak değerlendirildi. TGFβ1, SnoN ve p53 antikoru boyanması değerlendirilirken TGFβ1'in tümör epitelinde ve tümör stromasında sitoplazmik boyanması ile bazı vakalarda eşlik eden tümör hücresinin nükleusunda boyanmalar değerlendirildi. SnoN ile tümör epitelinin nükleus ve sitoplazmasında, tümör stromasında nükleer ve sitoplazmik boyanmaları ayrı ayrı değerlendirildi. P53 için tümör epitelinin nükleusunda boyanma dikkate alındı.

TGFβ1 için insan meme kanseri dokusu, SnoN için insan plasenta dokusu, p53 için kolon karsinomu pozitif kontrol kabul edildi. Negatif kontrol çalışmasında primer antikor yerine non-immün serum kullanıldı. Ayrıca normal akciğer dokusunda TGFβ1, SnoN ile immünohistokimyasal boyama yapıldı.

TGFβ1, SnoN ve p53 için boyanma yoğunluğu ve yaygınlığı 0-6 arasında semi kantitatif olarak derecelendirildi. Tümör hücrelerinin %10'undan azında

boyanma varlığında veya hiç boyanma yoksa derece 0 kabul edildi. Tümör hücrelerin %10- 50'sinde boyanma varlığı, fokal pozitiflik olarak değerlendirildi. Fokal pozitiflik durumunda sarı renkli boyanma (zayıf) derece 1, açık kahverengi boyanma (orta) derece 2, koyu kahverengi boyanma (şiddetli) derece 3 olarak belirlendi. Tümör hücrelerinin %50'sinden fazla boyanma varlığı homojen boyanma olarak değerlendirildi. Homojen boyanma durumunda, sarı renkli boyanma (zayıf) derece 4, açık kahverengi boyanma (orta) derece 5, koyu kahverengi (şiddetli) derece 6 kabul edildi. Daha sonra derece 0, 1 ve 2 olanların immünohistokimyasal boyanma skoru 0, derece 3 ve 4 olanların skoru 1, derece 5 ve 6 olanların skoru 2 olarak belirlendi [42].

Tablo 7: İmmünohistokimyasal Boyanma Skorlaması

Boyanma Gücü	Boyanma Yaygınlığı		
	\leq % 10	% 10-50 (Fokal)	> % 50 (Homojen)
Zayıf (sarı renkli)	0	1	4
Orta (açık kahverengi)		2	5
Şiddetli (koyu kahverengi)		3	6
0,1,2: Skor 0 (NEGATİF), 3-4: Skor 1 (ZAYIF POZİTİF), 5-6: Skor 2 (GÜÇLÜ POZİTİF)			

Hastalar adenokarsinom ve skuamoz hücreli karsinom tanılarına göre iki ana gruba ayrıldı. TGF β 1 ile tümörde ve peritümöral stromada boyanma, SnoN ile tümörde nükleer ve sitoplazmik, peritümöral stromada nükleer ve sitoplazmik boyanma değerlendirilmiş olup p53 ile tümörde nükleer boyanmaya dikkate alınarak skorlamalar yapıldı [42].

3.2 İstatistiksel Yöntemler

İstatistiksel değerlendirmeler bilgisayar ortamında "IBM SPSS Statistics versiyon 25" programı ile yapıldı. Hastaların yaş, cinsiyet, tümörün histolojik tip ve alt tipi, histolojik derece, patolojik evre ve klinik evre, lenfovasküler invazyon

varlığı, plevra invazyonu varlığı, uzak metastaz varlığına göre dağılımları, frekans tabloları yapıldı. Yaş, hastalısız sağ kalım, genel sağ kalım Kolmogorov- Simirnov testi ile normal dağılıma uymadığı gözlemlendi ve log10 tabanında düzenlenerek tekrar bakıldığında yine normal dağılıma uymadığı görüldü. Analizde non-parametrik testler kullanıldı. Uzak metastaz, plevral invazyon ve lenfovasküler invazyon durumlarına göre boyanma skorlarının karşılaştırması Ki kare testi ile yapıldı. Gruplar arasındaki istatistiksel olarak anlamlı fark değeri $p < 0,05$ kabul edildi. Boyanma skorlarının, tümör derecesi, evre, lenf nodu tutulumu, hastalısız sağ kalım ve genel sağ kalım süreleri, tümör çapı açısından karşılaştırması Kruskal-Wallis testi ile yapıldı. Anlamlılık düzeyi $p < 0,05$ kabul edildi. Anlamlı fark çıkan parametrelerde, fark yaratan grupların tespiti için Bonferoni düzeltilmeli Mann-Whitney U testi yapıldı ve düzeltilmiş anlamlılık değeri $p < 0,017$ ($0,05 / 3 = 0,017$) alındı. TGF β 1, SnoN ve p53'ün boyanma skorlarının korelasyonu Spearman korelasyon testi ile araştırıldı. Anlamlılık düzeyi $p < 0,05$ kabul edildi.

4. BULGULAR

Araştırmamıza Ondokuz Mayıs Üniversitesi Patoloji Anabilim Dalı'nda 2005-2013 yılları arasında akciğer adenokarsinomu tanısı almış 107 hasta, skuamoz hücreli karsinom tanısı almış 93 hasta dâhil edilmiştir. Tüm hastalardan 25'i kadın, 175'i erkektir.

Adenokarsinom tanısı almış 107 hastanın %80,4'ü (86 kişi) erkek, %19,6'sı (21 kişi) kadın, skuamoz hücreli karsinom tanısı almış olan 93 hastanın %95,7'si (89 kişi) erkek, % 4,3'ü (4 kişi) kadındır.

Tablo 8: Hastaların Tanı ve Cinsiyete Göre Dağılımı

Tanı		Hasta Sayısı	Yüzde (%)
Adenokarsinom	Erkek	86	80,4
	Kadın	21	19,6
	Toplam	107	100
Skvamoz hücreli karsinom	Erkek	89	95,7
	Kadın	4	4,3
	Toplam	93	100

Adenokarsinom ve skuamoz hücreli karsinom tanıli hastaların yaş ortancası sırasıyla 61 ve 64 yıldır.

Tablo 9: Adenokarsinom ve Skvamoz Hücreli Karsinom Olgularının Yaş Ortancası

Tanı Grupları	Olgu Sayısı	Yaş Ortancası En küçük- En büyük (yıl)
Adenokarsinom	107	61(32-83)
Skvamoz hücreli karsinom	93	64(41-81)

Adenokarsinom olgularının %0,9'u (1 kişi) derece 1, %63,6'sı (68 kişi) derece 2 ,%35,5'i (38 kişi) derece 3, tümöre sahiptir. Skvamoz hücreli karsinom tanıli olguların %23,7'si (22 kişi) derece 1, %45,2'si (42 kişi) derece 2, %31,2'si (29 kişi) derece 3, tümöre sahiptir.

Adenokarsinom tanıli hastaların klinik evreleri; %24,3'ü (26 kişi) evre I, %23,4'ü (25 kişi) evre II, %20,6'sı (22 kişi) evre III ve %31,8'i (34 kişi) evre IV'tür. Skvamoz hücreli karsinom tanıli hastaların klinik evreleri; %24,7'si (23

kişi) evre I, %25,8'i (24 kişi) evre II, %31,2'si (29 kişi) evre III ve %18,3'ü (17 kişi) evre IV'tür.

Tablo 10: Klinik Evreye Göre Hastaların Dağılımı

	Adenokarsinom	Skuamoz Hücreli Karsinom
	Hasta Sayısı,%	Hasta Sayısı, %
Evre 1	26, %24,3	23, %24,7
Evre 2	25, %23,4	24, %25,8
Evre 3	22, %20,6	29, %31,2
Evre 4	34, %31,8	17, %18,3
Toplam	107, %100	93, %100

Adenokarsinom tanısı almış hastaların hastalıksız sağ kalım süresinin ortanca değeri 24 (0-132) ay, genel sağ kalım süresi ortanca değeri 25 (0-132)ay'dır. Skuamoz hücreli karsinom tanılı hastaların hastalıksız sağ kalımı ortanca değeri 15 (0-134)ay, genel sağ kalımı ortanca değeri 15 (0-134) aydır.

Adenokarsinom olgularının %31,8'inde plevra invazyonu, %29,9'unda lenfovasküler invazyon mevcut iken skuamoz hücreli karsinom olgularının %28'inde plevra invazyonu, %44,2'inde lenfovasküler invazyon izlenmiştir.

Adenokarsinomda en fazla gözlediğimiz histolojik alt tip %52,3 ile asiner paterndir. Sıklık bakımından asiner paterni sırasıyla solid, mikropapiller, papiller ve lepidik patern takip etmektedir. Histolojik alt tiplerin dağılımı tablo 11'de gösterilmiştir.

Tablo 11: Adenokarsinomda Histolojik Alt Tiplerin Dağılımı

Histolojik Alt Tip	Hasta sayısı	Yüzde (%)
Asiner Baskın	56	52,3
Solid Baskın	33	30,8
Papiller Baskın	5	4,7
Mikropapiller Baskın	7	6,5
Lepidik Baskın	1	0,9
İnvaziv Müsinöz	5	4,7
Toplam	107	100

Normal akciğer parankiminde, pnömositlerde TGF β 1'in boyanması orta şiddette ve sitoplazmik, interstisyumda zayıf-orta şiddette sitoplazmiktir. Normal bronş çeperine ait örneklerde TGF β 1 ile yüzey epitelinde orta şiddette sitoplazmik, subepitelyal bağ dokusunda güçlü sitoplazmik boyanma gözlemlendi. SnoN ile normal akciğer dokusunda pnömositlerde orta şiddette sitoplazmik boyanma izlenirken interstisyumda boyanma mevcut değildi. Bronş epitelinde SnoN ile güçlü sitoplazmik, subepitelyal bağ dokusunda stromal hücrelerde güçlü nükleer ve güçlü sitoplazmik boyanma gözlemlendi.

Adenokarsinom olgularının yaklaşık yarısında (%48,6'sı, 52 kişi) TGF β 1'in tümörde sitoplazmik ekspresyon skoru 2'dir. Ayrıca adenokarsinom tanılı hastaların %46,7'sinde (50 kişi) TGF β 1'in sitoplazmik boyanmasına nükleer boyanma eşlik etmektedir. TGF β 1 ile nükleer boyanması olan hastaların %24'ünün erken evre (evre 1 ve 2), %76'sının ileri evre (evre 3 ve 4) olduğu saptanmıştır. Nükleer ekspresyonun gözlenmediği olguların ise %74'ü erken evre, %26'sı ileri evrededir. Hastalısız ve genel sağ kalım süreleri, TGF β 1'in nükleer boyanmasının gözlemlendiği olgularda daha kısadır. Adenokarsinom olgularının çoğunluğunda (hastaların %68,2'si, 73 kişi) peritümöral stromada TGF β 1'in ekspresyonu güçlü ve yaygın (skor

2) olarak izlenmiştir. TGFβ1'in tümörde ve peritümöral stromal hücrelerde sitoplazmik boyanma skorları tablo 12'de özetlenmiştir.

Tablo 12: Adenokarsinomda TGFβ1'in Tümörde ve Peritümöral Stromada Sitoplazmik Boyanma Skorlarının Dağılımı

TGFβ1'in tümörde sitoplazmik boyanma skoru	Hasta Sayısı, (yüzdesi)	TGFβ1'in peritümöral stromada sitoplazmik boyanma skoru	Hasta Sayısı, (yüzdesi)
0	41 (%38,3)	0	22 (%20,6)
1	14 (%13,1)	1	12 (%11,2)
2	52 (%48,6)	2	73 (%68,2)
TOPLAM	107 (%100)	TOPLAM	107 (%100)

Adenokarsinomda hastalarında tümörde SnoN ekspresyonu ağırlıklı olarak sitoplazmik olarak gözlendi. Olguların %92,5'inde (99 kişi) tümörde sitoplazmik SnoN boyanma skoru 2 olup, %3,7 'sinde (4 kişi) skor 0, %3,7'sinde (4 kişi) skor 1'dir. SnoN'in nükleer ekspresyonu daha seyrek ve daha zayıf olarak gözlendi. Adenokarsinom hastalarının %63,6'sında (68 kişi) tümörde nükleer SnoN ekspresyon skoru 0'dır. SnoN'in adenokarsinomda tümör hücrelerinde boyanma skorlarının dağılımı tablo 13'te özetlenmiştir.

Tablo 13: Adenokarsinomda SnoN'in Tümör Hücrelerinde Sitoplazmik ve Nükleer Boyanma Skorlarının Dağılımı

SnoN'in tümörde sitoplazmik boyanma skoru	Hasta Sayısı, (yüzdesi)	SnoN'in tümörde nükleer boyanma skoru	Hasta Sayısı, (yüzdesi)
0	4 (%3,7)	0	68 (%63,6)
1	4 (%3,7)	1	14 (%13,1)
2	99 (%92,5)	2	25 (%23,4)
TOPLAM	107 (%100)	TOPLAM	107 (%100)

Adenokarsinomda peritümöral stromadaki SnoN ekspresyonu ağırlıklı olarak sitoplazmiktir. Olgularının %72,9'unda (78 kişi) stromal hücrelerde SnoN'in sitoplazmik boyanma skoru 2 iken %16,8'inde (18 kişi) skor 0'dır. Tümörün çevresindeki stromada SnoN'in nükleer ekspresyonu ise adenokarsinom olgularının %39,3'ünde (42 kişi) skor 0, %26,2'sinde (28 kişi) skor 1, %34,6'sında (37 kişi) skor 2'dir. SnoN'in peritümöral stromada boyanma skorlarının dağılımı tablo 14'te gösterilmiştir.

Tablo 14: Adenokarsinomda Peritümöral Stromada SnoN'in Sitoplazmik ve Nükleer Boyanma Skorlarının Dağılımı

SnoN'in peritümöral stromada sitoplazmik boyanma skoru	Hasta Sayısı, (yüzdesi)	SnoN'in peritümöral stromada nükleer boyanma skoru	Hasta Sayısı, (yüzdesi)
0	18 (%16,8)	0	42 (%39,3)
1	11 (%10,3)	1	28 (%26,2)
2	78 (%72,9)	2	37 (%34,6)
TOPLAM	107 (%100)	TOPLAM	107 (%100)

Adenokarsinom olgularında tümörde p53 ekspresyonu ağırlıklı olarak skor 0'dır. Hastaların %64,5'inde (69 kişi) p53 boyanma skoru 0, %10,3'ünde (11 kişi) skor 1, %25,2'sinde (27 kişi) skor 2'dir.

Skuamöz hücreli karsinom tanılı olgularda TGFβ1'in tümörde ve peritümöral stromada sitoplazmik ekspresyonu tablo 15'te gösterilmiştir.

Tablo 15: Skuamöz Hücreli Karsinomda TGFβ1'in Tümörde ve Peritümöral Stromada Boyanma Skorlarının Dağılımı

TGFβ1'in tümörde sitoplazmik boyanma skoru	Hasta Sayısı, (yüzdesi)	TGFβ1'in peritümöral stromada sitoplazmik boyanma skoru	Hasta Sayısı, (yüzdesi)
0	38 (%40,9)	0	11 (%11,8)
1	16 (%17,2)	1	6 (%6,5)
2	39 (%41,9)	2	76 (%81,7)
TOPLAM	93 (%100)	TOPLAM	93 (%100)

Hastaların %48,4'ünde (45 kişi) TGFβ1'in tümörde sitoplazmik boyanmasına nükleer boyanma da eşlik etmektedir.

Skuamöz hücreli karsinomda SnoN'in tümörde boyanma eğilimi sitoplazmiktir. Hastaların %73,1'inde (68 kişi) SnoN'in tümör hücrelerinde sitoplazmik boyanma skoru 2 iken %5,4'ünde (5 kişi) tümör hücrelerinin nükleer SnoN boyanma skoru 2'dir. Skuamöz hücreli karsinom olgularının tümörde SnoN boyanma skorlarının dağılımı tablo 16'da gösterilmiştir.

Tablo 16: Skuamoz Hücreli Karsinomda SnoN'in Tümörde Sitoplazmik ve Nükleer Boyanma Skorlarının Dağılımı

SnoN'in tümörde sitoplazmik boyanma skoru	Hasta Sayısı, (yüzdesi)	SnoN'in tümörde nükleer boyanma skoru	Hasta Sayısı, (yüzdesi)
0	14 (%15,1)	0	80 (%86)
1	11 (%11,8)	1	8 (%8,6)
2	68 (%73,1)	2	5 (%5,4)
TOPLAM	93 (%100)	TOPLAM	93 (%100)

SnoN'in skuamoz hücreli karsinomda peritümöral stromada boyanması sitoplazmik olma eğilimindedir. Hastaların %68,8'inde (64 kişi) stromada, sitoplazmik SnoN boyanma skoru 2 iken , %9,7'sinde (9 kişi) nükleer SnoN boyanma skoru 2 idi. Skuamoz hücreli karsinomda peritümöral stromal hücrelerde SnoN boyanma skorlarının dağılımı tablo 17'de özetlenmiştir.

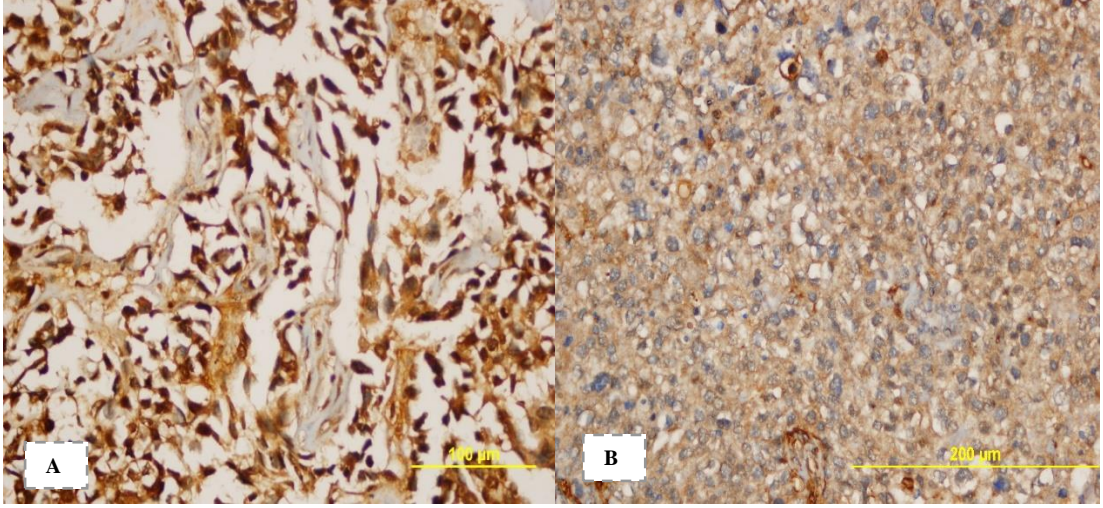
Tablo 17: Skuamoz Hücreli Karsinomda SnoN'in Peritümöral Stromal Hücrelerde Sitoplazmik ve Nükleer Boyanma Skorlarının Dağılımı

SnoN'in peritümöral stromada sitoplazmik boyanma skoru	Hasta Sayısı, (yüzdesi)	SnoN'in peritümöral stromada nükleer boyanma skoru	Hasta Sayısı, (yüzdesi)
0	21 (%22,6)	0	69 (%74,2)
1	8 (%8,6)	1	15 (%16,1)
2	64 (%68,8)	2	9 (%9,7)
TOPLAM	93 (%100)	TOPLAM	93 (%100)

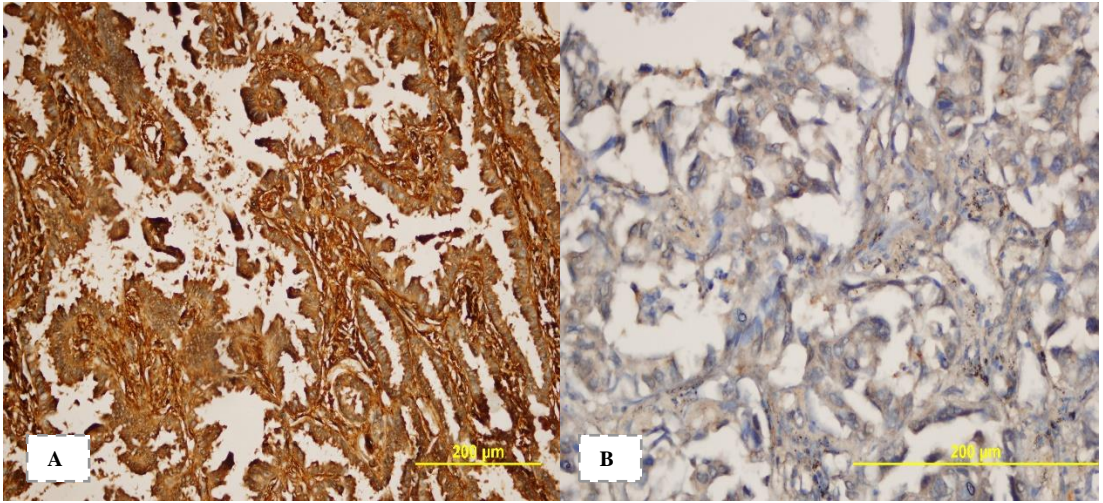
Skuamoz hücreli karsinomda tümör hücrelerinde p53 ekspresyonu skorları tablo 18’de gösterilmiştir.

Tablo 18: Skuamoz Hücreli Karsinomda p53’ün Tümörde Boyanma Skorlarının Dağılımı

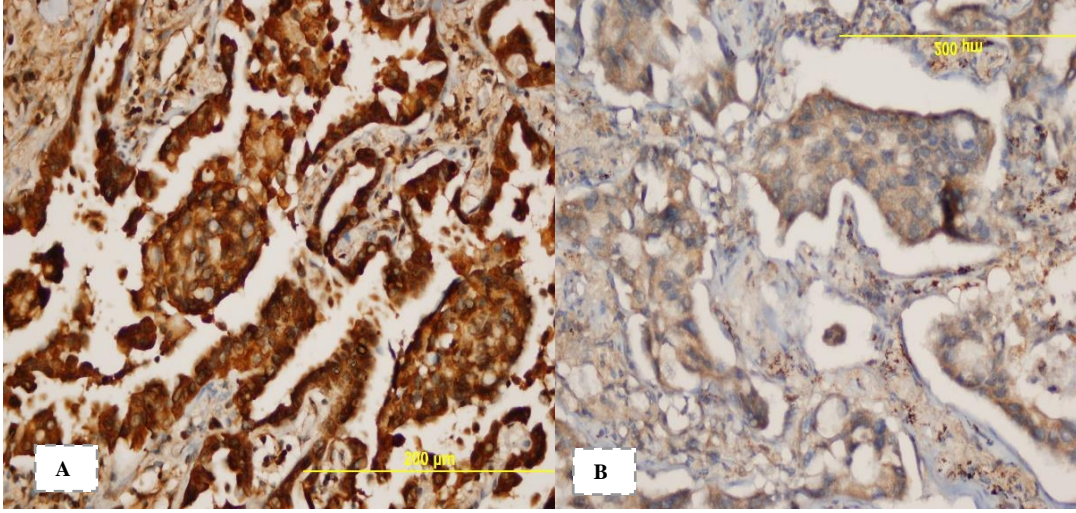
P53’ün tümörde nükleer boyanma skoru	Hasta Sayısı, (yüzdesi)
0	44 (%47,3)
1	19 (%20,4)
2	30 (%32,3)
TOPLAM	93 (%100)



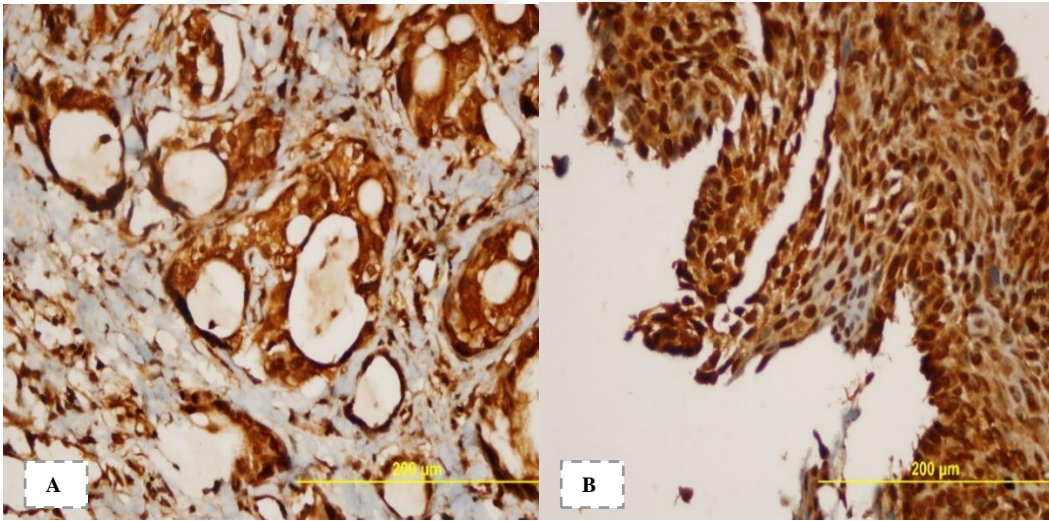
Resim 1: TGFβ1 ile tümörde skor 2 boyanma (DAB, x400) (A), TGFβ1 ile tümörde skor 0 boyanma (DAB, x400) (B)



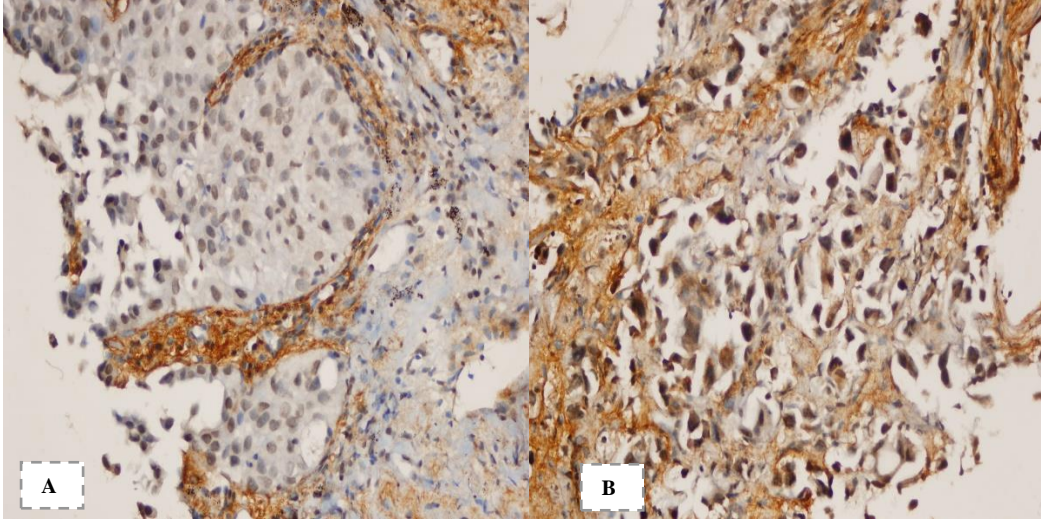
Resim 2: TGFβ1 ile peritümöral stromada skor 2 boyanma (DAB, x400) (A), TGFβ1 ile peritümöral stromada skor 0 boyanma (DAB, x400) (B)



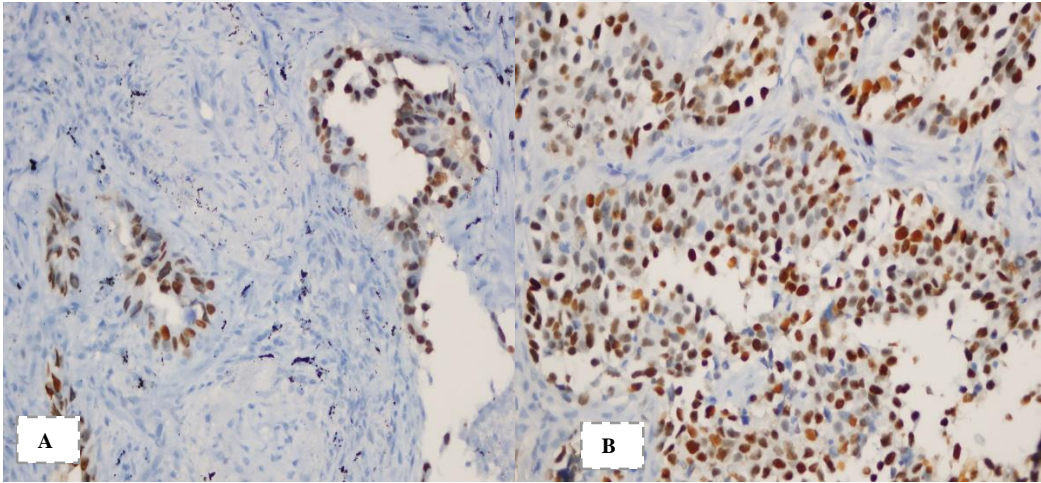
Resim 3: SnöN ile tümörde sitoplazmik skor 2 boyanma (DAB, x400) (A), SnöN ile tümörde sitoplazmik skor 0 boyanma (DAB, x400) (B)



Resim 4: SnöN ile peritümöral stromada skor 0 sitoplazmik ve skor 2 nükleer boyanma, tümörde skor 2 sitoplazmik boyanmalar (DAB, x400) (A), SnöN ile tümörde skor 2 nükleer boyanma (DAB, x400) (B)



Resim 5: TGFβ1 ile tümörde nükleer boyanma (DAB, x400) (A), TGFβ1 ile peritümöral stromada skor 2 boyanma (DAB, x400) (B)



Resim 6: P53 ile tümörde skor 0 boyanma (DAB, x400) (A), P53 ile tümörde skor 2 boyanma (DAB, x 400) (B)

TGFβ1'in tümörde sitoplazmik boyanma skoru ile adenokarsinomda histolojik derece, hastalısız ve genel sağ kalım, tümör çapı, lenf nodu tutulumu, plevra invazyonu arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunmadı ($p>0,05$). Ancak uzak metastaz ($p=0,010$) ve evre ($p=0,009$) ilişki bulundu. Uzak metastaz varlığında tümör ve ileri evre hastalarda tümörde TGFβ1'in sitoplazmik ekspresyonu azalmaktadır.

Tablo 19: Adenokarsinomda TGFβ1'in Tümörde Sitoplazmik Boyanma Skoru ile Uzak Metastaz Arasındaki İlişki

	TGFβ1'in tümörde sitoplazmik boyanma skoru			TOPLAM
	Skor 0	Skor 1	Skor 2	
Uzak metastaz var	20 %57,1	5 %14,3	10 %28,6	35 %100
Uzak metastaz yok	21 %29,2	9 %12,5	42 %58,3	72 %100

Tablo 20: Adenokarsinomda TGFβ1'in Tümörde Sitoplazmik Boyanma Skoru ile Tümör Evresinin İlişkisi

	TGFβ1'in tümörde sitoplazmik boyanma skoru			TOPLAM
	Skor 0	Skor 1	Skor 2	
Evre 1	8 %30,8	2 %7,7	16 %61,5	26 %100
Evre 2	5 %20	3 %12	17 %68	25 %100
Evre 3	8 %36,4	5 %22,7	9 %40,9	22 %100
Evre 4	20 %58,8	4 %11,8	10 %29,4	34 %100

Adenokarsinomda TGFβ1'in tümör hücrelerinde sitoplazmik boyanma skoru ile tümör evresi bakımından istatistiksel olarak anlamlı ilişki vardır (p=0,009). İleri evrede TGFβ1'in tümörde sitoplazmik ekspresyonu azalmaktadır. Lenfovasküler invazyon ile de TGFβ1'in tümörde sitoplazmik ekspresyonu arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki tespit edilmiştir (p= 0,004). Buna göre TGFβ1'in tümör hücresinde sitoplazmik boyanma skoru 0 olan gruptaki hastaların %87,8'inde lenfovasküler invazyon yoktur. Ancak bunun aksini yani 'TGFβ1 ile boyanma açısından skoru yüksek olan olgularda lenfovasküler invazyonun sık olduğunu' söylemek mümkün değildir. Çünkü istatistiksel farkı yaratan sadece skor 0 grubudur. Tablo 21'de lenfovasküler invazyon ile adenokarsinom olgularında tümörde TGFβ1 ekspresyonu ilişkisi gösterilmiştir.

Tablo 21: Adenokarsinomda Tümörde Sitoplazmik TGFβ Boyanma Skoru ile Lenfovasküler İnvazyon İlişkisi

TGFβ1'in tümörde sitoplazmik boyanma skoru	Lenfovasküler İnvazyon	
	Var	Yok
Skor 0	5 %15,6	36 %48
Skor 1	4 %12,5	10 %13,3
Skor 2	23 %71,9	29 %38,7
TOPLAM	32 %100	75 %100

Adenokarsinom olgularında TGFβ1'in peritümöral stromada boyanma skoru değerlendirildiğinde, evre, tümör çapı, histolojik derecesi, uzak metastaz, plevral ve lenfovasküler invazyon veya sağ kalım süreleri ile ilişki saptanmadı. İstatistiksel olarak skorlar arasındaki fark anlamlı değildir ($p>0,05$).

Adenokarsinom olguları, tümörde TGFβ1 ile nükleer boyanması olan ve olmayan olarak ayrıldı. Bu iki grup arasında hastalısız sağ kalım ($p= 0,001$), genel sağ kalım ($p= 0,002$) ve evre ($p=0,000$) bakımından istatistiksel olarak anlamlı fark gözlemlendi. TGFβ1'in nükleer ekspresyonun olduğu adenokarsinom olgularında hastalısız ve genel sağ kalım süreleri daha kısa ve tümör evresi daha ileridir.

Tablo 22: Adenokarsinom Vakalarında Tümörde TGFβ1 ile Nükleer Boyanması Olan ve Boyanması Olmayan Hastaların Hastalısız ve Genel Sağ Kalım Sürelerinin Karşılaştırması

TGFβ1 ile tümörde nükleer boyanma	Hastalısız sağ kalım(ay) Ortanca (en küçük- en büyük)	Genel sağ kalım(ay) Ortanca (en küçük- en büyük)
Var (n=57)	12 (0-110)	13 (0-110)
Yok (n=50)	46 (0-132)	48 (0-132)
P değeri	0,001	0,002

Tablo 23: Adenokarsinom Olgularında Tümörde Nükleer TGFβ1 Ekspresyonu ile Tümör Evresinin Karşılaştırması

	Tümör Evresi			
	Evre 1	Evre 2	Evre 3	Evre 4
TGFβ1 ile tümörde nükleer boyanma var (n=57)	9 %34,6	5 %20	16 %72,7	27 %79,4
TGFβ1 ile tümörde nükleer boyanma yok (n=50)	17 %65,4	20 %80	6 %27,3	7 %20,6
TOPLAM	26 %100	25 %100	22 %100	34 %100

Adenokarsinom olgularında SnoN'in tümör hücrelerinde nükleer ekspresyonu ile tümör evresi arasında pozitif ($p=0,000$), hastalısız sağ kalım ($p=0,005$), genel sağ kalım ($p=0,003$) arasında negatif ilişki tespit edildi. Tümör evresi ve sağ kalım süreleri için istatistiksel farkın skor 0 ile skor 2 gruplarından kaynaklandığı belirlendi. Tümör evresi için skor 0 ve skor 2 grupları arasındaki farkın p değeri 0,000'dır. Genel sağ kalım için skor 0 ve skor 2 grupları arasındaki farkın p değeri 0,000 olup hastalısız sağ kalım için skor 0 ve skor 2 grupları arasındaki farkın p değeri 0,001'dir.

Tablo 24 ve 25'te SnoN'in tümörde nükleer boyanma skorları ile tümör evresi ve sağ kalım süreleri arasındaki ilişki gösterilmiştir.

Tablo 24: Adenokarsinomda SnoN'in Tümörde Nükleer Boyanma Skoru ile Tümör Evresi Arasındaki İlişki

	SnoN'in tümörde nükleer boyanma skoru			TOPLAM
	0	1	2	
Evre 1	22 %84,6	3 %11,5	1 %3,8	26 %100
Evre 2	22 %88	2 %8	1 %4	25 %100
Evre 3	12 %54,5	4 %18,2	6 %27,3	22 %100
Evre 4	12 %35,3	5 %14,7	17 %50	34 %100

Tablo 25: Adenokarsinomda SnoN'in Tümörde Nükleer Boyanma Skoru ile Genel ve Hastalısız Sağ Kalım Süreleri Arasındaki İlişki

SnoN ile tümörde nükleer boyanma skoru	Genel sağ kalım süresi (ay) Ortanca (En küçük- En büyük)	Hastalısız sağ kalım süresi (ay) Ortanca (En küçük- En büyük)
Skor 0	44 (0-132)	34 (0-132)
Skor 1	26 (1-102)	26 (1-102)
Skor 2	10 (1-72)	10 (1-72)
P değeri	0,003	0,005

Tümörün histolojik derecesi, uzak metastaz durumu, lenfovasküler invazyon veya plevra invazyonu, tümör çapı, lenf nodu tutulumu ile SnoN'in tümördeki nükleer ekspresyonu arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmadı.

Adenokarsinomda tümörde TGF β 1'in sitoplazmik ekspresyonu ile SnoN'in nükleer ekspresyonu arasında negatif korelasyon tespit edilmiştir. TGF β 1'in tümörde ekspresyonu azaldıkça SnoN'in tümör hücresindeki nükleer ekspresyonu artmaktadır ve bu ilişki istatistiksel olarak anlamlıdır ($p = 0,001$ ve $r = -0,319$).

Adenokarsinom olgularında SnoN'in tümör hücrelerinde sitoplazmik boyanma skoru tümörün histolojik derecesi, evre, uzak metastaz, lenfovasküler invazyon, sağ kalım süreleri, tümör çapı ve lenf nodu tutulumu ile ilişkisi bulunmadı ($p > 0,05$).

Adenokarsinomda peritümöral stromadaki mezenkimal hücrelerde SnoN'in nükleer boyanma skorunun evre ile ilişkisi istatistiksel olarak anlamlıdır ($p = 0,013$). Adenokarsinomda tümör evresi ilerledikçe tümör çevresindeki stromada nükleer SnoN ekspresyonu artmaktadır. Stromal hücrelerde sitoplazmik SnoN ekspresyonun ise hastaliksız sağ kalım ile negatif ilişkisi mevcuttur ve bu ilişki istatistiksel olarak anlamlıdır ($p = 0,045$). SnoN'in peritümöral stromada nükleer boyanma skoru arttıkça hastaliksız sağ kalım süresi kısalmaktadır. Bu farkı yaratan boyanma skoru 0 olan hastalar ile skoru 2 olanlardır. Skorlar aralarındaki farkın p değeri 0,016'dır. Diğer parametrelerle stromal hücrelerin sitoplazmik veya nükleer SnoN ekspresyonu arasında anlamlı ilişki bulunmadı.

Tablo 26: Adenokarsinom Olgularında SnoN'in Peritümöral Stromal Hücrelerdeki Nükleer Boyanma Skorlarının Tümör Evresi İle İlişkisi

	SnoN'in stormal hücrelerde nükleer boyanma skoru			TOPLAM
	0	1	2	
Evre 1	13 %50	8 %30,8	5 %19,2	26 %100
Evre 2	14 %56	4 %16	7 %28	25 %100
Evre 3	3 %13,6	7 %31,8	12 %54,5	22 %100
Evre 4	12 %35,3	9 %26,5	13 %38,2	34 %100

Tablo 27: Adenokarsinomda Olgularında Peritümöral Stromada SnoN'in Sitoplazmik Ekspresyonunun Hastalısız Sağ kalım Süresi ile Karşılaştırması

SnoN'in peritümöral stromada sitoplazmik boyanma skoru	Hastalısız sağ kalım (ay) Ortanca (En küçük- En büyük)
Skor 0	53 (1-110)
Skor 1	30 (0-107)
Skor 2	19 (1-109)
P değeri	0,045

Akciğer adenokarsinomlarında uzak metastazı olan ve olmayan hastalar arasında tümörde p53 boyanma skoru açısından anlamlı fark mevcuttur (p=0,041). P53 skoru yüksek olan olguların uzak metastaz sıklığı fazladır.

Tablo 28: Adenokarsinomda Tümörde P53 Ekspresyonu ile Uzak Metastaz Durumunun Karşılaştırması.

	Tümörde p53 boyanma skoru			TOPLAM
	0	1	2	
Uzak metastaz var	19	2	14	35
	%54,3	%5,7	%40	%100
Uzak metastaz yok	50	9	13	72
	%69,4	%12,5	%18,1	%100

Adenokarsinom olgularında hastaliksız ve genel sağ kalım süreleri ile tümör hücrelerinin p53 ekspresyonu arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki vardır (sırasıyla $p=0,013$ ve $p=0,007$). Tümör hücrelerinde p53 boyanma skoru arttıkça genel ve hastaliksız sağ kalım süreleri kısalmaktadır. Sağ kalım süreleri arasındaki farka sebep olan gruplar skor 0 ile skor 2 gruplarıdır. Hastaliksız sağ kalım için skor 0 ile skor 2 arasındaki farkın p değeri 0,005 iken genel sağ kalım için skor 0 ile skor 2 arasındaki farkın p değeri 0,003 'tür.

Tablo 29: Adenokarsinomda Tümörde P53 Ekspresyonu ile Hastaliksız ve Genel Sağ Kalım Sürelerinin Karşılaştırılması

P53 skoru	Hastaliksız sağ kalım (ay) Ortanca (En küçük- En büyük)	Genel sağ kalım (ay) Ortanca (En küçük- En büyük)
Skor 0	30 (0-132)	30 (0-132)
Skor 1	24 (0-102)	24 (0-102)
Skor 2	10 (0-110)	10 (0-110)
P değeri	0,013	0,007

Adenokarsinomda tümörde sitoplazmik TGF β 1 ekspresyonu ile SnoN'in nükleer ekspresyonu arasında negatif korelasyon mevcuttur ($p = 0,001$ ve $r = -$

0,319). Akciğer adenokarsinomunda tümörde sitoplazmik TGFβ1 ekspresyonunun şiddeti arttıkça SnoN'in tümörde nükleer ekspresyonu azalmaktadır.

SnoN'in adenokarsinomda tümörde sitoplazmik ekspresyonu ile TGFβ1'in peritümöral stromada boyanması arasında pozitif korelasyon mevcuttur ($p=0,001$ $r=0,320$). SnoN'in adenokarsinomda tümörde sitoplazmik ekspresyonu arttıkça TGFβ1'in peritümöral stromada boyanma şiddeti artmaktadır.

Adenokarsinomun histolojik alt tipleri ile TGFβ1, SnoN ve p53 ekspresyon skorlarını karşılaştırmak için istatistiksel analiz yapılamadı. Çünkü paternler ve boyanma skorları arasında hasta dağılımları homojen değildi. Her histolojik alt tip için yeterli sayıda hasta bulunmadığından skor grupları içinde hasta sayısı 0 (sıfır) olan gruplar mevcuttur.

Tablo30'da her bir belirteç ile tümörde güçlü ve yaygın boyanma gösteren (skor 2) hastaların, histolojik alt tiplere göre dağılımı gösterilmiştir.

Tablo 30: TGFβ1, SnoN ve p53 Ekspresyon Skoru 2 Olan Hastaların Adenokarsinomda Histolojik Alt Tiplere Göre Dağılımı

Tümördeki baskın histolojik alt tip	TGFβ'in tümörde sitoplazmik ekspresyon skoru 2 olan hasta sayısı	TGFβ1'in tümörde nükleer ekspresyonu olan hasta sayısı	SnoN'in tümörde nükleer ekspresyon skoru 2 olan hasta sayısı	SnoN'in tümörde sitoplazmik ekspresyon skoru 2 olan hasta sayısı	P53'ün tümörde ekspresyon skoru 2 olan hasta sayısı
Asiner (n=56)	24	24	16	52	13
Solid (n=33)	15	17	7	30	11
Papiller (n=5)	5	1	1	4	1
Mikropapiller (n=7)	5	5	2	7	2
Lepidik (n=1)	0	0	0	1	0
İnvaziv Müsinöz (n=5)	3	3	0	5	0

Histolojik alt tipler tümör derecesi ile ilişkilidir. Tümörlerin histolojik derecesi ile immünohistokimyasal boyanma skorları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmamıştır.

Skuamoz hücreli karsinom tanısı almış hastalarda TGFβ1'in tümörde sitoplazmik ekspresyonu ile tümörün histolojik derecesi, evre, uzak metastaz, lenfovasküler ve plevral invazyon, hastalısız sağ kalım ve genel sağ kalım süreleri, tümör çapı ve lenf nodu tutulumu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmadı ($p>0,05$). Tümörde TGFβ1'in nükleer ekspresyonu ile tümör evresi arasında negatif bir ilişki saptandı ve istatistiksel olarak anlamlı idi ($p= 0,001$). Tümör evresi ilerledikçe tümör hücrelerinde gözlenen TGFβ1'in nükleer ekspresyon sıklığı artmaktadır.

Klinik evrelere göre TGFβ1'in nükleer ekspresyonunun dağılımı tablo 31'de gösterilmiştir.

Tablo 31: Skuamoz Hücreli Karsinom Olgularında Tümörde TGFβ1'in Nükleer Ekspresyonunun Klinik Evre ile İlişkisi

	TGFβ1 ile tümörde nükleer boyanma		TOPLAM
	Var	Yok	
Evre 1	9 %39,1	14 %60,9	23 %100
Evre 2	5 %20,8	19 %79,2	24 %100
Evre 3	18 %62,1	11 %37,9	29 %100
Evre 4	13 %76,5	4 %23,5	17 %100

Skuamoz hücreli karsinomda peritümöral stromada TGFβ1 ekspresyonu ile tümörün histolojik derecesi, evre, uzak metastaz, lenfovasküler ve plevral invazyon, hastalıksız sağ kalım ve genel sağ kalım süreleri, tümör çapı ve lenf nodu tutulumu arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmadı ($p > 0,05$).

Skuamoz hücreli karsinom olgularında SnoN'in tümörde nükleer veya sitoplazmik ekspresyonu ile tümörün histolojik derecesi, evre, uzak metastaz, lenfovasküler invazyon, hastalıksız sağ kalım ve genel sağ kalım süreleri, tümör çapı ve lenf nodu tutulumu arasında ilişki tespit edilmedi ($p > 0,05$).

Skuamoz hücreli karsinomda SnoN'in peritümöral stromada nükleer veya sitoplazmik ekspresyonu ile tümörün histolojik derecesi, evre, uzak metastaz,

lenfovasküler ve plevral invazyon, hastaliksız sağ kalım ve genel sağ kalım süreleri, arasında ilişki saptanmadı ($p > 0,05$).

Skuamoz hücreli karsinom olgularında p53 ekspresyonu ile tümörün histolojik derecesi, evre, uzak metastaz, lenfovasküler ve plevral invazyon, hastaliksız sağ kalım ve genel sağ kalım süreleri, tümör çapı ve lenf nodu tutulumu arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunamadı ($p > 0,05$).

Skuamoz hücreli karsinomda, TGF β 1'in tümördeki sitoplazmik ekspresyonu ile SnoN'in tümör hücrelerinde hem nükleer ekspresyonu ($p = 0,024$ ve $r = 0,235$) hem sitoplazmik ekspresyonu ($p = 0,000$ ve $r = 0,379$) arasında anlamlı pozitif korelasyon bulundu. Ancak bu korelasyonun prognostik parametreler veya sağ kalımla ilişkisi tespit edilmedi.

Skuamoz hücreli karsinomda SnoN'in peritümöral stromada nükleer ekspresyonu ile tümör hücrelerinde p53 ekspresyonu arasında anlamlı pozitif korelasyon gözlemlendi ($p = 0,027$ ve $r = 0,230$).

5. TARTIŞMA

Akciğer kanseri gelişimine neden olan moleküler yolların ve bunlara bağlı sürücü mutasyonlarının keşfi, son yıllarda yeni terapötik ajanlar için önemli bir hedef haline gelmiştir [43]. Geliştirilen hedef gen tedavilerine rağmen akciğer kanseri olgularının yaşam sürelerinin kısalığı yeni tedavi yaklaşımlarının gerekliliğini ve bunun için de tümörlerle ilgili daha çok bilgiye ihtiyaç olduğunu göstermektedir.

TGF β , hücre çoğalması, diferansiasyonu, ve apoptoz gibi çeşitli hücre davranışlarını düzenleyen çok işlevli bir büyüme faktörüdür. TGF β güçlü bir büyüme inhibitörü olarak bilinmektedir [7], [27]. TGF β 'nin epitel hücreleri de dâhil olmak üzere birçok hücre tipinin proliferasyonunu inhibe etme yeteneği vardır [7]. Neoplastik dönüşüm sürecine girmemiş dokularda TGF β epitel hücrelerinde, hücre siklusunda siklin kinaz inhibitörleriyle etkileşerek, hücre bölünmesinin duraklatılmasına ve gerekirse apoptoza yönlendirilmesine sebep olurken, stromal

hücrelerde ekstrasellüler matriks üretimine aracılık ederek bağ ve destek dokusunun korunmasına yardımcı olur. Matriks metalloproteinaz, kollajenaz, plazminojen aktivatör inhibitörü I (PAI-I) gibi, ekstrasellüler matriksin parçalanmasına sebep olan enzimlerin üretimini baskılar [44], [45].

Bununla birlikte, TGF β sinyal yolağındaki anormallikler tümör gelişimini kolaylaştıran önemli dönüm noktalarından biridir. Tümör gelişiminin erken basamaklarında, epitel hücrelerinde TGF β 'ya olan cevabın azalması, TGF β reseptörlerinde kayıp, mutasyon ya da reseptör sonrası sinyal moleküllerindeki anormallikler yoluyla TGF β 'nın tümör süpresör etkilerine karşı direnç gelişimi olduğunu gösteren pek çok çalışma mevcuttur [46], [47], [48]. Bunun yanı sıra hücrede bir kez neoplazi yönünde dönüşüm olduğunda, TGF β neoplastik epitel hücrelerinin mezenkimal dönüşümünü ve metastazını da kolaylaştırmaktadır [27], [36], [49].

Biz de çalışmamızda akciğer adenokarsinomu olgularında ileri evre hastalarda immünohistokimyasal yöntemle TGF β 1 boyanmasının azaldığını ve boyanma azaldıkça uzak metastaz riskinin arttığını gözlemledik. Benzer bulgular *Glick ve arkadaşlarının* araştırmasında raporlanmıştır. Derinin skuamoz hücreli karsinomunda, tümör hücrelerinde TGF β 1 gen delesyonu ile immünohistokimyasal olarak TGF β 1 ekspresyon kaybı gözlenmiş olup TGF β 1 kaybı sonucu tümör progresyonu olduğu bildirilmiştir [50]. *Mizukami ve arkadaşlarının* insan meme kanseri dokusunda TGF β , TGF α ve IGF-1 ekspresyonunu araştırdıkları çalışmada, TGF α ve IGF-1'in aksine TGF β ile pozitif olan meme kanseri hastalarının prognozunun TGF β ekspresyon kaybı gösteren olguların prognozundan daha iyi olduğu gözlenmiştir [51]. Bu çalışmalarla uyumlu olarak, TGF β 1'in tümör süpresör rolünü destekleyecek şekilde akciğer adenokarsinomunda TGF β 1'in tümörde sitoplazmik ekspresyonu kaybının tümör progresyonunu desteklediği yönünde yorumladık.

Tümör gelişiminde TGF β ekspresyonu yanı sıra reseptörlerinin ekspresyon durumunu araştıran Wimmel ve Wiedenmann'ın çalışmasında, gastrointestinal sistemin nöroendokrin tümörlerinde her iki TGF β 1 reseptörünün (T β R1 ve T β R2) ve

TGFβ1'in ortak ekspresyonu immünohistokimyasal boyama yöntemi ile olguların çoğunluğunda gözlenmiştir. Ancak revers transkriptaz polimeraz zincir reaksiyonu, immüno blot ve ELİSA yöntemleri kullanılarak bakıldığında, immünohistokimyasal olarak TGFβ1 ve reseptörlerinin ekspresyonu korunmuş olsa bile sinyal yolağındaki fonksiyonlarında kayıp veya cevapsızlık olabileceği saptanmıştır. Buna göre TGFβ1'in ve reseptörlerinin immünohistokimyasal ekspresyonunun mutlak bir biçimde TGFβ sinyalizasyonunun fonksiyonel bütünlüğünü göstermediği sonucuna varılmıştır [52]. Çalışmamızda saptadığımız TGFβ1'in sitoplazmik boyanma kaybının, TGFβ1 sinyal yolağının fonksiyon kaybı ile korele olmayabileceğini düşündürmüştür. Ancak çalışmamızda immünohistokimyasal boyanma sonucunun sağlanmasını yapabileceğimiz başka bir yöntem kullanmadığımız için TGFβ1 ile sitoplazmik boyanma skoru düşük olan tümörlerde TGFβ1 ekspresyonunun azaldığını ya da sinyal yolağının baskılandığını net olarak söyleyemeyiz. Bu araştırmamızın kısıtlılıklarından biridir. Çünkü pek çok çalışmada TGFβ ve SnoN moleküllerinin ekspresyon düzeyinin tespitinde, immünohistokimyasal boyama yanında RNA izolasyonu, protein seviyelerinin ölçümü, hücre kültürlerinden PCR, Western-Blot, immünfloresan, enzim-immünassay, immüno blot gibi yöntemlerin kombinasyonu kullanılmıştır [53], [54], [55]. Yöntemler arası farklar, kullanılan belirteçlerin klonu, izoformlara özgü olup olmadığı, doku tespiti ve saklama koşulları gibi değişkenleri gözlem sonuçlarını etkilemektedir [56], [57], [58].

Çalışmamızdaki başka bir kısıtlılık da tümör dokularından 'micro array' yöntemiyle 3mm çapında alınan kordlarda yaptığımız değerlendirmede, kısıtlı miktarda tümör hücresi ve stromanın değerlendirilebilmesidir. Tümörü temsil eden daha büyük örneklerde immünohistokimyasal boyanmanın değerlendirilmesi, çalışmanın duyarlılığını artıracaktır.

Öte yandan TGFβ'nın iki yönlü etki gösterebileceği de bilinmektedir [59]. Tümör gelişiminde fizyolojik koşullarda tümör süpresör bir molekül iken de neoplastik epitel hücreleri üzerinde onkojenik etkilidir [48],[59]. Çeşitli araştırmacıların çalışmasında bizim bulgumuzun aksine TGFβ'nın tümör

hücrelerindeki ekspresyon artışının tümör progresyonu ile ilişkili olduğu sonucuna varılmıştır [27], [56].

Fukai Yasuyuki ve arkadaşlarının çalışmasında özofagusun skuamoz hücreli karsinomunda TGF β 'nin artan ekspresyonunun invazyon derinliği ile ilişkili olduğu raporlanmıştır. Ancak lenf nodu metastazı, patolojik evre, yaş, tümör lokalizasyonu, cinsiyet, diferansiyasyon ve uzak metastaz ile ilişkili bulunmamıştır [11].

Gorsch ve arkadaşlarının TGF β izoformlarının meme kanseri hücrelerindeki ekspresyonunun inceleyen çalışmasında TGF β ile boyanan meme tümörlerinin daha agresif olduğu sonucuna varılmış olup; yaş, evre, nodal metastaz ve östrojen reseptörü statüsünden bağımsız olarak TGF β ile yoğun boyanmanın hastalık progresyonu ile pozitif korelasyon gösterdiği bildirilmiştir [56]. Ayrıca aynı çalışmada tümör hücrelerinin boyanmasının sitoplazmik olma eğiliminde olduğu ancak TGF β 2 izoformu ile bazı tümör hücrelerinde nükleer boyanmanın gözlemlendiği bildirilmiştir. Fakat nükleer boyanmanın önemi olup olmadığı belirtilmemiştir [56]. Çalışmamızda TGF β 1'in nükleer ekspresyonunun gözlemlendiği adenokarsinom ve skuamoz hücreli karsinom olgularının daha ileri evre hastalar olduğunu saptadık. Literatürde TGF β 'nin nükleer ekspresyonunun önemi veya işlevi üzerine yapılmış bir çalışma bulamadık. Ancak hayvan karaciğer dokusunda hücre içinde latent TGF β formunun farklı organellerde lokalizasyonu, depolanması ve işlevi üzerine yapılmış bir çalışmada mitokondriyal TGF β 'nin yağ asidi oksidasyonu ve ketogenezi provoke ederek hücre siklusu arrestine ve apoptoza yönelmede kritik rol oynayabileceği sonucuna varmışlardır [55]. TGF β 'nin subsellüler lokalizasyonu ve organeldeki depolanma formu, molekülün fonksiyonunu etkiliyor olabilir. Dolayısıyla TGF β 'in sitoplazmik ekspresyonu azalırken ve nükleer ekspresyonu artarken tümör evresinin artması, TGF β 1'in hücre içerisinde farklı lokalizasyonlarda farklı etkileri olabileceğini düşündürmüştür.

Chandra ve arkadaşlarının çalışmasında kanser hücrelerine özgü olarak tip 1 TGF β reseptörünün (T β R1) nükleusa geçtiğini gözlemiş olup bu yer değiştirmenin kanser hücresine özgü olduğunu belirtmişler. Bu olayın kanser hücrelerinde TGF β sinyal yolağının yeni bir fonksiyon kazanmasına neden olduğu kadar TGF β sinyali

aracılı RNA sentezinin düzenlenmesinde potansiyel fonksiyonun göstergesi olabileceğini ancak bu konuda yeni çalışmalara ihtiyaç olduğunu söylemişlerdir [60]. Biz de çalışmamızda TGF β 1'in ileri evre tümörlerde sitoplazmik ekspresyonunun azaldığını, nükleer ekspresyonunun arttığını saptadık. Bu da TGF β 1'in tümör gelişiminin ileri evresinde moleküler yapısının değişip sitoplazmadan nükleusa geçiş yapabileceğini düşündürmüştür.

TGF β 1'in hücresele düzeyde ekspresyonu yanı sıra serumdaki düzeylerinin de önemli olabileceğine yönelik araştırma da mevcuttur. Bu çalışmaya göre akciğer tümörlerinde TGF β 1'in tümör anjiyogenezi ve tümör progresyonunda önemli bir role sahip olduğu ve özellikle adenokarsinomda TGF β 1 protein seviyesinin bağımsız prognostik belirleyici olabileceği sonucuna ulaşılmıştır [58]. Pankreas tümörlerinde yapılan benzer bir çalışmada da TGF β proteininin plazma seviyesi yüksekliğinin pankreas kanserinde kısa sağ kalımla ilişkili olduğu belirtilmiştir [61]. Bizim çalışmamızda sadece immünohistokimyasal boyama yöntemi ile ekspresyon değerlendirmesini yaptığımız için plazma düzeylerinin immünohistokimyasal boyanma skorları ile ilişkili olup olmadığını test edemedik. Yöntemsel kısıtlılıklarımızdan biri de budur.

SnoN ve homoloğu olan Ski molekülü, TGF β sinyal yolağını negatif yönde etkileyen moleküllerdir. SnoN, TGF β sinyal iletiminde bir "anahtar" gibi işlev görür; TGF β yokluğunda, doğrudan Smad2 / Smad3-Smad4 kompleksleri ile etkileşime girer ve trans-aktivasyon yeteneklerini inhibe ederek TGF β sinyal iletimini baskırlar [29]. Sitoplazmik SnoN, Smad2 / 3 ve Smad4 arasındaki ilişkiyi bloke ederek Smadların nükleusa geçişini engellerken nükleer SnoN, Smad transkripsiyonel kompleksine doğrudan müdahale edebilir [62]. Ancak sitoplazmik SnoN'in, Smad yolunu düzenlemek dışında başka yollarda farklı moleküllerle etkileştiğini göz ardı etmemek gerekir. Dengeli bir Ski veya Sno ekspresyon seviyesi, doku homeostazını korumak için çok önemlidir ve çok fazla ya da çok azı hücresele işlevler için zararlı olabilmektedir. İnsan neoplazilerinde yapılan bir çalışmada, Ski ve / veya SnoN'in aşırı ekspresyonunun hastalık progresyonu ile korele olduğu da bulunmuştur[62]. Hayvan deneylerinde Ski ve SnoN'in aşırı

ekspresyonunun tavuk ve bildircin embriyolarında fibroblastların tümöral dönüşümüne neden olduğu gözlenmiştir [62].

Çalışmamızda ileri evre akciğer adenokarsinomunda SnoN'in tümör hücrelerinde nükleer ekspresyonunun arttığını tespit ettik. Tümörde nükleer SnoN ekspresyonu artışı ile hastalısız ve genel sağ kalım süreleri arasında negatif korelasyon saptadık. Dahası tümör hücresinde SnoN ekspresyonu arttıkça TGFβ1 ekspresyonunun azaldığını gözlemledik. Literatür ile uyumlu olarak, bu bulgu SnoN'in TGFβ yolunun negatif düzenleyicisi olduğunu desteklemiştir [38]. *Nadine S. Jahchan ve arkadaşlarının* araştırmasında, özellikle akciğer ve meme kanserlerinde, tümörde SnoN'in nükleer ekspresyonunun arttığı bildirilmiştir [63]. Artmış SnoN ekspresyonunun akciğer, meme, vulva, mide, over ve tiroid kanseri hücrelerinde *Sengupta ve arkadaşlarının çalışmasında* da tespit edilmiştir [33].

Özofagusun skuamoz hücreli karsinomunda SnoN'in aşırı ekspresyonu ile invazyon derinliği ve rekürrens riski arasında pozitif bir ilişki olduğu *Akagi ve arkadaşları* tarafından raporlanmıştır [64].

Boone ve arkadaşlarının çalışmasında kutanöz malign melanomda c-ski ve SnoN ekspresyonu incelenmiştir. Bu çalışmada SnoN ile tümör hücrelerinin bir kısmında nükleer, bir kısmında membranöz veya sitoplazmik ve bir kısmında da diffüz boyanma izlenmiş ve SnoN'in TGFβ'ya karşı hücrelerin direnç geliştirerek tümör gelişimi ve progresyonuna katkı sağladığı sonucuna varılmıştır [8]. Malign melanom hücre serilerinde, nükleer c-Ski ekspresyonu ile tümör kalınlığı artışı ve ülserasyonla ilişkili olduğu gözlenmiş olup SnoN'in immünohistokimyasal olarak pozitifliğinin ülser varlığında ve sentinel lenf nodu pozitif olgularda daha sık olduğu tespit edilmiştir [8].

Fan Zhang ve arkadaşlarının çalışmasında ise meme karsinomu olgularının % 70'inde (791 vaka) sitoplazmik SnoN boyanması olduğu, sitoplazmik boyanmanın duktal kanserlerde daha belirgin olduğunu ve kötü prognoz göstergeleri ile korelasyon gösterdiği bildirilmiştir. SnoN'in nükleer ekspresyonu ise lobüler tümörler ve daha düşük dereceli tümörler yakından ilişkili olarak bulunmuştur.

Farklı hücre tiplerinde SnoN'in son derece farklı ekspresyon paternleri, sergilemesinin farklı işlevini yansıtabileceğini belirtmişlerdir [29].

Onkojenik etkileri olduğu kadar tümör süpresör fonksiyonu olduğu da bilinen SnoN molekülünün iki yönlü etkileri ve ilişkili olduğu moleküller daha önceki araştırmalarda bildirilmiştir [62], [65], [66].

Bonni ve arkadaşlarının makalesinde erken evrede tümör hücrelerinde SnoN ekspresyon artışının TGF β sinyallerini baskılayarak, TGF β 'nın büyüme inhibisyonu etkisinin azalmasına yol açtığı belirtilmiştir. Ayrıca ileri evre tümörlerde ise SnoN'in TGF β aracılı epitelial- mezenkimal dönüşümü baskıladığı saptanmıştır [67]. Böylece SnoN TGF β aracılı tümör invazyonu ve metastazında inhibitör fonksiyon gösterebilmektedir. SnoN'in tümör süpresör etki mekanizmalarından biri de P53 stabilitesi ve aktivitesini arttırmaktır [9], [68]. *Deng Pan ve arkadaşları*, SnoN'in, oksidatif strese yanıt olarak hücre yaşlanmayı uyarmak için p53 ekspresyonunu arttırdığını tespit etmişlerdir. SnoN'in p53 'ü aktive eden ve bloke eden promotör bölgeye bağlanmak için Mdm2 ile yarışarak p53 stabilizasyonuna ve aktivasyonuna neden olduğu bildirilmiştir [9]. P53'ün düzenlenmesi esas olarak post-transkripsiyonel düzeyde özellikle protein stabilizasyonu sırasında olur. Öncelikle p53'ün ubiquitine bağlanarak parçalanmasını sağlayan Mdm2, E3 ubiquitin ligazı tarafından kontrol edilir. Mdm2 ayrıca promotör DNA üzerine bağlanarak p53 transkripsiyonunu baskılayabilir. Stres sinyalleri, ya p53 ve Mdm2'nin post-translasyonel düzenlenmesini etkileyerek Mdm2-p53 etkileşimini bloke eder ve p53'ün stabilizasyonuna neden olur. Bu etkisiyle SnoN hem tümör süpresyonunda hem de hücre siklusunun duraklaması, hücre yaşlanması ve apoptozu düzenlemek için p53'ü aktive ederek hücre stres tepkilerini koordine etmekte çok çeşitli fonksiyon göstermektedir [9]. P53 yokluğunda SnoN, TGF β 'nın büyümeyi ve hücre proliferasyonunu baskılayıcı aktivitesini antagonize ederek malign dönüşümü uyarmak için bir onkogen gibi işlev görebilir. SnoN-p53 etkileşimini bozmak SnoN'i bir onkogene dönüştürür. Bu da SnoN'in p53 ile etkileşiminin, hücrelerdeki anti-tümöral fonksiyonu için kritik olduğunu göstermektedir [9].

Biz de çalışmamızda uzak metastazı olan adenokarsinom olgularının p53 ekspresyonunun arttığını gözlemledik. Akciğer adenokarsinomunda p53 ile boyanma arttıkça hastalıksız ve genel sağ kalım süreleri kısalmaktadır.

Skuamoz hücreli karsinom için, TGF β 1, SnoN veya p53 ekspresyonunun, şiddeti, yaygınlığı veya lokalizasyonu ile prognostik parametreler arasında anlamlı bir ilişki saptanmadı. Ancak korelasyon analizlerinde skuamoz hücreli karsinomda, TGF β 1'in tümör epitelinde ekspresyonu ile SnoN'in tümör epitelinde hem nükleer ekspresyonu, hem sitoplazmik ekspresyonu arasında pozitif korelasyon bulundu. Skuamoz hücreli karsinomda tümör epitelinde TGF β 1 ekspresyonu arttıkça, SnoN'in tümör epitelinde nükleer ve sitoplazmik ekspresyonu artmaktadır. Fakat TGF β 1 ve SnoN ekspresyonu atışı evre, uzak metastaz, sağ kalım süresi ve diğer parametrelerle ilişkili değildir. Adenokarsinom olgularında ise skuamoz hücreli karsinomun aksine TGF β 1 ile SnoN'in nükleer ekspresyonu arasında negatif korelasyon saptanmıştır. Bunun nedeni hem TGF β 1 hem de SnoN'in iki yönde etkilerinin olması ve birbirlerini pozitif veya negatif yönde etkileyebilmeleri olabilir [69], [59], [70], [71].

Skuamoz hücreli karsinom olgularında SnoN'in tümör stromasında nükleer ekspresyonu ile tümörde p53 ekspresyonu arasında pozitif korelasyon tespit edildi. Bu bulgumuz da literatürde SnoN'in çeşitli stres faktörleri karşısında hücre yaşlanması ve apoptoz ilişkili yollarda p53'ü pozitif yönde etkilediğini bildiren çalışmaları desteklemektedir [63], [9].

Özetle, literatür ışığında değerlendirdiğimiz bulgularımız, akciğer adenokarsinomlarında, immünohistokimyasal olarak tümör epitelinde TGF β 1 ekspresyonu azalmasının ve SnoN ve p53'ün nükleer ekspresyonu artışı ile pozitif korelasyon gösterdiğini, bu boyanma paterninin de ileri evre ve kısa sağ kalım süreleri ile ilişkili olduğunu düşündürmüştür.

6. SONUÇLAR

1- Akciğer adenokarsinomunda uzak metastaz varlığında ve ileri evre tümörlerde TGFβ1'in tümör hücrelerinde sitoplazmik ekspresyonu azalmaktadır.

2- İleri evre adenokarsinom olgularında tümör epitelinde TGFβ1'in nükleer ekspresyonu artmakta, hastalıksız ve genel sağ kalım süreleri kısalmaktadır.

3- Adenokarsinomda SnoN'in, tümör epitelinde nükleer ekspresyonu ve tümör stromasında sitoplazmik ekspresyonu artışı ileri tümör evresi, kısa sağ kalım süreleri ile ilişkilidir.

4- Adenokarsinomda tümör hücrelerinde SnoN'in nükleer ekspresyonu ile sitoplazmik TGFβ1 ekspresyonu arasında negatif korelasyon mevcuttur.

5- Adenokarsinom olgularının tümör stromasında sitoplazmik SnoN ekspresyonu ile hastalıksız sağ kalım süresi arasında negatif korelasyon mevcuttur.

6- Adenokarsinomda uzak metastaz varlığında, tümör hücrelerinde p53 ekspresyonu artmaktadır. Hastalıksız ve genel sağ kalım süreleri kısalmaktadır.

7- Adenokarsinom tanılı hastalarda tümör çapı, lenf nodu tutulumu, tümörün histolojik derecesi, plevra invazyonu, hastalıksız sağ kalım ve genel sağ kalım süreleri ile TGFβ1'in tümör epitelinde ekspresyonu arasında ilişki yoktur.

8- Adenokarsinom hastalarında TGFβ1'in tümör stromasında ekspresyonu, SnoN'in tümör epitelinde sitoplazmik ekspresyonu ve SnoN'in tümör stromasında nükleer ekspresyonu ile tümör çapı ve histolojik derecesi, evre, plevral ve lenfovasküler invazyon, lenf nodu tutulumu, uzak metastaz, genel ve hastalıksız sağ kalım süreleri arasında ilişki bulunamadı.

9- İleri evre skuamöz hücreli karsinom olgularında tümör epitelinde TGFβ1'in nükleer ekspresyonu artmaktadır. Nükleer TGFβ1 ekspresyonu olan hastaların hastalıksız ve genel sağ kalım süreleri daha kısadır.

10- Skuamoz hücreli karsinomda, TGF β 1'in tümör epitelinde nükleer ekspresyonu ile tümör evresi arasında negatif korelasyon mevcuttur. Diğer parametrelerle ilişki saptanmamıştır.



KAYNAKÇA

- [1] “GLOBOCAN 2012 v1.0, cancer incidence and mortality worldwide: IARC CancerBase No. 11. International Agency for Research on Cancer Web site.” .
- [2] J. Ferlay *et al.*, “Cancer incidence and mortality worldwide: Sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012,” *Int. J. Cancer*, vol. 136, no. 5, pp. E359–E386, Mar. 2015.
- [3] M. Gültekin and G. Boztaş, “Türkiye kanser istatistikleri,” p. 40, 2014.
- [4] B. Corrin and A. G. Nicholson, “Pathology of the Lungs: Expert Consult,” *Churchill Livingstone, Elsevier*, 2011. [Online]. Available: <http://www.amazon.com/Pathology-Lungs-Expert-Consult-Online/dp/0702033693>. [Accessed: 21-Oct-2015].
- [5] F. D. B. Hasleton Philip, Ed., *Spencer’s Pathology of the Lung Volume 2*, 6. Cambridge University Press, New York, USA, 2013.
- [6] W. Pao and N. Girard, “New driver mutations in non-small-cell lung cancer,” *Lancet Oncol.*, vol. 12, no. 2, pp. 175–180, 2011.
- [7] P. Vural, “Transforming Growth Factor- Kanserde Baskılayıcı Rolü ” n n The Suppressing Role of Transforming Growth,” *Türk Klin. Biyokim. Derg.* 2010, vol. 8, no. 1, pp. 35–42, 2010.
- [8] B. Boone, M. Haspeslagh, and L. Brochez, “Clinical significance of the expression of c-Ski and SnoN, possible mediators in TGF- β resistance, in primary cutaneous melanoma,” *J. Dermatol. Sci.*, vol. 53, no. 1, pp. 26–33, 2009.
- [9] D. Pan, Q. Zhu, M. J. Conboy, I. M. Conboy, and K. Luo, “SnoN activates p53 directly to regulate aging and tumorigenesis,” *Aging Cell*, vol. 11, no. 5, pp. 902–911, 2012.

- [10] J. Deheuninck and K. Luo, “Ski and SnoN, potent negative regulators of TGF-beta signaling,” *Cell Res.*, vol. 19, no. 1, pp. 47–57, Jan. 2009.
- [11] Y. Fukai *et al.*, “Reduced expression of transforming growth factor-B receptors is an unfavorable prognostic factor in human esophageal squamous cell carcinoma,” *Int. J. Cancer*, vol. 104, no. 2, pp. 161–166, 2003.
- [12] M. Fukuchi *et al.*, “Increased expression of c-Ski as a co-repressor in transforming growth factor-B signaling correlates with progression of esophageal squamous cell carcinoma,” *Int. J. Cancer*, vol. 108, no. 6, pp. 818–824, 2004.
- [13] “AJCC - Implementation of AJCC 8th Edition Cancer Staging System.”
- [14] N. A. G. Travis W. D., Brambilla E., Burke A. P., Marx A., Ed., *World Health Organization Classification of Tumors of the Lung, Pleura, Thymus and Heart*. International Agency for Research on Cancer (IARC), 2015.
- [15] E. M. Kerr and C. P. Martins, “Metabolic rewiring in mutant Kras lung cancer,” *FEBS J.*, Jun. 2017.
- [16] D. S. Zander and C. F. Farver, *Pulmonary pathology*. Churchill Livingstone/Elsevier, 2008.
- [17] M. R. Jadus *et al.*, “Lung cancer: a classic example of tumor escape and progression while providing opportunities for immunological intervention.,” *Clin. Dev. Immunol.*, vol. 2012, p. 160724, 2012.
- [18] V. Kumar, A. K. Abbas, J. C. Aster, and S. L. (Stanley L. Robbins, *Robbins basic pathology*, 9th ed. 1600 John F. Kennedy Blvd. Ste 1800 Philadelphia, PA 19103-2899: Elsevier Saunder, 2012.
- [19] S. E. MILLS, J. K. GREENSON, J. L. HORNICK, T. A. LONGACRE, and V. E. REUTER, *Sternberg’s Diagnostic Surgical Pathology*, 6th ed. Wolters Kluwer Health, 2015.

- [20] W. D. Travis, E. Brambilla, and M. Noguchi, "International Multidisciplinary Classification of Lung Adenocarcinoma," *J. Thorac. Oncol.*, vol. 6, 2011.
- [21] W. D. Travis *et al.*, "International Association for the Study of Lung Cancer/American Thoracic Society/European Respiratory Society: International Multidisciplinary Classification of Lung Adenocarcinoma: Executive Summary," *Proc. Am. Thorac. Soc.*, vol. 8, no. 5, pp. 381–385, Sep. 2011.
- [22] H. H. (Helmut H. . Popper, *Pathology of lung disease : morphologypathogenesis - etiology*. Berlin, Germany: Springer, 2017.
- [23] A. S. Yurdakul, "The New Lung Cancer Staging System," *Turkish Thorac. Journal/Turk Toraks Derg.*, vol. 11, no. 4, pp. 173–180, 2010.
- [24] P. Goldstraw, "TNM for Lung and Pleural Tumours," *J. Clin. Anal. Med. J Clin Anal Med*, vol. 3, no. 1, pp. 123–7, 2012.
- [25] P. A. T. E. PDQ Adult Treatment Editorial Board, *Non-Small Cell Lung Cancer Treatment (PDQ®): Health Professional Version*. National Cancer Institute (US), 2002.
- [26] T. T. O. D. ve T. T. D. İmmüno-Onkoloji Derneği, Türk Akciğer Kanseri Derneği, "AKCİĞER KANSERİ YOL HARİTASI," 2016.
- [27] T. Imamura, A. Hikita, and Y. Inoue, "The roles of TGF- β signaling in carcinogenesis and breast cancer metastasis.," *Breast Cancer*, vol. 19, no. 2, pp. 118–24, Apr. 2012.
- [28] A. I. Arno, G. G. Gauglitz, J. P. Barret, and M. G. Jeschke, "New molecular medicine-based scar management strategies.," *Burns*, vol. 40, no. 4, pp. 539–51, Jun. 2014.
- [29] F. Zhang *et al.*, "Ski-related novel protein N (SnoN), a negative controller of transforming growth factor- β signaling, is a prognostic marker in estrogen

- receptor-positive breast carcinomas,” *Cancer Res.*, vol. 63, no. 16, pp. 5005–5010, 2003.
- [30] J. Massague, “Smad transcription factors,” *Genes Dev.*, vol. 19, no. 23, pp. 2783–2810, Dec. 2005.
- [31] S. L. Stroschein, W. Wang, S. Zhou, Q. Zhou, and K. Luo, “Negative Feedback Regulation of TGF- β Signaling by the SnoN Oncoprotein,” *Science (80-.)*, vol. 286, no. 5440, 1999.
- [32] K. Walldén, T. Nyman, B. M. Hällberg, T. Pupko, and N. Ben-Tal, “SnoN Stabilizes the SMAD3/SMAD4 Protein Complex,” *Sci. Rep.*, vol. 7, p. 46370, Apr. 2017.
- [33] S. Sengupta, S. Jana, S. Biswas, P. K. Mandal, and A. Bhattacharyya, “Cooperative involvement of NFAT and SnoN mediates transforming growth factor- β (TGF- β) induced EMT in metastatic breast cancer (MDA-MB 231) cells,” *Clin. Exp. Metastasis*, vol. 30, no. 8, pp. 1019–31, Dec. 2013.
- [34] M. A. Cichon and D. C. Radisky, “Extracellular matrix as a contextual determinant of transforming growth factor- β signaling in epithelial-mesenchymal transition and in cancer,” *Cell Adh. Migr.*, vol. 8, no. 6, pp. 588–594, Nov. 2014.
- [35] D. Spandidos *et al.*, *Oncology reports.*, vol. 34, no. 1. [National Hellenic Research Foundation], 1994.
- [36] S. K. Halder, R. D. Beauchamp, and P. K. Datta, “A Specific Inhibitor of TGF- β Receptor Kinase, SB-431542, as a Potent Antitumor Agent for Human Cancers,” *Neoplasia*, vol. 7, no. 5, pp. 509–521, 2005.
- [37] J. M. David, C. Dominguez, K. K. Mccampbell, J. L. Gulley, J. Schlom, and C. Palena, “ORIGINAL RESEARCH A novel bifunctional anti-PD-L1 / TGF- β Trap fusion protein (M7824) ef fi ciently reverts mesenchymalization of

- human lung cancer cells,” vol. 6, no. 10, pp. 1–16, 2017.
- [38] X. Liu, Y. Sun, R. A. Weinberg, and H. F. Lodish, “Ski/Sno and TGF- β signaling,” *Cytokine Growth Factor Rev.*, vol. 12, no. 1, pp. 1–8, 2001.
- [39] S. Lamouille and R. Derynck, “Oncogene and tumour suppressor: the two faces of SnoN,” *EMBO J.*, vol. 28, no. 22, pp. 3459–3460, Nov. 2009.
- [40] N. Ferrand, A. Atfi, and C. Prunier, “The Oncoprotein c-Ski Functions as a Direct Antagonist of the Transforming Growth Factor- β Type I Receptor,” *Cancer Res.*, vol. 70, no. 21, 2010.
- [41] M. Hasanzadeh and N. Shadjou, “(Nano)-materials and methods of signal enhancement for genosensing of p53 tumor suppressor protein: Novel research overview,” *Mater. Sci. Eng. C*, vol. 76, pp. 1424–1439, 2017.
- [42] G. G. Demirag, Y. Sullu, D. Gurgenyatagi, N. O. Okumus, and I. Yucel, “Expression of Plakophilins (PKP1, PKP2, and PKP3) in Gastric Cancers,” *Diagn. Pathol.*, vol. 6, no. 1, pp. 2–6, 2011.
- [43] R. Marshall, A. Popple, T. Kordbacheh, J. Honeychurch, C. Faivre-Finn, and T. Illidge, “Immune Checkpoint Inhibitors in Lung Cancer – An Unheralded Opportunity?,” *Clin. Oncol.*, vol. 29, no. 4, pp. 207–217, 2017.
- [44] R. L. Elliott and G. C. Blobe, “Role of transforming growth factor beta in human cancer,” *J. Clin. Oncol.*, vol. 23, no. 9, pp. 2078–2093, 2005.
- [45] K. B. Ewan *et al.*, “Transforming Growth Factor- β 1 Mediates Cellular Response to DNA Damage in Situ,” *Cancer Res.*, vol. 62, pp. 5627–5631, 2002.
- [46] D. M. Simeone, T. Pham, and C. D. Logsdon, “Disruption of TGF β signaling pathways in human pancreatic cancer cells,” *Ann. Surg.*, vol. 232, no. 1, pp. 73–80, 2000.

- [47] S. P. Fink *et al.*, “Transforming Growth Factor- β -induced Growth Inhibition in a Smad4 Mutant Colon Adenoma Cell Line Transforming Growth Factor- β -induced Growth Inhibition in a Smad4 Mutant,” vol. 1, pp. 256–260, 2001.
- [48] F. Wu, K. J. Weigel, and X. Wang, “Paradoxical roles of TGF- β signaling in suppressing and promoting squamous cell carcinoma,” no. December, pp. 1–8, 2017.
- [49] C. D. Morrison and W. P. Schiemann, “Tipping the balance between good and evil: aberrant 14-3-3 ζ expression drives oncogenic TGF- β signaling in metastatic breast cancers.,” *Breast Cancer Res.*, vol. 17, p. 92, Jul. 2015.
- [50] A. B. Glick, M. M. Lee, N. Darwiche, A. B. Kulkarni, S. Karlsson, and S. H. Yuspa, “Targeted deletion of the TGF- β i gene causes rapid progression to squamous cell carcinoma,” *Genes Dev.*, vol. 8, no. 20, pp. 2429–2440, 1994.
- [51] Y. Mizukami *et al.*, “Immunohistochemical demonstration of growth factors, TGF-alpha, TGF-beta, IGF-I and neu oncogene product in benign and malignant human breast tissues.,” *Anticancer Res.*, vol. 10, no. 5A, pp. 1115–26, 1990.
- [52] A. Wimmel, B. Wiedenmann, and S. Rosewicz, “Autocrine growth inhibition by transforming growth factor beta-1 (TGFbeta-1) in human neuroendocrine tumour cells.,” *Gut*, vol. 52, no. 9, pp. 1308–16, 2003.
- [53] T. Shinagawa, H. D. Dong, M. Xu, T. Maekawa, and S. Ishii, “The sno gene, which encodes a component of the histone deacetylase complex, acts as a tumor suppressor in mice.,” *EMBO J.*, vol. 19, no. 10, pp. 2280–2291, 2000.
- [54] L. X. Xie, M. Wu X., Zhang J., Zhang J., “Ski regulates Smads and TAZ signaling to suppress lung cancer progression †,” no. March 2017, pp. 1–31.
- [55] S. Roth-Eichhorn, K. Kuhl, and A. M. Gressner, “Subcellular localization of (latent) transforming growth factor beta and the latent TGF-beta binding

- protein in rat hepatocytes and hepatic stellate cells,” *Hepatology*, vol. 28, no. 6, pp. 1588–1596, 1998.
- [56] S. M. Gorsch, V. a Memoli, T. a Stukel, L. I. Gold, and B. a Arrick, “Immunohistochemical staining for transforming growth factor beta 1 associates with disease progression in human breast cancer.,” *Cancer Res.*, vol. 52, no. 24, pp. 6949–6952, 1992.
- [57] M. H. Barcellos-Hoff, E. J. Ehrhart, M. Kalia, R. Jirtle, K. Flanders, and M. L. Tsang, “Immunohistochemical detection of active transforming growth factor-beta in situ using engineered tissue.,” *Am. J. Pathol.*, vol. 147, no. 5, pp. 1228–37, Nov. 1995.
- [58] Y. Hasegawa, S. Takanashi, Y. Kanehira, T. Tsushima, T. Imai, and K. Okumura, “Transforming growth factor-beta1 level correlates with angiogenesis, tumor progression, and prognosis in patients with nonsmall cell lung carcinoma.,” *Cancer*, vol. 91, no. 5, pp. 964–71, Mar. 2001.
- [59] J.-J. Lebrun, “The Dual Role of TGF β in Human Cancer: From Tumor Suppression to Cancer Metastasis,” *ISRN Mol. Biol.*, vol. 2012, pp. 1–28, 2012.
- [60] M. Chandra *et al.*, “Nuclear translocation of type I transforming growth factor β receptor confers a novel function in RNA processing.,” *Mol. Cell. Biol.*, vol. 32, no. 12, pp. 2183–95, Jun. 2012.
- [61] M. Javle *et al.*, “Biomarkers of TGF- β Signaling Pathway and Prognosis of Pancreatic Cancer,” *PLoS One*, vol. 9, no. 1, p. e85942, Jan. 2014.
- [62] V. Villanacci *et al.*, “Ski/SnoN expression in the sequence metaplasia-dysplasia-adenocarcinoma of Barrett’s esophagus,” *Hum. Pathol.*, vol. 39, no. 3, pp. 403–409, 2008.
- [63] N. S. Jahchan, G. Ouyang, and K. Luo, “Expression profiles of SnoN in

normal and cancerous human tissues support its tumor suppressor role in human cancer.," *PLoS One*, vol. 8, no. 2, p. e55794, Jan. 2013.

- [64] I. Akagi *et al.*, "SnoN overexpression is predictive of poor survival in patients with esophageal squamous cell carcinoma.," *Ann. Surg. Oncol.*, vol. 15, no. 10, pp. 2965–2975, 2008.
- [65] J. A. Chia *et al.*, "SnoN expression is differently regulated in microsatellite unstable compared with microsatellite stable colorectal cancers," *BMC Cancer*, vol. 6, pp. 1–6, 2006.
- [66] Q. Zhu *et al.*, "Dual Role of SnoN in Mammalian Tumorigenesis," *Mol. Cell. Biol.*, vol. 27, no. 1, pp. 324–339, 2007.
- [67] S. Bonni and A. Bonni, "SnoN signaling in proliferating cells and postmitotic neurons," *FEBS Lett.*, vol. 586, no. 14, pp. 1977–1983, 2012.
- [68] N. S. Jahchan, Y.-H. You, W. J. Muller, and K. Luo, "Transforming growth factor-beta regulator SnoN modulates mammary gland branching morphogenesis, postlactational involution, and mammary tumorigenesis.," *Cancer Res.*, vol. 70, no. 10, pp. 4204–13, May 2010.
- [69] M. P. de Caestecker, "Role of Transforming Growth Factor-beta Signaling in Cancer," *J. Natl. Cancer Inst.*, vol. 92, no. 17, pp. 1388–1402, 2000.
- [70] H. Tian, J. Liu, J. Chen, M. L. Gatzka, and G. C. Blobe, "Fibulin-3 is a novel TGF- β pathway inhibitor in the breast cancer microenvironment," no. September 2014, pp. 5635–5647, 2015.
- [71] J. L. Wrana and L. Attisano, "The Smad pathway," *Cytokine Growth Factor Rev.*, vol. 11, no. 1–2, pp. 5–13, 2000.

