

T.C  
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
PATOLOJİ ANABİLİM DALI

**KÜÇÜK HÜCRELİ DIŞI AKCİĞER KARSİNOMLARINDA COX-2,  
VEGF, TGF- $\beta$  EKSPRESYONUNUN TÖMÖR ANJİOGENEZİSİ İLE  
İLİŞKİSİ**

**Dr. Sevilay Akalp ÖZMEN**

**Tez Yöneticisi**

**Prof.Dr. Cemal GÜNDOĞDU**

**Uzmanlık Tezi**

**ERZURUM 2007**

**İÇİNDEKİLER**

	<u>Sayfa no</u>
İÇİNDEKİLER	i
ONAY	ii
TEŞEKKÜR	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT	vi
GİRİŞ	1
GENEL BİLGİLER	2
Anatomi	2
Embriyoloji	3
Histoloji	3
Akciğer Kanserlerinde Epidemiyoloji	5
Akciğer Kanserlerinde Etiyoloji	6
Akciğer Kanserlerinin Sınıflandırılması	9
Akciğer Tümörlerinde Karsinogenez	14
Küçük Hücreli Dışı Akciğer Karsinomlarında Prognostik Faktörler	15
Tümöral Anjiogenez	16
Büyüme Faktörleri ve Reseptörleri	21
GEREÇ VE YÖNTEM	26
Olgular	26
BULGULAR	28
Histopatolojik Bulgular	28
İmmünohistokimyasal Bulgular	28
Stereolojik Bulgular	28
İstatistiksel Bulgular	40
TARTIŞMA	43
SONUÇLAR	49
KAYNAKLAR	50

**ONAY**

”Küçük hücreli dışı akciğer karsinomlarında COX-2, VEGF, TGF- $\beta$  ekspresyonunun tümöranjiyogenezisi ile ilişkisi” konulu çalışmamız, Patoloji Anabilim Dalı Kurulunun 02.06.2006 tarih ve 79 sayılı yazısı; Cerrahi Tıp Bilimleri Bölüm Kuruluna yaptığınız 14.06.2006 tarih ve 91 sayılı başvuru sonrasında tez olarak çalışılması uygun görülmüş ve 06.07.2006 tarihinde yapılan 5 nolu oturumda 29 protokol sayısı ile onay verilmiştir.

**TEŞEKKÜR**

Patoloji uzmanlık eğitimimi aldığım dönem boyunca, bilgi ve deneyimlerini bizlerle paylaşan; aynı zamanda, tez danışmanım, Patoloji Anabilim Dalı Başkanı Prof.Dr. Cemal Gündoğdu'ya, eğitimimdeki katkılarından dolayı, değerli hocalarım; Doç.Dr. Nesrin Gürsan, Doç.Dr. Fazlı Erdoğan ve Yrd. Doç.Dr Sare Altaş'a, İstatistik analizlerimi yapan Doç. Dr. Bünyami Ünal ve Sayın Hamit Acemoğlu'na, Literatür çevirilerimde yardımcı olan Dr. A.Kerim Olgun ve Sayın Rahmi Karadabak'a varlıklarını hep yanımda hissettiren çalışma arkadaşlarıma, eğitimim boyunca, özellikle de tezimin hazırlık aşamasında desteklerini esirgemeyen Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı çalışanlarına, hayatımın her aşamasında yanımda olan annem Şükran Akalp'e, eşim Dr. M. Ersoy Özmen'e ve oğullarıma sonsuz teşekkürler...

**Dr. Sevilay Akalp ÖZMEN**

## ÖZET

Akciğer kanseri, 20. yüzyılın başlarında nadir görülen bir hastalık iken, sigara içme alışkanlığındaki artışa paralel olarak sıklığı giderek artmıştır. Bugün ise dünyada en sık görülen kanser haline gelmiştir. Akciğer kanseri insidansı yaşla artmakta, 6.-7. dekadlarda en yüksek noktaya ulaşmaktadır. Adenokarsinom en sık izlenen kanser tipidir. Ülkemizde ise gençlerde adenokarsinom yaşlılara göre daha fazla izlenmekle birlikte, en sık izlenen kanser tipi skuamöz hücreli karsinomdur.

Akciğer kanserlerindeki artmış bu insidans ve buna bağlı olarak yüksek ölüm oranı, yeni prognostik belirteçlerin araştırılmasını gerektirmektedir. Evre, prognozu belirleyen en önemli göstergedir. Prognozun daha kapsamlı belirlenmesini sağlayacak ve mevcut evreleme sistemine katkısı olabilecek yeni parametrelere de ihtiyaç vardır.

Histolojik tip ve diferansiyasyon prognozda önemlidir. Küçük Hücreli Dışı Akciğer Kanseri (KHDAK) içerisinde en sık kür şansı olan skuamöz hücreli karsinomdur. Rezeksiyon sonrası 5 yıllık sağkalım iyi diferansiye tümörlerde en yüksek, az diferansiye tümörlerde ise en düşüktür.

Son yıllarda akciğer karsinomlarında anjiogenezin de önemli bir prognostik gösterge olduğu saptanmıştır. Anjiogenez üreme, gelişme ve onarımda temel bir süreçtir. Fizyolojik anjiogenez sıkı bir kontrol altında tutulur. Neoplastik olaylarda görülen patolojik anjiogenez, kan damarlarının sürekli büyümesi, yani kontrolden çıkmış bir neovaskülarizasyondur. Anjiogenezle ilgili bir çok faktör olmasına rağmen, vasküler endotelial growth faktör (VEGF) tümör neovaskülarizasyonu ile ilişkili en güçlü endotelial hücreye spesifik mitojendir.

Transforming growth faktör-beta (TGF- $\beta$ ) anjiogenezde, stromal formasyonda ve immün fonksiyonlarda rolü olup, tümör progresyonuna etkisi olduğu gösterilmiştir.

Siklooksijenaz-2 (COX-2) ekspresyonu da primer akciğer kanser vakalarında önemli bir artış göstermektedir. COX-2 aynı zamanda metalloproteinazlar ve VEGF'yi indükleyen prostaglandin E2 gibi anjiogenik prostaglandinlerin sentezlenmesi yoluyla tümör indüklü anjiogenezde rol oynamaktadır.

Bu tez çalışmasında tümöral anjiogenezde rol alan, VEGF, TGF- $\beta$  ve COX-2'nin ekspresyonunun skuamöz hücreli kanser tanısı almış KHDAK' u vakalarında histolojik diferansiyasyonla ilişkisini araştırdık.

Çalışmamızda skuamöz hücreli karsinom tanısı almış 30 tane rezeksiyon, 11 tane biyopsi materyalinde COX-2, VEGF ve TGF- $\beta$  ekspresyonunun immünohistokimyasal olarak gösterilip, tarafsız bir yöntem olan stereoloji metodu ile dokunun bütünü hakkında yorum yapmayı hedefledik. Orta derece diferansiye vakalarda COX-2 aşırı ekspresyonunu gözledik. COX-2 seviyelerini de VEGF seviyeleri ile doğru orantılı bulduk.

Anahtar kelimeler: Akciğer kanserleri, Anjiogenez, VEGF, TGF- $\beta$ , COX-2

## **ABSTRACT**

While Lung cancer is a disease rarely seen in the early years of 20<sup>th</sup> century, its incidence is getting increase as paralel to the increase in smoking habit. To day, it has become as a cancer which is the most often seen. The incidence of Lung Cancer has increased a long with the age, and has reached at peak levels in 6<sup>th</sup>- 7<sup>th</sup> decades. Adenocarcinoma is the type of most often seen. In our country, adenocarcinoma has been seen more in the young than the old. The most often seen cancer type is the carcinoma with scuamose cell.

The increased incidence in Lung Cancer and high mortality rate depending on this required new prognostic markers to be investigated. Phase is the most important indicator determining the prognose. There need new parameters which will contribute to available stage system and provide the determination of prognose more comprehensively.

Histologic type and differentiation are important in prognose. Of small celled female Lung Cancers, carcinoma with scuamose celled are the ones having the most often cure chance. 5 year survival after resection is the highest in good differentiated toumors and the lowest in little differentiated tumors.

In recent years, it is found out that angiogenes is also an important prognostic indicator.

Angiogenes is a basic process in reproduction, development and repair. Physiologic angiogenes is kept under control strictly. Pathologic angiogenes seen in neoplastics cases is constantly the growth of blood vessels, that is, uncontrolled neovascularization. Although there are several factors relating to angiogenes, vascular endothel growth factor (VEGF) is specific mithogenes to the strongest endothelial cell relating to tumor vascularization.

Transforming growth factor beta (TGF- $\beta$ ) play a part in angiogenes, stromal formation and immune functions, and it has been shown that it had affect on tumor progression.

Sclooxygenes-2 expression (COX-2) has shown an important increase in primary Lung Cancer cases. COX-2 also play part in tumor induced angiogenesis by

means of the synthesis of angiogenic prostoglands inducing such as VEGF and metallo proteinases E2.

In this thesis, We investigated the relationship of VEGF, THG- $\beta$  and COX-2 exspression with histologic differentiation in the cases with Non Small Cell Carcinoma diagnosed with the cancer with scuamose celled.

In our study, We aimed to comment about the whole tissue by means of stereology method which is an importial one and we indicated the exspression of COX-2, VEGF and TGF- $\beta$  immunohistochemically in 11 biopsy materials, 30 resection diagnosed with scuamose celled carcinoma. In moderately differentiated cases, we observen COX-2 excessive exspression. We found out that the levels of COX-2 was directly proportional with those of VEGF.

Key Words: Lung Cancer, Angiogenes, COX-2, VEGF, TGF- $\beta$





## GİRİŞ

Akciğer kanserleri 1930'lara kadar ender görülen bir kanser türü iken bu tarihten sonra ani artışı gözlenmiştir. 1930'lardan sonra erkeklerde kansere bağlı ölümlerin en önemli nedeni olmuştur. Kadınlarda ise 1960'larda başlayan artış günümüzde de devam etmektedir. Dünya genelinde erkeklerdeki insidans, kadınlardakinin iki katı veya daha fazlasıdır. Akciğer kanserinin görülme hızı, yaşla beraber artmakta, erkeklerde 80, kadınlarda 70 yaşından sonra azalmaktadır. Tüm vakaların %5-10'u tanı anında 50 yaşın altındadır (1-3).

Birçok organ tümörlerinden farklı olarak, akciğer tümörleri, çok daha çeşitli yönlerde diferansiye olabilme yeteneğine sahiptir (4). Akciğer kanseri Küçük Hücreli Akciğer Kanseri (KHAK) ve Küçük Hücreli Dışı Akciğer Kanseri (KHDAK) olmak üzere başlıca iki grupta toplanmaktadır. KHDAK tüm akciğer kanserlerinin %80-85'ini oluşturmaktadır (5). Tanı konduktan sonra prognozun değerlendirilmesinde, histolojik tip ve evre çok önemli bir faktördür. Prognostik özelliklerine göre aynı değerlere sahip hastaların yaşam sürelerinde farklılıklar gözlemlenmiştir. Tüm bunlar akciğer kanserlerinin tanısında kullanılan standart yöntemlere ilave olarak yeni prognostik parametrelerin arayışını da doğurmuştur. Bu belirteçlerden bir tanesi de anjiogenezdır(6).

Anjiogenez, yeni damarların oluşması demektir. Kompleks bir olaydır. Tümör anjiogenezinin karsinom gelişmesinde, invazyon ve metastaz da önemli rolü olduğu bilinmektedir. Ameliyat edilmiş KHDAK li hastaları da içeren çeşitli klinik çalışmalarda; metastaz varlığı ile vaskülarizasyon arasında korelasyon saptanmıştır (7). Akciğer kanserlerinde anjiogenik aktivite gösteren çeşitli mediyatörler ve büyüme faktörleri tanımlanmıştır. Bunlardan bazıları da bizim çalışmamızda yer alan COX-2, VEGF ve TGF-β dır.

Biz çalışmamızda; KHDAK tanısı almış 30 adet akciğer rezeksiyonu materyali, 11 adet de akciğer biyopsisi materyallerine ait arşivimizdeki raporlardan klinik verileri elde ettik. Daha sonraki aşamada arşivimizde bunlara ait parafin bloklardan her vakaya ait tanı teyidi yapıp, histolojik diferansiasyonları belirledikten sonra immünohistokimyasal olarak COX-2, VEGF, TGF-β protein ekspresyonunun seviyelerini çalıştık. Artmış miktarda COX-2, VEGF ve TGF-β ekspresyonunun ve anjiogenik vasküler yapının küçük hücreli dışı akciğer karsinomlarında, histolojik diferansiasyonla ilişkisini araştırmayı hedefledik.

## GENEL BİLGİLER

### Anatomi

Akciğerler solunum sisteminin temel organlarıdır. Temel fonksiyonları inhale edilen havayı pulmoner kapillerlerdeki venöz kanın yakınına taşıyıp kanın oksijenlenmesini sağlamaktır. Canlılarda sağlıklı akciğerler normalde hafif, yumuşak ve süngerimsidir. Akciğerler elastik olup göğüs boşluğu açıldığında boyutlarının üçte biri kadar büzülür (8).

Kostal, diafragmatik ve mediastinal yüzleri vardır (8). Her bir akciğerin medial yüzünde bulunan hilum pulmonalis radix pulmonalisin akciğere girip çıktıkları yerdir. Sağ akciğerin üç lobu, solun ise iki lobu vardır. Akciğerlerin ön kenarları, parietal plevranın yapmış olduğu recessus. costomediastinalis anterior'a uyarak 4. kıkırdak kaburgaya kadar iner. Sol kenar, kalbin bulunmasından dolayı bu seviyede laterale dönerek sternum'u biraz geçer ve daha sonra 6. kıkırdak kaburgaya kadar uzanır (8).

Her bir akciğere a.pulmonalisler ile kalpten venöz kan gelir. Arterialize kanı kalbe götüren ise iki adet olan v.pulmonalis'lerdir. İyi oksijenlenmiş ("arteryel") kanı akciğerlerden kalbin sol atrium'una taşırlar. Akciğerler ve visseral plevranın sinirleri radix pulmonalis'in ön ve arka bölümünde yerleşmiş plexus pulmonalis'lerden gelir. Bu sinir ağları n.vagus'tan (X.) gelen parasempatik lifleri ve truncus sympaticus'tan gelen simpatik lifleri içerir (8).

### Embriyoloji

Akciğer tomurcuğu, ön barsaktan ayrılışı sırasında, trakeayı ve bronşial tomurcuk denilen iki lateral çıkıntıyı oluşturur. Beşinci haftanın başında bu tomurcukların her biri, sağ ve sol ana bronşları oluşturmak üzere büyürler. Akciğer tomurcukları, kaudal ve lateral yönlerde büyümeye devam ederek, çöлом boşluğuna penetre olurlar. Bu boşluklar akciğer tomurcukları tarafından doldurulur (9).

Gelişimin daha ileri evrelerinde, oluşan sekonder bronşlar tekrar tekrar dallanır ve sağ akciğerde 10, solda 8 adet tersiyer (segmental) bronş oluşturarak yetişkin akciğerindeki bronkopulmoner segmentleri meydana getirmiş olur (9).

Yedinci prenatal aya kadar, bronşlioller sürekli olarak daha fazla ve daha küçük kanallara bölünür. Bu devreye kanaliküler devre adı verilir. Solunum, ancak, küboidal solunum bronşiol hücrelerinin bir kısmı ince, yassı hücrelere dönüştüğünde mümkün hale gelir. Bu durum ise, pseudoglandüler (5-17. haftalar) evre olarak adlandırılır ve kanaliküler (15-25. haftalar) evreden sonra küboidal bronşial hücrelerin, kan ve kapillerleri ile yakın ilişkide bulunan ince, yassı alveoler epitel hücrelere (tip I)

dönüşmesi ile gerçekleşir. Yedinci ayda, yeterli gaz değişimi sağlayabilecek kadar kapiller ağı mevcuttur ve prematüre bebek yaşayabilecek durumdadır (9).

Karakteristik olgun alveoller, doğumdan önce mevcut değildir. Altıncı ayın sonunda, endotelial ve yassı alveoler epitelyum hücrelerine ek olarak, başka bir hücre tipi daha ortaya çıkar. Bu hücreler, alveol yüzey geriliminin düşmesini sağlayan fosfolipidden zengin bir sıvı olan sürfaktanı üreten tip II alveol epitelyum hücreleridir (9).

Doğumdan önce akciğerler, içinde, yüksek konsantrasyonda klor, biraz protein, bronşial bezlerden gelen bir miktar mukus ve tip II alveol epitel hücrelerinden gelen sürfaktan bulunan bir sıvı ile doludur. Bu sıvıdaki sürfaktan miktarı, özellikle doğumdan önceki son 2 haftada artar (9).

### **Histoloji**

Solunum sistemi; burun boşluğu, nazofarenks, bronş, bronşioler ve terminal bronşiolerden oluşan iletili bölüm ile respiratuar bronşioler, alveol kanalları (duktus alveolaris) ve alveollerden oluşan solunum (respiratuar) bölümünden oluşur.

İletici bölüm solunan havayı uygun hale getirir. Solunum bölümünde ise gaz değişimi gerçekleşir (10).

Solunum Epiteli: İletici bölümün büyük kısmı, goblet hücrelerinden zengin silyalı yalancı çok katlı prizmatik epitel ile döşelidir. Bronşlar, bronşiolere ayrılınca yalancı çok katlı epitel, tek katlı prizmatik epitele dönüşüm gösterir. Aynı epitel küçük (terminal) bronşiolerde tek katlı kübik olur. Zengin goblet hücresi topluluğu, küçük bronşlarda giderek azalır ve terminal bronşiolerin epitelinde tamamen ortadan kaybolur. Goblet hücreleriyle birlikte bulunan silyalı hücreler, daha ince bronşioler boyunca, goblet hücrelerinin bulunmadığı bölümlerde de devam eder. Tipik solunum epiteli: silyalı prizmatik hücreler, müköz goblet hücreler, fırçamsı hücreler, bazal (kısa) hücreler, küçük granüllü hücreler (Kulchitsky hücreleri) olmak üzere toplam 5 hücre tipi içerir. Bu grup içindeki küçük granüllü hücreler, bazal hücrelere benzerler ancak 100- 300 nm çapında santral bölümü yoğun, çok sayıdaki granülleriyle bazal hücrelerden ayrılırlar. Histokimyasal çalışmalar, bu hücrelerin diffüz nöroendokrin sistemin elemanları olduklarını gösterir. Bu endokrin benzeri granüllü hücrelerin, müköz ve seröz salgılama sürecinin bütünlüğünde etkin rol oynadığı öne sürülmektedir (10).

Trakea, hilumdan akciğerlere giren 2 primer bronşa ayrılır. Primer bronşlar, akciğere girdikten sonra, aşağı ve dışa doğru inerek sağ akciğerde 3, sol akciğerde 2 bronşa ayrılırlar. Ayrılan bu dalların her biri, bir pulmoner lobu donatır ve "lober bronş" adını alır. Lober bronşlar, tekrar tekrar dallanarak daha küçük bronşları oluştururlar.

Bunların terminal dallarına ise “bronşiol” denir. Her bronşiol, bir pulmoner lobüle girer ve burada dallanarak, 5-7 terminal bronşiol oluşturur. Bronş mukozası, yapısal olarak kıkırdak ve kasların organizasyonu dışında, trakea mukozasına benzer (10).

Bronşiyoller çapları 5mm ya da daha az olan intralobüler hava yollarıdır. Mukozalarında kıkırdak ya da bez içermezler. Sadece, başlangıç segmentlerinde epitel içine dağılmış goblet hücreleri bulunur. Büyük bronşiollerde epitel yalancı çok katlı prizmatiktir. Bronşiollerin dallanması ile terminal bronşiyoller oluşur (10).

Terminal bronşiollerde epitel, silyalı tek katlı prizmatik ya da kübiktir. Terminal bronşiol epiteli, aynı zamanda, Clara hücrelerini de içerir. Bu hücrelerin silyaları yoktur. Apikal sitoplazmalarında salgı granülleri bulunur. Muhtemelen bronşiol yüzeyini koruyan glikozaminoglikanları salgıladıkları bilinmektedir. Bronşiollerde ayrıca nöroepitelyal cisimcikler denen özelleşmiş bölgeler bulunur. İşlevleri iyi anlaşılamamıştır ancak muhtemelen hava yolunun içindeki gaz bileşiminde görülen değişikliklere yanıt oluşturan kemoreseptörler olabilecekleri öne sürülmüştür. Terminal bronşiolde sonraki akciğer dokusu “asinüs” ya da “terminal solunumsal birim” adını alır. Distallerindeki asinüsleri ile beraber 3-5 terminal bronşiolün oluşturduğu topluluğa “pulmoner lobül” adı verilir. Her terminal bronşiol, solunum sisteminin iletili bölümü ile solunum bölümü arasında geçiş bölgesi olan 2 ya da daha fazla respiratuar bronşiole ayrılır (10).

Respiratuar bronşiol mukozası, duvarında, gaz değişiminin gerçekleştiği çok sayıda kese şeklinde alveoller bulunması dışında; terminal bronşiol mukozası ile aynı yapıdadır. Respiratuar bronşiol lümenleri, silyalı kübik epitel ve Clara hücreleri ile döşelidir. Ancak, alveollerin açıldığı bölümlerde bronşiol epiteli yassı alveol epiteli hücreleri ile (tip I alveol hücreleri) devam eder. Respiratuar bronşiyoller boyunca, distale doğru bronşiol duvarına açılan alveol sayısı artar ve tüp, artık, alveol kanalı (duktus alveolaris) adını alır. Hem alveol kanalları, hem de alveoller, çok ince, yassı alveol hücreleriyle döşelidir (10).

Alveoller, respiratuar bronşiyoller, alveol kanalları ve alveol keselerinde bulunan, yaklaşık 200 nm çapında kese şeklinde çıkıntılardır. Hava ile kan arasında O<sub>2</sub> ve CO<sub>2</sub> değişimi bu alanlarda gerçekleşir. Genelde, 2 komşu alveol arasında duvar yapısı yer alır ve bu nedenle “interalveoler septum” ya da “duvar” olarak isimlendirilir. Bir alveol septumu; arasında kapillerler, fibroblastlar, elastik ve retiküler lifler ile makrofajlar bulunan iki ince yassı epitel tabakasından oluşur. Alveol septumunun interstisyumunda organizmanın en zengin kapiller ağı yer alır (10). İnteralveoler septumda başlıca 5 tip hücre bulunur: Kapiller endotel hücreleri (%30), tip I (yassı) alveol hücreleri (%8), tip II

(septal, büyük alveol) hücreleri (%16), fibroblast ve mast hücrelerini kapsayan interstisyel hücreler (%36), alveoler makrofajlar (%10) (10).

Tip I hücreler, alveol yüzeyini döşeyen ileri derecede incelmış hücrelerdir. Tip I hücreler alveol yüzeyinin %97 sini kaplar (geri kalan % 3 lük yüzey, tip II hücrelerce kaplanır). Bu hücrelerin başlıca görevi; gazların geçişine uygun, minimal kalınlıkta bir bariyer sağlamaktır (10).

Tip II hücreler, (büyük alveol hücreleri, septal hücreler), tip I alveol hücreleri arasına serpilmiş olarak bulunurlar. Tip II hücreler, kabaca, kübik hücrelerdir ve genellikle, alveollerin birleştikleri ve birbiri ile açılar oluşturdukları noktalarda 2 yada 3 hücreden oluşan gruplar halinde bulunurlar. Tipik salgı hücrelerine benzeyen bu hücreler, pulmoner sürfaktan salgılar (10).

### **Akciğer Kanserlerinde Epidemiyoloji**

Akciğer kanserlerinin sıklığı ve dağılımına ilişkin çalışmalar, 20. yüzyılın ortalarında başlamıştır. insidans ve mortalite hızlarının hemen hemen eşit olduğu yaygın bir hastalık ile karşı karşıya olduğumuzu göstermektedir. 1930'lara kadar ender görülen bir kanser türüken bu tarihten sonra ani artışı gözlenen akciğer kanseri, erkeklerde kansere bağlı ölümlerin en önemli nedeni olmuştur. Kadınlarda ise 1960'larda başlayan artış günümüzde de devam etmektedir. Akciğer kanserinin görülme hızı, yaşla beraber artmakta, erkeklerde 80, kadınlarda 70 yaşından sonra azalmaktadır. Tüm vakaların %5-10'u tanı anında 50 yaşın altındadır (1,2,3).

Gelişmekte olan ülkelerde, akciğer kanserinden ölüm oranları artmaya devam etmekte, gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerdeki sigara alışkanlıkları ve sigara katran düzeyleri arasındaki farklılıklar bunu önemli derecede etkilemektedir. Batı ülkelerinde, erkeklerde sigara içimi azalmakta, ancak kadınlarda artmaktadır. Kadınlarda akciğer kanseri görülme sıklığının artışı ile birlikte erkek/kadın oranı 1.3'e gerilemiştir. Çin, Güney Asya ülkeleri gibi hızlı ekonomik gelişim gösteren ülkelerde akciğer kanserinden ölüm oranlarında, artan sigara tüketimini yansıtan bir artış olmuştur. ABD ve Japonya'da 1960-1963 yılları arasında tanı alan akciğer kanserli hastaların 5 yıllık sağkalım oranları %8 iken, 1986-1991 yılları arasında %14'e yükselmiştir. Histolojik subtipler konusunda da, Avrupa ülkelerinde adenokarsinomada artış ve yassı hücreli akciğer kanserinde azalma ile beliren bir değişiklik söz konusudur. ABD ve Japonya'da adenokarsinoma halen daha sık görülmektedir (11).

Türkiye’de 1999 istatistiklerine göre akciğer kanseri erkeklerde tüm kanserlerin %29’u olup en çok görülen kanserdir. Kadınlarda %4’lük oranla altıncı sırada yer almaktadır. İnsidans, erkeklerde 14/100,000, kadınlarda 1/100,000’dir (12).

Devlet İstatistik Enstitüsüne 1997 yılında il ve ilçe merkezlerinden bildirilen ölümlerin %12’si kanserler nedeniyle olmuştur. Akciğer kanseri nedeniyle olan ölümlerin %4’ünü ve tüm kanser ölümlerinin %33.2’sini oluşturmaktadır. Erkeklerde tüm kanser ölümlerinin %41.4’ü, kadınlarda ise %16.5’i akciğer kanseri nedeniyle olmuştur (13).

### **Akciğer Kanserlerinde Etiyoloji**

Akciğer kanserlerinin, solunumsal karsinojenlere maruziyet ile bu karsinojenlere bireysel duyarlılık arasındaki etkileşimin sonucu olduğu söylenebilir. 1950’lerin başında sigara kullanımının patogeneze %85-90 oranında sorumlu olduğuna dair yeterli veri mevcuttu ve bu tarihten itibaren akciğer kanseri, etkeni belli olan az sayıdaki kanser türünden biri olarak bilinmektedir (1,2,14).

Sigara: Sigara ve akciğer kanseri arasındaki ilişki, dünya çapında yürütülen çalışmalarla kanıtlanmıştır (15).

Bir toplumda akciğer kanserinin görülme hızı, o toplumun 20 yıl önceki sigara tüketim hızıyla ilişkilidir. Kanser riski, içilen sigara miktarı ve süresiyle beraber artmaktadır. Sigarayı bıraktıktan sonraki süre uzadıkça, kanser riski azalmakta ancak hiçbir zaman sigara kullanmayanların seviyesine ulaşmamaktadır (1,14). Yassı hücreli kanserlerin %90’ı, Küçük Hücreli Akciğer Kanserlerinin (KHAK) önemli bir bölümü sigara ile ilişkilirken adenokarsinomlarda bu oran %40’dır. Sigara içicilerinin hiç sigara içmeyenlere göre akciğer kanserine yakalanma ihtimalleri 10-65 kat daha fazladır (16). Son yıllarda adenokarsinom insidansının artması, filtreli sigaraların artmasıyla ilişkilendirilmiştir (17). Gelişmiş ülkelerde son 20 yıldaki sigara karşıtı kampanyalarla, yıllık sigara tüketimi %25-30 azalırken, ülkemizde erkeklerin %51’i, kadınların ise %49’u düzenli sigara içicisidir. Sigara tüketiminin bu derece yoğun olduğu ülkemizde akciğer kanseri önemli bir halk sağlığı sorunu olmaya devam etmektedir (18).

Tütünün yanması sonucu meydana gelen ve sigara içicisi tarafından inhale edilen dumana “ana akım” denir. Yanma bölgesinden çevreye yayılan dumana ise “yan akım” denir ve çevresel tütün maruziyetine yol açar. Yan akım, ana akımda bulunan tüm karsinojenik maddeleri içerdiğinden evinde sigara içilen ancak kendi kullanmayan bir kişide, diğer sigara kullanmayanlardan %30 daha fazla akciğer kanseri gelişme riski vardır (1,2). Sigara içmeyen kişilerde oluşan akciğer kanserlerinin %17’sinin çocukluk

ve adolesan dönemde pasif olarak sigara dumanına maruziyet ile geliştiği gösterilmiştir (19). Ana akım, “gaz fazı” ve “partikül fazından” oluşur. Sigara dumanının içeriği, kullanılan tütünün türüne, filtreye, filtredeki havalandırma deliklerine ve içiş tarzına göre değişmekle beraber, 40 kadarının karsinojenik olduğu bilinen 3000 kimyasal maddeden oluşmaktadır.

Gaz fazının ana bileşenleri, karbonmonoksit, karbondioksit, nitrikoksit, uçucu nitrozaminler, hidrojenyanür, sülfürdioksit, alkol, asetaldehit, akrolein ve serbest radikallerdir. Renksiz bir gaz olan nitrikoksit kısa ömürlü olup oksidasyonla NO<sub>2</sub>'ye dönüşür. Sulu ortamda NO<sub>2</sub>'nin oluşturduğu nitroz asitler, aminlerle karşılaştıklarında karsinojenik N-nitrozaminleri oluştururlar. Tütün ürünlerinde önemli miktarda bulunan uçucu nitrozaminler de karsinojeniktir.

Partikül fazı, katran, nikotin ve nemden meydana gelmektedir. Katranın bileşiminde yer alan karsinojenik maddeler, *polisiklik aromatik hidrokarbonlar*, uçucu olmayan *nitrozaminler*, *krom*, *nikel*, *arsenik gibi metalik iyonlar* ve *polonyum-210*, *potasyum-40*, *radyum*, *mangan-54* gibi radyoaktif bileşiklerdir (20,21). P53 geni tarafından kodlanan nükleer protein, DNA tamiri, hücre siklusunun kontrolü, hücre diferansiasyonu, genomik stabilite ve apoptoziste önemli rol oynar. Katran fazının bileşimindeki polisiklik aromatik hidrokarbonlardan biri olan *benzo(a)piren*, bronş epitelinde G-T transversiyonlarına yol açarak P53 mutasyonuna neden olur. P53 mutasyonu akciğer karsinogenezinde önemli bir yer tutar (22-23).

Hava Kirliliği: Endüstriyel çevrelerde akciğer kanserinin daha fazla görülmesine neden olan şey dış ortamdaki havanın kirliliğidir. Başta *aromatik hidrokarbonlar* ve *arsenik* olmak üzere, *nikel*, *krom metalleri*, motorlu araçların *egzos* dumanı ve kömür dumanı şehir havasını kirleten karsinojenik etkenlerdir (1,2). Benzin yakıtı yanma ürünlerine maruz kalan çalışanlarda yüksek akciğer kanseri insidansı ve dam onarımı yapanlarda kömür katranı dumanına 20 yıllık maruziyet sonrasında %50 oranında akciğer kanseri gelişme riski olması hava kirliliği ile olası bir ilişkiyi düşündürmektedir (24).

İç ortam hava kirliliği, dış ortamdaki içeri alınan havanın kirliliğine, evde sigara içimine, ısınma ve pişirme için kullanılan yakıt malzemesine, evin havalandırma sistemine bağlıdır. Gelişmiş ülkelerde radon, az gelişmiş ülkelerde asbestos, kömür dumanı ve fosil yakıt ürünleri, akciğer kanseri riskini arttıran iç ortam hava kirliliğinin nedenleridir (1).



Mesleki Maruziyet: *Asbest, radon, bis(chloromethyl)ether, polisiklik aromatik hidrokarbonlar, chromium, nikel, inorganik arsenik bileşikleri* gibi karsinojenlere mesleki maruziyet artmış akciğer kanser riski taşımaktadır.

Doğada bulunan ve mekanik işlemde sonra mineral lif oluşturan *fibröz silikatlara* asbestos denir. Asbest yirminci yüzyılın başından itibaren, ısıya ve kimyasal maddelere dayanıklılığı nedeniyle inşaat, gemi, uçak, otomobil yapımında ve tekstil endüstrisinde yaygın olarak kullanılmıştır. Ülkemizde İç Anadolu ve Diyarbakır'da çevresel asbestos maruziyeti yaşanmaktadır. Halk, ak toprak olarak bilinen asbesti, kireç yerine badanada kullanmaktadır. Akciğer kanseri, asbest liflerinin inhalasyonuna bağlı olarak gelişebilmekte ve risk, kümülatif asbestos maruziyetiyle beraber artmaktadır. Asbestosa bağlı gelişen akciğer kanseri, sigara içimine bağlı gelişen akciğer kanserinden klinik, tip veya yerleşim açısından farklılık göstermemektedir. Sigara içimi ve asbestos, akciğer kanserinin bağımsız nedenleri olmakla beraber, sinerjik etkiyle akciğer kanseri riskini artırırlar (1,25). *Radon gazına* maruziyet, yer altı madenlerinde bulunan düzeylerde ve şartlarda akciğer kanserine neden olabilmektedir ve yine sigara içenlerde dikkate değer bir risk artışına yol açmaktadır (26). *Akrilonitril, berilyum, kadmiyum, formaldehit, aluminyum ve asetaldehit* ise şüpheli karsinojenlerdir (27).

Sosyoekonomik Durum: Akciğer kanseri mortalitesinin düşük ve yüksek sosyoekonomik durum arasında iki kat farka sahip olduğu, ayrıca sigara içme alışkanlıklarının da risk farkını yaratmada önemli olabileceği bildirilmiştir (24).

Diyet: Diyetle alınan yağ ve kolesterol riski artırırken, beta-karotenin riski azalttığı gösterilmiştir (28). Diyet ve akciğer kanseri arasındaki ilişki, diyetteki; karotenoidler, vitamin A, vitamin C, selenyum gibi antioksidanların, sigara dumanı, çevresel kirleticiler tarafından ortaya çıkarılan serbest radikallerin ortadan kaldırılmasında ve böylelikle karsinogenezin önlenmesindeki önemli rollerinin bilinmesi nedeniyle araştırılan bir konu olmuştur (29). Ancak antioksidan olan selenyum, vitamin E ve vitamin C'nin bugün için akciğer kanserindeki koruyucu etkileri tartışmalıdır (30).

Genetik Faktörler: Aynı sigara içme alışkanlıklarına sahip kadınlarda, erkeklere göre 1,4-1,7 kat daha fazla akciğer kanseri görülmesi, bazı ailelerde akciğer kanserinde bir kümeleşmenin olması genetik yatkınlıkların söz konusu olabileceğini akla getirmektedir. Genetik olarak belirlenen karsinojenleri metabolize etmekle görevli enzim sitemindeki değişiklikler de riski artırmaktadır. *Aril hidroksilaz* veya p450 11D6 (antihipertansif bir ilaç olan debrizokin metabolizmasından sorumlu enzim) artmış aktivitesi akciğer kanseri gelişme riskini 8 kat artırır (28). Ras onkogenleri, p53

mutasyonları, 3p, 9p, 17p üzerideki alel kayıpları, onkofetal glikoprotein salınımı, TGF-alfa ve EGFr, bombesin like peptid; akciğer kanseri gelişimindeki ara belirleyicileridir (30). Akciğer kanserli hastaların karsinojenlere yanıtında DNA tamir aktivitesi kontrol hastalarında düşük bulunmuştur. DNA tamiri için gerekli olan *o-metil-guanin-DNA-metil transferaz* aktivitesinin düşük olması akciğer kanserine eğilimi artıran bir diğer faktördür (17,31). İkiz çalışmalarında ve farklı ırklarda, akciğer kanserine genetik yatkınlık saptanmamıştır (11).

Geçirilmiş Akciğer Hastalıkları: Tüberküloz, kronik bronşit veya silikozis gibi akciğer hastalıklarının akciğer kanseri insidansını arttırdığı bildirilmiştir. Fakat bazı çalışmalarda da artırıcı etkisi olmadığı belirtilmiştir (32). Ayrıca KOAH'lı hastalarda sigara içimi nedeniyle kanser oluşmaktadır (33).

### **AKCİĞER KANSERLERİNİN SINIFLANDIRILMASI**

Embriyolojik kökeni birçok farklı koldan oluşan akciğer kanserleri, yine birbirinden son derece farklılık gösteren patolojilere yol açar. Bu grup patolojiler içinde yer alan akciğer kanserleri, geçmişten günümüze önemli bir sağlık problemi olup, Amerika Birleşik Devletleri (A.B.D) göz önüne alındığında hem erkek hem de kadında kanser ölümlerinden ilk sırayı aldığı görülmektedir (34)

Bu organ kanserlerinin çoğunluğunu malign epitelyal tümörler oluşturmaktadır. Dünya Sağlık Örgütü'nün (DSÖ) 2004 yılında yaptığı yeni düzenleme ile günümüzdeki son formunu almıştır (Tablo 1) (35)

**Tablo 1:** Akciğer Tümörlerinin Histopatolojik Sınıflandırması (DSÖ/2004))

<b>Malign epitelyal tümörler</b>	<b>10.Mezenkimal tümörler</b>
1.Yassı hücreli karsinom	i.Epiteloid hemanjioendotelioma
i. Papiller	ii.Anjiosarkom
ii.Şeffaf hücreli	iii.Pleuropulmoner blastom
iii.Küçük Hücreli	iv.Kondroma
iv.Bazaloid	v.Konjenital peribronşial myofibroblastik tümör
2.Küçük hücreli karsinom	vi.Diffüz pulmoner lenfanjiomatozis
i.Kombine küçük hücreli karsinom	vii.İnflamatuvar myofibroblastik tümör
3.Adenokarsinom	viii.Lenfanjioleiomyomatozis
i.Adenokarsinoma mikst tip	ix.Sinovyal sarkom
ii.Asiner adenokarsinom	- Monofazik
iii.Papiller adenokarsinom	- Bifazik
iv.Bronkioloalveolar karsinom	xi.Pulmoner arterial sarkom
- Non musinöz	xii.Pulmoner venöz sarkom
- Musinöz	
- Musinöz ve non musinöz mikst tip	<b>Benign epitelyal tümörler</b>
vi.Musin üreten solid adenokarsinom	1.Papilloma
- Fetal adenokarsinom	i.Yassı epitel hücreli papillom
- Musinöz(kolloidal) adeokarsinom	- Eksofitik
- Musinöz kistadenokarsinom	- İverted
- Taşlı yüzük hücreli adenokarsinom	ii.Glandüler papillom
- Berrak hücreli adenokarsinom	iii.Yassı epitel hücreli ve glandüler mikst tip papillom
4.Büyük hücreli adenokarsinom	2.Adenom
i.Büyük hücreli nöroendokrin adenokarsinom	i.Alveolar adenom
- Kombine büyük hücreli adenokarsinom	ii.Papiller adenom
ii.Bazaloid karsinom	iii.Salivar gland tipi adenom
iii.Lenfoepitelioma benzeri karsinom	- Mukoz gland adenomu
iv.Berrak hücreli karsinom	- Pleomorfik adenom
vi.Rhabdoid fenotipli lbüyük hücreli karsinom	- Diğerleri
5.Adenoskuamoz karsinom	iv.Musinöz kistadenom
6.Sarkomatoid karsinom	<b>Lenfoproliferatif tümörler</b>
i.Pleomorfik tip	i.MALT tipi, B hücreli marjinal zon lenfoma
ii.Spindle hücreli karsinom	ii.Diffüz, büyük; B hücreli lenfoma
iii.Giant hücreli karsinom	iii.Lenfomatoid Granülomatozis
iv.Karsinosarkom	iv.Langerhans hücreli histiositozis
v.Pulmoner blastom	
7.Karsinoid tümör	<b>Yanlış adlandırılan tümörler</b>
i.Atipik karsinoid	i.Hamartom
ii.Tipik karsinoid	ii.Skleroza hemanjiom
8.Salivar gland tümörü	iii.Berrak hücreli tümör
i.Mukoepidermoid karsinom	iv.Germ hücreli tümör
ii.Adenoid kistik karsinom	- Teratom-matür
iii.Epitelyal-myoepitelyal karsinom	- Teratom-İnmatür
9.Preinvaziv lezyonlar	- Diğer germ hücreli tümörler
i.Skuamoz karsinom in-situ	v.İntrapulmoner timoma
ii.Atipik adenomatöz hiperplazi	
iii.Diffüz idiyomatik nöroendokrin hücre hiperplazisi	vi.Melanoma
	<b>Metastatik tümörler</b>

Akciğer ve plevra tümörlerinin 1999 da World Health Organization (WHO) ve International Association for Lung Cancer (IASLC) tarafından yapılan WHO/IASLC sınıflandırmasında preinvazif lezyonlar üç grupta toplanmıştır. Birinci grupta yer alanlar skuamöz displazi ve karsinoma insitu'dur. İkinci grupta atipik adenomatöz hiperplazi yer alır. Bu lezyon adenokarsinomanın, özellikle bronkoalveoler karsinomun öncüsü kabul edilir. Üçüncü grupta nöroendokrin hücre hiperplazisi yer alır. Bu lezyon karsinoid tümörlere öncülük edebilir. Ayrıca fibrotik ve inflematuar alanlarda da görülebilir (36).

Akciğer neoplazmları, tümörün en iyi diferansiye alanına göre derecelendirilir. Primer tümörlerin %95'ini skuamöz hücreli karsinoma, adenokarsinoma, küçük hücreli karsinoma, büyük hücreli karsinoma ve bunların kombinasyonları oluşturur. Bir tümörün kombine tümör olarak tiplendirilebilmesi için minör komponentinin %10'dan az olmaması gerekir (36).

Yassı hücreli karsinom, proksimal segment bronşlarından köken alır. Skuamöz metaplazi ile ilişkilidir. Radyolojik olarak nekroza bağlı merkezi kaviteye görülebilir. Mikroskopik olarak da iyi diferansiye tümörlerde keratin incilerinin bulunması ve intersellüler köprü oluşumu tipiktir. Papiller, şeffaf hücreli, küçük hücreli ve bazaloid olmak üzere dört varyantı vardır. Bir zamanlar Kuzey Amerika'da en sık görülen akciğer kanseri tipi yassı hücreli karsinom iken, günümüzde adenokarsinomda artış gözlenmektedir. Histolojik tipler arasındaki bu değişim, filtreli sigara kullanımının artışı ve bunların birikim alanlarıyla ilişkisine bağlanmıştır (29).

Adenokarsinoma, sıklıkla akciğerin periferinden, alveoler yüzey epiteli ya da bronşial mukoza bezlerinden kaynaklanırlar. Işık mikroskopunda asiner, papiller, bronkoalveoler, musin yapan solid adenokarsinoma olmak üzere dört subtipi ayrılabilir. Kadınlarda erkeklerden daha fazla görülür. Tüm akciğer kanserlerinin %40'ı ile en sık görülen subtipidir. Görülme sıklığındaki artışın bir kısmı, immünohistokimyasal olarak adenokarsinomların daha iyi tanımlanmalarına bağlanmaktadır. Mikroskopik olarak, adenokarsinoma bez yapıları oluşturur ve musin üretir. İnterstisyel akciğer hastalığı ve akciğer enfeksiyonlarına bağlı gelişen fibrozise ikincil gelişebilir. Skar karsinomu adı verilen bu tipin prognozu diğer adenokarsinomlardan kötüdür (29,36,37).

Büyük hücreli karsinom, küçük hücreli dışı akciğer kanserleri içinde en nadir görülenidir. Santral veya periferik yerleşim gösterebilen, büyük nükleuslu, belirgin nükleollü, kötü diferansiye özelliktedir. Büyük hücreli nöroendokrin karsinoma, bazaloid karsinoma, şeffaf hücreli karsinoma ve rabdoid fenotip içeren tipleri vardır. İyi diferansiye olmamış büyük hücreli karsinomanın prognozu, adenokarsinomaya benzer ve çoğu klinik çalışmada iki histolojik tip, immünohistokimyasal boyamalarda bir arada

gruplandırılmaktadır. Günümüzde, bu tümörlerin nöroendokrin özellikleri artan oranda tanımlanmaktadır ve bu tümörler kötü prognoza sahiptir (29,36-37).

Küçük hücreli karsinoma, genellikle peribronşial yerleşimlidir. Santral hava yollarından köken alan bu tümörler, ilk olarak submukoza ve periferik parankimal dokuları infiltre ederler. Sonra lümende ekstrensek olarak ya da endobronşial yayılımla obstrüksiyona neden olurlar. Erken ve yaygın metastaz gösteren agresif bir tümördür. Hücreler genellikle lenfositten 1,5-2,5 kat büyüktürler. İnce granüler nükleer kromatine sahiptirler. Nükleolusları yoktur ya da göze çarpmayacak kadar belirsizdir. Sitoplazmaları dardır. Mitotik oranları yüksektir ve hücre kümeleri içinde tümör hücrelerinin nekrozu sıktır. Kombine küçük hücreli karsinoma varyantı vardır (36,37-38).

Pulmoner nöroendokrin neoplazmlar başlığı altında, küçük hücreli karsinoma, büyük hücreli nöroendokrin karsinoma, tipik karsinoid ve atipik karsinoid yer alır. Atipik karsinoidde, tipikten farklı olarak, artmış mitotik aktivite, normal nükleus/sitoplazma oranı, nekroz ve metastaz görülür. Tipik karsinoidli hastaların prognozunun çok iyi olmasına karşın atipik karsinoid kısa sağ kalım süresi ile karakterizedir (37).

1986'da American Joint Committee on Cancer ve Union Internationale Contre le Cancer tarafından tümör, lenf nodu, metastaz (TNM) evreleme sistemi gözden geçirilerek yayınlanmış, 1997'da bunun bir revizyonu yapılarak kullanıma girmiştir (39,40). Akciğer kanserlerinin stagelenmesinde kullanılan TNM sınıflaması Tablo-2'de, evre grupları da Tablo-3 de verilmiştir (41).

**Tablo 2: TNM Sınıflaması (1996)**

<p><b>PRİMER TÜMÖR (T)</b></p> <p><b>TX:</b> Primer tümörün belirlenememesi veya balgam ya da bronş lavajında tesbit edilip görüntüleme yöntemleri veya bronkoskopi ile tümörün görülememesi</p> <p><b>T0:</b> Primer tümörün belirtisi yok</p> <p><b>Tis:</b> Karsinoma in-situ</p> <p><b>T1:</b> En geniş çapı ≤3cm, akciğer veya visseral plevra ile çevrili, bronkoskopik olarak lob bronşundan daha proksimale ( ana bronşa) invazyon göstermeyen tümör (örneğin: ana bronşta olmayan)*</p> <p><b>T2:</b> Tümörün aşağıdaki özelliklerden en az birine sahip olması:</p> <ul style="list-style-type: none"><li>- En geniş çapı &gt;3cm</li><li>- Ana bronşa invaze ancak, ana karinaya uzaklık ≥ 2cm</li><li>- Visseral plevra invazyonu</li><li>- Hiler bölgeye ulaşan ama tüm akciğeri kapsamayan atelektazi ya da obstrüktif pnömoni</li></ul> <p><b>T3:</b> Tümörün herhangi bir büyüklükte olup, göğüs duvarı (süperior sulkus tümörleri dahil) diafragma, mediastinal plevra, pariyetal plevra, perikard gibi yapılardan herhangi birine doğrudan ivazyon göstermemesi veya karinaya 2cm'den daha yakın, ancak, karinayı tutmayan ana bronştaki tümör veya bütün bir akciğeri kapsayan atelektazi, obstrüktif pnömoni ile birlikte izlenen tümör</p>	<p><b>T4:</b> Tümörün herhangi bir büyüklükte olup, mediasten, kalp, büyük damarlar, trakea, özefagus, vertebral kolumna, karina gibi yapılardan herhangi birini invaze etmesi veya malign plevral ya da perikardiyal sıvı ile birlikte olan tümör** veya tümörle aynı lob içinde satellit lezyon.</p> <p><b>BÖLGESEL LENF BEZİ (N)</b></p> <p><b>NX:</b> Bölgesel lenf bezlerinin değerlendirilememesi</p> <p><b>N0:</b> Bölgesel lenf nodu metastazı yok</p> <p><b>N1:</b> Aynı taraf peribronşial ve/veya aynı taraf hiler lenf bezlerine metastaz ve primer tümörün direkt yayılması ile intrapulmoner lenf bezlerinin tutulması</p> <p><b>N2:</b> Aynı taraf mediastinal ve/ veya subkarinal lenf bezlerine metastaz</p> <p><b>N3:</b> Karşı taraf mediastinal, hiler; aynı taraf veya karşı taraf supraklavikular veya skalen lenf bezi metastazı</p> <p><b>UZAK METASTAZ (M)</b></p> <p><b>MX:</b> Uzak metastaz varlığının değerlendirilememesi</p> <p><b>M0:</b> Uzak metastaz yok</p> <p><b>M1:</b> Uzak metastaz var***</p>
---	--

\* Ana bronşun proksimaline uzanan bronşial duvara sınırlı invazyon gösteren herhangi bir büyüklükteki nadir yüzeysel tümör de T1 grubuna girer.

\*\* Akciğer kanseri ile birlikte olan plevral effüzyonların birçoğu tümöre bağlıdır. Bununla birlikte, bazı hastalarda plevral sıvının, yinelenen sitolojik incelemelerinde tümör saptanamaz. Bu olgularda sıvı kanlı ve eksuda özelliğinde değildir. Klinik ve sıvının özelliği tümör düşündürmüyorsa, sıvı evrelemede dikkate alınmamalı ve hasta T1,T2 veya T3 olarak değerlendirilmeli.

\*\*\* Tümörün olduğu lob dışında aynı taraf akciğer tümör nodülleri M1 olarak sınıflandırılır.

**Tablo 3:** Akciğer Tümörlerinin Evrelemesi (TNM/1996)

<b>EVRE 0</b>	Karsinoma in situ
<b>EVRE 1A</b>	T1N0M0
<b>EVRE 1B</b>	T2N0M0
<b>EVRE IIA</b>	T1N1M0
<b>EVRE IIB</b>	T2N1M0
	T3N0M0
<b>EVRE IIIA</b>	T3N1M0
	T1N2M0
	T2N2M0
	T3N2M0
<b>EVRE IIIB</b>	T4N0M0
	T4N1M0
	T4N2M0
	T1N3M0
	T2N3M0
	T3N3M0
<b>EVRE 4</b>	Herhangi bir T, herhangi bir N. M1

\* Gizli karsinom için evreleme yapılamaz . TXN0M0 olarak tarif edilir.

### **Akciğer Tümörlerinde Karsinogenez**

Akciğer kanseri, diğer epitelyal kanserler gibi, çok basamaklı karsinogenezin sonucudur. Tekrarlayan toksik madde inhalasyonu, bronş mukoza hücrelerinde inflamatuvar yanıtı başlatır. Kolumnar epitelin çok katlı yassı epitel ile yer değiştirmesiyle metaplazi gelişir. Ardından hücresel atipi ve artmış mitotik aktivite ile mukozal displazi gelir. Displazide görülen bu değişiklikler, mukozanın tüm kesitini kaplarsa karsinoma insitu gelişmiştir. Bazal membranın invazyonu ve malign hücrelerin çevre dokuya infiltrasyonu invaziv kanser bulgusudur. Tüm bu karsinogenez süreci 10-20 yıl alır (36).

### **Küçük Hücreli Dışı Akciğer Kanserlerinde Prognostik Faktörler**

Prognostik faktörler, tüm kanserlerde sonucu önceden tahmin etmede ve tedaviyi belirlemede önem taşımaktadır. Küçük hücreli dışı akciğer kanserlerinin %70'den fazlası tanı aldığı anda rezektabl değildir ve bu hastalar için 5 yıllık sağ kalım %5'in altındadır. Rezektabl olan hastaların 5 yıllık sağ kalımları ise %35 oranında sağlanabilmektedir (42). Prognoz daha kapsamlı belirlenmesini sağlayacak ve mevcut evreleme sistemine katkısı olabilecek pek çok parametre bulunmaktadır. Daha agresif tedavi yaklaşımlarından yarar görebilecek, nüks riski yüksek olan evre 1 ve evre 2 hastalarının belirlenmesi, evre 3 hastaların rezektabl olup olmadığının saptanması kadar önemlidir (43). Bu nedenle KHDAK'da prognostik faktörler rezektabl olan ve olmayan evreler olarak ikiye ayrılmaktadır (42).

Geniş retrospektif çalışmalarda uluslararası evreleme sistemi yaşam süresi ile uyum göstermektedir. Evre veya hastalığın yaygınlığı prognozu belirleyen en önemli göstergedir (43). Klinik evre ve sağ kalım arasında belirgin bir ilişki vardır. TNM evrelendirme sisteminin akciğer kanseri ve özellikle KHDAK için en önemli ve tüm çalışmacılar tarafından kabul edilmiş tek prognostik belirleyici olduğu belirtilmektedir (44,45). 40 yaş altı kötü prognostik kriterdir. Cinsiyet de prognostik faktörler arasındadır ve kadınlarda prognoz daha kötüdür. Tümörün lokalizasyonu önemlidir. Süperior pulmoner sulkustaki tümörlerin diğer bölgelerde görülenlere oranla prognozları daha iyidir. Büyük tümörlerin küçük tümörlere oranla prognozları daha kötüdür (45).

Histolojik tip ve ayırılma prognozda önemlidir. Yassı hücreli kanserler en sık kür şansı olan kanserlerdir. Rezeksiyondan sonra 5 yıllık sağ kalım iyi diferansiye tümörlerde %40, orta dereceli diferansiye tümörlerde %20 ve az diferansiye tümörlerde %7 dir. Adenokarsinomlarda bu oran %25 dir ve diferansiyasyon derecesine bağlıdır. Bir alt tip olan bronşioalveolar karsinomda prognoz biraz daha iyidir. Bununla birlikte nonmusinöz olan lokalize bronşioalveolar karsinomda vakaların büyük bir kısmında kür şansı vardır. İndiferansiye büyük hücreli karsinomlarda 5 yıllık sağ kalım %15 dir. Bir dizide indiferansiye büyük hücreli ve dev tümör hücrelerinin bulunmasının prognozu kötü yönde etkilediği saptanmıştır (45). Lenfatik ve kan damar invazyonu kötü prognoz ile ilişkilidir (46).

Tümör periferinde lenfoplazmositer hücre infiltrasyonu pek çok malign tümörde izlenmektedir. Genel olarak tümör çevresindeki stromada yoğun lenfoplazmositik infiltrasyonun iyi prognostik özellik olduğu öne sürülmektedir (47). Bunun dışında son yıllarda angiogenez üzerine yapılan çok sayıda çalışmada akciğer karsinomları ve çeşitli solid organ neoplazmlarında angiogenezin de önemli bir prognostik gösterge



olduğu saptanmıştır. İlerlemiş ovaryum kanserinde, meme kanserinde (48-50), prostat (48,51,52), baş-boyun (48,51), rektum (48), melanom (51,52) ve serviks kanserinde (52) intratümöral mikrodamar yoğunluğunun prognoz üzerine etkisi olduğu saptanmıştır. Akciğer kanserlerinde angiogenезin belirgin bir prognostik parametre olduğu, tümör vaskülarizasyonunun hasta sağ kalımı üzerine etkisi olduğu vurgulanmaktadır (54-56)

### **TÜMÖRAL ANJİOGENEZİS**

Anjiogenezis yeni kapiller damar gelişimi olup, embriyonik gelişme, yara iyileşmesi ve organ hipertrofisi gibi fizyolojik olaylarda görülmektedir. Ancak kontrolsüz anjiogenezis diyabetik retinopati, ateroskleroz, kronik inflamasyon, tümör büyümesi ve metastazı gibi birçok patolojik durumun varlığından sorumlu tutulmaktadır. Anjiogenezis ekstrasellüler matriks, solubl faktör ve hücreler arasındaki etkileşim sonucu; endotelial hücrelerin differansiasyonu, migrasyonu ve proliferasyonu ile seyreden kompleks bir işlemdir (57).

Angiogenesis birçok neoplastik ve non-neoplastik hastalığın ilerlemesinden ve etiyopatogenezinde; özellikle solid tümörlerin büyüme ve metastaz yapmasından sorumlu tutulmaktadır. Tümörde hipervaskülarizasyonun başlangıçtaki bir inflamatuvar olaya veya tümörün nekrotik ürünlerine bağlı olabileceği ileri sürülmüştür (58).

Çoğu insan tümörü başlangıçta aylarca, hatta yıllarca vaskülarizasyonsuzdur. Fakat sonra vaskülarize olur ve hücre alt grupları anjiogenetik fenotipi başlatır. Prevasküler dönemde tümör iyi perfüze olur, nadiren 2-3 mm<sup>3</sup> ten büyük ve milyon veya daha fazla hücre içerir. Prevasküler dönemde veya mikrometastaz döneminde hücreler hızla çoğalır, genişler, vaskülarize olur; yeni damar oluşumu yeterli olmazsa hücreler nekroza uğrar (58).

Anjiogenezisi düzenleyen pozitif ve negatif regülatörlerin varlığıdır. Tümör hücreleri bir veya daha çok pozitif regülatörle uyarıldığında anjiogenik protein ekstrasvasküler matrikse geçer ve anjiogenezisi başlatır. Kanserli hastaların biyopsi örneklerinde anjiogenezisin saptanması metastaz ve rekürrens tahminini sağlar (58). Angiogenезisin gelişimi tıpkı kan pıhtılaşması gibi komplekstir. Yeni kapiller kan damarı üretimi, birbirini takip eden bir dizi basamak halinde gözlenir (59,60)

Endotel hücreleri kan damarlarının kaynağıdır. Önemli bir çoğalabilme ve göç edebilme yetenekleri vardır. Ancak yeni kan damarı gelişimi için sadece endotel proliferasyonu yeterli değildir. Kapiller gelişimdeki morfolojik olaylar şunları içerir: Ana venülden bazal membranın endotel hücreleri tarafından indüklenen degradasyonu, diğer

endotel hücreleri ile uyumlu olarak yönlenmiş bir hareket, endotelyal mitoz, lümen formasyonu, tomurcuklanma ve looplara gelişimi, yeni bazal membran üretimi ve perisitlerin toplanması (61). Bu sıra, iyileşen bir yara ya da gelişmekte olan bir embriyodaki fizyolojik anjiogenezin morfolojik basamaklarına benzerlik gösterir. Ancak tümörlerin çoğunda, yeni kapiller yatakta zorunlu bir modifikasyon oluşmasına bağlı olarak anjiogenezis nonneoplastik hücrelerin indüklediğinden farklılaşır. Örneğin normal bir beyinde bir kapiller kan damarı genellikle her bir lümen başına 1-2 endotel hücresi içerir. Oysa beyin tümörlerinde 5-10 endotel hücresi bir lümeni işgal edebilir (62). Hatta endotelyal tabaka içerisinde tümör hücreleri içerebilirler (63). Tümör mikro damarlanması normal dokulardaki damarlanmaya uymaz (yani arter-arteriol-kapiller-postkapiller venül-venül-ven dizilimi yoktur). Tümörler dev kapillerler, araya giren kapillerler olmaksızın arterio-venöz shuntlar içerebilirler. Hatta kan bir venülden diğerine akabilir. Ayrıca damarların organizasyonu tümörün herhangi bir lokalizasyonundan bir diğerine farklılık gösterebilir (63). Kapiller büyüme oranları (yani neovaskülarizasyonun hızı), deneysel sistem ve tümör tipine bağımlı olarak, günde 0.23 ten 0.8 mm ye kadar eğişkenlik gösterebilir (64-66).

Anjiogenezis kavramının tarihçesine baktığımızda yaklaşık 100 yıl önce tümör içerisinde yeni damar gelişimlerinden bahsedildiğini görmekteyiz. Ancak bu dönemde tümör hiperemisi olarak adlandırılan bu durumun, tümör metabolitlerine bağlı basit bir dilatasyon olduğu düşünülmüştür (67). Daha sonraki bir-iki dekatta, tümörün mevcut damarlarla mı beslendiği yoksa neovaskülarizasyonun mu olduğu tartışılmış, neovaskülarizasyonu kabul edenler bile bunun tümör gelişimi için gerekli olmadığını, basit bir reaksiyon olduğunu düşünmüşlerdir. 1939 yılında, yaralanma sonucunda oluşan neovaskülarizasyonun durduğu ve gerilediği ancak tümör implantında damar gelişiminin giderek arttığı fark edilmiştir (68). 1945 yılında yapılan bir çalışmada ise, tümör implantındaki yeni damarların konakçı damarlarından köken aldığı belirtilmiştir (69). Anjiogenezis konusundaki asıl gelişimin 1971'de Folkman ile başladığını görüyoruz (70). Folkman "tümör gelişimi anjiogenezise bağımlıdır" teorisi ile bazı teorileri ortaya atmıştır:

1- Primer solid tümörlerin büyük bir çoğunluğunda muhtemelen uzamış bir avasküler evre vardır ve bu dönemde tümörler maksimum 1-2 mm çapa ulaşabilirler. Bu büyüklüğe kadar, tümör hücreleri gerekli oksijen ve besin ihtiyacını pasif difüzyon ile karşılar.

2- Bu mikroskobik tümör kitlesi matür konakçı tümör damarlarından kendisine doğru yeni kapiller damarların tomurcuklanması ve sonuçta tümöral kitleyi infiltre

etmesine yol açan anjiogenezisi başlatabilir. Böylece tümöral kitlenin sürekli olarak genişlemesi ve hematojen metastaz oluşturma ortamı oluşur.

3- Anjiogenezisin tümör hücrelerinde "Tümör Anjiogenezis faktör (TAF)" adı verilen bir büyüme faktörünün ektopik olarak yapımına bağlı olduğu ortaya atılmıştır.

4- TAF yapımını ya da onun biyolojik fonksiyonunu önleyerek ya da yeni oluşan immatür kan damarlarındaki endotel hücrelerini hedef alarak tümör anjiogenezisi ve tümör büyümesini bloke etmek mümkün olabilir.

5- Bu tip tedavi yaklaşımları başarılı olursa, tümör hücrelerini eradike etmeyebilir; fakat tümör hücrelerinin daha da çoğalmasını engelleyebilir ya da belki de tümörün kan desteği olmaksızın yaşamını sürdürebileceği 1-2 mm lik boyutlara regresyonunu sağlayabilir.

Bundan sonraki yıllarda, tümör damarları yeni çoğalan kapillerler midir, anjiogenez prosesindeki adımlar nelerdir, anjiogenezis nasıl kantifiye edilebilir, in vivo olarak tümör hücrelerinden salınan anjiogenik faktörler endotel gelişimini nasıl stimüle eder gibi sorulara cevap aranmıştır. 1980 ortalarına gelindiğinde tümör gelişiminin anjiogenezise bağımlı olduğuna dair pek çok delil toplanmış, tümördeki yeni kapiller artışının tümör hücre popülasyonundaki her bir ilave artışa öncülük ettiği ve anjiogenezis inhibe edilirse tümörün durağan olarak kalacağı görüşleri kabul görmüştür (71,72). Ayrıca tümör hücrelerinde, endotel hücreleri, mast hücreleri ve makrofajlar tarafından üretilen, anjiogenezi durduran (anjiostatik) ve stimüle eden (anjiogenik) bazı maddeler identifiye edilmiştir (73-78). Metastazlarda olduğu gibi anjiogeneziste de matriks metalloproteinazlarına ihtiyaç vardır. Tümör hücrelerinden salınan bazik fibroblastik growth faktör (bFGF), vasküler endotelyal growth faktör (VEGF) gibi anjiogenik maddelerin endotel hücrelerinden ekstrasellüler matriksi eritebilme yeteneği olan proteaz, plazminojen aktivatörleri ve kollejenazların yapımını artırdığı gösterilmiştir (79-81). VEGF, asidik ve bazik FGF, en önemli anjiogenik maddelerdir (82,83). Diğer muhtemel faktörler ise platelet türevli growth faktör, transforming growth faktör alfa ve beta, anjiotropin, anjiogenin ve tümör nekrozis faktör alfa'dır. buna karşılık interferonlar, platelet faktör 4 gibi nonspesifik, anjiostatin ve endostatin gibi spesifik anjiogenez inhibitörleri bulunmaktadır (82-88). İnsan tümörlerinin çoğu, saptandığında neovaskülarizedir. Ancak deneysel ve klinik veriler bu tümörlerin aylarca ve yıllarca anjiogenik olmadan kaldığını göstermektedir (89). Tümörler, kapillerleri geçebilecek mi, kan akımı ile bağlantı sağlayabilecek mi sorusunda en belirleyici faktör kritik lokal dengenin anjiogenik faktörler lehinde bozulmuş olmasıdır (90). Vaskülarizasyonla

birlikte replike olan hücrelerin total popülasyonu önemli ölçüde artar (91). Hızlı bir büyüme, invazyon ve çevre dokulara bası oluşur.

İnvazyon oluşması için neovaskülarizasyon şart değildir. Örneğin meme karsinomunda neovaskülarizasyondan önce mikroinvazyonlar saptanmıştır (92). Anjiogenez ise invazyonu kolaylaştırır ve tümörlerin genişlemesine izin verir (93). Endotel hücrelerinden salınan proteolitik maddeler, tümörün invazivliğine katkıda bulunabilir.

Tümörler 1-2 mm den daha fazla büyüyecekleri zaman kapillerlerle bağlantı kurmak zorundadır. Neovaskülarizasyonla birlikte, beslenme ve artıkların değişimi problemi geçici olarak çözülmüştür. Hem tümör hücreleri hem endotel hücreleri için gerekli olan büyüme faktörleri sağlanır (64, 94). Tümör hücreleri vaskülarize olduklarında sadece kanlanmakla kalmaz, aynı zamanda endotel hücrelerinden parakrin stimuluslar da alır (93,95). Kan akımı yokluğunda tümör hücreleri tercihen endoteller boyunca büyür (93). Parakrin stimuluslar iki yönlü işler. Tümör hücreleri ve endotel hücreleri birbirlerinin proliferasyonunu stimüle ederler (75).

Vaskülarize bir tümörde tüm tümör hücreleri anjiogenik değildir. Çok iyi vaskülarize tümörlerde bile mikrodamar dansitesinin düşük olduğu alanlar ve yüksek olduğu alanlar gözlenir ve anjiogenik aktivite heterojendir. Tümör popülasyonu genişledikçe de anjiogenik özellik kazanmış tümör hücre varyantlarının oluşma ihtimali artar (92). Metastazların klonal orijini nedeniyle yüksek oranda anjiogenik hücreler içeren tümörler daha büyük ihtimale yaygın metastaz yapar. Çünkü hedef dokulara ulaştığında zaten anjiogenik özellik taşırlar (96). Bir tümör hücresi başarıyla metastaz yapabilmek için, damar sistemine girmek, dolaşımda canlı kalabilmek, hedef organın mikrodamarlarında duraklayabilmek, damar sisteminden dışarı çıkabilmek, hedef organda büyüebilmek ve anjiogenezi indükleyebilmek gibi çeşitli bariyerleri aşabilmelidir (92,96,97). Deneysel çalışmalarda, neovaskülarizasyondan önce, tümör hücrelerinin nadiren dolaşıma girdikleri gösterilmiştir (98). Yüksek mikrodamar dansitesi ise yüzey alanını artırarak hücrelerin dolaşıma girmesini kolaylaştırır ve hücreler sürekli olarak dolaşımda bulunurlar. Tümör hücresi anjiogenik iken metastaz yaparsa, saptanabilir tümör oluşturma ihtimali daha fazladır. Metastatik kaskadın başında olduğu kadar sonunda da anjiogeneze ihtiyaç vardır. Tümör hücresi başarıyla metastaz yapmış olsa bile hedef organda hemen vaskülarize olmayabilir ve mikroskobik düzeyde kalabilir (91).

Klinik veriler metastatik potansiyelin ve prognozun anjiogenezis şiddetine bağlı olduğunu desteklemektedir (92). Bu nedenle anjiogenezin şiddeti belirlenmeye

çalışılmaktadır. Bu konuda kullanılan yöntemler, mikrodamar dansitesinin saptanması, anjiogenik faktörlerin kan ve idrarda ölçülmesi, anjiogenik proteinlerin doku düzeylerinin saptanmasıdır. Weidner'in yöntemi ile invaziv meme kansinomlarında histolojik kesitlerde belirlenen mikrodamar dansitesi değerlerinin, çap, grade vb. diğer prognostik faktörlerden daha fazla oranda metastaz riskini belirleme fırsatı verdiği gözlenmiş ve bu bulgu değişik çalışmalarla diğer birçok tümörde de konfirme edilmiştir (92, 99-101). Kan ve idrarda anjiogenik proteinlerin saptanması hastalık ilerlemesini belirlemede ve tedavide yol gösterici olabilir. Renal hücreli kansinomlarda serumda bFGF değerleri yüksek bulunmuş, bunun dokudaki damar dansitesi ile korelasyon gösterdiği saptanmıştır. Yine renal hücreli kansinomlarda bFGF nin doku düzeyi ile ölüm riski arasında korelasyon mevcuttur (102). Ayrıca mesane kansinomunda da VEGF değerleri yüksek olanlarda, daha fazla metastaz yapma özelliği saptanmıştır (103). Ancak her zaman tek bir protein ile ilişki saptanmayabilir. Çünkü daha önce de belirtildiği gibi anjiogeneziste önemli olan anjiogenik ve anjiostatik maddeler arasındaki net balanstır.

Hipoksi, VEGF gibi, anjiogenik maddelerin salınımını artıran bir faktördür ve hipoksi azalırsa anjiogenik stimuluslar da azalır (104). Yani bir kez anjiogenez başladığında tümör kitlesi artmakta, bu hipoksiye yol açmakta, bu da anjiogenezisi daha da artırmaktadır. Antianjiogenik tedavi ve radyoteapi ile interstisyel basınç ve iskemi ve dolayısıyla tümör hipoksisi azalır. Tümör tedavisinde antianjiogenik ve diğer klasik ajanların birlikte kullanılması daha da etkili olabilir. Örneğin kemoterapi ile tümör kitlesi küçültülüp antianjiogeniklerle tümörün durağan olarak kalması sağlanabilir. Literatürde bu tip çalışmalar mevcuttur (105,106).

Tümör içi mikrodamar dansitesi ölçümü anjiogenezini değerlendiren bir parametre olarak kullanılmaya başlanmıştır (107,108). Mikrodamar dansitesi (MVD) ile tümör boyutu, nodal tutulum ve kötü prognoz korelasyon gösterir (127). MVD arttıkça tümörün metastaz yapma potansiyelinin arttığı, klinik seyrin kötüleştiği ve prognozun daha kötü olduğu çeşitli çalışmalar ile gösterilmiştir (108, 109). VEGF, endotelial hücre büyümesinde rol oynayan anjiogenik bir faktördür. Damar permeabilitesini artırır. Endotele spesifik mitojenik faktör olarak etki gösterir. Çeşitli genlere ve proteinelere bağlı olarak ekspresyonu değişim gösterir (110, 111). Mutant p53 proteini ve mutan tras ekspresyonu VEGF ekspresyonunu artırır (109,110,112). VEGF blokajı ile tümör büyümesinin ve metastaz yapma potansiyelinin baskılandığı gösterilmiştir. Bazı çalışmalarda MVD ve evre ile ilişkili bulunurken bazılarında ise sağ kalım ve histolojik diferansiasyon ile ilişkili olmadığı belirtilmektedir (110).

### **Büyüme Faktörleri ve Reseptörleri**

Kanser hücreleri çeşitli hormonlar üretir. Bunları sekrete eder ve hücre yüzeyindeki reseptörlerle etkileşimi sonucunda kendi büyümesini otokrin yollarla stimüle eder (113). Neoplastik hücrelerin birçok büyüme faktörünün salınımı ile çoğalma avantajı sağladıkları bilinmektedir. Büyüme faktörleri ve reseptörleri otokrin, parakrin ve justakrin yolla tümör proliferasyonunu stimüle eder (114). Pek çok büyüme faktörü ve reseptörü akciğerdeki kanser hücreleri ve normal hücreler tarafından eksprese edilmektedir (115). Bu büyüme faktörleri otokrin, parakrin ve justakrin yollarla kanser büyümesinde rol oynar (115-117). Eğer bir tümör hücresi hem bir büyüme faktörü hem de reseptörünü taşıyorsa kendisini uyaran büyüme halkasına sahip demektir. Buna "otokrin büyüme halkası" denir (118).

Otokrin hücreler normal hücrelerde de bulunur ancak sadece fizyolojik uyarılara yanıt verirler. Dengeli büyüme için karşılıklı düzenleyici sistemler birarada bulunur. Kanser hücrelerinde ise bu denge bozulmuştur (118).

Ancak tek bir büyüme faktörü kanser gelişimini regüle edemez. Pek çok büyüme faktörü ve reseptörleri multiotokrin loop oluşturarak etki gösterir. Bunlar Epidermal growth faktör (EGF), transforming growth faktör-alfa (TGF- $\alpha$ ), Transforming growth faktör-beta (TGF- $\beta$ ), Platelet derived growth faktör (PDGF), İnsuline like growth faktör I ve II (IGF I ve II), bFGF, Gastrin Relasing Peptid (GRP), Bombesin like peptidler(BLP), Hepatosit Growth faktör (HGF) ve Vascular endothelial growth faktör (VEGF) ve reseptörleridir.

Metastaz ve invazyonunda bu büyüme faktörleri ve reseptörlerinin etkileşimi sonucunda ortaya çıktığı kabul edilmektedir (115-117).

Transforming Growth Faktör-Beta (TGF- $\beta$ ): Hücre fonksiyonlarının düzenlenmesinde rol oynayan bir polipeptid olup normal epitelyal hücrelerin büyümesini inhibe eder (117,119). TGF- $\beta$  multifonksiyonel bir sitokindir ve insanlarda üç izoformda (B1-B2-B3) bulunur. TGF- $\beta$  peptidleri, hücre büyümesi, diferansiasyonu, adezyon, migrasyon, anjiogenez, ekstrasellüler matriks formasyonu ve immün fonksiyonları etkileyen multifonksiyonel peptidlerdir (120). TGF- $\beta$ , in vitro olarak kanser hücre proliferasyonunu süprese eder (113,114). Ancak in vivo olarak inhibitör etkinin baskılandığı ve kanser büyümesinin arttığı gösterilmiştir (114). Ancak neoplastik hücreler inhibitör aktivitelerine karşı direnç geliştirirler. Neoplastik hücrelerde TGF- $\beta$ 1 ekspresyonu gösterilmiştir.

TGF- $\beta$ 1 anjiogenezde, stromal formasyonda ve immün fonksiyonlarda rolü olup tümör progresyonuna etkisi olduğu gösterilmiştir. Anjiogenez stimülasyonu ve immün

fonksiyonların potent bir süpressörü olarak karsinogenezi artırır. Tümöral kan akımını artırır ve antitümöral immunolojik mekanizmaları inhibe eder. Ayrıca adezyon molekül ekspresyonu ve ekstrasellüler matriks komponentini artırarak metastatik potansiyeli artırır (113).

İnsan hücrelerinde TGF- $\beta$ 1 predominant formdur (115). TGF- $\beta$  1-3 ekspresyonu olan hastalarda sağ kalımın daha kötü olduğu gösterilmiştir (121). Özellikle adenokanserli olgularda TGF- $\beta$ 1 ekspresyonunun azalmış sağkalım ve kötü prognoz ile ilişkili olduğu pek çok çalışmada gösterilmiştir (118).

Akciğer, meme, kolon, tiroid, beyin, prostat, pankreas ve over kanserlerinde TGF- $\beta$  aşırı ekspresyonu gösterilmiştir (117). Colosante ve arkadaşları TGF- $\beta$ 1'in T lenfosit proliferasyonunu inhibe ettiğini, Natural killer (NK) ve makrofaj deaktivasyonuna neden olduğunu ileri sürmüşlerdir. Çalışmalarında TGF- $\beta$ 1'in 1.7 kat daha fazla olduğunu göstermişlerdir(122).

Vasküler Endotelial Growth Faktör (VEGF): Büyüme faktörleri kanserdeki anjiogenezde en önemli rolü oynarlar. Büyüme faktörleri aktif endotelyumdan salınırlar. Bu durum endotelyumun, otokrin ve neoplastik hücrelerin parakrin etkisiyle olur. Tümör tarafından sekrete edilmiş büyüme faktörleri, stromal hücrelerdeki çözünür büyüme faktör reseptörleri ile birleşir ve proteolitik enzimler salarlar. Böylece tümör bu alanı istila eder (123). Büyüme faktörleri ayrıca plazmin aktvatörlerinin ve matriks metalloproteinazların üretimini artırır (124).

Anjiogenezle ilgili bir çok faktör olmasına rağmen vasküler endotelial growth faktör (VEGF) tümör neovaskülarizasyonu ile ilişkili en güçlü endotelial hücreye spesifik mitojendir. 1983 yılında orijinal olarak malign asit sıvıda vasküler permeabilite faktörü olarak tesbit edilmiştir (125). VEGF heparine bağlanan dimerik glikoproteindir. Bugün için iki tane vasküler endotelial growth faktör reseptörü tam olarak tanımlanmıştır. Bunlar; kinase insert domain içeren reseptör (KDR)/Flk-1 ve fms-like tyrosine kinase-1 (flt-1) reseptörleridir (125-127). İnsan hücreleri 6 p 21.3 kromozon üzerindeki bir gen tarafından kodlanan 121, 165, 189 ve 206 amino asitten oluşan 4 farklı moleküler tipte vasküler endotelial growth faktör (VEGF) üretir (128). VEGF-121 ve VEGF-165 en sık görülen formlarıdır. Endotelial hücrelerden etkin olarak sekrete edilir ve mitozu başlatırlar. VEGF-189 ve VEGF-206 daha çok hücre ile ilişkilidirler ve vasküler permeabilite yetenekleri vardır. VEGF-121 izoformunun akciğer kanseri prognozunda önemli role sahip olduğu bildirilmiştir (125).

Vasküler endotelial growth faktör sekresyonu sadece otokrin değildir, parakrin özelliği de vardır. Tümörün çapı arttıkça iskemik değişiklik sonucu hipoksi olur ve salınımı artar (125).

Akciğer alveolü, adrenal korteks, renal glomerül ve kardiyak miyositler VEGF ekspresyonu yönünden zengindir. VEGF salınımının hipoksik tümöral alanlarda ve nekrotik alanların yakınında en fazla olduğu bulunmuştur. Bu nedenle incelenen tümöral bölgenin değişkenliği sonuçları etkileyecektir. Tümörün değişik bölgelerinde değişik anjiogenik aktivite vardır (125).

VEGF, tümör hücreleri tarafından vücut sıvılarına sekrete edilen çözünebilir bir peptiddir. Malign efüzyonlarda ve asidik efüzyonlarda yüksek oranda tesbit edilir. Malign efüzyon oluşum mekanizmalarına yardım eder (129). Normal sağlıklı kişilerin serumunda az miktarda da olsa VEGF'ün saptanması, VEGF'ün dolaşıma tümör dışı kaynaklardan geçişi olduğunu düşündürmüştür. Lenfositlerden, makrofajlardan, nötrofillerden, trombositlerden ve megakaryositlerden VEGF'ün sekrete edildiği saptanmıştır. Serum trombosit sayısı ile serum VEGF sayısının korele olduğu gösterilmiştir (130).

Kanser hastalarında VEGF'ün ana kaynağı tümör hücreleridir. Serum VEGF düzeyi ile VEGF salınımı arasında ilişki bir çok çalışmada gösterilmiştir. Cerrahi sonrası VEGF düzeyinin azaldığı gözlenmiştir (131-133).

Kolorektal kanserli hastalarda serum VEGF düzeyinin tümörü direne eden damarda, periferik damardakine oranla çok daha yüksek olduğu bulunmuştur (134).

Malign asit ve plevral efüzyonlarda çok yüksek VEGF düzeyleri, çok miktarda VEGF salgılayan tümör olduğunun göstergesidir (129).

Serumda koagülasyon sırasında çok düşük miktarlarda trombositlerden VEGF salınmaktadır (135,136).

Tümörlerde hipoksi sık görülür. Hipoksi; hipoksi ile indüklenen faktör bir alfa (HIF-1alfa) ve stabilizan VEGF mRNA'yı indükleyerek VEGF salınımını artırır.

TGF- $\beta$ , bFGF, EGF, PDGF, NO gibi faktörlerin hepsi VEGF salınımını artırır. İnterleukin-1beta (IL-1B) VEGF salınımını artırırken IL-12 VEGF salınımını azaltır.

VEGF; vasküler permeabilityyi artırır. Bunun sonucunda; tümör hücreleri dolaşıma dağılır, plazma proteinleri ve fibrin depozitleri hücre dışı matrikse sızar. VEGF, doku faktörü (TF) yapımını artırır. Doku faktörü de, protrombinden trombin oluşumuna neden olur. Bu döngü matriks metalloproteinaz-2 yi (MMP-2) aktive eder ve endotelial hücre proliferasyonuna neden olur.

VEGF ayrıca;



-Ürokinaz plazminojen aktivator (uPA)

-Doku plazminojen aktivator (TPA)

-Plazminojen aktivator inhibitör 1(PAI-1)

-İnterstisyel kollegenaz gibi proteazları artırarak hücre dışı matriksi yıkarlar.

Endotelial hücrelerin proliferasyonu, migrasyonu bununla birlikte anjiogenez VEGF tarafından stimüle edilir. VEGF apoptoziste de rol oynar. Apoptozisi inhibe eden bcl-2 nin endotel hücrelerinden salınımını artırır. Tümör hücrelerinin VEGF yapım kabiliyeti apoptozise direnç göstermesine neden olur ve hücrenin ölüm-yaşam dengesi; hücre yaşam lehine dönerek tümörün büyümesine neden olur (124).

VEGF ve VEGF reseptör antikoları akciğer kanseri tedavisi için potansiyel moleküler hedef olabilir (Kullanılan in vivo model sistemlerde değişik anti-VEGF ajanlarla; VEGF fonksiyonunun inhibisyonu başarılı şekilde tümör büyümesini, diseminasyonunu ve uzak metastazını kontrol ederler.) (124,131). 1993 yılında VEGF ekspresyonuna sahip tümör hücrelerine karşı monoklonal antikoların etkisi gösterilmiştir. VEGF-121'e karşı olan antikolar tek başına tümör büyümesini ve metastazı inhibe eder. Bir çalışmada; insan sarkomlarının spontan akciğer metastazlarını nötralizan antikor VEGF-121'in inhibe ettiği gösterilmiştir (131).

VEGF reseptörlerinin hedeflenmesi ile tümör anjiogenezini ve tümör gelişimini inhibe edeceği bulunmuştur. Bir klinik çalışmada kolon kanserinde VEGFr-2'nin bloke edilmesi anjiogenezin inhibisyonuna neden olmuş, tümör hücrelerinin invazyonunu önlemiştir. Bu sonuçlar VEGF ve tümör invazyonu arasında yakın ilişki olduğunu ve anti-VEGF tedavisinin tümör anjiogenezini üzerine anti-anjiogenik etkileriyle kanser invazyonu ve metastazına karşı direkt terapötik etkisi olabileceğini düşündürmektedir (131).

Siklooksijenaz-2 (COX-2): Prostaglandinler inflamasyon, kardiyovasküler hastalık, yara iyileşmesi, böbrek fonksiyonu, kan pıhtılaşmasının da dahil olduğu çeşitli fizyolojik ve patofizyolojik olaylarda kritik bir rol oynarlar (137). Siklooksijenazlar Araşidonik asidin prostaglandinlere dönüşümünde yer alan hız kısıtlayıcı enzimlerdir. Siklooksijenaz'ın (COX) COX-1 ve COX-2 diye iki izoformu vardır (138). COX-1 sellüler hemostazide yer alır ve çoğu dokuda yapısal olarak sentezlenir. Bunun aksine COX-2 izoformu çoğu dokuda düşük ya da tespit edilemeyecek kadar az oranda sentezlenir ve tümör öncülleri, sitokin ya da mitojenler tarafından indüklenir (139).

COX-2'nin karsinogenezis aşamalarında yer aldığını destekleyen birçok delil mevcuttur. Son çalışmalar artmış COX-2 ekspresyonunun kötü prognostik sonuçla birlikte olduğu kolon, özefagus ve gastrik kanserler olmak üzere insan kanserlerinde

sıklıkla bulunduğunu göstermektedir (140-142). Primer akciğer kanser vakalarında COX-2 ekspresyonundaki önemli bir artış, adenokarsinom prekürsör lezyonları ve küçük hücreli karsinomlarda ihmal edilecek kadar az, adenokarsinomlarda ise %70 oranında görülmüştür (143-145). Daha önce yapılmış çeşitli epidemiyolojik çalışmalar nonspesifik anti inflamatuvar ilaçlar (NSAİİ) ve spesifik COX-2 inhibitörü olan Celecoxib'in hem invitro, hem de invivo insan kanserlerinden köken almış hücrelerden oluşan kültürlerin büyümesini inhibe ettiğini ortaya çıkarmıştır (146). Böylece bu yol akciğer kanserlerinin önlenmesinde iyi bir hedef olabilir. COX-2 solid tümör büyümesine bağlı damarlanmayı desteklemekte ve yeniden damarlanmaya katkıda bulunmaktadır (142, 147). Anjiogenezis solid tümörlerin metastatik kabiliyeti ve büyümeleri için olmazsa olmaz bir oluşumdur (148). Kanserindüklediği anjiogenesis anjiogenik faktörlerin artmış ekspresyonu, azalmış antianjiogenik faktör ekspresyonu, ya da bu iki olayın kombinasyonu sonucudur (149). Birçok insan malignitelerinde COX-2'nin aşırı ekspresyonu gösterilmiştir. COX-2 aynı zamanda metalloproteinazlar ve VEGF'yi indükleyen prostaglandin E2 gibi anjiogenik prostaglandinlerin sentezlenmesi yoluyla tümör indüklü anjiogenezisde önemli bir yol oynamaktadır (150,151).

### **İmmünohistokimyasal Boyaları Değerlendirme Metodu: Stereoloji**

Stereoloji genelde iki boyutlu yapıların değerlendirilip üç boyutu hakkında sayısal değerler elde etmektir. Stereolojik yöntemin amacı etkinlik, az maliyet ve tama yakın sayısal veriler elde etmektir (152).

İmmünohistokimyasal değerlendirmede ya çok yoğun boyanan alanlar değerlendirmeye alınmakta ya da rastgele alanlar seçilip sayım yapılmaktadır. Stereolojik yöntemde ise sistematik rastgele örnekleme kullanıldığından dolayı eldeki mevcut örneklerde tama yakın, hata katsayısı düşük sonuçlar elde edilebilmektedir (152)

Yapılacak sayım işlemlerinde, stereolojik analiz metodu olarak, doğrudan toplam sayı hesaplamasına yönelik parçalama (fractioner) yöntemini uyguladık. Bu yöntem yine disektör kurallarına göre yapılan sayımlardan, doğrudan toplam sayıya ulaşmayı sağlayan bir örnekleme ve sayım yöntemi bileşkesidir. Bu yöntem stereolojik metodlar arasında en pratik ve en basit olan yöntemdir. Parçalama; dokuya uygulanan histolojik işlemlerden, dokuların şişme, büzüşme gibi yapısal değişimlerinden bağımsızdır (153)

Yani bizim kullandığımız parçalama yöntemi; temel olarak bir yapıyı küçük bölmelere ayırarak, bu kısımlarda, tanecik sayımı yapmaya dayanır.

## GEREÇ VE YÖNTEM

### Olgular:

Bu çalışma, 1995- 2006 yılları arasında, Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'nda; küçük hücreli dışı karsinom tanısı almış, akciğere ait, 41 olgu üzerinde yapıldı. Çalışmaya dahil edilen olguların; 30 tanesi rezeksiyon materyalinden, 11 tanesi de biyopsi materyalinden oluşmaktaydı.

Olguların klinik verileri (yaş, cinsiyet, rezeksiyon materyallerinde metastatik ve reaktif lenf nodlarının sayısı, makroskopik tümöral çap, cerrahi sınır) patoloji arşiv raporlarından elde edildi. Daha sonra parafin bloklar ve camlar çıkarıldı. H&E boyalı preparatlarda histopatolojik olarak tümör tipi, diferansiasyonu tekrar değerlendirildi (Olympus BX50). Daha sonra parafin bloklardan adezivli camlar üzerine immünohistokimyasal boya yapmak üzere 3'er adet kesitler alındı. Bu kesitlere VEGF, COX-2 ve TGF- $\beta$  boyama işlemine geçildi.

COX-2 (Novacastra, 4H12 klonu,1:50 oranında dilüe), VEGF (Zymed, Z-CVF3 klonu, 1:100 oranında dilüe) ve TGF- $\beta$  (Novacastra, B17 klonu, 1:25 oranında dilüe), boyanma işlemleri Dako Cytomation Autostainer Plus ile Strepto Avidin Biotin Complex (ABC) metodu kullanılarak otomatik olarak yapıldı.

Kullandığımız standart ABC tekniğinde; ilk önce dokulardan 5 mikron kalınlığında kesitler alındı. 48 C etüvde 1 gece bekletildi. 15 dakika ksilolde tutulduktan sonra 15 dakika da absolute alkolde (etil alkol) tutuldu. Distile suda yıkandı, PH=6 citrat buffer de 3-5 dakika mikrodalga fırında target retrieval işlemi yapıldı. 20 dakika oda ısısında bekletildi. Daha sonra Dako Cytomation Autostainer Plus cihazında aşağıda belirtilen şekilde boyandı: 15 dakika %3 lük hidrojen peroksidad da tutulduktan sonra Fosfat Bupfer Solution (PBS) de yıkandı. Sonra her bir boya için primer antibody: COX-2, VEGF ve TGF- $\beta$  damlatılarak 30 dakika inkübasyon yapıldı. PBS de yıkandı, sekonder antikor damlatılarak 15 dakika bekletildi., PBS de yıkandı, strepto avidin damlatılarak 15 dakika bekletildi, PBS de yıkandı, Dapchromogen damlatılarak 5-6 dakika bekletildi. Musluk suyunda yıkanarak hematoksilende zıt boyama yapıldı. Su bazlı kapatma solüsyonu ile kapatıldı.

Boyanan preparatlar stereolojik olarak ışık mikroskobu üzerine monte edilmiş videokamera yardımıyla, bilgisayar üzerine aktarılan görüntülerin, Micro Bright Field (MBF) bilgisayar programı kullanılarak değerlendirildi (LeicaDA 4000B). Çalışmamızda immünohistokimyasal skorlama değerlendirmesi normalde rastgele alanda, bazen de boyanmanın en yoğun olduğu alanda yapılmaktadır. Bunun objektif bir değerlendirme

olmamasından dolayı her yere eşit bir şans tanıyabilmek için MBE sistemini kullandık. Tümörlü dokuda COX-2, VEGF, TGF- $\beta$  ile immünoreaktivite gösteren tümörlü hücrelerin sayısını hesaplamak için disektör metodunun bir uyarlaması olan parçalama (fractioner) yöntemi kullanıldı. Bu yöntemde dokunun belli bir parçasında bulunan taneciklerin sayılması söz konusudur. Böylece boyanma şiddetine göre +, ++, +++ üzerinden derecelendirilerek immünoreaktivite gösteren tümörlü hücreler fractioner yöntemiyle sayıldı. Toplam tümörlü hücre sayısı, çalışılan bölgeden elde edilen verilerin, toplam yapıya oranlanmasıyla elde edildi. Burada temel mantık olarak içerisindeki COX-2, VEGF, TGF- $\beta$  ile immünoreaktivite gösteren tümörlü hücrelerin toplam sayısını bulmak istediğimiz tümöral alanı çizip, oranları bilinen bir biçimde parçalara ayırıp; bu parçaların, bilgisayar ortamında sistematik ve rastgele olarak seçilenlerinin, yine belirli kısımlarında tanecik sayımı yaptık. Bu sayımı yaparken boyanmanın şiddetine göre +, ++, +++ olarak belirlediğimiz boyanmaların her biri için ve boyanma göstermeyen hücreler için ayrı işaretler kullandık. İmmünohistokimyasal boyanmanın derecesine göre yaptığımız skora Resim 8-15 de gösterilmektedir. Bizim için önemli olan sayımı yapılacak olan tümörlü hücrelerin her birinin ayrı ayrı ve net bir biçimde gözlenmesidir. Sayım esnasında, tüm adımlamalarda, belirlenen değerlerde hiçbir değişiklik yapılmadı ve sayılan her olgu protokol numaralarından oluşan dosya adı ile sistem tarafından otomatik olarak kaydedildi.

Olgular; rezeksiyon materyali , biyopsi materyali ve çok küçük biyopsi materyali olarak 3 grupta sınıflandırıldı ve her gruba ait uygun tarama alanları belirlendi.

## **BULGULAR**

Bu çalışmaya toplam 41 adet KHDAK tanılı olgu dahil edilmiştir. Bunlardan 30 tanesi rezeksiyon materyali, 11 tanesi biyopsi materyalinden ibarettir. Vakaların 2 tanesi kadın, 39 tanesi de erkek idi., Yaşları 40-74 arasında olup; ortalama yaş 57 dir.

### **Histopatolojik Bulgular:**

İncelenen KHDAK vakalarına ait makroskopik özellikler; santral yerleşimli, düzensiz sınırlı, ortasında nekroz bulunduran, gri-beyaz renkli, sert kıvamda kitle şeklinde izlendi (Resim-1)

Tüm olgulara ait arşiv raporlarından elde edilen yaş, cinsiyet, materyalin elde edilme şekli, lenf nodları, cerrahi sınırların durumu ile ışık mikroskobu ile değerlendirme sonucu elde edilen diferansiyasyon derecesi ve lenfovasküler invazyonun varlığı Tablo 4 de gösterildi.

Olguların tümü Yassı Epitel Hücreli Karsinom idi. Bunların 5 tanesi iyi derecede diferansiyasyon (Resim-2), 25 tanesi orta derecede diferansiyasyon (Resim-3), 11 tanesi de az diferansiyasyon (Resim-4) olarak değerlendirildi. İyi derecede diferansiyasyon vakalarında tümör hücrelerinin çok katlı yassı epiteli taklit eder tarzda dizilim gösterdiği izlendi. Bu vakalarda ayrıca intrasitoplazmik ve keratin yumaklar oluşturmuş ekstrasellüler keratinizasyon mevcudiyeti ile hücreler arasında intrasitoplazmik bağlantılar oluşturan tonofibriller görüldü. 2 vakada sitoplazmaları şeffaflaşmış clear komponent (Resim-5), 1 vakada keratine karşı oluşan dev hücreler izlendi (Resim-6). Orta derecede diferansiyasyon vakaların 2 tanesinde de tümöral adalar arasında geniş nekroz alanları bulunmaktaydı.(Resim-7)

### **İmmünohistokimyasal Bulgular**

Her vakaya immünohistokimyasal olarak COX-2, VEGF ve TGF- $\beta$  boyaları yapıldı. Tümöral alanlarda boyanmanın yoğunluğuna derecesine göre +1, ++2, +++3 olarak skorlama yapıldı. COX-2 ve VEGF için sitoplazmik homojen boyanma, TGF- $\beta$  için ise sitoplazmik granüler boyanma pozitif boyanma olarak kabul edildi. Nükleer, nükleer membran ve sitoplazmik membran boyanmaları pozitiflik olarak kabul edilmedi. (Resim 8-15)

### **Stereolojik Bulgular**

Fractioner yönteminde, adım aralığı sırasıyla rezeksiyon materyalleri için, 1500 (X), 1500 (Y), biyopsi materyalleri için 500 (X), 500 (Y), çok küçük biyopsi materyalleri içinde 250 (X), 250 (Y) olarak belirlendi. Tarafsız sayım çerçevesinin ölçüleri ise

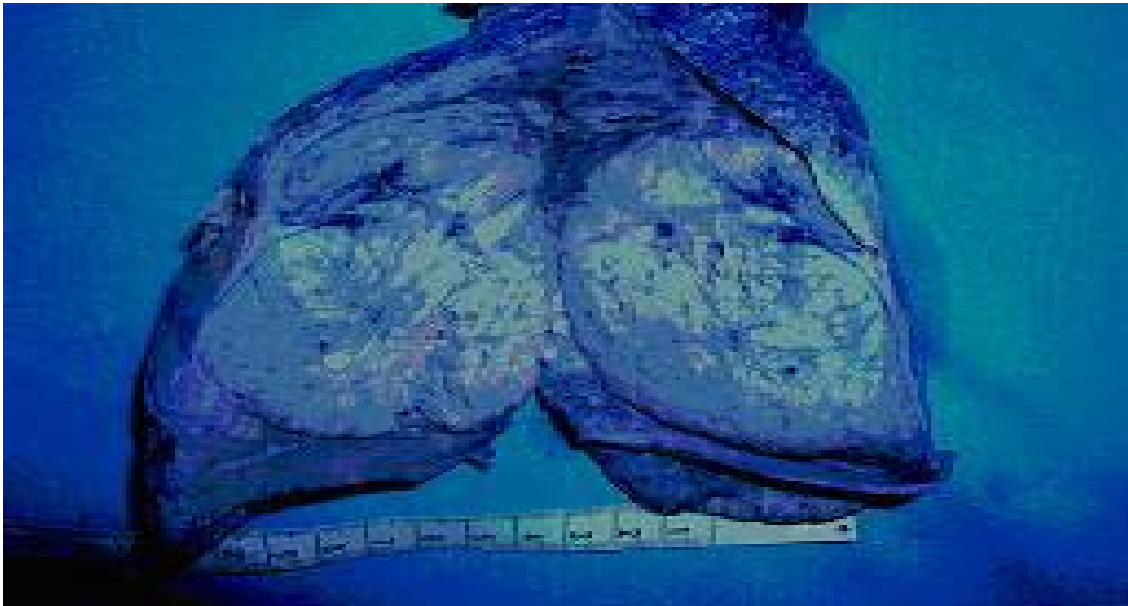
materyallerin tümünde X eksenini için 100 mikron, Y eksenini için ise 100 mikron değerleri kullanıldı.

Bu yöntemle; her adımda, rezeksiyon materyalleri için 1/125 oranında, biyopsiler için 1/25 oranında ve çok küçük biyopsiler için de 1/6,25 oranında alan örnekleme yapılmış oldu. Elde edilen bu değerler de, "alan örnekleme payı" (AÖP) olarak kaydedildi. Sayım çerçevesi alanının, adım adım alan oranı; alan örnekleme payı (AÖP) olarak bilinen değeri verir. Her adım aralığı, sayılamayacak kadar fazla sayıda tanecik içerecektir. Bu nedenle, sayım çerçevesinin boyutları küçük tutulup; sayım için örneklenen parçanın ve onu içeren tek bir adım alanına olan oranı bilinerek, istatistiksel örnekleme mantığı kullanıldı. Bu oranı, diğer oranlarla beraber, sonuçta bulunan tanecik sayısı ile çarparak, örnekleme sayısı artırıldıkça gerçek değere yaklaşan bir toplam tanecik sayısı elde edildi. Elde edilen bu değerlerin hesaplanmasında ise, aşağıda belirtilen formül kullanıldı:

$$1/A.Ö.PX 1/K.Ö.PX 1/Ka.Ö.P$$

Biz çalışmamızda tüm alanda örnekleme yaparak boyanan ve boyanmayan hücrelerin, boyananlarında boyanma yoğunluğuna göre % oranlarını belirledik Tablo-5 de COX-2, VEGF ve TGF- $\beta$  ile immünohistokimyasal olarak boyanan hücrelerin yüzde değerleri verilmiştir.

Elde edilen değerler istatistiki olarak histopatolojik tipler ile karşılaştırıldı. Anlamlı ( $p < 0.05$ ), çok anlamlı ( $p < 0.01$ ) olanlar belirlendi. Tablo 6-8 de de diferansiyasyon derecelerine göre stereolojik analiz sonuçları verilmiştir.

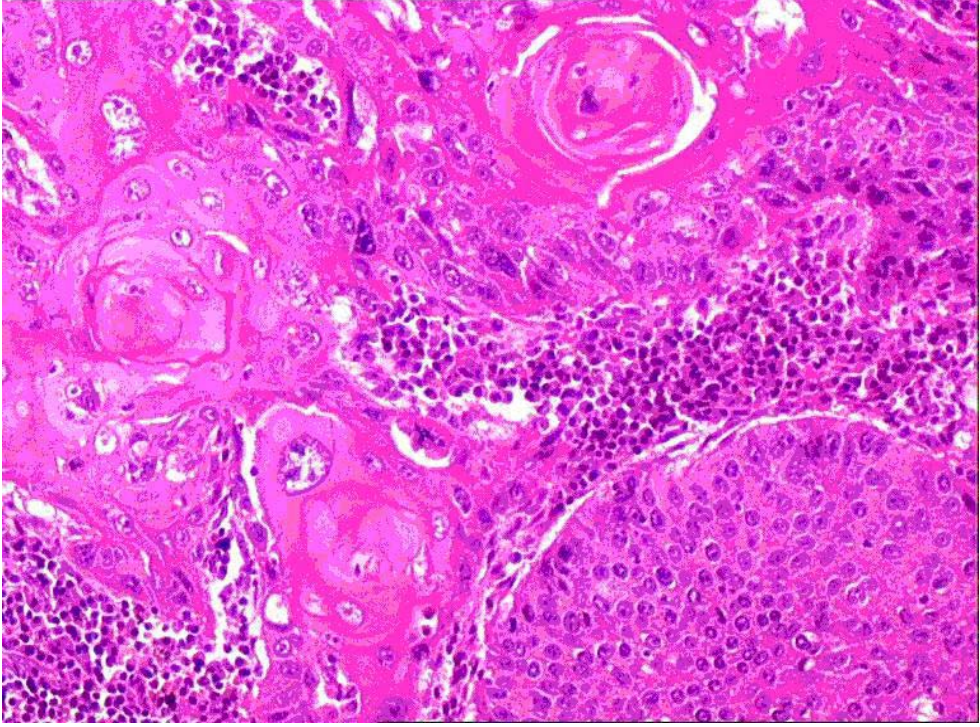


**Resim-1:** YEHK da Makroskobik Görünüm

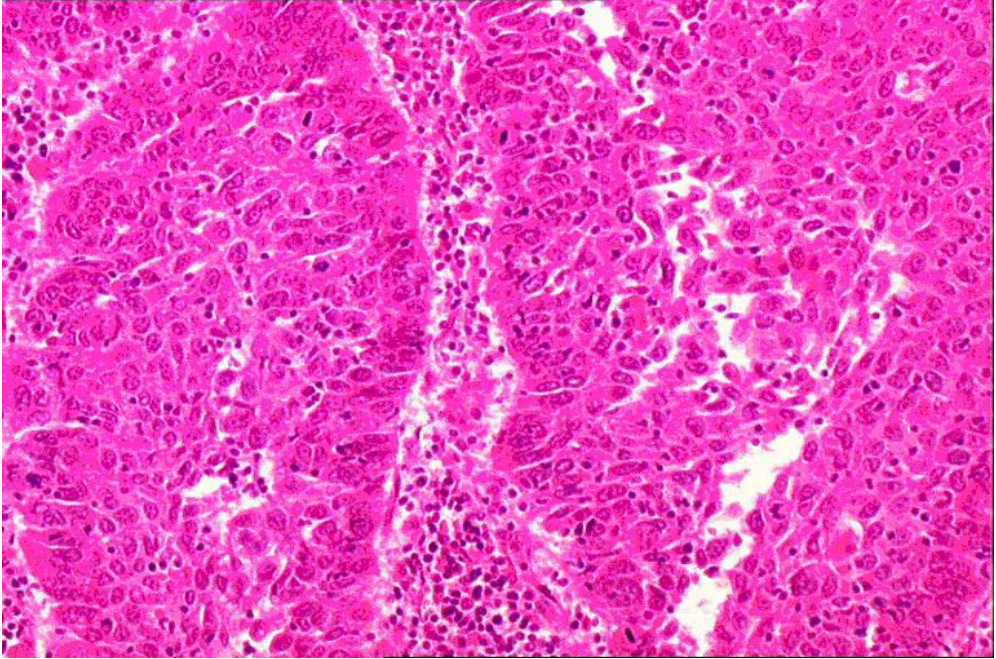
**Tablo 4:** Olguların Klinikopatolojik Özellikleri (ışık mikroskobu verileri eşliğinde)

Protokol no (PN)	Cinsiyet	Yaş	Rezeksiyon/Biyopsi	Diferansiasyon	Makroskobik tümöral çap	Cerrahi sınır	Lenf Nodu		Lenfovasküler İnvazyon
							Reaktif	Metastatik	
995	E	50	R	Az diferansiye	4x3,5cm	Negatif	4		
1129	E	57	R	İyi diferansiye	2cm	Negatif	12	1(7 nolu)	
855	E	62	R	Orta	2x1,5cm	pozitif	8	2	
2341	E	52	R	Orta	4,5cm	Negatif	10		
4772	E	56	R	Orta	5cm	Negatif	6		pozitif
4083	E	60	R	Orta	bilinmiyor	Negatif	3		
5914	E	66	R	İyi diferansiye	4cm	Negatif	2(5nolu)		
1547	E	59	R	Orta	6x4x3cm	Negatif	4		
1282	E		R	Orta	bilinmiyo				
6109	E	60	R	Orta	6x3x3cm	Negatif	3	1(lobektomi içinde)	pozitif
177	K	67	R	Orta	8x8cm	Negatif	3	1(5 nolu)	
279	E	53	R	Az diferansiye	12x7	Negatif	2		
3033	E	58	R	Az diferansiye	3x1,5	pozitif	3	2	
5877	E	53	R	Az diferansiye	8x6x5cm	Negatif	4	4	
6270	E		R	Az diferansiye	3x2	Negatif	3	2	
878	E	50	R	Orta	1x1x0,5cm	Negatif		12	
4982	E		R	Orta	bilinmiyo	Negatif			
451	E	51	R	Orta	3x2,5x2cm	pozitif	9		pozitif
3752	E	45	R	Orta	4,5x4,5cm	Negatif		8	
4235	E	55	R	İyi diferansiye	7x5,5cm	pozitif			
5672	E	46	R	Orta	1,5cm	Negatif	2		
1863	E	58	R	Orta	4x3,7x3,2cm	Negatif	16		
797	E	74	R	Az diferansiye	4x3cm	Negatif	1		
4333	K	62	R	İyi diferansiye	5x4,5cm	Negatif	6		
943	E	40	R	Orta	5,5x5cm	Negatif	11		
882	E	53	R	Orta	6x5,5x3cm	Negatif	3	2	
5171	E	60	R	Az diferansiye	7x6cm	Negatif			
5541	E	51	R	Orta	3,5x3cm	Negatif	1		
1044	E	63	R	İyi diferansiye	6cm	Negatif	13		
5904	E	60	R	Az diferansiye	5,5x4cm	Negatif			
8283	E	59	B	Orta					
8178	E	61	B	İyi diferansiye					
4491	E	69	B	Az diferansiye					
5178	E	66	B	Orta					
8131	E	71	B	Orta					
1023	E	74	B	Orta					
1195	E	78	B	Orta					
1179	E	58	B	Orta					
6398	E	63	B	Az diferansiye					
4140	E	58	B	Az diferansiye					
3192	E	51	B	Orta					
977	E	57	B	Orta					



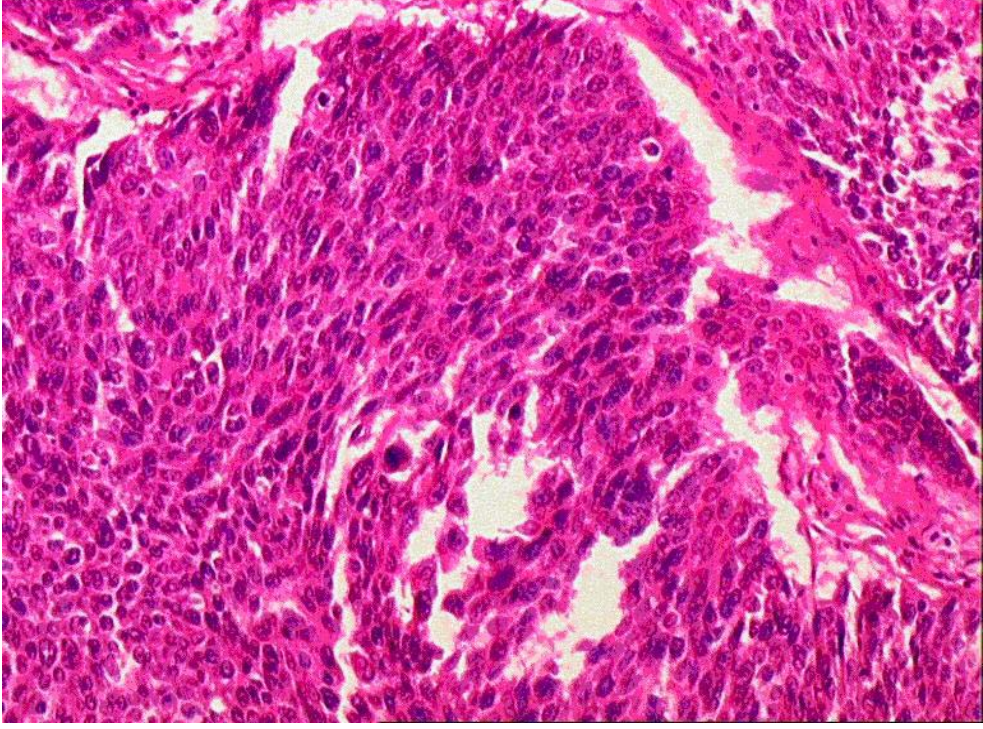


**Resim-2:** YEHK'da İyi Derecede Diferansiasyon

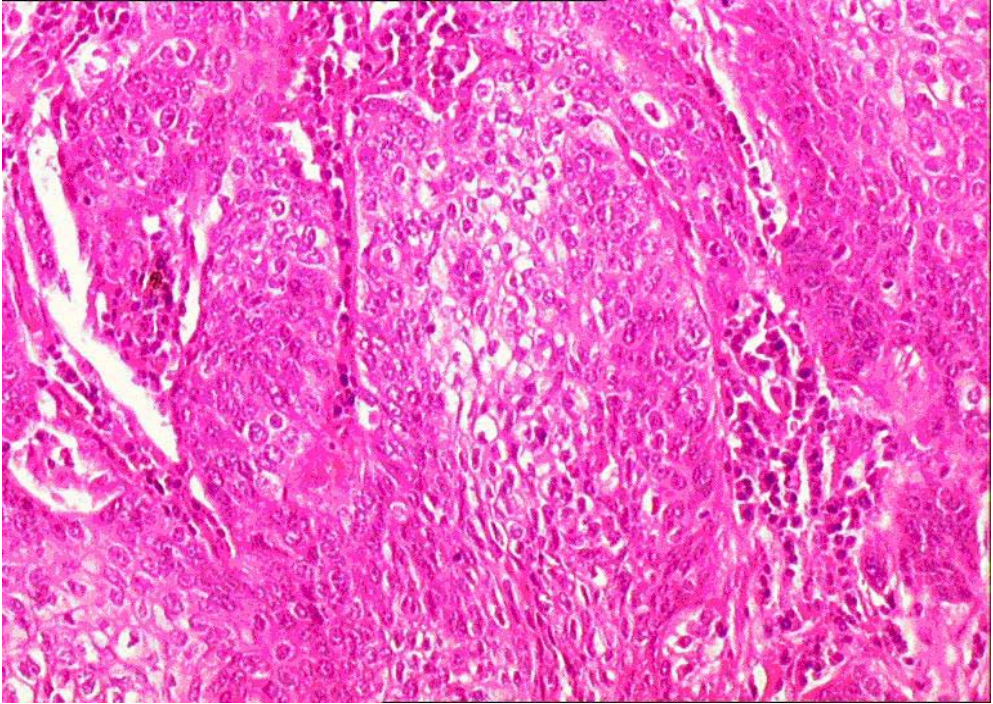


**Resim-3:** YEHK'da Orda Derecede Diferansiasyon



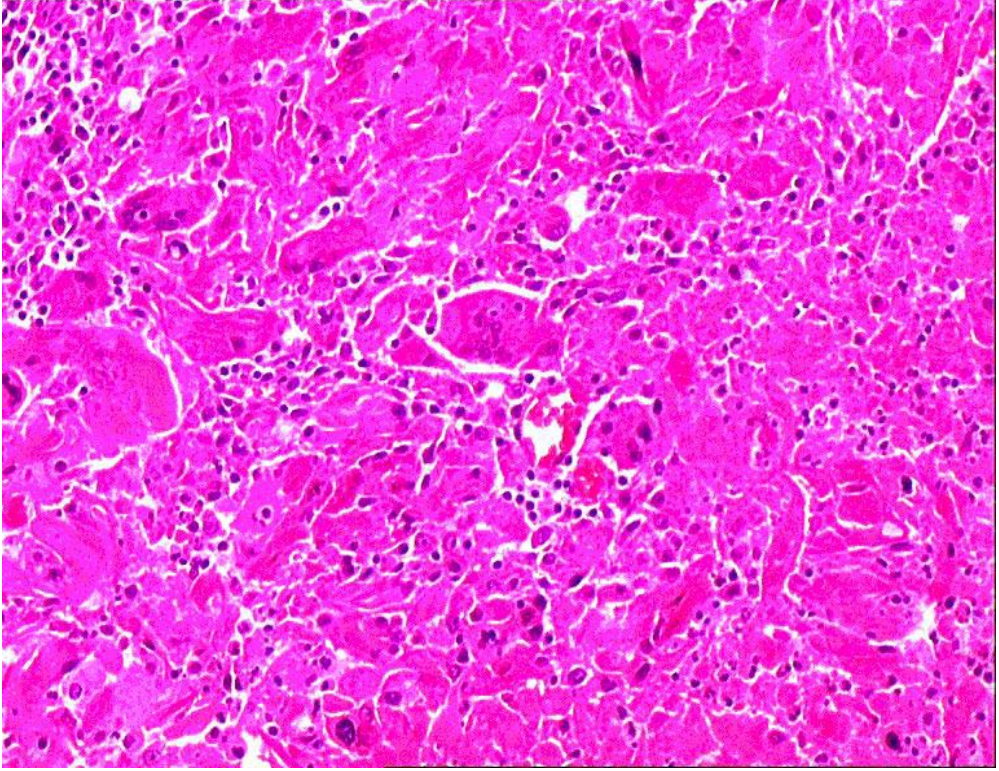


**Resim-4:** YEHK'da Kötü Diferansiasyon

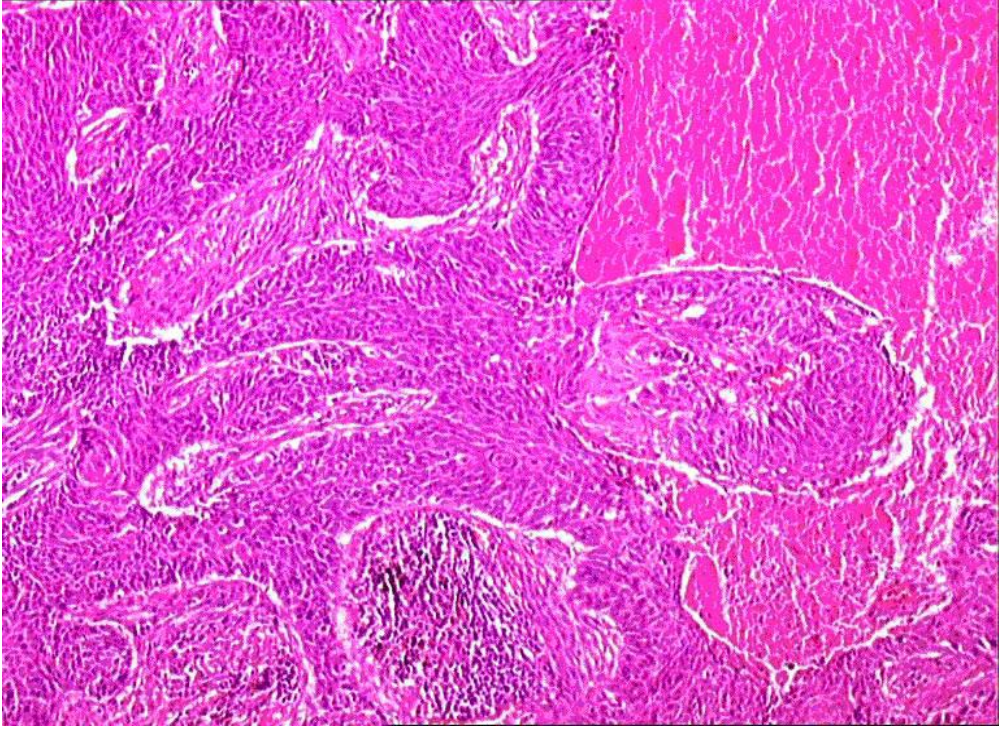


**Resim-5:** YEHK da İzlenen Şeffaf Sitoplazmalı Hücreler



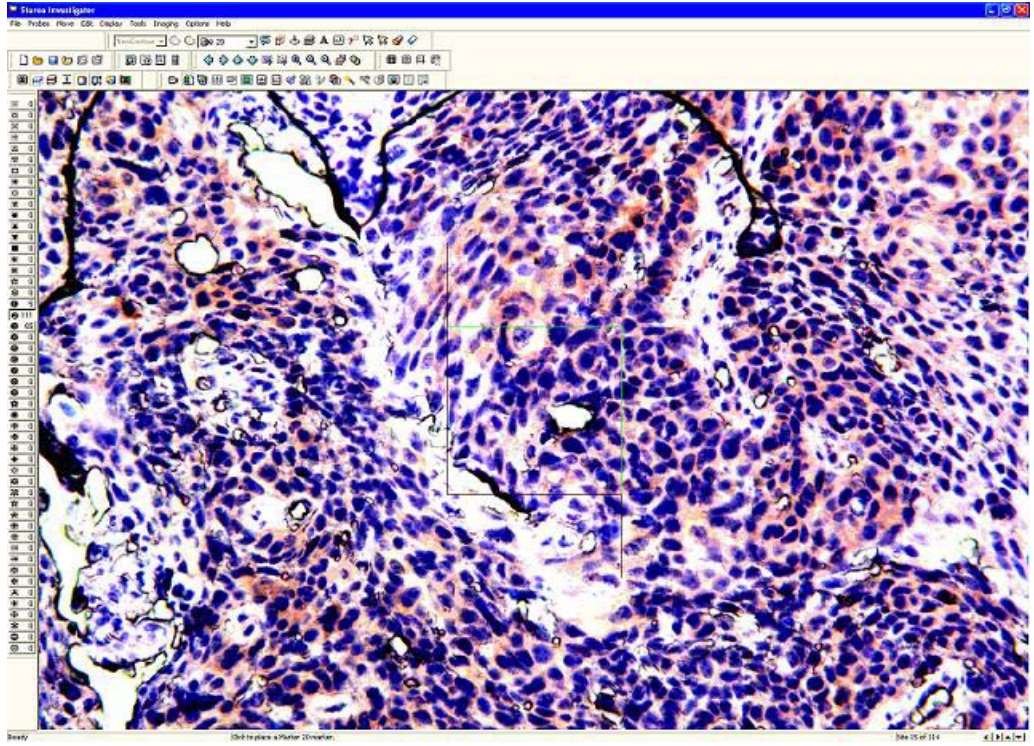


**Resim-6:** YEHK da Dev Hücre

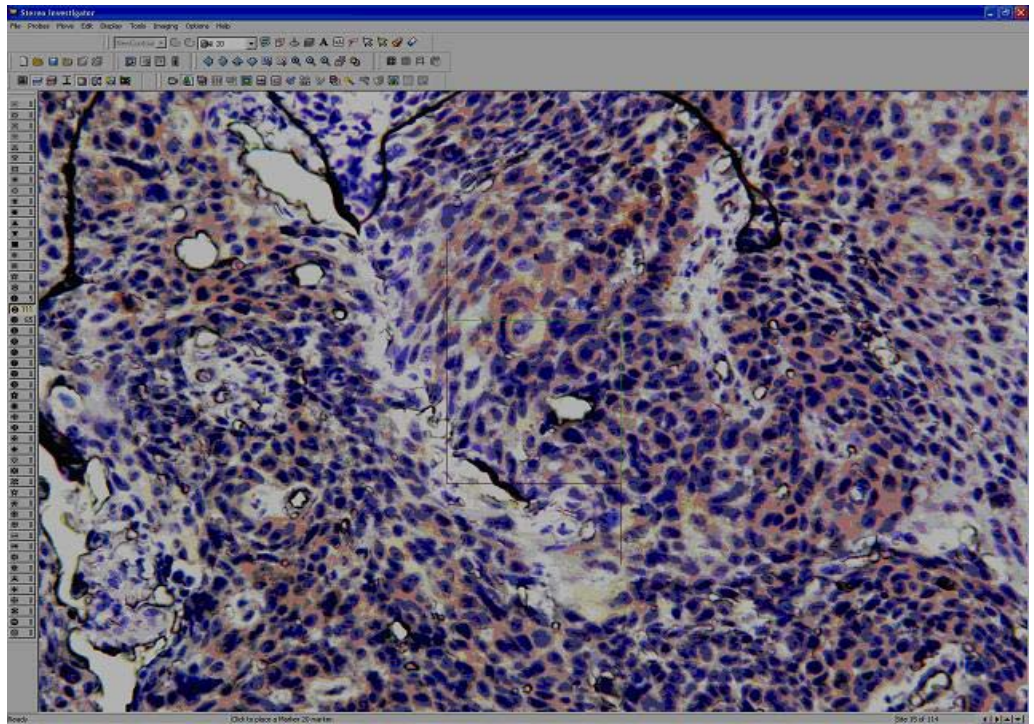


**Resim-7:** YEHK da Nekroz



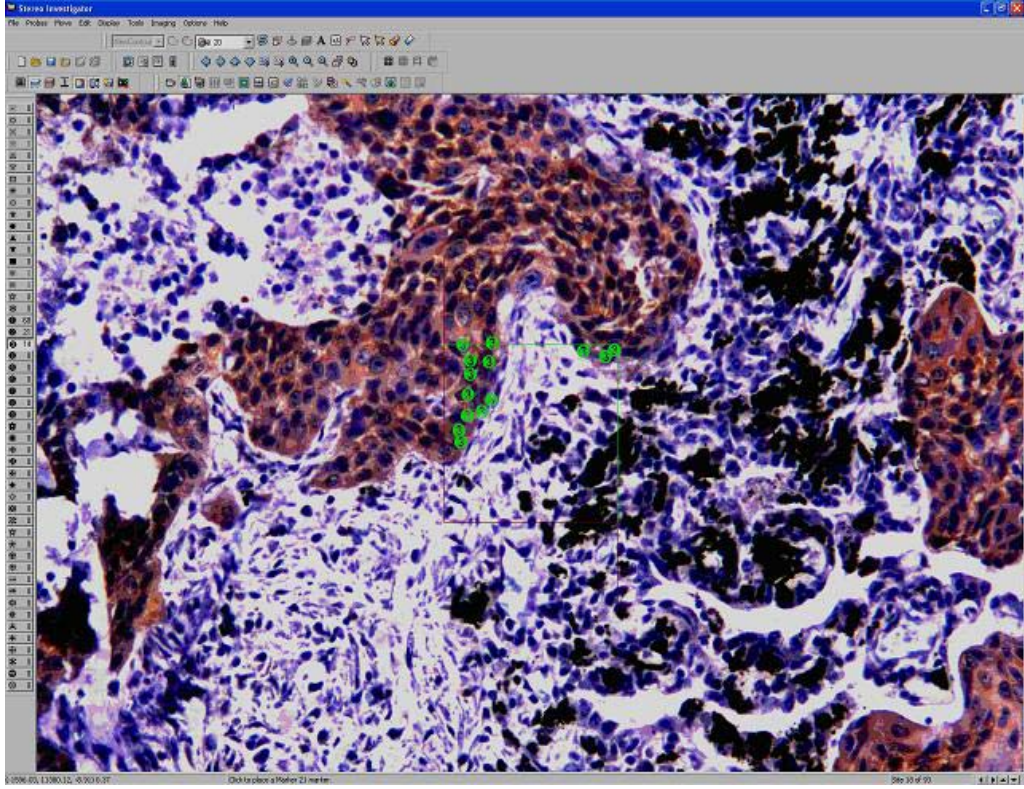


**Resim-8:** YEHK'da İHK sal Olarak COX-2 Reaktivitesinin 1+

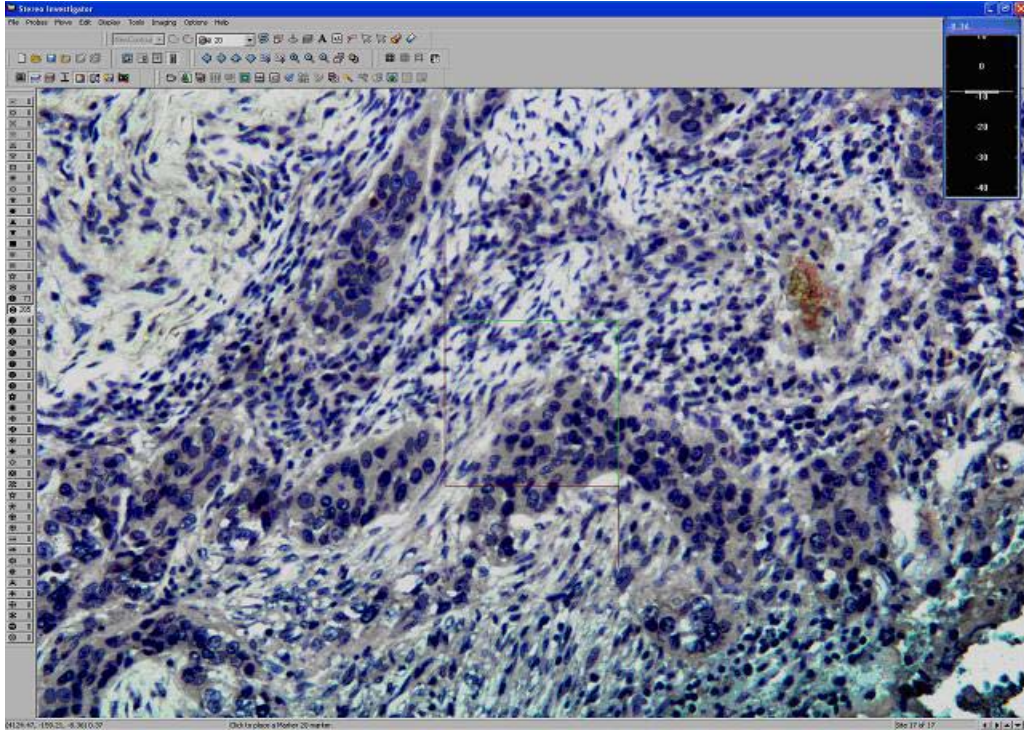


**Resim-9:** YEHK'da İHK sal Olarak COX-2 Reaktivitesinin 2+ liği



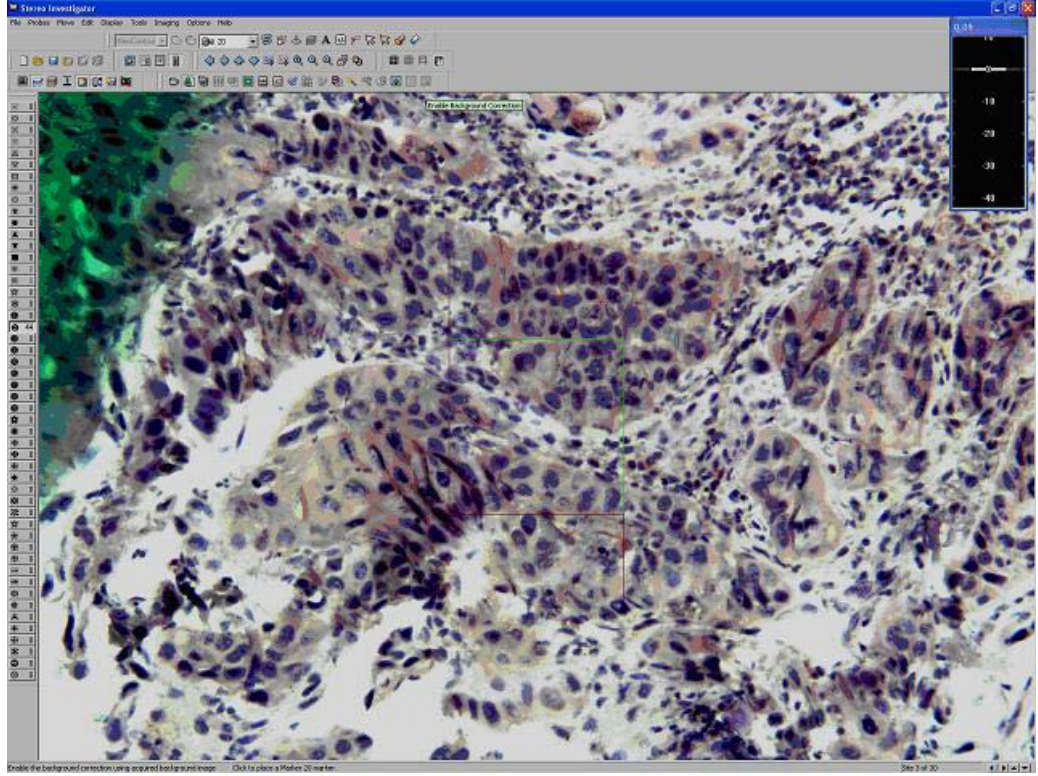


**Resim-10:** YEHK'da İHK sal Olarak COX-2 Reaktivitesinin 3+ liği

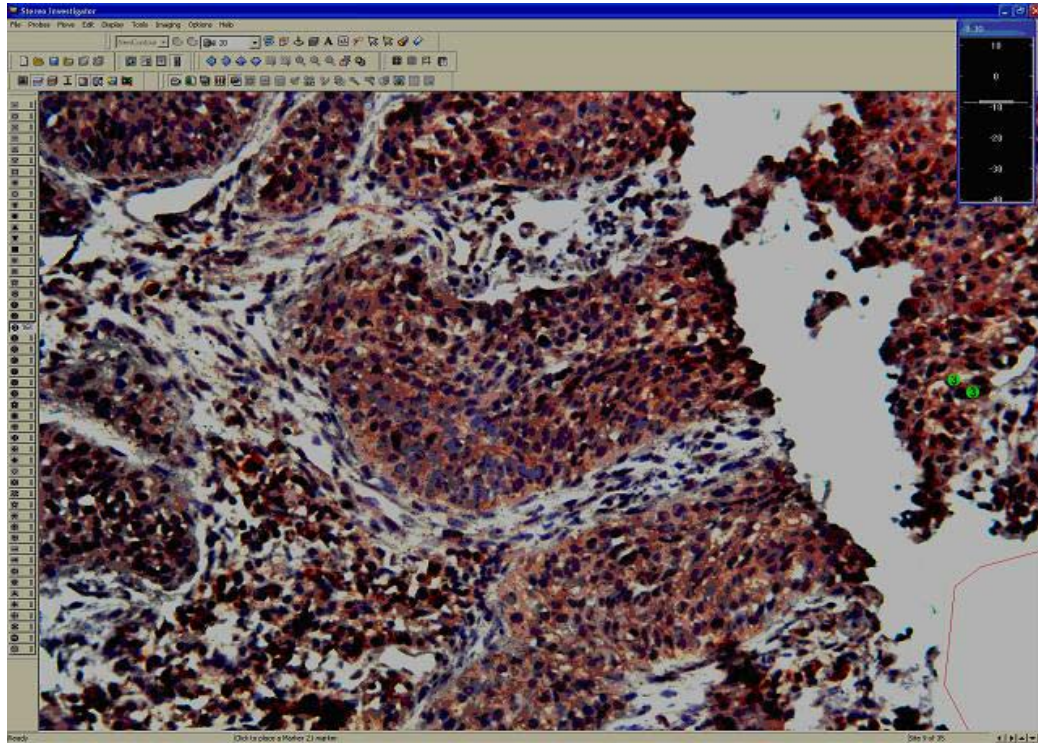


**Resim-11:** YEHK'da İHK sal Olarak VEGF 1+ liği



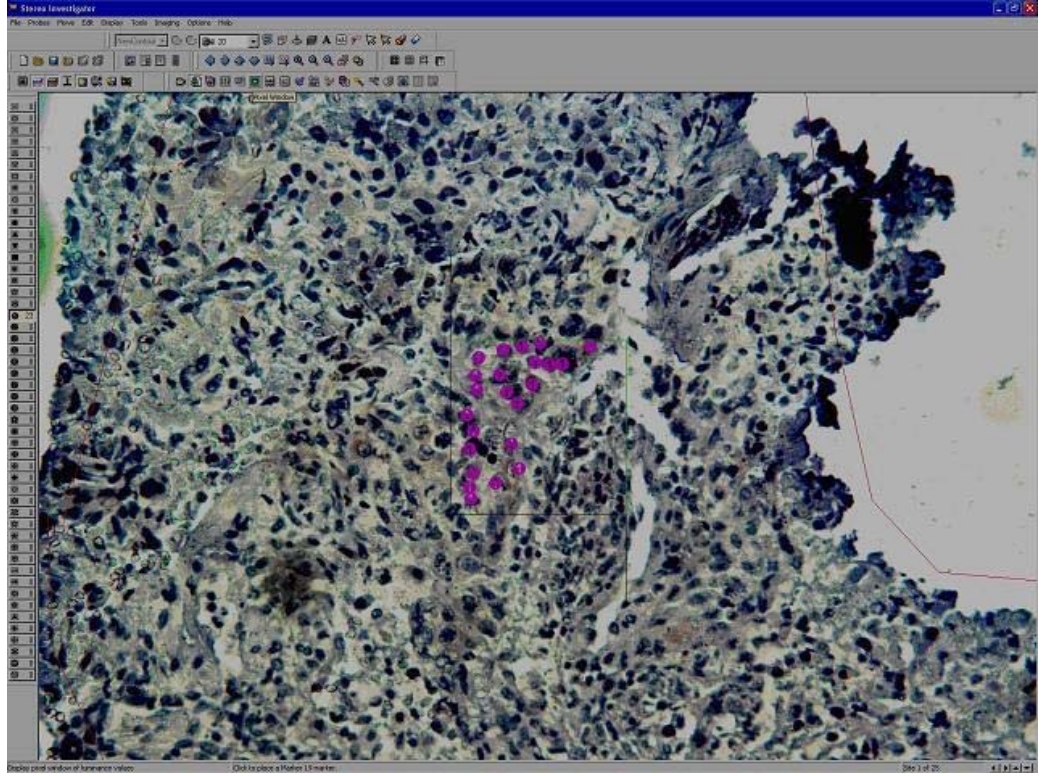


**Resim-12:** YEHK'da İHK sal Olarak VEGF 2+ liği

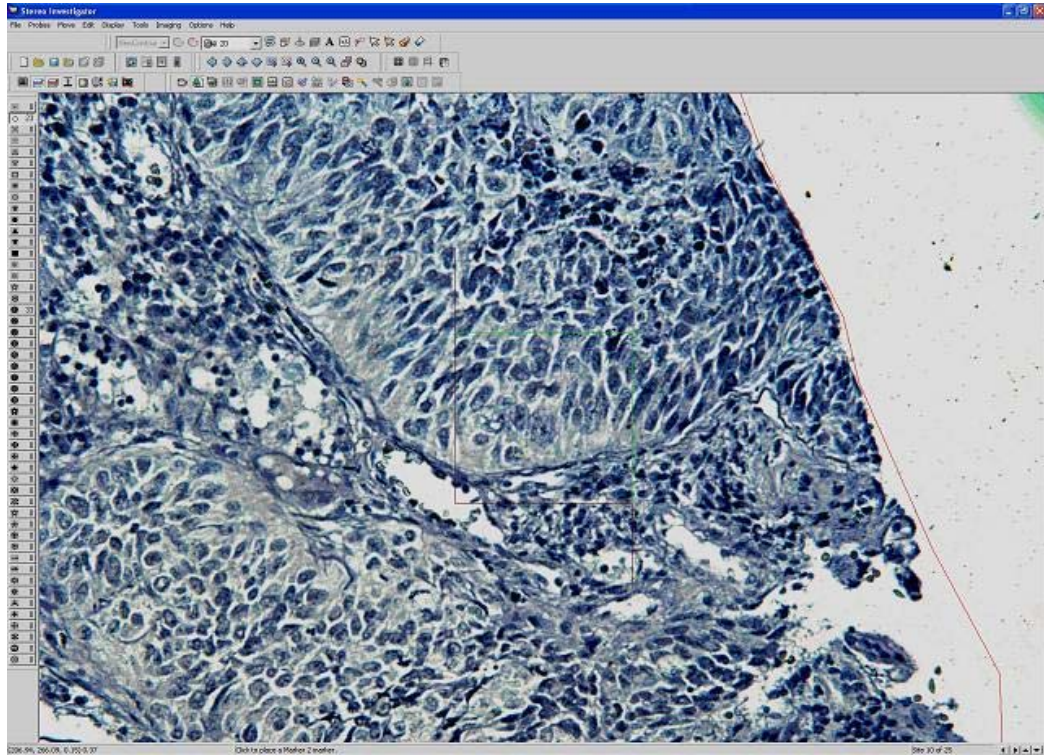


**Resim-13:** YEHK'da İHK sal Olarak VEGF 3+ liği





**Resim-14:** YEHK'da İHK sal Olarak TGF- $\beta$  1+ liği



**Resim-15:** YEHK da TGF- $\beta$  da Reaktivitenin İzlenememesi

**Tablo 5** İmmünohisokimyasal olarak boyanan hücrelerin yüzde değerleri

OLGU	COX-2				VEGF				TGF- $\beta$			
	0+	1+	2+	3+	0+	1+	2+	3+	0+	1+	2+	3+
177-03	50	46	4	0	30	66	3	1	100	0	0	0
279-03	0	16	35	49	7	92	1	0	100	0	0	0
451-06	11	30	45	14	0	76	23	1	100	0	0	0
797-02	15	85	0	0	13	86	0	0	100	0	0	0
822-01	54	46	0	0	31	69	0	0	99	1	0	0
855-05	11	52	37	0	2	47	36	14	100	0	0	0
878-00	76	24	0	0	0	39	46	15	100	0	0	0
943-00	0	0	50	50	27	73	0	0	100	0	0	0
977-06	59	0	41	0	13	85	2	0	100	0	0	0
995-05	10	35	51	5	68	32	0	0	100	0	0	0
1023-06	9	20	21	51	0	100	0	0	100	0	0	0
1044-05	100	30	0	0	100	0	0	0	100	0	0	0
1129-05	0	9	26	64	1	70	29	0	46	54	0	0
1179-06	18	82	0	0	0	100	0	0	100	0	0	0
1195-06	3	65	33	17	0	0	0	100	100	0	0	0
1282-00	0	100	0	0	22	50	27	0	100	0	0	0
1547-03	3	97	0	0	0	28	72	1	62	38	0	0
1863-06	27	61	12	0	0	83	17	0	76	24	0	0
2341-05	11	52	37	0	6	36	46	12	100	0	0	0
3033-02	12	35	52	0	3	52	45	0	100	0	0	0
3192-06	64	36	0	0	0	100	0	0	100	0	0	0
3752-01	22	50	25	4	4	68	28	0	100	0	0	0
4083-06	3	28	62	7	0	7	58	34	6	89	5	0
4140-06	17	63	19	0	49	51	0	0	100	0	0	0
4235-01	0	13	64	23	0	69	21	11	100	0	0	0
4491-06	15	85	0	0	5	72	23	0	78	22	0	0
4772-06	0	4	70	20	0	42	51	7	89	11	0	0
4982-04	0	26	74	0	52	43	4	1	100	0	0	0
5171-02	4	12	51	33	8	91	1	0	100	0	0	0
5178-06	7	91	3	0	8	92	0	0	100	0	0	0
5398-06	7	62	31	0	0	0	70	30	100	0	0	0
5541-02	17	29	25	27	0	100	0	0	100	0	0	0
5672-04	0	4	67	29	8	91	1	0	100	0	0	0
5877-01	5	55	40	0	15	3	12	7	100	0	0	0
5904-01	53	47	0	0	50	50	0	0	100	0	0	0
5914-03	41	59	0	0	3	39	55	3	48	52	0	0
6019-03	16	39	23	22	19	65	9	6	100	0	0	0
6270-01	100	0	0	0	68	32	0	0	100	0	0	0
8131-06	3	58	39	0	0	43	57	0	100	0	0	0
8178-03	3	35	52	5	0	17	82	1	100	0	0	0
8283-06	28	52	20	0	0	69	31	0	53	47	0	0

**Tablo:6** İyi Diferansiyeli Olguların Stereolojik Analiz Sonuçları

OLGU	İYİ DİFERANSİYE											
	COX 2				VEGF				TGF-β			
	0	1+	2+	3+	0	1+	2+	3+	0	1+	2+	3+
1044-05	1135				310				327			
1129-05		90	250	614	12	721	294	3	298	348		
4235-01		11	56	20		236	71	37	547			
5914-03	132	189			19	288	409	23	282	306		
8178-03	6	64	95	9		52	258	3	114			

**Tablo:7** Orta Diferansiyeli Olguların Stereolojik Analiz Sonuçları

OLGU	ORTA DİFERANSİYE											
	COX 2				VEGF				TGF-β			
	0	1+	2+	3+	0	1+	2+	3+	0	1+	2+	3+
177-03	379	347	32		323	718	32	9	947			
451-06	123	343	520	157	0	1127	348	8	1089			
822-01	57	48			146	326			385	4		
855-05	46	225	159		19	431	333	130	919			
878-00	41	13	0			407	489	159	1302			
943-00			26	26	44	122			53			
977-06	34		24		74	476	11		46			
1023-06	15	32	34	83		100			214			
1179-06	57	253				128			186			
1195-06	18	350	180	91				820	65			
1282-00		79			127	289	157	0	503			
1547-03	5	186				110	286	4	186	115		
1863-06	105	239	48			497	100		627	198		
2341-05	46	225	159		220	1268	1595	402	3346			
3192-06	65	37				287			173			
3752-01	228	515	257	36	63	1010	420		1956			
4083-06	16	176	392	47		112	874	509	79	1158	65	
4772-06		7	152	39		393	480	67	692	82		
4982-04		38	106		681	568	58	7	1376			
5178-06	35	465	13		38	423			285			
5541-02	93	153	136	144		709			490			
5672-04		10	194	83	36	433	7		762			
6019-03	31	73	43	41	129	445	62	39	1351			
8131-06	11	221	148			96	128		195			
8283-06	30	56	21			116	51		69	62		

**Tablo:8** Az Diferansiyeli Olguların Stereolojik Analiz Sonuçları

OLGU	AZ DİFERANSİYE											
	COX 2				VEGF				TGF-β			
	0	1+	2+	3+	0	1+	2+	3+	0	1+	2+	3+
279-03		77	167	230	48	641	6	0	643			
797-02	59	332			163	1070	4		586			
995-05	271	930	1351	119	1113	514			531			
3033-02	53	154	227		12	202	175	1	361			
4140-06	144	523	157		327	342			860			
4491-06	9	50			21	281	91		187	54		
5171-02	21	69	292	189	55	613	5		522			
5398-06	10	96	48					70	34	147		
5877-01	40	482	354		235	53	190	108	1310			
5904-01	81	73			59	59			88			



6270-01	26			232	109			203			
---------	----	--	--	-----	-----	--	--	-----	--	--	--

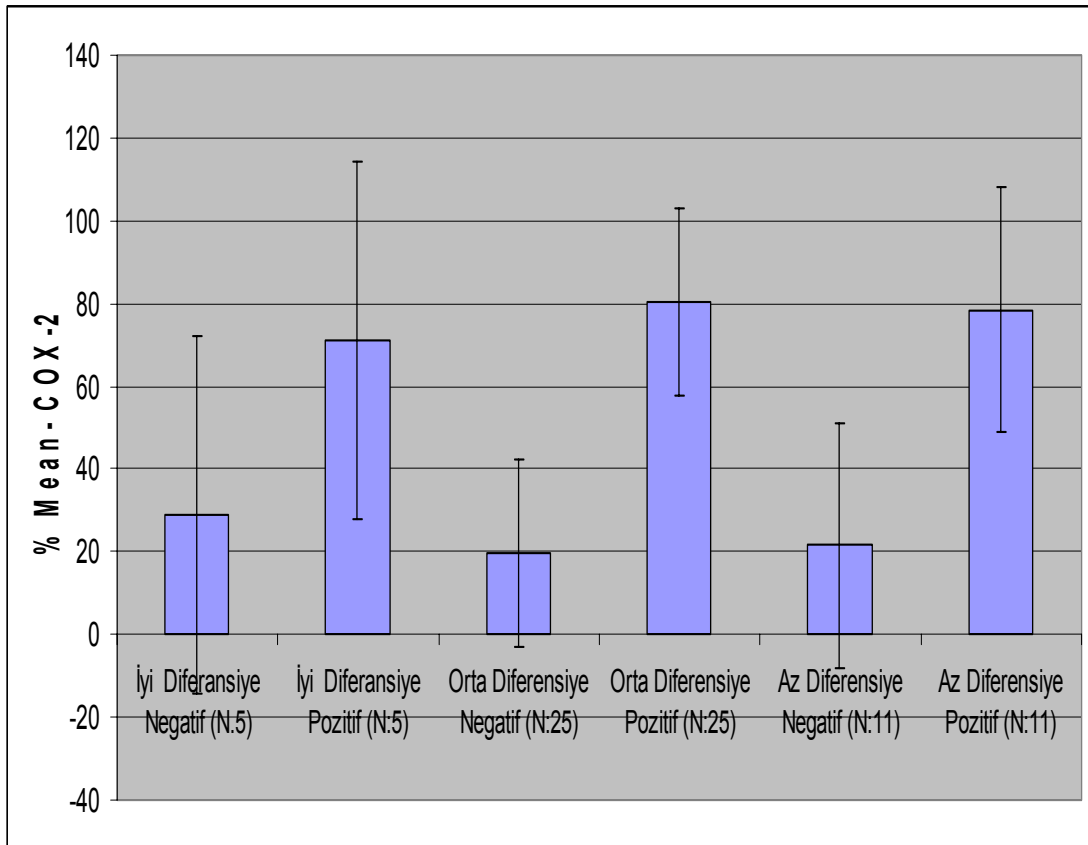
### İstatistiksel Analiz:

Değerler yüzde ortalama ve standart sapma olarak verildi. Verilerin Yüzde ortalamaları arasındaki farkın analizinde Kruskal-Wallis ve Mann-Whitney U testleri kullanıldı.  $P > 0.05$  olması durumunda önemli kabul edildi.

İyi diferansiye olgularda COX-2 ile yapılan immünohistokimyasal çalışmada immünoreaktivite gösteren (pozitif) vakalar ile immünoreaktivite göstermeyen (negatif) vakalar arasında istatistiksel anlam var ( $p < 0,05$ , anlamlı).

Orta diferansiye olgularda COX-2 ile yapılan immünohistokimyasal çalışmada immünoreaktivite gösteren (pozitif) vakalar ile immünoreaktivite göstermeyen (negatif) vakalar arasında istatistiksel anlam var. ( $p < 0,01$ , çok anlamlı)

Az diferansiye olgularda COX-2 ile yapılan immünohistokimyasal çalışmada immünoreaktivite gösteren (pozitif) vakalar ile immünoreaktivite göstermeyen (negatif) vakalar arasında istatistiksel anlam var. ( $p < 0,01$ , çok anlamlı)

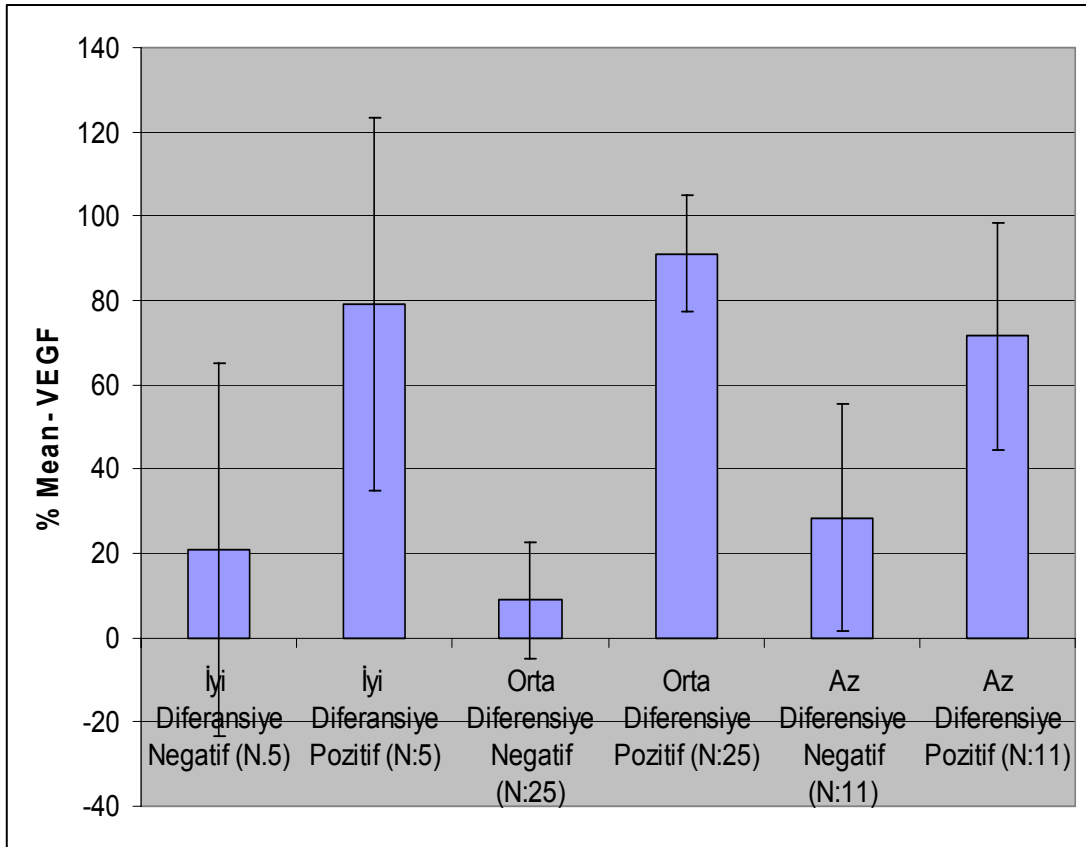


**Grafik 1 Olgularda COX-2'nin Yüzde Değeri ile Diferansiasyonların (+) ve (-) Boyanma Özelliklerine Göre Karşılaştırılma Grafiği**

İyi diferansiye olgularda VEGF ile yapılan immünohistokimyasal çalışmada immünoreaktivite gösteren (pozitif) vakalar ile immünoreaktivite göstermeyen (negatif) vakalar arasında istatistiksel anlam var.(P<0,05, anlamlı)

Orta diferansiye olgularda VEGF ile yapılan immünohistokimyasal çalışmada immünoreaktivite gösteren (pozitif) vakalar ile immünoreaktivite göstermeyen (negatif) vakalar arasında istatistiksel anlam var.(P<0,05, anlamlı)

Az diferansiye olgularda VEGF ile yapılan immünohistokimyasal çalışmada immünoreaktivite gösteren (pozitif) vakalar ile immünoreaktivite göstermeyen (negatif) vakalar arasında istatistiksel anlam yok.(P>0,05, istatistiksel anlam yok)

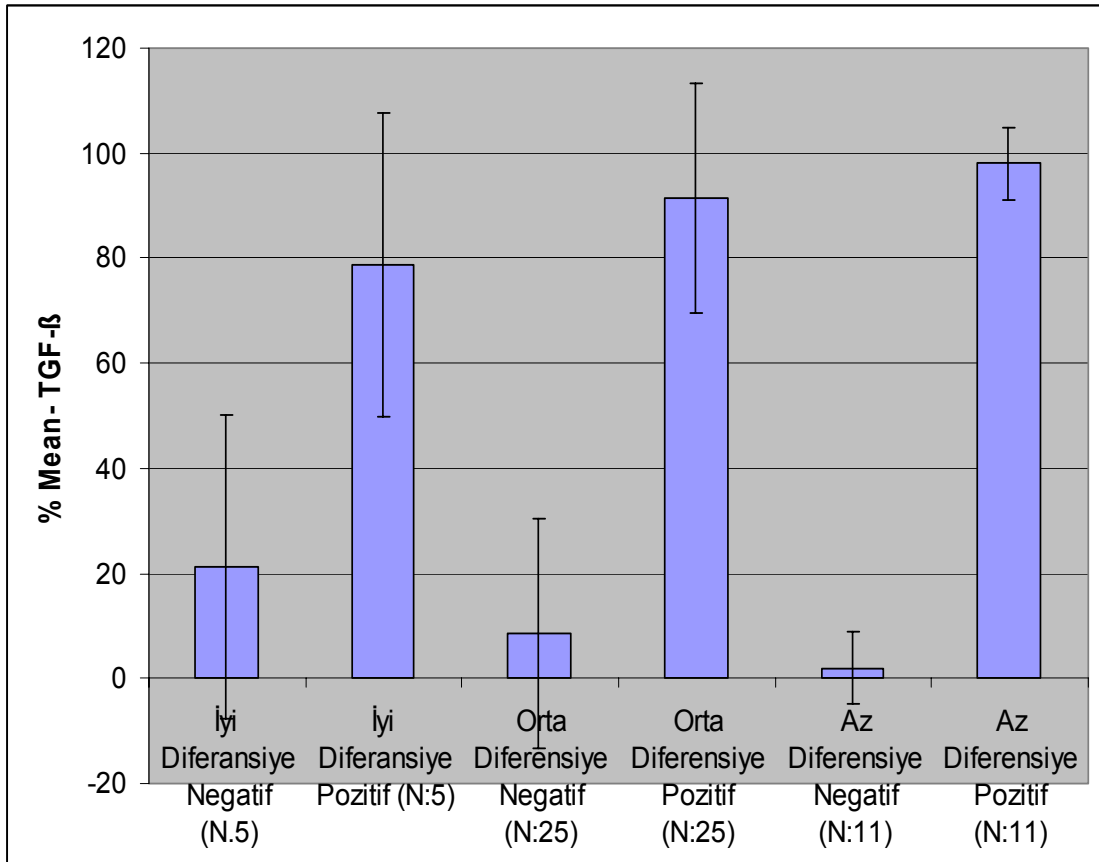


**Grafik 2 VEGF'nin Yüzde Değeri ile Olgularda Diferansiasyonların (+) ve (-) Boyanma Özelliklerine Göre Karşılaştırılma Grafiği**

iyi diferansiye olgularda TGF- $\beta$  ile yapılan immünohistokimyasal çalışmada immünoreaktivite gösteren (pozitif) vakalar ile immünoreaktivite göstermeyen (negatif) vakalar arasında istatistiksel anlam yok.(P>0,05, anlam yok)

Orta diferansiye olgularda TGF- $\beta$  ile yapılan immünohistokimyasal çalışmada immünoreaktivite gösteren (pozitif) vakalar ile immünoreaktivite göstermeyen (negatif) vakalar arasında istatistiksel anlam var.(P<0,01, çok anlamlı)

Az diferansiye olgularda TGF- $\beta$  ile yapılan immünohistokimyasal çalışmada immünoreaktivite gösteren (pozitif) vakalar ile immünoreaktivite göstermeyen (negatif) vakalar arasında istatistiksel anlam var.(P<0,05, çok anlamlı)



**Grafik 3 Olgularda TGF-B'nın Yüzde Değeri ile Diferansiasyonların (+) ve (-) Boyanma Özelliklerine Göre Karşılaştırılma Grafiği**

## TARTIŞMA

Akciğer kanseri, 20. yüzyılın başlarında nadir görülen bir hastalık iken, sigara içme alışkanlığındaki artışa paralel olarak sıklığı giderek artmıştır. Günümüzde ise dünyada en sık görülen kanser türü haline gelmiştir (155). Tüm dünyada kanser olgularının %12.8'inden ve kanser ölümlerinin %17.8'inden akciğer kanseri sorumludur (156). Türkiye'de 1999 istatistiklerine göre akciğer kanseri erkeklerde tüm kanserlerin %29'u olup en çok görülen kanserdir. Kadınlarda %4'lük oranla altıncı sırada yer almaktadır. İnsidans, erkeklerde 14/100,000, kadınlarda 1/100,000'dir (12). Bölgelere göre dağılımına baktığımızda ise; Sağlık bakanlığı verilerine göre akciğer kanseri sıklığı batı bölgelerimizde en yüksek (Akdeniz 41.0/100.000, Ege ve İç Anadolu 39.5/100.000), Güneydoğu ve Doğu Anadolu bölgelerimizde en düşük (sırasıyla 17.7/100.000, 11.7/100.000) oranlardadır (157).

Amerika Birleşik Devletleri ve Batı Avrupa toplumlarında sigara karşıtı kampanyalar sonucu akciğer kanseri görülme sıklığı 1980'den sonra erkeklerde azalma eğilimine girmiştir. Kadınlarda sigara kullanımındaki artış nedeniyle Doğu Avrupa ülkeleri ve ülkemizde akciğer kanseri sıklığı giderek artmaktadır (158). Bizim arşiv verilerimize göre bölgemizde, akciğer kanseri erkeklerde en sık görülen kanser türüdür.

Akciğer kanseri insidansı yaşla birlikte artış göstermekte ve 6.-7. dekatlarda pik yapmaktadır. Genç erişkinlerde (50 yaş altında %5-10 dolayında) sıklığı daha azdır (159). Çalışmamızda yaş aralığı 40-74 olup ortalama yaş 57 olarak belirlenmiştir. Bu değerler literatür ile karşılaştırıldığında daha düşük olduğu dikkati çekmiştir.

Histopatolojik olarak ABD ve Japonya'da en sık adenokarsinom saptanırken Asya ülkelerinde skuamöz hücreli kanser en sık kanser tipidir (11). Ülkemizde en sık skuamöz hücreli kanser (yaklaşık %45) görülmekte, bunu benzer oranla (yaklaşık %20) küçük hücreli kanser ve adenokanser izlemektedir. Büyük hücreli kanser %2 oranıyla en az görülen kanser tipidir (160). Son yıllarda adenokanser insidansının artması filtreli sigaraların artmasıyla ilişkilendirilmiştir (17). Ancak ülkemizde gençlerde adenokanser yaşlılara göre daha fazla izlenmekle birlikte en sık izlenen kanser tipi skuamöz hücreli kanserdir (161). Bizdeki verilerde bu durumu desteklemektedir.

Akciğer kanseri önlenabilir bir hastalıktır. 1950'lerin başında sigara kullanımının patogenezden %85-90 oranında sorumlu olduğuna dair veriler mevcuttu. Sigaranın akciğer kanserine neden olduğu yönündeki ilk bulgular 1962 yılında yayınlanmıştır

(1,2,14). Akciğer kanseri gelişiminden %94 oranında sigara sorumludur. Sigara içenlerde akciğer kanseri riski içmeyenlerden 24-36 kat fazladır. Pasif sigara içiminde risk %3,5'tir. Sigaraya başlama yaşı, sigara içme süresi, içilen sigara sayısı ile tütün ve sigara tipi (filtreli, filtresiz, puro, düşük tar ve nikotin içeriği vb.) akciğer kanser gelişim riskini etkiler (11).

Büyük çaplı çalışmalar KHDAK lu hastalarda evrenin prognostik faktörler içerisinde en uygun parametre olduğunu göstermişlerdir (152). Ancak aynı kanser evresine sahip hastaların surveylerinde önemli ölçüde varyasyonlar olduğu bilinmektedir. Bundan dolayı akciğer kanserli hastaların prognoz tahminini daha iyi yapabilmek için yeni parametreler geliştirilmelidir. Son zamanlarda dikkatler tümöral anjiogenez üzerine odaklanmıştır. Anjiogenezde COX-2, VEGF, TGF- $\beta$  gibi bir çok mediatör rol oynamaktadır (148-150).

Histolojik tip ve diferansiasyon prognozda önemlidir. Yassı hücreli kanserler en sık kür şansı olan kanserlerdir. Rezeksiyondan sonra 5 yıllık sağ kalım iyi diferansiye tümörlerde %40, orta dereceli diferansiye tümörlerde %20 ve az diferansiye tümörlerde %7 dir. Adenokarsinomlarda bu oran %25 dir ve diferansiasyon derecesine bağlıdır. (45). Hida ve arkadaşları COX-2 aşırı ekspresyonunun akciğer adenokarsinomunda sıklıkla meydana geldiğini bildirmişlerdir. Böylece COX-2 ekspresyonu ile tümörün histolojik tipi arasında bir ilişkinin olduğuna dair yeni bir ufuk açmışlardır. Ancak artmış COX-2 ekspresyonu ile yaş, hastalık evresi, yıllık sigara tüketimi arasında herhangi bir bağlantı bulamamışlar (162).

Primer akciğer kanseri vakalarında COX-2 ile ilgili olarak yapılan çalışmalarda adenokarsinomlarda COX-2 ekspresyonunda %70 artış görülmüştür. Adenokarsinomun prekürsör lezyonları ve küçük hücreli karsinomlarda ise ihmal edilecek kadar az olduğu görülmüştür (143-145).

Evre prognozu belirleyen en önemli göstergedir. Klinik evre ve sağ kalım arasında belirgin bir ilişki vardır. Achiva ve arkadaşları (163) ve Khuri ve arkadaşlarının (164) yaptıkları çalışmalarda ise evre-1 adenokarsinom ve yassı epitel hücreli karsinomda düşük sürvey belirteci olarak bulunmuştur (163,164). Ayrıca Barbender ve arkadaşları küratif bir şekilde rezeke edilen 89 KHDAK vakasında polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ile COX-2 mRNA ekspresyonunu araştırmışlar ve yüksek COX-2 ekspresyonunun daha düşük sağ kalımla ilişkili olduğu sonucuna varmışlar (165)

Marrogi ve arkadaşları yaptıkları bir çalışmada (147) KHDAK'da COX-2 ekspresyonu ve tümör anjiogenezisi arasındaki ilişkiyi araştırdılar. COX-2 ekspresyonunu rezektabl KHDAK'lu hastalarda CD-34 (+) mikrodamar sayısı ile

ölçerek mikrodamar dansitesinin (MVD). VEGF ekspresyonu ile direkt ilişkisini ortaya koydular. Yaptıkları çalışmada COX-2'nin karsinoma etrafındaki bazı non-neoplastik bronşial epitelyal hücreler, premalign hücreler, karsinoma hücrelerinin membranı ve sitoplazmasında da ekspresse edildiğini gördüler. Ayrıca COX-2 ekspresyonunun, VEGF ekspresyonu ve anjiogenik vasküler yapı ile pozitif ilişkisini gösterdiler. Çalışmalarında COX-2 ekspresyonunun insidansını adenokarsinomada skuamöz hücreli karsinomdan daha fazla idi.

Premalign bronşial epitel ve metaplastik lezyonların dahil olduğu non-neoplastik lezyonlardaki COX-2 ekspresyonunu ele alan çalışmalarda çelişkili bildiriler olmuştur (143,144,166,167). Ancak Wolff ve arkadaşları (143) non-neoplastik lezyonlarda COX-2 yi tesbit edememişlerdir. Non-neoplastik lezyonlardaki immünoreaktivite, COX-2'nin KHDAK'nun onkogenesinin erken döneminde de rol oynayabildiğini güçlü bir şekilde destekleyen COX-2'nin parakrin etkisinden de kaynaklanabilir (167).

O'Bryne ve arkadaşlarının 223 opere KHDAK'li hastada yaptıkları immünohistokimyasal çalışmada VEGF ve PD-ECGF'nin prognostik değeri olan anjiogenik büyüme faktörleri olduğu MVD'nin de KHDAK'lerinde prognostik öneme sahip olduğu sonucuna varmışlardır (107). Öte yandan Aikawa ve arkadaşlarının 112 KHDAK'li olguda yaptıkları bir çalışmada ileri evre hastalarda VEGF ekspresyonu erken evredeki hastalara göre daha yüksek bulundu. VEGF ekspresyonu olan tümörlerde MVD daha yüksek bulunurken aynı ilişki PD-ECGF için saptanmamıştır. Sonuç olarak anjiogeneizde esas rolü VEGF nin oynadığı sonucuna varılmıştır (110).

Shibusawa ve arkadaşlarının çalışmasında stage 1 adenokarsinomu olan 44 akciğer karsinomu vakasında mikrodamar sayısı çok olan vakaların sağ kalım oranının daha düşük olduğunu bulmuşlardır. Ayrıca VEGF'in evre 1 akciğer adenokarsinomunda anjiogenik bir faktör olduğu sonucuna ulaşmışlardır (168).

Benzer bir çalışmada Fontanini tarafından KHDAK vakalarında yapılmış. Burada da VEGF ekspresyonu ve kötü prognoz arasında güçlü bir ilişki saptanmış. VEGF ekspresyonunun yüksek olduğu tümörlerde mikrodamar sayısı da yüksek tesbit edilmiştir (169)

Yassı epitel hücreli karsinom tanısı alan 41 olgumuzun 5 tanesi iyi derecede diferansiye, 25 tanesi orta derecede diferansiye ve 11 tanesi de az diferansiye olup, immünohistokimyasal olarak COX-2 ve VEGF ile tüm vakalarda daha güçlü boyanma tesbit edilmiştir. TGF- $\beta$  ile boyanma ise bunlara göre daha hafiftir.

COX-2, VEGF, TGF- $\beta$  immünreaktivitesi COX-2'de %78.71, VEGF'de %84.44, TGF- $\beta$ 'da %91.62 olarak görüldü. Diferansiyasyon derecelerine göre ise COX-2 için

yapılan çalışmada iyi derece diferansiye vakalarda pozitiflik %71.09, orta derece diferansiye vakalarda pozitiflik %80.36, az diferansiye vakalarda ise pozitiflik %78.41 olarak bulundu.

VEGF için yapılan çalışmada ise iyi diferansiye vakalar için pozitiflik %79.25, orta derece diferansiye vakalarda pozitiflik %91.12, az diferansiye vakalardaki pozitiflik ise %71.63 olarak bulundu.

Volm ve arkadaşları histolojik tip ile VEGF pozitifliği arasında ilişki saptamamışlardır (170). Bu konuda Aikawa ve arkadaşları VEGF pozitifliğini adenokarsinomda %35, yassı hücreli karsinomda %28, büyük hücreli karsinomda %7 oranında bulmuşlardır. Adenokarsinom ile yassı hücreli karsinomlarda büyük hücreli karsinomdan fazla oranda VEGF pozitifliği saptamışlar ve istatistiksel olarak anlamlı bulmuşlardır. Ancak yassı hücreli karsinom ile adenokarsinom arasında fark bulamamışlardır (171).

Fontanini ve arkadaşları 407 evre I ve II KHDAK'li olguda MVD ve iki yıllık sağ kalım arasındaki ilişkiyi değerlendirdiklerinde Mikrovasküler Dansite (MVD)'nin sağkalımla birlikte tümör boyutu (T), nodal tutulum (N) ve evre ile ilişkili olduğu; T, N ve MVD'nin bağımsız birer prognostik faktör olduğunu bildirmişlerdir. Yine aynı araştırmacıların bir diğer çalışmasında VEGF ekspresyonu olan tümörlerde olmayanlara göre MVD daha yüksek olduğu görülmüştür (108).

Fontanini ve arkadaşlarının 107 KHDAK'li olguda yaptıkları bir çalışmada p53 ve bcl2 ekspresyonu neovaskülarizasyon ve VEGF ile ilişkili olduğunu göstermişlerdir. P53 ve MVD, VEGF ekspresyonu ile pozitif korelasyon, bcl2 ile ise negatif korelasyon saptanmıştır. Sonuç olarak gerek p53'ün gerekse bcl2'nin tümör anjiogenezinde VEGF aracılı rol oynadığı sonucuna varmışlardır (154)

TGF- $\beta$  için yapılan çalışmanın değerleri ise iyi derece diferansiye vakalarda pozitiflik %78.82, orta derece diferansiye vakalarda pozitiflik %91.40, az diferansiye vakalardaki pozitiflik ise %91.62 olarak bulundu. Böylece KHDAK vakalarında COX-2, VEGF ve TGF- $\beta$  ekspresyonunun, prognostik açıdan kötü patolojik değişikliklerle birlikte olduğunu, yani tümörün diferansiasyonu bozuldukça bunların ekspresyonunun da arttığını gördük.

Biz çalışmamızda artmış COX-2 ekspresyonunun , artmış VEGF ekspresyonu ile beraberlik arzettiğini gördük. COX-2 salınımının baskın olduğu bölgelerin etrafında büyük oranda VEGF ekspresyonu da mevcuttu. Bu bulgular kanser indüklü angiogenesisde koordine bir ekspresyonu desteklemekte ve VEGF ekspresyonunun COX-2 yolu ile regüle edilmiş olabileceğini öne sürmektedir. Çalıştığımız serilerde

COX-2 ve VEGF ekspresyonu TGF- $\beta$  ekspresyonu ile korelasyon göstermemekteydi. Oysaki angiogenezin indüklenmesinde TGF- $\beta$  nın da rolü vardır. Bizim çalışmamız bu açıdan çelişki içermektedir. Çalışmamızda COX-2 nin anjiogenezde önemli bir role sahip olan VEGF ekspresyonu ile yakından ilişkili olduğunu gördük. Bu durum literatür ile uyumlu bulunmuştur.

Aynı zamanda COX-2 ekspresyonunun, anjiogenezde rol oynayan VEGF ile korelasyona sahip olduğunu gördük.

COX-2 ile yapılan immünohistokimyasal çalışmada iyi, orta ve az diferansiye vakalarda immünoreaktivite gösterenlerle (pozitif) göstermeyenler arasında istatistiksel anlam gözlenmiştir. Çalışmamızda iyi ve orta derece diferansiye olgularda , VEGF ile yapılan immünohistokimyasal çalışmada immünoreaktivite gösteren (pozitif) vakalar ile immünoreaktivite göstermeyen (negatif) vakalar arasında istatistiksel anlam gözlenmişken, az diferansiye olgularda istatistiksel anlam bulunamamıştır. TGF- $\beta$  ile yapılan immünohistokimyasal çalışmada ise iyi diferansiye olgularda immünoreaktivite gösteren (pozitif) vakalar ile immünoreaktivite göstermeyen (negatif) vakalar arasında istatistiksel anlam bulunamazken, orta ve az diferansiye vakalarda istatistiksel anlam gözlemlendi.

### **Sonuç olarak**

Prognostik parametreler irdelenerek hüçük hücreli dışı akciğer karsinomları ele alındığında; histolojik tip, diferansiasyon, metastatik lenf nodu sayısı, lenfovasküler invazyon, cerrahi sınırın durumu, tümörün makroskobik çapı gibi progresyonu etkileyen faktörler yanı sıra tümöral dokuda ekspresse edilen COX-2, VEGF ve TGF- $\beta$  nın immünohistokimyasal olarak varlığını ortaya koyup bunların diferansiasyon derecesiyle ilişkisini araştırdık. Amacımız bu çalışmanın bu konuyla ilgili daha kapsamlı klinik çalışmalara bir basamak oluşturmasıdır.

Elde edebildiğimiz yayınlarda bu parametrelerin diferansiasyonlarla ilgili karşılaştırma yapmamışlardır. Günümüzde en önemli prognostik parametre olarak kullanılan verilerle COX-2, VEGF ve TGF- $\beta$  nın ilişkisini araştırılmıştır ve böylece bu parametrelerinde prognostik gösterge olarak kullanılabileceği düşünülmüştür. Bu çalışma bir öncü çalışma olup hastaların klinik yaşam süreleri ile karşılaştırmalı yapılabilecek çalışmalara yardımcı olacağı düşünülmüştür.

Biz çalışmamızda artmış COX-2 ekspresyonunun , artmış VEGF ekspresyonu ile beraberlik arzettiğini gördük. COX-2 salınımının baskın olduğu bölgelerin etrafında büyük oranda VEGF ekspresyonu da mevcuttu. Bu bulgular kanser indüklü



angiogenesisde koordine bir ekspresyonu desteklemekte ve VEGF ekspresyonunun COX-2 yolu ile regüle edilmiş olabileceği düşünülmüştür.. Çalıştığımız serilerde COX-2 ve VEGF ekspresyonu TGF- $\beta$  ekspresyonu ile korelasyon göstermemekteydi. Oysaki angiogenезisin indüklenmesinde TGF- $\beta$  nın da rolü olduğu söylenmektedir. Biz çalışmamızda böyle bir ilişki saptayamadık Bununla birlikte çalışmamızda COX-2 nin anjiogenik vasküler yapı ve VEGF ekspresyonu ile yakından ilişkili olduğunu gördük.

COX-2 inhibitörlerinin endotelial hücrelere direkt etkileriyle anjiogenезisi inhibe ettikleri ve deneysel anjiogenезisin ya non-selektif NSAİD larla ya da selektif COX-2 inhibitörleriyle engellenebileceği gösterilmiştir (154) Bizim sonuçlarımız KHDAK larında anjiogenik vasküler yapı ve VEGF ile iyi bir korelasyona sahip olduğunu göstermektedir. COX-2 VEGF ile meydana gelen anjiogenезis yoluyla tümör büyümesini kolaylaştırabilir.

## SONUÇLAR

- 1-Akciğer kanserleri, bölgemizde erkeklerde en sık görülen kanserdir
- 2-En sık görülen histolojik tip yassı epitel hücreli karsinomdur
- 3-KHDAK'nun en sık görülen yaş aralığı 40-74 olup, ortalama 57 dir.
- 4-yassı epitel hücreli karsinomlarda en sık orta derecede diferansiye tip görülmüştür.
- 5-COX-2 ekspresyonu orta derecede diferansiye tümör tiplerinde en yüksek idi (%80.36)
- 6-COX-2 ekspresyonu ile VEGF arasında belirgin korelasyon mevcuttu.
- 7-TGF- $\beta$  ile COX-2 ve VEGF arasında anlamlı bir ilişki saptanmadı

## KAYNAKLAR

1. Alberg A J, Samet JM. Epidemiology of Lung Cancer. Chest, 2003; 123:21-49
2. Schottenfeld D. Etiology and epidemiology of lung cancer. In Pass H I, Mitchell J B, Johnson D H, Turrisi A T, Minna J D (eds). Lung nCancer 2nd Ed., Philadelphia: Lippicott Williams&Wilkins , 2000;20:367-388.
3. Postmus P A, Kaiser L R, Senior R M (eds). Fishman's Pulmoary Diseases and Disorders. 3rd Ed., New York: Mc Graw Hill, 1998; 108:1707-1717.
4. Roggli VL, Vollmer RT, Greenberg SD, McGavran MH, Spjut HJ, Yesner R. Lung cancer heterogeneity: a blinded and randomized study of 100 consecutive cases. Hum Pathol. 1985 Jun; 16(6): 569-579
5. Quoix E. Prognostic factors in unrtesectionable Non small cell lung cancer. In: Brambilla C, Brambilla E, ed. Lung tumors fundamental biology and clinical management. New York:: Marcel Dekker Inc: 1999: 583-594.
6. Kern AJ, Mclennan G. Genetic and Molecular Changes of Human Lung Cancer In: Fishman's Pulmonary Diseases and Disorders. 3th edition. New York: McGraw-Hill Book Co, 1998;1695-1705.
7. Aikawa H, Takahashi H, Fujimura S et al. Immunohistochemical Study on Tumor Angiogenic Factors in Non-Small Cell Lung Cancer. Anticancer Res 1999; 19: 4305-4310.
8. Leonhardt H. Taschenatlas der Anatomie, Band 2 Innere Organe. Çeviri: Prof.Dr. Aykut Kazancıgil. Anatomi Atlası Karın ve İç Organlar Cilt 2. İstanbul: Arkadaş Tıp Kitapları. 1986: 126-132.
9. Sadler T.W. Langman's Medical Embriology. Çeviri: Doç. Dr. Can Başaklar Langman's Medikal Embriyoloji. Ankara: Palme Yayın Dağıtım Ltd. Şti. Ekim 1993;13: 216-224.
10. Jungueira L. C, Carneiro J, Robert O. K. Basic Histology. Çeviri: Prof. Dr. Yener Aytakin. Temel Histoloji. İstanbul: Barış Kitapçılık, 1998; 17: 344-405.
11. Van Meerbeck JP, Moro D. Bronchocenic carcinoma, Ch.35. Pulmonary Disease Grassi C, Costbel U, Stockley RA, Naeje R, Rodrigez-Roisin R. (ed) McGraw-Hill 1999; sf:325-346.
12. T.C Sağlık Bakanlığı. Kanser istatistikleri. Erişim:www.saglik.gov.tr. Erişim tarihi:21.08.2003.

- 13.Ölüm İstatistikler (il ve ilçe Merkezleri) 1997. T.C. Başbakanlık Devlet İsttistik Enstitüsü. Ankara: DİE Matbaası 1999.
- 14.Mulshine J L. Reducing Lung Cancer Risk. Chest, 1999;116:493-496.
- 15.Field JK. Selection and validation of new lung cancer markers for the molecular-pathological assesment of individuals with a high risk of developing lung cancer. In: brambilla C, Brambilla E, ed. Lung tumors fundamental biology and clinical management. New York: Marcel Dekker Inc. 1999: 287-302.
- 16.Alberg AA, Samet JM. Epidemiology of lung cancer. Chest 2003 Jan; 123 (1) Suppl: 21-49.
- 17.Ceyhan B. Akciğer Kanseri Epidemiyolojisi. Tüberküloz ve Toraks Dergisi 1999 7(2): 237-239.
- 18.Hofer I, Nil R, Wyss F, et al. The Contributions of cigarette yield, consumption, inhalation and puffing behavior to the prediction of smoke exposure. Clin Invest 1992; 70 (3-4): 343-351.
- 19.Gönüllü U. Akciğer kanserleri. Solunum sistemi ve Hastalıkları. Numanoğlu N.(ed) AÜTF Antip A.Ş. Yayınları, Ankara 1997; sf: 593-631.
- 20.Yang G, Liu Z, Seril N D, Liao J, Ding W, Kim S, BONDOC f, Yang S C. Black tea contituents, theaflins, inhibit 4-(methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone (NNK) induced lung tumorigenesis in A/J mice. Carcinogenesis, 1997; 18:2361-2365.
- 21.Smith J T, Yang G, Seril N D, Seril N D, Liao J, Kim S. Inhibition of 4-(methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone induced lung tumorigenesis by dietary olive oil and squalene. Carcinogenesis, 1998; 19:703-706.
- 22.Hastürk S. Akciğer Kanserinin Moleküler Biyolojisi. In Hastürk S, Yüksel M (eds.) Akciğer Kanseri. İstanbul: Bilmedya Grup, 2000; 1:1-27.
- 23.Mao L. Molecular abnormalities in lun carcinogenesis and their potential clinical implicaations. Lung Cancer, 2001; 34:27-34.
- 24.Postmus PE. Epidemiology of Lung Cancer. Fishman's Pulmonary Disease and Disorders, third ed. Fishman AP, Elias JA, Fishman JA, Grippi MA, Kaiser LR; Senior Rm. (ed) McGraw-Hill 1998; sf: 1707-1711
- 25.Rom WN. Asbests related lung disease. In Fishman A P, Elisa J A, Fishman J A, Grippi M A, Kaiser L R, Senior R M (eds). Fishman's Pulmonary Diseases and Disorders. 3rd Ed., New York: Mc Graw Hill, 1998; 57:877-891.
- 26.Postmus PE. Epidemiology of Lung Cancer. Fishman's Pulmonary Disease and Disorders, third ed. Fishman AP, Elisa JA, Fishman JA. Grippi MA, Kaiser LR; Senior RM. (ed) McGraw-Hill 1998; sf:1707-1711.

- 27.İtil O. Akciğer Kanserlerinin Epidemiyolojisi ve etiyolojisi. Haydaroğlu A (ed). Akciğer kanserleri Tanı ve Tedavi. İzmir: Ege Üniversitesi Basımevi 2000; 15-34.
- 28.Ernster VL, Mustachhi P, Osann KE. Epidemiology of lung cancer. In: Murray JF, Nadel JA (eds). Textbook of Respiratory Medicine. 2nd edition. Philadelphia: W.B. Saunders Co, 1994; 1504-1527.
- 29.Ginsberg RJ, Vokes EE, Rosenweig K. Non-small cell lung cancer. Cancer Principles and Practice of Oncology, 6th ed.DeVita VT, Hellman S, Rosenberg SA. (ed) Lippicott Williams and Wilkins: 2001; sf:925-983.
- 30.Hastürk S, Aydılek R. Akciğer Kanseri. Aktüel tıp dergisi Solunum Hastalıkları Sayısı 1999; 4: 180-186.
- 31.Ginsberg RJ, Vokes E, Raben A. Non small cell lung cancer. In: De Vita T, Hellman S, Rosenberg SA (eds). Cancer Principles and Practice of Oncology. 5th ed. Philadelphia: JB Lippicott Co, 1997: 858-911.
- 32.Postmus EP. Epidemiology of lung cancer. In: Fishman AP8ed). Fishman's Pulmonary Diseases and Disorders. 3th edition. New York: McGraw-Hill Book Co, 1998; 1707-17.
- 33.Ursavaş A. Akciğer kanserleri. Özyardımcı N (ed). Akciğer Hastalıkları El Kitabı. Bursa. Uludağ Üniversitesi Basımevi. 2001; 456-492.
- 34.National Cancer İnstitute. SEER Cancer İncidence Database. 1975-1997. August 1999 Submission. Bethesda MD. US Department of Health and Human Services. Public Health Service 2000.
- 35.Beasley MB, Thunnissen FB, Hasleton Ph S, Barbareschi M, Pugatch B, Geisinger K et al. Tumors of the Lung. In: Travis WD, Brambilla E, Müller-Hermelink HK, Haris CH. WHO classification of tumors. Tumors of the Lung, Pleura, Thymus and Heart. Lyon, IARCPress, 2004; 1: 10-64.
- 36.Zeren EH. Akciğer kanserine patolojik yaklaşım. In Hastürk S. Yüksel M. (eds). Akciğer Kanseri. İstanbul: Bilmedya Grup, 2000; sf:29-45.
- 37.Travis W D, Linder J, Mackay B. Classification, histology, cytology and electron microscopy. In Pass H I, Mitchell J B, Jhonson D H, Turrisi A T, Minna J D (eds). Lung Cancer. 2nd Ed., Philadelphia: Lippincott Williams&Wilkins, 2000; 26:453-495.
- 38.Murren J, Glatstein E, Pass HI. Small cell lung cancer. Cancer Principles and Practice of Oncology, 6th ed. DeVita VT, Hellman S, Rosenberg SA. (ed) Lippincott Williams and Wilkins 2001; sf:983-1018.
- 39.Labbede O, Meziane MA, Rice TW. TNM staging of lung cancer. A quick reference chart. Chest 1999, 115:233-235.

- 40.Mountain CF. Revision in the international staging system for staging lung cancer. Chest 1997; 111:1710
- 41.Hermanek P, Hutter R.V.P, Sobin I.H, Wagner G, Wittekind Ch (eds). TNM Atlas. Berlin, New York, Barcelona, Budapest, Hong Kong, London, Milan, Paris, Santa Clara, Singapore, Tokyo: Springer 1999; 153-156.
- 42.Quoix E. Prognostic factors in unresectable non-small cell lung cancer. Lung Tumors. Claude Lenfant (ed), 1997; sf:583-593.
- 43.Göksel T. Küçük Hücreli Dışı Akciğer Kanserlerinde Evreleme ve Prognostik Faktörler. Engin K, Özyrdımcı N (ed). 6. Uludağ Onkoloji Sempozyumu sempozyum ve Konsensus Kitabı. Bursa: özsan matbaacılık Ltd. Şti. 2001;63-77.
- 44.Temeck B .K, Flehinger B .J, Martini N. A retrospective analysis of 10 year survivors from carcinoma of the lung. Cancer 1984;53:1405-1408.
- 45.Harpole D.H, Herndon J.E, Young W.G. Stage 1 nonsmall cell lung cancer. Cancer 1995;76:787-96.
- 46.Lau LC, D'Amico AT, Harpole HD. Clinical and molecular prognostic factors and models for non-small cell lung cancer. In: Pass IH (ed). Lung Cancer. 2nd edition. Philadelphia: Lippincott Williams&Wilkins, 2000; 603-611.
- 47.Goldsmith M.M, Belchis D.A, Cresson D.H, Merritt W.D. The importance of the eosinophil in head and neck cancer. Otol H and Neck Sur 1992;27-33.
- 48.Weidner N. Intratumor microvessel density as a prognostic factor in cancer. Am J Pathol 1995;147:9-19.
- 49.Weidner N, Semple J.P, Welch W.R, Folkman J. Tumor angiogenesis and metastasis-correlation in invasive breast carcinoma. N Eng J med 1991;324:1-8)
- 50.Leek R.D, Lewis C, Whitehouse R, Greenall M. Association of macrophage infiltration with angiogenesis and prognosis in invasive breast carcinoma. Cancer Research 1996;56:4625-29.
- 51.Weidner N. Tumor angiogenesis: Review of current applications in tumor prognostication. Semin Diag Pathol 1993;10:302-313.
- 52.Craft P.S, Haris A.L. Clinical prognostic significance of tumor angiogenesis. Ann of Oncol 1994;5:305-311.
- 53.Bochner B. H, Cote R.J, Weidner N, Groshen S. Angiogenesis in bladder cancer: Relationship between microvessel density and tumor prognosis. J Natl Cancer inst 1995;87:1603-12.

54. Harpole D.H, Richards W.G, Herndon C, Sugarbaker D.J. Angiogenesis and molecular biologic substaging in patients with stage 1 non-small lung cancer. *Ann Thorac Surg* 1996;61:1470-6.
55. Matsuyama K, Chiba Y, Sasaki M, Tanaka H, Muraoka R. Tumour angiogenesis as a prognostic marker in operable non-small cell lung cancer. *Ann Thorac Surg* 1998;65:1405-9.
56. Macchiarini P, Fontanini G, Hardin M.J, Squartini F. Relation of neovascularization to metastasis of non-small cell lung cancer. *Lancet* 1992;340:145-146.
57. Nie D, Tang K, Diglio C, Kenneth V.H. Eicosanoid regulation of angiogenesis: role of endothelial arachidonate 12-lipoxygenase. *Blood* 2000; 95: 2304-2311.
58. Mangi MH, Newland AC. Angiogenesis and angiogenic mediators in haematological malignancies. *Br J Haematol* 2000; 111: 43-51.
59. Ausprunk DH, Folkman J. Migration and proliferation of endothelial cells in preformed and newly formed blood vessels during tumor angiogenesis. *Mikrovasc Res* 1977;15:53-65.
60. Montesano R, Orci L, Vassalli P. In vitro rapid organization of endothelial cells into capillary-like Networks is promoted by collagen matrices. *J Cell Biol* 1983;97:1648-1652.
61. Abulafia O, Sherer DM. Angiogenesis of the endometrium. *Obstet Gynecol* 1999;94:148-53.
62. Berm S, Berm S, Folkman J, Finkelstein D, Patz A. Prolonged tumor dormency by prevention of neovascularization in the vitreous. *Cancer Res* 1976;36:2807-2812.
63. Jain RK. Determinants of tumor blood flow. *Cancer Res* 1988;48:2641-2658.
64. Folkman J. Tumor angiogenesis. In *Cancer: A Comprehensive Treatise*, vol 3. Ed. FF Becker. New York: Plenum Pres, 1975, pp 355-388.
65. Wurschmidt F, Beck-Bornboldt HP, Volger H. Radiobiology of the rhabdomyosarcoma R1H of the size of irradiation field on tumor response, tumor bed effect, and neovascularisation kinetics. *Int J Rad Oncol Biol Phys* 1990;18:879-882.
66. Yamaura H, Yamada K, Matsuzawa T. Radiation effect on the proliferating cell capillaries in rat transparent chamber. *Int J Rad Biol* 1976;30:179-187.
67. Coman DR, Sheldon WF. The significance of hyperemia around tumor implants. *Am J Pathol* 1946;22:821-831.

68. Ide AG, Bake NH, Warren SL. Vaskularization of the Brown-Pearce rabbit epithelioma transplant as seen in the transparent ear chamber. *Am J Roentgenol* 1939;42:891-899.
69. Algire GH, Chalkely HW, Legallais FY, Park H. Vascular reactions of normal and malignant tumors in vivo: I. Vascular reactions of mice to wounds and to normal and neoplastic transplants. *JNCI* 1945;6:73-85.
70. Folkman J. Tumor angiogenesis: therapeutic implications. *N Engl J Med* 1971;285:1182-1186.
71. Folkman J. The vaskularisation of tumors. *Sci Am* 1976;234:58-73.
72. Folkman J. Angiogenesis. In: *Biology of endothelial cells*. Ed. EA Jaffe. Boston: Nijhoff, 1984, pp 412-428.
73. Paulus W, Grothe C, Sensenbrenner M, Janet T, Bauer I, Graf M, et al. Lokalization of basic fibroblast growth factor, a mitogen and angiogenic factor, in human brain tumors. *Acta Neuropathol* 1990;79:418-423.
74. Schulze-Osthoff K, Risau W, Volmer E, Sorg C. In situ detection of basic growth factor by highly spesific antibodies. *Am J pathol* 1990;137:85-92.
75. Folkman J. Tumor angiogenesis. In *The Molecular Basis of cancer*. Edited by Mendelsohn, PM Howley, MA Israel, LA Liotta. Philadelphia: Saunders, 995, pp 206-232.
76. Connolly DT. Vascular permeability factor: a unique regulator of blood vessel function. *J Cell Biochem* 1991;47:219-223.
77. Dvork HF, Sioussat TM, Brown LF, et al. Distribution of vascular permeability factor (vascular endothelial growth factor) in tumors: concentration in tumor blood vessels. *J Exp Med* 1991;174:1275-1278.
78. Ferrera N, Houck K, Jakeman L, Leung DW. Molecular and biological properties of the vascular endothelial growth factor family proteins. *Endocr Rev* 1992;13:18-32
79. Kalebic T, Gabrisa S, Glaser B, Liotta LA. Basement membrane collagen: degradation by migrating endothelial cells. *Science* 1983;221:281-283.
80. Moscatelli D, Gross JL, Rifkin DB. Angiogenic factors stimulate plasminogen activator and collagenase production by capillary endothelial cells (Abstract). *J Cell Biol* 1981;91:201a.
81. Nagy JA, Brown LF, Senger DR, Lanir R, Van De Water L, Dvorak AM et al . Pathogenesis of tumor stroma generation: a critical role for leaky blood vessels and fibrin deposition. *Biochim Biophys Acta* 1989;948:305-326.



82. Kandel J, Bossy-Wetzel E, Radvanyi F, Klagsbrum M, Folkman J, Hanahan D. Neovascularization is associated with a switch to the export of BFGF in the multistep development of fibrosarcoma. *Cell* 1991;66:1095-104.
83. Kim KJ, Li B, Winer J. Inhibition of vascular endothelial growth factor-induced angiogenesis suppresses tumor growth in vivo. *Nature* 1993;362:841-4.
84. Folkman J, Klagsbrum M. Angiogenic factors. *Science* 1987;235:442-7.
85. O'Reilly MS, Holmgren L, Chen CC, Folkman J. Angiostatin induces and sustains dormancy of human primary tumors in mice. *Nat Med* 1996;2:689-92.
86. O'Reilly MS, Boehm T, Shing Y, Fukai N, Vasios G, Lane WS, et al. Endostatin: *Cell* 1997;88:277-85.
87. Polverini PJ, Leibovich SJ. Induction of neovascularization in vivo and endothelial proliferation in vitro by tumor associated macrophages. *Lab Invest* 1984;51:635-42.
88. Folkman J. What is the evidence that tumors are angiogenesis dependent? *J Natl Cancer Inst* 1990;82:4-6.
89. Guidi AJ, Fischer L, Harris JR, Schnitt SJ. Microvessel density and distribution in ductal carcinoma in situ of the breast. *JNCI* 1994;86:614-619.
90. Pepper MS, Montesano R. Proteolytic balance and capillary morphogenesis. *Cell Differ Dev* 1990;32:319-328.
91. Holmgren L, O'Reilly MS, Folkman J. Dormancy of micrometastases: balanced proliferation and apoptosis in the presence of angiogenesis suppression. *Nature Med* 1995;1:149-153.
92. Weidner N, Semole JP, Welch WR, Folkman J. Tumor angiogenesis correlates with metastasis in invasive breast carcinoma. *N Engl J Med* 1991;324:1-8
93. Nicoisa RF, Tchoa R, Leighton J. Interactions between newly formed endothelial channels and carcinoma cells in plasma clot culture. *Clin Exp Metastasis* 1986;4:91-104.
94. Folkman J, Hochberg M. Self-regulation of growth in three dimensions. *J Exp Med* 1973;138:745-753.
95. Hamada J, Cavanaugh PG, Lotan O, Nicolson GL. Separable growth and migration factors for large-cell lymphoma cells secreted by microvascular endothelial cells derived from target organs for metastasis. *Br J cancer* 1992;66:349-354.
96. Weinstat-Saslow D, Steeg PS. Angiogenesis and colonisation in the tumor metastatic process: basic and applied advances. *FASEB J* 1994;8:401-407.

97. Nicolson GL. Organ specificity of tumor metastasis: role of preferential adhesion, invasion and growth of malignant cells at specific secondary sites. *Cancer Metastasis Rev* 1988;7:143-188.
98. Liotta LA, Saidel MG, Kleinerman J. The significance of hematogenous tumor cell clumps in the metastatic process. *Cancer Res* 1976;36:889-894.
99. Albo D, Granick MS, Jhala N, Atkinson B, Solomon MP. The relationship of angiogenesis to biological activity in human squamous cell carcinomas of the head and neck. *Ann Plast Surg* 1994;32:588-94.
100. Barnhill RL, Fandrey K, Levy MA, Mihm MC Jr, Hyman B. Angiogenesis and tumor progression of melanoma. Quantification of vascularity in melanocytic nevi and cutaneous malignant melanoma. *Lab Invest* 1992;67:332-337
101. Brawer MD, Keering RE, Brown M, Preston SD, Bigler SA. Predictors of pathologic stage in prostatic carcinoma. *Cancer* 1994;73:678-687.
102. Chodak GW, Hospelhorn V, Judge SM, Mayforth R, Koeppen H, Sasse J. Increased levels of fibroblast growth factor-like activity in urine from patients with bladder or kidney cancer. *Cancer Res* 1988;48:2083-2088.
103. O'Brein T, Cranston D, Fuggle S, Bicknell R, Harris AL. Different angiogenic pathways characterize superficial and invasive bladder cancer. *Cancer Res* 1995;55:510-513.
104. Shweiki D, Neman M, Itin A, Keshed E. Induction of vascular endothelial growth factor expression by hypoxia and by glucose deficiency in multicell spheroids: implications for tumor angiogenesis. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995;92:768-772.
105. Teicher BA, Sotomayor EA, Huang ZD. Antiangiogenic agents potentiate cytotoxic cancer therapies against primary and metastatic disease. *Cancer Res* 1992;52:6207-6204.
106. Teicher BA, Holden SA, Ara G. Potentiation of cytotoxic cancer therapies by TNP-470 alone and with other anti-angiogenic agents. *Int J Cancer* 1994;57:920-925.
107. O'Byrne KJ, Koukourakis MI, Giatromanolaki A, Cox G, Turley H, Steward WP, Gatter K, Harris AL. Vascular endothelial growth factor, platelet-derived endothelial cell growth factor and angiogenesis in non small cell lung cancer. *Br J Cancer* 2000; 82:1427-1432.
108. Pezella F, Gatter KC, Pastorino U. Angiogenesis In lung cancer In: Brambilla C, Brambilla E, ed. *Lung tumors fundamental biology and clinical management*. New York: Marcel Dekker Inc. 1999:383-398.

109. Fontanini G, Vignati S, Lucchi M, Mussi A, Calcinai A, Boldrini L, Chine S, Silvestri V, Angeletti CA, Basolo F, Bevilacqua G. Neogenesis and p53 protein in lung cancer: their prognostic role and their relation with vascular endothelial growth factor (VEGF) expression. *Br J Cancer* 1997;75:1295-1301.
110. Aikawa H, Takahashi H, Fujimura S, Sato M, Endo C, Sakurada A, Kondo T, Tanita T, Matsumura Y, Ono S, Saito Y, Sagawa M. Immunohistochemical study on tumor angiogenic factors in non small cell lung cancer. *Anticancer research* 1999;19:4305-4310.
111. Fontanini G, Boldrini L, Chine S, Pisaturo F, Basolo F, Calcinai A, Lucchi M, Mussi A, Angeletti CA, Bevilacqua G. *Br J Cancer* 1999;79:363-369.
112. Rak J, Yu JL, Klement G, Kerbel RS. Oncogenes and angiogenesis: signaling three-dimensional tumor growth. *J Invest Derm Symposium Proc* 2000;5:24-33.
113. Fernandes AM, Hamburger AW, Gerwin BI. Production of epidermal growth factor related ligands in tumorigenic and benign human lung epithelial cells. *Cancer letters* 1999;142:55-63.
114. Perz-Soler R, Mendelson J. Growth factor receptors as a target for therapy. In: Roth JA, Cox JD, Hong WK eds. *Lung cancer*. 2nd ed. Blackwell science Inc. 1998;309-341.
115. Siegfried JM, Demichele MAA, Davis AG, Gubish CT, Singh-Kaw P. Growth factors and receptors in Non small cell lung cancer. In: Brambilla C, Brambilla E, ed. *Lung tumors fundamental biology and clinical management*. New York: Marcel Dekker Inc. 1999;.317-336.
116. Rabsiasz GJ, Langdon SP, Bartlett JMS, Crew AJ, Miller EP, Scott WN, Smyth JF, Miller WR. Growth control by epidermal growth factor and transforming growth factor- $\alpha$  in human lung squamous cells. *Br J Cancer* 1992;66:254-259.
117. Takanami I, Imamura T, Hashizume T, Kikuchi K, Yamamoto Y, Yamamoto T, Kodaira S. Expression of PDGF, IGF-II, bFGF and TGF- $\beta$ 1 in pulmonary adenocarcinoma. *Path Res Pract* 1996;192:1113-1120.
118. Hasipek S. Akciğer kanserinin moleküler biyolojisi. In: Hastürk S, Yüksel M ed, *Akciğer Kanseri*. İstanbul 2000:1-27.
119. Hasegawa Y, Takanashi S, Kanehira Y, Tsushima T, Imai T, Okumura K. Transforming growth factor-B1 level correlates with angiogenesis, tumor progression, and prognosis in patients with nonsmall cell lung carcinoma. *Cancer* 2000;91:964-971.

120. Takanami I, Tanaka F, Hashizume T, Kikuchi K, Kodaira S. Roles of transforming growth factor-B1 and its type I and II receptors in the development of a pulmonary adenocarcinoma: results of an immunohistochemical study. *J Surg Oncol* 1997;64:262-267.
121. Takanami I, Tanaka F, Hashizume T, Kikuchi K, Yamamoto Y, Yamamoto T, Kodaira S. Transforming growth factor-b isoforms expressions in pulmonary adenocarcinomas as prognostic markers. *Oncology* 1997;54:122-128.
122. Colasante A, Mascetra N, Brunetti M, Lattanzio G, di yotoro M, Caltagirone S, Musiani P, Aiello FB. Transforming growth factor-B1, interleukin-8 and interleukin-1 in nonsmall cell lung tumors. *Am J Crit Care Med* 1997;156:968-973.
123. Hannekan A, Maher P, Baird A. High affinity immunoreactive FGF receptors in the extracellular matrix of vascular endothelial cells-implications for the modulation of FGF-2. *J Cell Biol* 1995;128:1221-1228.
124. Cox G, Jones JL, Walker RA et al. Angiogenesis and non-small cell lung cancer. *Lung Cancer* 2000;27:81-100.
125. Ohta Y, Watanabe Y. Current Concept of Angiogenesis Related to Primary Lung Cancer. In: Pass IH (ed). *Lung Cancer*. 2nd edition. Philadelphia: Lippincott Williams-Wilkins, 2000;199-210.
126. Roman J. Cellular Mechanisms of Lung Development. In: Fishman AP(ed). *Fishman's Pulmonary Diseases and Disorders*. 3th edition. New York: McGraw-Hill Book Co, 1998; 73-89.
127. König EJ, Tolnay E, Wiethage T et al. Co-Expression of Vascular Endothelial Growth Factor and Its Receptor flt-1 in Malignant Pleural Mesothelioma. *Respiration* 2000; 67:36-40.
128. Giatromanolaki A. Prognostic Role of Angiogenesis in Non-Small Cell Lung Cancer. *Anticancer Res* 2001;21:4373-4382.
129. Kraft A, Weindel K, Ochs A et al. Vascular endothelial growth factor in the sera and effusions of patients with malignant and nonmalignant disease. *Cancer* 1999;178-187.
130. Freeman MR, Schneck FX, Gagnon ML et al. Peripheral blood T lymphocytes and lymphocytes infiltrating human cancer Express vascular endothelial growth factor: A potential role for T Cells in angiogenesis. *Cancer Res* 1995;55:4140-4145.
131. Poon RTP, Fan TS, Wong J. Clinical Implications of Circulating Angiogenic Factors in Cancer Patients. *J Clin Oncol* 2001;19:1207-1225.

132. Yamamoto Y, Toi M, Kondo S et al. Concentrations of vascular endothelial growth factor in the sera of normal controls and cancer patients. *Clin Cancer Res* 1996;2:821-826.
133. Poon RTP, Ng IOL, Lau C et al. Serum vascular endothelial growth factor predicts venous invasion in hepatocellular carcinoma. A prospective study. *Ann Surg* 2001;233:227-235.
134. Landriscina M, Cassano A, Ratto C et al. Quantitative analysis of basic fibroblast growth factor and vascular endothelial growth factor in human colorectal cancer. *Br j cancer* 1998;78:765-770.
135. Verheul HMW, Hoekman K, Bakker SL et al. Platelet transporter of vascular endothelial growth factor. *Clin Cancer res* 1997;3:2187-2189.
136. Banks RE, Forbes MA, Kinsey SE et al. Release of the angiogenic cytokine VEGF from platelets: Significance for Vascular Endothelial Growth Factor measurements and cancer biology. *Br J Cancer* 1998;77:956-964.
137. Dubois RN, Abramson SB, Crofford L, et al. Cyclooxygenase in biology and disease. *FASEB J* 1998;12:1063-73.
138. Smith WL, Garavito RM, DeWitt DL. Prostaglandin endoperoxide H synthases (cyclooxygenases)-1 and -2. *J Biol Chem* 1996;271:33157-60.
139. Jones DA, Carlton DP, McIntyre TM, Zimmerman GA, Prescott SM. Molecular cloning of human prostaglandin endoperoxide synthase type II and demonstration of expression in response to cytokines. *J Biol Chem* 1993;268:9049-54.
140. Ristimaki A, Honkanen N, Jankala H, Sipponen P, Harkonen M. Expression of cyclooxygenase-2 in human gastric carcinoma. *Cancer Res* 1997;57:1276-80.
141. Zimmermann KC, Sarbia M, Weber AA, Borchard F, Gabbert HE, Schror K. Cyclooxygenase-2 expression in human esophageal carcinoma. *Cancer Res* 1999;59:198-204.
142. Masunaga R, Kohno H, Dhar DK, et al. Cyclooxygenase-2 expression correlates with tumor neovascularization and prognosis in human colorectal carcinoma patients. *Clin Cancer Res* 2000;6:4064-8.
143. Wolff H, Saukkonen K, Anttila S, Karjalainen A, Vainio H, Ristimaki A. Expression of cyclooxygenase-2 in human lung carcinoma. *Cancer Res* 1998;58:4997-5001.
144. Hasturk S, Kemp B, Kalapurakal SK, Kurie JM, Hong WK, Lee JS. Expression of cyclooxygenase-1 and cyclooxygenase-2 in bronchial epithelium and nonsmall cell lung carcinoma. *Cancer* 2002;94:1023-31.

- 145.Hosomi Y, Yokose T, Hirose Y, et al. Increased cyclooxygenase-2 (COX-2) expression occurs frequently in precursor lesions of human adenocarcinoma of the lung. *Lung Cancer* 2003;30:73-81.
- 146.Rioux N, Castonguay A. Prevention of NNK-induced lung tumorogenesis in A/J mice by acetylsalicylic acid and NS-398. *Cancer Res* 1998;58:5354-60.
- 147.Marrogi AJ, Travis WD, Welsh JA, et al. Nitric oxide synthase, cyclooxygenase-2, and vascular endothelial growth factor in the angiogenesis of non-small cell lung carcinoma. *Clin Cancer Res* 2006;6:4739-44.
- 148.Folkman J. Tumor angiogenesis: therapeutic implication. *New Engl J. Med* 1971;285:1182-6.
- 149.Folkman J, Klagsbrun M. Angiogenic factors. *Science* 1987;235:442-7.
- 150.Cheng T, Cao W, Wen R, Steinberg RH, LaVail MM. Prostaglandin E2 induces vascular endothelial growth factor and basic fibroblast growth factor mRNA expression in cultured rat Muller cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1998;39:581-91.
- 151.Ben-Av P, Crofford LJ, Wilder RL, Hla T. Induction of vascular endothelial growth factor expression in synovial fibroblast by prostaglandin E and interleukin-1:a potential mechanism for inflammatory angiogenesis. *FEBS Lett* 1995;372:83-7.
- 152.Weibel ER. Stereological principles for morphometry in electron microscopic cytology. *Int Rev Cytol.* 1969;26:235-302.
- 153.Gundersen HJG. Stereology of arbitrary particles. *J Microsc* 1986; 143: 3-45.
- 154.Majima M, Hayashi I, Muramatsu M, Katada J, Yamashina S, Katori M. Cyclooxygenase-2 enhances basic fibroblast growth factor-induced angiogenesis through induction of vascular endothelial growth factor in rat sponge implants. *Br J Pharmacol* 2000;130:641-9.
- 155.Sapiro SG, Porter JC: Lung cancer-Where are we today? Current advances in staging and nonsurgical treatment. *Am J Respir Crit Care Med* 2002;166:1166-96.
- 156.Parkin GM, Pisani P, Ferlay J. Global cancer statistics. *CA Cancer J Clin* 1999;49:33-64.
- 157.Kanser bildirimlerinin değerlendirilmesi 1993-1994. T.C. Sağlık Bakanlığı Kanser Savaşı Daire başkanlığı. Yayın no 582, Ankara 1997.
- 158.Çelik İ. Akciğer kanserinde epidemiyoloji. In: Engin K, Özyardımcı N; eds. Akciğer kanserleri. Tanı ve tedavide temel ilkeler ve uygulamalar. İstanbul: Avrupa Tıp Kitapçılık Ltd. Şti.;2001:50-56.
- 159.Radzikowska E, Raszkowski K, Glaz P. Lung cancer in patients under 50 years old. *Lung Cancer* 2001;33:203-11.

160. Turkish Thoracic Society, Lung and Pleural Malignancies Study Group. Pattern of lung cancer in Turkey 1994-1998. *Respiration* 2002;69:207-10.
161. Çırak K, Tatar D, Özacar R, Halilçolar H. 40 yaş altı akciğer kanseri olgularımız. XXI. Ulusal Türk Tüberküloz ve Göğüs Hastalıkları Kongresi Kitabı 1996;417-22.
162. Hida T, Yatabe Y, Achiwa H, et al. Increased expression of cyclooxygenase-2 occur frequently in human lung cancer, specifically in adenocarcinomas. *Cancer Res.* 1998;58:3761-3764.
163. Achiwa H, Yatabe Y, Hida T, et al. Prognostic significance of elevated cyclooxygenase 2 expression in primary, resected lung adenocarcinomas. *Clin Cancer Res.* 1999;5:1001-1005.
164. Khuri F, Wu H, Lee JJ, et al. Cyclooxygenase-2 overexpression is a marker of poor prognosis in stage I non-small cell lung cancer. *Clin Cancer Res.* 2001;7:861-867.
165. Barbender J, Park JM, Metzger R, et al. Prognostic significance of cyclooxygenase 2 mRNA expression in non-small cell cancer. *Ann Surg.* 2002;235:440-443.
166. Hida T, Leyton J, Makheja AN, et al. Non-small cell lung cancer cyclooxygenase activity and proliferation are inhibited by non-steroidal antiinflammatory drugs. *Anticancer Res* 1998;18:775-82.,
167. Soslow RA, Dannenberg AJ, Rush D, et al. COX-2 is expressed in human pulmonary, colonic, and mammary tumors. *Cancer* 2000;89:2637-45.
168. Shibusa T, Shijubo N, Abe S. Tumor angiogenesis and vascular endothelial growth faktor expression in stage 1 lung adenocarcinoma *Clin Cancer Research* 1998;4:1483-1487
169. Fontanini G, Vignati S, Boldrini L, Chine S, Silvestri V, Vascular endothelial growth factor is associated with neovascularization and influences progression of non small cell lung carcinoma. *Clinical Cancer Research* 1997;3:861-865.
170. Volm M, Koomagi R, Mattern J, PD-ECGF, bFGF, and VEGF Expression in Non-Small Cell Lung Cancer. *Anticancer Res* 1999; 19:4305-4310.
171. Aikawa H, Takahashi H, Fujimura S et al. Immunohistochemical Study on Tumor Angiogenic Factors in Non-Small Cell Lung cancer. *Anticancer Res* 1999; 19:651-656.