

T.C.  
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ  
GÖĞÜS HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

**PLEVRAL EFÜZYONLARDA TÜMÖR  
BİYOLOJİSİNİN VE BİYOBELİRTEÇLERİN  
ARAŞTIRILMASI**

**DR. BEGÜM GÖRGÜLÜ**  
UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANI  
PROF. DR. ATİLA AKKOÇLU  
PROF. DR. OĞUZ KILINÇ

İZMİR-2016

T.C.  
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ  
GÖĞÜS HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

**PLEVRAL EFÜZYONLARDA TÜMÖR  
BİYOLOJİSİNİN VE BİYOBELİRTEÇLERİN  
ARAŞTIRILMASI**

DR. BEGÜM GÖRGÜLÜ  
UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANI  
PROF. DR. ATILA AKKOÇLU  
PROF. DR. OĞUZ KILINÇ

Bu araştırma DEÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi  
tarafından 2015. KB. SAG. 007 sayı ile desteklenmiştir.

## TEŞEKKÜR

Tezimin hazırlanması aşamasında, değerli görüş ve önerileri ile yol gösteren tez danışmanım Prof. Dr. Atila Akkoçlu'ya, tezin her aşamasında yanımda olan ve desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen Prof. Dr. Safiye Aktaş'a katkılarından dolayı teşekkür ederim.

Uzmanlık eğitimim süresince bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım Anabilim Dalı Başkanımız Prof. Dr. Oğuz Kılınç, çok değerli hocalarım Prof. Dr. Eyüp Sabri Uçan, Prof. Dr. Arif Hikmet Çımrın, Prof. Dr. Oya İtil, Prof. Dr. Can Sevinç, Doç. Dr. Aylin Özgen Alpaydın, Öğretim Görevlisi Uzman Doktor Kemal Can Tertemiz, Öğretim Görevlisi Uzman Doktor Begüm Ergan ve her konuda bizlere yardımcı olan Uzman Doktor Özge Oral Tapan, Uzman Doktor Gökçen Ömeroğlu Şimşek'e teşekkür ederim.

Tezimde çok emekleri olan Dokuz Eylül Üniversitesi Temel Onkoloji Anabilim Dalı üyelerinden Doç. Dr. Zekiye Sultan Altun, Araş. Gör. Ayşe Pınar Erçetin, Araş. Gör. Ayşe Banu Demir ve Lis. Üst. Öğr. Ayça Pamukoğlu'na çok teşekkür ederim.

Klinikte beraber çalışmaktan mutluluk duyduğum, zor zamanlarda hep yanımda olan sevgili asistan arkadaşlarıma ve asistanlığımın en zor günlerinde her zaman desteğini gördüğüm sevgili anneme, babama, kardeşime çok teşekkür ederim.

Sonsuz saygı ve sevgilerimle...

## İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR .....	I
İÇİNDEKİLER.....	II
TABLO LİSTESİ .....	IV
ŞEKİL LİSTESİ .....	VI
KISALTMALAR .....	VII
ÖZET .....	1
ABSTRACT .....	2
1.GİRİŞ –AMAÇ.....	3
2. GENEL BİLGİLER.....	4
2.1. Plevranın Anatomisi ve Fizyolojisi.....	4
2.2 Plevral Efüzyon Oluşumu ve Absorbsiyonu.....	6
2.3. Plevral Efüzyonların Patogenezi.....	7
2.4. Plevral Efüzyonlu Hastaya Yaklaşım.....	8
2.5. Plevral Efüzyonun Biyokimyasal ve Hücresele Analizi.....	10
2.6. Plevral Efüzyonda Transuda –Eksuda Ayrımı.....	11
2.7. Plevral Efüzyonlarda Bakılan Biyokimyasal Belirteçler .....	14
2.8. Plevral Efüzyonların Sitolojik Değerlendirilmesi.....	16
2.9. Malign Plevral Efüzyonların Etyolojisi .....	17
2.10. Paramalign Plevral Efüzyonlar .....	18
2.11. Malign Plevral Efüzyona Tanısal Yaklaşım .....	20
2.12. Malign Plevral Efüzyonlarda Sitopatoloji .....	22
2.13. Malign Plevral Efüzyonlarda İmmunhistokimya.....	23

3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	27
3.1. RT-PCR Array Analizi.....	28
3.2. Verilerin Analizi.....	29
4.BULGULAR .....	30
4.1. Olguların Genel Özellikleri .....	30
4.2. Real Time PCR Bulguları .....	35
5.TARTIŞMA.....	52
6. SONUÇLAR.....	57
7.EKLER .....	59
7.1.Dokuz Eylül Üniversitesi Onkoloji Enstitüsü Temel Onkoloji Anabilim Dalı Laboratuvarında Mevcut Olanaklar .....	59
7.2. Etik Kurul Onay Formu .....	61
7.3.Gönüllü Bilgilendirme Formu .....	62
8. KAYNAKÇA .....	66

## TABLÖLAR

<b>Tablo 1:</b> Plevra Sıvısı İçeriği .....	6
<b>Tablo 2:</b> Plevral Sıvı Nedenleri .....	8
<b>Tablo 3:</b> Transudatif Plevral Efüzyon Nedenleri.....	12
<b>Tablo 4:</b> Eksüdatif Plevral Efüzyon Nedenleri.....	13
<b>Tablo 5:</b> Düşük Glukoz Düzeyi Gözlenen Durumlar .....	14
<b>Tablo 6:</b> Metastatik Malign Plevral Efüzyon Nedenleri.....	18
<b>Tablo 7:</b> Paramalign Plevral Efüzyon Nedenleri .....	19
<b>Tablo 8:</b> PCR Array Analizi ile Bakılan Genler.....	29
<b>Tablo 9:</b> Olguların Demografik ve Klinik Özellikleri .....	30
<b>Tablo 10:</b> Olguların Sağkalım Süreleri.....	33
<b>Tablo 11:</b> Patoloji Raporlarına Göre Olguların Dağılımı .....	33
<b>Tablo 12:</b> Primer Malignite Alt Gruplarına Göre Patoloji Raporuyla Malign Efüzyon Saptanma Oranları .....	34
<b>Tablo 13:</b> PCR Array Yöntemi ile Bakılan Belirteçler.....	35
<b>Tablo 14:</b> Malignitelerin PCR Array ile Kalretinin Sonuçları .....	39
<b>Tablo 15:</b> Malignitelerin PCR Array ile TTF-1 Sonuçları .....	40
<b>Tablo 16:</b> Malignitelerin PCR Array ile Napsin A Sonuçları .....	41
<b>Tablo 17:</b> Malignitelerin PCR Array ile CK-7 sonuçları .....	42
<b>Tablo 18:</b> Malignitelerin PCR Array ile ER Sonuçları.....	43
<b>Tablo 19:</b> Malignitelerin PCR Array ile CgA Sonuçları .....	44
<b>Tablo 20:</b> Malignitelerin PCR Array ile LCA Sonuçları.....	45
<b>Tablo 21:</b> Malignitelerin PCR Array ile CD 3 Sonuçları .....	46
<b>Tablo 22:</b> Malignitelerin PCR Array ile CK-5 Sonuçları.....	47

<b>Tablo 23:</b> Malignitelerin PCR Array ile CD 19 Sonuçları .....	48
<b>Tablo 24:</b> Malignitelerin PCR Array ile Sinaptofizin(SYN) Sonuçları .....	49
<b>Tablo 25:</b> PCR Array Sonuçlarının Maligniteyi Destekleme Yüzdeleri .....	50
<b>Tablo 26:</b> PCR Array ile Patoloji Sonuçlarının Karşılaştırılması.....	51



## ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1:Çalışma düzeni .....	27
Şekil 2 : Çalışmaya Dahil Olan Grubun Benign-Malign Hastalık Dağılımı.....	31
Şekil 3: Malign Gruptaki Olguların Kanser Türlerinin Dağılımı.....	32





## KISALTMALAR

**ADA:** Adenozin Deaminaz

**AF:** Atrial Fibrilasyon

**APUD:** Dekarboksilasyon amin alımı

**BHR:** B Hücre Reseptörü

**BT:** Bilgisayarlı Tomografi

**CEA:** Karsinoembriyonik Antijen

**Cg A:** Kromogranin A

**CK 5/6:** Sitokeratin 5/6

**CK7:** Sitokeratin 7

**CK20:** Sitokeratin 20

**DEÜ:** Dokuz Eylül Üniversitesi

**EGFR:** Epidermal Büyüme Faktör

Reseptörü

**ER:** Östrojen Reseptörü

**HB:** Hidrostatik Basınç

**HT:** Hipertansiyon

**INCI:** İntranükleer Sitoplazmik

İnklüzyonları

**ITAM:** İmmünoresptör Tirozin Temelli

Aktivasyon Motifleri

**KHAK:** Küçük Hücreli Akciğer Kanseri

**KHDAK:** Küçük Hücreli Dışı Akciğer

Kanseri

**LCA-CD45:** Lökosit Ortak Antijeni

**KKY:** Konjestif Kalp Yetmezliği

**KOAH:** Kronik Obstrüktif Akciğer

Hastalığı

**LDH:** Laktik Dehidrogenaz

**MRG:** Manyetik Rezonans Görüntüleme

**NSE:** Nöron Spesifik Enolaz

**PA:** Posteroanterior

**pH:** Power of Hydrogen

**PTE:** Pulmoner Tromboemboli

**RT -PCR:** Gerçek Zamanlı Polimeraz

Zincir Reaksiyonu

**SLE:** Sistemik Lupus Eritematozus

**SYN:** Sinaptofizin

**THR:** T Hücre Reseptörü

**TTF1:** Tiroid Transkripsiyon Faktör-1

**USG:** Ultrasonografi

**VEGF:** Vasküler Endotelial Büyüme

Faktörü

**VKSS:** Vena Kava Süperior Sendromu

## ÖZET

**Amaç:** Plevral sıvılar; pnömoni, kanser, kalp yetmezliği, tüberküloz olmak üzere çeşitli hastalıklarda oluşabilirler. Bu çalışmada nükleik asit çoğaltma yöntemi ile malign ve benign nedenli plevral sıvılarda farklı biyobelirteçlerin araştırılması ve tanıya katkısının değerlendirilmesi amaçlandı.

**Gereç-yöntem:** Plevral sıvı örnekleri DEÜ Tıp Fakültesi Göğüs Hastalıkları Anabilim Dalı ile Göğüs Cerrahisi Anabilim Dalı'na başvuran ve ayırıcı tanı için plevral sıvı örneği alınması gereken 79 olgudan elde edildi. Bu olgulardan 54 tanesinin plevra sıvı örneği Temel Onkoloji laboratuvarında analiz edildi. Teknik olarak nükleik asit çoğaltma yöntemlerinden Real-time PCR analizi ile 11 adet genin ekspresyonuna bakılarak biyobelirteçler değerlendirildi.

**Bulgular:** Çalışmaya alınan 54 olgunun 45'inde (%83) kanser tanısı vardı. Benign plevral sıvı saptanan olguların 4'ü parapnömoni, 2'si kalp yetmezliği, 1'i sarkoidozdu. İki olguda altta yatan hastalık yoktu. Malignitelerin dağılımına bakıldığında ilk sırada %34 ile akciğer adenokarsinomu, ikinci sırada ise %24 ile meme kanseri vardı. Akciğer adenokarsinomlu olguların %47'sinde TTF1 ve %67'sinde napsin A pozitifliği saptandı. Akciğer skuamöz hücreli karsinom olgularının da %67'sinde hem napsin A hem de TTF1 pozitifliği saptandı. Meme kanserli olguların %45'inde ER pozitifliği. Başlangıçta ER pozitif olup hormonoterapi alan ve sonrasında plevral sıvı gelişen 4 olguda yapılan sıvı analizinde ER negatif, CK7 pozitif saptandı. Hormonoterapi alan meme kanserli olgularda, ER-/CK7+ agresif tümör altgrubunun plevraya metastaz yaptığı düşünüldü.

**Sonuç:** Çalışmamızın sonuçları değerlendirildiğinde, klinik olarak yüksek olasılıkla malign plörezili olduğu düşünülen (primer tümörü nedeniyle tedavi alan veya opere edilen) olgularda patolojik tetkik sonucu negatif ise ileri inceleme (primer hücre kültürü, PCR analizi) yapılmasının tanıya yardımcı olacağını düşünüyoruz. Patoloji sonucu pozitif olanlarda ise, primer tümör-plevral metastaz ilişkisini saptamada tümöre spesifik biyobelirteçlerin tanıya katkı sağlayacağını düşünüyoruz.

## ABSTRACT

**Background:** Pleural fluid accumulates in various diseases. The most common causes of pleural effusions are pneumonia, tuberculosis, cancer and heart failure. The aim of our study is to investigate different biomarkers in pleural fluid and using these biomarkers in the diagnosis of various diseases. Nucleic acid amplification method is to evaluate the contribution of different biomarkers and diagnostic investigation in malignant and benign pleural effusion in this study.

**Material and methods:** Pleural fluid samples were obtained from 79 patients in DEU Faculty of Medicine (Department of Chest Diseases and Thoracic Surgery ), who applied for various reasons and should be taken for the differential diagnosis of pleural fluid samples. Fifty four patients's pleural fluid samples were studied in Dokuz Eylül University Institute of Oncology Department of Basic Oncology laboratory. Expression of 11 genes were evaluated by real-time PCR analysis.

**Results:** In the study, 45 of the patients (83.3%) had various cancers, while 16.7% did not. Four of the cases had parapneumonic pleural fluid and two cases were related to heart failure, one case with pleural fluid connected to sarcoidosis and two cases were with chronic pleuritis. Lung adenocarcinoma was the first among overall malignancies (33.6%). Breast cancer was the second most common malignancy by 24.4% ratio in overall malignancies. In 46.7% of patients with lung adenocancer was detected to be TTF 1 positive and 66.7% of patients with lung adenocancer was detected to be Napsin A positive. In 66.6% of patients with lung squamous cell carcinoma was detected to be TTF1 low positive and Napsin A positive 45% of breast cancer cases were positive for ER. Four patients after chemotherapy were ER negative and CK7 positive in pleural efusion. Determining ER / CK7 + suggests subgroup of aggressive metastatic tumors to the pleura.

**Conclusion:** If pathological examination of case is negative, we think further examination (primary cell cultures, PCR analysis) help to the diagnosis in the high clinic probability of malignant pleural effusion (as a therapy or surgery for primary tumors). If the result is positive in the pathology, we recommend studing tumor-specific biomarkers in patients with malignant effusions in relation of primary tumors - pleural metastasis.

## 1. GİRİŞ VE AMAÇ

Plevral sıvılar; pnömoni, kanser, kalp yetmezliği, tüberküloz olmak üzere çeşitli hastalıklarda oluşabilirler. Bu hastalıklardan malign plörezilerin ayırıcı tanısında primer tümöre yönelik olarak biyopsi, gerekirse cerrahi işlemler (VATS, torakoskopi) ile plevral sıvının ileri sitolojik incelemesi (hücre kültürü, immunhistokimya, PCR analizi) yapılır.

Plevral sıvının; plazma proteinleri ile birlikte enflamatuvar, epitel ve hatta kanser hücrelerinin ortama saldıkları proteinleri de içerdiği bilinmektedir. Salınmış ve/veya membrana bağlı proteinler açısından zengin olması, birçok hastalık için spesifik biyobelirteç bulundurması bu sıvının önemli bir materyal olduğunu göstermektedir. Bu nedenle plevral sıvıların incelendiği bu çalışmanın, malign plevral sıvıların ayırıcı tanı ve tedavisi için literatüre önemli katkılar sağlayacağı düşünülmektedir. Yeni biyobelirteçlerin araştırılması gen ekspresyonlarından protein değişimlerine kadar tüm biyolojik süreçleri içerdiğinden geniş hasta serileri ve yoğun moleküler, proteomik çalışmaları gerektirmektedir. Bu çalışma planlandığı üzere yeni biyobelirteç arayışı için gerekli deneysel alt yapı planına sahiptir.

Çalışmamızda, nükleik asit çoğaltma yöntemi (PCR analizi) ile malign ve benign nedenli plevral sıvılarda farklı biyobelirteçlerin araştırılması ve tanıya katkısının değerlendirilmesi amaçlandı.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Plevranın Anatomisi ve Fizyolojisi

Plevra, göğüs kafesi, diyafragma, mediasten ve akciğer parankimini örten seröz bir zarıdır. Bu yapı parietal ve visseral plevra olarak ikiye ayrılır. Visseral yaprak akciğerlerin dış yüzü ve loblar arasındaki fissürleri sararken, parietal yaprak toraks boşluğunun iç yüzünü örter. Onu örten iç yüzeylere göre de kostal, mediastinal ve diyafragmatik plevra olarak alt gruplara ayrılmaktadır (1). İki yaprak akciğer hilusunda, pulmoner ve bronşiyal damarlar ile sinir ve lenfatiklerin eşlik ettiği ana bronşlar tarafından penetre edilerek devam ederler. Visseral ve parietal plevra akciğer hilusunda birleşip pulmoner hilusta, posteriordan itibaren aşağı doğru pulmoner ligament olarak sonlanır (2,3). Normalde parietal ve visseral plevralar arasında ince bir plevra sıvısı bulunur. Sıvının bulunduğu alana plevra boşluğu-plevral kavite denir. Plevral hastalıkların büyük kısmı bu potansiyel boşluk ile ilişkilidir (4). Plevra sıvısı, plevral boşluk içinde her iki plevra yaprağının kolayca birbiri üzerinde kaymasını sağlar ve yaklaşık 0,1–0,2 ml/kg kadar bulunur. Berrak, renksiz görünümde olan bu sıvıda 1,5 g/dl'den az protein, çoğu monosit, az miktarda lenfosit, plevral makrofaj, mezotel hücreleri ile çok seyrek olarak polimorf lökositler olmak üzere yaklaşık 1500 hücre/ml mevcuttur ve bu sıvıda eritrosit yoktur. Plevral, perikardiyal ve peritoneal boşluklar gestasyonel dönemin üçüncü haftasında mezodermden biçimlenmeye başlarlar. Plevral boşluk akciğerin büyümesinden bağımsız olarak genişler ve dokuzuncu haftada perikardiyal ve peritoneal boşluktan ayrılmış olur (1). Splank mezoderm akciğer tomurcuğunu örterek visseral plevrayı, somatik mezoderm ise göğüs duvarını çevreleyerek parietal plevrayı meydana getirir. Hem visseral, hem parietal plevra tek sıra mezotel hücreleri, bazal membran, kollajen ve elastik doku tabakalarının yanında mikro damarlar ve lenfatiklerden oluşur. Mezotel hücreleri, perikard ve peritondaki gibi kaygan, yapışmaz ve koruyucu yüzey sağlar (4). Histolojik olarak iki plevra da beşer kattan oluşmuştur. Parietal ve visseral membranlar dış görünüşleri açısından benzer olmakla birlikte, yüzeylerin altında önemli anatomik farklılıklar vardır (5). Parietal yüzeyin altındaki konnektif doku tabakası düzdür. Aksine visseral plevranın submezotelyal konnektif dokusu akciğerlerin içine doğru ilerleyen septalar oluşturur. Bu septalar pulmoner parankime destek sağlarken, öte yandan gaz alışverişini kolaylaştıran alt bölmeler oluşturur. Mezotel hücreleri bazal membran üzerinde tek sıra halinde dizilmişlerdir (1,6).

Mezotel hücreleri pleomorfik olup yassıdan küboid veya kolumnar şekle kadar değişiklikler gösterebilirler. Yüzey çapları yaklaşık 16–40 mikrondur. Bu hücrelerin yüzeyinde yaklaşık 3 mikron uzunluğunda yüzeyel mikrovilluslar bulunur ve düzensiz olarak yayılmışlardır. Mikrovillusların tam fonksiyonları kesin bilinmemekle birlikte plevra sıvısını emerek visseral plevranın kapasitesini arttırdığı veya özellikle sürtünmeyi azaltmak için göğüs duvarı ve akciğer arasında glikoprotein ağı ördüğü sanılmaktadır (1,5).

Parietal plevra kanını sistemik kapillerlerden sağlar. İnterkostal arterlerin küçük dalları kostal plevrayı beslerken, mediastenal plevra özellikle perikardiyofrenik arterden, diyafragmatik plevra ise süperior frenik arterlerden kan alır. Parietal plevranın venöz drenajı inferior vena cava veya brakiosefalik alana boşalan interkostal venler, visseral plevranın venöz drenajı pulmoner venler ile dir (2,7).

Her iki plevral yüzeyin lenfatik drenajı oldukça farklıdır. Parietal lenfatik sistem, lenfin plevral boşluktan drene edilmesi için major yol olup, parietal plevranın mezotelyal yüzeyinde komşu submezotelyal tabakadaki lenfatik ağa lakunalar yoluyla bağlanan ve stoma denilen, 2–12 mikron büyüklüğünde açıklıklar mevcuttur. Plevral boşluğun değişik bölgelerindeki lenfatikler değişik lenf nodlarına drene olurlar. Kostal yüzeyden parasternal ve paravertebral lenf nodlarına, mediastinal yüzeyden trakeobronşial lenf nodlarına drenaj sağlanır. Parietal plevranın diyafragmatik yüzünün lenfatikleri karın içi lenfatikleriyle ilişkilidir ve lenfatik akım karından toraks içine olduğundan, karın içindeki infeksiyonlar kolayca toraksa yayılabilir. Parietal plevranın tersine visseral plevrada lakunalar ve stomalar yoktur ve alttaki lenfatik damarlarının plevral boşluktan çok pulmoner parankime drene olduğu düşünülmektedir.

Parietal plevranın drenajı 3 ana bölge lenf noduna ;

1-Kostal kısmı interkostal sisteme oradan da sternal lenf noduna

2-Diyafragmatik kısım diyafragma efferentlerine

3-Mediastinal kısım posterior mediastinal lenf nodlarına drene olur (4).

Plevral boşluktaki negatif basınç ise -5 cm H<sub>2</sub>O olup bu basınç akciğer elastik recoil/geri çekim gücüne karşı koyarak alveollerin sürekli açık kalmasını sağlamakta ve solunum işinin devamlılığını gerçekleştirmekte önemli rol oynamaktadır.

Günümüzde plevral sıvı oluşumunda, sıvının geçtiği membran yüzeyine uygulanan hidrostatik ve onkotik basınçlar, sıvının geçtiği membran kalınlığı ve sıvı kaynağını oluşturan vasküler sistemin, plevral membrana olan uzaklığının rol oynadığı saptanmıştır. Plevral sıvı, plevra zarlarında yer alan damarlardan plevra boşluğuna ortalama 0,6 ml/saat hızla oluşur ve lenfatik ağdan geri emilir. Sağlıklı bir bireyde 0,1-0,2 ml/kg oranında bulunan plevral sıvının oluşumu ya da emilimi sırasında gelişecek bozukluklar plevral alanda aşırı sıvı birikimine neden olmaktadır (4,8). Sıvı içeriğinde ortalama 1700/mm<sup>3</sup> beyaz küre hücresi bulunup, bunun %75'ni makrofajlar, %23'nü lenfositler oluşturur. Sıvıdaki protein içeriğinin plazma protein içeriğine oranı %15 dolayındadır. Plevral aralıkta yaklaşık 20 ml sıvı olduğu tahmin edilmektedir (1,4).

**Tablo 1:** Plevra Sıvısı İçeriği

<b>Hacim</b>	0,1-0,2 mL/kg
<b>Hücre/mm<sup>3</sup></b>	1000-5000
<b>Mezotel hücresi</b>	% 3-70
<b>Monosit</b>	% 30-75
<b>Lenfosit</b>	% 2-30
<b>Granulosit</b>	% 10
<b>Protein</b>	1-2 g/dL
<b>Albumin</b>	% 50-70
<b>Glukoz</b>	=plazma düzeyi
<b>LDH( Laktik Dehidrogenaz)</b>	< %50 plazma düzeyi
<b>pH</b>	>plazma düzeyi

## 2.2. Plevral Efüzyon Oluşumu ve Absorbsiyonu

Plevral sıvı oluşumu ve miktarı, Starling eşitliği ile ifade edilen hidrostatik ve osmotik basınçlar arasındaki dengeye bağlıdır (4).

**QF:Lp.A[(Pcap-Ppl)-d(cap-pl)]** denklemi Starling Kanununun plevraya uygulanmış şeklidir. QF=sıvı hareketi, Lp=filtrasyon katsayısı, A=membran yüzey alanı, Pcap=kapiller hidrostatik basınç, Ppl=plevral hidrostatik basınç, pl=plevral onkotik basınç, cap=kapiller onkotik basınç, d=zarın solid süzme kat sayısını ifade eder. Q sayısı sıfır ile bir (0-1) arasında değişkendir. Bir olduğu zaman solidlerin yarıçapı zarın porlarından daha büyüktür ve solid

geçışı olmaz. Sıfır olduğunda ise porların yarıçapı solid geçişine izin verecek kadar geniştir. Parietal plevrada hidrostatik basınç (HB) 30 cm H<sub>2</sub>O iken plevral basınç -5 cm H<sub>2</sub>O'dur, böylece net HB  $[30-(-5)] = 35$  cm H<sub>2</sub>O olup kapillerlerden plevral boşluğa sıvı hareketini sağlar. Normalde az miktardaki plevra sıvısı çok az miktarda protein içerir ve 5 cm H<sub>2</sub>O 'luk bir onkotik basıncı vardır. Plazma onkotik basıncı 34 cm H<sub>2</sub>O olup, net onkotik basınç gradienti  $34-5=29$ cm H<sub>2</sub>O'dur. Böylece net gradient  $35-29=6$  cm H<sub>2</sub>O'dur. Bu da kapillerlerden parietal plevra boşluğuna sıvı akımına neden olur. Visseral plevrada beklenen sıvı akımı için net gradient 0'a yakındır (2,9).

Plevra boşluğu parietal plevradaki stomalar aracılığı ile parietal plevradaki lenfatik damarlarla irtibat halindedir. Proteinler, hücreler ve diğer maddeler parietal plevradaki lenfatiklerle plevral boşluktan temizlenir. Geri emilim hızı kapasitesi yaklaşık 20-30 kat artabilmektedir. İntraplevral boşluktaki basınç plevral dokudakine göre daha azdır. Bu nedenle plevral sıvının akış yönü plevral boşluğa doğrudur. Plevral membranı döşeyen mezotel hücreleri sıvı, proteinler ve diğer molekülleri pasif bir şekilde geçirebilme özelliğine sahiptir. Plevral boşluktaki sıvı emilimi yığın akışı (bulk flow) şeklinde gerçekleşir. Difüzyon yoluyla geri emilim söz konusu değildir (4).

### **2.3. Plevral Efüzyonların Patogenezi**

Plevra sıvısının aşırı miktarda birikmesinden 6 temel mekanizma sorumludur.

1. Mikrovasküler Dolaşımdaki Onkotik Basıncın Azalması
2. Mikrovasküler Dolaşımdaki Hidrostatik Basınç Artışı
3. Plevral Lenfatik Drenajın Bozulması
4. Plevral Boşluktaki Basıncın Azalması
5. Mikrovasküler Permeabilitenin Artması
6. Peritondan Sıvının Hareketi



**Tablo 2:** Plevral Sıvı Nedenleri

A-Plevral sıvı oluşumunun artması	
<b>1- Akciğerlerde interstisyel sıvı artışı</b>	Sol kalp yetmezliği (KKY) Pnömoni Pulmoner emboli (PTE)
<b>2- Plevral intravasküler basınç artışı</b>	Sağ veya sol ventrikül yetersizliği Vena kava süperior sendromu (VKSS)
<b>3- Toraks içindeki kan damarı hasarı</b>	
<b>4-Periton boşluğunda sıvı artışı</b>	Peritonda asit Periton diyalizi
<b>5- Plevral basınç azalması</b>	Atelektazi
<b>6- Plevral sıvı protein seviyesi artışı</b>	
<b>7- Plevrada kapiller permeabilite artışı</b>	Plevral inflamasyon
B-Plevral sıvı absorpsiyonunun azalması	Parietal plevradaki lenfatik drenajın azalması Sistemik vasküler basınç artışı (sağ ventrikül yetmezliği, VKSS) Plevradaki aquaporin sistemin hasarı

#### 2.4. Plevral Efüzyonlu Hastaya Yaklaşım

Plevral efüzyonlu hastalarda, plevral inflamasyonla meydana gelen inspiratuar göğüs ağrısı en karakteristik semptomdur. Ağrı inflamasyonlu plevranın olduğu göğüs duvarında hissedilir. Bazen hasta ağrıyı karında hissedebilir, bu diyafragmanın periferik kısımlarının sensitif sinirlerinin alt interkostal aracılığıyla olmasındandır. Kuru öksürük diğer bir semptomdur. Mekanizma tam olarak bilinmemekle beraber plevral inflamasyonun veya sıvının oluşturduğu akciğer kompresyonunun refleks yolla kuru öksürük oluşturduğu düşünülmektedir. Plevral efüzyonu olan hastalarda sık görülen diğer bir semptom dispnedir. Nefes darlığının derecesi sıklıkla, sıvı miktarına bağlıdır. Ağır dispnenin bulunması terapötik torasentez için major endikasyondur. Etyolojiye bağlı olarak ateş, siyanoz, çomak parmak ve diğer semptomlar bulunabilir (2).

Plevral efüzyonlu olguların fizik muayenesinde, sıvı miktarı ile ilgili patolojik bulgular saptanabilir. Sıvı miktarı 300cc'den az ise fizik muayenede bir bulgu saptanmaz. Genellikle 500cc'den fazla sıvı toplandığında bulgu verir. Toplanan sıvı 1000 cc'yi geçerse inspeksiyonda o hemitoraksta kot aralıklarının dışarı doğru kabardığı görülür (10). Ancak sıvı; atelektazi, fibrozis, pakiplörit gibi volüm kaybettiren bir patolojiyle birlikteyse her iki hemitoraks eşit görünümde, hatta sıvılı hemitoraks basık görünümde olabilir. Vibrasyon torasik azalmıştır ve perküsyonla matite alınır. Plevral frotman sıklıkla efüzyon oluşmaya başladığı anda duyulur, inspiyumda artar, ekspiryumda duyulmaz. Sıvı olan tarafta kalp tepe vuruşu kaybolabilir. Aşırı sıvılarda palpasyonla trakeanın pozisyonuna bakılarak üst mediastenit ile ilgili olarak fikir sahibi olunabilir (11).

Plevral efüzyonlu hastalarda, solunum fonksiyon testlerinde altta yatan pulmoner hastalıkla ilişkili bulgular saptanır. Total akciğer kapasitesi, fonksiyonel rezidüel kapasite, vital kapasite azalır. Akciğerler normal ve göğüs hareketlerini kısıtlayan plevral ağrı yoksa ventilasyon yeteneği az bozulur.

Plevral efüzyonların radyolojik görünümü, tetkik esnasında hastanın pozisyonuna, sıvının serbest veya loküle olmasına ve miktarına göre değişir. Konvansiyonel radyografi, ultrasonografi (USG) ve bilgisayarlı tomografi (BT) plevral efüzyonların saptanmasında kullanılan görüntüleme yöntemleridir. Manyetik rezonans (MRG) incelemesi plevral efüzyonların tanısında kullanılan bir görüntüleme yöntemi değildir. İlk başvuru olan görüntüleme yöntemi posteroanterior (PA) ve lateral göğüs grafileridir. Özellikle az miktarda plevra sıvısı olan vakaların tanısında lateral dekübitus pozisyonunda alınan grafiler, PA ve lateral grafilerden daha duyarlıdır.

Ayakta duran bir hastada az miktardaki plevra sıvısı (75ml) öncelikle alt lobun diyafragmaya bakan yüzeyi ile diyafragma arasında birikir. Sıvı miktarı arttıkça posterior kostadiyafragmatik sinüse dolmaya başlar ve lateral grafide diyafragmanın posterior bölümlerinin giderek silindiği gözlenir. Lateral kostofrenik sinüsün kapanması için en az 175ml sıvı birikmesi gerekir (10). Sıvı miktarı arttıkça PA akciğer grafisinde diyafragma sınırlarının silinerek netliğini kaybettiği ve diyafragmanın yükseldiği görülür. Serbest sıvılarda lateral duvardaki yükselme en fazla olur ve grafide tipik parabol görüntüsü belirir (Damoiseau çizgisi) (12).

Masif plevra sıvıları kalbin konturunu silinmesine, mediastende karşı tarafta itilmeye yol açar. Plevra sıvısı masif olmasına rağmen akciğer parankiminde kollaps gelişmişse mediasten

orta hatta izlenir. Plevral malign mezotelyoma ve plevranın malign tümörlerle invaze olduğu durumlarda da mediasten orta hattadır (13).

Plevral efüzyona genellikle düz akciğer filmi ile tanı konulabilir. Kostofrenik açının küntleşmesi için 200-300ml sıvı yeterlidir. Efüzyon bazen atelektazi, pnömoni, plevral kalınlaşma ile karışabilir. PA grafide kostodiyafrenatik sinüsün kapalı olduğu durumlarda veya subpulmoner sıvıdan şüphelenilen durumlarda serbest sıvının varlığı lateral dekubitus grafi veya USG ile kolayca görülebilir (10).

USG, X ışını içermeyen kolayca uygulanabilen bir görüntüleme yöntemidir. USG, az miktardaki plevra sıvısını (<50ml) gösterebilir. Ayrıca plevral sıvının loküle olup olmadığı, plevral kalınlaşma, septa ve yapışıklıklar USG ile saptanabilir. Hemorajik sıvı, ampiyem, şilotoraks genellikle homojen ekojenik sıvılar şeklinde görülür. Sıvıların tedavi amacı ile aspirasyonlarında ve loküle sıvıların drenajında klavuz görüntüleme yöntemi olarak da tercih edilir(10,14). Bilgisayarlı tomografi; az miktarda ve loküle sıvı saptamada parankimi değerlendirmede, periferik plevral plakları pulmoner nodüllerden, plevral kalınlaşmayı, periferik akciğer abseleri ve ampiyemleri ayırmada yararlıdır. Ampiyem, kalınlaşmış visseral ve parietal plevra yaprakları arasında düzgün keskin kenarlı, loküle koleksiyonlar olarak izlenir. Ayırıcı tanıda en önemli lezyon periferik yerleşimli abselerdir. Ampiyem genellikle iğsi şekilli olup komşu akciğer parankiminde basıya, bronş ve damarlarda itilmeye yol açar (15).

### **2.5. Plevral Efüzyonun Biyokimyasal ve Hücresel Analizi**

Alınan sıvının kokusu ve görünümü çok önemlidir. Normal plevra sıvısı su görünümünde ve kokusuzdur. Transudalar genellikle berrak, çok hafif sarı renktedir. Sıvıda protein miktarı arttıkça renk koyulaşır. Eğer alınan sıvı kanlı ise hematokritine bakılmalıdır. Bu değer serum hematokritinin %50'sinden büyükse hemotoraks olarak kabul edilir(5,10). Hemorajik efüzyonlarda travma yoksa malignite ve PTE riski yüksektir. Beyaz renkli plevral sıvılar şilotoraks, yüksek trigliserid düzeyi ya da ampiyeme bağlı olabilir. Siyah renkli plevral sıvı ise plevrada aspergillus tutulumunu düşündürür. Sarı-yeşil plevral sıvı romatoid plöreziyi akla getirmelidir. Pis koku anaerobik ampiyem için tanısal değer taşır. Amonyak kokusu ürinotoraks için karakteristiktir.

Plevral sıvı total lökosit değeri hemen hemen hiçbir tanısal değer taşımaz. Ancak  $50.000/mm^3$ 'ün üzerindeki lökosit sayısı özellikle ampiyemleşme eğilimi olan parapnömonik efüzyonlarda saptanır. Transuda vasıflı sıvılarda lökosit sayısı  $1000/mm^3$ 'ün, malignite veya tüberküloz gibi hastalıklara bağlı kronik eksudatif sıvılarda ise  $5000/mm^3$ 'ün altındadır. Total

hücre sayısının % 85-90'ı lenfositlerden oluşuyorsa tüberküloz plörezi, lenfoma, kanser, kronik romatoid plörezi akla gelmelidir. Plevral sıvı total hücre sayımının % 10'unun eozinofillerden oluşması plevral eozinofili olarak adlandırılır ve sıklıkla pnömotoraks veya hemotoraksla beraber görülür (3,10). Ancak pulmoner emboli, parazitik hastalıklar, fungal hastalıklar, ilaç reaksiyonları ve benign asbest plörezisi de düşünülmelidir (13).

Plevra sıvısının total hücre sayısının % 10'undan fazlası bazofillerden oluştuğu zaman plevranın lösemik tutulumu düşünülmelidir. Mezotel hücreleri daha çok transudatif sıvılarda baskın olan hücrelerdir, %5'ten fazla mezotel hücresi bulunan eksudalarda tüberküloz plörezi tanısı ekarte edilebilir. Tüberküloz plörezi, ampiyem, romatoid plörezi, kronik malign efüzyonlar ve plöredesis sonrasında mezotel hücrelerinin diffüz inflamasyon nedeniyle plevra boşluğuna dökülmeleri inhibe edildiğinden plevral sıvı mezotel oranı düşüktür. Plevral sıvıda makrofaj bulunması mikroorganizmalar veya asbest fibrillerine bağlı lokalize bir inflamasyonu işaret eder. Plevra sıvısında lupus eritematozus (LE) hücreleri sistemik lupus eritematozus (SLE)'nin plevral tutulumu için diagnostiktir. Plevra sıvısında çok sayıda plazma hücresi olması Multipl Myelomu (MM) akla getirmelidir (16).

Plevral sıvıda 100.000'den fazla eritrosit gözlenmesi travma, malignite, PTE, postkardiak zedelenme sendromu ve asbestozise bağlı plöreziyi düşündürür (10,17).

## **2.6. Plevral Efüzyonda Transüda –Eksüda Ayrımı**

Plevral efüzyon etyolojisini belirlerken ilk basamak transüda-eksüda ayırımına yarayan biyokimyasal analizdir. Transüda-eksüda ayırımında en sık kullanılan 1972 yılında Light tarafından tanımlanan ve yapılan diğer çalışmalara rağmen halen en yüksek duyarlılık ve özgüllüğe sahip olan Light kriterleridir (10).

Light kriterleri;

- 1- Plevral sıvı protein düzeyi /serum protein düzeyi > 0.5 olması
- 2- Plevral sıvı LDH düzeyi / serum LDH düzeyi > 0.6 olması
- 3- Plevral sıvı LDH düzeyinin o laboratuvar için belirlenmiş normal LDH seviyesinin üst sınırının 2/3'ünden daha fazla olmasıdır.

Yukarıdaki kriterlerden herhangi birinin bulunması sıvının eksüda olduğunu gösterirken, transüdalarda bu kriterlerden hiçbirisi bulunmaz. Bu kriterlerin sensitivitesi % 100 olmakla beraber spesifitesi %72'dir.

**Tablo 3:** Transudatif Plevral Efüzyon Nedenleri

<b>TRANSÜDATİF PLEVRAL EFÜZYON NEDENLERİ</b>
1-Konjestif kalp yetmezliği
2-Siroz
3-Nefrotik sendrom
4-Glomerulonefrit
5-Periton diyalizi
6-Böbrek yetmezliği
7-Ürinotoraks
8-Miksödem
9-Pulmoner emboli
10-Atelektazi
11-Sarkoidoz
12-VKSS
13-Meigs sendromu
14-Konstriktif perikardit
15-Hipoalbuminemi
16-Plevraya serebrospinal sıvı sızması

**Tablo 4:** Eksüdatif Plevral Efüzyon Nedenleri

<b>EKSÜDATİF PLEVRAL EFÜZYON NEDENLERİ</b>	
<b>1-Neoplastik hastalıklar</b> -Metastatik hastalık(akciğer, meme) -Mezotelyoma -Lenfoma	<b>2-Enfeksiyöz hastalıklar</b> -Bakteriyel infeksiyonlar(parapnömonik) -Tüberküloz -Fungal (aspergillozis, blastomikozis, kriptokozis, histoplazmoz) -Viral -Paraziter (kist hidatik, amebiazis, askariasis, paragonimiyazis) -Diğer enfeksiyonlar (aktinomikozis, nokardiyozis, abdominal abseler)
<b>3-Kardiyovasküler hastalıklar</b> -Koroner arter bypass cerrahisi -Postkardiyak hasar sendromu -Perikardiyal hastalık	<b>4-Gastrointestinal hastalıklar</b> -Pankreas hastalıkları (pankreatit, pankreas psödokisti) -Özofagus perforasyonu -Abdominal cerrahi -Diyafragma hernisi -Karaciğer transplantasyonu -İntrahepatik, intrasplenik, subfrenik apse -Endoskopik varis skleroterapisi
<b>5-Kollajen vasküler hastalıklar</b> -Romatoid plörezi -Sistemik lupus plörezi -İlaca bağlı lupus -Sjögren sendromu -Churg-Strauss sendromu -Granülamatöz polianjitis -Ailevi akdeniz ateşi -İmmunoblastik lenfadenopati	<b>6-Jinekolojik Hastalıklar</b> -Overin hiperstimülasyon sendromu -Postpartum plevral efüzyon -Meigs sendromu -Endometriozis -Fetal plevral efüzyon

<p><b>7-Lenfatik Sistem Hastalıkları</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>-Şilotoraks</li> <li>-Sarı tırnak sendromu</li> <li>-Lenfanjiomiyomatozis</li> </ul>	<p><b>8-İlaçlara Bağlı Plevra Hastalıkları</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>-Nitrofurantoin</li> <li>-Dantrolen</li> <li>-Metiserjit</li> <li>-Amiodaron</li> <li>-Metotreksat</li> <li>-Prokarbazin</li> <li>-Ergot alkaloidleri</li> <li>-Mitomisin</li> <li>-Bleomisin</li> <li>-Bromokriptin</li> <li>-Klozapin</li> <li>-İnterlökin-2</li> </ul>
<p><b>9-Diğer Hastalıklar</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>-Asbest maruziyeti</li> <li>-Akciğer transplantasyonu</li> <li>-Kemik iliği transplantasyonu</li> <li>-Radyasyona maruz kalma</li> <li>-ARDS</li> <li>-Sarkoidoz</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Üremi</li> <li>-Amiloidoz</li> <li>-Whipple hastalığı</li> <li>-Torakotomi</li> <li>-Ekstramedüller hematopoez</li> <li>-Sifiliz</li> <li>-İatrojenik plevral efüzyonlar</li> <li>-Mediastinal kist rüptürü</li> <li>-Elektrik yanıkları</li> </ul>

### 2.7. Plevral Efüzyonlarda Bakılan Biyokimyasal Belirteçler

**Glukoz:** Plevra sıvısı glukoz seviyesi serum glukoz seviyesi ile paralellik gösterir.

**Tablo 5:** Düşük Glukoz Düzeyi Gözlenen Durumlar

<ul style="list-style-type: none"> <li>Malign efüzyon</li> <li>Romatoid artrit</li> <li>Tüberküloz plörezi</li> <li>Ampiyem</li> <li>Lupus plöriti</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Özefagus rüptürü</li> <li>Paragonimiyazis</li> <li>Churge-Strauss sendromu</li> <li>Hemotoraks</li> </ul>
---	--

**LDH (Laktik Dehidrogenaz):** Her ne kadar plevra sıvısı LDH düzeyi transuda eksuda ayrımında kullanılsa da eksuda karakterindeki sıvıların ayırıcı tanısında pek yardımcı değildir. Ancak takip eden torasentezlerde her seferinde LDH düzeyi bakılması önerilmektedir. Bunun sebebi LDH düzeyinin plevra inflamasyonunun derecesini göstermede güvenilir bir parametre olmasıdır. Hemorajik ve nekrotik materyal içeren sıvılarda LDH düzeyi etkilenmektedir. Plevral sıvı LDH düzeyi plevral inflamasyon derecesinin güvenilir bir göstergesidir (2,10).

**pH (Power of Hydrogen):** Plevra sıvı pH ölçümü parapnömonik efüzyonlarda göğüs tüpü kararının verilmesinde en önemli kriterdir. Parapnömonik efüzyonlarda düşük glukoz (<40mg/dL) ve yüksek LDH (>1000 U/L) ile beraber pleval sıvı pH'sının 7.10'dan düşük olması göğüs tüpü endikasyonudur. Malign efüzyonlarda ise pH <7.30 ise hastanın prognozu kötüdür, aynı zamanda da pleval biyopsi ve sitolojik değerlendirmenin tanısal verimliliği yüksektir. Ancak plöredez işlemine yanıt almak zordur (10,18).

**Amilaz:** Plevral sıvı amilaz düzeyi, serum amilaz düzeyi üst sınırından yüksekse akla özefagus perforasyonu, pankreas hastalıkları ve malignite gelmelidir. Malign efüzyonların %10'unda amilaz düzeyi yüksek saptanır. Plevral sıvı amilaz düzeyi özellikle mezotelyoma ve adenokanser ayrımında kullanılabilir (2,10). En sık amilaz salgılayan tümörler adenokanserlerdir. Plevral sıvıda yüksek amilaz düzeyi kuvvetle akciğer veya over adenokanseri olasılığını düşündürür.

**Kolesterol ve trigliserid:** Şiloz ve psödoşiloz efüzyonların ayrımı plevra sıvısında trigliserid konsantrasyonu ölçülerek yapılır. Plevra sıvısı trigliserid düzeyi 110 mg/dL'nin üzerinde ise kesin şilotorakstır ve 50 mg/dL altında olan sıvılarda şilotorakstan uzaklaşılır. Santrifuj edildiğinde berraklaşmayan sıvı da yine şiloz sıvı olduğunu düşündürür. Transuda-eksuda ayrımında pleval sıvı kolesterol düzeyinin 55 mg/dl'nin üstünde olması ve pleval sıvı kolesterol düzeyi/serum kolesterol düzeyi oranının 0.3'ün üzerinde olması kriter olarak kullanılabilir.

**Albümin:** Serum-sıvı albumin gradientinin 1.2 g/dL'nin üzerinde olması transudayı gösteren güvenli bir yöntemdir ve özellikle diüretik tedavi alan konjestif kalp yetmezliği olan hastalarda doğru sonuç vermektedir.

**Lizozim:** Nötrofil ve makrofajlardan salınan bir enzim olan lizozim tüberküloz plörezi, romatoid plörezi ve ampiyemde yükselir ve 20 mg/mL'nin üzerinde olan pleval sıvı lizozim düzeyi, tüberküloz plöreziyi malign efüzyondan ayırır.



**Adenozin Deaminaz (ADA):** Adenozin deaminaz pürin yıkım yolunda bulunan adenozinin inozine, 2'-deoksiadenozinin deoksinosizine irreversibl ve hidrolitik deaminasyonunu katalize eden bir enzimdir. Vücudun tüm doku ve sıvılarında yaygın olarak bulunur. Plevral sıvı ADA düzeyleri özellikle tüberküloz tanısı için kullanılmaktadır. Tüberküloz dışında romatoid sıvılarda ve ampiyemde de yükselebildiği gösterilmiştir (19). Plevral sıvı lenfosit/nötrofil oranının 0,75'den büyük olması durumunda ADA yüksekliğinin tüberküloz için spesifitesi artmakta ve 70U/L üzerindeki plevral sıvı ADA düzeyinin romatoid artrit ve ampiyemin olmadığı durumlarda tüberküloz için tanı koydurucu olduğu, 40U/L üzerinde olmasının ise büyük olasılıkla tüberkülozu düşündürmesi gerektiği ileri sürülmektedir (20).

**Kolinesteraz:** Gerçek kolinesteraz (asetilkolin esteraz); akciğerde, dalakta, eritrositlerde, sinir uçları ve beyin gri maddesinde bulunur. Sinir uçlarından salınan asetil kolinin hidrolizinden sorumludur. Plevra kolinesterazının, serum kolinesterazına oranına göre transuda ile eksüda ayırımı yapıldığında, eksüdalardan tüberküloz plözide, malign plöreziye oranla daha yüksek bulunmuştur.

**Tümör Belirleyicileri:** Karsinoembriyonik antijen (CEA) onkofetal proteinlerden birisidir ve malign epitelyal karsinomlarda serum düzeyleri artar. Bronkojenik karsinomlarda CEA'nin serum düzeyleri %30-60 hastada yükselir (21). Nöron spesifik enolaz (NSE) santral ve periferik sinir sisteminin nöronlarında ve APUD (dekarboksilasyon amin alım öncülü) hücrelerde bulunan enolazın bir izoenzimidir. Küçük hücreli akciğer kanserlerinin % 75'inde NSE artmış olarak bulunur. Bunun yanı sıra küçük hücreli olmayan akciğer kanserine bağlı plevral efüzyonlarda sadece % 5-15 oranında yükselmiş düzeyleri saptanabilmektedir. Bunların dışında birçok klinik çalışmada malign efüzyonlarda ferritin, alfa-1 asit glikoprotein, beta-2 mikroglobulin, cyfra 21-1 gibi bazı tümör belirleyicilerin yüksek olduğu bildirilmiştir (2).

**Hiyalüronik Asit:** Plevral sıvı hiyalüronik asit düzeyi özellikle malign mezotelyomalı hastalarda artmaktadır ve 0.2-0.8 mg/dl arasındaki plevral sıvı hiyalüronik asit düzeyleri malignite dahil olmak üzere çeşitli tip eksüdalarda saptanırken; 0.8mg/dl'nin üzerindeki değerler sadece malign mezotelyomada bulunur.

## **2.8. Plevral Efüzyonların Sitolojik Değerlendirilmesi**

Plevral sıvı altta yatan nedene bağlı olarak mezotel hücresi, lenfosit, eozinofil veya nötrofil gibi hücresel elemanlardan zengindir. Tüberküloz, plevral sıvıda nispeten karakteristik görünüm oluşturabilir. Mezotel hücre proliferasyonu olmaksızın bol lenfosit saptanması tüberküloz ile uyumlu kabul edilmektedir. Lenfositler genelde T lenfosit niteliğindedir. Artmış

T lenfositleri immün cevaba bağlı ortaya çıkar. Tüberküloz dışında lenfoma, sarkoidoz ve romatoid hastalıkta da lenfositoz saptanır. Eozinofil infiltrasyonu pnömotoraks, enfarktüs, hemotoraks, fungal enfeksiyonlar, paraziter hastalıklar, ilaç kullanımı veya asbest plörezisi gibi nedenlerde görülür. Eğer efüzyon büyük oranda plazma hücresi içeriyorsa multipl miyelom akla gelmelidir. Tümör hücrelerinin malign sıvıda gösterilmesi malign efüzyon tanısı koydurur. Ancak alınan negatif sonuç tümör olasılığını ekarte ettirmez (10). Plevral maligniteye bağlı efüzyonlarda ilk sitolojik incelemede %60'a varan malign hücre görülebilir. Eğer üç ayrı sıvı gönderildiyse tanı şansı %90'a kadar çıkabilir. Plevral sitolojilerde primer veya metastatik tümörler için belirlenen sitolojik kriterler olmakla beraber, reaktif mezotel hücreleri tanıda yanılgılara sebep olabilir. Çapları ve nükleusları büyüyen hücreler hem malign mezotelyoma hem de metastatik tümörleri taklit edebilir. Plevra biyopsisi ayırıcı tanı da yararlıdır. Ancak yine de tanı konulamayan durumlarda sitolojik preparatlar histokimyasal ve immünohistokimyasal olarak PAS, müsikarmen, keratin, CEA, CD15 ile boyanarak ayırıcı tanıya gidilmelidir. Keratin ile boyanan tümörün epitelyal kökenini, müsikarmen, CEA ve CD15 pozitifliği adenokarsinomu kanıtlar.

### **2.9. Malign Plevral Efüzyonların Etyolojisi**

Malign plevral efüzyonlar, eksudatif plevral efüzyon nedenleri arasında infeksiyonlardan sonra ikinci sırayı almaktadır. Malign plevral efüzyon nedenleri tablo 6'da mevcuttur (20). Metastatik over karsinomu malign efüzyonların %6'sından sorumlu olurken sarkomlar ve özellikle de melanom malign efüzyonların yaklaşık %3'ünü oluştururlar. Diğer tümörlerin hiçbiri tek başına malign plevral efüzyonların %1'inden fazlasını meydana getirmez. Malign plevral efüzyonu olan hastaların %6-7'sinde ise primer tümör saptanamaz. Akciğer adenokarsinomu plevrayı en çok tutan histolojik tümör tipidir ve primeri bilinmeyen malign efüzyonlarda da en sık görülen tiptir (4, 18). Malign plevral efüzyon tanısı, plevral sıvıda ekfoliye malign hücreler bulunduğu ya da perkutan plevra biopsisi, torakoskopi, torakotomi veya otopsi ile elde edilen plevra dokusunda malign hücrelerin saptandığında konabilir.

Malign bir efüzyonun varlığının saptanması tedavi ve prognoz açısından büyük önem taşır. Örneğin akciğer kanserinde malign efüzyonun varlığı cerrahi tedavi olasılığını ortadan kaldırırken diğer organ tümörlerinde ileri hastalık belirtisi olup kısa bir survi göstergesi olarak kabul edilir (10).

**Tablo 6:** Metastatik Malign Plevral Efüzyon Nedenleri

KANSER TİPİ	%
<b>Akciğer</b>	35
<b>Meme</b>	23
<b>Lenfoma</b>	10
<b>Primeri Bilinmeyen</b>	7
<b>Jinekolojik</b>	6
<b>Gastrointestinal</b>	5
<b>Genitoüriner</b>	2
<b>Diğer</b>	7

Metastatik plevral efüzyon gelişiminde birkaç farklı mekanizma rol oynayabilmektedir. Malign efüzyonların gelişiminden en sık olarak metastatik hastalığın plevrada yol açtığı permeabilite artışı sorumlu tutulmaktadır. Permeabilite artışı tümör tarafından salgılanan vasküler endotelial growth faktöre (VEGF) bağlıdır (4,10,22). Lenfatik obstrüksiyon ise malign efüzyon gelişiminde rol oynayan ikinci önemli mekanizma olarak ortaya çıkmaktadır. Ayrıca mediastinal lenf düğümlerinin metastatik tutulumu da plevranın lenfatik klirensini azaltarak plevral efüzyon gelişiminde etkili olmaktadır.

### **2.10. Paramalign Plevral Efüzyonlar**

Postobstrüktif pnömoni, atelektaziler ve mediastinal lenfadenopatlere bağlı lenfatik obstrüksiyon en sık paramalign efüzyon nedenleridir. Plevral sıvı sitolojisinin negatif olduğu bu olgularda tanıya yönelik ilave incelemelerin tamamlanması gerekir. Çünkü paramalign efüzyonu olan KHDAK'li hastalarda prognoz, aynı evredeki efüzyonu olmayan hastalardan farklı değildir. Buna karşın KHAK'inde malign plevral efüzyonun varlığı prognoz ve surviyi değiştirmez (2,4) .

Hodgkin lenfomalarda; plevral efüzyon, genellikle hastalığın ileri evrelerinde ortaya çıkarken, Non-Hodgkin lenfomalarda tanı aşamasında saptanabilmektedir. Sıklıkla eksuda niteliğinde, seröz, hemorajik veya şiloz görünümde olabilmektedir. Hodgkin lenfomalarda, genel olarak mediastinal lenf nodlarının yarattığı lenfatik drenaj bozukluğuna bağlı olarak efüzyon ortaya çıkmakta, Non-Hodgkin lenfomalarda ise pariyetal ve visseral plevranın tümöral tutulumu sıvıya neden olmaktadır. En sık T hücreli Non-Hodgkin lenfoma direkt plevra

invazyonu yapar (4). Efüzyon mediastinal radyoterapiye bağılı olarak radyoterapiden 1-2 yıl sonra da görülebilmektedir.

Radyoterapi, metotreksat, prokarbazin, siklofosfamid, bleomisin gibi ilaçlarla tedavi sırasında plevral efüzyon olabileceğı unutulmamalıdır (4,18).

Malign plevral efüzyonlu olgulara ait otopsi serilerinde yapılan incelemelerde, pariyetal plevra ve mediastinal lenf nodları arasındaki lenfatik sistemin etkilenmesi en sık saptanan bulgu olmuştur. Mediastinal lenf nodlarının karsinomatoz infiltrasyonu ve plevral lenfatiklerin plevral metastazlarla obstrüksiyonu bu patolojinin komponentlerini oluşturmaktadır. Akciğer kanserli hastalarda, pariyetal plevra metastazları, visseral plevradan uzanan adhezyonlar aracılığı ile veya plevral kaviteye eksfoliyeye olan hücreler yoluyla oluşmaktadır. Visseral plevra metastazi ise pulmoner arter invazyonu ve embolizasyonuna bağılı olabilmektedir. Periferik yerleşimli kanserlerde ise komşuluk yoluyla visseral plevra etkilenmektedir. Meme kanserli hastalarda ise, seyrek olarak toraks duvarı yoluyla direkt invazyon görülebildiğı gibi, sıklıkla lenfatik veya hematojen yayılım ile plevra tutulumu olmaktadır. Diyafragma altındaki organlara bağılı malign plevral efüzyonlarda ise karaciğer üzerinden olan tersiyer mekanizma devreye girmektedir.

**Tablo 7:** Paramalign Plevral Efüzyon Nedenleri

<b>Lokal Tümör Etkileri</b> <ul style="list-style-type: none"><li>· Lenfatik obstrüksiyon</li><li>· Postobstrüktif pnömoni</li><li>· Postobstrüktif atelektazi</li><li>· Sıkışmış akciğer-visseral plevra tutulumu</li></ul>	<b>Sistemik Tümör Etkileri</b> <ul style="list-style-type: none"><li>· Pulmoner emboli</li><li>· Hipoalbüminemi</li></ul>
<b>Tedavi Komplikasyonları</b> <ul style="list-style-type: none"><li>· Radyoterapi</li><li>· Erken dönem: 6 hafta ile 6 ay arasında plörit</li><li>· Geç dönem: mediastinal fibrozis</li><li>· Konstriktif perikardit</li><li>· Vena kava superior obstrüksiyonu</li></ul>	<b>Kemoterapi</b> <ul style="list-style-type: none"><li>· Metotreksat</li><li>· Prokarbazin</li><li>· Siklofosfamid</li><li>· Bleomisin</li></ul>

## 2.11. Malign Plevral Efüzyona Tanısal Yaklaşım

Malign plevral efüzyonu olan hastalarda en sık semptom efor dispnesi ve öksürüktür. Bu semptomlar genellikle ileri derecede efüzyonu olan hastalarda görülür. Dispne hastaların %50'sinden fazlasında ortaya çıkar. Dispnenin ciddiyeti plevral efüzyonun miktarına bağlıdır. Tümörün kendisine ait semptomlar da görülebilir. Plevral metastaz genellikle ileri hastalık göstergesi olduğundan hastalarda halsizlik (%21), iştahsızlık (%14) ve belirgin kilo kaybı (%32) görülebilir. Parietal plevra, kosta veya göğüs duvarının tutulumuna bağlı olarak göğüs ağrısı ortaya çıkabilir. Buna karşılık, plevral metastazı olan hastaların %25'i asemptomatik olabilir. Asemptomatik hastaların yaklaşık yarısında plevral efüzyon kanserin ilk bulgusudur (10).

Malign plevral efüzyonlu hastalarda göğüs ağrısı daha ziyade künt karakterde iken selim hastalıklarda plöritik tiptedir. Adenokarsinoma bağlı plevral efüzyonlarda daha az ağrı duyulur. Mezotelyomada ağrı künt ve baskı şeklindedir (4). Plevral metastazı olan hastaların muayenesinde plevral efüzyon nedeniyle solunum seslerinin azalması, matite ve diyafragma hareketinde kısıtlanma oldukça sıktır. Bunun nedeni, hastaların çoğunda ilk muayene sırasındaki plevral efüzyon miktarının 500 ml üzerinde olmasıdır. Ayrıca kaşeksi ve lenfadenopati de saptanabilir. Plevral frotman nadirdir. Göğüs duvarı tutulumu veya kosta metastazına bağlı olarak hassasiyet gelişebilir.

Malign plevral efüzyonların yaklaşık tümünde ilk laboratuvar bulgusu akciğer grafisinde sıvı saptanmasıdır. Akciğer kanserinde sıvı varsa aynı tarafta plevral efüzyon hemen hemen değişmez bir kural niteliğindedir. Meme kanseri dışındaki primer kanser, akciğer dışı bir organa ait ise sıvının kanser ile aynı tarafta olma eğilimi yoktur ve bilateral efüzyonlar sıktır.

Hastaların %75'inde plevral efüzyon miktarı 500 ile 2000 mL arasındadır. Olguların %10'unda sıvı 500 mL altında iken diğer %10'unda ise masif plevral efüzyon vardır. Masif plevral efüzyonların hastaların yaklaşık %70'i maligniteye bağlıdır. Akciğer kanseri ve lenfoma dışında maligniteye sekonder efüzyonu olan hastaların akciğer grafisindeki tek bulgu genellikle plevral efüzyondur. Bronkojenik kansere sekonder efüzyonu olan hastaların hemen hemen tamamında efüzyona eşlik eden radyolojik pulmoner anormallikler mevcuttur. Bunlar parenkimde atelektazi, soliter veya multipl nodüller, hiler veya mediastinal lenfadenopati, lenfanjitis karsinomatoza, kostalarda litik veya sklerotik lezyonlardır. Adı geçen radyolojik bulgular tek tek olabileceği gibi birlikte de bulunabilir. Bunun dışında radyolojik görünüm primer tümörün kaynağı hakkında ipucu sağlayabilir. Malign plevral efüzyonlarda BT yararlı

olabilir. Özellikle diğer organlara ait metastatik bulguların saptanmasında BT uygulanmalıdır. BT ile mediastinal ve hiler adenopatiler çok daha kesin bir şekilde gösterilebilir. Ayrıca plevral kalınlaşma, plevral nodüller, lenfanjitis karsinomatoza, nodüller, nodül içi kalsifikasyonlar, infiltratif değişiklikler, göğüs duvarı tutulumu ve perikardial efüzyon BT ile saptanabilir. Malign plevral efüzyonlar hemen daima eksüdadır. Genellikle lenfosit hakimiyeti mevcuttur. Eozinofili (>%10) malign plevral efüzyonlarda oldukça nadirdir. Protein konsantrasyonu yaklaşık 4g/dL civarında olup 1,5 ile 8,0 g/dL arasında değişebilir. Malign efüzyonlar seröz, serosanjinöz veya hemorajik olabilir. Eritrosit sayısı ortalama 40.000/mm<sup>3</sup> civarındadır. Aşırı hemorajik (>100.000 mm<sup>3</sup>) bir efüzyon malignite lehine yorumlanmalıdır. Malign plevral efüzyonlu hastaların yaklaşık üçte birinde pH 7.3'ün altındadır. Plevra sıvı pH'ı 6.95 kadar düşük olabilir. Bu olgular genellikle glukoz düzeyide düşük saptanan hastalardır ve bunlarda ortak özellik; sitolojideki pozitiflik oranının fazlalığı, prognozun kötülüğü ve plöredeze yanıtın kötü olmasıdır (10). Ancak yeni yayınlanan ve dokuz çalışmayı kapsayan bir metaanalizde, tek başına düşük plevra sıvısı pH değerinin sağkalım ve plöredez açısından beklenen doğruluk oranının yetersiz olduğu, hastanın performans durumu, primer tümör tipi, terapötik torasentez yanıtı gibi parametrelerin de plöredez kararı için değerlendirmeye eklenmesinin uygun olacağı bildirilmiştir (23).

Malign plörezeleli olguların yaklaşık %10'unda plevra sıvısı amilaz düzeyi yüksek bulunmakta ve amilaz tükrük bezi izotipi olarak saptanmaktadır. Bu hastalar sıklıkla adenokanser tanısı almaktadır. Ancak ileri tetkik öncesinde özafagus rüptürünün varlığı bu olgularda mutlaka ekarte edilmelidir.

İmmünohistokimyasal testlerle, farklı antijenlere karşı değişik monoklonal antikorlar kullanılarak, malign ve benign sıvı ayırımında katkı sağlanabilmekte, özellikle adenokarsinom-mezotelyoma ayırıcı tanısı yapılabilmektedir. Örneğin; anti CEA, anti Leu M1 ve Musin ile metastatik adenokarsinomlar sıklıkla pozitif boyanırken, reaktif veya malign mezotelyal hücreler boyanma göstermemektedir. İmmünohistokimyasal testler lenfoma kökenli sıvıların tanısında da yardımcı olabilmektedir.

Tümör belirleyicilerinin plevra sıvısı düzeylerinin saptanması ile tanıya yönelik bir sonuca ulaşmak olası değildir. Malign plevral efüzyonlu olguların yaklaşık %30-40'ında CEA düzeyleri >10 ng/ml bulunmuştur. Ancak CEA düzeyi yüksek olan hastaların çoğunda sitolojik olarak pozitiflik saptanmamıştır. Plevral sıvı mezotelin ölçümü mezotelyoma ile ilgili umut vaad eden bir tümör belirteci olarak görünmektedir. Flow sitometri hızlı nükleer DNA ölçümü

lenfoma tanısında kullanılabilir. Epidermal büyüme faktör reseptör (EGFR) mutasyonlarının saptanması küçük hücreli dışı akciğer kanserli hastalarda gefitinib tedavisine olumlu yanıt vereceğini gösterebilir (4).

### **2.12. Malign Plevral Efüzyonlarda Sitopatoloji**

Malign efüzyonların çoğunluğu eksüda niteliğinde olmakla birlikte bir kısmı da (% 1-10) transüda özelliğindedir. Efüzyonun patogeneze bağlı olarak sıvıdaki malign hücre sayısı farklılıklar göstermektedir. Lenfatik obstrüksiyon sonucu gelişen efüzyonlarda seyrek, tümör implantasyonuna ve direkt yayılıma bağlı olanlarda orta yoğunlukta, karsinomatozide bol hücre vardır. Sıvıda malignite tanısının esası, beklenenden farklı özelliklere sahip yabancı hücrelerin varlığının saptanmasına dayanmaktadır. Bu anormal görünümlü hücrelerle zemindeki reaktif mezotel hücrelerinin oluşturduğu iki farklı hücre popülasyonunun varlığının ortaya çıkarılması, malignite tanısında en önemli kriteri oluşturmaktadır. Bunun yanı sıra belirli malign tümör tipleri için ortak sitomorfolojik malignite göstergeleri mevcuttur. Çok sayıda koheziv hücreli yapı ünitelerinin varlığı efüzyonun büyük olasılıkla malign olduğuna işaret eder. Keza müsin sekresyonu veya keratinizasyon gösteren hücrelerin varlığı, papiller yapı ünitelerinin psammom cisimciği, anormal görünümlü hücrelerin melanin içermesi; tuhaf görünümlü hücrelerin, pleomorfik çekirdekli multinükleer dev hücrelerin ve anormal mitotik figür gösteren hücrelerin varlığı önemli malignite göstergeleridir. Kesin malignite kriterleri olarak kabul edilmeseler de bu özelliklerin varlığı malignite tanısı koymak için daha detaylı ve dikkatli bir inceleme için uyarı oluşturmaktadır. Küçük ya da büyük boyuttaki kanser hücrelerini ayırt etmek mezotel hücrelerine yakın, orta boyuttaki hücrelere göre daha kolay olmaktadır. Mezotelyoma bu genel tanısal kuralın dışında kalmaktadır; çünkü dokunun doğal elemanı olan tümör hücreleri yabancı bir popülasyon gibi görülmez (24). Nadir de olsa bazı metastatik karsinomların (özellikle over ve meme karsinomları) oluşturduğu efüzyonlarda sadece tümöral hücre popülasyonu mevcuttur ve bu hücreler mezotel hücrelerine oldukça benzerlik göstermektedir. Farklı bir hücre popülasyonunun ayırt edilemediği böyle durumlarda tanı yanılgıları oluşmaktadır.

Plevral efüzyonların sitopatolojik incelemesinde intranükleer sitoplazmik inklüzyonların (INCI) varlığı malign plevral efüzyonların karakteristik özelliğidir. Özellikle Papanicolau boyamasında INCI'lar daha rahat görülürler. İntranükleer sitoplazmik inklüzyonlar 4 tipe ayrılır a) Tip I; INCI çevredeki nükleer maddeden belirgin bir sınırla ayrılır b) Tip II; INCI çevredeki nükleer madde ile aralarındaki sınır daha az belirgindir c) Tip III; Tümör hücresi içindeki INCI

geniş bir halo ile çevrelenir d) Tip IV; Tip I ve II INCI'ların karışımından ibarettir. Tip I-INCI malign mezotelyomalarda, tip II-INCI iyi diferansiye pulmoner karsinomlarda gösterilmiştir. Tüm tip INCI'lar bir arada az diferansiye pulmoner karsinomlarda saptanmıştır. Ayrıca az diferansiye pulmoner karsinomlarda, iyi diferansiye pulmoner karsinoma oranla daha fazla INCI izlenmektedir. Malign olmayan kontrol grubunda INCI saptanmamıştır (25).

Malign plevral efüzyonlardan alınan sitolojik materyalden hazırlanan hücre blokları, sitokimya ve immünohistokimyanın kolayca uygulanmasına olanak tanımaktadır. Malign plevral efüzyonda saptanan hücrelerin kökeni hakkında (mezotel kökenli veya metastatik karsinom) bilgi edinebilmek için immünohistokimya uygulanabilir. Bu amaçla kalretinin, sitokeratin 5/6, CEA, CD15, MOC-31, WT-1, B72.3, podoplanin, D2-40 kullanılmaktadır. CEA, CD15, MOC-31 ve B72.3 ile pozitif reaksiyon karsinom lehine değerlendirilirken, diğerleri mezotelyomayı desteklemektedir. Efüzyon örneklerinde malign mezotelyomada D2-40 sensitivitesi yüksektir. Ancak diğer belirteçler ile kombine edilmelidir (26).

### **2.13. Malign Plevral Efüzyonlarda İmmünohistokimya**

**Tiroid Transkripsiyon Faktör-1 (TTF1) :** Matür akciğer ve tiroid dokusu ile embriyonel epitelyal hücrelerden ifade edilen Nkx2 gen ailesinin nükleer transkripsiyon proteini. Erişkin akciğerinde tip II pnömosit ve silleri olmayan bronşial hücrelerde tanımlanmıştır. TTF-1, gelişmekte olan tiroid, akciğer, beyin ve hipofizin erken diferansiyasyon ve morfogenezinde önemli rol oynar. TTF1, kromozom 14q13 de tek lokuslu bir gende bulunur ve akciğer dokusunda surfaktan proteinleri (A, B, C) ve Klara hücre sekretuar proteini gen ekspresyonunu regüle eder. TTF-1 ekspresyonu, akciğer ve tiroid kanserlerinde yüksek oranlarda görülmektedir. Bazı çalışmalarda TTF1'in farklı akciğer karsinom tiplerinde farklı yoğunlukta eksprese edildiği bildirilmektedir. TTF-1, akciğer adenokanserinde özellikle nonmüsinöz adenokanserinde immünreaktivite gösterir. Sensitivitesi %70, spesifitesi %100 olan bu protein akciğere metastaz yapan adenokarsinomların (metastatik tiroid malignansileri hariç) primer akciğer adenokarsinomundan ayrımını sağlar. Tiroid malignitesi için ek olarak tiroglobulin bakılır (27,28). TTF-1 ekspresyonu; akciğerin büyük hücreli karsinomlarında daha az sıklıkta görülürken, akciğerin skuamöz hücreli karsinomlarında bu oran daha da düşüktür. Akciğerin küçük hücreli karsinomlarında %81-100 gibi yüksek oranlarda TTF-1 ekspresyonu bildirilmiştir. Küçük hücreli dışı akciğer kanserinde ise %10-80 oranında TTF-1 ekspresyonu mevcuttur (29).



**Napsin A:** Proksimal ve distal renal tübül ile tip II pnömositlerden eksprese edilen aspartik proteindir. Akciğer adenokarsinomlarında %80'den fazla eksprese edilir. TTF-1'e ek olarak kullanılabilir (30). Napsin A, primer akciğer kanserinde TTF-1'den daha sensitiftir. TTF-1 ve napsin A birlikte pozitif ise akciğer adenokarsinomu düşünülür.

**Kalretinin:** Kalretinin, EF-el yapısına sahip 29 kDa kalsiyum bağımlı bir proteindir. S-100 proteini de EF-el yapısına sahip protein ailesi içinde yer almaktadır (31,32). Periferik ve santral sinir dokularında eksprese olmasının yanı sıra mezotelyal hücrelerde de ekspresyonu vardır. Bazı çalışmalarda Kalretinin'in mezotelyoma için pozitif bir marker olduğu gösterilmiştir (33,34).

**Östrojen reseptörü (ER):** Östrojen reseptörleri; intrasellüler proteinler olup konsantrasyon değişimine bağlı olarak, dolaşımdan hücre içine alınan, hormon molekülüne seçici olarak bağlanır ve hormon-reseptör kompleksi oluştururlar. Aktive olan hormon-reseptör kompleksi, spesifik olarak, nükleus içindeki, hormon yanıt elementleri olarak isimlendirilen kısa DNA sekanslarına bağlanır, fizyolojik hormon aktivitesini sağlayan transkripsiyonu gerçekleştirirler (35). Meme kanserlerinde, östrojen hormonu mutajenik ve promotör etki yapmaktadır. Östrojen hormonunun mutajenik etkisi reseptörler tarafından düzenlenmektedir ve kültürde de fonksiyonel östrojen reseptörü taşıyan meme kanser hücrelerinde mutajenik etkisi kanıtlanmıştır (36). Başta meme ve endometrium karsinomu olmak üzere, bir grup neoplastik hastalıkta östrojen reseptörlerinin prognostik önemi belirlenmiştir. ER (+) tümörler hormonal sağaltıma yanıt verir ve daha iyi prognoz gösterirler. Sağlıklı akciğer dokusunda ve akciğer tümörlerinde östrojen reseptörleri eksprese edildiğine ve akciğer kanserinin östrojenlere proliferasyonla yanıt verdiğiğine ilişkin oldukça fazla kanıt mevcuttur. KHDAK'lı hastalardan alınan örneklerde ERβ'ya özgü antikolar bu reseptörlerin KHDAK'de sıklıkla eksprese edildiğini göstermektedir (37,38).

**Kromogranin A(Cg A):** Kromograninler nörosekretuar granüllerde bulunan asidik glikoproteinlerdir. Üç çeşittir; kromogranin A, B ve C (39).

Cg A'nın tüm endokrin, nöroendokrin ve sinir sistemindeki sekretuar veziküllerde yaygın olarak bulunur. Bu dokularda peptid ve amin hormonlarla birlikte bulunan CgA, buradaki sekretuar proteinlerin düzenlenmesinde görev alan, asidik bir glikoproteindir. Bu dokuların yanında gastrointestinal sistem, adeno ve nörohipofiz immun sistem ve atrial miyokardium ile merkezi sinir sisteminin birçok alanındaki "densecore sinaptik granüllerde" bulunmaktadır (40). Nöroendokrin sistemde yaygın ekspresyonuna bağlı olarak Cg A nöroendokrin hücreler

için genel bir biyobelirteçtir ve yüksek Cg A seviyeleri nöroendokrin tümörlerin tespitinde yardımcıdır. Cg A biyolojik sıvılarda ve dokularda RIA, ELISA, western blott, immunfloresans mikroskopi ve immunohistokimyasal olarak tespit edilebilmektedir. Gastrik, pankreatik, ince barsak ve kolorektal yerleşimli nöroendokrin tümörler ve küçük hücreli akciğer karsinomu, medüller tiroid karsinomu, nöroblastom, feokromastoma, pitüiter tümörler, paraganglioma gibi tümörlerde pozitif saptanır. Ayrıca az miktarda pankreatik adenokarsinom, hepatosellüler karsinom, meme, kolon, over ve prostat kanserlerinde de pozitif olabilir (41).

**Sinaptofizin (SYN):** Sinaptik kesecik zarında altı polipeptitten oluşan bir kompleks hâlinde sinaptik kesecik ile plazma zarı arasında por oluşturan proteindir. Nöroendokrin tümörlerden salgılanır. Akciğerin nöroendokrin tümörlerinin tanısında belirteç olarak en sık Cg A ve SYN kullanılır. Bütün tipik ve atipik karsinoidler Cg A ve/veya SYN pozitifdir; ancak küçük hücreli akciğer kanserinin %25 oranında negatiflik gösterebileceği unutulmamalıdır. Gastroenteropankreatik nöroendokrin tümör (GEP-NET) hücreleri fenotipik SYN, NSE ve Cg A gibi proteinleri eksprese eder.

**CD19:** B hücreler 7-10 µm çapında lenfositlerdir. Diğer belirteçler yanında yüzey immunoglobulin, özellikle IgM ve IgD taşırlar, düşük oranda IgG ve IgA taşıyabilmektedirler. B hücrelerden gelişen plazma hücreleri (10-15 µm) normalde dolaşımında bulunmazlar, bölünme yetileri yoktur, immunoglobulin üretme görevlerini yerine getirirler. CD19, CD20 pozitifliklerinin yanı sıra CD40, CD79, HLA-DR, FcγRII reseptörleri (CD32) ve kompleman reseptörleri CD21, CD35 taşırlar. BHR (B Hücre Reseptörü) kompleksini CD19, CD21 ve CD81 oluştururlar. B hücre kökenli lenfoma, lösemi ve inflamasyonlarda pozitif saptanır.

**CD3:** THR (T hücre reseptörü ) multimoleküler bir komplekstir ve liganda bağlanma ile hücreyi aktifleştirici sinyal üretme yeteneği vardır. THR'in peptid-MHC kompleksi ile bağlanma bölgesi çoğunlukla α/β hetredimerinden oluşur; küçük bir alt grubunda γ/δ heterodimeri vardır. α/β ve γ/δ değişken ve sabit bölgelerden oluşur. Antikorlara benzer şekilde THR antijen bağlayan değişken bölgeleri T hücre gelişimi sırasında birleşen gen segmentlerinin rearranjanmanından ortaya çıkar. Bu süreç antijen reaktivitesi potansiyeli açısından sıradışı bir çeşitlilik sağlar. Toplamda 1018 farklı THR elde edilebilir ancak timustaki olgunlaşma sırasında elenmeden dolayı fonksiyonel populasyon beklenenden daha azdır. Gelişim programını tamamlayan her bir T hücresi gen segmentlerinin kombinasyonu tarafından kodlanan kendine özgü THR taşır. Lenfatikler, lenf nodları ve dalakta dolaşan T lenfositleri neredeyse karşısına çıkan tüm patojenleri tanıyacak çeşitliliktedir ve tanıdığına da sayıca

artacak kapasitede donatılmıştır. Yapılan çalışmalar  $\alpha/\beta$  heterodimerin ligand bağlandıktan sonra hücre içi sinyal iletimini sağlama kapasitesi taşımadığını gösterdi. Bu iletimi sağlayan  $\alpha/\beta$  heterodimere kovalan olmayan şekilde bağlanan ve CD3 denilen protein kompleksidir. CD3 heterodimer olarak eksprese edilen ve  $\delta, \epsilon, \gamma$  denen üç alt üiteden ve onlara homodimer olarak bağlı  $\zeta$  alt ünitesinden oluşur. Her bir alt ünite tirozin rezidülerini münferit yerleştiren amino asid yapısı olan immünoresptör tirozin temelli aktivasyon motifleri (ITAM) içerir.  $\delta, \epsilon, \gamma$  bir ITAM,  $\zeta$  üç ITAM içerir. ITAM tirozinleri CD3 için anahtardır ve  $\zeta$  zincirleri sinyali iletir.  $\alpha/\beta$  THR zincirleri peptid-MHC kompleksi ile birleştiğinde fosforile olur. Fosforilasyon sonrası ITAM'lar T hücre aktivasyonunda sinyal kaskadını başlatacak diğer proteinler için liman haline gelir. CD4 ve CD8 proteinleri de sinyal iletiminde rol oynar. Bu eş-reseptörler kendileri için uygun MHC kompleksi (CD4-MHC klas II, CD8-MHC klas I) ile sitoplazmik kuyrukları aracılığıyla ITAM'ları fosforile edebilen kinazlardan biri olan sinyal molekülü Lck'i bağlar (42).

**Lökosit Ortak Antijeni (LCA-CD45):** Tüm lenfositlerde pozitifdir; tüm lenfomalar pozitif boyanır. Foliküler dentritik hücreler (FDH), LCA pozitifdir. Hücre kültürü ortamlarından elde edilen FDH'lerin yaklaşık 15-60  $\mu\text{m}$  uzunluğunda oldukları tespit edilmiştir. Bu hücreler immun bölge antijeni ( $I_a$ ) ve lökosit genel antijeni (LCA) pozitif hücrelerdir. Geniş bazofilik sitoplazmalı makrofajlara zıt olarak Wright boyaması ile asidofilik bir sitoplazmaya sahip oldukları görülmüştür. Mac-1, Mac-2, Mac-3 ve F4/80 gibi makrofaj markerlarına da sahip değildirler. Makrofajlardan önemli bir diğer farkları ise koyun eritrositleri (SRBC) ile rozetler oluştursalar bile, bunları fagosite etme yeteneklerinin olmayışdır. FDH'ler fagozomlar içermezler ve fagositoz yapmazlar. Aynı zamanda T hücrelerinin Thy-1, Ly-1 ve Ly-2 antijenlerinden ve B hücrelerinin yüzey Ig'lerinden de yoksundurlar. Yüzeylerinde hem MHC sınıf I ve hem de MHC sınıf II moleküllerine sahiptirler (43).

**Sitokeratin 5/6 (CK5/6):** Sitokeratinler ara filamanlardır ve asıl görevleri hücrelerin mekanik strese karşı koyabilmelerini sağlamaktır. İnsanlarda sitokeratinin 20 farklı izotipi bulunmaktadır. Skuamöz hücreli karsinomlarda birçok keratin tipinin yanısıra sitokeratin 5/6 pozitifdir. CK5/6 ve CK14 gibi yüksek moleküler ağırlıklı (HMW) sitokeratinler, bazal tabaka hücrelerinde saptandığı için bazal sitokeratinler olarak bilinmektedir (28,30). İnvaziv meme kanserinde %2-18 ve grade 3 insitu meme lezyonlarında %25 oranında bu HMW sitokinler saptanmaktadır. Bu nedenle bu meme kanseri grubu bazal/miyoeptilyal fenotip gösteren grup olarak adlandırılır. Ayrıca bazaloid grup da sinonim olarak kullanılmaktadır(44).

**Sitokeratin 7 (CK7):** KRT 7 geni tarafından kodlanır. Tip II sitokeratin, basit ve tabakalı epitelyum dokularında farklılaşması esnasında eksprese bazik ya da nötr proteinlerden oluşur. Bu tip II sitokeratin özellikle iç organların boşlukları, bez kanallar ve kan damarlarının iç yüzünü örter. Akciğer adenokarsinomlarında CK 7 pozitifliği görülmektedir. CK 20 ile birlikte değerlendirilir.

### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmamıza, DEÜ Tıp Fakültesi Girişimsel Olmayan Araştırmalar Etik Kurulunun 11/04/2013 tarihli, 947-GOA protokol numaralı ve 2013/13-02 sayılı kararıyla başlandı. Olgulardan çalışmaya dahil olmak istediklerine dair aydınlatılmış onam alındı. Plevral sıvı örnekleri DEÜ Tıp Fakültesi Göğüs Hastalıkları Anabilim Dalı ile Göğüs Cerrahisi Anabilim Dalı'na çeşitli nedenlerle başvuran ve ayırıcı tanı için pleural sıvı örneği alınması gereken 79 olgudan elde edildi. Dokuz Eylül Üniversitesi Onkoloji Enstitüsü Temel Onkoloji Anabilim Dalı laboratuvarında 54 olgunun pleural sıvı örneği çalışmaya alındı. Yirmi beş olgunun örneği ise yeterli hücre içermediği için çalışmaya alınmadı (Şekil 1).

Şekil 1:Çalışma Düzeni



Rutin tanısal işlemler sırasında interkostal aralıktan enjektör veya tanı konamadığında invaziv cerrahi işlemler (torakoskopi, VATS, torakotomi) ile elde edilen pleural sıvı örneklerinin bir kısmı temel onkoloji laboratuvarında analiz edildi. Bu çalışma için olgulara ayrı bir sıvı alma işlemi uygulanmadı.

### 3.1. RT-PCR Array Analizi

Plevral sıvı örnekleri 50 ml'lik falkon tüplere porsiyonlandı ve 1600rpm de 7 dakika santrifuj edilerek, sıvının hücre içermeyen serum kısmı toplandı. Bu serum örnekleri de biyobelirteç analizine kadar -80°C'de saklandı. Total RNA izolasyonu için hücreler 200 µl PBS içinde resüspanse edildi. 400 µl liziz ve bağlanma tamponu eklenip 15 sn vortekslenip, yüksek saflıkta filtreli tüp koleksiyon tüpüne takıldı. Örnek üstteki filtreli tüpe aktarılıp, 15 sn 8000 g de santrifüjlendi. Filtreli tüp koleksiyon tüpünden çıkarıldı. Koleksiyon tüpündeki sıvı uzaklaştırıldıktan sonra aynı tüpler tekrar takıldı. Örnek başına 90 µl DNAaz inkübasyon tamponu reaksiyon tüpüne eklendi. 10 µl DNAaz I eklenip karıştırılıp bu karışım filtreli tüpe ilave edildi ve 15 dk oda sıcaklığında inkübe edildi. Filtreli tübe 500 µl yıkama tamponu I eklenip 15 sn 8000 g de santrifüjlendi. Alttaki koleksiyon tüpünde toplanan sıvı uzaklaştırıldıktan sonra aynı tüpler tekrar takıldı. Filtreli tübe 500 µl yıkama tamponu II eklenip ve 15 sn 8000 g de santrifüjlendi. Alttaki koleksiyon tüpünde toplanan sıvı uzaklaştırıldıktan sonra aynı tüpler tekrar takıldı, 200 µl yıkama tamponu II filtreli tüpe eklenip 2 dk max. hızda santrifüjlendi (13000 g). Daha sonra koleksiyon tüpü atılıp, filtreli tüp yeni bir steril 1.5 ml 'lik mikrosantrifuj tüpüne takıldı. RNA elüsyonu için 50-100 µl elüsyon tamponu filtreli tüpe eklendi. 1 dk 8000 g de santrifüjlendi. Elde edilmek istenen RNA artık alttaki 1,5 ml 'lik mikrosantrifuj tüpünde bulunacaktır. RNA, cDNA sentezi ve ardından RT-PCR çalışmasında kullanılmak için -80 °C 'de saklandı ve miktarları Qubit cihazında ölçüldü. Bazı örneklerden elde edilen RNA miktarları, hücre azlığı kaynaklı olarak çok azdı. Bu nedenle RNA örneklerinden cDNA çevirimi için alınabilecek maksimum miktarda RNA alındı ve iScript™ cDNA Sentez kiti (BioRad) ile üretici firmanın açıkladığı şekilde cDNA sentezi gerçekleştirildi. cDNA'ların kalitesi RT-PCR reaksiyonu ile array'e konmadan önce test edildi. 0,1µM'lık 1X'lik primer-enzim karışımı ara stoğu hazırlandı ve kullanıma kadar -20 °C'de muhafaza edildi. cDNA SYBRR Green Master mix (BioRad) karışımı, 100 gen örneğine göre hazırlandı.

cDNA-SYBR Green Master mix karışımı, 1,5ml'lik mikrosantrifuj tüplerine hazırlandı, vortekslenildi ve 9'ar µl, 96 kuyucuklu plate'in her bir kuyucuğuna dağıtıldı. Karışımın üzerine 1'er µl hazırlanan primer-enzim ara stok karışımından eklendi. Toplamda 10µl final hacmindeki PCR-array plate'in üzeri seal ile kapatılıp, 2000rpm'de 1 dk boyunca spin down edildi ve PCR

gerçekleştirildi. PCR koşulları : Primer konsantrasyonu 0.1 µM, Program: 95°C – 10 s, 58°C 45 s (45 siklus). Elde edilen Cq değerleri ‘Qiagen Bioscience’ programında analize alındı.

Elde edilen RNA‘lar cDNA‘ya çevrildi. cDNA‘lar uygun PCR karışımlarına DNA kontaminasyonundan özenle kaçınılarak eklendi. Real-time PCR analizi yapılacak olan array immün yanıtta etkili inflamatuvar sitokinler ve reseptörleri için hazırlanmış kit oldu. Yapılan data analizinde aşağıdaki genlerin ekspresyonları hakkında bilgi edinildi.

**Tablo 8 :** PCR Array Analizi ile Bakılan Genler

<b>TTF1 :</b> Akciğer adenokarsinomu <b>Napsin A:</b> Akciğer adenokarsinomu <b>Östrojen reseptörü (ER) :</b> Meme kanseri <b>Kromogranin A (Cg A):</b> Küçük hücreli akciğer karsinomu <b>Sitokeratin 7 (CK7) :</b> Meme kanseri <b>Lökosit Ortak Antijeni (LCA-CD45):</b> Lenfositik infiltrasyon	<b>Kalretinin:</b> Mezotelyoma <b>Sinaptofizin (SYN) :</b> Küçük hücreli akciğer karsinomu <b>CD19:</b> Lenfositik infiltrasyon <b>CD3:</b> Lenfositik infiltrasyon <b>Sitokeratin 5/6 (CK5/6):</b> Akciğer skuamöz hücreli karsinom
--	--

### 3.2.Verilerin Analizi

SPSS 22.0 programı kullanılarak istatistiksel analiz gerçekleştirildi. Malign ve benign plevral efüzyonların karşılaştırılmasında verilerin dağılım özelliğine göre nonparametrik testler Mann Whitney U ve Ki kare kullanıldı. Kat artış ya da azalış değerleri alınarak, karşılaştırılan grupların gen ve protein değişimleri için clustergramlar oluşturuldu. P<0.05 istatistiksel anlamlı kabul edildi.

## 4. BULGULAR

### 4.1.Olguların Genel Özellikleri:

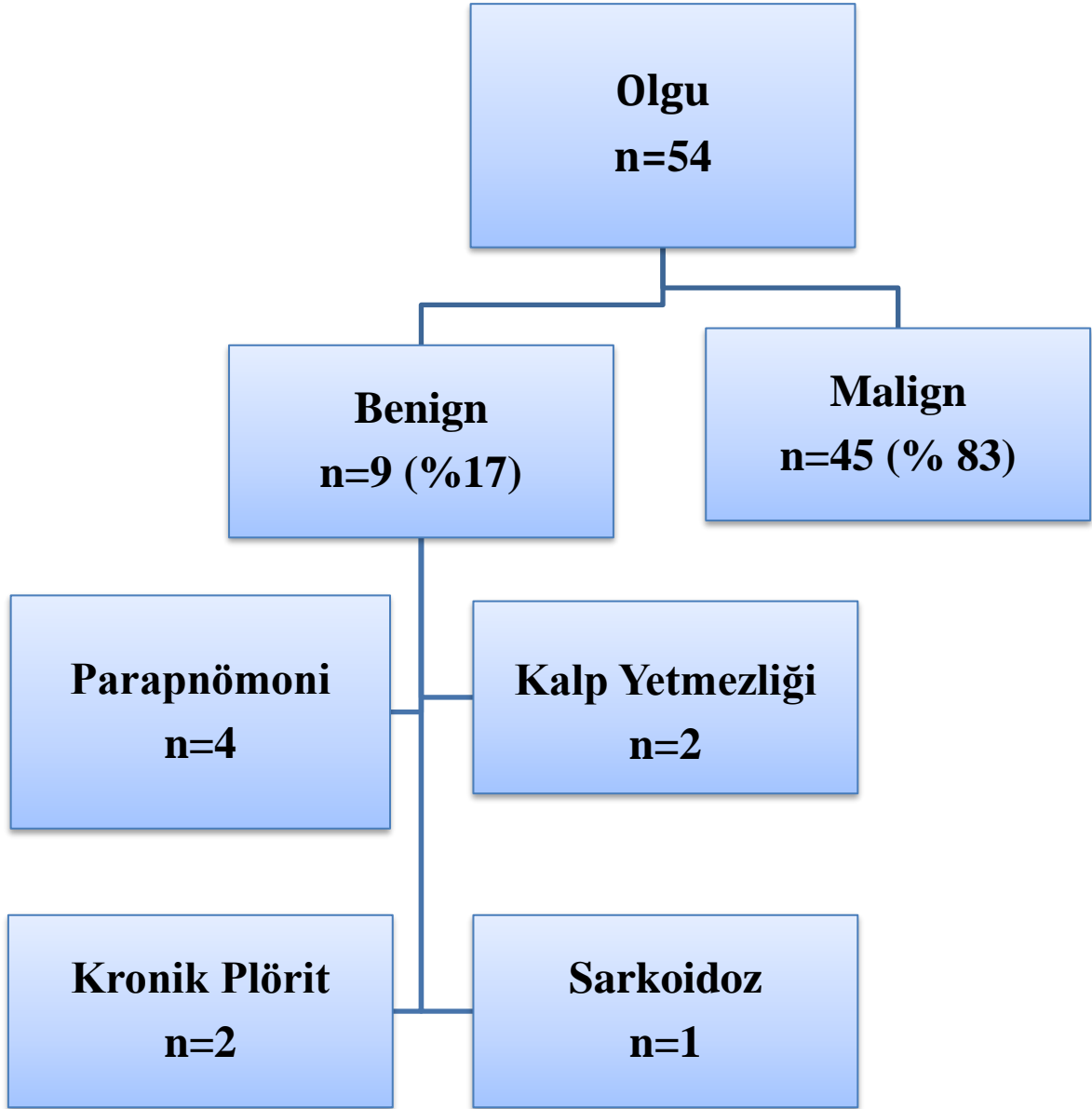
Çalışmada, 79 olgunun sitolojik değerlendirme için alınan plevral sıvı örneğinden bir miktarı çalışma için ayrıldı. Ancak 25 olgunun plevral sıvısı aşırı hiposellüler olduğu için PCR yapılamadı. Geri kalan 54 olgunun plevral sıvısı çalışmaya alındı. Çalışmaya dahil edilen olguların demografik özellikleri tablo 9’da verilmiştir.

**Tablo 9:** Olguların Demografik ve Klinik Özellikleri

<b>Yaş</b>	<b>65.5 ± 11.58</b>
<b>Cinsiyet K/E (n)</b>	<b>27 / 27</b>
<b>Sigara öyküsü var / yok (n)</b>	<b>29 / 25</b>
<b>Sigara tüketimi (paket / yıl)</b>	<b>53.9 ± 24.87</b>
<b>Ek hastalık var/yok (%)</b>	<b>% 96.2 / % 3.8</b>
<b>Kardiyak hastalık (HT, AF, Koroner Arter hastalığı vs.)</b>	<b>% 48.1</b>
<b>Diğer (SVO, endokrin bozukluk vs.)</b>	<b>% 48.1</b>
<b>Astım</b>	<b>% 9.3</b>
<b>KOAH</b>	<b>% 44.4</b>
<b>PTE</b>	<b>%7.4</b>

Olguların yaşı  $65.5 \pm 11.58$ , erkek kadın sayısı eşitti, %46.3’ü hiç sigara içmemişti, %53.7’si sigara içiyordu. Sigara içenlerin  $53.9 \pm 24.87$  (paket/yıl) sigara tüketimi vardı. Göğüs hastalıkları ve göğüs cerrahisi kliniğine başvuran olguların malignite dışında kardiyovasküler hastalık, kalp yetmezliği, serebrovasküler hastalık, hipertansiyon ve diabetes mellitus gibi çok sayıda komorbid hastalıkları mevcuttu (Tablo 9).

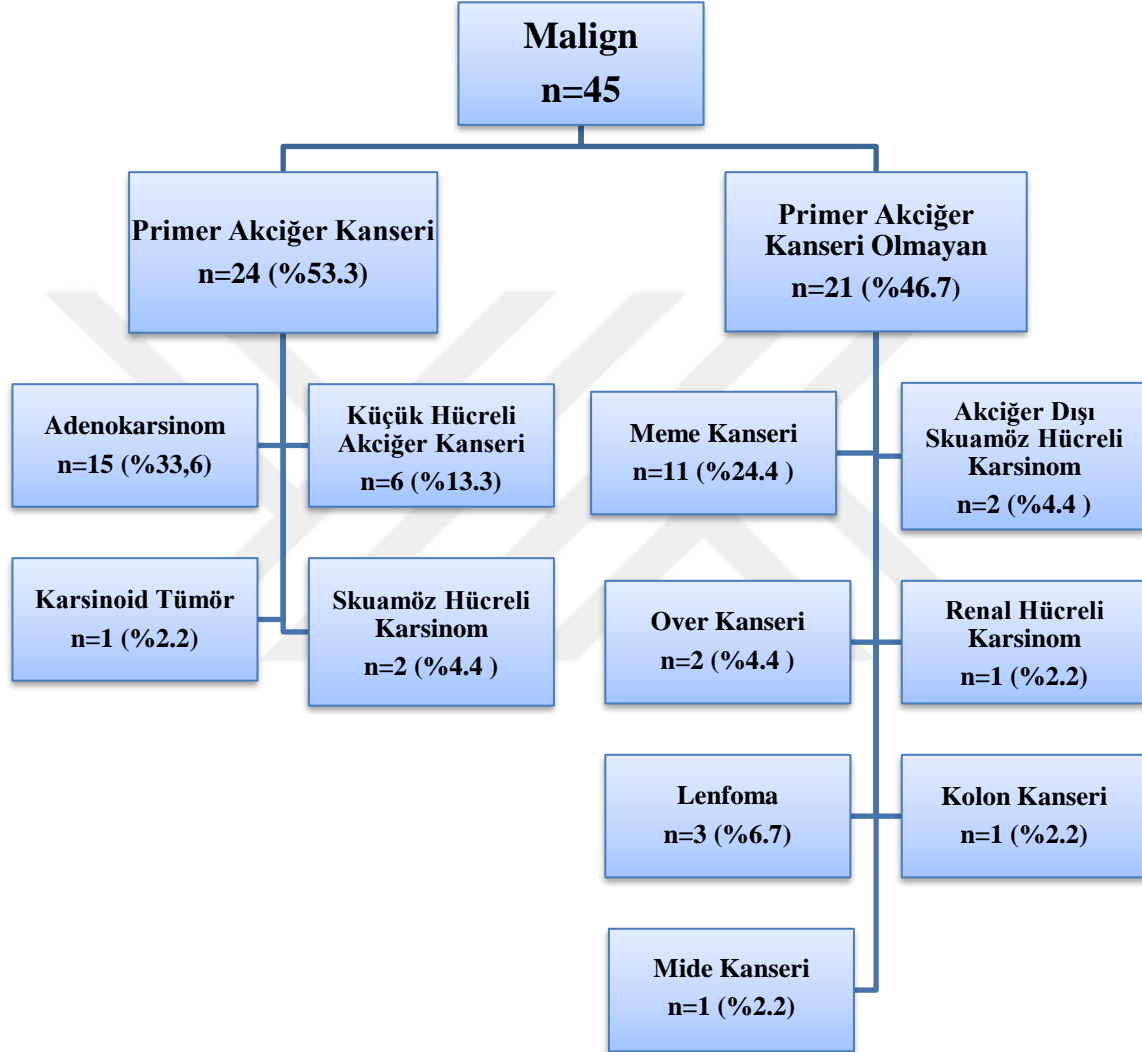
**Şekil 2 : Çalışmaya Dahil Olan Grubun Benign-Malign Hastalık Dağılımı**



Olgulardan %83.3'ünde malignite tanısı vardı. Çalışmaya alınan 54 olgunun 45'inin malign hastalığı vardı. Dört olguda parapnömoni, 2'sinde kalp yetmezliği, 2'sinde kronik plörit ve 1'inde ise sarkoidoza bağlı plevral sıvı mevcuttu (Şekil 2).



Şekil 3: Malign Gruptaki Olguların Kanser Türlerinin Dağılımı



Malign sıvı saptanan olguların %53.3'ü primer akciğer malignitesiydi ve bu olgularda sigara içme oranı daha yüksekti. Genel olarak malignitelerin dağılımına bakıldığında %33.6 ile akciğer adenokarsinomu ilk sırada yer aldı. Meme kanseri ise %24.4 ile ikinci sıklıktaki maligniteydi (Şekil 3).

Olguların çalışma sonunda (3 yıllık sürede) sağkalım yüzdesi %38.9 olup, %61.1'i tanı konduktan 15.0±8.86 ay, plevral sıvısı saptandıktan 6.5±4.21ay sonra exitus olmuştur (Tablo10).

**Tablo 10:** Olguların Sağkalım Süreleri

	Minimum (ay)	Maksimum (ay)	Median ± SS (ay)
Tanı-Exitus arası süre (ay)	1.0	32.0	15.0 ± 8.86
Plevra sıvı – Exitus arası süre (ay )	1.0	13.0	6.5 ± 4.21

Olguların, tanısal amaçlı çalışılan rutin patolojik değerlendirilmesinde olguların %44.4'ü malignite yönünden negatifti, %42.6'sının ise malign hücreler içerdiği saptandı. %13'ü ise malignite yönünden kuşkulu idi (Tablo 11).

**Tablo 11:** Patoloji Raporlarına Göre Olguların Dağılımı

Patoloji Raporu	Sayı	(%)
<b>Malignite yönünden negatif</b>	24	44.4
<b>Malignite yönünden kuşkulu</b>	7	13.0
<b>Malign hücreler pozitif</b>	23	42.6
<b>Toplam</b>	54	100.0

**Tablo 12:** Primer Malignite Alt Gruplarına Göre Patoloji Raporuyla Malign Efüzyon Saptanma Oranları

<b>Primer Tümör</b>	<b>Malignite yönünden negatif n (%)</b>	<b>Malignite yönünden kuşkulu n (%)</b>	<b>Malign hücreler Pozitif n (%)</b>
<b>Akciğer adenokarsinomu</b>	2 13.3	3 20.0	10 66.7
<b>Küçük hücreli akciğer kanseri</b>	4 66.7	0	2 33.3
<b>Akciğer karsinoid tümörü</b>	1 100	0	0
<b>Skuamöz hücreli akciğer kanseri</b>	2 66.7	0	1 33.3
<b>Over kanseri</b>	1 50.0	0	1 50.0
<b>Lenfoma</b>	0	0	3 100.0
<b>Mide kanseri</b>	1 100.0	0	0
<b>Akciğer dışı skuamöz hücreli kanseri</b>	1 100.0	0	0
<b>Renal hücreli karsinom</b>	1 100.0	0	0
<b>Kolon kanseri</b>	1 100.0	0	0
<b>Meme kanseri</b>	1 9.1	4 36.4	6 54.5

#### 4.2.Real Time PCR Bulguları:

Plevral sıvı örnekleri de PCR array yöntemi ile bakılan gen ekspresyonları Tablo 13’da gösterilmiştir.

**Tablo 13:** PCR Array Yöntemi ile Bakılan Belirteçler (P: Hasta No)

GENLER	P-1	P-2	P-3	P-4	P-6	P-7	P-8	P-10	P-11
NKX2-1	36.02	36.19	43.05	28.31	36.60	29.27	0.00	32.73	0.00
NKX2-1	28.41	29.70	31.23	25.11	31.52	28.71	29.45	28.10	30.23
NAPSA	23.75	29.83	32.20	22.56	28.34	22.78	27.24	0.00	25.71
NAPSA	0.00	0.00	41.68	23.94	35.79	24.43	35.62	0.00	0.00
KRT5	29.16	27.83	27.22	25.41	17.67	26.14	33.63	37.80	28.50
KRT5	24.33	27.25	23.73	23.04	15.74	24.41	29.02	35.18	24.13
KRT7	42.06	34.13	38.16	28.66	26.12	22.67	42.68	32.32	29.62
ESR1	43.40	35.24	34.25	35.26	33.82	0.00	0.00	0.00	28.66
CHGA	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	42.16	0.00	0.00
SYP	27.88	30.40	0.00	31.22	23.39	27.16	36.27	0.00	30.95
SYP	44.10	38.92	0.00	0.00	37.72	33.90	30.42	43.01	39.79
CALB2	21.27	0.00	24.28	23.61	27.20	23.66	0.00	33.04	25.56
PTPRC	29.76	31.15	37.39	32.34	34.67	26.57	35.88	0.00	0.00
CD3D	24.77	27.11	32.55	28.50	34.49	25.36	30.07	0.00	27.50
CD3D	21.00	23.09	28.07	25.37	37.15	25.14	25.31	39.78	24.03
CD19	28.00	28.76	30.98	30.46	28.66	27.24	34.03	34.66	30.33
CD19	24.12	26.19	30.49	29.16	38.43	25.83	31.27	41.60	25.33
S100A1	17.42	21.67	19.74	18.49	14.35	18.01	23.59	22.27	15.64
GAPDH	16.02	20.53	18.11	17.68	13.45	17.43	22.32	20.70	15.27

GENLER	P-13	P-16	P-22	P-23	P-24	P-26	P-27	P-32	P-33
NKX2-1	0.00	0.00	26.19	33.94	29.01	35.26	28.29	0.00	33.52
NKX2-1	36.12	32.10	23.98	29.80	28.17	43.35	28.39	38.05	41.83
NAPSA	36.87	30.31	27.13	30.75	24.38	18.59	27.99	25.82	30.62
NAPSA	36.78	31.57	31.18	0.00	25.03	26.21	34.46	31.36	37.62
KRT5	36.60	32.32	38.18	38.08	32.33	27.87	27.67	37.14	43.20

<b>KRT5</b>	0.00	0.00	36.26	28.73	0.00	23.87	24.71	27.59	43.65
<b>KRT7</b>	0.00	44.00	29.13	42.36	31.13	35.15	37.27	29.84	0.00
<b>ESR1</b>	0.00	30.39	43.16	31.27	39.98	32.43	30.69	24.73	34.42
<b>CHGA</b>	0.00	42.43	0.00	0.00	0.00	0.00	44.75	0.00	0.00
<b>SYP</b>	0.00	26.50	0.00	27.97	42.88	27.35	25.95	25.54	0.00
<b>SYP</b>	37.49	42.65	41.10	0.00	39.55	43.59	44.05	35.19	31.92
<b>CALB2</b>	0.00	41.33	28.51	43.75	41.78	23.77	0.00	37.56	40.79
<b>PTPRC</b>	0.00	38.34	40.24	35.35	34.24	21.91	35.84	31.66	26.65
<b>CD3D</b>	0.00	27.58	34.64	0.00	34.98	19.23	38.45	32.38	26.46
<b>CD3D</b>	34.10	26.18	41.09	42.05	29.24	16.54	29.03	26.47	22.50
<b>CD19</b>	32.87	31.15	35.94	31.09	32.70	21.05	30.25	37.00	28.95
<b>CD19</b>	40.15	0.00	36.75	40.37	30.25	18.53	38.00	0.00	26.56
<b>S100A1</b>	28.10	24.06	21.08	26.14	22.84	16.31	22.60	18.72	20.27
<b>GAPDH</b>	28.40	22.20	24.79	31.74	25.90	15.06	31.95	24.35	28.12

<b>GENLER</b>	<b>P-35</b>	<b>P-38</b>	<b>P-39</b>	<b>P-41</b>	<b>P-43</b>	<b>P-44</b>	<b>P-45</b>	<b>P46</b>	<b>P-49</b>
<b>NKX2-1</b>	0.00	43.23	0.00	41.32	0.00	0.00	0.00	27.81	0.00
<b>NKX2-1</b>	38.66	29.55	39.30	38.41	34.90	32.17	36.59	24.91	37.90
<b>NAPSA</b>	0.00	25.62	27.79	26.13	0.00	20.42	20.27	26.46	28.09
<b>NAPSA</b>	0.00	32.41	30.40	29.13	37.29	31.33	26.61	30.15	29.49
<b>KRT5</b>	0.00	15.23	36.40	24.67	33.33	26.11	22.18	14.44	35.59
<b>KRT5</b>	29.12	14.05	44.74	24.30	0.00	0.00	19.37	13.12	28.64
<b>KRT7</b>	0.00	30.65	36.18	29.57	0.00	0.00	29.82	23.88	0.00
<b>ESR1</b>	0.00	24.42	29.67	33.39	0.00	31.15	29.55	33.47	43.46
<b>CHGA</b>	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	37.57	0.00	0.00
<b>SYP</b>	0.00	24.22	27.44	0.00	0.00	25.60	27.52	30.31	0.00
<b>SYP</b>	39.36	35.40	36.67	36.38	38.45	28.20	41.80	0.00	35.00
<b>CALB2</b>	32.17	23.04	42.13	23.76	0.00	31.07	38.07	30.82	43.82
<b>PTPRC</b>	35.84	28.89	33.42	29.89	31.00	21.74	23.78	30.05	33.17
<b>CD3D</b>	27.39	30.50	31.03	25.14	29.60	19.48	20.24	28.22	25.61
<b>CD3D</b>	24.20	26.21	26.41	20.55	29.37	19.22	18.01	22.87	33.80
<b>CD19</b>	37.37	29.63	0.00	29.83	34.75	23.03	26.20	30.30	28.20
<b>CD19</b>	28.59	37.09	29.62	25.58	38.19	22.13	22.51	27.59	24.90

<b>S100A1</b>	26.44	14.14	20.32	16.09	0.00	17.89	15.34	12.58	22.70
<b>GAPDH</b>	32.83	18.25	23.77	20.89	27.77	17.13	19.44	25.80	30.42

<b>GENLER</b>	<b>P-51</b>	<b>P-50</b>	<b>P-52</b>	<b>P-54</b>	<b>P-57</b>	<b>P-58</b>	<b>P-59</b>	<b>P-60</b>	<b>P-62</b>
<b>NKX2-1</b>	0.00	43.66	0.00	20.35	34.65	27.54	0.00	0.00	30.12
<b>NKX2-1</b>	35.19	33.63	38.30	20.69	28.34	24.08	38.24	30.12	29.26
<b>NAPSA</b>	29.75	0.00	26.54	23.94	24.74	24.21	35.18	39.30	24.56
<b>NAPSA</b>	39.15	0.00	28.26	26.77	31.58	25.40	44.55	42.13	29.82
<b>KRT5</b>	37.64	35.77	30.73	23.68	28.29	26.42	0.00	34.41	21.55
<b>KRT5</b>	0.00	0.00	24.84	25.65	23.99	42.10	0.00	0.00	21.01
<b>KRT7</b>	0.00	0.00	26.90	18.79	36.06	33.14	30.00	32.98	20.28
<b>ESR1</b>	32.55	0.00	27.64	29.97	31.65	34.90	0.00	34.48	27.91
<b>CHGA</b>	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	41.10	0.00
<b>SYP</b>	29.17	0.00	25.94	26.42	28.37	33.52	0.00	0.00	25.08
<b>SYP</b>	35.51	32.40	34.73	36.41	0.00	40.69	37.67	35.08	30.13
<b>CALB2</b>	41.90	0.00	24.45	0.00	25.51	30.78	0.00	0.00	20.47
<b>PTPRC</b>	0.00	0.00	33.40	27.50	34.16	38.05	0.00	31.99	23.76
<b>CD3D</b>	29.31	0.00	25.52	24.48	25.50	0.00	0.00	30.76	21.95
<b>CD3D</b>	28.08	0.00	21.40	24.11	22.64	41.50	29.47	28.36	21.62
<b>CD19</b>	31.98	39.32	29.97	29.89	31.36	34.52	29.72	32.42	25.85
<b>CD19</b>	28.22	41.19	28.37	38.39	37.26	37.95	0.00	0.00	25.54
<b>S100A1</b>	24.38	42.03	14.10	16.19	22.06	18.12	22.85	25.77	15.51
<b>GAPDH</b>	24.65	32.44	19.43	19.76	33.51	25.30	23.49	26.11	15.48

<b>GENLER</b>	<b>P-63</b>	<b>P-64</b>	<b>P-67</b>	<b>P-68</b>	<b>P-69</b>	<b>P-72</b>	<b>P-74</b>	<b>P-75</b>	<b>P-77</b>	<b>P-79</b>
<b>NKX2-1</b>	0.00	43.14	0.00	30.14	0.00	39.68	32.99	30.31	26.34	20.13
<b>NKX2-1</b>	0.00	0.00	28.23	26.41	41.70	36.36	29.36	27.34	25.25	0.00
<b>NAPSA</b>	30.38	0.00	31.02	26.33	27.82	23.81	28.57	29.36	19.19	20.75
<b>NAPSA</b>	0.00	38.70	35.00	29.26	0.00	0.00	0.00	35.26	21.25	21.06
<b>KRT5</b>	32.20	35.67	29.13	26.18	30.57	28.71	27.44	40.57	39.00	26.71
<b>KRT5</b>	28.07	0.00	0.00	30.32	27.74	21.21	26.20	0.00	42.11	22.11
<b>KRT7</b>	44.69	0.00	33.25	42.63	41.50	31.48	34.02	35.85	0.00	26.71
<b>ESR1</b>	0.00	0.00	0.00	35.14	0.00	34.74	44.03	27.75	0.00	0.00

<b>CHGA</b>	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	36.54	25.68	0.00	0.00	0.00
<b>SYP</b>	0.00	30.13	27.45	29.69	0.00	0.00	30.95	26.83	28.64	24.89
<b>SYP</b>	0.00	38.32	36.28	0.00	38.01	39.54	36.07	33.94	40.47	33.54
<b>CALB2</b>	41.04	0.00	30.28	41.05	28.36	22.80	29.90	31.51	0.00	17.83
<b>PTPRC</b>	38.08	0.00	27.95	33.00	33.08	31.61	34.38	33.95	42.61	22.80
<b>CD3D</b>	0.00	0.00	27.81	26.49	29.72	27.34	29.32	26.44	0.00	18.00
<b>CD3D</b>	28.82	28.07	27.96	23.53	25.37	24.26	25.65	22.94	28.17	15.09
<b>CD19</b>	34.44	32.25	30.94	31.37	33.68	30.39	35.22	30.74	39.49	0.00
<b>CD19</b>	38.73	42.03	28.63	28.81	27.12	26.27	0.00	36.82	37.38	0.00
<b>S100A1</b>	23.93	26.43	21.24	21.31	24.12	18.83	24.76	21.33	20.20	18.02
<b>GAPDH</b>	29.91	26.50	21.54	27.19	29.54	21.74	11.21	30.55	32.36	31.89

Plevral efüzyonların gen ekspresyonları; cDNA-SYBR Green Master mix karışımı ve array kit sonuçlarına göre negatif, pozitif ve düşük pozitif olarak değerlendirildi

**Tablo 14:** Malignitelerin PCR Array ile Kalretinin Sonuçları

<b>Kalretinin</b>	<b>Negatif n (%)</b>	<b>Düşük pozitif n (%)</b>	<b>Pozitif n (%)</b>	<b>Toplam n (%)</b>
<b>Malignite tanısı olmayan grup</b>	8 88.9	0	1 11.1	9 100.0
<b>Akciğer adenokarsinomu</b>	13 86.7	1 6.7	1 6.7	15 100.0
<b>Küçük hücreli akciğer kanseri</b>	5 83.3	1 16.7	0	6 100.0
<b>Akciğer karsinoid tümörü</b>	1 100.0	0	0	1 100.0
<b>Skuamöz hücreli akciğer kanseri</b>	2 66.7	1 33.3	0	3 100.0
<b>Meme kanseri</b>	7 63.6	0	4 36.4	11 100.0
<b>Over kanseri</b>	2 100.0	0	0	2 100.0
<b>Lenfoma</b>	3 100.0	0	0	3 100.0
<b>Mide kanseri</b>	1 100.0	0	0	1 100.0
<b>Akciğer dışı skuamöz hücreli kanseri</b>	0	0	1 100.0	1 100.0
<b>Renal hücreli karsinom</b>	1 100.0	0	0	1 100.0
<b>Kolon kanseri</b>	1 100.0	0	0	1 100.0



**Tablo 15: Malignitelerin PCR Array ile TTF-1 Sonuçları**

<b>TTF-1</b>	<b>Negatif n (%)</b>	<b>Düşük pozitif n (%)</b>	<b>Pozitif n (%)</b>	<b>Toplam n (%)</b>
<b>Malignite tanısı olmayan grup</b>	9 100.0	0	0	9 100.0
<b>Akciğer adenokarsinomu</b>	7 46.7	1 6.7	7 46.7	15 100.0
<b>Küçük hücreli akciğer kanseri</b>	5 83.3	0	1 16.7	6 100.0
<b>Akciğer karsinoid tümörü</b>	0	0	1 100.0	1 100.0
<b>Skuamöz hücreli akciğer kanseri</b>	1 33.3	0	2 66.7	3 100.0
<b>Meme kanseri</b>	1 100.0	0	0	1 100.0
<b>Over kanseri</b>	2 100.0	0	0	2 100.0
<b>Lenfoma</b>	3 100.0	0	0	3 100.0
<b>Mide kanseri</b>	1 100.0	0	0	1 100.0
<b>Akciğer dışı skuamöz hücreli kanseri</b>	1 100.0	0	0	1 100.0
<b>Renal hücreli karsinom</b>	1 100.0	0	0	1 100.0
<b>Kolon kanseri</b>	1 100.0	0	0	1 100.0

**Tablo 16:** Malignitelerin PCR Array ile Napsin A Sonuçları

<b>NAPSİN A</b>	<b>Negatif n (%)</b>	<b>Düşük pozitif n (%)</b>	<b>Pozitif n (%)</b>	<b>Toplam n (%)</b>
<b>Malignite tanısı olmayan grup</b>	7 77.8	0	2 22.2	9 100.0
<b>Akciğer adenokarsinomu</b>	5 33.3	0	10 66.7	15 100.0
<b>Küçük hücreli akciğer kanseri</b>	4 66.7	2 33.3	0	6 100.0
<b>Akciğer karsinoid tümörü</b>	0	1 100.0	0	1 100.0
<b>Skuamöz hücreli akciğer kanseri</b>	1 33.3	1 33.3	1 33.3	3 100.0
<b>Meme kanseri</b>	6 54.5	0	5 45.5	11 100.0
<b>Over kanseri</b>	2 100.0	0	0	2 100.0
<b>Lenfoma</b>	2 66.7	0	1 33.3	3 100.0
<b>Mide kanseri</b>	1 100.0	0	0	1 100.0
<b>Akciğer dışı skuamöz hücreli kanseri</b>	0	0	1 100.0	1 100.0
<b>Renal hücreli karsinom</b>	1 100.0	0	0	1 100.0
<b>Kolon kanseri</b>	1 100.0	0	0	1 100.0

**Tablo 17: Malignitelerin PCR Array ile CK-7 Sonuçları**

<b>Sitokeratin 7 (CK7)</b>	<b>Negatif n (%)</b>	<b>Düşük pozitif n (%)</b>	<b>Pozitif n (%)</b>	<b>Toplam n (%)</b>
<b>Malignite tanısı olmayan grup</b>	9 100.0	0	0	9 100.0
<b>Akciğer adenokarsinomu</b>	12 80	0	3 20	15 100.0
<b>Küçük hücreli akciğer karsinomu</b>	6 100.0	0	0	6 100.0
<b>Akciğer karsinoid tümörü</b>	1 100.0	0		1 100.0
<b>Skuamöz hücreli akciğer kanseri</b>	2 66.7	0	1 33.3	3 100.0
<b>Meme kanseri</b>	8 72.7	1 9.1	2 18.2	11 100.0
<b>Over kanseri</b>	2 100.0	0	0	2 100.0
<b>Lenfoma</b>	3 100.0	0	0	3 100.0
<b>Mide kanseri</b>	1 100.0	0	0	1 100.0
<b>Akciğer dışı skuamöz hücreli kanseri</b>	1 100.0	0	0	1 100.0
<b>Renal hücreli karsinom</b>	1 100.0	0	0	1 100.0
<b>Kolon kanseri</b>	1 100.0	0	0	1 100.0

**Tablo 18:** Malignitelerin PCR Array ile ER Sonuçları

<b>Östrojen reseptörü(ER)</b>	<b>Negatif n (%)</b>	<b>Düşük pozitif n (%)</b>	<b>Pozitif n (%)</b>	<b>Toplam n (%)</b>
<b>Malignite tanısı olmayan grup</b>	9 100.0	0	0	9 100.0
<b>Akciğer adenokarsinomu</b>	15 100.0	0	0	15 100.0
<b>Küçük hücreli akciğer kanseri</b>	6 100.0	0	0	6 100.0
<b>Akciğer karsinoid tümörü</b>	1 100.0	0	0	1 100.0
<b>Skuamöz hücreli akciğer kanseri</b>	2 66.7	1 33.3	0	3 100.0
<b>Meme kanseri</b>	4 54.5	1 9.1	6 36.4	11 100.0
<b>Over kanseri</b>	2 100.0	0	0	2 100.0
<b>Lenfoma</b>	3 100.0	0	0	3 100.0
<b>Mide kanseri</b>	1 100.0	0	0	1 100.0
<b>Akciğer dışı skuamöz hücreli kanseri</b>	1 100.0	0	0	1 100.0
<b>Renal hücreli karsinom</b>	1 100.0	0	0	1 100.0
<b>Kolon kanseri</b>	1 100.0	0	0	1 100.0

**Tablo 19:** Malignitelerin PCR Array ile CgA Sonuçları

<b>Kromogranin A (Cg A)</b>	<b>Negatif n (%)</b>	<b>Düşük pozitif n (%)</b>	<b>Pozitif n (%)</b>	<b>Toplam n (%)</b>
<b>Malignite tanısı olmayan grup</b>	9 100.0	0	0	9 100.0
<b>Akciğer adenokarsinomu</b>	14 93.3	0	1 6.7	15 100.0
<b>Küçük hücreli akciğer kanseri</b>	5 83.3	0	1 16.7	6 100.0
<b>Akciğer karsinoid tümörü</b>	0	0	1 100.0	1 100.0
<b>Skvamöz hücreli akciğer kanseri</b>	3 100.0	0	0	3 100.0
<b>Meme kanseri</b>	11 100.0	0	0	11 100.0
<b>Over kanseri</b>	2 100.0	0	0	2 100.0
<b>Lenfoma</b>	3 100.0	0	0	3 100.0
<b>Mide kanseri</b>	1 100.0	0	0	1 100.0
<b>Akciğer dışı skvamöz hücreli kanseri</b>	1 100.0	0	0	1 100.0
<b>Renal hücreli karsinom</b>	1 100.0	0	0	1 100.0
<b>Kolon kanseri</b>	1 100.0	0	0	1 100.0

**Tablo 20:** Malignitelerin PCR Array ile LCA Sonuçları

<b>Lökosit Ortak Antijeni (LCA)</b>	<b>Negatif n (%)</b>	<b>Düşük pozitif n (%)</b>	<b>Pozitif n (%)</b>	<b>Toplam n (%)</b>
<b>Malignite tanısı olmayan grup</b>	8 88.9	0	1 11.1	9 100.0
<b>Akciğer adenokarsinomu</b>	15 100.0	0	0	15 100.0
<b>Küçük hücreli akciğer kanseri</b>	5 83.3	0	1 16.7	6 100.0
<b>Akciğer karsinoid tümörü</b>	1 100.0	0	0	1 100.0
<b>Akciğer skuamöz hücreli kanseri</b>	3 100.0	0	0	3 100.0
<b>Meme kanseri</b>	11 100.0	0	0	11 100.0
<b>Over kanseri</b>	2 100.0	0	0	2 100.0
<b>Lenfoma</b>	2 66.7	0	1 33.3	3 100.0
<b>Mide kanseri</b>	1 100.0	0	0	1 100.0
<b>Akciğer dışı skuamöz hücreli kanseri</b>	1 100.0	0	0	1 100.0
<b>Renal hücreli karsinom</b>	1 100.0	0	0	1 100.0
<b>Kolon kanseri</b>	1 100.0	0	0	1 100.0

**Tablo 21:** Malignitelerin PCR Array ile CD 3 Sonuçları

<b>CD3</b>	<b>Negatif n (%)</b>	<b>Düşük pozitif n (%)</b>	<b>Pozitif n (%)</b>	<b>Toplam n (%)</b>
<b>Malignite tanısı olmayan grup</b>	2 22.2	1 11.1	6 66.7	9 100.0
<b>Akciğer adenokarsinomu</b>	4 26.7	3 53.3	8 20	15 100.0
<b>Küçük hücreli akciğer kanseri</b>	3 50.0	0	3 50.0	6 100.0
<b>Akciğer karsinoid tümörü</b>	1 100.0	0	0	1 100.0
<b>Akciğer skuamöz hücreli kanseri</b>	2 66.7	1 33.3	0	3 100.0
<b>Meme kanseri</b>	4 36.4	3 27.3	4 36.4	11 100.0
<b>Over kanseri</b>	1 50.0	0	1 50.0	2 100.0
<b>Lenfoma</b>	0	0	3 100.0	3 100.0
<b>Mide kanseri</b>	0	0	1 100.0	1 100.0
<b>Akciğer dışı skuamöz hücreli karsinom</b>	0	0	1 100.0	1 100.0
<b>Renal hücreli karsinom</b>	1 100.0	0	0	1 100.0
<b>Kolon kanseri</b>	1 100.0	0	0	1 100.0

**Tablo 22:** Malignitelerin PCR Array ile CK-5 Sonuçları

<b>Sitokeratin 5 (CK5)</b>	<b>Negatif n (%)</b>	<b>Düşük pozitif n (%)</b>	<b>Pozitif n (%)</b>	<b>Toplam n (%)</b>
<b>Malignite tanısı olmayan grup</b>	8 88.9	0	1 11.1	9 100.0
<b>Akciğer adenokarsinomu</b>	8 53.3	1 6.7	6 40	15 100.0
<b>Küçük hücreli akciğer kanseri</b>	4 66.7	2 33.3	0	6 100.0
<b>Akciğer karsinoid tümörü</b>	0	1 100.0	0	1 100.0
<b>Akciğer skuamöz hücreli kanseri</b>	1 33.3	0	2 66.7	3 100.0
<b>Meme kanseri</b>	4 36.4	0	7 63.6	11 100.0
<b>Over kanseri</b>	2 100.0	0	0	2 100.0
<b>Lenfoma</b>	2 66.7	0	1 33.3	3 100.0
<b>Mide kanseri</b>	0	0	1 100.0	1 100.0
<b>Akciğer dışı skuamöz hücreli kanseri</b>	0	0	1 100.0	1 100.0
<b>Renal hücreli karsinom</b>	1 100.0	0	0	1 100.0
<b>Kolon kanseri</b>	1 100.0	0	0	1 100.0



**Tablo 23:** Malignitelerin PCR Array ile CD 19 Sonuçları

<b>CD 19</b>	<b>Negatif n (%)</b>	<b>Düşük pozitif n (%)</b>	<b>Pozitif n (%)</b>	<b>Toplam n (%)</b>
<b>Malignite tanısı olmayan grup</b>	3 33.3	1 11.1	5 55.6	9 100.0
<b>Akciğer adenokarsinomu</b>	13 86.7	1 6.7	1 6.7	15 100.0
<b>Küçük hücreli akciğer kanseri</b>	4 66.7	0	2 33.3	6 100.0
<b>Akciğer karsinoid tümörü</b>	1 100.0	0	0	1 100.0
<b>Akciğer skuamöz hücreli kanseri</b>	3 100.0	0	0	3 100.0
<b>Meme kanseri</b>	8 72.7	1 9.1	2 18.2	11 100.0
<b>Over kanseri</b>	2 100.0	0	0	2 100.0
<b>Lenfoma</b>	0	0	3 100.0	3 100.0
<b>Mide kanseri</b>	1 100.0	0	0	1 100.0
<b>Akciğer dışı skuamöz hücreli kanseri</b>	0	0	1 100.0	1 100.0
<b>Renal hücreli karsinom</b>	1 100.0	0	0	1 100.0
<b>Kolon kanseri</b>	1 100.0	0	0	1 100.0

**Tablo 24:** Malignitelerin PCR Array ile Sinaptofizin (SYN) Sonuçları

<b>Sinaptofizin(SYN)</b>	<b>Negatif n (%)</b>	<b>Düşük pozitif n (%)</b>	<b>Pozitif n (%)</b>	<b>Toplam n (%)</b>
<b>Malignite tanısı olmayan grup</b>	9 100.0	0	0	9 100.0
<b>Akciğer adenokarsinomu</b>	12 80	1 13.3	2 6.7	15 100.0
<b>Küçük hücreli akciğer kanseri</b>	4 66.7	0	2 33.3	6 100.0
<b>Akciğer karsinoid tümörü</b>	0	0	1 100.0	1 100.0
<b>Akciğer skuamöz hücreli kanseri</b>	2 66.7	0	1 33.3	3 100.0
<b>Meme kanseri</b>	11 100.0	0	0	11 100.0
<b>Over kanseri</b>	2 100.0	0	0	2 100.0
<b>Lenfoma</b>	3 100.0	0	0	3 100.0
<b>Mide kanseri</b>	1 100.0	0	0	1 100.0
<b>Akciğer dışı skuamöz hücreli karsinom</b>	1 100.0	0	0	1 100.0
<b>Renal hücreli karsinom</b>	1 100.0	0	0	1 100.0
<b>Kolon kanseri</b>	1 100.0	0	0	1 100.0

**Tablo 25: PCR Array Sonuçlarının Maligniteyi Destekleme Yüzdeleri**

	<b>PCR malignite negatif n (%)</b>	<b>PCR malignite kuşkulu n (%)</b>	<b>PCR malignite pozitif n (%)</b>	<b>Toplam n (%)</b>
<b>Akciğer adenokarsinomu</b>	5 33.3	0	10 66.7	15 100.0
<b>Küçük hücreli akciğer kanseri</b>	3 50	1 16.7	2 33.3	6 100.0
<b>Akciğer karsinoid tümörü</b>	0	0	1 100.0	1 100.0
<b>Akciğer skuamöz hücreli kanseri</b>	0	0	3 100.0	3 100.0
<b>Meme kanseri</b>	2 18.2	0	9 81.8	11 100.0
<b>Over kanseri</b>	2 100.0	0	0	2 100.0
<b>Lenfoma</b>	0	0	3 100.0	3 100.0
<b>Mide kanseri</b>	1 100.0	0	0	1 100.0
<b>Akciğer dışı skuamöz hücreli karsinom</b>	0	1 100.0	0	1 100.0
<b>Renal hücreli karsinom</b>	1 100.0	0	0	1 100.0
<b>Kolon kanseri</b>	1 100.0	0	0	1 100.0

**Tablo 26** :PCR Array ile Patoloji Sonuçlarının Karşılaştırılması (p=0.003)

		PCR array sonuç		Toplam
		Negatif	malign	
Patoloji sonuç	Negatif	16(%66.7)	8(%33.3)	24
	Malign	8(%26.7)	22(%73.3)	30
Toplam		24	30	54

PCR array ile rutin patoloji sonuçları değerlendirildiğinde; PCR’da duyarlılık (sensitivite) %73, özgüllük (spesifite) %67, pozitif prediktif değeri %73, negatif prediktif değeri %67, PCR genel test gücü %70 bulundu (Tablo 26).

## 5.TARTIŞMA

Malign plevral sıvılı olguların dağılımı %33.6'si akciğer adenokarsinomu, %24.4'ü meme kanseri ve %6.7'si lenfoma olup literatürdeki oranlar ile benzerdir. Literatürde %35 akciğer kanseri, %23 meme kanseri ve %10 lenfoma en sık malign efüzyon nedenleridir (20). Yapılan çalışmalarda torasentez ileri invaziv işlemlere gerek duyulmaksızın olguların yaklaşık %50-75'inde tanı koydurucu, %20'sinde yol göstericidir (45). Bizim çalışmamızda da %55 oranında olguya malignite ve malignite yönünden kuşkulu tanısı konmuştur.

Çalışmamızda patoloji sonuçlarına göre vakaların %44'ü malignite yönünden negatif saptandı. Malignite saptanmayan plevra sıvıların, patolojiye giden örneklerde yeterli hücre olmamasından ve/veya kemoterapi ilaçlarına, radyoterapiye, enfeksiyona bağlı plevral efüzyon olmasından kaynaklandığı düşünüldü

Primer akciğer kanseri olan olguların sigara içme öyküleri beklendiği gibi metastatik gruptan yüksek bulundu ( $p<005$ ). Olguların %61'inin çalışma sırasında eksitus olması, plevral efüzyon saptandığında ileri evrede olduklarını göstermiştir. Çalışmamızda olgular tanı konduktan  $15.0 \pm 8.86$  ay, plevral sıvı saptandıktan  $6.5 \pm 4.21$  ay sonra ölmüştür. Literatürdeki verilere göre plevral sıvı saptandıktan sonra ortalama yaşam süresi 4 aydır.

Passebosc-Faure ve ark. tarafından 2005 yılında yayınlanan bir çalışmada, 71 malign ve 41 benign plevral efüzyonu olan olgu değerlendirilmiş ve RT-PCR ile sitolojik değerlendirme yapılmıştır. RT-PCR ile CEA, epitelyal adezyon molekülü (Ep-CAM), E-cadherin, mammaglobin, MUC1/REP, MUC1/Y, MUC1/Z, kalretinin ve Wilms tümör 1 geni bakılmış ve CEA, Ep-CAM, E-cadherin ve mammaglobin'in özellikle malign efüzyonlarda arttığı saptanmıştır. Yine bu çalışmada CEA ve Ep-CAM'ın malign efüzyonlar için sensitivitesi %90, spesifitesi, pozitif prediktif değeri % 100 ve negatif prediktif değeri %86 saptanmıştır. CEA ve mammaglobin özellikle epitelyal kanserlerden salgılandığı ve mammaglobin'in meme kanseri için %97 spesifik olduğu saptanmıştır (46,47).

Jang ve ark. tarafından 2001 yılında yayınlanan bir çalışmada; 16 akciğer, 15 over, 9 mide, 8 kolon ve 8 meme kanseri olgusu alınmış ve TTF-1 akciğer adenokarsinomlu olguların %81'inde pozitif saptanmıştır. Akciğer dışı adenokarsinomlarda TTF1 pozitifliği saptanmamıştır (48).

Kim JH ve ark. tarafından 2010 yılında yapılan bir başka çalışmada plevral sıvısı olan 97 metastatik adenokarsinom olgusu alınmış, 52 akciğer adenokarsinomu olgusunun %58'inde

TTF1 pozitifliği, kolon ve mide kanserinde ise %30 oranında CDX2 pozitifliği saptanmıştır (49). Bizim çalışmamızda da akciğer adenokarsinomlu olguların %46.7'sinde TTF1 pozitifliği, %6.7'sinde düşük pozitiflik ve akciğer skuamöz hücreli kanserinde de %66.7 oranında TTF1 pozitifliği saptanmıştır. Ancak yalnızca 3 skuamöz hücreli kanser olgusunun bulunması çalışmanın kısıtlılığıdır. Çalışmamızda, akciğer dışı malignitelerin hiçbirisinde TTF1 pozitifliği saptanmamıştır. Bu sonuçta literatür ile benzerdir.

Liu L ve ark. tarafından 2012 yılında yayınlanan bir çalışmada 23 akciğer adenokarsinom ve 15 akciğer dışı adenokarsinom olgusu alınmıştır. Akciğer adenokarsinom olgularının %83'ünde hem TTF1 hem de napsin A, %4'ünde yalnız TTF1 pozitifliği, %9'unda yalnızca napsin A pozitifliği saptanmıştır. Akciğer dışı adenokarsinomların hiçbirinde TTF1 ve napsin A'nın birlikte pozitifliği görülmemiştir (50). Bizim çalışmamızda, akciğer adenokarsinomunda %66.7 napsin A pozitifliği saptanmıştır. Ayrıca akciğer skuamöz hücreli karsinom olgularının %66'sinde napsin A düşük pozitifliği ve pozitifliği saptanmıştır. Literatürde %20 oranında skuamöz hücreli akciğer kanserlerinde napsin A pozitifliği bildirilmiştir.

Ordóñez NG ve ark. tarafından 2012 yılında yapılan çalışmada skuamöz hücreli akciğer karsinomunda %26 oranında napsin A pozitifliği saptanmıştır (51). Meme kanseri olgularında ise %45.5 oranında napsin A pozitifliği olması ancak hiçbir meme kanseri olgusunda TTF1 pozitifliği olmaması bu iki biyobelirteçin akciğer ve akciğer dışı adenokarsinomların ayırımında kullanılmasına katkı sağlamaktadır.

Simsir A ve ark. tarafından 1999 yılında, 22'si reaktif mezotel hücreleri içeren, 26'si malign mezotelyoma ve 29'u metastatik adenokarsinomu olan toplam 77 olguyla yapılan çalışmada reaktif mezotel hücreleri içeren grupta %27, malign mezotelyoma grubunda %58 ve metastatik adenokarsinom grubunda %31 oranında kalretinin pozitifliği saptanmış olup gruplar arasında anlamlı fark bulunmamıştır (52). Bizim çalışmamızda, meme kanserinde %33 oranında kalretinin düşük pozitifliği olması reaktif mezotel hücrelerinin de sıvıda bulunduğunu düşündürülebilir. Powell G ve ark. tarafından 2011 yılında çalışmada meme kanserli olguların %15'inde kalretinin pozitifliği saptanmıştır (53).

Ordóñez NG ve ark. tarafından 2006 yılında yapılan çalışmada skuamöz hücreli akciğer kanserinde %40 oranında kalretinin pozitifliği saptanmıştır (54). Bizim çalışmamızda da skuamöz hücreli karsinomda kalretinin pozitifliği mevcuttur.

Kummar S ve ark. tarafından 2002 yılında yapılan akciğer ve kolorektal adenokarsinomları arasında yapılan bir çalışmada, CK7+/CK20- primer akciğer kanserinde %96, metastatik akciğer kanserinde %95 oranında saptanmıştır (55).

Bizim çalışmamızda; %20 akciğer adenokarsinomunda, %33 skuamöz hücreli akciğer kanserinde ve %27 oranında meme kanserinde CK7 pozitifliği saptandı. Stopyra GA ve ark. tarafından 2001 yılında yapılan bir çalışmada CK7+/CK20- fenotipi meme kanseri için ve CK7-/CK20+ fenotipi primer kolon kanserinde anlamlı oranda yüksek bulunmuştur (56).

Literatürde östrojen reseptörü başta meme ve endometrium karsinomu olmak üzere, bir grup neoplastik hastalıkta östrojen reseptörlerinin prognostik önemi belirlenmiştir. ER(+) tümörler hormonal sağaltıma yanıt verir ve daha iyi prognoz gösterirler. Sağlıklı akciğer dokusunda ve akciğer tümörlerinde östrojen reseptörleri eksprese edildiğine ve akciğer kanserinin östrojenlere proliferasyonla yanıt verdiğiine ilişkin oldukça fazla kanıt mevcuttur. KHDAK'lı hastalardan alınan örneklerde ERβ'ya özgü antikolar bu reseptörlerin KHDAK'de sıklıkla eksprese edildiğini göstermektedir (37,38). Bizim çalışmamızda %45 oranında meme kanserli olguda ER pozitif saptandı. Dört olguda kemoterapi sonrasında gelişen plevral efüzyonda ER negatif, CK7 pozitif saptanması ER-/CK7+ bir agresif alt grubun plevraya metastaz yaptığını düşündürmektedir. Yine çalışmamızda %33 oranında skuamöz hücreli akciğer kanserinde ER pozitifliği saptandı. Literatüde de KHDAK olgularında da ER pozitifliği gösterilmiştir(38).

Tamiolakis D ve ark. 2002 yılında yayınladıkları çalışmada 9 olgudan oluşan seride %100 oranında nöron spesifik enolaz (NSE) pozitifliği ve %66 oranında TTF1, SYN ve Cg A pozitifliği saptamıştır. Nöroendokrin tümör grubunda olan karsinoid tümörlerde CgA pozitifliği literatürde olgu serilerinde bildirilmektedir. Bizim çalışmamızda bir karsinoid tümör olgusunda CgA pozitifliği saptadık. Küçük hücreli akciğer kanserli olgularımızın %16.7'sinde Cg A pozitifliği vardı. Sobo ER ve ark. tarafından yapılan çalışmada serum Cg A düzeylerindeki artış hastalık aktivasyonu ile ilişkili bulunmuştur (57).

Lökosit ortak antijeni (LCA-CD-45) çeşitli çalışmalarda insan lenfoma ve lösemilerin de arttığı gösterilmiştir. Nakano A ve ark. tarafından 2008 yılında yayınlanan makalede CD45'in hemopoetik sistem ve hücrelerin farklılaşmasındaki önemi vurgulanmıştır (58).

Bizim çalışmamızda %33 oranında lenfomalarda LCA pozitifliği bulundu. Malign olmayan gruptaki %11'lik pozitiflik oranı inflamasyonlarda da düzeyinin yükselmesi ile ilişkili olabileceği şeklinde yorumlandı.

Wick ve ark. yaptığı çalışmada kolon ve rektum küçük hücreli nöroendokrin karsinomu olan 10 olgunun tamamında LCA pozitifliği saptanmıştır (59). Bizim çalışmamızda küçük hücreli akciğer karsinomunda %16 oranında LCA pozitifliği gösterilmiştir.

Çalışmamızda, malign olmayan gruptaki olguların %88'inde CD3 düşük pozitif ve pozitif saptadık. Bunun CD3'ün lenfosit kaynaklı bir biyobelirteç olması ile ilişkili olabileceği düşünüldü. Üç lenfoma olgusunun tamamında yine CD3 pozitif saptadık. Akciğer adenokarsinomu, meme kanseri, küçük hücreli akciğer kanserinde de CD3 pozitifliği saptanmış olup bu metastatik süreçle birlikte enflamasyonun birlikte olduğunu düşündürmektedir. Sebastian M ve ark. tarafından 2009 yılında yayınlanan çalışmada malign plevral efüzyonların tedavisinde anti CD3 (Catumaxomab) verildiğinde meme kanserli olgularda intraplevral tedavide yanıt alınmıştır (60).

Dejmek ve ark. tarafından 2008 yılında yapılan bir çalışmada; CK5/6 düzeyleri mezotelyoma, akciğer adenokarsinomu ve akciğer dışı adenokarsinoları arasında karşılaştırılmış. Sekiz mezotelyoma olgusunun 7'sinde, 11 benign plevral efüzyon olgusunun 9'unda CK5/6 pozitif saptanmış. Ayrıca 17 akciğer adenokarsinomu olan olgunun 11'inde, 32 akciğer dışı adenokarsinomun 12'sinde CK5/6 pozitif sonuçlanmış. Ancak tüm gruplar arasında anlamlı fark saptanmamıştır (61). Dejmek ve ark. tarafından yapılan başka bir çalışmada, KHDAK'a bağlı plevral efüzyonlarda CK5'in prognostik bir belirteç olabileceği belirtilmiştir. Hyun ve ark. tarafından yapılan çalışmada da kalretinin ve CK5/6 mezotelyoma olgularının %64'ünde, reaktif efüzyonların %31'inde pozitif bulunmuştur. Pu RT ve ark. tarafından yapılan bir başka çalışmada ise skuamöz hücreli kanserlerin tamamında CK5/6 pozitifliği gösterilmiştir (62). Bizim çalışmamız da akciğer adenokarsinom olgularının %46'sında ve akciğer skuamöz hücreli kanserlilerin %66.7'sinde CK5/6 pozitifliği saptadık. Meme kanseri olgularının %63'ünde, 1 akciğer dışı skuamöz hücreli kanser olgusunda pozitiflik saptadık.

T hücrelerindeki THR benzeri BHR (B Hücre Reseptörü) kompleksini B hücrelerde CD19, CD21 ve CD81 oluştururlar. B hücre kökenli lenfoma, lösemi ve inflamasyonlarda bunlar pozitif saptanır. Bizim çalışmamızda; malign olmayan plevral efüzyonlarda %66 oranında CD19 pozitifliği saptanması inflamasyon nedeniyle efüzyonda lenfosit sayısındaki artış düşündürmektedir. Üç lenfoma olgusunun tamamında, 1 akciğer dışı skuamöz hücreli kanser olgusunda da CD19 pozitif saptadık.

Akciğerin nöroendokrin tümörlerinin tanısında belirteç olarak en sık CgA ve SYN kullanılır. Bütün tipik ve atipik karsinoidler CgA ve/veya SYN pozitifdir; ancak küçük hücreli akciğer



kanserinin %25 oranında negatiflik gösterebileceği bildirilmektedir. Çalışmamızda bir akciğer karsinoid tümör olgusunda sinaptofizin pozitif saptandı. Küçük hücreli akciğer kanseri olgularımızın %33.3'ünde sinaptofizin pozitifliği. González ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada skuamöz hücreli ve adenokarsinomlu olgularda sinaptofizinin prognostik değeri araştırılmış, skuamöz hücreli kanser ve adenokarsinom da zayıf prognostik değerde olduğu saptanmıştır.

Çalışmamızda; akciğer karsinoid tümör, akciğer skuamöz hücreli kanser, meme kanseri, lenfoma ve akciğer adenokarsinomunda PCR array ile plevral efüzyonların maligniteyi desteklediği saptanmıştır. Patoloji sonuçları ile PCR array sonuçları karşılaştırıldığında her iki yöntemde de plevral efüzyonların benign saptanma oranı %66, malign saptanma oranı %73 olarak bulunmuştur. Ancak tümör gruplarının dağılımının homojen olmaması ve bazı tümör tiplerinde olgu sayısının az olması çalışmanın kısıtlılığını göstermektedir.

Akciğer adenokarsinomlu olgulardaki primer patoloji sonucu ile PCR analiz sonuçlarının yakın olması PCR array ile primer tümör-metastaz ilişkisini ve meme kanserli olgulardaki hormonoterapi sonrası agresif altgrup metastazlarını saptamada faydalı olabileceğini düşünüyoruz.

Çalışmamızın sonuçları değerlendirildiğinde; klinik olarak yüksek olasılıkla malign plörezi olduğu düşünülen (primer tümörü nedeniyle tedavi alan veya opere edilen) olgularda patolojik tetkik sonucu negatif ise ileri inceleme (primer hücre kültürü, PCR analizi) yapılmasının tanıya yardımcı olacağını düşünüyoruz. Bu özellikleri ile çalışma, gelecekteki çalışmalara alt yapı oluşturmaktadır. Tüm bu literatür ışığında, gelecekte yapılacak çok merkezli ve geniş olgu serileri içeren çalışmalara ihtiyaç vardır.

## 6-SONUÇLAR

- \*Çalışmaya dahil olan 54 olgunun yaş ortalaması 65.5 olarak saptandı.
- \*Olguların erkek kadın sayısı eşit olup, olguların %46.3'ü hiç sigara içmemişti ve %53.7 olgu halen sigara içiyordu. Ortalama 53.9 paket/yıl sigara öyküsü vardı.
- \*Çalışmaya alınan 54 olgunun 45'inin malign hastalığı vardı. Dört olguda parapnömoni, 2'sinde kalp yetmezliği, 2'sinde kronik plörit ve 1'inde ise sarkoidoza bağlı plevral sıvı mevcuttu.
- \*Olguların % 61'i en az bir akciğer hastalığına sahipti. Akciğer hastalıklarından % 44 oranı ile KOAH en yüksek oranda görüldü.
- \*Olguların çoğu yaşlı popülasyonda olması nedeniyle kardiyovasküler hastalık, kalp yetmezliği, serebrovasküler hastalık, hipertansiyon ve diabetes mellitus gibi çok sayıda komorbid hastalıkları mevcuttu.
- \*Olguların %83'ünde malignite tanısı vardı. Bunlardan %53.3'ü primer akciğer kanseri, %46.7'si ise akciğer dışı kanserlerdi.
- \*Genel olarak malignitelerin dağılımına bakıldığında %33.6 ile akciğer adenokarsinomu ilk sırada yer aldı. Meme kanseri ise %24.4 ile ikinci sıklıkta idi. Bu çalışmamızdaki malign efüzyonların görülme yüzdesi literatürdeki malign plevral efüzyon yüzdeleri ile benzerlik gösteriyordu.
- \*Olguların çalışma sonunda (3 yıllık sürede) sağkalım yüzdesi %38.9 olup, %61.1'i tanı konduktan 15.0±8.86 ay, plevral sıvısı saptandıktan 6.5±4.2 ay sonra exitus oldu.
- \*Olgulardan plevral sıvı alındıktan sonra sıvının büyük kısmı patoloji laboratuvarına gönderildi. Patoloji sonucunda, olguların %44.4'ü malignite yönünden negatif, %42.6'sı malign, %13'ü malignite yönünden kuşkulu bulundu.
- \*Çalışmamızda akciğer adenokarsinomlu olguların %46.7'sinde TTF1 pozitifliği ve %6.7'sinde düşük pozitifliği saptandı. Akciğer skuamöz hücreli kanserinde ise %66.7 oranında TTF1 pozitifliği saptanırken, akciğer dışı malignitelerin hiçbirisinde TTF1 pozitifliği saptanmadı.
- \*Çalışmada, napsin A pozitiflik oranı akciğer adenokarsinomunda %66, skuamöz hücreli karsinom olgularında ise %66 bulundu. Meme kanseri olgularında ise %45 oranında napsin A pozitifliği bulunmuşken, hiçbir meme kanseri olgusunda TTF1 pozitifliği saptanmadı.
- \*Çalışmamızda. meme kanserinde %33 oranında kalretinin düşük pozitifliği yanında skuamöz hücreli karsinomda da kalretinin pozitifliği saptandı.

\*Çalışmamızda, akciğer adenokarsinomunda %20, skuamöz hücreli akciğer kanserinde %33 ve meme kanserinde %27 oranında CK7 pozitif bulduk.

\*Meme kanserli olguların %45'inde ER pozitif. Dört olguda kemoterapi sonrasında gelişen plevral efüzyonda ER negatif, CK7 pozitif saptanması ER-/CK7+ bir agresif alt grubun plevraya metastaz yaptığını düşündürmektedir. Çalışmamızda %33 oranında skuamöz hücreli akciğer kanserinde ER pozitif

\*Bir karsinoid tümör olgumuzda Cg A pozitifliği vardı. Küçük hücreli akciğer kanserli olgularımızın %16.7'sinde Cg A pozitifliği görüldü. Ayrıca lenfoma'larda %33 oranında LCA pozitifliği vardı. Malign olmayan gruptaki %11'lik pozitiflik oranın inflamasyon ile ilişkili olabileceği düşünüldü.

\*Akciğer adenokarsinomlu olguların %46'sında ve skuamöz hücreli kanserli olguların ise %66.7'sinde CK5/6 pozitifliği saptandı. Bu oran meme kanserli olgularda %63 idi ve bir akciğer dışı skuamöz hücreli kanser olgusunda da pozitif.

\*Çalışmada, malign olmayan plevral efüzyonlarda %66 oranında CD19 pozitifliği saptanması inflamasyon nedeniyle efüzyonda lenfosit sayısındaki artış ile ilişkili olabileceğini akla getirdi.

\*Üç lenfoma olgusunun tamamında ve 1 akciğer dışı skuamöz hücreli kanser olgusunda CD19'da pozitiflik saptadık.

\*Bir akciğer karsinoid tümör olgusunda ve küçük hücreli akciğer kanseri olgularımızın %33.3'ünde sinaptofizin pozitif.

\*Patoloji sonuçları ile PCR array sonuçları karşılaştırıldığında; her iki yöntemde plevral efüzyonların benign saptanma oranını %66, malign saptanma oranını ise %73 bulduk.

\*Klinik olarak yüksek olasılıkla malign plörezili olduğu düşünülen (primer tümörü nedeniyle tedavi alan veya opere edilen) olgularda patolojik tetkik sonucu negatif ise ileri inceleme (primer hücre kültürü, PCR analizi) yapılmasının tanıya yardımcı olacağını düşünüyoruz.

## **7. EKLER**

### **EK 1**

#### **Dokuz Eylül Üniversitesi Onkoloji Enstitüsü Temel Onkoloji Anabilim Dalı laboratuvarında Mevcut Olanaklar :**

---

Su Banyosu

Vorteks(Velp Scientifica ZX3)

Derin dondurucu (Sanyo)

CO2 inkübatörü (Thermo)

Laminar Flow

İnverted mikroskop

Mikroskop

Pastör fırın

-80°C derin dondurucu

ABI real time PCR cihazı

Quibit

---

#### **BAP Proje Kapsamında Alınan Malzemeler :**

Hücre Kazıyıcı (Cell Scraper)

Fbs Föetal Dana (Fetal Bovine) Serum İnaktive Edilmiş 100 Ml

Petri Kutusu (60x15 Mm) Center Well

Aluminyum Folyo En:45 Cm

Rpmı 1640 (With 2.0 G/L Nahco3)

Flask 75 Cm2

Flask 25 Cm2

L-Glutamin

Serolojik Pipet 10 Ml (Tek Tek Poşetli)

Sitosantrifuj Filtresi

Mikrofiltre 70 Mikrom Steril

Cdna Sentez Kiti

Mrna İzolasyon Kiti

Polipropilen (Falcon) Tüp 15 Ml. [50'Lik Paket]

Sisplatin Flakon

Parafilm

Farmasidal Solüsyon (İnkübatör Sterilizasyonu)

Kriyo Tüp 1-2 MI

Tüp Rakı (50 MI.Falcon Tüpler İçin)

Ekstraselüler Matriks Kaplı Flask

Otomatik Mikropipet Seti (0.1-2.5; 0.5-10; 10-100; 20-200; 500-5000 Uİ)

Preparat Saklama Kutusu

Serolojik Pipet 5 MI (Tek Tek Poşetli)

Fosfat Tamponlu Tuz Ca<sup>2+</sup> Mg<sup>2+</sup> İçermeyen (Phosphate Buffered Saline Pbs)

Pastör Pipeti 3 MI

Serolojik Pipet 25 MI Steril

Doxorbicine

Pipet Tabancası 1-100 MI (Pipette Aid)

Ficoll Paque

Penisilin / Streptomisin

Dimetilsülfoksit

Real Time Profiller Pcr Array

Tripsin Edta Solüsyon

Hepafiltre (Co<sub>2</sub> İnkübatörü İçin)

Polipropilen (Falcon) Tüp 50 ML

## EK 2:ETİK KURUL ONAYI

Karar No:2013/13-02		Tarih: 11.04.2013			
<p>Prof.Dr.Niella AKKOÇLU'nun sorumlusu olduğu "Plevral Effüzyonlarda Tıbbi Biyolojinin ve Biyobelirteçlerin Araştırılması" isimli klinik araştırmaya ait başvuru dosyası ve ilgili belgeler araştırmanın gerekeceği amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş. aşağıdaki eksikliklerin tamamlanmasından sonra tekrar görüşülmesine karar verilmiştir. aşağıdaki belirtilenler:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Genel ayağının neye göre karar verilmesini açıklaması ve bu aygıtın gerekli olup olmadığını belirtmesi,</li> <li>- Analizlerin nerede yapılacağını açıklaması ve ilgili tesisleri göstermesi,</li> <li>- Kütle spektrometrisi analizi için cihazın nereden temin edileceğini belirtmesi,</li> <li>- İzoelektrik fokusleme sistemi için kurulum cihazlarının (Biyokimya Anabilim Dalı) yatarlatılması,</li> <li>- Proteomik analizinin ve yorumunun nerede ve kim tarafından yapılacağını açıklaması,</li> <li>- Araştırma ekibinde proteomik analizi konusunda deneyimli bir araştırmacının olup olmadığını belirtmesi,</li> <li>- Göğüs-Cerrahisi Anabilim Dalından izin belgesi alınması gerekliliği.</li> </ul>					
<b>ETİK KURUL BİLGİLERİ</b>					
<b>ÇALIŞMA ESASI</b>		Dokuz Eylül Üniversitesi Girişimsel Olmayan Araştırmalar Etik Kurulu İşleyiş Yönergesi İyi Klinik Uygulamaları Kılavuzu			
<b>ETİK KURUL ÜYELERİ</b>					
Unvanı/Adı/Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kararına	Cinsiyet	Araştırma ile İlgili mi?	İmza
Prof.Dr.Banu ÖNÜRAL (Başkan)	Tıbbi Biyokimya	DEU Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı	Kadın	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	<i>Banu Önür</i>
Prof.Dr. Besi ÜSTÜN (Başkan Yardımcısı)	Ph.D Yüksek Hemşire	DEU Hemşirelik Fakültesi	Kadın	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	<i>Besi Üstün</i>
Prof.Dr.Kemal Kırtçıl GENC	Fizyoloji	DEU Tıp Fakültesi Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu	Erkek	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	<i>Kırtçıl</i>
Prof.Dr.Ş.Reyhan UÇKU	Halk Sağlığı	DEU Tıp Fakültesi Halk Sağlığı A.D.	Kadın	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	<i>Reyhan Uçku</i>
Prof.Dr.Neraz SARİOSMANOĞLU	Kalp Damar Cerrahisi	DEU Tıp Fakültesi Kalp Damar Cerrahisi Anabilim Dalı	Kadın	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	<i>Neraz Sarıosmanoğlu</i>
Prof.Dr.Fazl BÖBER	Pediyatrik Endokrinoloji	DEU Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı	Erkek	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	<i>Fazl Böber</i>
Prof.Dr.Hüseyin BASKIN	Mikrobiyoloji	DEU Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı	Erkek	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	<i>Hüseyin Baskın</i>
Prof.Dr.Vezile ÖZTÜRK	Nöroloji	DEU Tıp Fakültesi Nöroloji Anabilim Dalı	Kadın	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	<i>Vezile Öztürk</i>
Prof.Dr.Bülgin ÇÖMEKT	İç Hastalıkları (Yoğun Bakım B.D)	DEU Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı	Erkek	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	<i>Bülgin Çömekt</i>
Prof.Dr.Mukaddes GÜNELİ	Tıbbi Farmakoloji	DEU Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı	Kadın	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	<i>Mukaddes Güneli</i>
Prof.Dr.Ayşe Aydın ÖZKÜTÜK	Mikrobiyoloji	DEU Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı	Kadın	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	<i>Ayşe Aydın Özkütük</i>
Doç.Dr.Nihal GELECEK	Fizik Tedavi ve Rehabilitasyon	DEU Fizik Tedavi ve Rehabilitasyon Yüksek Okulu	Kadın	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	<i>Nihal Gelecek</i>
Doç.Dr.İşıl TEKMEK	Histoloji ve Embriyoloji	DEU Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı	Kadın	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	<i>İşıl Tekmek</i>
Uzm.Dr.Ahmet Can BİLGİN	Hukuk	DEU Tıp Tarihi ve Etik A.D	Erkek	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	<i>Ahmet Can Bilgin</i>
İhsan ÇELİKDEMİR	Sağlık mensubu olmayan üye	75. Yıl Özel İhtisap Okulu Müdür Yrd.	Erkek	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	<i>İhsan Çelikdemir</i>

### **EK 3: GÖNÜLLÜ BİLGİLENDİRME FORMU**

**Araştırmamızın adı:**

#### **PLEVRAL EFÜZYONLARDA TÜMÖR BİYOLOJİSİNİN VE BİYOBELİRTEÇLERİN ARAŞTIRILMASI**

Sizin de bu araştırmaya katılmanızı arzu ediyoruz. Ancak hemen söyleyelim ki bu araştırmaya katılıp katılmamakta serbestsiniz. Çalışmaya katılım gönüllülük esasına dayalıdır. Kararınızdan önce araştırma hakkında sizi bilgilendirmek istiyoruz. Bu bilgileri okuyup anladıktan sonra araştırmaya katılmak isterseniz formu imzalayınız.

Plevral sıvılar çeşitli hastalıklarda akciğer zarları arasında toplanır. Bu hastalıklar arasında pnömoni, tüberküloz, kanser ve kalp yetmezliği bulunur. Bu hastalıklardan malign plörezilerin ayırıcı tanısında sitolojisi negatif veya pozitif hastalarda plevral torasentez ve cerrahi işlemler ile plevral sıvı alma işlemi uygulanır. Bu işlem sırasında bazı komplikasyonlar görülebilir. Bu komplikasyonlar arasında akciğer zarları arasına kanama ve hava toplanması olabilir.

**Araştırma sırasında yapılacaklar:**

Öncelikle sizinle yüz yüze görüşerek yaşınız, cinsiyetiniz, mevcut diğer hastalıklarınız, sigara öykünüz belirlenecektir. Bu çalışmada tanı için alınan mevcut plevral sıvı örneğiniz veya tanı konamadığında non-invaziv (kapalı plevra iğne biyopsisi) ve invaziv cerrahi işlemler (torakoskopi, VATS, torakotomi) uygulanarak alınacak plevral sıvı örneği alınacaktır. Bu işlemlerle elde edilen sıvının sitolojik incelemeler için ayrılan örnek dışında artan bir kısmı bu çalışmada kullanılacaktır. Bu çalışma için ayrı bir sıvı alma işlemi uygulanmayacaktır. Bu çalışmadan elde edilen örneklerde gen ekspresyon ve protein değişimleri belirlenerek malign plörezilerin ayırıcı tanısı için belirleyici olabilecek yeni tümör belirteçlerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Ayrıca plevral sıvı örneklerinden primer hücre kültürleri yapılarak, malign plörezilerin tedavisinde aday olabilecek yeni kemoterapötik ajanların tümör hücre biyolojisi üzerindeki etkinliği test edilecektir. Bu işlemlerden sonra elde edilen hücreler hiçbir şekilde hastaya tekrar geri verilmeyecektir.

**Yapılacak testin getirebileceği olası riskler:**

Bu çalışmada kullanılacak plevral sıvı örnekleri, rutin prosedürler sırasında alınan örneğin bir kısmını oluşturduğundan, bu çalışma için size, olası risk taşıyan ek bir test ve girişim yapılmayacaktır.

**Yapılacak değerlendirmenin getireceği olası yararlar:**

Böyle bir çalışma sonunda, belki de bu hastalık oluşmadan, yatkın kişilerin tespit edilmesi ve korunması mümkün olacaktır. Bu sayede bireyleri koruyabileceğimiz gibi aynı zamanda çok pahalı tedavileri olan bir hastalığı önlediğimiz/tedavi edebileceğimiz için ülke ekonomimize de katkı sağlanacaktır.

Bu çalışmaya katılmayı reddedebilirsiniz. Bu araştırmaya katılmak tamamen isteğe bağlıdır ve reddettiğiniz takdirde size uygulanan tedavide herhangi bir değişiklik olmayacaktır. Yine çalışmanın herhangi bir aşamasında onayınızı çekmek hakkına da sahipsiniz.

Bu çalışmada yer aldığınız süre içerisinde tutulacak kayıtlar kesinlikle gizli kalacaktır. Bununla birlikte kayıtlarınız kurumumuzun ‘yerel etik kurul komitesine’ ve ‘Sağlık Bakanlığına’ açık olacaktır. Hassas olabileceğiniz kişisel bilgileriniz yalnızca araştırma amacıyla toplanacak ve işlenecektir. Çalışma verileri herhangi bir yayın ve raporda kullanılırken bu yayında isminiz kullanılmayacak ve veriler izlenerek size ulaşılamayacaktır.

**(Katılımcının/ Hastanın Beyanı)**

Sayın.....  
.....Tıp Fakültesi Göğüs Hastalıkları / Göğüs Cerrahisi Anabilim Dalı’nda tıbbi bir araştırma yapılacağı belirtilerek bu araştırma ile ilgili yukarıdaki bilgiler bana aktarıldı. Bu bilgilerden sonra araştırmaya ‘katılımcı’ olarak davet edildim.

Eğer bu araştırmaya katılırsam hekim ile aramda kalması gereken bana ait bilgilerin gizliliğine bu araştırma sırasında da büyük özen ve saygı ile yaklaşılacağına inanıyorum. Araştırma sonuçlarının eğitim ve bilimsel amaçlarla kullanımı sırasında kişisel bilgilerimin ihtimamla korunacağı konusunda bana yeterli güven verildi.



Projenin yürütülmesi sırasında herhangi bir sebep göstermeden araştırmadan çekilebilirim. Ancak araştırmacıları zor durumda bırakmamak için araştırmadan çekileceğimi önceden bildirmemin uygun olacağının bilincindeyim. Ayrıca tıbbi durumuma herhangi bir zarar verilmemesi koşuluyla araştırmacı tarafında araştırma dışı tutulabilirim. Araştırma için yapılacak harcamalarla ilgili herhangi bir parasal sorumluluk altına girmiyorum. Bana da bir ödeme yapılmayacaktır.

İster doğrudan. ister dolaylı olsun araştırma uygulamasından kaynaklanan nedenlerle meydana gelebilecek herhangi bir sağlık sorunumun ortaya çıkması halinde. her türlü tıbbi müdahalenin sağlanacağı konusunda gerekli güvence verildi. (Bu tıbbi müdahalelerle ilgili olarak da parasal bir yük altına girmeyeceğim).

Araştırma sırasında bir sağlık sorunu ile karşılaştığımda; herhangi bir saatte Dr. Begüm Görgülü 05366195141 numarasından arayabileceğimi biliyorum. Bu araştırmaya katılmak zorunda değilim ve katılmayabilirim. Araştırmaya katılmam konusunda zorlayıcı bir davranışla karşılaşmış değilim. Eğer katılmayı reddedersem. bu durumun tıbbi bakımına ve hekim ile olan ilişkime herhangi bir zarar getirmeyeceğini de biliyorum.

**“Yukarıda gönüllüye araştırmadan önce verilmesi gereken bilgileri okudum. Bunlar hakkında bana yazılı ve sözlü açıklamalar yapıldı. Bu koşullarla söz konusu klinik araştırmaya kendi rızamla. hiçbir baskı ve zorlama olmaksızın katılmayı kabul ediyorum.”**

Kendi başıma belli bir düşünme süresi sonunda adı geçen bu araştırma projesinde “katılımcı” olarak yer alma kararını aldım.

Bu formun imzalı ve tarihli bir kopyası bana verildi.

GÖNÜLLÜNÜN		İMZASI
ADI&SOYADI		
ADRESİ		
TEL.&FAKS		
TARİH		

VELAYET VEYA VESAYET ALTINDA BULUNANLAR İÇİN VELİ VEYA VASİNİN		İMZASI
ADI&SOYADI		
ADRESİ		
TEL.&FAKS		
TARİH		

AÇIKLAMALARI YAPAN ARAŞTIRICININ		İMZASI
ADI&SOYADI		
TARİH		

RIZA ALMA İŞLEMİNE BAŞINDAN SONUNA KADAR TANIKLIK EDEN KURULUŞ GÖREVLİSİNİN		İMZASI
ADI&SOYADI		
GÖREVİ		
TARİH		

## 8. KAYNAKÇA

- 1) Yılmaz N. Plevranın anatomi ve histolojisi. In: Yılmaz N (Ed.) Plevra hastalıkları. İstanbul: Solunum 2002;4(1):73–75.
- 2) Light RW. Physiology of the pleural space. In: Light RW (Ed.) Pleural Diseases. Maryland: Williams&Wilkins, 1995; 2: 7-17.
- 3) Gray H, Williams PL, Bannister LH. Gray's Anatomy: The Anatomical Basis of Medicine and Surgery. Churchill Livingstone 1995;1(4):30-40.
- 4) Yücel O. Plevra hastalıkları. In: Yücel O (Ed.) Plevra Hastalıkları ve Cerrahi Tedavisi. İstanbul: TÜSAD Eğitim Yayınları 2014;1(2):10-30.
- 5) Li J. Ultrastructural Study on the pleural stomata in human. Funct Dev Morphol 1993;3(4):277-280.
- 6) Finley DJ, Rush VW. Anatomy of the pleura. Thorac Surg Clin. 2011;21(2):63-157.
- 7) Lee FK Olak J. Anatomy and physiology of the pleural space. Chest Surg Clin N Am 1994;4(3):391-403.
- 8) Yalcin NG, Choong CK, Eizenberg N. Anatomy and pathophysiology of the pleura and pleural space. Thorac Surg Clin 2013;23(1):1-10.
- 9) Misserocchi G. Physiology and pathophysiology of pleural fluid turnover. Eur Respir J. 1997;10:219-225.
- 10) Doğanay A. Plevra hastalıkları klinik değerlendirme. In: Gözü O, Köktürk O (Eds.) Plevra Hastalıkları. İstanbul: Toraks Derneği Yayınları 2003; 4:26-30.
- 11) Fishman AP. Approach to the patient with respiratory symptoms. In: Fishman AP, Elias JA, Fishman JA, Grippi MA, Kaiser LR, Senior RM (Eds.) Fishman's Pulmonary Diseases and Disorders. 3rd ed. New York: McGraw-Hill Company 1998: 361-393.
- 12) Kalaycıoğlu O. Plevra hastalıkları. In: Numanoğlu N (Ed.) Solunum Sistemi ve Hastalıkları. Ankara: Antep A.Ş. Yayınları 1997:50- 632.
- 13) Fraser RS, Müller NL, Colman N, Pare PD. Diagnosis of diseases of the chest. Philadelphia; W.B. Saunders Company 1999;71-151.
- 14) Liberson M. Diagnostic significance of the mediastinal profile in massive unilateral pleural effusions. Am Rev Respir Dis 1963; 88: 80-176.
- 15) Collins JD, Burwell D, Furmanski S. Minimal detectable pleural effusions. Radiology 1972;11-105.

- 16) Pettersson T, Riska H. Diagnostic value of total and differential leukocyte counts in pleural effusions. *Acta Med Scand* 1981;210:35-129.
- 17) Light RW, Erozan YS, Ball WC. Cells in pleural fluid-Their value in differential diagnosis. *Arch Intern Med* 1973;132:60-854.
- 18) Rodriguez-Panadero F, Lopez-Mejias J. Survival time of patients with pleural metastatic carcinoma predicted by glucose and pH studies. *Chest* 1989; 95:4-320.
- 19) Kim YC, Park KO, Bom HS. Combining ADA, protein and IFN-gamma best allows discrimination between tuberculous and malignant pleural effusion. *Korean J Intern Med* 1997; 12: 31-225.
- 20) Trajman A, Pai M, Dheda K. Novel tests for diagnosing tuberculous pleural effusion: What works and what does not?. *Eur Respir J* 2008; 31:198-1106.
- 21) Arseven O. Plevral efüzyonlarda invaziv tanı yöntemleri. In: Barış Yİ (Ed.) *Malign Plevral Hastalıklar ve Plevra Hastalıklarında Tanı Yöntemleri*. Ankara: Türkiye Akciğer Hastalıkları Vakfı 1992;61-73.
- 22) Francisco RP, Beatriz RR. Management of malignant pleural effusions. *Curr Opin Pulm Med* 2011;17:269-273.
- 23) Antony VB, Leddenkemper R, Astoni P, Boutin C et al. ERS/ATS Statement: Management of Malignant Pleural Effusion; *Eur Respir J* 2001;18:402-413.
- 24) Uygun N, Durak H. Plevra hastalıklarında sitopatoloji. *Solunum* 2002;4:81-89.
- 25) Vavetsi R, Bonovas S, Polizou P. The diagnostic role of glycosaminoglycans in pleural effusions: A pilot study. *BMC Pulmonary Medicine* 2009;10:1471-2466.
- 26) Pereira C, Saad R, Liu Y, Silverman J.F. The Diagnosis of Malignancy in Effusion Cytology: A Pattern Recognition Approach. *Adv Anat Pathol* 2006; 13: 8-174.
- 27) Nart D, Sarsık B, Doğanavsargil B, Sezak M. Primer ve metastatik akciğer tümörlerinin ayırıcı tanısında tiroid transkripsiyon faktör-1 ekspresyonunun önemi ve güvenilirliği. *Ege Tıp Dergisi* 2008;47(3) :171-175.
- 28) Perner PL, Wagner, A Solterman, C LaFargue, V Tischler, BA Weir et al. TTF1 expression in non-small cell lung carcinoma: association with TTF-1 gene amplification and improved survival. *The Journal of Pathology* 2009 ; 217(1):65-72.
- 29) Di Loreto C, Di Lauro V, Puglisi F. Immunocytochemical expression of tissue specific transcription factor-1 in lung carcinoma. *J Clin Pathol* 1997;50:30-32.

- 30) Bradley MT, Cagle PT, Sainz IM, Junya F, Napsin A, a New marker for lung adenocarcinoma, is complementary and more sensitive and specific than thyroid transcription factor 1 in the differential diagnosis of primary pulmonary carcinoma. Arch Pathol Lab Med 2012;136:163-171.
- 31) Gotzos V, Vogt P, Celio MR. The calcium binding protein calretinin is a selective marker for malignant pleural mesotheliomas of the epithelial type. Pathol Res Pract 1996;192(2):47-137.
- 32) Andressen C, Blümcke I, Celio MR. Calcium-binding proteins: selective markers of nerve cells. Cell Tissue Res 1993;271(2):181-208.
- 33) Mutlu S, Güler S, Olgaç V, Alatlı C. The value of the expressions of E-cadherin, Calretinin and GLUT-1 in the differential diagnosis of malignant mesothelioma, reactive mesothelial proliferation and adenocarcinoma in serous effusions. Türk Onkoloji Dergisi 2012;27(1):17-23.
- 34) Comin CE, Novelli L, Boddi V, Paglierani M, Dini S. Calretinin, thrombomodulin, CEA, and CD15: a useful combination of immunohistochemical markers for differentiating pleural epithelial mesothelioma from peripheral pulmonary adenocarcinoma. Hum Pathol 2001;32(5):36-529.
- 35) Green S, Chambon P. The estrogen receptor: from perception to mechanism. In: Parker MG (Ed.) Nuclear hormone receptors. London: Academic Press 1991;15-33.
- 36) King WJ, De Sombre ER, Jense EV, Gren GL. Comparison of immunocytochemical and steroid binding assays for estrogen receptors in human breast tumors. Cancer Res 1985; 45:99-293.
- 37) Stabile LP, Davis AL, Gubish CT. Human nonsmall cell lung tumors and cells derived from normal lung express both estrogen receptor  $\alpha$  and  $\beta$  and show biological responses to estrogen. Cancer Res 2002; 62:50-2141.
- 38) Omoto Y, Kobayashi Y, Nishida K. Expression, function, and clinical implications of the estrogen receptor  $\beta$  in human lung cancers. Biochem Biophys Res Commun 2001; 285: 47-340.
- 39) Deftos LJ. Chromogranin A: its role in endocrine function and as an endocrine and neuroendocrine tumor marker. Endocr Rev 1991;12:7-181.

- 40) Mouland AJ, Bevan S, White JH, Hendy GN. Human chromogranin-A gene. Molecular cloning, structural analysis and neuroendocrine cellspecific expression. *Biol Chem* 1994; 269:26-6918.
- 41) Karabulut Y. Biyo ve İmmünohistokimyasal Belirteç Olarak Kromogranin A (CgA). *Güncel Gastroenteroloji* 2013;17:159-162.
- 42) Malissen B. An evolutionary and structural perspective on T cell antigen reseptor function. *Immunol Rev* 2003;191:7-27.
- 43) Knight S, Stagg A. Antigen-presenting cell types. *Current Opinion in Immunology* 1993;5:374-382.
- 44) Gusterson BA, Warburton MJ, Mitchell D, Ellison M, Neville AM, Rudland PS. Distribution of myoepithelial cells and basement membrane proteins in the normal breast and in benign and malignant breast disease. *Cancer Res* 1982;42:4763–4770.
- 45) Raptopoulos V, Davis LM, Lee G. Factors affecting the development of pneumothorax associated with thoracentesis. *AJR* 1991;156:20-917.
- 46) Passebosc-Faure K, Li G, Lambert C. Evaluation of a panel of molecular markers for the diagnosis of malignant serous effusions. *Clin Cancer Res* 2005;11:6862-6867.
- 47) Heffner J.E. Diagnosis and management of malignant pleural effusions. *Respirology* 2008;13:5–20.
- 48) Jang KY , Kang MJ , Lee DG , Chung MJ. Utility of thyroid transcription factor-1 and cytokeratin 7 and 20 immunostaining in the identification of origin in malignant effusions. *Analytical and Quantitative Cytology and Histology/ the International Academy of Cytology (and) American Society of Cytology* 2001;23(6):400-404.
- 49) Kim JH, Choi YD, Lee JS, Lee JH, Nam JH, Choi C. Utility of thyroid transcription factor-1 and CDX-2 in determining the primary site of metastatic adenocarcinomas in serous effusions. *Acta Cytologica* 2010;54(3):277-282.
- 50) Liu L, Cohen C, Siddiqui MT. Thyroid transcription factor 1 and napsin a double staining in lung adenocarcinoma in pleural fluid. *Acta Cytol* 2012;56(4):30-425.
- 51) Ordóñez NG. A word of caution regarding napsin A expression in squamous cell carcinomas of the lung. *Am J Surg Pathol* 2012;36(3):396-401.
- 52) Simsir A, Fetsch P, Mehta D, Zakowski M, Abati A.E-cadherin, N-cadherin, and calretinin in pleural effusions: the good, the bad, the worthless. *Diagn Cytopathol* 1999;20(3):30-125.

- 53) Powell G, Roche H, Roche WR. Expression of calretinin by breast carcinoma and the potential for misdiagnosis of mesothelioma. *Histopathology* 2011; 59(5):6-950.
- 54) Ordóñez NG. The diagnostic utility of immunohistochemistry in distinguishing between epithelioid mesotheliomas and squamous carcinomas of the lung: a comparative study. *Mod Pathol* 2006 ;19(3):28-417.
- 55) Kummar S, Fogarasi M, Canova A, Mota A. Cytokeratin 7 and 20 staining for the diagnosis of lung and colorectal adenocarcinoma *Br J Cancer* 2002;86(12): 1884–1887.
- 56) Stopyra GA, Warhol MJ, Mulhaupt HA. Utility of CK7 and CK20 immunohistochemistry in the detection of synchronous breast and colon carcinoma in a pleural effusion: a case report and supporting survey of archival material. *Diagn Cytopathol* 2001;25(1):8-54.
- 57) Sobol RE, O'connor DT, Addison J. Elevated serum chromogranin a concentrations in small-cell lung carcinoma. *Ann Intern Med* 1986;105(5):698-700.
- 58) Nakano A, Takayuki H, Shigeru M, Yuzuru K. Expression of Leukocyte Common Antigen (CD45) on Various Human Leukemia/Lymphoma Cell Lines. *Pathology International* 1990: 40 (2):107-115.
- 59) Wick MR, Weatherby RP, Weiland LH. Small cell neuroendocrine carcinoma of the colon and rectum: Clinical, histologic, and ultrastructural study and immunohistochemical comparison with cloacogenic carcinoma. *Human Pathology* 1987;18(1):1-9.
- 60) Sebastian M, Kiewe P. Treatment of Malignant Pleural Effusion With the trifunctional antibody catumaxomab (Removab) (Anti-EpCAM×Anti-CD3): results of a phase 1/2 study. *Journal of Immunotherapy* 2009;32(2):195-202.
- 61) Dejmek A. CK5/6 in effusions: no difference between mesothelioma and pulmonary and nonpulmonary adenocarcinoma. *Acta Cytol* 2008;52(5):83-579.
- 62) Pu RT, Pang Y, Michael CW. Utility of WT-1, p63, MOC31, mesothelin, and cytokeratin (K903 and CK5/6) immunostains in differentiating adenocarcinoma, squamous cell carcinoma, and malignant mesothelioma in effusions. *Diagn Cytopathol* 2008; 36 (1): 5-20.