



**T. C.
ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
GÖĞÜS HASTALIKLARI ve TÜBERKÜLOZ ANABİLİM DALI**

**PRİMER AKCİĞER KANSERLİ HASTALARDA SERUM VASKÜLER
ENDOTELYAL BÜYÜME FAKTÖRÜ (VEGF) ve SERUM VEGF
SEVİYELERİ İLE NÖRON-SPEŞİFİK ENOLAZ, CYFRA21-1,
KARSİNOEMBRYOJENİK ANTİJEN, CA125 ve LAKTAT
DEHİDROJENAZ SERUM SEVİYELERİ ARASINDAKİ İLİŞKİ**

Dr. Dursun Ali SAĞLAM

UZMANLIK TEZİ

Bursa-2006



**T. C.
ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
GÖĞÜS HASTALIKLARI ve TÜBERKÜLOZ ANABİLİM DALI**

**PRİMER AKCİĞER KANSERLİ HASTALARDA SERUM VASKÜLER
ENDOTELYAL BÜYÜME FAKTÖRÜ (VEGF) ve SERUM VEGF
SEVİYELERİ İLE NÖRON-SPEŞİFİK ENOLAZ, CYFRA21-1,
KARSİNOEMBRİYOJENİK ANTİJEN, CA125 ve LAKTAT
DEHİDROJENAZ SERUM SEVİYELERİ ARASINDAKİ İLİŞKİ**

Dr. Dursun Ali SAĞLAM

UZMANLIK TEZİ

Danışman: Prof. Dr. Mehmet KARADAĞ

Bursa-2006

İÇİNDEKİLER

İÇİNDEKİLER.....	i
TÜRKÇE ÖZET.....	ii-iii
İNGİLİZCE ÖZET.....	iv-v
GİRİŞ.....	1- 20
GEREÇ VE YÖNTEM.....	21 - 23
BULGULAR.....	24 - 32
TARTIŞMA VE SONUÇ.....	33 - 43
KAYNAKLAR.....	44- 57
TEŞEKKÜR.....	58
ÖZGEÇMİŞ.....	59

ÖZET

Akciğer kanseri, tüm dünyada yaygın olarak görülür ve kansere bağlı ölümlerin önde gelen nedenidir. Hastaların çoğunda prognoz kötüdür. Tüm tedavi çabalarına rağmen hastaların %10'undan azında kür sağlanabilir ve uzun dönem sağkalıma ulaşılabilir. Bu yüzden son zamanlarda çalışmalar moleküler hedef tedavilerine ve bir biyolojik belirteç saptayabilmek için hastalık progresyonu üzerine odaklanmıştır.

Solid tümörlerin 1-2 mm³ volüme ulaştıktan sonra daha fazla büyüebilmeleri anjiogenezise bağımlıdır. Anjiogenez solid tümörlerin büyümesi, progresyonu ve metastazında önemli rol oynar. Anjiogenez, mevcut vasküler yataktan yeni kan damarlarının oluşmasıdır. Anjiogenik faktörler arasında vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF) tümör neovaskülarizasyonunda gerekli olan, endotel hücrelerine spesifik güçlü bir mitojen olarak bilinir. VEGF neovaskülarizasyonda anahtar rol oynamaktadır.

Bu çalışmada VEGF'nin akciğer kanserli hastalarda klinik önemi değerlendirilmiştir.

Malign grupta 40, kontrol grubunda 25 olmak üzere toplam 65 olgunun serum VEGF düzeyleri ELİSA yöntemi kullanılarak ölçüldü. Malign grupta nöron spesifik enolaz (NSE), CYFRA21-1, karsinoembriyjenik antijen (CEA) ve CA125'in serum seviyeleri kemilüminesan yöntemle, laktat dehidrojenaz'ın (LDH) serum seviyeleri ise enzimatik spektrofotometrik analiz ile değerlendirildi.

Malign grupta serum VEGF seviyeleri kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek saptandı. Serum VEGF seviyeleri ile cinsiyet, histolojik tip, evre ve uzak metastaz arasında ilişki saptanmadı. Cut-off değeri 249.8 pg/ml olarak bulundu. Bu

eşik değerinde sensitivite %70, spesifite %76 olarak saptandı. Serum VEGF seviyeleri ile NSE, CYFRA21-1, CEA, CA125 ve LDH serum seviyeleri arasında korelasyon saptanmadı.

Sonuç olarak; bu çalışma akciğer kanserinde serum VEGF seviyelerinin artmış olduğunu gösterdi. VEGF anjiogenezde anahtar rol oynuyor gibi görünmektedir. Bu yüzden akciğer kanserinde VEGF'nin inhibisyonu antianjiogenik tedavi için uygun bir hedef olarak görünmektedir.

Anahtar Kelimeler: Anjiogenesis, VEGF, akciğer kanseri

SUMMARY

SERUM VASCULAR ENDOTHELIAL GROWTH FACTOR LEVELS IN PATIENTS WITH PRIMARY LUNG CANCER and CORRELATION BETWEEN SERUM VEGF LEVELS and SERUM NEURON-SPECIFIC ENOLASE CYFRA21-1 CARCINOEMBRYONIC ANTIGEN CA125 and LACTATE DEHYDROGENASE

Lung cancer is the most common cancer and the leading cause of cancer mortality worldwide. The prognosis for the majority of patients remains poor. Despite therapeutic efforts, fewer than 10 per cent of patients can be cured and enjoy long-term survival. Current studies have focused on patient prognosis by identifying biologic markers and molecular-targeted therapies.

After solid tumors reach a volume of 1-2 mm³, their further outgrowth is strictly dependent on angiogenesis. Angiogenesis plays an important role in the growth, progression and metastasis of solid tumors. Angiogenesis is formation of new blood vessels from the pre-existing vascular bed. Among angiogenic factors, vascular endothelial growth factor (VEGF) is known to be a powerful endothelial cell-specific mitogen involved in tumor neovascularization. VEGF plays a key role in the development of neovascularization.

In the present study, to assess the clinical significance of VEGF in patients with lung cancer.

Malign group consisted of forty patients, control group consisted of twenty five patients. Using a ELISA method, the concentration of VEGF was measured in serum specimens. Serum levels of neuron-specific enolase (NSE), CYFRA21-1, carcinoembryonic antigen (CEA) ve CA125 were evaluated by chemiluminescent analysis, serum levels of lactate

dehydrogenase (LDH) were evaluated by enzymatic spectrophotometric analysis in malign group.

In malign group, we found higher serum VEGF levels compared to the controls group and these high levels were shown to be statistically significant. There were no associations between serum levels and gender, histological types, stage and distant metastasis. The cut-off level was 249.8 pg/ml. The sensitivity and specificity using this threshold were %70 and %76 in patients with lung cancer. There were no correlation between serum VEGF levels and serum NSE, CYFRA21-1, CEA, CA125 and LDH levels.

Conclusion; the study showed that serum concentration of VEGF was increased in lung cancer. VEGF seems to play a key role in angiogenesis. Thus, inhibition of VEGF offers an especially attractive target for antiangiogenic therapy in lung cancer.

Key Words: Angiogenesis, VEGF, lung cancer.

GİRİŞ

Son yıllarda dünyada ve ülkemizde Göğüs Hastalıkları alanına giren hastalıklardaki artışlara paralel olarak mortalite oranlarında da ciddi artışlar yaşandığı gözlenmekte ve bu durumun özellikle sigara ile ilgili hastalıklarda önümüzdeki yıllarda devam ederek ciddi boyutlara ulaşacağı düşünülmektedir (1). Kayner ve arkadaşlarının yaptığı retrospektif çalışmada akciğer hastalıklarına bağlı mortalite son yıllarda artış göstermekte olup akciğer kanseri kronik obstrüktif akciğer hastalığından (KOA) sonra ikinci ölüm nedeni olarak saptanmıştır (2).

Akciğer kanseri yirminci yüzyılın başlarında nadir görülmesine rağmen, günümüzde sıklığı artan önemli bir sağlık problemidir. Genel ölüm nedenleri arasında kalp hastalıklarından sonra ikinci sırayı alan akciğer kanseri kanser ölümlerinin %28'ini oluşturmaktadır (3).

Akciğer kanseri, gelişmiş ülkelerde erkek kanser ölümlerinin önde gelen nedenlerindedir. Kadınlar için insidans artmaktadır (4).

Akciğer kanseri, insidansı yaşla artan bir hastalık olup, en sık 50-70 yaşlarında görülmektedir (3,5,6).

Sağlık Bakanlığı Kanser Savaş Dairesi'nin 1997 yılında yayınlanan raporunda, akciğer kanserleri 1994 yılında tüm kanserler içerisinde %17.6 oranıyla birinci sırada yer almaktaydı. Erkeklerde % 26.3 oranı ile ilk sırada, kadınlarda % 4.5 ile sekizinci sıradadır (7).

Akciğer kanseri risk faktörleri; sigara (%94) ve diğerleri (%6); yaş (en sık 50-70 yaşları arasında), ırk (zencilerde daha fazla), mesleki etkenler (asbest), radyasyon, geçirilmiş akciğer hastalıkları (fibrozis olanları), viral enfeksiyonlar, diyet (A vitamininden eksik diyet) ve genetik yatkınlık olarak sıralanabilir (5).

KARSİNOGENEZİS

Karsinogenezin temelinde hücre için ölümcül olmayan genetik hasar (mutasyon) yatmaktadır. Karsinogenez çok basamaklı bir süreçte değişik karsinojenlerin (kimyasal, fiziksel ve viral) etkisiyle oluşan genetik ve epigenetik hasarlanmalarla gerçekleşir. Klinik olarak akciğer kanseri gelişene kadar 10-20 adet genetik hasarın oluşması gerektiği bilinmektedir. Akciğer karsinogenezinde majör genetik olaylar şöyle sıralanabilir;

- I- Onkojenlerin mutasyonel aktivasyonu
- II- Tümör supresör genlerin inaktivasyonu
- III- Hücre siklus regülasyonunda görev alan genlerde ortaya çıkan değişiklikler
- IV- DNA tamirinde görev alan genlerde ortaya çıkan değişiklikler
- V- Büyüme faktörleri ve reseptörlerine ilişkin değişiklikler (8).

Kanser gelişimi ve metastaz oluşumunu etkileyen faktörler Tablo-1'de özetlenmiştir.

Tablo-1: Tümör ve metastaz oluşumunu etkileyen faktörler (18)

Başlangıç	Onkogen aktivasyonu, kromozom ayarlanması
Başlangıç ve ilerleme	Karyotip, genetik, büyüme faktörlerin artması, supresör genlerin azalması
KontROLSÜZ büyüme	Otokrin büyüme faktörleri ve reseptörlerin artması, apoptozisin bozulması
Anjiogenez	Büyüme faktörleri olarak bilinen anjiogenetik faktörlerin varlığı (örn. VEGF)
Lokal doku, kan, lenfatik doku invazyonu	Serum kemoatraktanlar, otokrin hareket faktörleri, reseptörler, parçalayıcı reseptörler, proteaz inhibitörlerinin kaybı
Tümör hücrelerinin dolaşıma geçip, ekstrasvaze olması	Endotele yapışma Endotelden geçme Bazal membrana tutunma Bazal membranı parçalama Hareket
Sekonder bölgede koloni oluşturma	Lokal doku büyüme faktörleri, anjiogenetik faktörler, mutasyon, supresör genlerin kaybı
Savunma sisteminden kaçma ve tedaviye dirençli olma	Makrofaj, doğal öldürücü hücreler, aktive T hücrelerine dirençli olma

Risk faktörlerinin varlığında şartlar sağlandıktan sonra gelişen karsinogenez sonucu oluşan tümörler neovaskülarizasyon olmaksızın ancak

1-2 mm³ boyuta ulaşabilirler. Tümörün büyümesi için yeni damar yapıları ile desteklenmesi gerekir (8,9). Yeni damar oluşumunda da vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF) anahtar rol oynamaktadır. İşte bu çalışmada belki de antikanser terapinin bir hedefi olabilecek, angiogenезin temel mediatörü olan VEGF'nin primer akciğer kanserindeki klinik önemi ele alınmıştır.

ANGİOGENEZ

Kan damarı oluşumunda iki ayrı süreç vardır: vaskülogenez ve angiogenез. Vaskülogenez daha önce avasküler olan dokunun içinde kan damarlarının oluşumuyla ilgiliyken, angiogenез mevcut damarlardan yeni kapillerlerin oluşumuyla ilgilidir (10,11).

Anjiogenез normal büyüme ve gelişme için temel öneme sahiptir. Hücrelerin ve dokuların yeterli oksijen ve besin almasını sağlamak üzere yeni kan damarlarını oluşturan bu karmaşık süreç, bir dizi proanjiogenik ve anti-anjiogenik faktörle kontrol edilir. Morfolojisi ve fonksiyonu normal olan damarların oluşması için bu iki faktör sınıfı arasında etkileşim ve denge olması şarttır. Anjiogenезi uyaran ve inhibe eden çok sayıda faktör saptanmıştır. Tümörler, kapillerleri çekebilecek mi, kan akımı ile bağlantı sağlayabilecek mi sorularında en belirleyici faktör kritik lokal dengenin anjiogenik faktörler lehine bozulmuş olmasıdır (26). İnsanlarda anjiogenез; anjiogenезi stimüle eden VEGF, fibroblast büyüme faktörleri (aFGF, bFGF), anjiopoetin (Ang1), transforme edici büyüme faktörleri (TGFa, TGFb), anjiogenin, interlökin-8 (IL-8), hepatosit büyüme faktörü (HGF), timidin fosforilaz (TP), tümör nekrozis faktörü (TNF), platelet kaynaklı büyüme faktörü (PDGF), α VPs integrin, efrinB2, Tie2 ve koagülasyon faktörleri gibi anjiogenезi inhibe eden FVIII kolajenin, trombospondin, fibronektin, α , β , γ interferon (INF), anjiostatin, endostatin, anjiopoetin-2, interlökin-12 (IL-12) gibi faktörler arasındaki ince bir denge ile düzenlenmektedir (9,12-16). Temel

angiogenik ve antianjiogenik faktörler Tablo-2’de özetlenmiştir. Muhakkak ki akciğer kanseri gelişiminde bir tek büyüme faktörü değil pek çok büyüme faktörü ve reseptörü “multiotokrin loop” oluşturarak etki gösterir. Bununla birlikte VEGF onkojen ekspresyonu, büyüme faktörleri ve hipoksi ile up regüle olarak kanserde angienez için anahtar rol oynar (17).

Tablo 2: Temel angiogenik ve antianjiogenik faktörler (18)

Anjiogenik faktörler	Antianjiogenik faktörler
VEGF ve reseptörleri	Anjiostatin
Fibroblast büyüme faktörü (FBF)	Endostatin
Transforme edici büyüme faktörü α ve β (TGF α ve β)	Interferon α ve β
Trombosit türevi endotelial hücre büyüme faktörü (PD-ECGF)	Interferon γ indüklenebilen protein 10
Tümör nekrozis faktör (TNF α)	Interlökin 12
Matriks Metalloproteinazlar	Trombosit faktör 4
Anjiopoetin-2 ve Tie-2 reseptör	Trombospondin-1
Scatter Factor (hepatosit büyüme faktörü)	2-metoksiöstradiol (2-ME2)
Interlökin 8 (IL 8)	Metalloproteinaz doku inhibitörleri (TIMP-s)
Anjiogenin	Retinoik asid
Adezyon molekülleri (integrinler, selektinler, cadherinler)	TNF α (yüksek konsantrasyonlarda)
Prostaglandin E1 ve E2 (PG-E1, -E2)	

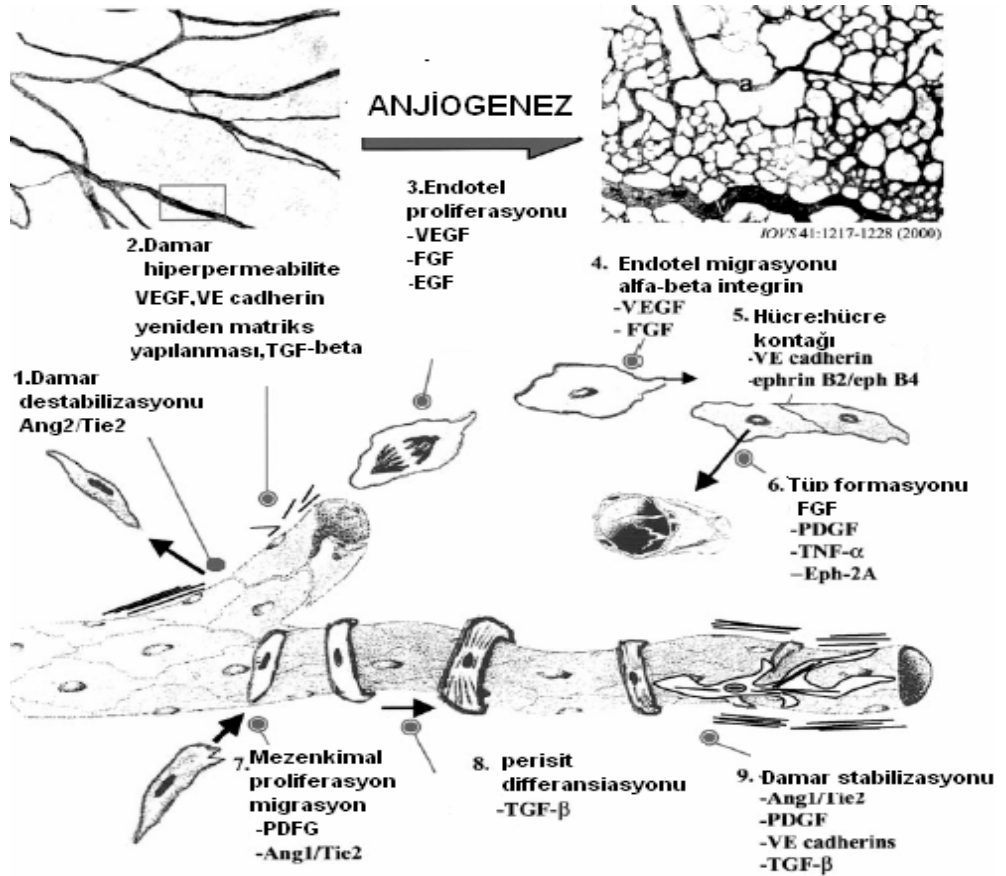
VEGF hem fizyolojik hem de patolojik angienezde rol oynar (19). VEGF’nin angienezde majör fizyolojik rolü; embriyogenez ve postnatal gelişimde, iskelet gelişiminde (büyümesinde), overde korpus luteum gelişiminde ve yara iyileşmesinde olarak sayılabilir. VEGF’nin patolojik

anjiogenezdeki rolü; solid tümörler ve hematolojik malignitelerde, retinopatilerde (intraoküler neovaskülarizasyon), inflamasyonda (sinovit, artrit, psöriyazis, inflamatuvar bağırsak hastalıkları, astım, nazal polipler, alerjik dermatik gibi), beyin ödeminde, kadın üreme yolları patolojilerinde (polikistik over sendromu, endometriyozis, over kistleri, uterus kanamaları) karşımıza çıkmaktadır (20,21). Anjiogenik disfonksiyon birçok hastalıkta durumun nedeni yada süregiden patolojinin bütünleyici bir parçasıdır. Bunlar içerisinde kanserler tümör büyümesi ve metastazı için anjiogenezin temel öneme sahip olduğu en iyi araştırılmış örnektir. Fizyolojik anjiogenezde bu olay fokal ve kısa süreli iken (over foliküllerinde birkaç hafta devam ettiği gibi) patolojik anjiogenezde hâla fokal bir olay olmakla birlikte yıllar boyunca devam edebilmektedir (oküler neovaskülarizasyon, artrit, deri hastalıkları, tümörlerde olduğu gibi) (22).

Bugün için progresif tümör büyümesi ve metastazının anjiogenezise bağlı olduğu bilinmektedir. Tümörler 1-2 mm³den daha fazla büyüyecekleri zaman kapillerlerle bağlantı kurmak zorundadır. Vaskülarize bir tümörde tüm tümör hücreleri anjiogenik değildir. Çok iyi vaskülarize tümörlerde bile mikrodamar dansitesinin (tümörün vaskülaritesini gösterir) düşük olduğu alanlar ve yüksek olduğu alanlar gözlenir ve anjiogenik aktivite heterojendir. Tümör popülasyonu genişledikçe anjiogenik özellik kazanmış tümör hücre varyantlarının oluşma ihtimali artar. Yüksek oranda anjiogenik hücreler içeren tümörler daha yüksek ihtimalle yaygın metastaz yaparlar. Bir tümör hücresinin başarıyla metastaz yapabilmesi için, damar sistemine girmek, dolaşımda canlı kalabilmek, hedef organın mikrodamarlarında duraklayabilmek, damar sisteminden dışarı çıkabilmek, hedef organda büyüebilmek ve anjiogenezi indüklüyelemek gibi çeşitli bariyerleri aşabilmelidir (8,9,23-25). Şekil-1'de anjiogenez basamakları özetlenmiştir.

Anjiogenez Basamakları (18);

- 1) Aktive endotel hücrelerden proteazların salınması
- 2) Varolan damar ağını çevreleyen bazal membranın harabiyeti
- 1) Endotel hücrelerinin intersitisyel alana migrasyonu
- 2) Endotel hücre proliferasyonu
- 3) Lümen formasyonu
- 4) Perisitlerin yardımıyla yeni bazal membranın oluşturulması
- 5) Yeni oluşan damarların füzyonu
- 6) Kan akışının başlaması



Şekil-1: Anjiogenez basamakları (18)

Klinik veriler metastatik potansiyelin ve prognozun anjiogenez şiddetine bağlı olduğunu desteklemektedir. Bu nedenle anjiogenezin şiddeti belirlenmeye çalışılmaktadır. Kullanılan yöntemler, mikrodamar dansitesinin saptanması, anjiogenik faktörlerin kan ve idrarda ölçülmesi, anjiogenik proteinlerin doku düzeylerinin saptanmasıdır. Kanda ve idrarda anjiogenik proteinlerin saptanması hastalık ilerlemesini belirlemede ve tedavide yol göstericidir (26,27). Anjiogenez bloke edildiğinde tümör hücre poliferasyonu devam edebilmektedir, ancak bu durum yüksek oranda tümör hücre apoptozu ile dengelenmekte ve böylece tümör hücresi genişleyememektedir (8,9,23-25). Anjiogenik faktörlerin inhibisyonu başlığı altında VEGF ve VEGF reseptörlerinin bloke edilmesi en çok tercih edilenlerdir. Fizyolojik anjiogeneze bir örnek teşkil eden embriyogenezde VEGF geninin silindiği farelerde yapılan çalışmalarda embriyonun 11 ile 12 gün arasında öldüğü gösterilmiştir (19). Bunun yanı sıra doğal anti-anjiogenik faktörlerin uygulanması, endotel hücrelerinin inaktivasyonu, yeni damarların hücre dışı matriksi ile etkileşimini bozacak moleküllerin uygulanması (matriks metalloproteinaz inhibitörleri) diğer stratejilerdir (27,28).

Anjiogenezin tümör büyüme ve metastazındaki öneminin anlaşılması, anjiogenezi belirleme yöntemleri ve anjiogenez tedavi modaliteleri üzerine araştırmaların yoğunlaşmasına neden olmuştur. Bu çalışmada da anjiogeneze endotel hücrelerinin büyümesi ve farklılaşmasını sağlayan en önemli büyüme faktörü olan VEGF'nin primer akciğer kanserindeki önemi değerlendirilmiştir.

VEGF AİLESİ

Trombosit kaynaklı büyüme faktörleri süperailisinin üyesi olan VEGF ailesi, endotel hücreleri için özgüdür ve önemli etkileri vardır. Vücutta hem fizyolojik olaylarda, hem de tümör büyümesi ve yayılmasını da içeren patolojik birçok hastalığın etyolojisinde yer alır. Bu yüzden 1980'lerde

keşfedildiğinden günümüze kadar gittikçe artan bir ilgiyle araştırılmaktadır (20,29).

VEGF-A, Human VEGF ve vasküler permeabilite faktörü olarak da adlandırılan VEGF, VEGF ligand ailesinin en iyi araştırılmış ve anlaşılması üyesidir. Bu büyüme faktörünün, özellikle damar oluşumunda kritik rol oynadığı ve endotel hücrelerinin yaptığı birçok fonksiyonda da gerekli olduğu görülmüştür.

İlk defa 1983'te Senger ve arkadaşları tarafından kobay tümörlerinden tanımlanmıştır. Kobay derisinde vasküler sızıntı oluşturduğu için de vasküler permeabilite faktörü olarak isimlendirildi (29,30). 1989'da sığır hipofizinden elde edilmiş, kuvvetli endotelial mitojen olduğu anlaşılmıştır ve VEGF olarak adlandırılmıştır (29,31,34).

Bugüne kadar VEGF ailesinin 6 üyesi saptanmıştır. Bunlar VEGF (VEGF-A, human VEGF), VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D, VEGF-E ve plösentin büyüme faktörü (PlGF)'dür. Tablo-3'de VEGF üyeleri, reseptörleri, fonksiyonları özetlenmiştir.

Tablo-3: VEGF ailesi ve fonksiyonları (33)

Ligand	Reseptör	Fonksiyon
VEGF (VEGF-A)	VEGFR-1 ve -2 Nöropilin-1	Anjiogenez, vasküler devamlılık
VEGF-B	VEGFR-1	Bilinmiyor
VEGF-C	VEGFR-2 ve -3	Lenfanjiogenez
VEGF-D	VEGFR-2 ve -3	Lenfanjiogenez
VEGF-E	VEGFR-2	Anjiogenez
PlGF	VEGFR-1, nöropilin-1	Anjiogenez ve İnflamasyon

VEGF: VEGF-A, human VEGF, vasküler permeabilite faktörü olarak da bilinir. 35-45 kDa ağırlığında disülfid bağları ile birbirine bağlanmış dimerik bir glikoproteindir.

VEGF endotel hücre proliferasyonu ve migrasyonu için esansiyeldir. Endotel hücreleri dışında beyin, karaciğer, böbrek ve dalak gibi pek çok doku tarafından salgılanır. VEGF geni 8 exon ve 7 introndan oluşur, kromozom 6p21.3'te lokalizedir.

VEGF tümör kan damarlarında proteinlerin ekstravazasyonunu sağlayan bir protein olarak biliniyordu (44). Daha sonra VEGF'nin endotel hücrelerine yüksek spesifite gösteren heparine bağlanan anjiojenik bir büyüme faktörü olduğu saptandı. Sonrasında VEGF geni tarafından kodlanan permeability-inducing factor ve endotel hücresi büyüme faktörü olduğu anlaşıldı. Birçok izoformu olduğu fark edildi (45).

VEGF'nin bilinen altı adet izoformu vardır. Bunlar VEGF₁₂₁, VEGF₁₄₅, VEGF₁₆₅, VEGF₁₈₃, VEGF₁₈₉ ve VEGF₂₀₆ olarak isimlendirilmişlerdir ve isimlerindeki sayılar aminoasit sayılarını göstermektedir. Başlıcaları 121, 165, 189 ve 206'dır. İzofomlar arasında majör bir fark heparine olan afiniteleridir. VEGF₁₂₁ hariç hepsi heparine bağlanmaktadır. VEGF₁₂₁, VEGF₁₄₅ ve VEGF₁₆₅ salgılandığında kolayca difüze olur ve erimiş formları sıvılarda saptanabilir. VEGF₁₈₉ ve VEGF₂₀₆ ise salgılandığı halde hücre aracılı olarak kalır ve varlıkları testlerde kolayca saptanamaz. VEGF₁₈₉'unda heparine afinitesi yüksektir (20, 29, 31-33). Tablo-4'de VEGF izoformlarının özellikleri özetlenmiştir.

VEGF₁₆₅ majör izoformdur ve endotel hücrelerine güçlü mitojen ve kemotaktiktir (16). Farklı izotopların biyolojik anlamı açık değildir. Daha çok araştırma yapıldığında izoformlar arasındaki farkların görülmesi mümkündür.

Tablo-4: Başlıca VEGF izoformlarının özellikleri (38)

	VEGF ₁₂₁	VEGF ₁₆₅	VEGF ₁₈₉	VEGF ₂₀₆
Heparin afinitesi	+	++	+++	+++
Biyolojik potans	++	++++	?	?
Difüzibilite	++++	+++	+	+

VEGF-B: Vasküler endotel büyüme faktörü reseptörü-1'e (VEGFR-1) bağlanarak monositlerin aktivasyonu ve farklılaşmalarında rol alır (35).

VEGF-C: Lenfatik damarların oluşumunda (lenfanjiogenez) rol oynamaktadır. VEGF-2 ve VEGF-3'e bağlanarak vasküler ve lenfatik endotelyal hücrelerde mitojenik etki yapar (35). Qingchang ve arkadaşlarının (36) 2003 yılında yayınladıkları bir çalışmada küçük hücreli dışı akciğer kanseri'nde (KHDAK) VEGF-C ve VEGF-3 lenfanjiogenez, anjiogenez ve akciğer kanserinin oluşması ve gelişmesiyle ilişkili bulunmuştur.

VEGF-D: VEGFR-2 ve VEGFR-3'e bağlanarak VEGF-C ile benzer işlevler yapar (29,33,35).

VEGF-E: Güçlü bir mitojen ve permeabilite artırıcı faktördür. VEGFR-1'e bağlanmayı başaramaz ama VEGF-2'ye seçici olarak bağlanarak etkisini gösterir (29,33,35).

PIGF: VEGF ailesinin tanımlanan ilk üyesidir, VEGF-B gibi VEGFR-1'e bağlanarak etki gösterir (35).

VEGF' nin Biyolojik Aktivitesi

VEGF'nin endotel hücreleri üzerine dört ana biyolojik aktivitesi vardır. Bunların tümü anjiogenez indüksiyonuna katkıda bulunur (20,31,32,34,37,41).

- * Vasküler endotel hücrelerin büyümesi ve poliferasyonu
- * Vasküler endotel hücrelerinin göçü
- * Apoptozdan korunma yoluyla olgunlaşmamış endotel hücrelerin sağkalımı
- * Kapillerlerde artmış vasküler permeabilite

VEGF'nin lenfanjiogenezde de rolü olduğu öne sürülmüştür (42). VEGF'nin endotel hücrelerine olan etkilerine ek olarak başka tipteki hücreler üzerine de etkileri vardır (20).

- * Monosit hemotaksisinin teşvik edilmesi
- * Dentritik hücre olgunlaşmasının inhibisyonu
- * B hücresi üretiminin ve olgunlaşmamış miyeloid hücre üretiminin artışı

VEGF aynı zamanda hematopoetik repopülasyon sırasında hematopoetik kök hücrelerinin sağkalımı ile ilgili görünmektedir (43). Retinal pigment epitel hücreleri, pankreas kanalı hücreleri ve schwann hücreleri sistemlerinde VEGF'nin mitojenik etkileri de in vitro olarak gözlemlenmiştir ama bu etkilerin in vivo olup olmadığı araştırılmalıdır (46,47).

VEGF Gen Ekspresyonunun Düzenlenmesi

VEGF vücutta birçok dokuda aksprese edilir. Örneğin; akciğer, böbrek adrenal bezler, kalp, karaciğer ve mide mukozası. Berse ve arkadaşlarının (48) yaptığı çalışmada en yüksek VEGF düzeyleri akciğer alveolünde, böbrek glomerülünde, adrenal kortekste ve kardiyak miyositte bulunmuştur. VEGF geni ekspresyonu normal dokuda ve tümörlerde farklı düzeylerde dir.

VEGF ekspresyonu hipoksi, pH, büyüme faktörleri, hücre sel transformasyon, hormonlar ve onkojenler dahil çeşitli faktörlerle düzenlenmektedir (31,49).

Oksijen basıncı VEGF gen ekspresyonunda anahtar rol oynar. Büyüme faktörlerinden epidermal büyüme faktörü (EGF), TGF- α , TGF- β , keratinosit büyüme faktörü, insülin benzeri büyüme faktörü-2 (IGF-2), FGF ve PDGF VEGF mRNA ekspresyonunu artırır. İnflamatuar sitokinlerden interlökin-1 α (IL-1 α), interlökin-6 (IL-6) inflammatuar hastalıkla da VEGF gen ekspresyonuna neden olabilirler (31).

Bazı tiroid kanserlerinin VEGF ekspresyonuna neden olduğu gösterilmiştir. ACTH'ın fetal adrenal kortikol hücre kültürlerinde VEGF ekspresyonu yaptığı gösterilmiştir. Gonodotropinlerin de overlerde VEGF transkripsiyonuna potent etkileri gösterilmiştir. Seks steroidlerinin hormon sensitif dokularda VEGF regülasyonu için önemli olduğu birkaç çalışmada saptanmıştır (31,50,51).

Son olarak hücrelerin onkojenik transformasyonu sıklıkla VEGF aşırı ekspresyonu ile bağlantılıdır.

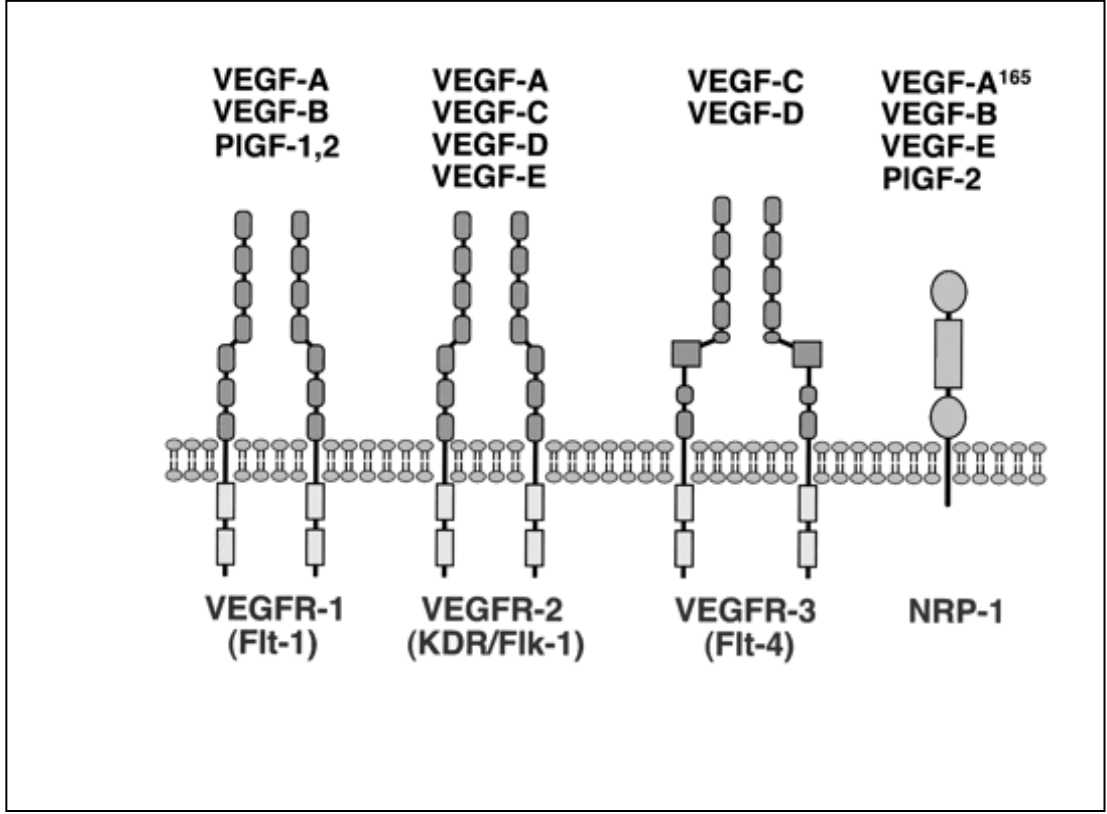
VEGF Reseptörleri

İlk olarak endotel hücre yüzeyinde *in vitro* ve *in vivo* olarak saptandılar. Akabinde kemik iliği kaynaklı hücrelerde (örneğin monosit) gösterildiler (31). Bilinen reseptörler VEGFR-1 (flt-1), VEGFR-2 (KDR,flk-1), VEGFR-3 (flt-4), nörofilin 1 ve 2'dir. Şekil-2'de VEGF üyeleri ve VEGF reseptörleri arasındaki ilişki görülmektedir.

VEGFR-1 ve 2 özellikle vasküler endotel hücrelerinde eksprese olur. VEGFR-3 embriyogenez esnasında vasküler ve lenfatik endotel hücrelerinde eksprese olurken daha sonra lenfatik endotelle sınır kalır (33).

VEGF'nin biyolojik etkilerinin ortaya çıkması, ağırlıklı olarak vasküler endotel hücrelerde eksprese olan VEGFR-2'ye bağlanmasıyla ilgilidir. Bu reseptör, tirozin kinaz aktivitesine sahip bir reseptör ailesinin yapısına benzer bir yapıya sahiptir (31,33,45). VEGFR-2 aynı zamanda VEGF-C, VEGF-D ve VEGF-E reseptörüdür.

Aslında VEGF VEGFR-1'e 2'den daha yüksek bir afiniteyle bağlanır. Ancak VEGFR-1'in tirozin kinaz aktivitesi zayıftır. Bu da VEGF'nin mitojenik ve kemotaktik aktivitelerini yalnızca VEGFR-2 eksprese eden hücrelerde gösterebildiğini düşündürmektedir (31,33,45).



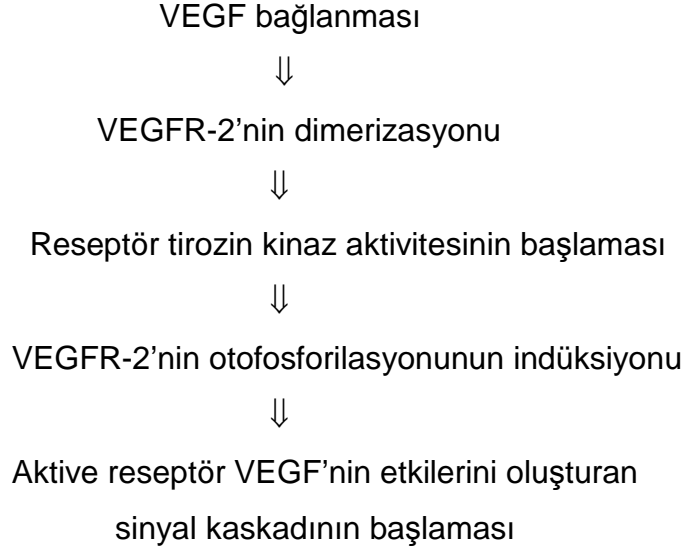
Şekil-2: VEGF reseptörleri (117)

VEGFR-3, VEGF ile bağlanmaz ama VEGF-C ve VEGF-D için yüksek afiniteye sahiptir. Embriyogenez sırasında vasküler ve lenfatik endotel hücrelerde eksprese edilir ama daha sonra ekspresyon lenfatik endotelle sınırlı kalır. Dolayısıyla VEGFR-3 primer olarak lenfanjiogenezin düzenlenmesiyle ilgili gibi görünmektedir (31,33,45).

Sinyal İletisi

VEGFR-2'ye bağlanmayı takiben çeşitli intrasellüler sinyal ileti yollarının aktivasyonu, VEGF'nin etkilerine aracılık etmektedir. VEGFR-2'nin

aktivasyonu genel olarak diğer reseptör tirozin kinazlarda gözlemlenenlerle aynı adımları izler (52).



Sonuç olarak; VEGF çeşitli hücre tipleri tarafından üretilen, primer olarak vasküler endotel hücreler üzerinde etki gösteren bir büyüme faktörüdür. Endotel hücre poliferasyonu, sağkalımı ve göçü üzerinde hipoksinin ve başka proanjiojenik faktörlerin etkilerine aracı olup, anjiogenezin kontrolünde merkezi bir role sahiptir. VEGF'nin aktivitesi, VEGFR-2'ye bağlanmak suretiyle gerçekleşir. VEGF ayrıca vasküler permeabiliteyi artırır, lenfanjiogenezde rol oynar, konağın immün yanıtını etkileyen dentritik hücreler gibi immün efektörler üzerinde de etkilidir. VEGF'nin önemi, onun embriyogenezdeki ve erken postnatal büyümedeki fizyolojik rolü ve ayrıca özellikle kanser olmak üzere çok sayıda hastalıktaki anlamlı rolüyle gösterilmiştir.

Prognostik Faktörler ve Tümör Belirteçleri

Bu çalışmada serum VEGF düzeylerinin primer akciğer kanserinde, önceki çalışmalarda belirtildiği üzere prognostik ve tümör belirteci olarak önemi olan serum NSE, CYFRA21-1, CEA, CA125 ve LDH düzeyleri ile korelasyonu araştırıldı. Ayrıca NSE, CYFRA21-1, CEA, CA125 ve LDH'ın kendi aralarındaki ilişkide değerlendirildi.

Küçük Hücreli Olmayan Akciğer Kanseri (KHDAK)'nde prognostik faktörler ile ilgili olarak yayınlanan uzlaşılı raporlarında, hastalığın evresinin ve performans durumunun sağkalımı etkileyen en önemli prognostik faktörler olduğu belirtilmiştir. Bununla birlikte farklı çalışmalarda yaş, cinsiyet, kilo kaybı, LDH, CA125, CA19-9, CYFRA21-1, CEA, NSE, albümin, hemoglobin, trombosit ve lökosit sayısı, cisplatin içeren tedavi modeli hastalarda sağkalımı etkileyebilecek diğer önemli prognostik faktörler olduğu vurgulanmıştır (53-55,61).

Küçük Hücreli Akciğer Kanseri(KHAK)'nde de en önemli prognostik faktörler klinik evre ve performans durumu iken KHDAK'yle benzer olarak yaş, cinsiyet, kilo kaybı, albümin, hemoglobin, sodyum, NSE, CEA, CYFRA21-1, LDH, alkalen fosfataz çalışmalarda belirtilen diğer prognostik faktörlerdir (57-61).

Asemptomatik popülasyonda yada sigara içicileri gibi yüksek risk gruplarında akciğer kanseri için tek başına yada kombine olarak kullanılabilir erken tanı için tarama amaçlı tümör belirteci şu ana kadar gösterilememiştir. Tümör belirteçleri sağlıklı kişilerde ve benign hastalığı olanlarda yüksek konsantrasyonlarda ölçülebilmektedir. Ayrıca tümör belirteçleri normal yada az artmış konsantrasyonlarda tümöral hastalığı yada progresyonu ekarte ettirmez. Bu sınırlamalara rağmen akciğer kanserinde ilk tanı anında tümör belirteçlerinin ölçülmesi; prognozun değerlendirilmesi,

operasyon sonrası tedavinin etkinliği ve kalan tümör yükü hakkında bilgi sağlaması, tedavinin monitörizasyonu bakımından yararlı olabilir (61).

Primer akciğer kanserinde tümör belirteçlerinin saptanması için ana endikasyon postoperatif takip, tedavinin etkinliğinin kontrolü ve nüks hastalığının saptanmasıdır (61).

CYFRA 21-1: Sitokeratin fragman 19 olarak da bilinir. KHDAK'nde özellikle yassı epitel alt tipinde en sensitif tümör belirteçidir. Ürolojik, gastrointestinal, jinekolojik kanserlerde, az miktarda çeşitli benign hastalıklarda da serum düzeyleri yükselir. Bu yüzden tarama için kullanılamaz, ancak biyopsi yapılamayan akciğer kitlelerinde ayırıcı tanıda kullanılabilir (61,62).

Son zamanlardaki çalışmalarda erken ve geç evre KHDAK'de bağımsız prognostik faktör olduğu gösterildi. Ayrıca KHAK'nde de prognostik değeri olduğu diğer çalışmalarda gösterilmiştir (61).

İlerlemiş KHDAK'nde özellikle yassı epitel kanserlerde tedavinin izlenmesinde, primer tedavi sonrası nüks hastalığının saptanmasında epeyce potansiyel değeri mevcuttur (61,62).

NSE: Enolaz tüm hücre sitoplazmalarında bulunabilen glikolitik bir enzim olup nöronlarda, nöroendokrin hücrelerde (APUD) ve nörojenik tümörlerde bulunan gama-gama izoenzimine nöron-spesifik enolaz adı verilmiştir (62).

NSE'nin tarama amaçlı kullanımı sensitif yada spesifik değildir. Ancak çalışmaların çoğunda KHAK tanısına yardımda bulunduğu gösterilmiştir. Malignite şüphesi varlığında serum NSE seviyeleri yüksekse (> 100 µg/L) diğer nöroendokrin tümörleri ayırıcı tanıda düşünmek kaydıyla yüksek olasılıkla KHAK'ini işaret eder. NSE'nin ılımlı artmış seviyeleri aynı zamanda

benign akciğer hastalıklarında ve bazı kanserlerde (pankreas, mide, kolorektal, meme) saptanabilir (61).

NSE'nin çokdeğişkenli çalışmalarda KHDAK ve KHAK için prognostik değeri olduğu gösterilmiştir. NSE aynı zamanda primer tedavi sonrası nüks hastalığın saptanmasında olduğu gibi KHAK'de tedavi sonrası izlemde değerli bir belirteçtir (61).

CEA: Hücre yüzey glikoproteinidir. KHDAK'de özellikle adenokarsinom ve büyük hücreli karsinom alt tiplerinde serum konsantrasyonları yükselir. Ancak çeşitli benign patolojilerde ve diğer birçok malignitelerde de artış gösterdiğinden tarama ve tanıda kullanılamaz. KHDAK ayırıcı tanısında CYFRA 21-1 ile kombine edildiğinde faydalı olabilir (61,62).

Özellikle adenokarsinomda prognostik bilgi sağlar. Daha çok ileri evre hastalıkta tedavinin izleminde ve adenokarsinomda nüks hastalığın saptanmasında rolü vardır (61).

Preoperatif 10 ng/ml'den yüksek CEA seviyeleri KHDAK'nde %67 olasılıkla tümör relapsı ile ilişkilidir(64). Bronş adenokarsinomunda artmış serum CEA seviyelerine sahip hastaların sağkalımı normal serum CEA seviyelerine sahip hastalara göre daha düşüktür. Klinik evreden bağımsız olarak serum CEA seviyeleri adenokarsinomda prognostik öneme sahiptir (65).

CA125: Epitel hücreleri tarafından üretilen onkofetal bir antijendir. Over karsinomlu hastaların % 80'inden fazlasında serumda yüksek düzeylerde bulunur. Ancak normal toplumda ve benign hastalıklarda da yüksek serum düzeylerinde saptanabilmektedir (62).

Akciğer kanserli hastalarda kontrollere göre serum CA125 düzeyi daha yüksek saptanırken aynı zamanda bunun kötü prognozu gösterdiğide bildirilmiştir (63).

LDH: Hücre hasarı sonucu artan LDH, beş izoenzimi olan peptit zincirli bir enzimdir (62). Yassı epitel hücreli karsinom, adenokarsinom ve büyük hücreli karsinomda LDH4 izoenzimi artış gösterirken, küçük hücreli karsinomda LDH3 artar (66).

Serum LDH seviyeleri KHAK'de bağımsız prognostik faktör olarak görünmekte olup hastalık evresi, tedaviye yanıt ve sağkalım ile korelasyon göstermektedir (67). KHAK'nde sınırlı hastalıkta tedavi öncesi serum LDH seviyeleri 240 IU/L'nin üzerinde olan hastalar yüksek tümör yüküne sahiptir ve bu yüzden prognoz kötüdür (68). KHDAK'nde de yüksek serum LDH seviyeli hastaların sağkalım süreleri normal serum LDH seviyeli hastalara göre anlamlı oranda kısa olduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur (69).

GEREÇ ve YÖNTEM

Çalışmaya , Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Göğüs Hastalıkları ve Tüberküloz Anabilim Dalı poliklinik ve kliniğine başvuran, klinik ve radyolojik olarak akciğer kanseri ön tanısıyla yapılan, bronkoskopi veya transtorasik biyopsi ile tanısı kesinleştirilmiş 40 primer akciğer kanserli olgu ve 25 sağlıklı kişi alındı. Tüm hastalara çalışma hakkında bilgi verildi ve onayı alınan hastalar çalışmaya dahil edildi. Olgu seçiminde kullanılan dışlama kriterleri aşağıda belirtildiği gibidir:

- Kemoterapi almış olgular
- Radyoterapi uygulanmış olgular
- Akciğer dışı malignitesi olan olgular

Dışlama kriterleri bulunmayan ve araştırmayı kabul eden olgular dahil edilerek çalışmaya başlandı.

Malign gruptaki her olgudan klinikte tanı amaçlı yattıkları dönemde serumda NSE, CYFRA 21-1, CEA, CA 125 ve LDH çalışıldı. Bütün olgular PA akciğer grafisi, toraks tomografisi, metastaz varlığı açısından da kranial magnetik rezonans, batin ultrasonografisi ve kemik sintigrafisi ile değerlendirildiler ve TNM sistemine göre evrelendirildiler.

Malign grupta ve sağlıklı kontrol grubundaki her hastadan 10cc kan örneği alındı ve 3000/dk devirde 15 dakika santrifüj edildi. Santrifüj sonrası elde edilen süpernatantlar ayrılarak VEGF düzeyi ölçmek üzere derin dondurucuda -80 °C'de saklandı. Saklanan serum süpernatantlarından toplu olarak biyokimya laboratuvarında ELİSA yöntemi kullanılarak VEGF düzeyleri ölçüldü.

Serum VEGF Düzeyinin ELİSA Yöntemi ile Ölçümü

Serum VEGF-A düzeyleri Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı'nda Bender Medsystems Human VEGF-A sandviç tipi ELISA kiti (BMS277, Viyana, Avusturya) kullanılarak ölçüldü.

Test Prensipleri

İnsan anti-VEGF-A monoklonal antikorlarıyla kaplanmış kuyucukların üzerine numune eklenerek numune içerisindeki VEGF-A antijenleri ile bağlanma gerçekleştirildi. Bu kuyucukların üzerine, VEGF-A 'yı tanıyan anti-VEGF-A ile konjuge biotin eklenerek inkübe edildi. İnkübasyonu takiben yapılan yıkama işlemi ile bağlı olmayan konjugatlar uzaklaştırılıp kuyucuklara biotin konjugat ile reaksiyon veren HRP (Horse-radish peroksidaz) enzimi ile konjuge edilmiş streptavidin eklendi. Bağlanamayan enzimlerin yıkanarak uzaklaştırılmasını takiben numunedeki VEGF-A miktarı ile doğru orantılı bir şekilde renk oluşturan TMB (tetramethyl-benzidine) substratı ilave edildi. İnkübasyonu takiben oluşan renk reaksiyonu kuyucukların üzerine eklenen asidik çözelti (1M H₂SO₄) ile durdurularak 450nm'de absorbanı ölçüldü. Ölçülen absorban değerleri oluşturulan standart eğri grafiği yardımıyla pikogram değerlerine dönüştürüldü. Böylece numunedeki VEGF-A değerleri kantitatif olarak belirlendi.

Serum NSE, CYFRA21-1,CEA, CA125 ve LDH Düzeyi Ölçümleri

Serum NSE, CYFRA21-1, CEA, CA125, LDH düzeyleri Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Laboratuvarlarında ölçüldü. CYFRA21-1 ve NSE düzeyleri Elecsys 2010 cihazı ile chemiluminescent (kemilüminesan) yöntemiyle, CEA ve CA125 Advia Centaur cihazı ile chemiluminescent

yöntemiyle, LDH Aeroset cihazı ile enzimatik spektrofotometrik yöntemiyle ölçüldü.

İstatistiksel Değerlendirme

Elde edilen veriler Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Bioistatistik Anabilim Dalı'nda Bağımsız Örneklem t-testi, Mann-Whitney testi, Kruskal-Wallis testi, Pearson ki-kare testi, Fisher'in Kesin ki-kare testi, Korelasyon Analizi kullanılarak değerlendirildi. Cut-off değeri ROC analizi kullanılarak hesaplandı. Değerler ortalama \pm SD olarak verildi. $P < 0.05$ anlamlı kabul edildi.

BULGULAR

Araştırmanın amacına uygun kriterlere sahip olan malign gruptan 40, kontrol grubundan 25 olgu çalışmaya alındı. Malign grupta yaş ortalaması 59.30 ± 10.05 , kontrol grubunda yaş ortalaması 55.36 ± 10.41 idi.

Malign grupta 33 erkek (%82.5), 7 kadın (%17.5) olgu, kontrol grubunda 20 erkek (%80), 5 kadın (%20) vardı. Malign grup ile kontrol grubu arasında yaş ve cinsiyet dağılımı açısından anlamlı fark yoktu. Çalışmaya dahil edilen tüm katılımcıların 53'ü (%81.5) erkek, 12'si (%18.5) kadındı.

Malign gruptaki 40 olgunun 26'sı yassı epitel hücreli karsinom, 5'i adenokarsinom, 9'u küçük hücreli karsinomdu. Olgular TNM klasifikasyonuna göre evrelendirildiğinde 8 olgu evre I, 1 olgu evre II, 6 olgu evre IIIA , 7 olgu evre IIIB ve 18 olgu evre IV olarak saptandı. Metastatik olguların 5'i karaciğere, 7'si kemiğe, 6'sı beyine, 4'ü sürrenale ve 2'si karşı akciğere metastaz yapmıştı. Bir olgu karaciğer ve beyine, bir olgu karaciğer ve sürrenale, iki olgu karaciğer ve kemiğe, bir olgu beyin ve sürrenale , bir olgu da beyin ve kemiğe birlikte metastaz yapmış olarak saptandı. Malign ve kontrol grubundaki olguların demografik özellikleri ve tanıları Tablo-5 ve Tablo-6'de görülmektedir.

Tablo – 5: Malign ve kontrol gruplarının demografik özellikleri

	Malign	Kontrol
Yaş	59.30 ± 10.05	55.36 ± 10.41
Cins (K / E)	7 / 33	5 / 20

Tablo – 6: Malign gruptaki hastaların hücre tipleri

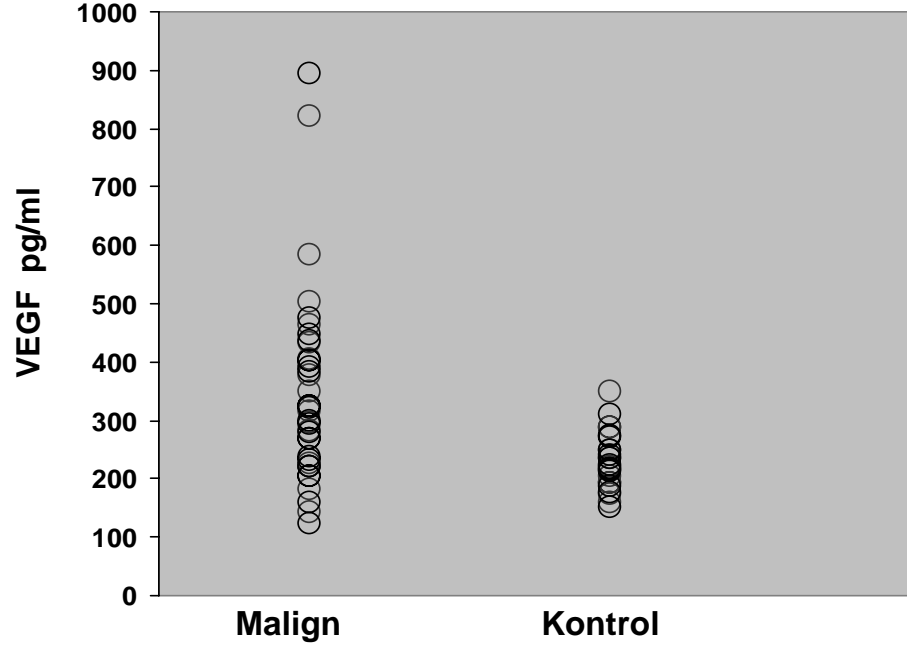
Tanı	Olgu sayısı (%)
Yassı epitel hücreli karsinom	26 (%65)
Adenokarsinom	5 (%12.5)
Küçük hücreli akciğer karsinomu	9 (%23.5)

Serum VEGF Düzeyleri

Malign ve kontrol gruplarında serum VEGF düzeyleri karşılaştırıldı. Malign gruptaki hastaların serum VEGF düzeyleri kontrol grubundaki kişilere göre daha yüksekti. Malign grupta serum VEGF ortalamaları 345.16 ± 159.36 pg/ml, kontrol grupta serum VEGF ortalamaları 230.36 ± 47.87 pg/ml olarak saptandı. Her iki grubun serum VEGF düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark tesbit edildi ($p < 0.001$). Tablo -7 ve Şekil-3'de malign ve kontrol gruplarında serum VEGF ortalamaları ve düzeyleri görülmektedir.

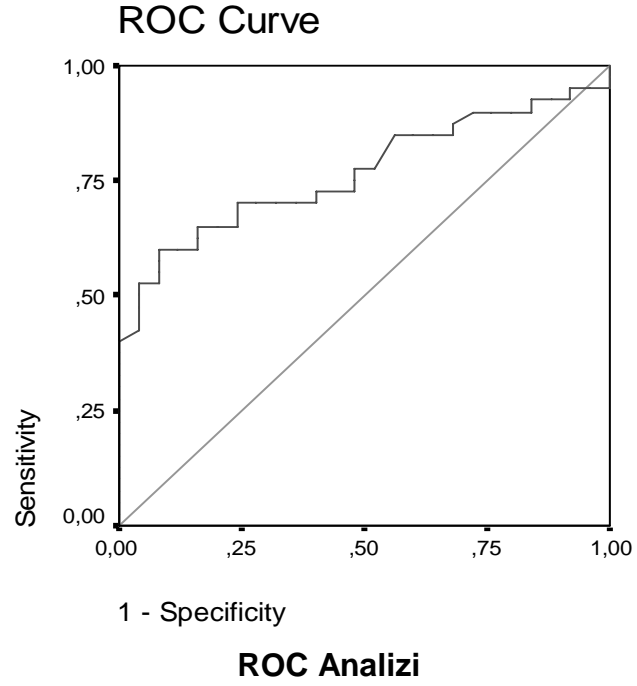
Tablo – 7: Malign ve kontrol gruplarında serum VEGF ortalamaları

	Malign	Kontrol	p
Serum VEGF (pg/ml)	345.16 ± 159.36	230.36 ± 47.87	$p < 0.001$

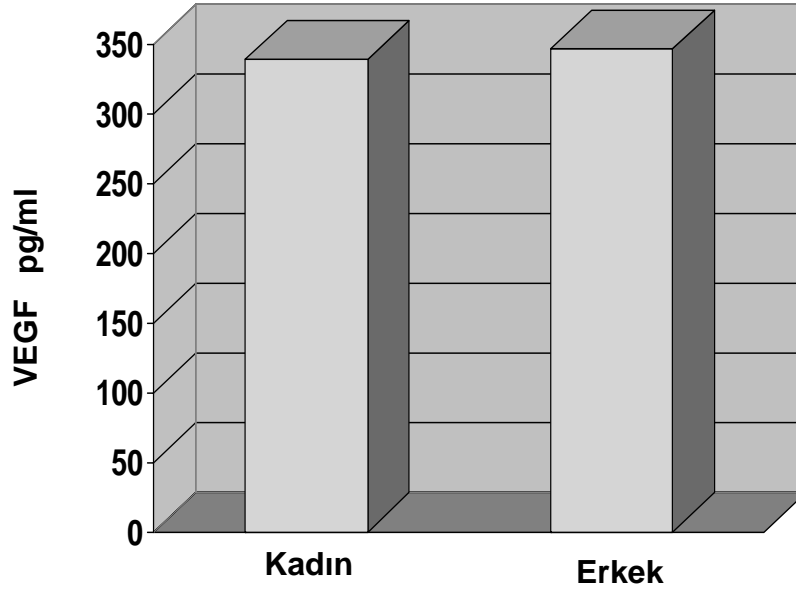


Şekil 3: Malign ve kontrol gruplarında serum VEGF düzeyleri
($p < 0.001$)

Yapılan ROC analizinde VEGF'nin cutt-off değeri 249.86 olarak saptandı. Bu cut-off değerinde ki serum VEGF düzeyi primer akciğer kanseri tanısında %70 sensitif ve %76 spesifik olarak saptandı. Cutt-off değeri 289.12 olarak alındığında sensitivite %60, spesifite %92 olarak hesaplanmıştır.

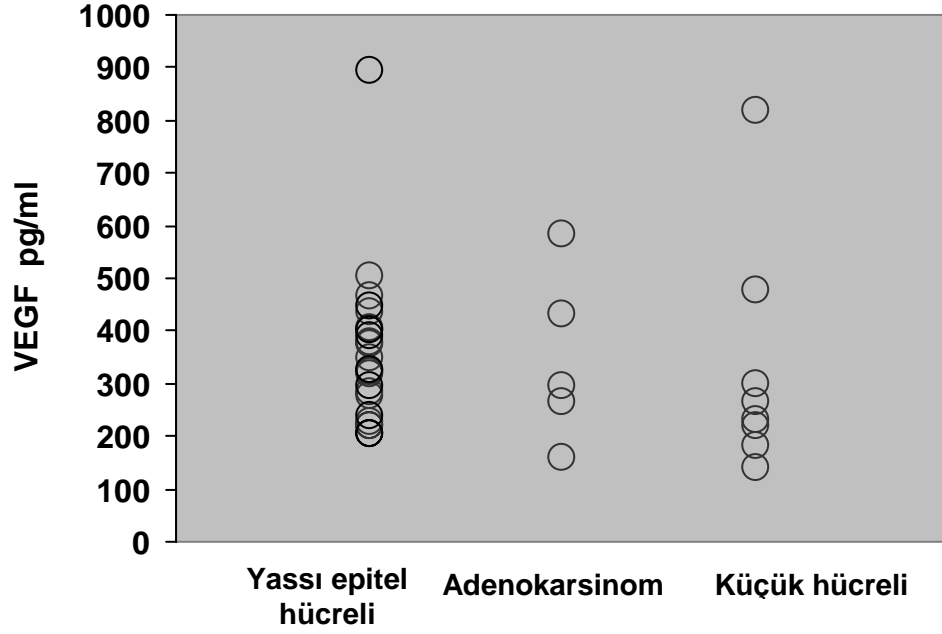


Malign gruptaki olguların serum VEGF düzeyleri cinsiyet açısından karşılaştırıldı. Erkek olgularda (n=33) serum VEGF ortalamaları 346.4 ± 163.5 pg/ml, kadın olgularda (n=7) serum VEGF ortalamaları 339.4 ± 149.6 pg/ml olarak saptandı. Cinsiyet açısından olguların serum VEGF düzeyleri arasında istatistiksel fark saptanmadı ($p=0.945$). Şekil-4'de malign grupta serum VEGF ortalamaları görülmektedir.



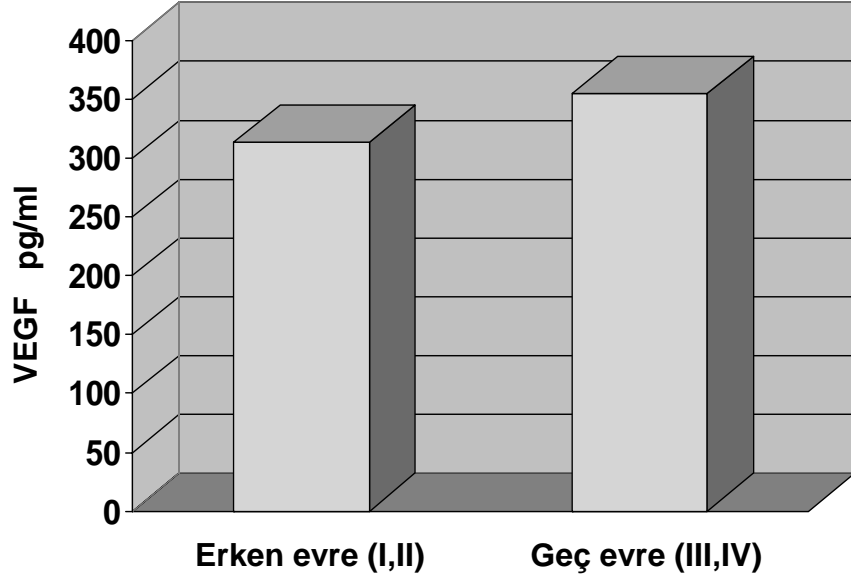
Şekil-4: Malign grupta cinsiyete göre serum VEGF ortalamaları ($p > 0.05$).

Malign gruptaki olguların histolojik tiplerine göre serum VEGF düzeyleri karşılaştırıldı. Yassı epitel hücreli karsinom ($n=26$) grubunda VEGF ortalamaları 347.6 ± 146 pg/ml, adenokarsinom grubunda 348.7 ± 164.2 pg/ml, küçük hücreli akciğer kanseri grubunda 345.1 ± 159.3 pg/ml olarak saptandı. Farklı histolojik tiplerdeki malign hastaların serum VEGF düzeyleri arasında istatistiksel fark saptanmadı ($p > 0.05$). Ayrıca küçük hücreli dışı akciğer karsinomu ($n=31$) ve küçük hücreli akciğer karsinomu ($n=9$) olarak iki grup oluşturulduğunda, KHDAK grubunda serum VEGF ortalamaları 347.7 ± 146.2 pg/ml, KHAK grubunda 336.1 ± 208.6 olarak saptandı. KHDAK ve KHAK grupları arasında serum VEGF düzeyleri arasında istatistiksel fark saptanmadı ($p > 0.05$). Şekil-5'de malign grupta histolojik tiplere göre serum VEGF düzeyleri görülmektedir.



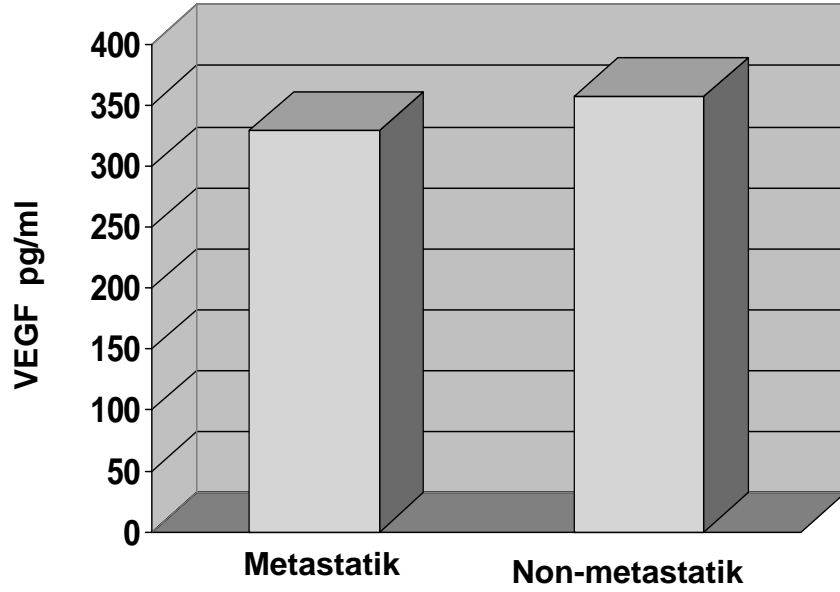
Şekil-5: Malign grupta histolojik tiplere göre serum VEGF düzeyleri.
($p > 0.05$)

Malign gruptaki olguların tümör evresine göre (Evre I,II,IIIA,IIIB,IV) serum VEGF düzeyleri karşılaştırıldı. Evreleme TNM klasifikasyonuna göre yapıldı. Tümör evresine göre serum VEGF düzeyleri arasında istatistiksel fark saptanmadı ($p > 0.05$). Malign gruptaki olgular erken (evre I,II) ve geç (evre III,IV) evre olarak iki gruba ayrılarak serum VEGF düzeyleri açısından karşılaştırıldı. Erken evre grubunda serum VEGF ortalamaları ($n=9$) 313.3 ± 114.3 pg/ml, geç evre ($n=31$) grubunda 354.4 ± 170.3 pg/ml olarak saptandı. Geç evrede serum VEGF düzeyleri erken evreye göre daha yüksek saptandı ancak istatistiksel olarak fark saptanmadı ($p > 0.05$). Şekil-6'da malign grupta erken ve geç evreye göre serum VEGF ortalamaları görülmektedir.



Şekil-6: Malign grupta erken ve geç evreye göre serum VEGF ortalamaları ($p > 0.05$).

Malign gruptaki olgular metastaz varlığına göre serum VEGF düzeyleri açısından karşılaştırıldı. Metastaz yapmış olgularda serum VEGF düzeyleri 329.5 ± 128.5 pg/ml, olmayanlarda 357.9 ± 182.7 pg/ml olarak saptandı. Gruplar arası istatistiksel fark saptanmadı. Olgular metastaz yerine göre değerlendirildiklerinde serum VEGF düzeyleri karaciğer ve kemik metastazı olanlarda, sürrenal, karşı akciğer gibi diğer bölgelere metastaz yapmış olanlara göre daha yüksek saptandı, ancak istatistiksel fark saptanmadı ($p > 0.05$). Şekil-7'de malign grupta metastaz durumuna göre serum VEGF ortalamaları görülmektedir.



Şekil-7: Malign grupta metastaz durumuna göre serum VEGF ortalamaları ($p > 0.05$)

Malign grupta serum VEGF düzeyleri ile diğer belirteçler (NSE, CYFRA 21-1, CEA, CA 125, LDH) karşılaştırıldığında aralarında anlamlı kolerasyon saptanmadı. Bununla birlikte malign grupta serum NSE düzeyleri ile serum CYFRA21-1, CEA, LDH düzeyleri arasında pozitif kolerasyon saptandı (sırasıyla $r= 0.46$, $p < 0.003$, $r= 0.52$, $p < 0.001$, $r= 0.42$, $p < 0.007$). Serum NSE düzeyi yüksek olanlarda serum CYFRA 21-1, CEA ve LDH düzeyleri de yüksek saptandı. Ayrıca serum CEA düzeyleri ile serum CYFRA 21-1 düzeyleri arasında da anlamlı kolerasyon saptandı.

Malign gruptaki olgular KHDAK ve KHAK olarak iki gruba ayrıldığında serum NSE düzeyi ortalamaları küçük hücreli akciğer kanserinde 129.61 ± 139.32 , KHDAK'de ise 39.82 ± 39.95 olarak saptandı. İki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı ($p < 0.05$). Olgular hücre tipine göre alt gruplara ayrıldığında serum CEA ve CA125 düzeyleri adenokarsinomda,

(sırasıyla 174.04 ± 163.76 , 420.32 ± 488.02) yassı epitel hücreli karsinom (sırasıyla 8.74 ± 15.30 , 60.65 ± 103.06) ve küçük hücreli karsinoma (sırasıyla 117.04 ± 334.87 , 163.28 ± 290.85) göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek saptandı (sırasıyla $p < 0.05$, $p < 0.05$).

Geç evre akciğer kanserli olgularda (70.64 ± 89.74) serum NSE düzeyleri erken evre akciğer kanserli olgulara (23.48 ± 16.82) göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek saptandı ($p < 0.05$).

Metastatik primer akciğer kanserli olgularda (n=18) serum NSE, CYFRA21-1 ve LDH düzeyleri (sırasıyla 94.22 ± 110.05 , 8.75 ± 10.21 , 460.27 ± 387.60) metastaz yapmamış olgulara (n=22) (sırasıyla 32.05 ± 26.94 , 3.77 ± 4.52 , 252.54 ± 85.88) göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek saptandı (sırasıyla $p < 0.05$, $p < 0.05$, $p < 0.05$).

TARTIŞMA

VEGF hem fizyolojik hem de patolojik anjiogenezde rol oynar. Embriyogenez ve erken postnatal gelişimde kan damarı oluşumu için esansiyeldir. Tek bir VEGF allelinin silinmesi embriyo ölümü ile sonuçlanır. Erken postnatal gelişimde 1. ve 8. günden itibaren VEGF inhibisyonu, büyümenin durmasını takiben çoğunlukla glomerüler gelişimin süpresyonu sonucu renal yetmezlik ile ölüme neden olmaktadır (70,71,72). VEGF kemik büyümesinde kondrosit ölümü, kondroblast fonksiyonu, ekstrasellüler matriks remodelingi, anjiogenez ve kemik formasyonu için esansiyeldir (73). VEGF'nin aynı zamanda korpus luteum matürasyonu ve uterus anjiogenezinde (74) yara iyileşmesinde (75) yara yerinde yeni damarların oluşmasında önemli etkileri vardır.

VEGF'nin fizyolojik anjiogenezde erişkindeki rolü sınırlıdır. Ancak VEGF'nin patolojik durumlara neden olma ve buralarda rol alma potansiyeli bulunmaktadır. Birçok hastalığa önemli katkılarda bulunmaktadır. Retinopatiler, psöriyazis, astım, inflamatuvar barsak hastalıkları, alerjik dermatit, nazal polipler, endometriyozis, artrit, beyin ödemi gibi birçok hastalıkta önemli rol oynar (21). Bununla birlikte VEGF'nin en iyi araştırıldığı hastalık kuşkusuz kanserdir. Birçok solid organ tümörü tipinde dokularda ve dolaşımda VEGF ekspresyonu artmıştır (76,77). Bunlar arasında meme (78,79) gastrointestinal sistem (80,81,82), baş- boyun (83), malign melanom (84), böbrek ve mesane (85), over (86), serviks (87), santral sinir sistemi (88), karaciğer (89) kanserleri vardır. Lösemi, lenfoma, multipl myeloma gibi hematolojik malignitelerde de VEGF eksprese olmaktadır (90,91).

VEGF'nin tümör hücreleri tarafından, oksijen ve besin kaynağını sağlayacak yeni kan damarları gerekliliğinden dolayı başlıca hipoksi olmak üzere birçok onkojen ve tümör süpresör genleri tarafından aşırı ekspresyonu anjiogenezini uyararak tümörün kontrol dışı yayılmasını sağlamaktadır.

Akciğer VEGF açısından zengin bir dokuya sahiptir. Birçok farklı akciğer hücresi (bronşial mukoza, bronş düz kas hücresi, tip 2 pnömosit, alveoler makrofaj) VEGF üretir ve ona yanıt oluşturur. Bu protein akciğer dokusu gelişimi için kritik bir öneme sahiptir ve erişkin yaşamda da fonksiyonlarının devamını sağlar. Akciğer kanserinin yanısıra bazı akut ve kronik akciğer hastalıklarında da (akut akciğer hasarı, ağır pulmoner hipertansiyon, amfizem gibi) rol oynar (92). Kanazawa ve ark'ları (93) amfizemli hastalarda indükte balgamda VEGF düzeylerini kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düşük saptarken bir anjiogenez inhibitörü olan endostatin iki grup arasında anlamlı fark göstermemiştir. Böylece amfizemli hastalarda indükte balgamda VEGF ve endostatin seviyeleri arasında dengesizlik olduğu ortaya konulmuştur. Kranenburg ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada (94) KOAH'lı hastalarda bronşial VEGF ekspresyonu, olmayanlara göre daha düşük saptanmış olup FEV1 değerleri ile zıt korelasyon bulmuşlardır. Bu sonuçlarla VEGF ve reseptörlerinin periferik vasküler ve hava yolu remodelinginde gerekli olabileceği sonucuna varılmıştır.

Akciğer kanserinde birçok çalışmada VEGF'nin hem serum konsantrasyonlarında (95,100,106-108,113,128), hem de dokudaki ekspresyonunda (96,99,101-106,124-127), hatta hava yollarında (97) (bronkoalveoler lavaj sıvısında) artış olduğu gösterilmiştir. Ayrıca VEGF düzeyi kanser vakalarındaki kadar olmasada benign akciğer hastalıklarında da artmaktadır. Çalışmamızda da akciğer kanserli grupta serum VEGF düzeyleri kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek saptanmıştır.

Kishiro ve ark'larının (95) tedavi edilmemiş ileri evre akciğer kanseri, tedavi edilmiş akciğer kanseri, benign akciğer hastalığı ve kontrol olguları içeren dört ayrı gruplu çalışmalarında; tedavi edilmemiş ileri evre akciğer kanserli hastaların serum VEGF düzeyleri diğer gruplarla karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı yüksek saptanmıştır. Bu çalışmada dikkati çeken bir sonuç tedavi almış akciğer kanserli olguların serum VEGF düzeyleri ile

sağlıklı kontrol grubunun VEGF düzeyleri arasında anlamlı fark saptanmamıştır. Ayrıca kemoterapi ile kısmi yanıt alınmış bir olguda üç ay sonra nüks ile birlikte serum VEGF düzeyinin arttığı görülmüştür. Bu bulgular serum VEGF düzeylerinin ileri evre akciğer kanserini erken evreden ayırmada histolojik tipe (KHAH, KHDAK) bakılmaksızın iyi bir markır olabileceğini göstermektedir.

Baillie ve ark'ları (96) 81 KHDAK'li hastanın tümör dokusunda ve komşu akciğer dokuda VEGF ekspresyonunu bütün hastalarda göstermişlerdir. Ohta ve ark'larının (97) akciğer kanserli hastalarda bronkoalveoler lavaj (BAL) ve serum VEGF düzeylerini ölçerek yaptıkları çalışmada; BAL sıvısındaki VEGF konsantrasyonları kanserli hastalarda, kanser dışı akciğer hastalığı olanlara göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek saptanmıştır. Bu çalışmada yaş, cinsiyet, lokalizasyon, histoloji ve tümör boyutu VEGF seviyelerini etkilemezken, birçok çalışmanın aksine uzak metastaz ve lenf nodu tutulumu ile VEGF seviyeleri arasında zıt ilişki saptanmıştır.

K-ras onkogeninin mutasyonlar ile aktivasyonu, tümör supresör gen olan p53'teki anormallikler akciğer kanserlerinde karsinogenezde sıklıkla gözlenmektedir (98). Kong ve ark'larının (99) mikrodamar değeri, K-ras ekspresyonu, mutant p53 proteini ve VEGF ekspresyonunu değerlendirdikleri çalışmalarında; VEGF ekspresyonu %88 hastada pozitif saptanmıştır. Mikrodamar değeri, VEGF (+) olan tümörlerde daha yüksek bulunmuş, VEGF ekspresyonu K-ras(+) yada mutant p53(+) tümörlerde daha yüksek saptanmıştır. Bu sonuçlar VEGF'nin karsinogenezdeki önemine işaret etmektedir.

Çalışmamızda serum VEGF düzeyleri ile cinsiyet, hücre tipi, klinik evre ve uzak metastaz arasındaki ilişki değerlendirildi. Cinsiyet ve farklı hücre tiplerinde serum VEGF düzeyleri arasında istatistiksel fark saptanmadı. Daha önce yapılmış çalışmalarda, serum VEGF konsantrasyonları ve tümör

dokusunda VEGF ekspresyonu ile tümörün histolojik tipi arasındaki ilişki hakkında farklı değerlendirmeler mevcuttur. Kaya ve ark'larının (100) 23'ü operabl, 52'si inoperabl olan 75 KHDAK'li hastalarda yaptıkları çalışmada; serum VEGF düzeyleri operabl grupta düşük saptanmıştır. Evre ve tümör büyüklüğü ile serum VEGF düzeyleri arasında pozitif korelasyon varken, histolojik gruplar arasında fark bulunamamıştır. Yine Marrogi ve ark'larının (101) yaptığı çalışmada tümör dokusunda VEGF ekspresyonu ile histolojik tip arasında ilişki saptanamamıştır. Nakashimo ve ark'larının (102) yaptığı çalışmada da; intratümöral VEGF ekspresyonu ile histolojik tip arasında korelasyon saptanmazken VEGF pozitif adenokarsinomlularda lenf nodu metastazı ve hipervasküler tümör sıklığı anlamlı yüksek saptanmıştır. Sağkalım VEGF pozitif adenokanserlilerde daha kısa izlenmiştir.

VEGF ile histolojik tip arasında ilişki saptamayan çalışmalar olduğu kadar VEGF ekspresyonu ile histolojik tip arasında ilişkinin saptandığı çalışmalarda mevcuttur. Imoto ve ark'larının (103) tümör dokusunda VEGF ve mikrodamar değerini analiz ettikleri, ayrıca serum VEGF konsantrasyonlarını ölçtükleri çalışmalarında; VEGF ekspresyonu ve özellikle mikrodamar değerleri adenokarsinomlularda daha yüksek saptanmıştır. Bu çalışmada ayrıca mikrodamar değerleri lenf nodu metastazı olanlarda, serum VEGF düzeyleride T3-4 hastalıkta daha yüksek saptanmıştır. Shijubo ve ark'larının (104) çalışmasında da VEGF ve osteopontin eksprese eden adenokarsinomlu olgularda mikrodamar değerleri yassı epitel hücreli olguların aksine daha yüksek saptanmıştır. Bu bulgular adenokarsinom alt tipinin daha hipervasküler olduğunu ve angiogenik potansiyelinin yüksek olduğunu göstermektedir.

Klinik evre, akciğer kanserinde en önemli prognostik faktördür. Çalışmamızda serum VEGF düzeyleri ile klinik evre arasındaki ilişki değerlendirildi. İleri evre (III,IV) kanserli olgularda serum VEGF seviyeleri erken evre (I,II) olgularına göre daha yüksek saptandı ancak istatistiksel fark bulunamadı. Yapılan çalışmalarda çalışmamızı destekleyen bulgular saptansa da çoğu çalışmada serum VEGF düzeyleri ile yada VEGF'nin doku

ekspresyonu ile evre progresyonu arasında pozitif korelasyon bulunmuştur. Tokohama ve ark'ları (105) 148 KHDAK'li hastanın 108'inde (%73) kanser dokusunda VEGF ekspresyonu göstermelerine karşın tümör büyüklüğü ve patolojik evre arasında korelasyon saptayamamışlardır. Yine Demirkazık ve ark'larının (106) çalışmasında serum VEGF seviyeleri ile evre ve nodal durum arasında korelasyon saptanamamıştır. Çalışmamızda serum VEGF düzeyleri ileri evre (III,IV) kanserli olgularda erken evre (I,II) olgularına göre daha yüksek saptanmıştır, ancak istatistiksel fark bulunamamıştır. İstatistiksel fark saptanamamasının nedeni olgu sayısının azlığı veya malign grubun heterojen olmasından kaynaklanabilir. Ayrıca bu durum VEGF'nin dokuda eksprese olmasına rağmen serumda erimiş seviyelerinin yetersiz olmasına da bağlı olabilir. Matsuyama ve ark'larının çalışmasında (107) evre progresyonu ile serum VEGF, TAT (trombin antitrombin kompleksi), D Dimer, tPA/PAI (doku plazminojen aktivatörü/plazminojen aktivatör inhibitör tip I) seviyeleri arasında anlamlı pozitif korelasyon saptanmıştır. Yine Laeek ve ark'larının (108) çalışmasında; MMP-9 (matriksmetalloproteinaz-9) ve VEGF seviyeleri ile evre arasında , ayrıca serum VEGF seviyeleri ile tümör boyutu arasında pozitif korelasyon saptanmıştır. Tümör dokusu rezeke edilmiş, MMP-9 ve serum VEGF düzeyleri düşük evre I/II olgularda sağkalım daha uzun bulunmuştur.

Kanser tanısı konulduğunda en acil soru hastalığın bölgesel lenf nodu ve uzak organlara metastaz yapıp yapmadığıdır. Bilindiği gibi kanser tedavisinin en etkin yolu erken evre kanserin cerrahi olarak çıkarılmasıdır. Erken tanı, cerrahi teknikler, genel hasta bakımı, lokal ve sistemik adjuvan tedavilerdeki gelişmelere rağmen, kanser ölümlerinin çoğu tedaviye dirençli metastazlardan kaynaklanmaktadır. Metastazların cerrahi, radyoterapi ve kemoterapötikler ile tamamen eradikasyonu neredeyse imkansız olup günümüzde kanser tedavisinin en önemli sorununu oluşturmaktadır. Yoğun neovaskülarizasyon metastatik hastalığın bağımsız belirleyicisidir (109). Akciğer kanserinde metastatik hastalıkta angiogenezin dolayısıyla VEGF'nin rolünü ortaya koyan birçok deneysel ve klinik çalışma mevcuttur.

Çalışmamızda olgularımızın yaklaşık yarısı metastatik olmasına rağmen metastazı olan olgularda ilginç olarak serum VEGF düzeyleri daha düşük saptanmıştır. Ancak istatistiksel fark bulunamamıştır. Maniwa ve ark'larının (110) yaptıkları deneysel çalışmada; farelere akciğer kanseri hücreleri verilerek hematojen akciğer metastazı sağlanmış. Akabinde akciğer rezeksiyonu yapılan olgularda erken nüks gelişen farelerde bu duruma VEGF'nin akciğerdeki mikro metastazların büyümesine neden olarak yol açtığı gösterilmiştir. Yapılan diğer çalışmalarda cerrahi sonrası lokal nüks veya uzak metastaz gelişen olgularda angiogenезin yoğun olduğu gösterilmiştir (111,112). Brattström ve ark'larının (113) yaptıkları çalışmada; operabl KHDAK'li hastalarda preoperatif artmış serum VEGF seviyeleri ile tümör volümü, yüksek relaps riski ve azalmış sağkalım arasında pozitif korelasyon saptanmıştır.

Çalışmamızda, yapılan ROC analizi ile serum VEGF konsantrasyonu eşik değeri 249,8 pg/ml olarak saptandı. Bu eşik değerinde serum VEGF düzeyi primer akciğer kanseri tanısında %70 sensitif ve %76 spesifik olarak saptanmıştır. Eşik değeri 289.2 olarak alındığında sensitivite %60, spesifite %92 olarak hesaplanmıştır. Hasegawa ve ark'larının (114) yaptığı çalışmada KHAK'de serum VEGF düzeyinin tümör belirteci olarak eşik değeri 500 pg/ml olarak alındığında %31 sensitivite, %97 spesifite saptanmıştır.

Bütün bu çalışmalar ışığında görülmektedir ki anjiogenез solid tümörlerin büyüme, metastaz yapma ve progresyonunda önemli rol oynar. Angiogenез sürecinde şu ana kadar daha önce değinildiği gibi birçok angiogenik ve anti-angiogenik faktör tanımlanmıştır. Ancak bunlar arasında endotel hücrelerine spesifik olan VEGF angiogenез kontrolünde anahtar rol oynar (115). Her ne kadar oluşan yeni damarlar anormal olsada anti-VEGF terapilerin tümör büyümesi üzerindeki inhibitör etkileriyle de gösterildiği gibi bu yeni oluşan damarlar tümör büyümesi ve metastaz için esansiyeldir. VEGF'nin tümör sağkalımı ve büyümesi yönünden önemli olabilecek ilave aktiviteleri de vardır. Bunlar; VEGF tümör hücreleri için anti-apoptotiktir (116),

damar permeabilitesini arttırarak interstisyel basıncı yükseltir, böylece tümör hücrelerinin kan dolaşımına girişini kolaylaştırarak metastaz olasılığını arttırır (117), artmış interstisyel basınç nedeniyle kemoterapötiklerin penetrasyonunu azaltır, radyoterapiye direnç oluşturur (118), anti-tümör immün yanıtı süprese eder (119). VEGF'nin bütün bu fonksiyonları onu anti-tümör tedavide hedef protein haline getirmiştir. Anti-VEGF tedaviler ile vaskülojenik blok sağlanabildiğini gösteren Sandler ve ark'larının (120, 121) 99 ileri evre (IIIB,IV) KHDAK'li hastayı içeren çalışmalarında; standart tedaviye (karboplatin + paklitaksel) ek olarak avastin (VEGF'ye karşı monoklonal antikor) verilen grupta tek başına kemoterapi alan gruba göre sağkılımda uzama ve istatistiksel olarak anlamlı olmayan tedaviye yanıtta artış saptanmıştır. Ayrıca Victoria ve ark'ları (122) hücre kültürü ile yaptıkları çalışmada; embriyonik kök hücrelerde bir yada her iki VEGF-A allelinin silinmesi vaskülogenez sırasında endotel hücrelerinin çoğalma ve farklılaşmalarının durduğunu göstermiştir.

Akciğer kanserinde başta hastalık evresi ve performans durumu olmak üzere kilo kaybı, NSE, CYFRA21-1, CEA, LDH gibi birçok prognostik faktör mevcuttur (123). VEGF'nin de bir prognostik faktör olarak kullanılabilmesine dair literatürde birçok çalışma mevcuttur (102,103, 108, 113, 124-126). Masuya ve ark'larının (123) yaptıkları çalışmada; VEGF ve IL-8'in intratümöral ekspresyonunun angiogenez ile korele olduğu ve bu durumun prognozu anlamlı düzeyde etkilediği ortaya konulmuştur. Mineo ve ark'larının (125) çalışmasında da mikrodamar yoğunluğu, tümör damar invazyonu ve VEGF ekspresyonu sağkılımlı belirleyen önemli faktörler olarak saptanmıştır.

Bazı kanserlerin aksine, akciğer kanseri için organ-spesifik yada ideal bir tümör belirleyicisi henüz saptanamamıştır. Sensitivitesi (duyarlılık) ve spesifitesi (özgüllük) yüksek bir tümör belirleyicisi veya kombinasyonu akciğer kanserli hastalara daha erken tanı konulmasını sağlayabilir ve tedavi başarısını arttırabilir. Birden fazla belirleyicinin eşzamanlı kullanılmasının yararlılığı önemli bir inceleme konusudur (130). Bizde çalışmamızda serum

VEGF seviyeleri ile serum NSE, CYFRA21-1, CEA, CA125 ve LDH seviyeleri arasındaki ilişkiyi değerlendirdik. Serum VEGF ile diğer belirteçler arasında anlamlı korelasyon saptanmadı. Bu konuda yapılmış az çalışma mevcuttur. Bu çalışmalardan birinde KHAK'li olgularda serum VEGF düzeyleri ile serum LDH seviyeleri arasında pozitif korelasyon saptanmışken serum NSE düzeyleri ile korelasyon saptanamamıştır (114). Mall ve ark'larının (129) KHAK'li hastalarda yaptıkları çalışmalarında; serum VEGF seviyelerinin tümör evresi ile serum NSE, LDH ve albümin seviyelerine göre daha iyi korele olduğu gösterilmiştir. Bu konu ile ilgili daha fazla çalışmaya ihtiyaç olduğu görülmektedir.

Çalışmamızda serum NSE düzeyleri ile CYFRA21-1, CEA, LDH serum seviyeleri arasında, ayrıca serum CEA seviyeleri ile serum CYFRA21-1 seviyeleri arasında pozitif korelasyon saptandı. KHAK'nde serum NSE seviyeleri, adenokarsinomda ise serum CEA ve CA125 seviyeleri istatistiksel olarak anlamlı yüksek saptandı. Serum NSE seviyeleri aynı zamanda ileri evre akciğer kanserlilerde ve metastatik olanlarda anlamlı yüksek saptandı. Ayrıca metastatik akciğer kanserli olgularda serum CYFRA21-1 ve LDH seviyeleri yüksek saptandı.

Literatürde tümör belirteçleri ile ilgili birçok çalışma mevcuttur. Elde ettiğimiz sonuçlar genelde literatür bilgileri ile uyumlu görünmektedir.

Çalışmamızda olduğu gibi serum NSE seviyeleri akciğer kanserlerinde özellikle KHAK'de artmaktadır. Artmış serum NSE seviyelerinin hem KHAK'de hem de KHDAK'de prognostik değeri vardır. Serum NSE seviyelerinin takibi özellikle KHAK'li olguların tedavi sonrası izleminde faydalıdır (61). Fukasawa ve ark'larının (130) akciğer kanserinde serum NSE ve CEA düzeylerini değerlendirdikleri çalışmalarında; serum NSE düzeyleri KHAK'de diğer histolojik tiplere göre daha yüksek saptanmıştır. Evre ilerledikçe serum NSE ve CEA düzeylerinin yüksek saptanma oranı çalışmamızda olduğu gibi artış göstermiştir. Ayrıca cerrahi tedavi sonrası her

iki belirtecinde serum düzeylerinde azalma olduğu, kalan tümör yükünü ise CEA'in NSE'ye göre daha iyi yansıttığı gösterilmiştir.

Eğer serum NSE düzeyleri çok yüksekse ($> 100 \mu\text{g/L}$) ayırıcı tanıda KHAK ve diğer nöroendokrin tümörler ciddi olarak düşünülmelidir. Satoh ve ark'larının (132) çalışmalarında; serum NSE düzeylerinin 14.5 ng/ml cut-off değerinde KHDAK'nde %35.8, KHAK'de %83 oranında artmış olduğu gösterilmiştir. KHDAK'li hastaların %95'inin serum NSE düzeyleri 20.5 ng/ml 'nin altında saptanmıştır ve eğer 70 ng/ml 'nin üzerinde bir değer saptanırsa tümörün patolojik özelliklerinin nöroendokrin farklılaşma açısından incelenmesi önerilmiştir. Bonner ve ark'larının (133) çalışmasında; KHAK'de tedavi öncesi ve tedavi sırasındaki serum NSE düzeyleri progresyon ve sağkalım için bağımsız risk faktörü olarak gösterilmiştir.

CYFRA21-1 KHDAK'nde özellikle yassı epitel hücreli kanserlerde en sensitif tümör belirtecidir. Özellikle ilerlemiş yassı epitel hücreli kanserlerde tedavinin izlenmesinde yararlıdır. Ancak çalışmamızda serum CYFRA21-1 düzeyleri histolojik tipler arasında farklılık göstermedi. CYFRA21-1 KHDAK'nde bağımsız prognostik faktördür (61). Vollmer ve ark'larının (134) KHDAK'li hastalarda yaptıkları çalışmada; ileri evre akciğer kanserli hastalarda tedavi öncesi serum CYFRA21-1 düzeylerinin klinik evreden daha çok prognostik bilgi sağladığı gösterilmiştir. Bir kür kemoterapi ile serum düzeylerindeki %27'lik azalma ile ek prognostik bilgi sağladığı gibi kemoterapiye erken yanıtı değerlendirdiği de gösterilmiştir. Ancak serum CYFRA21-1 düzeyleri ile klinik evre ve tümör histolojisi arasında ilişki saptanmamıştır. Ando ve ark'larının (135) KHDAK'li hastalarda mediastinoskopi endikasyonu için tümör belirteçlerinin önemini araştırdığı çalışmada; CEA'in diğerlerine üstünlüğü olmakla beraber, CYFRA21-1, CA125 ve progastrin-releasing peptide (Pro-GRP)'in serum seviyelerinin N_2 hastalığı saptamada tomografiye ek olarak ve mediastinoskopi endikasyonu için kullanılabileceği gösterilmiştir.

CEA'in, KHDAK'nde özellikle adenokarsinom ve büyük hücreli karsinomda serum konsantrasyonları yükselir. KHDAK ayırıcı tanısında CYFRA21-1 ile kombine edildiğinde faydalıdır. Özellikle adenokarsinomda prognostik bilgi sağlar (61). Çalışmamızda da serum CEA düzeyleri adenokarsinomlu hastalarda yüksek saptandı. Ayrıca serum CEA düzeyleri ile serum CYFRA21-1 düzeyleri arasında korelasyon saptandı. Son zamanlarda operabl KHDAK'li hastalarda serum CEA düzeylerinin cerrahi tedavi öncesi N₂ hastalığı saptamadaki değerini araştıran ve tedavi öncesi serum CEA düzeylerinin cerrahi sonrası sağkalım üzerine etkilerini değerlendiren çalışmalar yapılmıştır (136,137,138,139). Takamochi ve ark'larının (136) çalışmasında; serum CEA konsantrasyonları ve maksimum tümör boyutu N₂ hastalığın belirlenmesinde tomografideki lenf nodu boyutuna göre daha değerli bulunmuştur ve CEA konsantrasyonları $\geq 5\text{ng/ml}$ ve maksimum tümör boyutu $\geq 20\text{mm}$ olması mediastinoskopi endikasyonu olarak kabul edilmiştir. Okada ve ark'ları (137) KHDAK'nde preoperatif yüksek CEA seviyelerine sahip hastalarda sağkalımın daha kısa olduğunu ve perioperatif CEA düzeylerinin ölçümünün yüksek riskli grubu saptamada değerli bilgiler verdiğini ortaya koydular. Okada ark'larının (138) diğer bir çalışmasında; evre I KHDAK'li hastalarda serum CEA düzeyleri adenokarsinom alt tipinde daha yüksek saptanmıştır ve adenokarsinomlu hastaların serum CEA düzeylerinin prognostik değeri daha yüksek bulunmuştur. Bu çalışmaların aksine Veronesi ve ark'ları (140) tümör dokusunda CEA pozitifliği olan yassı epitel hücreli karsinomlu hastalarda sağkalımı daha iyi saptadılar.

LDH akciğer kanserinde, özellikle KHAK'nde çalışmalara sıklıkla konu olmuş bir tümör belirteçidir. Çalışmamızda metastatik akciğer kanserli hastalarda yüksek saptandı ancak histolojik tipler arasında fark gösterilemedi. Bir çok çalışmada (53, 54, 56, 57, 67-69, 141,142) KHAK ve KHDAK'nde prognostik değerine ve sağkalım üzerine etkilerine işaret edilirken, bazı çalışmalarda (143, 144) akciğer kanseri ile ilişkisi gösterilememiştir. Özkan ve ark'larının (145) çalışmasında; kemik iliği

metastazı olan KHAK'li olgularda prognozun kötü olduğu ve LDH ile alkalin fosfatazın kemik iliği metastazını göstermede yüksek sensitivite ve spesifiteye sahip olduğu gösterilmiştir.

Sonuç olarak solid tümörlerin büyüme, metastaz yapma ve progresyonunda mutlak gerekli olan angiogenez sürecinde şu ana kadar tariflenen anjiogenik faktörlerden endotel hücrelerine spesifik olan VEGF anahtar rol oynamaktadır. Akciğer kanserli hastalarda VEGF'nin serum konsantrasyonu ve tümör dokusunda ekspresyonu artış göstermektedir. Çalışmamızda akciğer kanserli hastalarda serum VEGF düzeyleri kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulunurken malign grupta serum VEGF düzeyleri ile klinik evre ve uzak metastaz arasında ilişki saptanamamıştır. Bununla birlikte birçok çalışmada dolaşımdaki VEGF düzeylerindeki artışın tümör yükü ve metastatik hastalıkla, hastalık prognesyonuyla, cerrahi sonrası nüksle ve sağkalımla korele olması serum VEGF düzeylerinin tanı anında ölçülmesinin değerini vurgulamaktadır. Ayrıca VEGF'nin yukarıda sayılan özelliklerine ek olarak anti-apoptotik olması, kemoterapötiklerin penetrasyonunu azaltması, radyoterapiye direnç oluşturması ve anti-tümör immün yanıtı süprese etmesi gibi özellikleri anti-tümör tedavide onu hedef protein haline getirmiştir. Akciğer kanseri tedavisinde anti-angiogenik tedavilerin başarı ve etkinliğini arttırmak için VEGF, anti-VEGF ve diğer anjiogenik faktörler üzerinde daha fazla çalışmalar yapılmalıdır. Böylece tümör tedavisinde özellikle prognozu oldukça kötü olan akciğer kanseri tedavisinde önemli gelişmeler sağlanabilecektir.

KAYNAKLAR

1. World Health Organization. Tobacco or health: A global status report. Geneva: World Health Organization 1997;10-18.
2. Kaynar H, Akgün M, Görgüner M, Sağlam L, Mirici A. Göğüs hastalıklarında mortalite: Toraks Dergisi 2003; 4:143-150.
3. Bozkurt B, Selçek T, Fırat P, Kalyoncu AF, Artvinli M. 1972-2002 döneminde Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi'nde akciğer kanseri tanısı konulan hastaların histolojik ve epidemiyolojik değerlendirmesi. Toraks Dergisi 2004; 5: 148-53.
4. Postmus PE. Epidemiology of lung cancer. In Fishman AP, Elias JA, Fishman JA et al. eds. Fishman's pulmonary diseases and disorders, 3rd ed. New York, Mc Graw Hill Company 1998;1707-17.
5. Halilçolar H, Tatar D, Ertuğrul G ve ark. Epidemiyoloji. Akkoçlu A, Öztürk C. Akciğer kanseri multidisipliner yaklaşım: Toraks Kitapları Sayı:1 Bilimsel Tıp Yayınevi, Ankara 1999: 7-14.
6. Yurdakul AS, Çalışır HC, Demirag F, Toci N, Öğretensoy M. Akciğer kanserinin histolojik tiplerinin dağılımı. Toraks Dergisi 2002; 3: 59-65.
7. Kanser Bildirimlerinin Değerlendirilmesi. 1993-1994. T.C. Sağlık Bakanlığı Kanser Savaş Dairesi Başkanlığı, Yayın No: 582, Ankara 1997: 54-66.
8. Köktürk N, Kırıçoğlu CE, Öztürk C. Akciğer kanseri moleküler biyolojisi. Solunum 2003; 5: 127-138.
9. Kırıçoğlu CE, Öztürk C, Köktürk N. Küçük hücreli dışı akciğer kanserinde epidermal büyüme faktörü reseptörü ve inhibitörlerinin yeri. Solunum 2003; 5: 146-152.
10. Carmeliet P. Mechanisms of angiogenesis and arteriogenesis. Nat Med 2000; 6: 389-95.
11. Nguyen LL, D'Amero PA. Cellular interactions in vascular growth and differentiation. Int Rev Cytol 2001; 204: 1-48.
12. Jain RK. Molecular regulation of vessel maturation. Nat Med 2003; 9: 685-93.
13. Galligioni E, Ferro A. Angiogenesis and antiangiogenic agents in non-small cell lung cancer. Lung Cancer 2001; 34: 3-7.

14. Bates DO, Hillman NJ, Neal CR, Pocock TM. Regulation of microvascular permeability by vascular endothelial growth factors. *J Anat* 2002; 200: 581-97.
15. Yano S, Nishioka Y, Goto H, Sone S. Molecular mechanisms of angiogenesis in non-small lung cancer, and therapeutics targeting related molecules. *Cancer Sci* 2003; 94: 479-485.
16. Beck L Jr, D'Amore PA. Vascular development: cellular and molecular regulation. *FASEB J.* 1997; 11; 365-373.
17. Carmeliet P. VEGF as a key mediator of angiogenesis in cancer. *Oncology.* 2005; 69: 4-10.
18. Yılmaztepe A. Akciğer kanserlerinde VEGFR-1 ve TRAIL-1 ekspresyonları ile solubl VEGFR-1 düzeylerinin tedaviye yanıtla ilişkilerinin incelenmesi. Uzmanlık Tezi, Bursa, 2004.
19. Carmeliet P. Angiogenesis in life, disease and medicine. *Nature* 2005; 438 : 932-6.
20. Ferrara N, Gerber HP, LeCouter J. The biology of VEGF and its receptors. *Nature Medicine* 2003; 9: 669-676.
21. Carmeliet P. Angiogenesis in health and disease. *Nat Med.* 2003; 9: 653-60.
22. Özçelik T, Ali R, Özkalemkaş F, Özkocaman V, Ozan Ü, Öztürk H, Tunalı A. Akut lösemili hastalarda anjiogenezin değerlendirilmesi. *Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi* 2003; 2: 1-6.
23. Folkman J. Antiangiogenic therapy. In: Devita VT, Hellman S, Rosenberg SA (eds). *Cancer Principles & Practice of Oncology*, Fifth edition. Philadelphia, Lipincott-Raven Publishers; 1997: 3075-85.
24. Le Querrec A, Duval D, Tobelem G. Tumour angiogenesis. *Baillieres Clin Haematol* 1993; 6: 711-30.
25. Yano S, Sone S. Role of angiogenesis in lung cancer and its metastases. *Gan To Kagaku Ryoho* 1999; 26: 2131-8.
26. Özuysal S. Tümöral anjiogenezis. *Türk Patoloji Dergisi* 2001;17: 90-93.
27. Güllü İ. Anjiogenez ve antianjiogenez tedavileri. XIII TPOG Ulusal pediatrik kanser kongresi, non-hodgkin lenfoma. 18-22 Mayıs 2004.

28. Sherherd FA, Sridhar SS. Angiogenesis inhibitors under study for the treatment of lung cancer. *Lung cancer* 2003; 41: 63-72.
29. Yazır Y, Gonca S, Filiz S, Dalçık H. Endotel hücreleri için önemli bir protein ailesi; vasküler endotel büyüme faktörü (VEGF), Ailenin üyeleri, yapısı ve sentezi. *Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi* 2004 26: 181-184.
30. Senger DR, Galli SJ, Dvorak AM, et al. Tumor cells secrete a vascular permeability factor that promotes accumulation of ascites fluid. *Science* 1983; 219: 983-985.
31. Ferrara N. Vascular endothelial growth factor: basic science and clinical progress. *Endocrine Reviews* 2004; 25: 581-611.
32. Ferrara N, Davis-Smyth T. The biology of vascular endothelial growth factor. *Endocrine Reviews* 1997; 18: 4-25
33. Gerwins P, Sköldenberg E, Claesson-Welsh L. Function of fibroblast factors and vascular endothelial growth factors and their receptors in angiogenesis. *Critical Reviews in Oncology/Hematology* 2000; 34: 185-194
34. Thomas K.A. Vascular endothelial growth factor, a potent and selective angiogenic agent. *The Journal of Biological Chemistry* 1996; 271: 603-606.
35. Clauss M. Molecular biology of the VEGF and the VEGF receptor family. *Semin Thromb Hemost* 2000; 26: 561-9.
36. LI Q, Dong X, Gu W, Qiu X, Wand E. Clinical significance of co-expression of VEGF-C and VEGFR-3 in non small cell lung cancer. *Chin Med J* 2003; 116: 727-730.
37. Vaisman N, Gospodarowicz D, Neufeld G. Characterization of the receptors for vascular endothelial growth factor. *The Journal of Biological Chemistry*. 1990; 265: 19461-19466.
38. Ferrara N. Role of vascular endothelial growth factor in regulation of physiological angiogenesis. *Am J Physiol Cell Physiol* 2001; 280: 1358-1366.
39. Dvorak HF, Sioussat TM, Brown F, Berse B, Nagy JA, Sotrel A, Manseau EJ, Van De Water L, Senger DR. Distribution of vascular permeability factor (vascular endothelial growth factor) in tumors: concentration in tumor blood vessels. *J Exp Med* 1991; 174: 1275-1278.

40. Thickett DR, Armstrong L, Millar AB. Vascular endothelial growth factor (VEGF) in inflammatory and malignant pleural effusions. *Toraks* 1999; 54: 707-710.
41. Erer OF. Malign plevral efüzyonlarda etiyoloji ve fizyoloji. *Solunum* 2001; 3: 234-235.
42. Nagy JA, Vasile E, Feng D, Sundberg C, Brown LF, Detmar MJ, Lawitts JA, Benjamin L, Tan X, Manseau EJ, Dvorak AM, Dvorak HF. Vascular permeability factor / vascular endothelial growth factor induces lymphangiogenesis as well as angiogenesis. *J Exp Med* 2002; 196: 1497-1506.
43. Gerber HP, Malik AK, Solar GP, Sherman D, Liang XH, Meng G, Hong K, Marsters JC, Ferrara N. VEGF regulates haematopoietic stem cell survival by an internal autocrine loop mechanism. *Nature* 2002; 27: 954-8.
44. Connally DT, Olander JV, Heuvelman D, Nelson R, Monsell R, Siegel N, Haymore BL, Leimgruber R, Fedre J. Human vascular permeability factor. *The Journal of Biological Chemistry* 1989; 264: 20017-20024.
45. Neufeld G, Cohen T, Gengrinovitch S, Poltorak Z. Vascular endothelial growth factor (VEGF) and its receptors. *FASEB J* 1999; 13: 9-22.
46. Sondell M, Lundborg G, Kanje M. Vascular endothelial growth factor has neurotrophic activity and stimulates axonal outgrowth, enhancing cell survival and Schwann cell proliferation in the peripheral nervous system. *J Neurosci* 1999; 15: 5731-40.
47. Guerrin M, Moukadir H, Chollet P, Moro F, Dutt K, Malecaze F, Plouet J. Vasculotropin/vascular endothelial growth factor is an autocrine growth factor for human retinal pigment epithelial cells cultured in vitro. *J Cell Physiol* 1995; 164: 385-94.
48. Berse B, Brown LF, Van De Water L, Dvorak HF, Senger DR. Vascular permeability factor (vascular endothelial growth factor) gene is expressed differentially in normal tissues, macrophages, and tumors. *Molecular Biology of the Cell* 1992; 3: 211-220.
49. Ferrara N. Role of vascular endothelial growth factor in the regulation of angiogenesis. *Kidney Int* 1999; 56: 794-814.
50. Ergün S, Luttmmer W, Fiedler W, Holstein AF. Functional expression and localization of vascular endothelial growth factor and its receptors in the human epididymis. *Biology of Reproduction* 1998; 58: 160-168.

51. Seçkin D, Onur R, İlhan N, Ardiçoğlu A, İlhan N. Prostat kanseri ve benign prostat hiperplazili hastalarda plazma vasküler endotelial büyüme faktörü, oksidatif stres ve oksit ilişkisi. F.Ü. Sağlık Bilimleri Dergisi 2005; 19: 277-281.
52. Doğan AL, Güç D. Sinyal iletimi mekanizmaları ve kanser. Hacettepe Tıp Fakültesi Dergisi 2004; 35: 34-42.
53. Songür N, Kuru B, Ok U. İleri evre küçük hücreli olmayan akciğer kanserlerinde sağkalımı etkileyen prognostik faktörler. Toraks Dergisi 2005; 6: 91-97.
54. Çağlayan B, Fidan A, Salepçi B, Kiral N, Torun E, Salepçi T, Mayadağlı A. Effects of prognostic factors and treatment on survival in advanced non-small cell lung cancer. Tüberküloz ve Toraks Dergisi 2004; 52: 323-332.
55. Maeda T, Ueoka H, Tabata M, Kiura K, Shibayama T, Gemba K, Takigawa N, Hiraki A, Katayama H, Harada M. Prognostic factors in advanced non-small cell lung cancer: elevated serum levels of neuron specific enolase indicate poor prognosis. Jpn J Clin Oncol 2000; 30: 534-541.
56. Kawahara M, Fukuoka M, Saijo N, Nishiwaki Y, Ikegami H, Tamura T, Shimoyama M, Suemasu K, Furuse K. Prognostic factors and prognostic staging system for small cell lung cancer. Jpn J Clin Oncol 1997; 27: 158-165.
57. Aycengel ŞG, Kıvılcım Oğuzülgen İ, Öztürk C. Küçük hücreli akciğer kanserinde uzun dönem sağkalımda prediktif ve prognostik faktörlerin gözden geçirilmesi. Toraks Dergisi 2005; 6: 81-84.
58. Ece F, Erdal N, Arinc S. Survival and prognostic factors in small cell lung cancer patients in Turkey. IJMS 2004; 29: 9-13.
59. Kömürcüoğlu B, Büyüksirin M, Öztuna I, Peri K. Küçük hücreli akciğer kanserinde lenk iliji metastazi. Solunum 2002; 4: 463-467.
60. Maestu I, Pastor M, Gomez-Codina J, Aparicio J, Oltra A, Herranz C, Montalar J, Munarriz B, Reynes G. Pretreatment prognostic factors for survival in small-cell lung cancer: A new prognostic index and validation of three known prognostic indices on 341 patients. Annals of Oncology 1997; 8: 547-533.
61. Btieber P, Hatz R, Holdenrieder S, Molina R, Nap M, von Pawel J, Schalhorn A, Schneider J, Yamaguchi K. National academy of clinical biochemistry guidelines for the use of tumor markers in lung cancer.

62. Ediğer D: Tümör Markırları. Akciğer kanserleri tanı ve tedavide temel ilkeler ve uygulamalar. Engin K, Özyardımcı N. (eds), Avrupa Tıp Matbaacılık Yayınları, İstanbul 2001; 116-124.
63. Gediz R. Bronş kanseri olgularında tümör markerlarının tanı değerleri. Uzmanlık Tezi, Bursa 1996: s. 36-44.
64. Buccheri G, Ferrigno D. Identifying patients at early postoperative recurrence of lung cancer: a new use of the old CEA test. *Ann Thorac Surg* 2003; 75: 973-80.
65. Tomita M, Matsuzaki, Y, Edagawa M, Shimizu T, Hara M, Onitsuka T. Prognostic significance of preoperative serum carcinoembryonic antigen level in lung adenocarcinoma but not squamous cell carcinoma. *Thorac Cardiovasc Surg* 2004; 10: 76-80.
66. Tanaka T, Fujii M, Nishikawa A, Bunai Y, Obayashi F, Sugie S, Shima H, Yoshimi N, Kunivashu T, Kato K. A cytochemical study of lactate dehydrogenase (LHD) isoenzymes in lung cancer. *Cancer Detect Prev* 1984; 7: 65-71.
67. Sagman U, Feld R, Evans WK, Warr D, Sherherd FA, Payne D, Pringle J, Yeoh J, DeBoer G, Malkin A. The prognostic significance of pretreatment serum lactate dehydrogenase in patients with small-cell lung cancer. *Journal of Clinical Oncology* 1991; 9: 954-961.
68. Stokkel MPM, van Eck-Smitt BLF, Zwinderman AH, Willems LNA, Pauwels EKJ. Pretreatment serum LDH as additional staging parameter in small-cell lung carcinoma. *Netherlands Journal of Medicine* 1998; 52: 65-70
69. Özdemir F, Bektaş Ö, Uruç İ, Bülbül Y, Topbaş M, Kavgacı H, Yılmaz M, Aydın F. Küçük hücreli dışı akciğer kanserli hastalarda tedavi öncesi serum LDH düzeylerinin prognostik önemi. *UHOD* 2005;15: 115-119.
70. Carmeliet P, Ferreira V, Breier G, Polefeyt S, Kieckens L, Gertsenstein M, Fähring M, vandenhoek A, Harpal K, Eberhardt C, Declercq C, Pawling J, Monns L, Collen D, Pisau W, Nagy A. Abnormal blood vessel development and lethality in embryos lacking a single VEGF allele. *Nature* 1996; 380: 435-39.
71. Ferrera N, Carver-moore K, Chen H, Dowd M, Lu L, O'Shea KS, Powell-Braxton L, Hillan KJ, Moore MW. Heterozygous embryonic lethality induced by targeted inactivation of the VEGF gene. *Nature* 1996; 380: 439-42.

72. Gerber HP, Hillan KJ, Ryan AM, Kowalski J, Keller GA, Rangell L, Wright BD, Radtke F, Aguett M, Ferrara N. VEGF is required for growth and survival in neonatal mice. *Development* 1999; 126: 1149-1159.
73. Cerber HP, Vu TH, Ryan AM, Kowalski J, Werb Z, Ferrara N. VEGF couples hypertrophic Cartilage remodeling, ossification and angiogenesis during endochondral bone formation. *Nat Med* 1999; 5: 623-8.
74. Ferrera N, Chen H, Davis-Smyth T, Gerber HP, Nguyen TN, Peers D, Chisholm V, Hillan KJ, Schwall RH. Vascular endothelial growth factor is essential for corpus luteum angiogenesis. *Nat Med* 1998; 4: 336-40.
75. Bloch W, Huggel K, Sasaki T, Grose R, Bugnon P, Addicks K, Timpl R, Werner S. The angiogenesis inhibitor endostatin impairs blood vessel maturation during wound healing. *FASEB* 2000;1 4: 2373-2376.
76. Yamamoto Y, Toi M, Kondo S, Matsumoto T, Suzuki H, Kitamura M, Tsuruta K, Taniguchi T, Okamoto A, Mori T, Yoshida M, Ikeda T, Tominaga T. Concentrations of vascular endothelial growth factor in the sera of normal controls and cancer patients. *Clin Cancer Res* 1996; 2: 821-6.
77. Kraft A, Weindel K, Ochs A, Marth C, Zmija J, Schumacher P, Unger C, Marme D, Gasti G. Vascular endothelial growth factor in the sera and effusions of patients with malignant and nonmalignant disease. *Cancer* 1999; 85: 178-87.
78. Brown FF, Berse B, Jackman RW, Tognazzi K, Guidi AJ, Dvorak HF, Senger DR, Connolly JI, Schnitt SJ. Expression of vascular permeability factor (vascular endothelial growth factor) and its receptors in breast cancer. *Hum Pathol* 1995; 26: 86-91.
79. Gasparini G, Toi M, Gion M, Verderio P, Dittadi R, Hanatani M, Matsubara I, Vinanta O, Bonaldi E, Boracchi P, Gatti C, Suzuki H, Tominaga T. Prognostic significance of vascular endothelial growth factor protein in node-negative breast carcinoma. *J Natl Cancer Inst* 1997; 89: 139-47.
80. Werther K, Christensen IJ, Br nner N, Nielsen HJ, the Danish RANXO% Colorectal Cancer Study Group: Soluble vascular endothelial growth factor levels in patients with primary colorectal carcinoma. *European Journal of Oncology* 2000; 26: 657-662.
81. Brown LF, Berse B, Jackman RW, Tognazzi K, Manseau EJ, Senger DR, Dvorak HF. Expression of vascular permeability factor (vascular endothelial growth factor) and its receptors in adenocarcinomas of the gastrointestinal tract. *Cancer Res* 1993; 53: 4727-35.

82. Ellis LM, Takahashi Y, Liu W, Shaheen RM. Vascular endothelial growth factor in human colon cancer: biology and therapeutic implications. *The Oncologist* 2000; 5: 11-15.
83. Tae K, El-Naggar AK, Yoo E, Feng L, Lee JJ, Hong WK, Hittelman WN, Shin DM. Expression of vascular endothelial growth factor and microvessel density in head and neck tumorigenesis. *Clinical Cancer Research* 2000; 6: 2821-2828.
84. Sheidew TG, Hooper PL, Crukley C, Young J, Heathcote JG. Expression of vascular endothelial growth factor in uveal melanoma and its correlation with metastasis. *Br J Ophthalmol* 2000; 84: 750-756.
85. Brown LF, Berse B, Jackman RW, Tognazzi K, Manseau EJ, Gvora HF, Senger DR. Increased expression of vascular permeability factor (vascular endothelial growth factor) and its receptors in kidney and bladder carcinomas. *Am J Pathol* 1993; 143: 1255-62.
86. Bamberger ES, Perrett CW. Angiogenesis in epithelial ovarian cancer. *J Clin Pathol: Mol Pathol* 2002; 55: 348-359.
87. Guidi AJ, Abu-Jawdeh G, Berse B, Jackman RW, Tognazzi K, Dvorak HF, Brown LF. Vascular permeability factor (vascular endothelial growth factor) expression and angiogenesis in cervical neoplasia. *J Natl Cancer Inst* 1995; 87: 1237-45.
88. Berkman RA, Merrill MJ, Reinhold WC, Monacci WT, Saxena A, Clark WC, Robertson JT, Ali IU, Oldfield EH. Expression of the vascular permeability factor/vascular endothelial growth factor gene in central nervous system neoplasms. *The Journal of Clinical Investigation* 1993; 91: 153-159.
89. Suzuki K, Hayashi N, Miyamoto Y, Yamamoto M, Ohkawa K, Ito Y, Sasaki Y, Yamaguchi Y, Nakase H, Enomoto N, Arai K, Yamada Y, Yoshihara H, Tujimuta T, Kawano K, Kamada T. Expression of vascular permeability factor/vascular endothelial growth factor in human hepatocellular carcinoma. *Cancer Res* 1996; 56: 3004-9.
90. Bellamy WT, Richter L, Frutiger Y, Grogan TM. Expression of vascular endothelial growth factor and its receptors in hematopoietic malignancies. *Cancer research* 1999; 59: 728-733.
91. Salven P, Teeronhovi L, Joensuu H. A high pretreatment serum vascular endothelial growth factor concentration is associated with poor outcome in non-hodgkin's lymphoma. *Blood* 1997; 90: 3167-3172.

92. Voelkel NF, Vandirier RW, Tuder RM. Vascular endothelial growth factor in the lung. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2006; 290: 209-21.
93. Kanazawa H, Hirata K, Yoshikawa J. Imbalance between vascular endothelial growth factor and endostatin in emphysema. *Eur Respir J* 2003; 22: 609-612.
94. Kranenburg AR, de Boer WI, Alagappan VKT, Sterk PJ, Sharma HS. Enhanced bronchial expression of vascular endothelial growth factor and receptors (Flk-1 and Flt-1) in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Thorax* 2005; 60: 106-113.
95. Kishiro I, Kato S, Fuse D, Yoshida T, Machida S, Kaneko N. Clinical significance of vascular endothelial growth factor in patients with , primary lung cancer. *Respirology* 2000; 7: 93-98.
96. Baillie R, Carlile J, Pendleton N, Schor AM. Prognostic value of vascularity and vascular endothelial growth factor expression in non-small cell lung cancer. *J Clin Pathol* 2001; 54: 116-120.
97. Ohta Y, Ohta N, Tamura M, Wu J, Tsunozuka Y, Oda M, Watanabe G. Vascular endothelial growth factor expression in airways of patients with lung cancer. *CHEST* 2002; 121: 1624-1627.
98. Hastürk S. Akciğer kanserinin moleküler biyolojisi. Akciğer kanseri. Hastürk S, Yüksel M. (ed). Bilmedya Grup, İstanbul, 2000.
99. Kang YH, Kim KS, Yu YK; Lim SC, Kim YC, Park KO: The relationship between microvessel count and the expression of vascular endothelial growth factor, p53, and k-ras in non-small cell lung cancer. *J Korean Med Sci* 2001; 16: 417-23.
100. Kaya A, Ciledag A, Eris Gulbay B, Poyraz BM, Celik G, Sen E, Savas H, Savas I. The prognostic significance of vascular endothelial growth factor levels in sera of non-small cell cancer patients. *Respiratory Medicine* 2004; 98: 632-636.
101. Morragi AJ, Travis WD, Welsh JA, Khan MA, Rahim J, Tazelaar H, Pairolero P, Trastek V, Jett J, Caporaso NE, Liotta LA, Haris CC. Nitric Oxide Synthase, Cyclooxygenase 2, and Vascular endothelial growth factor in the angiogenesis of non-small cell lung carcinoma. *Clinical Cancer Research* 2000; 6; 4739-4744.
102. Nakashima T, Huang CI, Liu D, Kameyama K, Masuya D, Ueno M, Haba R, Yokomise H. Expression of vascular endothelial growth

factor-A and vascular endothelial growth factor-C as prognostic factors for non-small cell lung cancer. *Med Sci Monit* 2004; 10: 157-165.

103. Imoto H, Osaki T, Taga S, Ohgami A, Ichiyoshi Y, Yasumoto K. Vascular endothelial growth factor expression in non-small cell lung cancer: Prognostic significance in squamous cell carcinoma. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1998; 115: 1007-14.
104. Shijubo N, Uede T, Kon S, Maeda M, Segawa T, Imada A, Hirasawa M, Abe S. Vascular endothelial growth factor and osteopontin in stage I lung adenocarcinoma. *Am J Respir Crit Care Med* 1999; 160: 1269-1273.
105. Takahama M, Tsutsumi M, Tsujiuchi T, Kido A, Okajima E, Nezu K, Tojo T, Kushibe K, Kitamura S, Konishi Y. Frequent expression of the vascular endothelial growth factor in human non-small cell lung cancers. *Japanese Journal of Clinical Oncology* 1998; 28: 176-181.
106. Demirkazık A, Akbulut H, Ulger AF, Arican A, Over A, Acıkgöz A. Serum vascular endothelial growth factor levels in patients with non-small cell lung cancer. *Ann Saudi Med* 2004; 24: 473-475.
107. Matsuyama W, Hashiguchi T, Mizoguchi A, Ivami F, Kawabata M, Arimura K, Osame M. Serum levels of vascular endothelial growth factor dependent on the stage progression of lung cancer. *Chest* 2000; 118: 948-951.
108. Laack E, Köhler A, Kugler C, Dierlamm T, Knuffmann C, Vohwinkel G, Niestroy A, Dahmann N, Peters A, Berger J, Fiedler W, Hossfeld DK. Pretreatment serum levels of matrix metalloproteinase-9 and vascular endothelial growth factor in non-small cell lung cancer. *Annals of Oncology* 2002; 13: 1550-1557.
109. Weidner N, Semple JP, Welch WR, Folkman J. Tumor angiogenesis and metastasis- correlation in invasive breast carcinoma. *N Engl Med* 1991; 324:1-8.
110. Maniwa T, Okada M, Ishii N, Kiyooka K. Vascular endothelial growth factor increased by pulmonary surgery accelerates the growth of micrometastases in metastatic lung cancer. *Chest* 1998; 114: 1668-1675.
111. Macchiarini P, Fontanini G, Hardin M, Squartini F, Angeletti CA. Relation of neovascularisation to metastasis of non-small cell lung cancer. *Lancet* 1992; 340: 145-46.

112. Yamazaki K, Abe S, Yakekawa H, Sukoh N, Vatanabe N, Ogura S, Nakajima I, Isobe H, Inoue K, Kawakami Y. Tumor angiogenesis in human lung adenocarcinoma. *Cancer* 1994; 74: 2245-50.
113. Brattström D, Bergqvist M, Heselius P, Larsson A, Lamberg, Wernlund J, Brodin O, Wagenius G. Elevated preoperative serum levels of angiogenic cytokines correlate to larger primary tumours and poorer survival in non-small cell lung cancer patients. *Lung Cancer* 2002;37: 57-63.
114. Hasegawa Y, Takanashi S, Okudera T, Kumagai M, Hayashi A, Morimoto T, Okumura K. Vascular endothelial growth factor level as a prognostic determinant of small cell lung cancer in Japanese patients. *Internal Medicine* 2005; 44: 26-34.
115. Inoshima N, Nakanishi Y, Minami T, Izumi M, Takayama K, Yoshino I, Hara N. The influence of dendritic cell infiltration and vascular endothelial growth factor expression on the prognosis of non-small cell lung cancer. *Clinical Cancer Research* 2002; 8: 3480-3486.
116. Bachelder RE, Crago A, Ghung J, Wendt MA, Shaw LM, Robinson G, Mercurio AM. Vascular endothelial growth factor is an autocrine survival factor for neuropilin-expressing breast carcinoma cells. *Cancer Research* 2001; 61: 5736-5740.
117. Dvorak HF. Vascular permeability factor/vascular endothelial growth factor: a critical cytokine in tumor angiogenesis and a potential target for diagnosis and therapy. *J Clin Oncol* 2002; 20: 4368-4380.
118. Gupta VK, Jaskowiak NT, Beckett MA, Mauceri HJ, Grunstein J, Johnson RS, Calvin DA, Nodzenski E, Pejovic M, Kufe DW, Posner MC, Weishselbaum RR. Vascular endothelial growth factor enhances endothelial cell survival and tumor radioresistance. *Cancer J* 2002; 8: 47-54.
119. Gabilovich D, Isheda T, Oyama T, Ran S, Kravtsov V, Nadaf S, Carbone DP. Vascular endothelial growth factor inhibits the development of dendritic cells and dramatically affects the differentiation of multiple hematopoietic lineages in vivo. *Blood* 1998; 92: 4150-66.
120. Herbst RS, Sandler AB. Non-small cell lung cancer and antiangiogenic therapy: what can be expected of bevacizumab. *The Oncologist* 2004; 9: 19-26.
121. Sandler AB, Johnson DH, Herbst RS. Anti-vascular endothelial growth factor monoclonals in non-small cell lung cancer. *Clinical Cancer Research* 2004;10: 4258-4262.

122. Bautch VL, Redick SD, Scalia A, Harmaty M, Carmeliet P, Rapoport R. Characterization of the vasculogenic block in the absence of vascular endothelial growth factor-A. *Blood* 2000; 95: 1979-1987.
123. Brundage MD, Davies Diane, Mackillop WJ. prognostic factors in non-small cell lung cancer. *Chest* 2002; 122: 1037-1057.
124. Masuya D, Huang CI, Liu D, Kameyama K, Hayashi H, Yamauchi A, Kobayashi S, Haba R, Yokomise H. The intratumoral expression of vascular endothelial growth factor and interleukin-8 associated with angiogenesis in nonsmall cell lung carcinoma patients. *Cancer* 2001; 92: 2628-38.
125. Mineo TC, Ambrogi V, Baldi A, Rabitti C, Bollero P, Vincenzi B, Tonini G. Prognostic impact of VEGF, CD31, CD34, and CD105 expression and tumour vessel invasion after radical surgery for IB-IIA non-small cell lung cancer. *J Clin Pathol* 2004; 57: 591-597.
126. Sheng H, Aoe M, Doihara H, Andou A, Shimizu N. Prognostic value of vascular endothelial growth factor expression in primary lung carcinoma. *Acta Med Okayama* 2000; 54: 119-126.
127. Ohta Y, Watanabe Y, Murakami S, Oda M, Hayashi Y, Nonomura A, Endo Y, Sasaki T. Vascular endothelial growth factor and lymph node metastasis in primary lung cancer. *Br J Cancer* 1998; 78: 277-8.
128. Takigawa N, Segawa Y, Fujimoto N, Hotta K, Eguchi K. Elevated vascular endothelial growth factor levels in sera of patients with lung cancer. *Anticancer Res* 1998; 18: 1251-4.
129. Mall JW, Schwenk W, Philipp AW, Meyer-Kipker C, Mall W, Müller J, Pollmann C. Serum vascular endothelial growth factor levels correlate better with tumour stage in small cell lung cancer than albumin, neuron-specific enolase or lactate dehydrogenase. *Respirology* 2002; 7: 99-102.
130. Fukasawa T, Fujisawa T, Yamaguchi Y, Sasaki K, Shiba M, Yusa T, Sakio H, Momiki S, Ogawa T. Clinical evaluation of serum NSE and CEA in primary lung cancer patients. *Gan To Kagaku Ryoho* 1986; 13: 1862-7.
131. Karlıkaya C, Erdoğan S, Akkoçlu A, Oktay G, Güner G, Uçan ES, Çımrın AH. Akciğer kanserinde çoklu tümör belirletici analizi. *Toraks Dergisi* 2003;4: 248-259.

132. Satoh H, Ishikawa H, Kurishima K, Yamashita Y, Ohtsuka M, Sekizawa K. Cut-off levels of NSE to differentiate SCLC from NSCLC. *Oncology Report* 2002; 9: 581-583.
133. Bonner JA, Sloan JA, Rowland KM, Klee GG, Kugler JW, Mailliard JA, Wiesenfeld M, Krook JE, Maksymiuk AW, Shaw EG, Marks RS, Perez EA. Significance of neuron-specific enolase levels before and during therapy for small cell lung cancer. *Clinical Cancer Research* 2000; 6: 597-601.
134. Vollmer RT, Govindan R, Graziano SL, Gamble G, Garts J, Kelley MJ, Ghristenson RH. Serum CYFRA21-1 in advanced stage non-small cell lung cancer: an early measure of response. *Clinical Cancer Research* 2003; 9: 1728-1733.
135. Ando S, Kimura H, Iwal N, Kakizawa K, Shima M, Ando M. The significance of tumour markers as an indication for mediastinoscopy in non-small cell lung cancer. *Respirology* 2003; 8: 163-167.
136. Takamochi K, Nagai K, Suzuki K, Yoshida J, Ohde Y, Nishiwaki Y. Clinical predictors of N₂ disease in non-small cell lung cancer. *Chest* 2000; 117:1577-1582.
137. Okada M, Nishio W, Sakamoto T, Uchino K, Yuki T, Nakagawa A, Tsubota N. Prognostic significance of perioperative serum carcinoembryonic antigen in non-small cell lung cancer: Analysis of 1,000 Consecutive Resections for Clinical Stage I disease. *Ann Thorac Surg* 2004; 78: 216-21.
138. Okada M, Nishio W, Sakamoto T, Uchino K, Yuki T, Nakagawa A, Tsubota N. Effect of histologic type and smoking status on interpretation of serum carcinoembryonic antigen value in non-small cell lung carcinoma. *Ann Thorac Surg* 2004; 78: 1004-10.
139. Sawabata N, Maeda H, Yokota S, Takeda S, Koma M, Tokunaga T, Ito M. Postoperative serum carcinoembryonic antigen levels in patients with pathologic stage IA non-small cell lung carcinoma. *Cancer* 2004; 101: 803-9.
140. Veronesi G, Pelosi G, Sonzagni A, Leon ME, D'Aiuto M, Gasparri R, De Braud F, De Pas T, Sandri M, Spaggiari L. Tumour CEA as predictor of better outcome in squamous cell carcinoma of the lung. *Lung Cancer* 2005; 48: 233-240.
141. Buccheri G, Ferrigno D, Cuneo Lung Cancer Study Group. Serum biomarkers of non-neuron-endocrine origin in small-cell lung cancer: a 16-year study on carcinoembryonic antigen, tissue polypeptide antigen and lactatedehydrogenase. *Lung Cancer* 2000; 30: 37-49.

142. Lactate dehydrogenase-5 (LDH-5) overexpression in no-small cell lung cancer tissues is linked to tumour hypoxia, angiogenic factor production and poor prognosis. *British Journal of Cancer* 2003; 89: 877-885.
143. Iwasaki A, Shirakusa T, Yoshinaga Y, Enatsu S, Yamamoto. Evaluation of the treatment of non-small cell lung cancer with brain metastasis and the role of risk score as a survival predictor. *European Journal of Cardio-thoracic Surgery* 2004; 26: 488-493.
144. Şenırmak Özden S, Ertuğrul G, Erdem E, Kalenci D, Özacar R. Akciğer kanserinde tümör boyutu serum LDH düzeyini etkiler mi?. *İzmir Göğüs Hastanesi Dergisi* 2004; 2: 65-69.
145. Ozcan M, Eser B, Er O, Coskun S, Ozturk A, Sarı I, Canoz O, Altınbas M. Bone marrow involvement in small cell lung cancer: Prognostic significance and correlation with hematological and biochemical parameters. *Asia-Pacific of Clinical Oncology* 2006; 2: 32-38.

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim süresince bilgi ve deneyimlerini esirgemeyen değerli hocam Prof Dr. Nihat Özyardımcı ve Prof Dr. Oktay Gözü'ye, eğitimim ve bu tezin hazırlanmasındaki katkılarından dolayı tez danışmanım Prof Dr. Mehmet Karadağ'a, ve yine eğitimime olan katkıları nedeniyle, Prof Dr. Ercüment Ege, Prof Dr. Esra Uzaslan ve Yrd Doç Dr. Dane Ediger'e tesükkür ederim.

Tezin hazırlanması esnasında yardımları ve desteği için Uz Dr. Arzu Yılmaztepe'ye teşekkür ederim.

Kendilerinden daima yardım gördüğüm bilhassa Uz Dr. Ahmet Ursavaş'a ve Uz Dr. Funda Coőkun'a çok teşekkür ederim.

Ayrıca tezin yazılması esnasında yardımları için Mehmet Kovacıoğlu'na çok teşekkür ederim.

Uzmanlık eğitimim süresince çalıştığım tüm sekreter, hemőire, personel ve diğer arkadaşlara özellikle Sabiha Adalı'ya çok teşekkür ederim.

Ve hiçbir zaman sevgilerini ve desteklerini esirgemeyen anneme, babama, kardeşlerime, çok sevgili eşime ve biricik oğluma çok teşekkür ederim.

ÖZGEÇMİŞ

1974 yılında Karamürsel'de doğdum. İlk, orta ve lise öğrenimimi Karamürsel'de tamamladım. 1994 yılında Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi'ne girdim. 2000 yılında öğrenimimi tamamlayıp 2001 yılında Tıpta Uzmanlık Sınavı'nı kazanarak Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Göğüs Hastalıkları ve Tüberküloz Anabilim Dalı'nda göreve başladım.